

ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΗ
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ
ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ ΥΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ
ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ

Μπέης Αλέξανδρος



Διδακτορική Διατριβή
2010

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**ΣΧΟΛΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ ΚΑΙ
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΑΓΡΙΝΙΟΥ-ΤΜΗΜΑ ΔΙΟΙΚΗΣΗΣ
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΑΙ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

**ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΤΗΣ
ΑΜΠΕΛΟΥ ΥΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ
ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ**

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ. Σ. ΜΠΕΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΓΡΙΝΙΟ 2010

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**ΣΧΟΛΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ
ΑΓΡΙΝΙΟΥ-ΤΜΗΜΑ ΔΙΟΙΚΗΣΗΣ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ
ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ ΥΠΟ
ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΥΔΑΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ**

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Σ. ΜΠΕΗΣ
ΓΕΩΠΟΝΟΣ M. Sc.**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Εξεταστική Επιτροπή

Αν. Καθ. Α. Πατάκας, Επιβλέπων
Καθηγητής Β. Νοϊτσάκης, Μέλος Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής
Ερευνητής Α' Κ. Χαρτζουλάκης, Μέλος Τριμελούς Συμβουλευτικής
Επιτροπής

Καθηγητής Μ. Βασιλακάκης, Εξεταστής
Αν. Καθ. Αθ. Λάνταβος, Εξεταστής
Επ. Καθ. Ι. Καλαβρουζιώτης, Εξεταστής
Επ.. Καθ. Δ. Χελά, Εξεταστής

ΑΓΡΙΝΙΟ 2010

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αποτέλεσε τμήμα του έργου 03ΕΔ480, που υλοποιήθηκε στο πλαίσιο του Προγράμματος Ενίσχυσης Ερευνητικού Δυναμικού (ΠΕΝΕΔ 2003), και χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας & Τεχνολογίας του Υπουργείου Ανάπτυξης στο πλαίσιο του Μέτρου 8.3 του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα - Γ' Κοινοτικό Πλαίσιο Στήριξης.

Επιστημονικός Υπεύθυνος: Α. Πατάκας, Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος ΔΕΑΠΤ, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων



στην οικογενειά μου

ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Φυτικής Παραγωγής, του Τμήματος ΔΕΑΠΤ του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (Π.Ι.), κατά το χρονικό διάστημα 2005-2008. Ολοκληρώνοντας την προσπάθεια αυτή θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους συνέβαλαν στην πραγματοποίησή της.

Αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα τη διατριβή αυτή κ. Άγγελο Πατάκα, Αν. Καθηγητή του Π.Ι, γιατί με τίμησε με την εμπιστοσύνη του, προσφέροντάς μου την ευκαιρία να ασχοληθώ με τη φυσιολογία και τη βιοχημεία των φυτών στο εργαστήριό του. Τον ευχαριστώ για την ηθική, επιστημονική, συνεχή και ακούραστη καθοδήγηση και τις εποικοδομητικές παρατηρήσεις του, για τη μετάδοση του τρόπου σκέψης του, καθώς και για τη συνεχή εμπύχωση του κατά τη διάρκεια εκτέλεσης της διατριβής αυτής.

Θερμές ευχαριστίες εκφράζονται και στα μέλη της Συμβουλευτικής Επιτροπής μου, τον Καθηγητή του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.) κ. Β. Νοϊτσάκη και κ. Δρ. Κ. Χατζουλάκη Ερευνητή Α΄ του Ινστιτούτου Ελιάς και Υποτροπικών Φυτών Χανίων, για τις πολύτιμες συμβουλές και τη σοφή επιστημονική καθοδήγησή τους σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας διατριβής. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή του Α.Π.Θ Μιλτιάδη Βασιλακάκη, τον Αναπληρωτή Καθηγητή του Π. Ι. κ. Αθανάσιο Λάνταβο, την Επίκουρο Καθηγήτρια του Π.Ι κ. Δήμητρα Χελά καθώς και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Ιωάννη Καλαβρουζιώτη του Π.Ι για τη συμμετοχή τους στην επταμελή εξεταστική επιτροπή της διατριβής μου, την κριτική ανάγνωση του κειμένου, τις παρατηρήσεις και τις ουσιαστικές υποδείξεις τους.

Θέλω επίσης να ευχαριστήσω όλα μέλη του εργαστηρίου Φυτικής Παραγωγής, για την άψογη συνεργασία τους και το πάντα φιλικό περιβάλλον. Ιδιαίτερα ευχαριστώ το Δρ. Αναστάσιο Ζώτο για τη σημαντική του συμβολή στο πεδίο της έρευνας με τη αμέριστη βοήθεια και συμπαράσταση που μου παρείχε αυτά τα χρόνια καθώς και η φιλική του στήριξη ήταν ανεκτίμητη. Θερμά ευχαριστώ τον Δρ. Βασίλη Τριανταφυλλίδη που δεν μου αρνήθηκε ποτέ τη βοήθεια και τη φιλική στήριξη.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας για τη χρηματοδότηση του εγχειρήματος μέσα από το πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ 2003 επί τρία συναπτά έτη από το Νοέμβριο του 2005 ως το Νοέμβριο του 2008.

Ιδιαίτερες και θερμότερες ευχαριστίες στους φίλους και συναδέλφους Γεώργιο Δούπη και Γεώργιο Τσακιρίδη, για τη συνεχή παρουσία και συμπαράστασή τους στις δύσκολες, αλλά και τις ευχάριστες στιγμές κατά την εκπόνηση της διατριβής μου, καθώς και για την άψογη συνεργασία μας.

Τέλος, θέλω να εκφράσω τη βαθιά ευγνωμοσύνη μου στη σύντροφο μου Γεωργία και στην οικογένεια μου για την κατανόηση, την υπομονή και τη στήριξη που μου έδωσαν και μου δίνουν, σαν ελάχιστη αναγνώριση των θυσιών και των παραχωρήσεών τους στη διάρκεια μιας επίπονης αλλά εξαιρετικά διδακτικής προσπάθειας.

Αλέξανδρος Μπέης
Λάρισα, Νοέμβριος 2009

Περίληψη

Διερευνήθηκαν οι φυσιολογικοί και οι βιοχημικοί μηχανισμοί προσαρμογής στην ξηρασία δύο ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L., ποικιλίες Σαββατιανό και Μαυροδάφνη) με τη χρήση αυτόριζων φυτών. Η μελέτη, πραγματοποιήθηκε μετά την έκθεση των φυτών σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.

Η μεθοδολογία συλλογής του ανερχόμενου χυμού φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά τις τιμές του pH του ανοδικού ρεύματος. Οι τιμές του pH που λαμβάνονται σε υψηλές πιέσεις (2.5 MPa) περιγράφουν καλύτερα τις μεταβολές του pH που συμβαίνουν στον αποπλάστη. Ο χρόνος της δειγματοληψίας βρέθηκε επίσης ότι επηρεάζει σημαντικά τις τιμές του pH του ανοδικού ρεύματος στον αγωγό ιστό. Ειδικότερα, θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των τιμών του pH του ανερχόμενου χυμού που μετρήθηκε λίγο πριν την ανατολή του ηλίου και του υδατικού ελλείμματος των φυτών. Αντιθέτως, τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού που μετρήθηκαν αργότερα κατά τη διάρκεια της ημέρας δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τη μείωση της διαθέσιμης εδαφικής υγρασίας και στις δύο ποικιλίες.

Η συσχέτιση μεταξύ του υδατικού δυναμικού βάσης και της μέγιστης στοματικής αγωγιμότητας (g_s), έδειξε σημαντικές διαφορές ως προς την στοματική ευαισθησία μεταξύ των δύο ποικιλιών. Ειδικότερα το κλείσιμο των στομάτων πραγματοποιήθηκε σε υψηλότερες τιμές του υδατικού δυναμικού βάσης στα φυτά του Σαββατιανού σε σύγκριση με τα φυτά της Μαυροδάφνης. Οι συγκεντρώσεις του αμπισισικού οξέος (ABA) στο φύλλο και στη ρίζα αυξήθηκαν ταχύτερα στα φυτά της Μαυροδάφνης σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού στην αρχή της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας. Επιπλέον, τα φυτά της Μαυροδάφνης παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερες τιμές στο pH του ανερχόμενου χυμού (pH αποπλάστη) καθώς και μεγαλύτερη ευαισθησία της στοματικής συσκευής στην αύξηση του ABA και του pH σε σχέση με το Σαββατιανό. Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν διαφορετικές στρατηγικές προσαρμογής των δυο ποικιλιών σε συνθήκες ξηρασίας. Ειδικότερα, τα χημικά σήματα που επάγονται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης φαίνονται να αποτελούν τον κυριότερο μηχανισμό της προσαρμογής των φυτών της ποικιλίας Μαυροδάφνη στην ξηρασία.

Υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης το Σαββατιανό εμφάνισε ευνοϊκότερο υδατικό ισοζύγιο, υψηλότερο ρυθμό βλαστικής ανάπτυξης, φωτοσυνθετικό ρυθμό (P_N), g_s και αποτελεσματικότητα χρήσης νερού συγκριτικά με τη Μαυροδάφνη. Οι

μικρότερες τιμές των αλλομετρικών παραμέτρων στην ποικιλία Μαυροδάφνη πιθανόν να σχετίζονται με την μικρότερη συγκέντρωση των κυτοκινινών. Από την άλλη μεριά, η περιοριστική υδατική διαίτα προκάλεσε μείωση της φωτονικής συγκομιδής του PSII (Φ_{PSII}), του ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR) και αύξηση στη μη-φωτοχημική απόσβεση (NPQ) και στις δύο ποικιλίες. Το Σαββατιανό μείωσε τη Φ_{PSII} μέσω της αύξησης του NPQ, αντίθετα η Μαυροδάφνη, περιόρισε στον ίδιο βαθμό τη Φ_{PSII} , μέσω της αποδόμησης των χλωροφυλλών. Η μεγαλύτερη αντιοξειδωτική προστασία που εμφάνισε η ποικιλία Σαββατιανό θα μπορούσε να αποδοθεί στην ικανότητα της να διατηρεί υψηλότερη ενεργότητα στην καταλάση σε συνθήκες ξηρασίας. Συμπερασματικά, η μεγαλύτερη προσαρμοστική ικανότητα στην ξηρασία των πρέμων της ποικιλίας Σαββατιανό θα μπορούσε να αποδοθεί αφενός στην πιο αποτελεσματική ρύθμιση της λειτουργίας της στοματικής συσκευής και αφετέρου στη μεγαλύτερη φωτοπροστατευτική και αντιοξειδωτική προστασία.

Abstract

A comparative study on physiological and biochemical mechanisms of adaptation to drought was conducted using three-years old own rooted plants of two grapevines varieties (*Vitis vinifera* L., cvs Sabatiano and Mavrodafni). The plants were subjected to a prolonged drought stress by withholding irrigation water.

Sap extraction methodology seems greatly affect sap pH values. PH values obtained using the high pressure (2.5 MPa) seemed to better correspond to changes in leaf apoplastic pH. The time of sampling was found to strongly influence xylem pH values. In particular, a positive relationship between predawn xylem pH values and soil drying was observed. Conversely, xylem pH values measured later during the day (i.e. at 8:00, 9:00 and 10:00 am) were not significantly affected by the reduction in soil water availability in both cultivars.

Relationship between predawn water potential and maximum stomatal conductance (g_s) indicated significant differences in stomatal sensitivity to drought between the two varieties. Stomatal closure occurred at higher values of predawn water potential in Sabatiano compared to Mavrodafni. No significant differences in plant hydraulic conductance and in osmotic potential at full turgor (π_{100}) between the two varieties occurred. Leaf and root abscisic acid (ABA) concentrations increased more rapidly in Mavrodafni compared to Sabatiano at the beginning of the drought period. Furthermore, Mavrodafni also exhibited significantly higher xylem pH values as well as higher stomatal sensitivity to ABA and pH increase compared to Sabatiano. Results suggest that these two grapevine varieties might have evolved different strategies in order to adapt under drought conditions. In particular the greater ability for drought adaptation in Sabatiano might be attributed to the more efficient regulation of stomatal closure. On the other hand, Mavrodafni has adopted a mechanism for drought adaptation which is based mainly on chemical signalling.

Sabatiano was more capable than Mavrodafni to cope with water stress, exhibiting higher values of predawn water potential Ψ_{PD} , relative water content RWC, shoot growth rate, photosynthetic rate (P_N) and g_s . Data suggest that the lower values of allometric parameters observed in Mavrodafni grapevines might be attributed to the lower concentration of cytokinins. Water stress also caused a significant decrease in quantum yield of photosystem II (PSII) electron transport (Φ_{PSII}) and photosynthetic electron transport rates (ETR) while non-photochemical quenching (NPQ) increased in

both varieties. Sabatiano seemed to downregulate Φ_{PSII} through a NPQ increase. In contrast, results indicated that the reduction of Φ_{PSII} in Mavrodafni should be attributed to the significant higher rates of chlorophyll degradation. The exposure of Sabatiano plants to drought conditions resulted in significant increase in catalase (CAT) activity. The higher CAT activity in Sabatiano compared to Mavrodafni might be considered as an important mechanism of drought adaptation, conferring in plants of this variety greater protection against oxidative damage. In conclusion, our results suggest that the greater ability for drought adaptation in Sabatiano could be attributed either to the more efficient regulation of stomatal closure or to greater photo- and antioxidative protection.

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1

Γενική Εισαγωγή.....	1
1.1 Κλιματική αλλαγή και έλλειψη νερού.....	3
1.2 Αναγνώριση και μεταγωγή σημάτων κατά την υδατική καταπόνηση.....	3
1.2.1. Το ABA ως σήμα καταπόνησης και ρυθμιστής της στοματικής αγωγιμότητας.....	4
1.2.2. Ο ρόλος του pH στη μεταγωγή σημάτων καταπόνησης.....	5
1.2.3. Κυτοκινίνες ως σήματα καταπόνησης.....	9
1.2.4. Υδραυλικά σήματα.....	10
1.3 Υδατική καταπόνηση και φυτική παραγωγή.....	12
1.4 Ρύθμιση της φωτοσύνθεσης σε συνθήκες ξηρασίας.....	13
1.4.1. Φωτοσύνθεση σε συνθήκες ξηρασίας - Στοματικοί και μη στοματικοί παράγοντες.....	14
1.4.2. Διάχυση του CO ₂ στο μεσόφυλλο.....	18
1.5 Φωτοαναστολή και Φωτοπροστασία σε συνθήκες ξηρασίας.....	20
1.5.1. Μη-φωτοχημική απόσβεση σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.....	22
1.5.2. Η μεταφορά ηλεκτρονίων στο οξυγόνο σαν μηχανισμός απόσβεσης της πλεονάζουσας ενέργειας σε συνθήκες ξηρασίας.....	23
1.6 Οξειδωτική Καταπόνηση.....	25
1.6.1. Ενεργές μορφές οξυγόνου.....	26
1.6.2. Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί.....	29
1.6.3. Οξειδωτική καταπόνηση σε συνθήκες ξηρασίας.....	34

Κεφάλαιο 2

Σκοπός της εργασίας.....	37
2.1 Το κλίμα της Μεσογειακής λεκάνης και της Ελλάδος.....	39
2.2 Η καλλιέργεια της αμπέλου σε ένα μεταβαλλόμενο περιβάλλον.....	40
2.3 Υφιστάμενη κατάσταση και προοπτική της αμπελοκαλλιέργειας στην Ελλάδα και στην Ευρώπη.....	41
2.4 Η ελλειμματική άρδευση στην αμπελοκαλλιέργεια.....	45

2.5 Ο Σκοπός της Εργασίας.....	47
Κεφάλαιο 3	
Υλικά και Μέθοδοι.....	49
3.1 Φυτικό υλικό και εγκατάσταση του πειράματος.....	51
3.2 Μικροκλιματικά Δεδομένα.....	52
3.3 Υδροδυναμικές παράμετροι.....	54
3.3.1. Υδατικό δυναμικό.....	54
3.3.2. Σχετικό Υδατικό Περιεχόμενο.....	58
3.4 Φυσιολογικές Παράμετροι.....	58
3.4.1. Διαπνοή.....	58
3.4.2. Στοματική Αγωγιμότητα.....	59
3.4.3. Ρυθμός φωτοσύνθεσης.....	61
3.4.4. Εσωτερική συγκέντρωση CO_2	64
3.5 Φωτοχημικές Παράμετροι.....	65
3.5.1. Φθορισμός της Χλωροφύλλης.....	65
3.5.2. Μέγιστος ρυθμός μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR_{max}).....	70
3.5.3. Μη φωτοχημική απόσβεση (NPQ).....	70
3.6 Μέτρηση της φωτοαναπνοής με τις συνδυασμένες μετρήσεις του φθορισμού της χλωροφύλλης και της ανταλλαγής αερίων.....	71
3.7 Μέτρηση της χλωροφύλλης.....	72
3.8 Βιοχημικές παράμετροι.....	73
3.8.1. Εκχύλιση και προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φυτοορμονών.....	73
3.8.2. Εκχύλιση Πρωτεϊνών.....	74
3.8.3. Προσδιορισμός ολικών Πρωτεϊνών.....	75
3.8.4. Δοκιμή της δράσης της Καταλάσης (CAT).....	75
3.8.5. Δοκιμή της δράσης της ασκορβικής υπεροξειδάσης (APX).....	76
3.8.6. Δοκιμή της δράσης της υπεροξειδάσης του γλουταθείου (GPX).....	76
3.8.7. Δοκιμή της δράσης υπεροξειδικής δισμουτάσης(SOD).....	77
3.8.8. Προσδιορισμός οξείδωση λιπαρών οξέων.....	77
3.8.9. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης του H_2O_2	78
3.9.Στατιστική Ανάλυση.....	78

Κεφάλαιο 4

Η επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας και της μεθοδολογίας αφαίρεσης του ανερχόμενου χυμού στο pH του αγωγού ιστού σε δύο ποικιλίες αμπέλου που καλλιεργήθηκαν σε συνθήκες ξηρασίας.....	79
4.1 Περίληψη.....	81
4.2 Εισαγωγή.....	81
4.3 Υλικά και Μέθοδοι.....	83
4.3.1. Φυτικό υλικό, συνθήκες ανάπτυξης και χειρισμοί.....	83
4.3.2. Μέθοδος συλλογής του ανερχόμενου χυμού και μέτρηση του pH.....	84
4.3.3. Προσδιορισμός του αμπισισικού οξέος(ABA).....	85
4.3.4. Στατιστική ανάλυση.....	86
4.4 Αποτελέσματα.....	86
4.5 Συζήτηση.....	92
4.6 Συμπεράσματα.....	97

Κεφάλαιο 5

Διαφορές στη ρύθμιση της στοματικής λειτουργίας και στη μεταφορά σημάτων καταπόνησης από τη ρίζα στο βλαστό μεταξύ δύο ποικιλιών της αμπέλου που τέθηκαν σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.....	99
5.1 Περίληψη.....	101
5.2 Εισαγωγή.....	101
5.3 Υλικά και Μέθοδοι.....	103
5.3.1. Φυτικό υλικό και χειρισμοί.....	103
5.3.2. Υδατικές σχέσεις και ανταλλαγή αερίων.....	104
5.3.3. Προσδιορισμός του ABA και του pH.....	105
5.3.4. Στατιστική ανάλυση.....	105
5.4 Αποτελέσματα.....	106
5.5 Συζήτηση.....	113
5.6 Συμπεράσματα.....	116

Κεφάλαιο 6

Διαφοροποιημένη φυσιολογική, φωτοπροστατευτική και αντιοξειδωτική συμπεριφορά δυο ποικιλιών αμπέλου που υποβλήθηκαν σε συνθήκες περιορισμένης υδατικής διαίτας.....	119
---	-----

6.1 Περίληψη.....	121
6.2 Εισαγωγή.....	122
6.3 Υλικά και Μέθοδοι.....	124
6.3.1. Φυτικό υλικό και συνθήκες ανάπτυξης.....	124
6.3.2. Υδατικές σχέσεις των φυτών, φυσιολογικές και φθορομετρικές μετρήσεις....	125
6.3.3. Εκχύλιση ενζύμων.....	126
6.3.4. Οξείδωση των λιπαρών οξέων και συγκέντρωση H_2O_2	127
6.3.5. Ενεργότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων.....	127
6.3.6. Βλαστική ανάπτυξη και μέτρηση της περιεκτικότητας των χλωροφυλλών....	127
6.3.7. Στατιστική ανάλυση.....	127
6.4 Αποτελέσματα.....	128
6.4.1. Υδατική κατάσταση του φύλλου και μετρήσεις ανταλλαγής αερίων.....	128
6.4.2. Ανάπτυξη βλαστού, περιεκτικότητα χλωροφύλλης, διαλυτών πρωτεϊνών και φθορομετρικές αναλύσεις.....	130
6.4.3. Μεταβολές στη συγκέντρωση του H_2O_2 και της οξείδωσης των λιπαρών οξέων.....	137
6.4.4. Ενεργότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων στο φύλλο.....	139
6.5.Συζήτηση.....	141
6.6. Συμπεράσματα.....	149

Κεφάλαιο 7

Επίδραση χημικών σημάτων στη βλαστική ανάπτυξη και στην αποτελεσματικότητα χρήσης νερού δυο ποικιλιών αμπέλου κατά τη διάρκεια ελλειμματικής άρδευσης.....	152
7.1 Περίληψη.....	154
7.2 Εισαγωγή.....	154
7.3 Υλικά και Μέθοδοι.....	157
7.3.1. Φυτικό υλικό και πειραματικές συνθήκες.....	157
7.3.2. Υδατικές σχέσεις των φυτών, εδαφική υγρασία και μετρήσεις ανταλλαγής αερίων.....	157
7.3.3. Βλαστική ανάπτυξη, μέτρηση χλωροφυλλών και φθορισμός της χλωροφύλλης.....	159
7.3.4. Προσδιορισμός συγκέντρωσης των φυτοορμονών.....	159
7.3.5. Στατιστική ανάλυση.....	160

7.4 Αποτελέσματα.....	160
7.4.1. Υδατική κατάσταση φύλλου και βλαστική ανάπτυξη.....	160
7.4.2. Φωτοσυνθετική απόδοση και αποτελεσματικότητα χρήσης νερού.....	162
7.4.3. Συγκέντρωση του ABA και των κυτοκινινών στο φύλλο.....	166
7.5. Συζήτηση.....	171
7.6. Συμπεράσματα.....	174

Κεφάλαιο 8

Γενικά Συμπεράσματα.....	177
8.1 Γενικά Συμπεράσματα.....	179
8.2 Ερευνητικές προοπτικές στην οικοφυσιολογία της υδατικής καταπόνησης.....	181
8.3 Έρευνα και στρατηγικές εξοικονόμησης νερού.....	184
Βιβλιογραφία.....	187

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ-ΓΛΩΣΣΑΡΙΟ

3-PGA	3-φωσφορικός εστέρας του γλυκερινικού οξέος
AA	ασκορβικό οξύ
ABA	αποσκιστικό οξύ ή αμπισιστικό οξύ
APX	ασκορβική υπεροξειδάση
CAT	καταλάση
C _c	συγκέντρωση CO ₂ στο στρώμα των χλωροπλαστών
C _i	συγκέντρωση CO ₂ στην υποστοματική κοιλότητα
C _a	συγκέντρωση CO ₂ στην ατμόσφαιρα
DHZ	Διυδροζεατίνη
DHZR	Ριβοζυλοδιυδροζεατίνη
DHA	αφυδρογονωμένο ασκορβικό οξύ
DHAR	αφυδροασκορβική αναγωγή
DR	αναπνοή
DI	ελλειμματική άρδευση
DW	ξηρό βάρος
E	ρυθμός διαπνοής
ε	συντελεστής ελαστικότητας
ETC	εξαμισοδιαπνοή
ETR	ρυθμός μεταφοράς ηλεκτρονίων
F ₀	φθορισμός σε συνθήκες σκότους
F _m	μέγιστος φθορισμός
F _s	τρέχων φθορισμός
FNR	φερεδοξίνη
F _v / F _m	φωτοχημική αποτελεσματικότητα φωτοσυστήματος II
Φ _{PSII}	φωτονιακή συγκομιδή
g _m	μεσοφυλλική αγωγιμότητα
GR	αναγωγή της γλουταθειόνης
g _s	στοματική αγωγιμότητα
GSH	ανηγμένη μορφή γλουταθείου
GSSG	οξειδωμένη μορφή γλουταθείου
H ₂ O ₂	υπεροξείδιο του υδρογόνου
HNOO ⁻	υπεροξνιτρίλιο
HOCl ⁻	υποχλωριώδες οξύ
HOO ⁻	υδροπεροξύλιο
iP	ισοπεντενύλ-αδενίνη
iPA	ισοπεντενύλ-αδενοσίνη
MDA	μαλονδιαλδεύδη

MDHAR	μονοαφυδρογονωμένη ασκορβική αναγωγή
NO [•]	μονοξειδίο του αζώτου
NO ₂ ⁻	διοξειδίο του αζώτου
NPQ	μη – φωτοχημική απόσβεση
O ₂ ⁻	υπεροξειδική ανιονική ρίζα
O ₂	μοριακό οξυγόνο
O ₃	όζον
•OH	υδροξυλική ρίζα
π ₁₀₀	οσμωτικό δυναμικό σε πλήρη σπαργή
P ₆₈₀	κέντρο αντίδρασης φωτοσυστήματος II
P ₇₀₀	κέντρο αντίδρασης φωτοσυστήματος I
PEG	πολυαιθυλενογλυκόλη
PEP	φωσφοενολική μορφή του πυροσταφυλικού οξέος
P _N	Φωτοσυνθετικός ρυθμός
PPFD	φωτοσυνθετική ροή φωτονίων
PR	φωτοαναπνοή
PRD	μερική ξήρανση του ριζικού συστήματος
PSII	photosystem II
Q _A , Q _B	κουϊνόνες - αποδέκτες ηλεκτρονίων στις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης
RD [•]	μιτοχονδριακή αναπνοή
RDI	ρυθμιζόμενη ελλειμματική άρδευση
RH	σχετική υγρασία
r _m	μεσοφυλλική αντίσταση
RO [•]	αλκοξυλική ρίζα
ROO [•]	υπεροξύλιο
ROS	ενεργές μορφές οξυγόνου
Rubisco	καρβοξυλάση της 1,5-διφωσφορικής ριβουλόζης
RuBP	1,5-διφωσφορικός εστέρας της ριβουλόζης
RWC	σχετικό υδατικό περιεχόμενο
SA ⁻	ρίζα σαλικυλικού οξέως
SGR	ρυθμός ανάπτυξης βλαστού
SP	διαλυτές πρωτεΐνες
SOD	υπεροξειδική δισμουτάση
SPS	φωσφορική σουκρόζη
T _a	θερμοκρασία
TBA	θειοβαρβιτουρικό οξύ
VPD	υδατικό έλλειμμα ατμόσφαιρας
WUE	αποτελεσματικότητα χρήσης νερού
WUE _i	ενδογενής αποτελεσματικότητα χρησιμοποίησης νερού

Ψ	υδατικό δυναμικό
Ψ_{leaf}	υδατικό δυναμικό του φύλλου
Ψ_{M}	τριχοειδές δυναμικό
Ψ_{MD}	υδατικό δυναμικό μεσημβρίας
Ψ_{PD}	υδατικό δυναμικό βάσης
Ψ_{S}	ωσμωτικό δυναμικό
Ψ_{soil}	υδατικό δυναμικό του εδάφους
Ψ_{II}	οσμωτικό δυναμικό
Ψ_{P}	δυναμικό σπαργής
Z	ζεατίνη
ZR	ριβοζυλοζεατίνη

Κεφάλαιο 1

Γενική Εισαγωγή

1

1.1 Κλιματική αλλαγή και έλλειψη νερού

Οι επαπειλούμενες μεταβολές του κλίματος παγκοσμίως αναμένεται να έχουν σημαντικές συνέπειες στη γεωργική παραγωγή. Τα τελευταία 55 χρόνια ως συνέπεια της κλιματικής αλλαγής ήταν η θερμοκρασία να αυξηθεί σημαντικά σε πολλές γεωργικές περιοχές της γης (Jones et al., 2005). Όλα τα μοντέλα πρόγνωσης εισηγούνται ότι η υπερθέρμανση του πλανήτη θα συνεχιστεί (IPCC 2007). Από την άλλη μεριά, οι προβλέψεις που αφορούν την ένταση και την χωροχρονική κατανομή των βροχοπτώσεων εμφανίζουν υψηλό ποσοστό αβεβαιότητας. Σύμφωνα με τους ειδικούς η ποιότητα και η διαθεσιμότητα του νερού, θα αποτελέσουν κρίσιμα προβλήματα για τις κοινωνίες και το περιβάλλον (IPCC 2008). Η αύξηση της θερμοκρασίας, σε συνδυασμό με την ενδεχόμενη μείωση των βροχοπτώσεων ή την ακανόνιστη κατανομή τους, θα οδηγήσουν σε υποβάθμιση των εδαφών και τελικά στην εγκατάλειψη τους (IPCC 2008). Η ερημοποίηση συχνά συνοδεύεται με αλατότητα του εδάφους η οποία στις μέρες μας επηρεάζει πάνω από 7% της συνολικής παγκόσμιας εδαφικής έκτασης και περίπου 20-50% της παγκόσμιας καλλιεργήσιμης (IPCC 2008). Αν λάβουμε υπόψη τις επερχόμενες κλιματικές αλλαγές ιδιαίτερα στις περιοχές όπου οι καλλιέργειες χρησιμοποιούν τους λιγοστούς πόρους που υπάρχουν, κυρίως από τις βροχοπτώσεις, το ενδιαφέρον για την άρδευση, εμφανίζεται σήμερα ιδιαίτερα αυξημένο.

Είναι λοιπόν, περισσότερο από ποτέ αναγκαία η κατανόηση των φυσιολογικών μηχανισμών που καθορίζουν την αλληλεπίδραση του φυτού με το περιβάλλον. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί δίνοντας βαρύτητα στην έρευνα, η οποία μπορεί να δώσει λύσεις στην ανάπτυξη αειφόρων και βιώσιμων συστημάτων σε ένα συνεχώς μεταβαλλόμενο περιβάλλον.

1.2 Αναγνώριση και μεταγωγή σημάτων κατά την υδατική καταπόνηση

Μια αποτελεσματική αντίδραση των φυτών στις αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, προϋποθέτει ικανότητα των κυττάρων να αντιλαμβάνονται γρήγορα τα εξωτερικά σήματα μιας καταπόνησης. Διασυστηματικά σήματα παράγονται από ιστούς που εκτίθενται σε κάποια μορφής βιοτικού ή αβιοτικού στρες και δρουν συντονισμένα με άλλες αποκρίσεις του φυτού, στα πλαίσια των ρυθμίσεων του μεταβολισμού και της ανάπτυξης. Σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης αυτές οι αντιδράσεις του φυτού ενεργοποιούνται, πρωτίστως από σήματα ωσμωτικής καταπόνησης (Chaves et al., 2003) και δευτερευόντως από σήματα-μεταβολίτες οι οποίοι παροδικά αυξάνονται ή

μειώνονται. Τα κυριότερα σήματα που παράγονται και μεταφέρονται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης για τη ρύθμιση της φυτικής ανάπτυξης και της στοματικής συσκευής είναι βιοχημικής και υδραυλικής φύσεως. Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία ότι οι αλλαγές που συμβαίνουν στην υδραυλική αγωγιμότητα και την υδροστατική πίεση παίζουν σπουδαίο ρόλο στον έλεγχο της φυσιολογικής απόκριση των φυτών στην ξηρασία (Liu et al., 2003; Saliedra et al., 1995). Ανάμεσα στους σημαντικότερους βιοχημικούς παράγοντες που δρουν ως αγγελιοφόροι μηνυμάτων υδατικής καταπόνησης περιλαμβάνεται, το ABA (αμπισισικό οξύ ή αποπτωτικό ή ορμόνη απόπτωσης), οι κυτοκινίνες, το pH του ανιόντος χυμού στο ξύλωμα, το αιθυλένιο, οι ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS) και διάφοροι δευτερογενείς ρυθμιστές όπως φωσφολιπίδια, σάκχαρα κ.α.

1.2.1. Το ABA ως σήμα καταπόνησης και ρυθμιστής της στοματικής αγωγιμότητας

Η σχέση μεταξύ υδατικού δυναμικού και στοματικής αγωγιμότητας έχει διερευνηθεί στα περισσότερα φυτικά είδη. Από την άλλη πλευρά, πολλές έρευνες έδειξαν ότι κατά τη διάρκεια ήπιας υδατικής καταπόνησης, η λειτουργία της στοματικής συσκευής μπορεί να ρυθμιστεί και από χημικά σήματα ριζικής προέλευσης. Είναι γνωστό, ότι το ABA είναι ικανό να επάγει το κλείσιμο των στομάτων (Jones and Mansfield 1970) καθώς επίσης και ότι η μείωση του υδατικού δυναμικού των φυτικών ιστών μπορεί να προκαλέσει συσσώρευση ABA στα φυτικά κύτταρα (Wright 1977). Τα τελευταία χρόνια, έχει δοθεί ιδιαίτερη βαρύτητα στην έρευνα για τον ρόλο που παίζει το ABA στη ρύθμιση της στοματικής συσκευής σε συνθήκες έλλειψης νερού στο έδαφος. Το ABA ως χημικό σήμα προερχόμενο από τη ρίζα αποτελεί τον κυρίαρχο παράγοντα στον έλεγχο της συμπεριφοράς των στομάτων (Davies and Zhang 1991; Schroeder et al., 2001; Wilkinson and Davies 2002). Η φυτοορμόνη αυτή παράγεται στις ρίζες που είναι σε επαφή με το ξηρό έδαφος, μεταφέρεται με το ρεύμα της διαπνοής στο βλαστό μέσω των ξυλωδών αγγείων και από εκεί κοντά στην υποστοματική κοιλότητα των φύλλων (Davies and Zhang 1991; Borel et al., 2001). Έπειτα δεσμεύεται σε ειδικούς υποδοχείς στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης των καταφρακτικών κυττάρων (Hartung 1983; Wilkinson and Davies 1997) και προκαλεί μείωση στη σπαργή η οποία οδηγεί στο κλείσιμο των στομάτων. Με άλλα λόγια, τα φυτά «αντιλαμβάνονται» με κάποιο τρόπο την έλλειψη νερού και στέλνουν σήμα στα φύλλα, ώστε να κλείσουν τα στόματα για να μειώσουν τις απώλειες νερού.

Ωστόσο, το ABA που δρα στα καταφρακτικά κύτταρα, μπορεί να μην προέρχεται εξ' ολοκλήρου από τη ρίζα. Πρόσφατα η έρευνα έδειξε ότι το ABA που συγκεντρώνεται στην υποστοματική κοιλότητα, μπορεί να παράγεται στα φύλλα κάποιων φυτικών ειδών (Jones et al., 1987; Fambrini et al., 1995; Cutler and Krochko 1999; Holbrook et al., 2002). Μια κλασική απόδειξη της ύπαρξης σημάτων καταπόνησης μπορεί να επιτευχθεί με το διαχωρισμό του ριζικού συστήματος του φυτού σε δύο ανεξάρτητα δοχεία με χώμα. Έτσι η μείωση της άρδευσης στη μία πλευρά του ριζικού συστήματος μπορεί να προκαλέσει μεταβολή της στοματικής αγωγιμότητας (Blackman and Davies 1985) και της φυλλικής επιφάνειας, χωρίς να μεταβληθεί το υδατικό δυναμικό του φύλλου (Gowing et al., 1990). Οι ρίζες που είναι σε επαφή με το ξηρό έδαφος συνθέτουν ABA με μεγαλύτερο ρυθμό, από αυτόν που συνθέτουν οι ρίζες που βρίσκονται σε υγρό έδαφος (Zhang and Davies 1987; Zhang and Davies 1989). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, την αύξηση της συγκέντρωσης του ABA που εισέρχεται στο διαπνευστικό ρεύμα και έπειτα στα φύλλα (Zhang and Davies 1989). Η στοματική λειτουργία και η φυλλική ανάπτυξη, μπορεί να ρυθμιστούν αποτελεσματικά από το ρεύμα της διαπνοής, διότι το τελευταίο συνδέει τις ρίζες και τα στομάτα του φύλλου. Γνωρίζουμε εδώ και πολύ καιρό, ότι με τεχνητό τρόπο αύξηση του ABA στο διαπνευστικό ρεύμα μειώνει την αγωγιμότητα των στομάτων (Loveys and During 1984). Από την άλλη μεριά, είναι σημαντικό ότι στη βιβλιογραφία απαντάται μεγάλη διαφοροποίηση όσον αφορά την ευαισθησία της στοματικής συσκευής σε μια δεδομένη συγκέντρωση ABA στον αγωγό ιστό μεταξύ των φυτικών ειδών (Correia and Pereira 1995). Αυτό μπορεί να σχετίζεται με τη ένταση της υδατικής καταπόνησης που προκαλείται λόγω του υδατικού ελλείμματος της ατμόσφαιρας (Tardieu and Davies 1992; Tardieu and Davies 1993).

Οι τιμές του pH είναι δυνατόν να επηρεάσουν την ευαισθησία των στομάτων στο ABA, μεταβάλλοντας τη διαμερισματοποίησή του με τρόπο ώστε η συγκέντρωση του να αυξηθεί αποτελεσματικά στους υποδοχείς των καταφρακτικών κυττάρων. Η υδατική καταπόνηση επιφέρει αλλαγές στο pH του αγωγού ιστού (xylem sap), το οποίο από μόνο του αποτελεί σήμα καταπόνησης ή παράγοντα, που επηρεάζει την ευαισθησία της στοματικής συσκευής στο ABA (Wilkinson et al., 1998).

1.2.2. Ο ρόλος του pH στη μεταγωγή σημάτων καταπόνησης

Σε συνθήκες ξηρασίας οι μεταβολές που παρατηρούνται στις τιμές του pH του αγωγού ιστού μπορεί να αποτελέσουν από μόνες τους ή συνεργιστικά με το ABA, σημαντικό παράγοντα στη μεταγωγή σημάτων από τη ρίζα στο βλαστό (Schachtman

anf Goodger 2008). Το ABA είναι ασθενές οξύ ($pK = 4.7$) και μπορεί να πρωτονιώνεται και να αποπρωτονιώνεται σε ένα ευρύ φάσμα τιμών του pH, που απαντάται στον αποπλάστη των φύλλων. Αυτό έγινε φανερό στις αρχές της δεκαετίας του 80 σε πειράματα με πρωτοπλάστες του μεσόφυλλου, στους οποίους διαπιστώθηκαν υψηλοί ρυθμοί απορρόφησης του ABA σε όξινο pH, ενώ δεν παρατηρήθηκε σχεδόν καμία απορρόφηση σε pH 7.5. (Kaiser and Hartung 1981). Η κατανομή του ABA στο μεσόφυλλο ανάμεσα στον αποπλάστη και τον συμπλάστη, φαίνεται να εξαρτάται σημαντικά από τις τιμές του pH (Kaiser and Hartung 1981; Hartung et al., 1988; Hartung and Radin 1989). Από έρευνες προσδιορίστηκε η απορρόφηση του ABA σε σχέση με το pH σε απομονωμένα κύτταρα ή ιστούς και δημιούργησε ένα μαθηματικό μοντέλο, το οποίο προβλέπει πως η αύξηση του pH στον αποπλάστη του φύλλου λόγω μιας υδατικής καταπόνησης, μπορεί να είναι αρκετή για να επάγει το κλείσιμο των στομάτων (Slovic and Hartung 1992a; 1992b). Σε πολλά φυτικά είδη βρέθηκε πως το pH του αγωγού ιστού, γίνεται πιο αλκαλικό σε συνθήκες ξηρασίας κι αυτό προκαλεί το κλείσιμο των στομάτων και μείωση της ανάπτυξης (Gollan et al., 1992; Hartung et al., 1998; Wilkinson and Davies 1997). Για παράδειγμα οι Hartung και Radin (1989) παρατήρησαν ότι το pH του αγωγού ιστού στις ρίζες του *Phaseolus coccineus* σε συνθήκες έλλειψης νερού αυξήθηκε από 6.3 σε 7.2. Οι Gollan et al. (1992) βρήκαν ότι σε πλήρως αρδευόμενα φυτά αραβοσίτου, το pH στο ξύλωμα του βλαστού κυμαίνονταν από 5.8 σε 6.6, ενώ σε φυτά όπου υπήρχε έλλειψη νερού, οι τιμές του pH αυξήθηκαν στο 7.

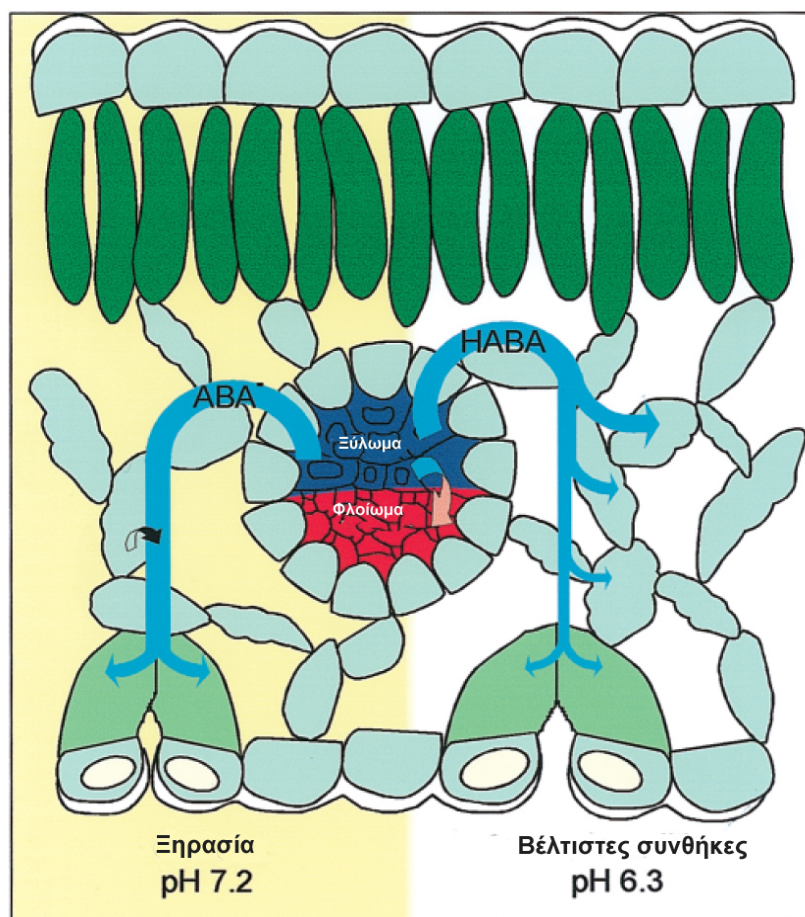
Τα δεδομένα του Wilkinson και Davies (1997), ενισχύουν την άποψη πως το pH μπορεί να δράσει ως σήμα υδατικής καταπόνησης και να ρυθμίσει αποτελεσματικά τη στοματική λειτουργία. Στη παραπάνω έρευνα σε φυτά του είδους *Commelina communis* που υποβλήθηκαν σε ξηρασία, η τιμή του pH αυξήθηκε στο ξύλωμα από 6.1 σε 6.7. Επίσης, φύλλα του ίδιου είδους που υποβλήθηκαν σε τεχνητά διαλύματα με διαφορετικό pH, εμφάνισαν μείωση κατά 50% στη διαπνοή τους όταν η τιμή του pH αυξήθηκε από το 6 στο 7. Σε μια άλλη έρευνα σε φυτά τομάτας οι Wilkinson et al. (1998), έδειξαν πως με τη μείωση του διαθέσιμου νερού στο έδαφος, η τιμή του pH στον αγωγό ιστό αυξήθηκε από 5 στο 8 (Wilkinson and Davies 1997). Επίσης σε αυτή την έρευνα φύλλα γενετικώς τροποποιημένων φυτών *flacca* που δεν συνθέτουν ABA, τοποθετούμενα σε τεχνητά διαλύματα με αυξημένο pH δεν εμφάνισαν μείωση στη διαπνοή, ενώ αντίθετα φύλλα μη γενετικώς τροποποιημένων φυτών στις ίδιες συνθήκες εμφάνισαν μείωση της διαπνοής με την αύξηση του pH. Στα φύλλα των γενετικών

τροποποιημένων φυτών στα οποία προστέθηκε τεχνητός προστέθηκε μικρή συγκέντρωση ABA, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στη διαπνοή των φύλλων όταν το pH αυξήθηκε από 6.25 σε 7.75. Αυτά τα δεδομένα αποδεικνύουν ότι στη ρύθμιση της στοματικής συσκευής από το pH του αγωγού ιστού, είναι απολύτως αναγκαία η παρουσία του ABA (Wilkinson et al., 1998; Bacon et al., 1998).

Σε κάποια φυτικά είδη, όταν μειώνεται το διαθέσιμο νερό στο έδαφος το pH του αγωγού ιστού γίνεται πιο αλκαλικό και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του pH του αποπλάστη στο φύλλωμα. Το ABA που φτάνει από τη ρίζα μέσω του ξυλωδών αγγείων στο μεσόφυλλο μένει αποπρωτονιομένο σε αλκαλικές συνθήκες και δεν απορροφάται παθητικά από τα κύτταρα του μεσόφυλλου. Έτσι το ABA, που δεν εισέρχεται στα κύτταρα του μεσόφυλλου συσσωρεύεται στον αποπλάστη. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, περισσότερο ABA να φτάνει στα καταφρακτικά κύτταρα και να προκαλεί τη μείωση της στοματικής αγωγιμότητας (Εικόνα 1.1). Σε συνθήκες επάρκειας νερού τα φυτά εμφανίζουν όξινες τιμές αποπλασματικού νερού, έτσι ώστε το ABA παθητικά να εισέρχεται στον συμπλάστη και να μεταβολίζεται, με συνέπεια η αποπ्लाστική συγκέντρωσή του να μειώνεται σημαντικά. Η επίδραση του pH στη συγκέντρωση του ABA προκαλείται, αφενός μεν δια της συσσώρευσης του στον αποπλάστη και αφετέρου δε, δια της εντονότερης επίδρασης του στα καταφρακτικά κύτταρα (Hartung et al., 1988; Wilkinson and Davies 2002). Εκτός από την εξαρτώμενη από το pH απομάκρυνση του ABA από τον αποπλάστη, η ευαισθησία της στοματικής συσκευής μπορεί να σχετίζεται και με τη δέσμευση του ABA στους υποδοχείς των καταφρακτικών κυττάρων. Η μεγαλύτερη δέσμευση που επιτυγχάνεται μεταξύ του ABA και των υποδοχών του, έχει αναφερθεί ότι συμβαίνει σε pH από 6 έως 8 και εξαρτάται από τα διαφορετικούς ιστούς ή διαφορετικά φυτικά είδη (Ren et al., 2007). Επομένως η αύξηση του pH πάνω από την τιμή 6 (η τιμή αυτή συνήθως απαντάται στο pH του αγωγού ιστού), ίσως να είναι ικανή να ενισχύσει τη στοματική ευαισθησία στο ABA που παράγεται στη ρίζα (Hornberg and Weiler 1984; Fawzi et al., 2004).

Τα τελευταία χρόνια, φαίνεται να γίνεται κατανοητός ο ρόλος του pH κατά τη μεσολάβηση του στο σύστημα μεταγωγής σημάτων από τη ρίζα στο βλαστό των φυτών (Wilkinson 1999). Ωστόσο, είναι σημαντικό να τονιστεί πως είναι εξαιρετικής σημασίας η προσοχή που πρέπει να δοθεί στην ιδιαίτερη επίδραση του pH στη στοματική ρύθμιση ή σε άλλη λειτουργία του φύλλου λόγω του ότι, διαφορετικά φυτικά είδη ή ακόμη διαφορετικοί γενότυποι μέσα στο ίδιο είδος, συνήθως παρουσιάζουν διαφορετική συμπεριφορά στο pH κατά τη διάρκεια μιας υδατικής καταπόνησης (Ren

et al., 2007; Schachtman and Goodger 2008). Σε μία μελέτη όπου συγκρίθηκε το *C. communis* και το *Arabidopsis thaliana* βρέθηκε ότι η αύξηση του pH σε εξωτερικά διαλύματα οδήγησε σε 27% αύξηση της στοματικής αγωγιμότητας στο *C. Communis*, αλλά δεν είχε καμιά επίδραση στο *A. Thaliana* (Prokic et al., 2006). Παρόλα αυτά και τα δύο παραπάνω είδη αντέδρασαν όμοια στην παρουσία ABA. Σε φυτά σόγιας (*Glycine max*), το pH του αγωγού ιστού δεν μεταβλήθηκε σε συνθήκες ήπιας υδατικής καταπόνησης και δεν συσχετίστηκε με τη μείωση της αγωγιμότητας των στομάτων στα αρχικά στάδια της καταπόνησης. Επιπλέον, ενώ το pH του αγωγού ιστού των παραπάνω φυτών έγινε περισσότερο αλκαλικό σε παρατεταμένη ξηρασία το κλείσιμο των στομάτων επιτεύχθηκε πολύ πριν από αυτή τη μεταβολή (Liu et al., 2003).



Εικόνα 1.1. Διάγραμμα τομής φύλλου το οποίο δείχνει τη ροή του ABA από το ξύλωμα στα καταφρακτικά κύτταρα (κύτταρα στόχοι). Σε βέλτιστες συνθήκες ($\text{pH}_{\text{ανερχόμενου χυμού}} 6.3$), το ABA κατανέμεται στο μεσόφυλλο και την επιδερμίδα σύμφωνα με την παγίδευση ανιόντων (anion trapping). Στην ξηρασία ($\text{pH}_{\text{ανερχόμενου χυμού}} 7.2$), η συγκέντρωση του ABA που φτάνει στα καταφρακτικά κύτταρα είναι υψηλή (Πηγή: Sauter et al., 2001).

Η αντίδραση του pH του αγωγού ιστού στην έλλειψη νερού, δεν φαίνεται να είναι όμοια όχι μόνο μεταξύ των φυτικών ειδών αλλά και μεταξύ των διαφορετικών πειραμάτων που πραγματοποιούνται για ένα είδος. Παράδειγμα, η έλλειψη νερού αύξησε το pH του αγωγού ιστού σε φυτά τομάτας και στο *C. communis* και σε φυτά κριθαριού, ενώ αντίθετα δεν είχε καμιά επίδραση στο pH του αγωγού ιστού του *Hydrangea macrophylla* cv Bluewave και *Cotinus coggyria* cv Royal Purple (Wilkinson and Davies 2002). Σε φυτά του *Forsythia intermedia* cv Lynwood, η ξηρασία μείωσε το pH του αγωγού ιστού (Wilkinson and Davies 2002). Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι το pH του αγωγού ιστού στο *C. communis* και στον ηλιάνθο, δεν μεταβλήθηκε σημαντικά με την έλλειψη νερού στο έδαφος ενώ αντίθετα αυξήθηκε σε φυτά τομάτας (Jia and Davies 2007). Σε φυτά αραβοσίτου (*Zea mays*) όταν χρησιμοποιήθηκε αμμωνία ως πηγή αζώτου, στα πρώτα στάδια της υδατικής καταπόνησης, δεν υπήρχε αλλαγή στο pH του αγωγού ιστού (Goodger et al., 2005).

Όπως είδαμε παραπάνω, η στοματική ευαισθησία σε σήματα που παράγει η ρίζα μπορεί να διαφέρει σημαντικά μεταξύ των φυτικών ειδών. Αυτή η διαφορά, μπορεί να οφείλεται ακόμη και στη διαφορετική ένταση του στρες που επιβάλλεται στα φυτά, στο χρόνο συλλογής των δειγμάτων κατά τη διάρκεια της καταπόνησης και/ή στη διαφορετική μέθοδο που χρησιμοποιείται για τη συλλογή του δείγματος ανερχόμενου χυμού καθώς επίσης και από την διαθεσιμότητα αζώτου στο έδαφος εκχυλίσματος που βρίσκεται στο ξύλωμα των φυτών (Bacon et al., 1998; Liu et al., 2005).

1.2.3. Κυτοκινίνες ως σήματα καταπόνησης

Οι κυτοκινίνες, μπορεί να παίξουν σημαντικό ρόλο στο μηχανισμό αντίληψης και προσαρμογής των φυτικών οργανισμών σε μια καταπόνηση. Πολλές φορές είναι δυνατόν να ενεργούν οι ίδιες ως αγγελιοφόροι του σήματος της καταπόνησης κατά τη μετακίνηση τους από τη ρίζα προς το βλαστό. Επίσης, οι κυτοκινίνες είναι δυνατόν να δράσουν συνεργηστικά ή ανταγωνιστικά με άλλους μηχανισμούς αντίληψης και μεταγωγής περιβαλλοντικών σημάτων. Η ρίζα παράγει κυτοκινίνες σαν αντίδραση στην έλλειψη θρεπτικών στοιχείων (Schachtman and Shin 2007) και στην ξηρασία (Sakakibara 2006). Ωστόσο, υπάρχουν ελάχιστες αναφορές που δίνουν πληροφορίες για την περιεκτικότητα των κυτοκινινών στο ξύλωμα και κατά πόσο αυτή μεταβάλλεται σε συνθήκες ξηρασίας. Όταν φυτά της αμπέλου υποβλήθηκαν σε μερική ξήρανση του ριζικού συστήματος (partial root drying, PRD), βρέθηκε μείωση της ζεατίνης (Z) και της ριβοζυλοζεατίνης (ZR) κατά 50% (Stoll et al., 2000). Σε πιο πρόσφατες μελέτες

όπου μετρήθηκε η Z, ZR και το νουκλεοτίδιο της ζεατίνης (ZN) σε φυτά τομάτας που υποβλήθηκαν σε PRD, μειώθηκε η περιεκτικότητα σε ZN του αγωγού ιστού, αλλά το μέγεθος και η συμβολή αυτής της μεταβολής στη συνολική περιεκτικότητα σε κυτοκινινών δεν παρουσιάστηκε (Kudoyarova et al., 2007). Σε τουλάχιστον δύο μελέτες στον ηλίανθο, οι συνολικές συγκεντρώσεις Z και ZR καθώς και ισοπεντενυλ-αδενίνης (iP) και ισοπεντενυλ-αδενοσίνης (iPA) στο ξύλωμα, μειώθηκαν σε συνθήκες ξηρασίας (Hansen and Dörfling 2003). Είναι πιθανό ο λόγος ABA/κυτοκινίνες στο ξύλωμα, να είναι σημαντικός στη μεταγωγή σημάτων καταπόνησης (Hansen and Dörfling 1999; Dodd 2003). Σε γενετικώς τροποποιημένα φυτά όπου υπήρχε υπερέκφραση του ενζύμου ισοπεντενυλ-τρανσφεράση, η διαπνοή ήταν υψηλότερη και συνδέονταν με την παραγωγή μεγαλύτερης συγκέντρωσης κυτοκινινών έπειτα από έκθεση των φυτών σε υψηλή θερμοκρασία (Terpova et al., 2000). Οι κυτοκινίνες στο ξύλωμα μπορεί να μειώνουν τη στοματική ευαισθησία στο ABA (Radin et al., 1982). Επίσης, η υψηλή συγκέντρωση τους στο διαπνευστικό ρεύμα, συμβάλλει άμεσα στο άνοιγμα των στοματικών πόρων στα φύλλα (Incoll and Jewer 1987). Παρόλο που τα τελευταία δεδομένα δείχνουν μείωση στη συγκέντρωση των κυτοκινινών σε συνθήκες έλλειψης νερού, δεν έχει διευκρινιστεί ακόμη αν όλα τα φυτά αντιδρούν με τον ίδιο τρόπο στις συγκεντρώσεις των κυτοκινινών του φυλλώματος ή των καταφρακτικών κυττάρων (Dodd 2003).

Ακόμη, δεν έχει κατανοηθεί πλήρως ο ρόλος των κυτοκινινών στις διάφορες καταπονήσεις διότι η πολυπλοκότητα και η πολυμορφία τους κάνει δύσκολη τη διερεύνηση τους (Davies et al. 2005). Σε πρόσφατες μελέτες σε φυτά αραβόσιτου, που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ξηρασίας βρέθηκε μείωση στη συγκέντρωση της Z και ZR στο διαπνευστικό ρεύμα του αγωγού ιστού σε σύγκριση με τα πλήρως αρδευόμενα φυτά (Alvarez et al., 2008).

1.2.4. Υδραυλικά σήματα

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα τελευταία χρόνια η ύπαρξη και ο ρόλος των χημικών σημάτων καταπόνησης έχει αρχίσει να γίνεται κατανοητός (Davies and Zhang 1991; Davies et al., 1994; Sauter et al., 2001; Hartung et al., 2002; Wilkinson and Davies 2002). Συγχρόνως, υπάρχουν πολλά δεδομένα στη βιβλιογραφία που επίσης ενισχύουν την παρουσία των υδραυλικών σημάτων στο φυτό, κατά την απόκριση του στην υδατική καταπόνηση (Peterson et al., 1991; Saliendra et al., 1995; Fuchs and Livingston 1996; Comstock and Mencuccini 1998; Yao et al., 2001; Comstock 2002;

Sperry et al., 2002). Σύμφωνα με το νόμο του Ohm, η στοματική αγωγιμότητα στο συνεχόμενο σύστημα έδαφος-φυτό-ατμόσφαιρα δίνεται από την εξίσωση: $g_s = K_I(\Psi_{soil} - \Psi_{leaf})/D$, όπου το D είναι η διαφορά της τάσης των ατμών ύδατος στον αέρα σε σχέση με το φύλλο, g_s η υδατική αγωγιμότητα των στομάτων, K_I η υδραυλική αγωγιμότητα και το Ψ_{soil} και Ψ_{leaf} το υδατικό δυναμικό του εδάφους και του φύλλου αντίστοιχα (Comstock 2002). Η παραπάνω εξίσωση, δείχνει ότι σε συνθήκες ξηρασίας η υδατική αγωγιμότητα των στομάτων σχετίζεται με την υδραυλική αγωγιμότητα, όταν το Ψ_I πλησιάζει μια σταθερή ελάχιστη τιμή. Σε πειράματα *in situ* βρέθηκε ότι όντως τα υδραυλικά σήματα μπορεί να παίζουν κυρίαρχο ρόλο στη ρύθμιση του ανοίγματος του στοματικού πόρου, ωστόσο η παραπάνω εξίσωση υποδηλώνει ότι η υδατική αγωγιμότητα των στομάτων δεν ελέγχεται απόλυτα από τα υδραυλικά σήματα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι δεν μπορούμε να προσδιορίσουμε με βεβαιότητα αν η υδραυλική αγωγιμότητα του αγωγού ιστού επηρεάζει τη στοματική αγωγιμότητα ή το αντίστροφο (Ren et al., 2007). Επίσης, μπορεί να αμφισβητηθεί το γεγονός ότι η στοματική αντίδραση στην πίεση που ασκείται από τη ρίζα προέρχεται από υδραυλικά σήματα και όχι από μηχανικές επιδράσεις στα καταφρακτικά κύτταρα (Ren et al., 2007). Έτσι καθίσταται προφανής η αναγκαιότητα ανάληψης ερευνητικών προσπαθειών ώστε να απαντηθεί το ερώτημα, κατά πόσο η αντίδραση του στοματικού πόρου αντιδρά άμεσα στις αλλαγές της υδραυλικής αγωγιμότητας. Όπως συζητήθηκε παραπάνω, κατά τη διάρκεια μιας υδατικής καταπόνησης, χημικά και υδραυλικά σήματα φαίνεται να εμπλέκονται στη μεταγωγή σημάτων από τη ρίζα προς το υπέργειο τμήμα των φυτών. Μελέτες που έγιναν από τους Tardieu et al. (1992) και Tardieu and Davies (1993), υποστηρίζουν πως τα δύο διαφορετικά είδη σημάτων αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και επηρεάζουν ανάλογα και τη στοματική συμπεριφορά. Προς διερεύνηση του κυρίαρχου μηχανισμού που επάγει κλείσιμο των στομάτων υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης τμήματα επιδερμικού ιστού προερχόμενα από το φυτό *Commelina communis* τοποθετήθηκαν σε υποστρώματα πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG) υπό διαφορετικές τιμές υδατικού δυναμικού. Στο υπόστρωμα χωρίς ABA, μεταβολές του υδατικού δυναμικού από -0.3 σε -1.5 MPa δεν είχε καμία επίδραση στο στοματική αγωγιμότητα ενώ αντιθέτως η παρουσία ABA στο υπόστρωμα είχε σαν αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση του στοματικού ανοίγματος. Τα παραπάνω συνηγορούν υπέρ της στοματικής ευαισθησίας στη παρουσία του ABA, η οποία φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από το υδατικό δυναμικό (Tardieu and Davies 1993). Παρόμοια αποτελέσματα έγιναν σε φυτά, όταν καλλιεργήθηκαν σε συνθήκες αγρού και τεχνητά

διοχετεύτηκε ABA, υπό διαφορετικές τιμές υδατικού δυναμικού του φύλλου (Tardieu and Davies 1993). Εκτός από την επίδραση του υδατικού δυναμικού του φύλλου στην ευαισθησία της στοματικής συσκευής στο ABA, τα υδραυλικά σήματα δύναται να επηρεάζουν άμεσα τη λειτουργία των στομάτων για το λόγο ότι μπορούν να μεταβάλλουν τη συγκέντρωση ή τη ροή των χημικών σημάτων μέσω αλλαγών της ροής του διαπνευστικού ρεύματος (Tardieu and Davies 1993). Η ιδέα, ότι η ευαισθησία της στοματικής συσκευής στα χημικά σήματα μπορεί να μεταβληθεί από τα υδραυλικά σήματα, φαίνεται να συμφιλιώνει τη διαμάχη που υπήρχε ανάμεσα στις αναφορές για την ύπαρξη αμιγώς χημικών ή υδραυλικών σημάτων. Παρ' όλα αυτά, ανεξαρτήτως πιο είδος σήματος παίζει κυρίαρχο ρόλο στη ρύθμιση της στοματικής συσκευής, ακόμη υπάρχει διαφωνία μεταξύ των ερευνητών για την ύπαρξη και το ρόλο αυτών των σημάτων. Το πιο πιθανό σενάριο είναι ότι τόσο τα χημικά όσο και τα υδραυλικά σήματα μπορεί να παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της στοματικής συσκευής. Αυτό μπορεί να εξαρτηθεί από τα διαφορετικά στάδια που περνά το φυτό κατά τη διάρκεια της υδατικής καταπόνησης (Ren et al., 2007). Ωστόσο, η συμπεριφορά των σημάτων μπορεί να διαφέρει ανάμεσα στα φυτικά είδη η ακόμη και ανάμεσα σε ποικιλίες ενός είδους. Για κάποια είδη, είναι σημαντικό να καθοριστεί το στάδιο της υδατικής καταπόνησης, όπου τα χημικά ή τα υδραυλικά σήματα παίζουν τον κυρίαρχο ή συνεργιστικό ρόλο, καθώς και ποια είναι η επίδραση του κάθε σήματος στη συμπεριφορά των στομάτων. Είναι πολύ πιθανόν, τα χημικά σήματα να επάγονται στην αρχή μιας υδατικής καταπόνησης και τα υδραυλικά να επικρατούν στα πιο έντονα στάδια της, προκαλώντας μεγαλύτερη μείωση στην υδατική αγωγιμότητα των στομάτων (Davies and Zhang 1991).

1.3 Υδατική καταπόνηση και φυτική παραγωγή

Η ξηρασία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους αβιοτικούς περιοριστικούς παράγοντες και είναι υπεύθυνη για ένα μεγάλο μέρος των απωλειών που υφίσταται η φυτική παραγωγή. Μία από τις πρώτες αποκρίσεις των φυτών στην έλλειψη νερού αποτελεί το κλείσιμο των στομάτων, το οποίο περιορίζει τη διάχυση του CO₂ στους χλωροπλάστες (Muller and Whitsitt 1996) μειώνοντας τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα σημαντικά προκαλώντας τελικά μείωση της φυτικής παραγωγής. Η υδατική καταπόνηση επιδρά σε όλες τις φυσιολογικές λειτουργίες των φυτών επηρεάζοντας τη βλαστική ανάπτυξη (Gabriela and Foyer 2002), τη φωτοσύνθεση και τη γήρανση των φύλλων. Ωστόσο, η αντίδραση των φυτών στην υδατική καταπόνηση

εξαρτάται από την ένταση, το ρυθμό και τη διάρκεια της έκθεσης των φυτών στην καταπόνηση καθώς επίσης και το φαινολογικό στάδιο της βλαστικής ανάπτυξης. Η μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας στα φύλλα των φυτών που βρίσκονται υπό συνθήκες έλλειψης νερού είτε πραγματοποιείται λόγω κλεισίματος των στομάτων ή λόγω βιοχημικών περιορισμών αποτελεί τον κυρίαρχο παράγοντα μείωσης της φυτικής παραγωγής.

1.4 Ρύθμιση της φωτοσύνθεσης σε συνθήκες ξηρασίας

Είναι γνωστό ότι μία κύρια επίδραση της έλλειψης νερού στα φυτά, είναι η μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας (Lawlor 1995; Munns 2002). Ωστόσο, υπάρχει διχογνωμία κατά πόσο αυτή η υδατική καταπόνηση περιορίζει τη φωτοσύνθεση μέσω της μείωσης του ανοίγματος των στομάτων (Sharkey 1990; Chaves 1991; Chartzoulakis et al. 1993; Ort et al., 1994; Cornic and Massacci 1996; Chartzoulakis et al. 2002; Loreto et al., 2003) και της μεσοφυλλικής αντίστασης στο CO_2 ή λόγω μεταβολικών διαταραχών στο μεσόφυλλο (Boyer 1976; Lawlor 1995). Τα τελευταία χρόνια, έχει αμφισβητηθεί έντονα η παραδοχή ότι η μείωση της σύνθεσης του ATP αποτελεί τον κυριότερο παράγοντα περιορισμού της φωτοσυνθετικού ρυθμού, ακόμη και σε ήπιες συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Cornic 2000; Cornic and Fresneau 2002; Flexas and Medrano 2002; Lawlor 2002; Lawlor and Corning 2002). Αυτές οι παρατηρήσεις έχουν να κάνουν αφενός μεν με το ότι η δέσμευση του O_2 σε συνθήκες έλλειψης φωτός αντικαθιστά εξολοκλήρου τη δέσμευση του CO_2 σε φυτά που βρίσκονται σε συνθήκες ξηρασίας (Corning and Fresneau 2002) και αφετέρου δε με το γεγονός της πλήρους ανάκαμψης της φωτοσύνθεσης όταν περιοριστεί η μεσοφυλλική αντίσταση του CO_2 (Kaizer 1987; Centritto et al., 2003).

Ένα μεγάλο μέρος των παραπάνω διαφωνιών όσον αφορά την ύπαρξη στοματικών παραγόντων (stomatal limitation) ή μη στοματικών παραγόντων (non-stomatal limitation) στη μείωση της φωτοσύνθεσης, οφείλεται στην ανάλυση της καμπύλης $P_N\text{-}C_i$, όπου P_N ο φωτοσυνθετικός ρυθμός και C_i η συγκέντρωση του CO_2 στο μεσόφυλλο. Ο υπολογισμός του C_i από την παραπάνω καμπύλη μπορεί να οδηγεί σε λανθασμένα συμπεράσματα, αν λάβουμε υπόψη την ανομοιογένεια που παρατηρείται στο κλείσιμο των στοματικών πόρων (Laisk 1983; Buckley et al., 1997) και τις μεταβολές στη διαπνοή της εφυμενίδας που οφείλονται στο υδατικό έλλειμμα της ατμόσφαιρας (Boyer et al., 1997). Επιπροσθέτως, οι μεταβολές στη μεσοφυλλική αγωγιμότητα του CO_2 που προκαλούνται άμεσα από την έλλειψη νερού ίσως αναιρούν

τις ερμηνείες που εξάγονται από την ανάλυση της σχέσης P_N-C_i (Flexas et al., 2002; Centritto et al., 2003).

1.4.1. Φωτοσύνθεση σε συνθήκες ξηρασίας - Στοματικοί και μη στοματικοί παράγοντες

Το κλείσιμο της στοματικής συσκευής, αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας των φυτών έναντι της ξηρασίας. Αν ληφθεί υπ' όψιν, η υψηλή συσχέτιση που συνήθως υπάρχει μεταξύ της στοματικής αγωγιμότητας (g_s) και της φωτοσύνθεσης (P_N), προκύπτει ότι η μείωση της P_N θα πρέπει να αποδοθεί στο κλείσιμο των στομάτων (Flexas et al., 2004). Εάν η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας είναι ο καθοριστικός παράγοντας που περιορίζει την αφομοίωση του CO_2 , θα ανέμενε κανείς ότι η απομάκρυνση αυτού του περιοριστικού παράγοντα θα συνέτεινε στην αύξηση του φωτοσυνθετικού ρυθμού να ανακάμψει. Πράγματι, αφαιρώντας την επιδερμίδα από τα φύλλα απομακρύνεται ο στοματικός περιορισμός της διάχυσης του CO_2 στους μεσοκυττάριους χώρους. Αυτή η τεχνική, χρησιμοποιήθηκε από τους Dietz and Heber (1983) και από τους Schwab et al. (1989) στα φυτά *Ramondra myconi* και *Primula palinuri* αντίστοιχα, όπου διαπιστώθηκε ότι το μεγαλύτερο μέρος της μείωσης της φωτοσύνθεσης οφείλεται στο κλείσιμο των στομάτων. Οι Cornic και Ghashghaie (1991) χρησιμοποιώντας διαφορετική προσέγγιση και βασιζόμενοι στη ρύθμιση της g_s με τη μεταβολή της θερμοκρασίας του φύλλου σε φυτά *Phaseolus Vulgaris* L. προσπάθησαν με τη μείωση της θερμοκρασίας να προκαλέσουν το άνοιγμα των στομάτων σε φύλλα καταπονημένα ($RWC \sim 70\%$, $P_N \sim 0$ στους $23\text{ }^\circ\text{C}$) από την έλλειψη νερού. Πράγματι, στους $14\text{ }^\circ\text{C}$ τα φυτά χωρίς η με υδατικό έλλειμμα εμφάνισαν όμοια φωτοσυνθετική δραστηριότητα. Έτσι κατέληξαν στο ίδιο συμπέρασμα ότι η μείωση της φωτοσύνθεσης σε φυτά με υδατικό έλλειμμα οφείλονταν κατά κύριο λόγο στο κλείσιμο των στομάτων. Μια μελέτη από τους Cornic και Fresneau (2002) που έλαβε υπ' όψιν τις παραπάνω έρευνες, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι δεν παρατηρείται μείωση στη φωτοσυνθετική ικανότητα όταν ο φωτοσυνθετικός ρυθμός μειωθεί ακόμη και στο 80%.

Τελευταία, η ανάλυση της συμμεταβολής του P_N και της υποστοματικής συγκέντρωσης του CO_2 (P_N-C_i καμπύλη), έδειξε ότι ο περιορισμός της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας σε φύλλα με υδατικό έλλειμμα οφείλεται κατά κύριο λόγο σε στοματικούς παράγοντες. Από την ανάλυση αυτής της καμπύλης προκύπτει ότι μπορεί να υπολογιστεί ο περιορισμός της φωτοσύνθεσης από τους στοματικούς παράγοντες (L_s), όπως επίσης ο περιορισμός από τους παράγοντες μεταβολισμού (μη στοματικούς παράγοντες - L_m) και

κάποιων συνιστωσών των τελευταίων (Martin and Ruiz-Torres 1992; Tezara et al. 2002). Στις περισσότερες μελέτες, η L_s δείχνει αυξητική τάση καθ'όσον αυξάνει το υδατικό έλλειμμα και συνήθως παίρνει τιμές μεγαλύτερες από την L_m (Martin and Ruiz-Torres 1992; Escalona et al., 1999; Gulias et al., 2002). Σε λίγες αναφορές, βρέθηκε να υπάρχει υψηλότερη L_m σε σύγκριση με την L_s σε φυτά που αναπτύχθηκαν σε συνθήκες υδατικής έλλειψης (Lawlor 2002; Tezara et al., 2002; 2003).

Λαμβάνοντας υπ' όψιν όλες τις παραπάνω πληροφορίες μπορούμε να οδηγηθούμε στο συμπέρασμα, ότι το κλείσιμο των στομάτων είναι πρωτίστως ο σημαντικότερος παράγοντας περιορισμού της φωτοσύνθεσης σε ήπια ή μέτρια υδατική καταπόνηση. Στις περισσότερες των περιπτώσεων, η μείωση της φωτοσύνθεσης οφείλεται εξολοκλήρου στο κλείσιμο των στομάτων πριν ακόμη επηρεαστεί ο μεταβολισμός των φωτοσυνθετικών κυττάρων. Δεδομένου ότι η επίδραση της έντονης υδατικής καταπόνησης επηρεάζει πολλές λειτουργίες των φυτών, είναι δυνατόν οι μεταβολές στο φωτοσυνθετικό μεταβολισμό να μην οφείλονται άμεσα στο υδατικό έλλειμμα.

Ο ρόλος των μη στοματικών παραγόντων στη μείωση της φωτοσύνθεσης σε συνθήκες ξηρασίας έχει εκτιμηθεί με μετρήσεις *in vitro* της ενεργότητας κάποιων ενζύμων και της συγκέντρωσης κάποιων μεταβολιτών στο φύλλο. Σε κάποιες έρευνες αναφέρεται μείωση της ενεργότητας της Rubisco σε συνθήκες έλλειψης νερού (Maroco et al., 2002; Parry et al., 2002), ενώ σε κάποιες άλλες δεν υπήρχε επίδραση στη Rubisco σε συνθήκες ήπιας υδατικής καταπόνησης (Lal et al., 1996; Pankovic et al., 1999; Delfine et al., 2001). Οι παραπάνω ασυμφωνίες, μπορεί να οφείλονται στο ότι διαφορετικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, σε διαφορετικά φυτικά είδη και σε διαφορετικής έντασης υδατικές καταπονήσεις (Chaves 1991).

Η ενεργότητα της νιτρικής ρεδουκτάσης, ρυθμίζεται κατά τον ίδιο τρόπο με το ένζυμο της Rubisco καθώς μειώνεται η στοματική αγωγιμότητα. Το γεγονός ότι η ενεργότητα της Rubisco παραμένει ανεπηρέαστη όταν η στοματική αγωγιμότητα δεν πέφτει κάτω από $0.1 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ υποδηλώνει ότι, σε αυτό το εύρος της g_s , η φωτοσύνθεση δεν διαταράσσεται από την αποτελεσματικότητα καρβοξυλίωσης. Όταν η στοματική αγωγιμότητα ελαττώνεται περεταίρω, η ενεργότητα της Rubisco μειώνεται και τυπικά ένα μικρό μέρος αυτής της μείωσης αποδίδεται στην ενεργή κατάσταση του ενζύμου (Lal et al., 1996; Parry et al., 2002; Bota et al., 2004). Είναι πολύ πιθανόν, η μείωση που υπάρχει στην ενεργότητα αυτού του φωτοσυνθετικού ενζύμου να οφείλεται στη μείωση της περιεκτικότητας του, αν συνυπολογίσουμε και τη γενική μείωση στις

ολικές διαλυτές πρωτεΐνες που υφίσταται το φυτό όταν η g_s πέφτει κάτω από το όριο του $0.1 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Ένας άλλος μη στοματικός περιορισμός καθώς η υδατική καταπόνηση γίνεται πιο έντονη, είναι η μείωση του περιεχομένου της 1,5-διφωσφορικής ριβουλόζης (RuBP), εξαιτίας της μείωσης της αναγέννησής της (Gunasekera and Berkowitz 1993; Giménez et al., 1992). Στην πραγματικότητα, το κλείσιμο των στομάτων προκαλεί μείωση της φωτοσύνθεσης λόγω της περιορισμένης διαθεσιμότητας της CO_2 και όπως συνήθως αναμένεται, η ποσότητα της RuBP θα έπρεπε να αυξάνεται (von Caemmerer and Edmundson 1986). Η μειωμένη ικανότητα αναγέννησης της RuBP μπορεί να οφείλεται στους εξής λόγους: i) σε μειωμένο ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων άρα και σε μειωμένο εφοδιασμό NADPH, ii) στην ενεργότητα σε ενός ή περισσότερων ενζύμων που εμπλέκονται στην αναγέννηση της RuBP iii) στη μειωμένη αποτελεσματικότητα για φωτοφωσφορυλίωση και iv) στη μειωμένη χρήση της φωσφορικής τριόζης, λόγω της μειωμένης διαθεσιμότητας ελεύθερου ανόργανου φωσφόρου στο στρώμα. Όλα τα παραπάνω, φαίνεται να εμπλέκονται στη ρύθμιση του φωτοσυνθετικού μηχανισμού σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Lawlor and Cornic 2002).

Οι ενεργόητες πολλών ενζύμων που συμμετέχουν στην αναγέννηση της RuBP, όπως η 1,6 διφωσφορική φρουκτόζη (Sharkey and Seemann 1989; Sánchez-Rodriguez et al., 1999; Maroco et al., 2002), η αφυδρογονάση της 3-φωσφορικής γλυκεριναλδεϋδης (Maroco et al., 2002; Thimmanaik et al., 2002) και η κινάση της 5-φωσφορικής ριβουλόζης, έχουν πολλές φορές συσχετιστεί με την υδατική καταπόνηση. Στις περισσότερες από αυτές τις μελέτες έχειδειχτεί, ότι αυτά τα ένζυμα δεν επηρεάζονται από το υδατικό έλλειμμα όταν η στοματική αγωγιμότητα είναι υψηλότερη από $0.1 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Sharkey and Seemann 1989; Sánchez-Rodriguez et al., 1999), ενώ αντίθετα διαταράσσονται κάτω από αυτό το όριο (Sánchez-Rodriguez et al., 1999; Maroco et al., 2002). Συμπερασματικά, δεν υπάρχει μέχρι σήμερα καθαρή απόδειξη για την αναστολή της ενεργότητας των ενζύμων που εμπλέκονται στην αναγέννηση της RuBP σε συνθήκες ήπιας ή μέτριας υδατικής καταπόνησης.

Οι Tezara et al. (1999) πρότειναν ότι η μείωση της φωτοφωσφορυλίωσης ήταν η αιτία της μείωσης της φωτοσύνθεσης σε συνθήκες έλλειψης νερού, αλλά σε μεταγενέστερη ερευνά τους επισήμαναν πως η μείωση της φωτοσύνθεσης, οφείλονταν στη μικρή ενεργότητα της Rubisco παρά στη μείωση του περιεχομένου της RuBP και του ATP (Tezara et al., 2002). Οι περισσότερες μελέτες, που αναφέρουν ότι το υδατικό έλλειμμα επιφέρει μείωση στην ικανότητα φωτοφωσφορυλίωσης, έχουν πραγματοποιηθεί σε απομονωμένους χλωροπλάστες ή πρωτοπλάστες (Flexas and Medrano 2002a; Lawlor and Cornic 2002), μια μόνο μελέτη που έγινε *in vivo* ανέφερε πως δεν υπήρχε καμία

διαταραχή στην ικανότητα φωτοφωσφορυλίωσης (Ortiz-Lopez et al., 1991). Στην περίπτωση της RuBP, μείωση της φωτοσύνθεσης λόγω κλεισίματος των στομάτων, έχει σαν αποτέλεσμα αύξηση της περιεκτικότητας σε ATP, αλλά αυτό μπορεί να αντισταθμίζεται από την αύξηση της φωτοαναπνοής που καταναλίσκει ATP και συμβαίνει σε συνθήκες ήπιας ή μέτριας υδατικής καταπόνησης (Winger et al., 1999; Flexas et al., 1999a,b, 2002b; Corninc and Fresneau 2002). Ακόμη και η σημαντική μείωση στην περιεκτικότητα σε ATP που παρατηρείται σε πολύ χαμηλή στοματική αγωγιμότητα δεν οδηγεί απαραίτητως σε μείωση της φωτοφωσφορυλίωσης. Αυτό συμβαίνει, γιατί μια σημαντική ποσότητα του ATP (πάνω από 40%) που υπάρχει στο φυτικό ιστό προέρχεται από τα μιτοχόνδρια (Krömer and Heldt 1991) και έχει βρεθεί πρόσφατα μεγάλη αύξηση της ενεργότητας της μιτοχονδριακής οξειδάσης (η οποία παράγει πολύ λιγότερο ATP) σε φυτά με υδατικό έλλειμμα. Από τα τελευταία γίνεται αντιληπτό, ότι δεν υπάρχει σαφή απόδειξη για τη μείωση της σύνθεσης του ATP στους χλωροπλάστες των φυτών που υπόκεινται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.

Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία, ότι η φωτοσυνθετική δραστηριότητα μπορεί να μειώνεται σε συνθήκες έλλειψης νερού, λόγω της μειωμένης διαθεσιμότητας ελεύθερου κυτοπλασματικού ανόργανου φωσφόρου. Αυτό αποδίδεται στη μείωση της ενεργότητας της συνθάσης της φωσφορικής σουκρόζης (SPS) (Vassey and Sharkey 1989; Cornic et al., 1992). Τα διαθέσιμα δεδομένα στη βιβλιογραφία, δείχνουν πως αυτό το ένζυμο ακολουθεί τη ρύθμιση των άλλων φωτοσυνθετικών ενζύμων, καθώς η στοματική αγωγιμότητα μειώνεται, ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις ότι η μείωση της ενεργότητας του αρχίζει σε υψηλότερη στοματική αγωγιμότητα (Vassey and Sharkey 1989; Vassey et al., 1991). Αυτό είναι σύμφωνο με την παρατήρηση, ότι η ενεργότητα της SPS ρυθμίζεται από τη διαθεσιμότητα του CO₂. Ένας από τους πιο σημαντικούς μη στοματικούς περιορισμούς που παρατηρείται κατά τη διάρκεια μιας υδατικής καταπόνησης, είναι η μείωση στη χρησιμοποίηση της φωσφορικής τριόζης (Maroco et al., 2002). Τα δεδομένα των Tezara et al. (1999), περισσότερο δείχνουν μείωση στη χρησιμοποίηση της φωσφορικής τριόζης (μείωση στη σύνθεση της σουκρόζης), παρά διαταραχή στη φωτοφωσφορυλίωση. Αυτό σημαίνει ότι δεν είναι η υδατική καταπόνηση αυτή που επηρεάζει το φωτοσυνθετικό μεταβολισμό, αλλά το κλείσιμο των στομάτων που προκαλείται από το υδατικό έλλειμμα.

Συνοψίζοντας, από τα δεδομένα που υπάρχουν μέχρι σήμερα, η μείωση του διαθέσιμου φωσφόρου είναι πιθανόν ο παράγοντας που προκαλεί μείωση στην ικανότητα αναγέννησης της RuBP σε συνθήκες ήπιας ή μέτριας υδατικής καταπόνησης. Όποιος και να είναι ο μηχανισμός που προκαλεί μείωση στην ικανότητα αναγέννησης της RuBP, η σταθερότητα στην περιεκτικότητα σε RuBP υποδηλώνει ότι η φωτοσύνθεση δεν μειώνεται

σε κανονικές συγκεντρώσεις CO₂. Η μεγάλη μείωση του περιεχομένου της RuBP που παρατηρείται σε χαμηλή στοματική αγωγιμότητα είναι πιθανότερο να οφείλεται στη γενική διαταραχή του μεταβολισμού παρά στην άμεση επίδραση του υδατικού ελλείμματος (Flexas et al., 2004).

1.4.2. Διάχυση του CO₂ στο μεσόφυλλο

Τα στόματα, κλείνουν σαν αντίδραση στη μείωση της σπαργής των κυττάρων, του υψηλού υδατικού ελλείμματος της ατμόσφαιρας ή της ύπαρξης χημικών σημάτων που παράγονται στη ρίζα. Σε συνθήκες υψηλού φωτός, θερμοκρασίας κα έλλειψης νερού, η προμήθεια σε CO₂ στη Rubisco διαταράσσεται, επηρεάζοντας με αυτό τον τρόπο τη φωτοσυνθετική συσκευή έτσι ώστε να αυξήσει την απόσβεση της ενέργειας και να μειώσει το φωτοσυνθετικό ρυθμό. Σε ήπια καταπόνηση, μια μικρή μείωση της στοματικής αγωγιμότητας παίζει προστατευτικό ρόλο, επιτρέποντας στα φυτά την εξοικονόμηση και την αριστοποίηση της χρήσης του νερού. (Chaves et al., 2009).

Κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης, το CO₂ πρέπει να κινηθεί από την ατμόσφαιρα διαμέσου ενός λεπτού στρώματος αέρα του φύλλου, στην υποστοματική κοιλότητα αφού περάσει τα στόματα και από εκεί στα σημεία καρβοξυλίωσης στο στρώμα των χλωροπλαστών μέσω του μεσόφυλλου (Flexas et al., 2004; Flexas et al., 2007; Flexas et al., 2008). Από το νόμο της διάχυσης του Fick, η φωτοσύνθεση μπορεί να εκφραστεί ως εξής: $P_N = g_s (C_a - C_i) = g_m (C_i - C_c)$, όπου g_s και g_m η στοματική και η μεσοφυλλική αγωγιμότητα της διάχυσης του CO₂ αντίστοιχα, και C_a , C_i και C_c οι συγκεντρώσεις του CO₂ στην ατμόσφαιρα, στην εσωτερική υποστοματική κοιλότητα και στο στρώμα των χλωροπλαστών αντίστοιχα (Long and Bernacchi 2003). Η μεσοφυλλική αγωγιμότητα της διάχυσης του CO₂ μπορεί να εμπεριέχει τη διάχυση του CO₂ μέσω των μεσοκυττάρων χώρων (g_{ias}), τη διάχυση μέσω των κυτταρικών τοιχωμάτων (g_w) και το ενδοκυτταρικό υγρό μονοπάτι (g_{liq}) (Parkhurst 1994; Flexas et al., 2008). Σε αντίθεση με τον υπολογισμό της στοματικής αγωγιμότητας, η εκτίμηση της g_m χρειάζεται πολλές παραδοχές στις περισσότερες μεθόδους που χρησιμοποιούνται στον υπολογισμό της (Warren 2006). Παρ' όλο αυτά, οι διαφορετικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται καταλήγουν σε όμοιες εκτιμήσεις της g_m (Loreto et al., 1992; Flexas et al., 2006a; 2007). Οι μεταβολές στη μεσοφυλλική αγωγιμότητα, πιθανόν να οφείλονται στις φυσικές αλλαγές στη δομή των μεσοκυττάρων χώρων λόγω της συρρίκνωσης του φύλλου (Lawlor and Cornic 2002), ή στις αλλαγές στη βιοχημεία (μετατροπή των ανθρακικών ιόντων σε CO₂) και/ή στη διαπερατότητα των μεμβρανών (Υδατοπορίνες). Ο Jones (1973) είχε προτείνει, ότι η μεσοφυλλική αγωγιμότητα του CO₂ επηρεαζόταν αρνητικά σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Ωστόσο,

το μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε από τον Jones δέχονταν ότι η συγκέντρωση του CO₂ στους χλωροπλάστες ήταν κοντά στο μηδέν ή στο σημείο αντιστάθμισης. Αργότερα η παραδοχή αυτή καταρρίφτηκε από τους Farquhar and Sharkey (1982). Η σύγκριση μετρήσεων μεταβολών του φθορισμού της χλωροφύλλης, σε συνδυασμό με μετρήσεις ανταλλαγής αερίων στο φύλλο, αποκάλυψε ότι η C_c ήταν χαμηλότερη από τη C_i και αυτή η διαφορά αυξήθηκε σε συνθήκες υδατικού ελλείμματος (Bongi and Loreto 1989; Cornic et al., 1989). Η υδατική καταπόνηση, μειώνει περισσότερο το C_c σε τιμές χαμηλότερες από το C_i κι αυτό επιβεβαιώθηκε από μετρήσεις με επισημασμένα μόρια οξυγόνου (¹⁸O) (Renou et al., 1990) και άνθρακα (¹³C) (Brugnoli and Lauteri 1991). Στις παραπάνω εργασίες έγινε δεκτό, ότι η g_m δεν επηρεάζεται από το υδατικό έλλειμμα και ότι αυτές οι διαφορές που υπήρχαν μεταξύ των C_c και C_i προέκυπταν από λανθασμένες μετρήσεις, λόγω της ανομοιογένειας που υπήρχε στο κλείσιμο των στομάτων (Terashima 1992; Buckley et al., 1997) και/ή της παρεμβολής της αγωγιμότητας στο CO₂ της εφυμενίδας (Boyer et al., 1997). Επίσης, θεωρήθηκε ότι η μεσοφυλλική αντίσταση στη διάχυση του CO₂, οφειλόταν κατά κύριο λόγο στα μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά του φύλλου και ότι ήταν αδύνατο σε μικρό χρονικό διάστημα να επηρεαστούν από την υδατική καταπόνηση. Εν τούτοις, οι Genty et al. (1998) έδειξαν πως η εσωτερική αντίσταση της διάχυσης του CO₂ στην υγρή φάση μέσα στα κύτταρα ήταν μεγαλύτερη σε σύγκριση με του αέριους μεσοκυττάρους χώρους και ότι δεν εξαρτιόταν σημαντικά από τη δομή του φύλλου. Μεταγενέστερες μελέτες αποφάνθηκαν, ότι η μεσοφυλλική αγωγιμότητα καταστέλλονταν σε συνθήκες έλλειψης νερού (Scartazza et al., 1998; Flexas et al., 2002; Galme's et al., 2007).

Οι Flexas et al. (2006b) έδειξαν, ότι η g_m αντιδρά πολύ γρήγορα (σε λίγα λεπτά) στην αφυδάτωση, αφού αποκοπεί ο μίσχος του φύλλου και επιπλέον ότι η εξωγενή εφαρμογή του ABA σε φυτά χωρίς υδατικό έλλειμμα μπορεί να επιφέρει μείωση στην g_m. Η g_m φαίνεται να αντιδρά πολύ γρήγορα σε μεταβολές της θερμοκρασίας, του φωτός και της συγκέντρωσης του CO₂ (Flexas et al., 2008). Όλα αυτά τα αποτελέσματα, ενισχύουν την άποψη ότι η g_m ρυθμίζεται περισσότερο βιοχημικά, παρά είναι αποτέλεσμα ανατομικών χαρακτηριστικών του φύλλου. Υπάρχουν ενδείξεις επίσης, πως η καρβοξυλική ανυδράση (Gillon and Yakir 2000) και οι υδατοπορίνες (Flexas et al., 2006a), εμπλέκονται στη ρύθμιση της g_m, αλλά ο ρόλος αυτών των μεταβολικών μηχανισμών σε συνθήκες ξηρασίας μένει άγνωστος μέχρι σήμερα. Πράγματι, τελευταίες μελέτες δείχνουν ότι τα φυτά ρυθμίζουν τη μεσοφυλλική αγωγιμότητα στο CO₂, σαν απόκριση στις διαφορές περιβαλλοντικές καταπονήσεις όπως υδατική καταπόνηση (Renou et al., 1990; Flexas 2004; Warren et l., 2004) και πιθανόν αυτό συνδέεται με τη γρήγορη ρύθμιση της έκφρασης

και/ή της ενεργότητας των υδατοπορινών που υπάρχουν στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (Uehlein et al., 2003; Hanba et al., 2004). Έχει ενδιαφέρον να επισημανθεί, ότι διαφορετικά είδη ακόμη και ποικιλίες έχει παρατηρηθεί να διαφέρουν στη g_m και αυτή η διαφορά να σχετίζεται με τη φωτοσυνθετική τους ικανότητα (Lauteri et al., 1997; Patakas et al., 2003). Έτσι λοιπόν τυχόν διαφορές στη φωτοσυνθετικό ρυθμό που παρατηρούνται μεταξύ των ειδών κατά τη διάρκεια μιας υδατικής καταπόνησης, μπορεί να οφείλονται σε στοματικούς, σε μεσοφυλλικούς ή και σε βιοχημικούς παράγοντες.

Η διάχυση του CO_2 στο μεσόφυλλο από άλλες εναλλακτικές οδούς, πέρα από τη διάχυση μόνο μέσω των στομάτων, έχει μελετηθεί πρόσφατα και έχει βρεθεί να επιφέρει σημαντικές μεταβολές της φωτοσύνθεσης (Morison et al., 2007). Ως εκ τούτου, δεν υπάρχει μέχρι σήμερα διαθέσιμη εργασία που να περιγράφει το μέγεθος αυτής της «παράπλευρης» διάχυσης του CO_2 σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Η ανομοιογένεια στο κλείσιμο των στομάτων πιθανόν να διευκολύνει τη διάχυση του CO_2 από τα ανοιχτά στόματα στο μεσόφυλλο, υποστηρίζοντας έτσι ένα μέρος της φωτοσύνθεσης και συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο στην αποφυγή πιθανής φωτοαναστολής (Chaves et al., 2009).

1.5 Φωτοαναστολή και Φωτοπροστασία σε συνθήκες ξηρασίας

Όταν τα φυτά, υποστούν μαζί με την υδατική καταπόνηση και άλλες περιβαλλοντικές καταπονήσεις, όπως είναι η υψηλή ηλιακή ακτινοβολία και η υψηλή θερμοκρασία, μπορεί να οδηγηθούν στο γνωστό φαινόμενο της φωτοαναστολής. Πρακτικά κάτω από αυτές τις συνθήκες, οι οποίες περιορίζουν τη δέσμευση του CO_2 ο βαθμός παραγωγής αναγωγικής ενέργειας είναι μεγαλύτερος, από το βαθμό που χρησιμοποιείται στο κύκλο του Calvin. Ωστόσο, έχει αποδειχτεί υψηλή σταθερότητα της μέγιστης φωτονικής συγκομιδής του φωτοσυστήματος II ή της μέγιστης αποτελεσματικότητας της φωτοχημείας του φωτοσυστήματος II (F_v/F_m), σε συνθήκες ήπιας με μέτριας υδατικής καταπόνησης για πολλά φυτικά είδη (Epron et al., 1992; Garcia-Plazaola et al., 1997; Epron 1997; Faria et al., 1998; Martinez-Ferri et al., 2000; Gulias et al., 2002; Stuhlfauth et al., 1990). Γενικά έχει παρατηρηθεί, ότι όταν η ξηρασία είναι έντονη, τα φυτά μειώνουν το ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR) (Demmig-Adams et al., 1989; Epron et al., 1993; Epron 1997; Faria et al., 1998; Peñuelas et al., 1989; Gulias et al., 2002).

Ωστόσο, όταν υπάρχουν μετρήσεις ανταλλαγής των αερίων ταυτόχρονα με τις μετρήσεις μεταβολών του φθορισμού της χλωροφύλλης έχει παρατηρηθεί, ότι ο ETR μειώνεται σε μικρότερο βαθμό από το ρυθμό αφομοίωσης του CO_2 σε συνθήκες ξηρασίας (Valentini et al., 1995; Faria et al., 1998; Munné-Bosch et al., 1999; Gulias et al., 2002). Αυτό μπορεί να οφείλεται, στην αύξηση της μεταφοράς ηλεκτρονίων σε

εναλλακτικές οδούς μεταφοράς και απόσβεσης της ενέργειας, όπως είναι η φωτοαναπνοή και η αντίδραση Mehler (Kozaki and Takeba 1996; Osmond et al., 1997; Flexas and Medrano 2002b). Η αύξηση της μη φωτοχημικής ή θερμικής απόσβεσης (NPQ) και μείωση της ETR σε συνθήκες άπλετου φωτός, κατ'εξοχήν σχετίζονται με δυο διαφορετικά φαινόμενα: α) την αύξηση της φωτο-προστασίας (dynamic photoinhibition-δυναμική φωτοαναστολή) και β) την ανεπανόρθωτη ζημιά στο φωτοσύστημα (chronic photoinhibition- χρόνια φωτοαναστολή) (Osmond 1994). Ο πρώτος όρος περιγράφει αλλαγές στο φωτοσύστημα οι οποίες είναι αντιστρέψιμες σε σύντομο χρονικό διάστημα, όταν το φύλλο υποβληθεί σε συνθήκες χαμηλής έντασης φωτός, ενώ ο δεύτερος όρος αναφέρεται σε αλλαγές που χρειάζονται πολύ χρόνο (αρκετές ώρες) για να αντιστραφούν. (Osmond 1994; Osmond and Grace 1995). Ο όρος «μόνιμη φωτοαναστολή (permanent photoinhibition), περιγράφει αλλαγές στη φωτοσυνθετική ικανότητα οι οποίες δεν αντιστρέφονται μέσα σε μια νύχτα (Long et al., 1994). Πολλά φυτά ανέπτυξαν αποτελεσματικούς τρόπους για την αποφυγή ή την καθυστέρηση της χρόνιας φωτοαναστολής.

Ένας τρόπος αποφυγής της περίσσειας ακτινοβολίας σε συνθήκες υδατικής έλλειψης, είναι η αποφυγή της απορρόφησης από τα φύλλα. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με κατάλληλη διάταξη των φύλλων και ονομάζεται δομική φωτο-προστασία (structural photoprotection) και είναι τυπική πολλών φυτών της Μεσογειακής λεκάνης (Valladares and Pugnaire 1999). Ένας άλλος τρόπος για να μειωθεί η περίσσεια της απορροφούμενης ενέργειας είναι η μείωση της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών και έχει δείχθει ότι αποτελεί ένα επιπλέον προσαρμοστικό μηχανισμό (Kyparissis et al., 1995; Elvira et al., 1998; Kyparissis 2000; Munné-Bosch and Alegre 2000a, b;). Τελικά, η ανάπτυξη τριχώματος στα φύλλα ή εναπόθεση επιεφυμενιδικών κεριών είναι γνωστό ότι μπορούν να αυξήσουν την ανακλαστικότητα των φύλλων (Karabourniotis and Bornman 1999; Barker et al., 1997). Έντονη παρουσία χνοός σε φυτά έχει αναφερθεί σαν προσαρμοστικός μηχανισμός, διότι μειώνει τη διαπνοή στο φύλλο και διατηρεί το υδατικό του περιεχόμενο υψηλό, προστατεύοντας με αυτόν τον τρόπο το φύλλο από την προσπίπτουσα UV ακτινοβολία που είναι υπεύθυνη σε μεγάλο βαθμό για την αναστολή της φωτοσύνθεσης (Savé et al., 2000).

Πέρα από τους μηχανισμούς αποφυγής, οι προστατευτικοί μηχανισμοί της φωτοσύνθεσης ενάντια στην περίσσεια αναγωγικής ενέργειας αποτελούν σημαντική στρατηγική των φυτών με υδατικό έλλειμμα. Αυτοί οι φωτοπροστατευτικοί μηχανισμοί ανταγωνίζονται με τη φωτοχημεία για την αφομοιώσιμη ενέργεια και οδηγούν σε μείωση της φωτονικής συγκομιδής του φωτοσυστήματος II (PSII) (Genty et al., 1989). Στις φωτεινές αντιδράσεις, ο πιο κοινός προστατευτικός μηχανισμός στον κίνδυνο υπερ-

αναγωγής της αλυσίδας ηλεκτρονίων αποτελεί η ρύθμιση της αποβολής της περίσσειας ενέργειας μη φωτοχημικά με τη μορφή θερμότητας (NPQ) στα κέντρα του φωτοσυστήματος. Σ' αυτό το μηχανισμό με κάποιο τρόπο εμπλέκεται ο κύκλος της ξανθοφύλλης (Demmig-Adams and Adams 1996; Horton et al., 1996; Ort 2001), ο κύκλος της λουτεΐνης (Bungard et al., 1999; Matsubara et al., 2001) και η αύξηση της διαβάθμισης των πρωτονίων στις μεμβράνες των θυλακοειδών (ΔpH) (Deming et al., 1987; Demmig-Adams and Adams 1992). Ο ακριβής ρόλος του κύκλου των ξανθοφυλλών δεν είναι ακόμη πλήρως γνωστός (Gilmore 1997; Niyogi 1999; Li et al., 2000), αλλά συνήθως αυτή η ικανότητα παραγωγής θερμότητας σχετίζεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των αποεποξειδωμένων συστατικών του κύκλου της ξανθοφύλλης, της ανθεραξανθίνης (A), της ζεαξανθίνης (Z) σε βάρος της βιολαξανθίνης (Demmig-Adams and Adams 1996; García Plazaola 1997; Demmig-Asams 1998; Gulias et al., 2002). Η φωτοαναπνοή, μπορεί επίσης να δρα σαν ένας μηχανισμός προστασίας του φωτοσυνθετικού μηχανισμού, αφού έχει βρεθεί να αυξάνεται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης σε πολλά φυτικά είδη (Chaves et al., 2003). Στους Φώτο-προστατευτικούς μηχανισμούς συμπεριλαμβάνονται η αύξηση της ενεργότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων που υπάρχουν μέσα στα φυτά (Kyparissis et al., 1995; Faria et al., 1996; Elvira et al., 1998; Schwanz and Polle 1998) και η σύνθεση άλλων αντιοξειδωτικών ενώσεων (Tyson et al., 1974; Loreto and Sharkey 1993). Τέλος, το φωτοσυνθετικό υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) που παράγεται μπορεί επίσης να συμμετέχει στο μηχανισμό μεταγωγής σημάτων καταπόνησης και γενικά στον εγκλιματισμό σε συνθήκες περιορισμένης διαθεσιμότητας CO_2 (Noctor et al., 2002).

1.5.1. Μη-φωτοχημική απόσβεση σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης

Είναι φανερό, ότι σε συνθήκες υψηλής έντασης φωτεινής ακτινοβολίας, το μεγαλύτερο ποσοστό του απορροφούμενου φωτός (περίπου 60%) αποσβένεται θερμικά, ακόμη και σε συνθήκες απουσίας υδατικού ελλείμματος στα φυτά. Ωστόσο, κάποιες μελέτες δείχνουν ότι σε συνθήκες μέτριας με έντονης υδατικής καταπόνησης, αυτό το ποσοστό μεγαλώνει και φτάνει περίπου στο 90% της συνολικής ενέργειας που αποσβένεται στο φωτόσυστημα. Η θερμική απόσβεση, θεωρείται ο σημαντικότερος μηχανισμός απόσβεσης της πλεονάζουσας φωτεινής ακτινοβολίας στα C_3 φυτά σε συνθήκες ξηρασίας (Flexas and Medrano 2002b).

Το μεγαλύτερο μέρος αυτής της θερμικής απόσβεσης όπως αναφέρθηκε, μπορεί να σχετίζεται με το μηχανισμό των ξανθοφυλλών στα φυτά που έχουν εγκλιματιστεί σε συνθήκες έντονου φωτός, ενώ ένα μικρό μέρος σχετίζεται με την απενεργοποίηση των

φωτοσυστημάτων (Björkman and Demming-Adams 1994; Niyogi 1999). Σε πολλές έρευνες, αναλύθηκε η απενεργοποίηση των φωτοσυστημάτων σε συνθήκες υδατικού ελλείμματος, με τη χρησιμοποίηση της ανάλυση των μεταβολών του φθορισμού της χλωροφύλλης σε προσαρμοσμένα φύλλα στο σκοτάδι. Οι περισσότερες από τις παραπάνω έρευνες έδειξαν, ότι το υδατικό έλλειμμα δεν επιφέρει φωτοαπενεργοποίηση των φωτοσυνθετικών κέντρων (Björkman and Demming-Adams 1994; Cornic 1994; Flexas et al., 1998; 1999a, b, 2002a, b; Haupt-Herting and Fock 2000). Ως εκ τούτου, σε κάποιες εργασίες βρέθηκε σημαντική συμμεταβολή της θερμικής απόσβεσης και του βαθμού της αποεποξειδωμένης κατάστασης του κύκλου της ξανθοφύλλης (Flexas 2000; Medrano et al., 2002a).

1.5.2. Η μεταφορά ηλεκτρονίων στο οξυγόνο σαν μηχανισμός απόσβεσης της πλεονάζουσας ενέργειας σε συνθήκες ξηρασίας

Ακόμη και όταν η NPQ, αποτελεί το πιο σημαντικό μονοπάτι στην απόσβεση της περίσσειας ακτινοβολίας σε συνθήκες κορεσμένου φωτός, η φωτοχημεία του φύλου κυμαίνεται στο 38% σε πλήρως ενυδατωμένα φυτά από το οποίο ποσοστό το 22% αποδίδεται στη φωτοσύνθεση και το 16% στη φωτοαναπνοή (Flexas and Medrano 2002b). Το ποσοστό της ενέργειας που οδηγείται στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (38%), δεν μπορεί να θεωρηθεί αμελητέο, διότι αντιπροσωπεύει φωτεινή ενέργεια πάνω από το 800 μmol φωτόνια $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ σε μια καθαρή ημέρα. Καθώς η ξηρασία οδηγεί στο κλείσιμο των στομάτων, ταυτόχρονα μειώνει και τη διαθεσιμότητα του CO_2 στους χλωροπλάστες. Αυτό με τη σειρά του αυξάνει τη μεταφορά των ηλεκτρονίων στο μοριακό οξυγόνο μέσω της φωτοαναπνοής και της αντίδρασης Mehler, καθιστώντας με αυτόν τον τρόπο αυτά τα μονοπάτια μεταφοράς των ηλεκτρονίων, ασφαλείς οδούς στην απόσβεση της πλεονάζουσας ενέργειας σε συνθήκες ξηρασίας (Osmond and Grace 1995). Υπάρχουν, πολλές αναφορές στη βιβλιογραφία που έχουν να κάνουν με την αυξημένη μεταφορά ηλεκτρονίων στο οξυγόνο κατά τη διάρκεια υδατικού ελλείμματος στα φυτά (Corning et al., 1989; Renou et al., 1990; Tourneux and Peltier 1995; Flexas et al., 1998; 1999a, b, 2002b; Wingler et al., 1999).

Σε συνθήκες ήπιας υδατικής καταπόνησης ($g_s > 0.15 \text{ mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), η θερμική απόσβεση παραμένει σταθερή και ο φωτοσυνθετικός ρυθμός μειώνεται, ενώ η φωτοαναπνοή αυξάνει με τρόπο αντισταθμιστικό. Επιπροσθέτως, σε συνθήκες μέτριας υδατικής καταπόνησης η αυξημένη φωτοαναπνοή καθίσταται ικανή να αποσβέσει την περίσσεια ενέργειας όσο η φωτοσύνθεση μειώνεται. Σε συνθήκες μέτριας με έντονης

υδατικής καταπόνησης ($g_s < 150 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), η φωτοσύνθεση και η φωτοαναπνοή μειώνεται ως αποτέλεσμα ίσως της μείωσης στη διαθεσιμότητα της RuBP ή στη μείωση της ενεργότητας της Rubisco (Lawlor 1995). Η φωτοαναπνοή, μειώνεται σε μικρότερο βαθμό απ' ό,τι η φωτοσύνθεση και ένα μεγάλο μέρος της μετρούμενης φωτοαναπνοής οφείλεται στη μείωση της φωτοσύνθεσης ή της επαναφομοίωσης του CO_2 που ελευθερώνεται από τη φωτοαναπνοή (Haupt-Herting and Fock 2000, 2002; Haupt-Herting et al., 2001). Οι τελευταίοι ερευνητές, έδειξαν ότι ενώ η επαναφομοίωση του CO_2 που απελευθερώνεται από τη φωτοαναπνοή αυξάνεται σε συνθήκες ξηρασίας, το ποσοστό απόσβεσης της ενέργειας δεν διέφερε σημαντικά από εκείνες τις μελέτες στις οποίες η επαναφομοίωση δεν υπολογίστηκε.

Ακόμη και αν η σημασία της φωτοαναπνοής, ως αποτελεσματικός μηχανισμός απόσβεσης περιορίζεται σε συνθήκες ήπιας υδατικής καταπόνησης, αυτό δεν μπορεί να αγνοηθεί διότι αυτή η ένταση της καταπόνησης συμβαίνει πολύ συχνά στη φύση. Για παράδειγμα, η συγκέντρωση υψηλής ακτινοβολίας σε συνδυασμό με το υδατικό έλλειμμα της ατμόσφαιρας το ηλιακό μεσημέρι, οδηγεί έστω παροδικά σε υδατικό έλλειμμα στα φύλλα, το οποίο μπορεί να θεωρηθεί σαν μια ήπια υδατική καταπόνηση με τη έννοια ότι η στοματική αγωγιμότητα μειώνεται στα επίπεδα της ήπιας υδατικής καταπόνησης. Η φωτοαναπνοή μπορεί να λειτουργεί ως ρυθμιστικός παράγοντας της ενεργειακής απόσβεσης, κατά τη διάρκεια σύντομων περιόδων στις οποίες η φωτοσύνθεση περιορίζεται. Πράγματι, η φωτοαναπνοή έχει διαπιστωθεί να αυξάνεται το απόγευμα, ειδικά σε καταπονημένα από το υδατικό έλλειμμα φυτά (Valentini et al., 1995; Flexas et al., 1999a).

Αντίθετα, η αντίδραση Mehler φαίνεται να συμβάλει σε πολύ μικρό βαθμό στην ενεργειακή απόσβεση. Το μεγαλύτερο ποσοστό που έχει υπολογιστεί να καταλαμβάνει αυτή η αντίδραση σε σχέση με ολική απορροφούμενη ενέργεια είναι στο 9% και αφορά σιταριού που υπέστησαν έντονη καταπόνηση (Biehler and Fock 1996). Είναι πιθανό το παραπάνω ποσοστό να έχει υπερεκτιμηθεί. Αυτό οφείλεται στο ότι στη παραπάνω μελέτη, ο βαθμός της αντίδρασης Mehler υπολογίστηκε ως η διαφορά της συνολικής απορρόφησης του O_2 και της φωτοαναπνοής. Επειδή η τελευταία υπολογίστηκε αναλύοντας την ποσότητα του γκυκολικού οξέος με επισημασμένο άνθρακα (^{14}C) είναι δυνατόν κατά τη διάρκεια της εκχύλισης του γλυκολικού οξέος να χάνεται μια ποσότητα, η οποία οδηγεί σε υποεκτίμηση της φωτοαναπνευστικού ρυθμού και υπερεκτίμηση της αντίδρασης Mehler. Σύμφωνα με τους Haupt-Herting and Fock (2002), η φώτο-αναγωγή στην αντίδραση Mehler είναι μία μη ενζυματική λειτουργία, η

οποία εξαρτάται κυρίως από τη μεταφορά ηλεκτρονίων, έτσι η συνολική συνεισφορά της είναι πιθανότερο να περιορίζεται, όσο ο ρυθμός μεταφοράς των ηλεκτρονίων μειώνεται κατά τη διάρκεια της ξηρασίας. Στις περισσότερες μελέτες που έχουν γίνει και έχει χρησιμοποιηθεί η τεχνική των ισότοπων οξυγόνου, έχει βρεθεί ότι η αντίδραση Mehler συμβάλλει σε πολύ μικρό βαθμό στη συνολική απόσβεση της ενέργειας που μεταφέρεται στην αλυσίδα των ηλεκτρονίων (Flexas et al., 2002b). Προς την ίδια κατεύθυνση, οι εκτιμήσεις που γίνονται με βάση το μοντέλο συνδυασμένων μετρήσεων μεταβολών του φθορισμού της χλωροφύλλης και της ανταλλαγής αερίων, δείχνουν ότι η συμβολή της φωτοαναπνοής στη συνολική απόσβεση της ενέργειας είναι πολύ μικρή ή μηδαμινή.

1.6 Οξειδωτική Καταπόνηση

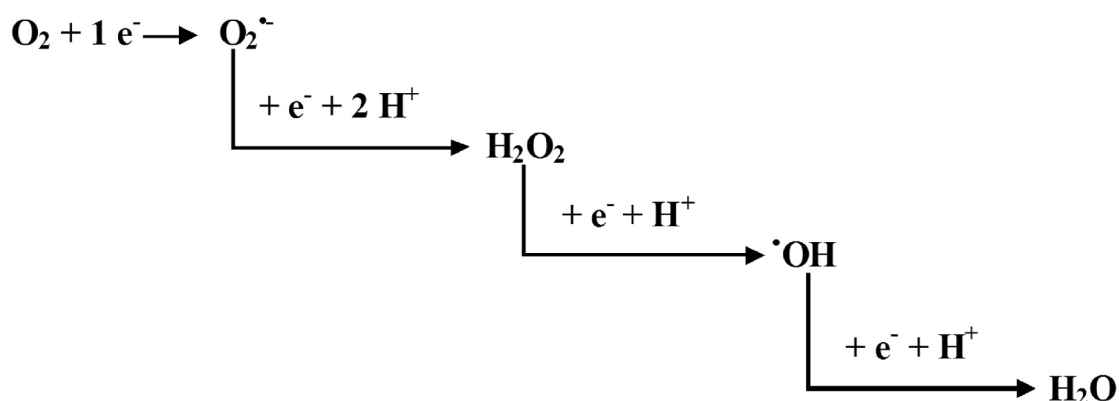
Οι οργανισμοί, που ζουν σε αερόβιες συνθήκες προσπαθούν να ανταπεξέλθουν στο κίνδυνο της οξείδωσης που μπορεί να προέρχεται από το γεγονός ότι η κάθε κυτταρική τους λειτουργία στην οποία εμπλέκεται το οξυγόνο, μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία ανηγμένων, ενδιάμεσων μορφών οξυγόνου (Foyer et al., 1997). Άτομα ή μόρια με ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα, χαρακτηρίζονται ως ενεργές μορφές οξυγόνου (reactive or active oxygen species, ROS). Ο γενικός όρος ROS, δεν αναφέρεται μόνο στις ενεργές μορφές οξυγόνου, αλλά και σε άλλες ενώσεις που συμπεριφέρονται, όπως οι ενεργές μορφές οξυγόνου. Η ιδιότητα του μοριακού οξυγόνου, ως ισχυρού δέκτη ηλεκτρονίων, αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα για τους αερόβιους οργανισμούς, επομένως και για τα φυτά, καθώς υπόκεινται στην αντιμετώπιση της αναπόφευκτης παραγωγής ROS. Οι αντιδράσεις αυτών των ελεύθερων ριζών, είναι κοινό φαινόμενο που παρατηρείται στα φυτά σε συνθήκες βιοτικής ή αβιοτικής καταπόνησης, η οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε οξειδωτική καταπόνηση και τέλος στο κυτταρικό θάνατο, ιδιαίτερα όταν το υδατικό δυναμικό του φυτού είναι πολύ χαμηλό.

Η υδατική καταπόνηση, μπορεί να επάγει αυξημένη παραγωγή των ROS, οι οποίες με τη σειρά τους προκαλούν αξιοσημείωτες ζημιές στα ένζυμα με ενεργές σουλφυδριλικές ομάδες, στις χρωστικές, στα λιπίδια των μεμβρανών, και στη δομική σταθερότητα των πρωτεϊνών (Anderson et al., 1990; Blokhina et al., 2003). Η παραγωγή των ROS είναι αποτέλεσμα της αντίδρασης Mehler, η οποία αποτελεί κρίσιμο μονοπάτι για την απομάκρυνση της περίσσειας ηλεκτροχημικής ενέργειας που προκαλείται από την υδατική καταπόνηση (Gamble and Burke 1984).

Κατά τη διάρκεια του υδατικού ελλείμματος στα φυτά, το υπεροξειδικό ανιόν ή υπεροξειδική ανιονική ρίζα ($O_2^{\bullet-}$), μπορεί να αντιδράσει μη ενζυμικά με το H_2O_2 δίνοντας προϊόντα όπως τη ρίζα υδροξυλίου ($\bullet OH$) και το οξυγόνο απλής κατάστασης (1O_2), τα οποία είναι περισσότερο χημικώς ενεργά από το $O_2^{\bullet-}$ (Navari-Izzo et al., 1994). Τα φωτοσυνθετικά κύτταρα μπορούν να ανέχονται τα αυξημένα επίπεδα των ROS, λόγω της ύπαρξης ενδογενών μηχανισμών που στόχο έχουν την απομάκρυνση και εξουδετέρωση των τοξικών ουσιών πριν ακόμη συμβεί ζημιά σε κυτταρικό επίπεδο (Blokina et al., 2003).

1.6.1. Ενεργές μορφές οξυγόνου

Η παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου είναι αναπόφευκτη συνέπεια του ενεργειακού μεταβολισμού και κυρίως της μεταφοράς ηλεκτρονίων στη φωτοαναπνοή, στην αντίδραση Mehler (παροχή e^- στο O_2 αντί στο $NADP^+$) και στη μεταφορά ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων (Biehler and Fock 1996). Κατά τη διαδικασία αυτή, το μοριακό οξυγόνο δέχεται τέσσερα ηλεκτρόνια για να παραχθούν δυο μόρια νερού. Η παρεμπόδιση όμως της στροφορμής (spin) των μονήρων ηλεκτρονίων του οξυγόνου, υποχρεώνουν τα τέσσερα ηλεκτρόνια του δότη να αντιδράσουν μεμονωμένα με το οξυγόνο, ανά ένα ηλεκτρόνιο τη φορά. Κατά την πορεία αυτής της ατελούς αναγωγής του οξυγόνου δημιουργούνται σταδιακά ενδιάμεσες ελεύθερες ρίζες ως εξής:



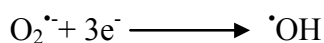
Σε οποιαδήποτε περίπτωση που σε ένα βιολογικό σύστημα το οξυγόνο δεχθεί ένα, δύο ή τρία ηλεκτρόνια, παράγονται η υπεροξειδική ανιονική ρίζα ($O_2^{\bullet-}$), το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και η ρίζα του υδροξυλίου ($\bullet OH$), αντίστοιχα.

Ελεύθερες ρίζες που περιλαμβάνουν μεταβολίτες οξυγόνου, είναι το μοριακό οξυγόνο (O_2), το 1O_2 , το $O_2^{\cdot-}$, η $\cdot OH$, το υδροπεροξυλίο ($HOO^{\cdot}$), η αλκοξυλική ρίζα ($RO^{\cdot}$), η ρίζα υπεροξυλίου ($ROO^{\cdot}$), το μονοξειδίο του αζώτου ($NO^{\cdot}$), το διοξειδίο του αζώτου ($NO_2^{\cdot}$) και το υπεροξυνιτρίλιο ($HNOO^{\cdot}$) (Asada 1996). Ενώσεις που συμπεριφέρονται, όπως οι ενεργές μορφές οξυγόνου και περιλαμβάνονται στα ROS είναι το όζον (O_3), το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), το υποχλωριώδες οξύ ($HOCl$) και η ρίζα του σαλικυλικού οξέος ($SA^{\cdot}$) (Scandalios et al., 1997).

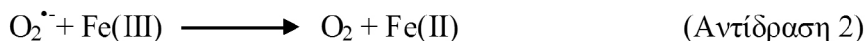
Σε μεταβολικές διεργασίες, όπου λαμβάνει χώρα μεταφορά ηλεκτρονίων, όπως η φωτοσύνθεση και η αναπνοή, παράγονται ROS ως υποπροϊόντα. Για παράδειγμα, έχει υπολογιστεί ότι το 10-20% των ηλεκτρονίων τα οποία διέρχονται από το PSI ανάγουν το O_2 σε H_2O_2 (Fryer et al., 1998) και ένα ποσοστό 2% από το O_2 που καταναλώνεται στα μιτοχόνδρια κατά την αναπνοή χρησιμοποιείται για το σχηματισμό H_2O_2 (Scandalios et al., 1997).

Αν και η δραστηριότητα του μοριακού οξυγόνου (O_2) είναι περιορισμένη, μπορεί να αυξηθεί με την προσθήκη ενός μονήρους ηλεκτρονίου ή με τη μεταφορά ενέργειας στο οξυγόνο από μόρια δέσμευσης του φωτός. Φυτικοί ιστοί που περιέχουν χλωροφύλλη και φλαβίνη, έχουν την ικανότητα να συλλέγουν φωτόνια και να ενεργοποιούν το μοριακό οξυγόνο, σχηματίζοντας οξυγόνο απλής κατάστασης (1O_2). Επειδή το (1O_2) έχει αυξημένη ενέργεια, μπορεί άμεσα να αντιδράσει με κάποιο άλλο μόριο και να του μεταφέρει την ενέργεια που πήρε ή/και να αλλοιώσει τη δομή ενός μακρομορίου ή μιας κυτταρικής μεμβράνης (Alscher et al., 1997, Elstner and Osswald 1994).

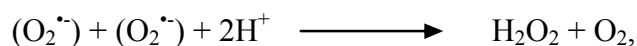
Η ρίζα του υδροξυλίου ($\cdot OH$) είναι χημικώς ενεργή και παράγεται κατά τη μεταφορά ηλεκτρονίων στο μοριακό οξυγόνο:



Επίσης, το ($\cdot OH$) παράγεται κατά τις αντιδράσεις Haber-Weiss και Fenton (Del Rio et al., 1998). Η αντίδραση Haber-Weiss χρησιμοποιεί ως πρώτη ύλη το H_2O_2 και απουσία Fe γίνεται πολύ αργά σε υδατικά διαλύματα (Αντίδραση 1), ενώ η αντίδραση Fenton, παρουσία Fe πραγματοποιείται γρήγορα. Κατά την τελευταία αντίδραση, παρουσία ($O_2^{\cdot-}$) ο Fe(III) ανάγεται σε Fe(II) (Αντίδραση 2) και στη συνέχεια επανοξειδώνεται σε Fe(III) παρουσία H_2O_2 (Αντίδραση 3).



Αν και η ($\text{O}_2^{\bullet}$) ρίζα έχει μικρή δραστηριότητα μπορεί να προκαλέσει σημαντικές ζημιές στο φυτικό κύτταρο, διότι διαχέεται σε σημαντικές αποστάσεις μέσα στο φυτό και έτσι προσβάλλει σημαντικής βιολογικής σημασίας μόρια (Dangl et al., 1996). Ιδιαίτερη βιολογική αξία έχει η δις-μετάλλαξη του:



όπου το H_2O_2 που παράγεται συμμετέχει στην αντίδραση Fenton (Del Rio et al., 1998).

Η υπεροξειδική ανιονική ρίζα ($\text{O}_2^{\bullet-}$) ενώνεται ταχέως με την ελεύθερη ρίζα του μονοξειδίου του αζώτου ($\text{NO}^{\bullet}$). Το προϊόν που προκύπτει είναι το υπεροξυνιτρίλιο ($\text{HNOO}^{\bullet}$), το οποίο προκαλεί υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών, καθώς επίσης και νιτροποίηση των υδροξυλικών ομάδων της τυροσίνης. Η τελευταία αντίδραση είναι ιδιαίτερα καταστροφική για τις πρωτεΐνες των μεμβρανών (Bolwell and Wojtaszek 1997). Το ($\text{NO}^{\bullet}$) στα φυτικά κύτταρα μπορεί να δρα άμεσα ως αγγελιοφόρος (Desikan et al., 2004), ή έμμεσα επηρεάζοντας τα πρωτεύοντα χημικά σήματα (ABA) που παράγονται σε συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης (Neil et al., 2003), συμπεριλαμβανομένης και της υδατικής καταπόνησης (Patakas et al., 2009). Επομένως, η αντίδραση της ρίζας ($\text{O}_2^{\bullet-}$) με το $\text{NO}^{\bullet}$ αφενός μεν, με το προϊόν της, καθίσταται βλαβερή για το κυτταρικό μεταβολισμό, αφετέρου δε επηρεάζει αρνητικά το σημαντικό ρόλο που φαίνεται να παίζει το $\text{NO}^{\bullet}$ στις λειτουργίες των κυττάρων.

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), εξαιτίας της δυνατότητας του να διαπερνά τις κυτταρικές μεμβράνες και λόγω της μακράς διάρκειας ζωής του, μπορεί να επιφέρει οξειδωτική καταπόνηση διαμέσου ποικίλων αντιδράσεων, όπως επίσης μπορεί να δρα σαν τοπικό ή διασυστηματικό σήμα επηρεάζοντας το κλείσιμο των στομάτων, τον εγκλιματισμό του φύλλου στην υψηλή ακτινοβολία, τη βλαστική αύξηση και ανάπτυξη και την παραγωγή θερμοπληξιακών πρωτεϊνών (Pastori and Foyer 2002; Schroeder et al., 2001a; Schroeder et al., 2001b; Foreman et al., 2003). Η

σημαντικότερες πηγές H_2O_2 στα φυτικά κύτταρα είναι η μιτοχονδρική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, οι NADPH-οξειδάσες και η φωτοαναπνοή, κατά το στάδιο σύνθεσης γλυοξυλικού από το γλυκολικό οξύ (Murphy and Huerta 1990).

1.6.2. Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

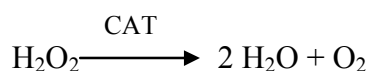
Μια ουσία διαθέτει αντιοξειδωτική ικανότητα όταν, ενώ βρίσκεται σε χαμηλή συγκέντρωση σε σχέση με ένα υπόστρωμα που μπορεί να οξειδωθεί από ενεργές μορφές οξυγόνου, αποτρέπει ή περιορίζει την οξείδωση αυτή, αντιδρώντας ή ίδια με τις ενεργές μορφές οξυγόνου, χωρίς να παράγει τοξικά προϊόντα (Asada 1996). Οι φυτικοί ιστοί για να ελέγξουν τα επίπεδα των ROS και να προστατέψουν τα κύτταρα σε συνθήκες καταπόνησης, επιστρατεύουν μια πλειάδα αντιοξειδωτικών ενζύμων, χρωστικών και δευτερογενών μεταβολιτών χαμηλού μοριακού βάρους. Η ανάπτυξη λοιπόν ενός συντονισμένου αντιοξειδωτικού μηχανισμού, οδήγησε στη δυνατότητα καταστολής και εξουδετέρωσης χημικά ενεργών μορίων, πριν αυτά καταφέρουν να προκαλέσουν οξειδωτική καταπόνηση και μη αντιστρεπτές κυτταρικές βλάβες (Blokhina et al., 2003). Οι αντιοξειδωτικές ουσίες μπορεί να λειτουργήσουν ως εξής: 1) εμποδίζουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών, 2) εξουδετερώνουν τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια, 3) αποσβένουν την ενέργεια των ενεργοποιημένων μορίων όπως το 1O_2 και 4) διακόπτουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις της υπεροξειδωσής των λιπιδίων.

Ο μηχανισμός αποτοξίνωσης των ROS υπάρχει σε όλα τα φυτικά είδη και μπορεί να διαχωριστεί σε δύο κατηγορίες, ο ενζυματικός [υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), καταλάση (CAT), ασκορβική υπεροξειδάση (APX), ισοένζυμα περοξειδασών (ομάδα GPXs), αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR) και αναγωγάση του μονοδιυδροασκορβικού (MDHAR)] και ο μη ενζυματικός [Φλαβονοειδή, ανθοκυάνες, καροτονοειδή, λιπόφυλη α -τοκοφερόλη, πολυαμίνες, αλκαλοειδή και ασκορβικό οξύ (AA)] (Asada 1996, Blokhina et al., 2003). Και οι δύο κατηγορίες απαιτούνται για την αποτελεσματική αποβολή των ROS. Τα αντιοξειδωτικά ένζυμα μπορεί να χωριστούν περαιτέρω σε δύο τύπους: α) σε εκείνα που δρουν ως προστατευτικά ένζυμα, καθώς εξουδετερώνουν άμεσα τα τοξικά μόρια (SOD, CAT και POD) και β) σε εκείνα που παίζουν αναγωγικό ρόλο και υποβοηθούν στη διατήρηση της αντιοξειδωτικής δεξαμενής στην ανηγμένη της μορφή (MDHAR, DHAR και GR).

Οι SODs είναι στην πρώτη γραμμή άμυνας εναντίων της οξειδωτικής καταπόνησης και υπάρχουν σε όλους τους αερόβιους οργανισμούς, με ελάχιστες εξαιρέσεις. Πρόκειται για μεταλοπρωτεΐνες με μεγάλη ικανότητα στην απομάκρυνση

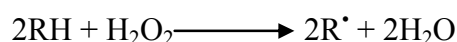
της υπεροξειδικής ανιονικής ρίζας ($O_2^{\bullet-}$) που παράγεται στους χλωροπλάστες και τα μιτοχόνδρια (Fridovich 1986; Scandalios 1993; Mittler et al., 2004). Στα φυτά υπάρχουν τρεις ενζυμικές μορφές (ισοένζυμα) της SOD, ανάλογα με το μέταλλο που φέρουν στην προσθετική τους ομάδα: MnSOD (στα μιτοχόνδρια), FeSOD (στο χλωροπλάστη) και Cu/ZnSOD (στο κυτόπλασμα, στα περοξυσώματα και στο χλωροπλάστη) (Elstner 1982; Asada 1994, Bueno et al., 1995, Ogawa et al., 1995). Η πιο συχνά απαντούμενη μορφή SOD στα ανώτερα φυτά είναι η μορφή Cu/ZnSOD, ενώ οι MnSOD και FeSOD συμβάλλουν λιγότερο στην συνολική δράση του ενζύμου (Alscher et al., 1997). Η ενεργότητα της SODs αυξάνεται αισθητά στις δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, υποδηλώνοντας ένα σημαντικό ρόλο αυτών των ενζύμων στην ανθεκτικότητα των φυτών στις καταπονήσεις. Αν και η μετατροπή του $O_2^{\bullet-}$ σε H_2O_2 από τις SODs θεωρείται επωφέλης στα κύτταρα, το παραγόμενο H_2O_2 μπορεί στη συνέχεια παρουσία του Fe να συμμετάσχει στην αντίδραση Fenton (σελίδα 38). Έτσι, για να αποβεί αποτελεσματική η δράση των SODs στα κύτταρα θα πρέπει να συνδυαστεί με την ενεργοποίηση της CAT αλλά και των περοξειδασών για τη διάσπαση του παραγόμενου H_2O_2 .

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) μπορεί να διασπαστεί από τη CAT ή σε μοριακό οξυγόνο και νερό κατά την αντίδραση:



Η CAT έχει υψηλή ταχύτητα κατάλυσης στην αντίδραση αυτή, όμως παρουσιάζει χαμηλή συγγένεια υποστρώματος, διότι η παραπάνω αντίδραση απαιτεί την ταυτόχρονη πρόσβαση δύο μορίων H_2O_2 στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Το ένζυμο αυτό απαντάται κυρίως στα περοξεισώματα και αποτοξινώνει το H_2O_2 το οποίο παράγεται κυρίως από την φωτοαναπνοή.

Οι υπεροξειδάσες (PODs) είναι ένζυμα που φέρουν αίμη στο μορίό τους και καταλύουν την οξείδωση (ενός ηλεκτρονίου) πολλών υποστρωμάτων σε βάρος του H_2O_2 (Barcelo et al., 2003) σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:



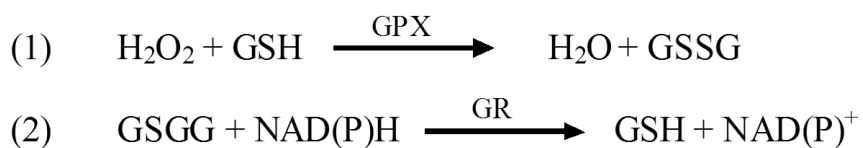
(RH δότης ηλεκτρονίων, π.χ φαινόλη, ασκορβικό οξύ)

Στα ανώτερα φυτά υπάρχουν πολλές ισομορφές των περοξειδασών οι οποίες χωρίζονται σε δύο κλάσεις: α) η πρώτη κλάση απαντάται στους χλωροπλάστες και στο κυτόπλασμα και η β) δεύτερη κλάση είναι γλυκο-πρωτεϊνικής φύσης και εντοπίζεται στο χυμοτόπιο και στα κυτταρικά τοιχώματα (Barcelo et al., 2003). Ο πολυμορφισμός των PODs, η πληθώρα των υποστρωμάτων που οξειδώνουν και ο μεγάλος αριθμός των γονιδίων που κωδικοποιούν τα διάφορα ισοένζυμα, δυσκολεύουν τον προσδιορισμό του ρόλου του κάθε ισοενζύμου. Οι ισομορφές αυτές εμπλέκονται σε μια σειρά από βιολογικά φαινόμενα, όπως η βιοσύνθεση της λιγνίνης και του αιθυλενίου, η ρύθμιση της ανάπτυξης των φυτών και η οργανογένεση (Campa 1991; Asada 1992). Μια σημαντική υπεροξειδάση είναι η GPX η οποία εντοπίζεται κυρίως στο κυτόπλασμα. Το ένζυμο αυτό όπως και η APX αποτοξινώνει το H_2O_2 σε H_2O , αλλά χρησιμοποιεί την ανηγμένη μορφή της γλουταθειόνης (GSH) άμεσα σαν αναγωγικό παράγοντα (αντίδραση 1 στο Εικόνα 1.2). Ο κύκλος αυτός που λέγεται και κύκλος της υπεροξειδάσης του γλουταθείου κλείνει με την αναγέννηση του GSH από την οξειδωμένη μορφή του γλουταθείου (GSOG) με την καταλυτική δράση της αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR) (αντίδραση 2 στο Εικόνα 1.3) (Apel and Hirt 2004).

Ο κύκλος της γλουταθειόνης-ασκορβικού ή κύκλος Halliwell-Asada (Εικόνα 1.3) αποτελεί την κύρια οδό απόσβεσης στα πλαστίδια, όπου δεν υπάρχει CAT και όπου παράγονται πληθώρα ROS κατά τη διάρκεια βιοχημικών διεργασιών, που προαναφέρθηκαν, συνπεριλαμβανομένης της μεταφοράς ηλεκτρονίων κατά την φωτοσύνθεση. Ο κύκλος περιλαμβάνει την APX για την μετατροπή του H_2O_2 σε H_2O και τις αντίστοιχες αναγωγάσες που ανάγουν τις οξειδωμένες μορφές του ασκορβικού οξέος (μονο-αφυδρογονωμένο και δις-αφυδρογονωμένο ασκορβικό οξύ) και του οξειδωμένου γλουταθείου. Τέλος, περιλαμβάνει την κατάλυση της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSOG) από την αναγωγάση της γλουταθειόνης (glutathione reductase, GR) και την αναπαραγωγή ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) από τα αναγωγικά ισοδύναμα, προερχόμενα από το NADPH (Asada 1996).

Ο βαθμός της οξειδωτικής καταπόνησης στα κύτταρα καθορίζεται από την συγκέντρωση του υπεροξειδίου, του H_2O_2 και των ριζών υδροξυλίου. Επιπλέον, η ισορροπία των ενεργοτήτων της SOD, APX και της CAT καθίσταται κρίσιμη για την καταστολή των επιπέδων των ROS στο κύτταρο. Η αλλαγή της παραπάνω ισορροπίας επάγει αντισταθμιστικούς μηχανισμούς. Για παράδειγμα, όταν η ενεργότητα της CAT μειωθεί στα φυτά, αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η APX και η GPX υπερεκφράζονται.

Βέβαια μπορούν να συμβούν και απρόβλεπτες επιδράσεις. Όταν συγκρίθηκαν φυτά με μειωμένη ενεργότητα CAT και APX εμφάνισαν μικρότερη ευαισθησία στην οξειδωτική καταπόνηση (Rizhsky et al., 2002). Η μειωμένη φωτοσυνθετική δραστηριότητα των παραπάνω φυτών οδήγησε σε μειωμένη παραγωγή ROS στους χλωροπλάστες και επομένως αυτό επέφερε μείωση στην ενεργότητα της APX και της CAT.

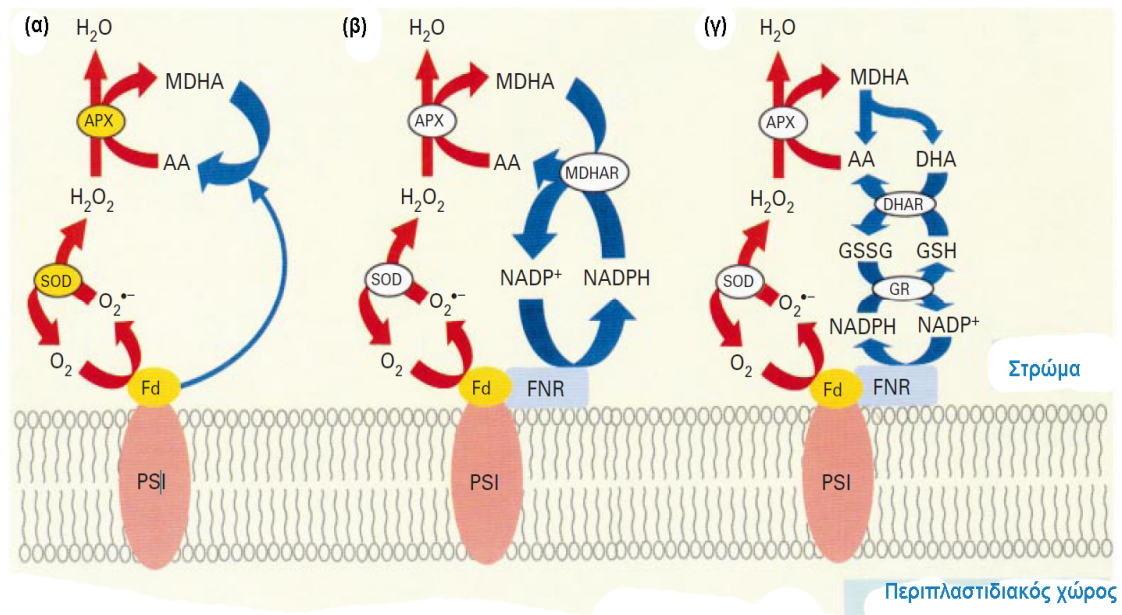


Εικόνα 1.2. Αποτοξίνωση των ROS από το κύκλο της υπεροξειδάσης του γλουταθείου (GPX). Στην εικόνα περιγράφεται η μετατροπή του H_2O_2 σε νερό χρησιμοποιώντας αναγωγικά ισοδύναμα από την ανηγμένη μορφή του γλουταθείου (GSH). Η οξειδωμένη γλουταθειόνη μετρέπεται ξανά σε GSH από την αναγωγή της γλουταθειόνης (GR) και τον αναγωγικό παράγοντα NAD(P)H.

Εκτός από τον αντιοξειδωτικό ένζυμα υπάρχει αυξημένη αναγνώριση του προστατευτικού ρόλου των αντιοξειδωτικών χαμηλού μοριακού βάρους (low-molecular-weight antioxidants-LMWAs) έναντι στην οξειδωτική καταπόνηση. Τα LMWAs αποτελούν ένα σύνολο υδατοδιαλυτών και λιποδιαλυτών ενώσεων και απαντώνται σε όλα τα κυτταρικά διαμερίσματα.

Η α-τοκοφερόλη είναι πιθανόν η πιο σημαντική από τις λιποδιαλυτές LMWAs. Βρίσκεται στις μεμβράνες των θυλακοειδών και μπορεί να εξουδετερώσει την $\text{O}_2^{\bullet-}$, να σπάσει την αλυσιδωτή αντίδραση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων και να προστατέψει τις μεμβρανικές πρωτεΐνες από την οξείδωση της σουλφυδριλικής ομάδας S-H. Για να τα πετύχει όλα αυτά η α-τοκοφερόλη, οξειδώνεται σχηματίζοντας ρίζα και επανέρχεται στην ανηγμένη της μορφή με τη βοήθεια του ασκορβικού οξέος.

Το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) αποτελεί ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό συστατικό των φυτικών κυττάρων. Εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα, στον αποπλάστη και στους χλωροπλάστες και μπορεί να αποσβέσει τις δυο ενεργοποιημένες μορφές του οξυγόνου $^1\text{O}_2$ και $\text{O}_2^{\bullet-}$.



Εικόνα 1.4. Η αναγωγή του οξυγόνου στο PSI και η εξέλιξη του χλωροπλαστικού H₂O₂. Στην εικόνα περιγράφεται ο κύκλος της γλουταθειόνης-ασκορβικού (μεταβολική οδός Asada-Halliwell) καθώς και τις αντιδράσεις που καταλύονται από την υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και την ασκορβική υπεροξειδάση (APX). Οι υπεροξειδικές ανιονικές ρίζες (O₂^{•-}), απομακρύνονται από τη SOD σε μια αντίδραση που παράγεται H₂O₂. Στη συνέχεια το H₂O₂ καταναλώνεται με μετατροπή του από την APX σε H₂O μέσω της οξείδωσης του ασκορβικού οξέος (AA) στα θυλακοειδή και στο στρώμα. Η αναγέννηση του ασκορβικού οξέος επιτυγχάνεται με τρεις οδούς: (α) Με τη φωτοχημική αναγωγή του μονοαυδρογονωμένου ασκορβικού οξέος (MDHA) σε ασκορβικό οξύ από τη φερεδοξίνη (Fd) (κύκλος της υπεροξειδάσης-Mehler). (β) Την ενζυμική αναγωγή του μονοδιδροασκορβικού (MDHA), που γίνεται από τη αναγωγή του μονοδιδροασκορβικού (MDHAR). (γ) Με το κύκλο του ασκορβικού και της γλουταθειόνης. Εναλλακτικώς, το MDHA, που αυτομάτως μετατρέπεται σε διδιδροασκορβικό (DHA), αντιδρά με την ανηγμένη μορφή του γλουταθειού (GSH) για να παράγει ασκορβικό οξύ και την οξειδωμένη μορφή του γλουταθειού (GSSG), σε μια αντίδραση που καταλύεται από την αναγωγή του διδιδροασκορβικού (DHAR). Η GSSG, ανάγεται στη συνέχεια και πάλι σε GSH με τη βοήθεια της αναγωγής της γλουταθειόνης (GR), αντίδραση η οποία απαιτεί την κατανάλωση NADPH. Η αναγωγή ενός μορίου O₂ σε δύο μόρια νερού, χρειάζεται τέσσερα ηλεκτρόνια από τη φωτοσυνθετική αλυσίδα και υποστηρίζει τη διαβάθμιση πρωτονίων στα θυλακοειδή. FNR, φερεδοξίνη: NADP⁺ οξειδορεδοκτάση.

Επίσης βοηθά στην αναγέννηση πολλών αντιοξειδωτικών όπως είναι η α-τοκοφερόλη, τα φλαβονοειδή και οι ξανθοφύλλες. Μπορεί να χρησιμεύει σαν υπόστρωμα στις αντιδράσεις που καταλύονται από ένζυμα για την αποτοξίνωση του H_2O_2 .

Οι χρωστικές των φυτών έχουν ένα μοναδικό και πολυσύνθετο ρόλο στην προστασία από την οξειδωτική καταπόνηση. Πρωτίστως, μπορούν να εξουδετερώνουν αποτελεσματικά τις ROS. Το β-καροτένιο είναι μια πορτοκαλόχρωμη χρωστική η οποία είναι πρόδρομη ουσία της βιταμίνης Α και μπορεί να αποσβένει το 1O_2 που παράγεται στους χλωροπλάστες. Οι χρωστικές των φλαβονοειδών αποτελούν χρήσιμες ενώσεις για την εξουδετέρωση των περισσότερων ROS, όπως είναι το H_2O_2 , 1O_2 , $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$, $RO_2^{\cdot}$ και το $ONOO^{\cdot}$. Οι ανθοκυάνες εντοπίζονται στο χυμοτόπιο και είναι χρωστικές που σε αυτές οφείλεται το κόκκινο, το ιώδες και το μπλε χρώμα που παίρνουν πολλά φυτικά όργανα. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει, ότι τα κόκκινα φύλλα εμφανίζουν μεγαλύτερη ικανότητα να ανταπεξέρχονται στην οξειδωτική καταπόνηση απ'ότι τα πράσινα φύλλα. Ακόμη, τα κύτταρα που περιείχαν ανθοκυάνες στο χυμοτόπιο τους μπορούσαν να απομακρύνουν το H_2O_2 πολύ γρήγορα σε σχέση με τα κύτταρα που ήταν άχρωμα.

Ένας δεύτερος, αλλά σημαντικός ρόλος των φυτικών χρωστικών είναι να αποτρέπουν αρχικά την συσσώρευση των ROS. Οι ξανθοφύλλες το επιτυγχάνουν αυτό απορροφώντας την περίσσεια ενέργειας από τις χλωροφύλλες τριπλής κατάστασης πριν αυτή μεταφερθεί στο ελεύθερο οξυγόνο.

1.6.3. Οξειδωτική καταπόνηση σε συνθήκες ξηρασίας

Ο εγκλιματισμός των φυτών στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες όπως η ξηρασία είναι σημαντικός για την επιβίωση και την ανάπτυξη τους. Η αντίδραση των φυτών στην υδατική καταπόνηση και ειδικά η αλλαγή του μεταβολισμού στο χλωροπλάστη είναι πολύπλοκη. Είναι γνωστό, ότι η υδατική καταπόνηση αναστέλλει τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα στους φυτικούς ιστούς, λόγω της ανισορροπίας της απορροφούμενης φωτεινής ενέργειας και της χρησιμοποίησης της (Foyer and Noctor 2000). Η μείωση της δραστηριότητας του PSII, έχει σαν αποτέλεσμα τη διατάραξη της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής και της χρησιμοποίησης των ηλεκτρονίων της φωτοσυνθετικής αλυσίδας η οποία οδηγεί σε μεταβολή της φωτονικής συγκομιδής. Οι αλλαγές που συμβαίνουν στη φωτοχημεία των χλωροπλάστων που βρίσκονται στα φύλλα των φυτών με υδατικό έλλειμμα, βοηθούν στην απόσβεση της περίσσειας φωτεινής ενέργειας στο κέντρο της φωτοχημικής

αντίδρασης του PSII και στο σύμπλοκο μορίων των φωτοσυλλεκτικών κεραίων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) ($O_2^{\bullet-}$, 1O_2 , H_2O_2 , $^{\bullet}OH$), οι οποίες δυνητικά είναι πολύ καταστρεπτικές σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Peltzer et al., 2002; Sgherri and Navari-Izzo 1995; Smirnoff 1993). Επίσης, οι αλλαγές στη φωτοσυνθετική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων σε συνθήκες ξηρασίας μπορούν αναπόφευκτα να οδηγήσουν στην παραγωγή της ρίζας ($O_2^{\bullet-}$), αφού όπως γνωρίζουμε το μοριακό οξυγόνο ανταγωνίζεται με το NADP για την αναγωγή τους στο φωτόςύστημα I (PSI). Η ξηρασία όχι μόνο προκαλεί διάσπαση των χρωστικών αλλά μπορεί να οδηγήσει και σε αποδιοργάνωση της μεμβράνης των θυλακοειδών (Ladjal et al., 2000). Οι φωτοχημικές αντιδράσεις που σχετίζονται με το PSII έχει βρεθεί ότι είναι περισσότερο ευπαθείς στην ξηρασία. Έχει αναφερθεί ότι η διάσπαση των πρωτεϊνών DI και D2 του PSII σχετίζεται άμεσα με την καταστροφή της φωτοχημείας του PSII (Lu and Zhang 1999). Η παρεμπόδιση της αφομοίωσης του CO_2 , όταν συνδυάζεται με αλλαγές στη λειτουργία των φωτοσυστημάτων και στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή ROS μέσω της αντίδρασης Mehler (Asada 1999). Επιπλέον, κατά τη διάρκεια μιας υδατικής καταπόνησης υπάρχει δυνητική τάση για αυξημένη συγκέντρωση $O_2^{\bullet-}$ και H_2O_2 σαν αποτέλεσμα του αυξημένου βαθμού φωτοαναγωγής του O_2 στους χλωροπλάστες (Ramachandra Reddy et al., 2004).

Σε ένα κύτταρο η υπερπαραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου οδηγεί σε συνθήκες οξειδωτικής καταπόνησης. Οι βλάβες που προξενεί ο σχηματισμός των ROS εκδηλώνονται με υπεροξείδωση των λιπιδίων των βιομεμβρανών, με αποτέλεσμα τη διάρρηξή τους και την εκροή των ενδοκυτταρικών συστατικών (Gutteridge και Halliwell 1990). Άλλες επιβλαβείς επιδράσεις των ελεύθερων ριζών στις βιολογικές δομές είναι μεταλλάξεις και θραύσεις του DNA, διάσπαση χρωστικών, εξασθένηση της φωτοσυνθετικής και αναπνευστικής ικανότητας, οξείδωση και καταστροφή της δομής των πρωτεϊνών και των αμινοξέων, γηρασμό και νέκρωση (Asada 1999; Johnson et al, 2003; Blokhina κ.α. 2003;). Οι ενεργές μορφές οξυγόνου, προκαλούν επίσης μερική οξείδωση των καρβοξυλικών και των σουλφυδριλικών ομάδων των πρωτεϊνών (Stadtman 1992). Οι ROS, επιτίθενται στα πιο ευαίσθητα βιολογικά μακρομόρια των κυττάρων με αποτέλεσμα να αλλοιώνουν τη δομή τους ή να διαταράσσουν τη λειτουργία τους. Τα κατεστραμμένα βιολογικά μόρια ή ανακτούν τη λειτουργία τους, ή τη δομή τους ή αντικαθίστανται με νέα μόρια μέσω της *de novo* βιοσύνθεσης τους. Ωστόσο, η έντονη υδατική καταπόνηση η οποία προκαλεί βλάβη σε πολλά βιομόρια

οδηγεί σε μια αλληλουχία αποτελεσμάτων που τελικά καταλήγουν στην κυτταρική νέκρωση. Η πυκνότητα των κυττάρων σε συνθήκες περιβαλλοντικής καταπόνησης, καθορίζεται από τη διάρκεια της υδατικής καταπόνησης και της προστατευτικής ικανότητας των φυτών. Οι ROS, όπως αναφέρθηκε παίζουν κρίσιμο ρόλο στην ύπαρξη κυτταρικών βλαβών σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Η υδατική καταπόνηση στους φυτικούς ιστούς, έχει με σειρά τα εξής αποτελέσματα: (1) αύξηση της παραγωγής των ROS και των οξειδωμένων μορίων στόχων, (2) αύξηση της έκφρασης γονιδίων για αντιοξειδωτική λειτουργία (3) αύξηση των επιπέδων των αντιοξειδωτικών συστημάτων και αντιοξειδωτικών μορίων και (4) αυξημένη ικανότητα εξουδετέρωσης των ROS που καταλήγει σε αντοχή στην υδατική καταπόνηση (Mano 2002). Τα δευτερογενή προϊόντα που παράγονται από τη δράση των ROS στα φυτικά κύτταρα περιλαμβάνουν υπεροξείδια των λιπιδίων και ρίζες θειόλης. Μολονότι, μια σειρά ρυθμιστικών μηχανισμών που λαμβάνουν χώρα μέσα στο κύτταρο ενεργοποιούνται για να περιορίσουν την παραγωγή αυτών των τοξικών μορίων, η οξειδωτική καταπόνηση παραμένει δυνητικά μεγάλο πρόβλημα αφού προκαλεί διαταραχή στο μεταβολισμό και στη λειτουργία της φωτοσύνθεσης στα φύλλα σε συνθήκες περιβαλλοντικής καταπόνησης.

Ο βαθμός που αυξάνεται η ενεργότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων και η ποσότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, ποικίλει ανάμεσα στα φυτικά είδη ακόμη και ανάμεσα στις ποικιλίες του ίδιου είδους (Blokshina et al., 2003). Τα επίπεδα της αντιοξειδωτικής απόκρισης εξαρτώνται από τα είδη, το στάδιο ανάπτυξης, την ηλικία και τη μεταβολική κατάσταση του φυτού, όπως επίσης και από τη διάρκεια και την ένταση της υδατικής καταπόνησης. Πολλές βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις, προκαλούν αύξηση της ενεργότητας των αντιοξειδωτικών στα φύλλα (Pastori et al., 2000), αλλά υπάρχει ελλιπής γνώση όσον αφορά την ενεργότητα και την έκφραση των αντιοξειδωτικών ενζύμων σε φυτικά κύτταρα τα οποία εκτίθενται στην ξηρασία. Πολλές μελέτες, έχουν συσχετίσει την αυξημένη ανθεκτικότητα στις καταπονήσεις με την υπερπαραγωγή χλωροπλαστικής SOD (Arisi et al., 1998) ή άλλων αντιοξειδωτικών ενζύμων (Allen 1995). Η οξειδωτική καταπόνηση έχει παρατηρηθεί σε πολλά φυτά με υδατικό έλλειμμα (Chaitanya et al., 2002; Mano 2002).

Σκοπός της Εργασίας



2.1 Το κλίμα της Μεσογειακής λεκάνης και της Ελλάδος

Η Μεσόγειος είναι μία από τις πιο άνυδρες περιοχές του πλανήτη. Η φυσική προσφορά νερού είναι άνισα κατανεμημένη μεταξύ των χωρών της (72% στο Βορρά, 23% στην Ανατολή και 5% στο Νότο), μεταξύ των διαφόρων τμημάτων του πληθυσμού της και είναι επίσης ιδιαίτερα ακανόνιστη στο χρόνο και στην ένταση. Οι ιδιαίτερα σύντομες και έντονες βροχοπτώσεις που παρατηρούνται είναι πολύ συχνά αιτίες καταστροφών ενώ επιτείνουν τη διάβρωση των εδαφών και την ανεξέλεγκτη απορροή. Στην Μεσογειακή λεκάνη, η βροχόπτωση είναι μεγαλύτερη στο βορρά απ' ό,τι στο νότο και ενισχύεται σε ένταση με την αύξηση του υψομέτρου κατά μήκος των πολυάριθμων οροσειρών που υπάρχουν στην περιοχή. Η ξηρή περίοδος μπορεί να διαρκέσει από 1 έως 8 μήνες και η διάρκεια του καλοκαιριού ποικίλει ανάμεσα στις περιοχές που βρίσκονται στην Μεσογειακή λεκάνη. Στην διάρκεια αυτών των ξηρών περιόδων τα φυτά αντιμετωπίζουν συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Η σπουδαιότερη συνέπεια αυτού του τύπου του κλίματος, είναι ότι δεν υπάρχει χρονική περίοδος στην οποία οι υψηλές θερμοκρασίες να συμπίπτουν με την υψηλή διαθεσιμότητα νερού στο έδαφος. Αυτό έχει σημαντική επίπτωση για την φυτική ανάπτυξη, η οποία περιορίζεται στις υγρές περιόδους ανάμεσα στην άνοιξη και το φθινόπωρο.

Ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό του Μεσογειακού κλίματος, είναι ότι η βροχόπτωση δεν κατανέμεται ομοιόμορφα κατά τη διάρκεια του χρόνου και είναι ακανόνιστη από χρονιά σε χρονιά. Οι περισσότερες κατακρημνίσεις πέφτουν ανάμεσα στο Σεπτέμβριο και τον Μάιο, αλλά ως έντονα μεμονωμένα καιρικά φαινόμενα τα οποία μπορεί να οδηγήσουν σε περιόδους ξηρασίας μικρής διάρκειας ακόμη και κατά την διάρκεια της υγρής περιόδου. Από χρόνο σε χρόνο η διακύμανση των κατακρημνίσεων είναι μεγαλύτερη στις ξηρές περιοχές κατά τον τρόπο που συμβαίνει σε άνυδρες κλιματικές συνθήκες (έρημος) (Ehleringer and Mooney 1983).

Η Γεωργία μέσω των αρδεύσεων, είναι ο κύριος καταναλωτής νερού στις περισσότερες χώρες της Μεσογείου (με εξαίρεση τη Γαλλία και τα Βαλκάνια) και καταναλώνει κατά μέσο όρο το 60% του χρησιμοποιούμενου νερού (στις χώρες του Νότου το ποσοστό αυτό φθάνει και το 82%). Ειδικά το καλοκαίρι, προβλέπεται μείωση των βροχοπτώσεων από 9-42% σε διάφορες περιοχές της Ευρώπης έως το 2080, όπου, σύμφωνα με μελέτες, οι κλιματικές αλλαγές και η διαφαινόμενη αύξηση της μέσης θερμοκρασίας θα οδηγήσει σε δραματική μείωση των διαθέσιμων υδατικών πόρων έως και 25% έως το 2030, ειδικά στη νότια Ευρώπη. Άλλωστε, υπολογίζεται ότι τις

επόμενες δεκαετίες το 38% των κατοίκων της Μεσογείου θα ζει σε συνθήκες έλλειψης νερού.

Η Ελλάδα παρουσιάζει μεσογειακό κλίμα, με κύρια χαρακτηριστικά ζεστά καλοκαίρια και άνιση κατανομή των βροχοπτώσεων στη διάρκεια του έτους. Οι βροχές παρατηρούνται το υγρό εξάμηνο, ενώ το θερινό είναι ξηρό. Η ποικιλία του ανάγλυφου της χώρας, με πολλές εναλλαγές από ορεινό σε πεδινό, έχει ως αποτέλεσμα να παρατηρούνται πολλά τοπικά μικροκλίματα. Στην Ελλάδα υπάρχει ένα ιδιόμορφο υδρολογικό καθεστώς: η Δυτική Ελλάδα δέχεται το μεγαλύτερο μέρος των βροχοπτώσεων, ενώ η Ανατολική Ελλάδα με τα νησιά του Αιγαίου και την Κρήτη έχουν σημαντικά μικρότερες βροχοπτώσεις. Η οροσειρά της Πίνδου, επηρεάζει την κατανομή των βροχών στο μεγαλύτερο τμήμα της χώρας. Το μέσο ετήσιο ύψος βροχής είναι περίπου 700 mm. Στη δυτική χώρα, οι ετήσιες βροχοπτώσεις υπερβαίνουν τα 1200 mm και μάλιστα οι βροχοπτώσεις της ορεινής περιοχής στη δυτική Ελλάδα ξεπερνούν τα 2200 mm. Η αντίστοιχη τιμή στην ανατολική Ελλάδα και σε τμήμα της νησιωτικής χώρας είναι 400 mm. Οι βροχοπτώσεις ενισχύονται με την αύξηση του υψομέτρου, έτσι ο χάρτης των βροχοπτώσεων, κατά μεγάλο ποσοστό, συμφωνεί με τον χάρτη του αναγλύφου.

2.2 Η καλλιέργεια της αμπέλου σε ένα μεταβαλλόμενο περιβάλλον

Η άμπελος (*Vitis vinifera* L.) καλλιεργείται σε περιοχές με γεωγραφικό πλάτος από 4° έως 51° στο βόρειο ημισφαίριο και από 6 ° έως 45° στο νότιο, που χαρακτηρίζονται από μια ποικιλία κλιματικών συνθηκών. Κατά συνέπεια, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες οι οποίοι διαφέρουν σημαντικά από περιοχή σε περιοχή, επηρεάζουν ανάλογα και την αμπελοκαλλιέργεια. Στο παρελθόν, η αμπελοκαλλιέργεια περιορίστηκε εξαιτίας των χαμηλών χειμερινών θερμοκρασιών που επικρατούσαν σε περιοχές της Β. Ευρώπης, της Ασίας και της Βόρειας Αμερικής. Οι χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου, εμποδίζουν την αμπελοκαλλιέργεια να αναπτυχθεί σε περιοχές που βρίσκονται κάτω από την ισόθερμο των 12 °C (Απρίλιο-Οκτώβριο στο Β. ημισφαίριο και Οκτώβριο-Απρίλιο στο Ν. ημισφαίριο) (Jones et al., 2005). Αντίθετα η επίδραση των υψηλών θερμοκρασιών είναι λιγότερο προσδιορισμένη σε σχέση με την κατανομή των περιοχών όπου υπάρχει η καλλιέργεια. Γενικά η ισόθερμος των 22 °C, θεωρείται περιοριστικός παράγοντας για την παραγωγή οινοποιήσιμων ποικιλιών αμπέλου (Jones 2007, Schultz and Jones 2008). Παρ' όλα αυτά η καλλιέργεια απαντάται και σε τροπικές περιοχές όπου η θερμοκρασία

είναι μεγαλύτερη (Tonietto and Carbonneau 2004). Αυτό υποδηλώνει ότι η επιβλαβής επίδραση της υψηλής θερμοκρασίας, μπορεί σε μεγάλο βαθμό να μετριαστεί αν η επάρκεια σε νερό ή υγρασία είναι υψηλή. Σ' αυτές λοιπόν τις περιοχές, η έλλειψη νερού είναι πιθανόν ο σημαντικότερος περιοριστικός παράγοντας (Williams and Matthews 1990). Ακόμη και σε περιοχές με πιο ήπιες κλιματικές συνθήκες, οι αμπελώνες αντιμετωπίζουν ως ένα βαθμό υδατική καταπόνηση κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου (Morlat et al., 1992, van Leeuwen et al., 1994, Gaudilliere et al., 2002, Gruber and Schultz 2009). Σύμφωνα με τις προβλέψεις, η κλιματική αλλαγή θα επηρεάσει τη μεσογειακή λεκάνη (όπου η αμπελοκαλλιέργεια έχει δεσπόζουσα θέση) περισσότερο από κάθε άλλη περιοχή του πλανήτη. Η περιοχή αυτή θα αντιμετωπίσει έντονη αύξηση θερμοκρασίας και μείωση των βροχοπτώσεων σε σχέση με άλλες περιοχές του πλανήτη. Υπολογίζεται ότι στη διάρκεια του 20^{ου} αιώνα οι βροχοπτώσεις μειώθηκαν κατά 30%. Η μείωση των βροχοπτώσεων συνοδεύτηκε και από μεταβολή της κατανομής τους, με τάση ενίσχυσης της έντασης των μεμονωμένων βροχοπτώσεων και των καταιγίδων (Nicault et al., 2008).

2.3 Υφιστάμενη κατάσταση και προοπτική της αμπελοκαλλιέργειας στην Ελλάδα και στην Ευρώπη

Η συνολική έκταση του ελληνικού αμπελώνα ανέρχεται σε 1.247.220 στρέμματα (2003) και αντιπροσωπεύει περίπου το 4.5% της συνολικής καλλιεργούμενης έκτασης, το 3.5% του κοινοτικού αμπελώνα και το 1.7% του παγκόσμιου. Η καλλιεργούμενη έκταση των ποικιλιών οινοποιίας και επιτραπέζιας χρήσης είναι 722.971 και 524.556 στρέμματα αντίστοιχα. (Στοιχεία Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2003). Η γεωγραφική κατανομή της έκτασης που καταλαμβάνει η αμπελοκαλλιέργεια στην Ελλάδα έχει ως εξής:

Ανατολική Μακεδονία και Θράκη	1.181 εκτάρια
Δυτική και Κεντρική Μακεδονία	6.425 «
Ήπειρος	698 «
Θεσσαλία	4.408 «
Δυτική Ελλάδα	10.697 «
Νησιά Ιονίου	3.556 «
Πελοπόννησος	11.913 «
Στερεά Ελλάδα και Εύβοια	8.599 «

Αττική	11.540 εκτάρια
Νησιά Αιγαίου	8.351 «
Κρήτη	10.098 «

Η αμπελοκαλλιέργεια καταλαμβάνει περίπου το 10% της ελληνικής γεωργικής οικονομίας. Η ετήσια παραγωγή για τις επιτραπέζιες ποικιλίες (περιλαμβάνονται και ποσότητες Σουλτανίνας), ανέρχεται περίπου στους 200.000 τόνους, ενώ για τις οινοποιήσιμες ποικιλίες στους 400.000 τόνους (65% λευκοί και 35% ερυθροί).

Το 10% της έκτασης που χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια οινοποιήσιμων ποικιλιών, προορίζεται για την παραγωγή Οίνων Ονομασίας Προελεύσεως και το υπόλοιπο για την παραγωγή επιτραπέζιων οίνων στους οποίους περιλαμβάνονται και οι οίνοι με γεωγραφική ένδειξη καταγωγής. Η παραγωγή της Ελλάδος καταλαμβάνει περίπου το 2% της συνολικής παραγωγής της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Το 2004 ανήλθε σε 4.295.000 hl και κατανέμεται ανάλογα με την κατηγορία των οίνων και τη διάκρισή τους σε λευκούς και ερυθρούς όπως φαίνεται στον πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1. Κατανομή της παραγωγής οίνου σε εκατόλιτρα (hl) ανάλογα με την κατηγορία στην οποία ανήκει [Οίνοι που παράγονται εντός καθορισμένης περιοχής (V.Q.P.R.D.)] και η διάκριση του σε λευκούς και ερυθρούς.

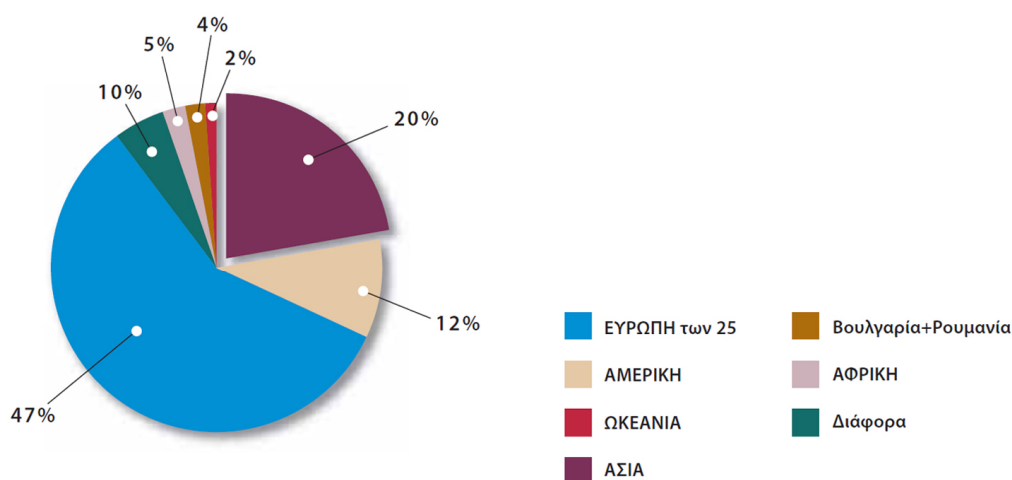
ΠΑΡΑΓΩΓΗ 2004	ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΟΙ	V.Q.P.R.D.	ΣΥΝΟΛΟ
ΛΕΥΚΟΙ	2.570.020	210.660	2.780.680
ΕΡΥΘΡΟΙ	1.359.210	155.110	1.514.320
ΣΥΝΟΛΟ	3.929.230	365.770	4.295.000

Ο ευρωπαϊκός αμπελουργικός κλάδος κατέχει ηγετική θέση παγκοσμίως διότι, κατέχει την πρώτη θέση στην παγκόσμια παραγωγή με έκταση αμπελώνων μεγαλύτερη του 45% (Costa et al., 2007) (Εικόνα 2.1), κατέχει το 60% της παγκόσμιας παραγωγής,

την πρώτη θέση στην κατανάλωση με ποσοστό 60% της παγκόσμιας κατανάλωσης και την πρώτη θέση στις εξαγωγές και στις εισαγωγές.

Σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα στατιστικά στοιχεία του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (ΟΙΥ), η παγκόσμια κατανάλωση εκτιμάται σε 228 εκατομ. εκατόλιτρα (hl), ποσότητα που αντιπροσωπεύει σημαντική πτώση σε σχέση με τις ανώτατες ποσότητες που είχαν επιτευχθεί ατά τη δεκαετία του 70.

Στην πραγματικότητα, η εξέλιξη της παγκόσμιας κατανάλωσης χαρακτηρίζεται από μεγάλες αντιθέσεις. Στην Ε.Ε, η κατανάλωση μειώθηκε κατά 15 εκατομ. εκατόλιτρα (11%) την περίοδο 1984-2003, λόγω σημαντικής κάμψης της κατανάλωσης στη Νότια Ευρώπη, η οποία, την ίδια περίοδο, αντισταθμίστηκε από την εμφάνιση νέων γενεών καταναλωτών στις χώρες της Βόρειας και Ανατολικής Ευρώπης. Ομοίως, η κατανάλωση αυξάνεται σε πολλές χώρες, ιδίως στην Αυστραλία, τη Νέα Ζηλανδία, τον Καναδά, τις ΗΠΑ, τη Ρωσία και την Κίνα. Τέλος, οι προοπτικές όσον αφορά την παγκόσμια κατανάλωση για τα επόμενα έτη φαίνονται ανοδικές.

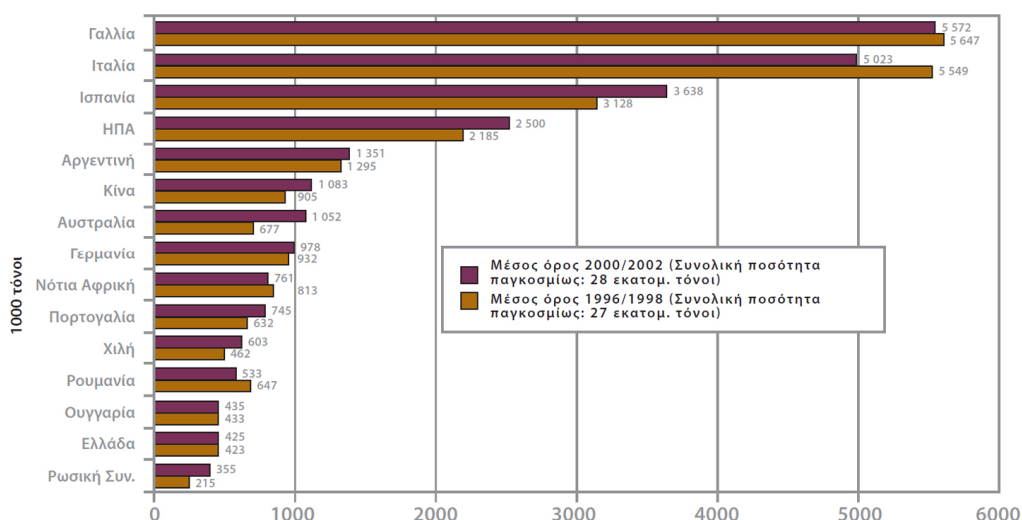


Εικόνα 2.1. Κατανομή των εκτάσεων αμπέλου στον κόσμο (Πηγή: ΟΙΥ-Διεθνής οργανισμός Οίνου και Αμπέλου)

Με εξαγωγές αξίας πάνω από 15 δισεκ. ευρώ, ο οίνος αντιπροσωπεύει το 3,5% του παγκόσμιου εμπορίου γεωργικών προϊόντων και τροφίμων. Κατ' όγκο (μη συμπεριλαμβανόμενου του ενδοκοινοτικού εμπορίου), οι παγκόσμιες εξαγωγές ανέρχονται σε περίπου 33 εκατομ. εκατόλιτρα, δηλαδή υπερβαίνουν το 10% της

παγκόσμιας παραγωγής. Ενώ διατηρεί σαφώς την ηγετική της θέση στις εξαγωγές, η Ευρωπαϊκή Ένωση διαπιστώνει ότι αρχίζουν να την πλησιάζουν οι παραγωγοί του Νέου Κόσμου. Οι τέσσερις βασικοί ανταγωνιστές της έχουν σημειώσει θεαματική άνοδο στις εξαγωγές τους: Νότιος Αφρική (+ 770 %), Αυστραλία (+ 500 %), Χιλή (+ 270 %) και Ηνωμένες Πολιτείες (+ 160 %).

Η ευρωπαϊκή αμπελοκαλλιέργεια ασκείται υπό πολύ διαφορετικές συνθήκες σε κάθε κράτος μέλος, τόσο όσον αφορά το μέγεθος των αμπελώνων ή τους παραγόμενους οίνους όσο των οινολογικών πρακτικών που προσιδιάζουν στις ιδιαίτερες κλιματικές συνθήκες κάθε τόπου. Συνολικά, ο οίνος αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα γεωργικά προϊόντα στην Ευρώπη των 15, αλλά και στην Ευρώπη των 25, με τριπλάσια συνεισφορά στην ευρωπαϊκή οικονομία από αυτή του ζαχαρότευτλου, δυόμιση φορές μεγαλύτερη από αυτή του ελαιολάδου και ελάχιστα μικρότερη από αυτή του σίτου.



Εικόνα 2.2. Οι κυριότερες οινοπαραγωγικές χώρες παγκοσμίως (Πηγή FAO)

Κατά την τελευταία πενταετία, η παραγωγή της ΕΕ των 25 ανήλθε, κατά μέσο όρο, σε 178 εκατομ. εκατόλιτρα αξίας 16,1 δισεκ. ευρώ. Με την προσχώρηση της Ρουμανίας και της Βουλγαρίας, η παραγωγή αυξήθηκε κατά 7 εκατομ. εκατόλιτρα περίπου. Με 1,6 εκατομμύρια αμπελουργικές εκμεταλλεύσεις, η αμπελοκαλλιέργεια καλύπτει περίπου 3,4 εκατομ. εκτάρια στην Ευρώπη των 25. Η μέση έκταση των αμπελώνων ανά εκμετάλλευση είναι περίπου δύο εκτάρια, αν και η πλειοψηφία των αμπελουργών καλλιεργούν αμπελώνες μικρότερους του ενός εκταρίου (Πίνακας 2.2). Το τελευταίο αποτελεί ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά του ελληνικού αμπελώνα όπου κυριαρχεί ο μικρός και ο διάσπαρτος κλήρος. Το σημαντικότερο πλεονέκτημα της

αμπελοοινικής παραγωγής στην Ελλάδα είναι ο μεγάλος αριθμός των γηγενών ποικιλιών αμπέλου και η μεγάλη ποικιλία εδαφοκλιματικών συνθηκών και υψομέτρων που οφείλονται στη γεωγραφική θέση της Ελλάδος, οι οποίες ευνοούν την παραγωγή ποιοτικών οίνων.

Πίνακας 2.2. Η παραγωγή της ΕΕ σε αριθμούς (Πηγή: ΓΔ Γεωργίας και Αγροτικής Ανάπτυξης, Eurostat, Ανακοινώσεις των ΚΜ)

Κράτη μέλη	Αριθμός εκμεταλλεύσεων με αμπελώνες (2003)	σε %	Επιφάνεια του αμπελώνα (2004/05)		Οινοπαραγωγή (μέσος όρος, 2000-2004)		Αξία παραγωγής (μέσος όρος, 2000-2004)		Μοναδιαία (μέσος όρος, 2000-2004)
			1000 εκτάρια	%	1000 εκατόλιτρα	%	εκατ. €	%	
Γαλλία	118 400	7	893	26,5	54 682	30,6	7 731	48,0	141
Ιταλία	605 960	37	765	22,7	50 846	28,5	4 155	25,8	82
Ισπανία	194 920	12	1 105	32,8	43 231	24,2	1 231	7,6	28
Γερμανία	30 470	2	103	3,1	9 470	5,3	1 110	6,9	117
Πορτογαλία	209 180	13	237	7,0	7 180	4,0	1 058	6,9	147
Ουγγαρία	195 540	12	88	2,6	4 490	2,5	181	1,1	40
Ελλάδα	177 070	11	66	2,0	3 646	2,0	46	0,3	13
Αυστρία	18 490	1	51	1,5	2 551	1,4	437	2,7	171
Σλοβενία	28 710	2	17	0,5	994	0,6	82	0,1	82
Τσεχική Δημ.	5 850	0,4	12	0,4	523	0,3	21	0,1	40
Σλοβακία	22 090	1,4	17	0,5	438	0,2	δ.υ.		δ.υ.
Κύπρος	12 920	0,8	12	0,4	425	0,2	17,0	0,1	40,0
Λουξεμβούργο	370	0,0	1,3	0,0	140	0,1	28,0	0,2	200,0
Μάλτα	4 100	0,3	0,6	0,0	67	0,0	δ.υ.		δ.υ.
Άλλα	320	0,0	0,7	0,0	17	0,0	δ.υ.		δ.υ.
Σύνολο ΕΕ 25	1 624 390	100	3 369	100	178 700	100	16 097	100	90

δ.υ. = δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία

2.4 Η ελλειμματική άρδευση στην αμπελοκαλλιέργεια

Η άμπελος είναι παραδοσιακά μια μη αρδευόμενη καλλιέργεια η οποία καταλαμβάνει σημαντικές γεωργικές περιοχές σε ξηρές και ημίξηρες περιοχές της Μεσογειακής ζώνης. Τα τελευταία χρόνια πραγματοποιείται εφαρμογή της άρδευσης σε πολλές καλλιέργειες, με σκοπό να αυξηθεί η μειωμένη παραγωγή. Στην τελευταία περίπτωση, η καλή ισορροπία μεταξύ της ποιότητας των καρπών και της παραγωγής, κρίνεται σημαντική για την παραγωγή υψηλής ποιότητας κρασιών. Η άμπελος όπως αναφέρθηκε, αποτελεί μια από τις καλύτερα προσαρμοσμένες καλλιέργειες στο κλίμα της Μεσογείου στη Νότια Ευρώπη. Ωστόσο, η συνεργιστική δράση της ξηρασίας, της υψηλής θερμοκρασίας της ατμόσφαιρας κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, περιορίζουν συχνά τη βλαστική ανάπτυξη, την παραγωγή της αμπέλου και την ποιότητα του οίνου που παράγεται στην μεσογειακή ζώνη (Escalona et al., 1999; Chaves et al., 2002). Η άρδευση έχει υιοθετηθεί σαν πρακτική τα τελευταία χρόνια για να μετριάσει

το πρόβλημα και έχει ευρέως διαδοθεί στη σύγχρονη μεσογειακή αμπελουργία υπό ορισμένους περιορισμούς.

Η χρήση της άρδευσης στην παραδοσιακή αμπελοκαλλιέργεια (κυρίως στις οινοποιήσιμες ποικιλίες), κρίθηκε ως αμφιλεγόμενη πρακτική δεδομένου ότι αποτελούσε πάντα αντικείμενο διαμάχης στην αμπελουργική επιστήμη. Από την μια, η συμπληρωματική εφαρμογή νερού μπορεί να αυξήσει την παραγωγή και να διατηρήσει ή να βελτιώσει την ποιότητα των καρπών (Matthews and Anderson 1989; Reynolds and Naylor 1994; Santos et al., 2003; 2005). Από την άλλη, η υπερβολική άρδευση μπορεί να επιφέρει υπέρμετρη βλαστική ανάπτυξη, μείωση των χρωστικών της ράγας (χρώμα), μείωση των σακχάρων (αν εφαρμοστεί αργά στην καλλιεργητική περίοδο) και επιπλέον μείωση στην ποιότητα του οίνου (Bravdo et al., 1985; Mathews et al., 1990; Dokoozlian and Kliewer 1996; McCarthy 1997; Esteban et al., 2001). Επιπροσθέτως, η μεγάλη φυλλική επιφάνεια αυξάνει αφενός μεν τις απώλειες του νερού, λόγω της εξατμισοδιαπνοής και αφετέρου δε τα προβλήματα μυκητολογικών ασθενειών (Dry et al., 1996; Dry and Loveys 1998; Behboudian and Singh 2001).

Για να μειωθούν οι αρνητικές συνέπειες της άρδευσης στην παραγωγή κρασιού και να αυξηθεί η WUE της καλλιέργειας, εφαρμόστηκαν νέες τεχνικές ελλειμματικής άρδευσης όπως είναι οι μέθοδοι PRD και η DI (Stone et al., 2001; McCarthy et al., 2002; Santos et al., 2003; Cifre et al., 2005; Souza et al., 2005). Αποτέλεσμα της ελεγχόμενης ήπιας υδατικής καταπόνησης, είναι το κλείσιμο του στοματικού πόρου με ταυτόχρονη ελάχιστη μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας (Chaves and Oliveira 2004). Αυτό συνεπάγεται αύξηση της WUE σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης. Η ελλειμματική άρδευση όταν εφαρμόστηκε σε διάφορες ποικιλίες αμπέλου έδειξε αύξηση της WUE, είτε βραχυπρόθεσμα (εκφραζόμενη από το λόγο του ρυθμού αφομοίωσης προς τη στοματική αγωγιμότητα (A/g_s), είτε μακροπρόθεσμα (αύξηση του ^{13}C στους φυτικούς ιστούς και στις ράγες) σε σχέση με πλήρως αρδευόμενα φυτά (Souza et al., 2003; 2005; Davies and Zhang 1991; Dodd et al., 1996; Davies et al., 2000; Dry et al., 2000a,b; Stoll et al., 2000; Loveys et al., 2004).

Η επίδραση της στρατηγικής της ελεγχόμενης ελλειμματικής άρδευσης στην αμπελοκαλλιέργεια εξαρτάται από το φαινολογικό στάδιο και από την ένταση της καταπόνησης που εφαρμόζεται (Hardie and Considine 1976). Ο τρόπος που εφαρμόζεται η ελλειμματική άρδευση στους σύγχρονους αμπελώνες δεν είναι όμοιος. Στις κλιματικές συνθήκες της Μεσογειακής ζώνης είναι σύνηθες φαινόμενο να εφαρμόζεται η ελλειμματική άρδευση στα τελικά στάδια της ανάπτυξης των καρπών

της αμπέλου (William and Matthews 1990). Ενώ στην Αυστραλία είναι κοινή πρακτική να εφαρμόζεται λιγότερο νερό στην αρχή της καλλιεργητικής περιόδου (McCarthy et al., 2002). Η στρατηγική στην πρώτη περίπτωση αποβλέπει την αποφυγή της υδατικής καταπόνησης κατά την διάρκεια της ωρίμανσης, ενώ στη δεύτερη αποβλέπει στον έλεγχο του μεγέθους της ράγας.

Η εφαρμογή των ελλειμματικών αρδεύσεων μπορεί να μειώσει την παραγωγή, ωστόσο αυτό εξαρτάται από το χρόνο εφαρμογής (McCarthy et al., 2002). Η παραγωγή έχει μειωθεί πολλές φορές από την ελλειμματική άρδευση όταν εφαρμόζεται πριν ή και μετά τον περκασμό, αλλά κυρίως πριν τον περκασμό (Matthews and Anderson 1989). Η μείωση παραγωγής κάτω από αυτές τις συνθήκες, εκφράζεται ως μείωση του αριθμού των ραγών ανά σταφυλή, μείωση των σταφυλών ανά πρέμνο και μείωση του βάρους της ράγας (Matthews and Anderson 1989). Επίσης η ελλειμματική άρδευση, μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα της ράγας λόγω της αυξημένης περιεκτικότητας των ανθοκυανών και των ολικών φαινολών (Dokoozlian and Kliwer 1996; Santos et al., 2005). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στη μείωση της φυλλικής επιφάνειας, που έχει ως συνέπεια την καλύτερη έκθεση των καρπών στο φώς.

2.5 Ο Σκοπός της Εργασίας

Η έλλειψη νερού, εκτιμάται ότι αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους περιοριστικούς παράγοντες της βλαστικής ανάπτυξης και της παραγωγής στη Μεσογειακή ζώνη (Patakas et al., 2005). Η αύξηση των διακυμάνσεων στη συχνότητα των βροχοπτώσεων και η υψηλή εξατμισοδιαπνοή κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, συχνά δημιουργεί καταστάσεις υδατικής έλλειψης. Συνεπώς, θα ήταν πολύ χρήσιμο να διερευνηθεί η προσαρμοστική απόκριση των ποικιλιών της αμπέλου στην ελλειμματική άρδευση.

Επομένως ο κύριος σκοπός αυτής της εργασίας είναι τόσο η μελέτη των μηχανισμών αναγνώρισης και μεταγωγής των σημάτων καταπόνησης όσο και η αποσαφήνιση των μηχανισμών που ρυθμίζουν την αφομοίωση και την κατανομή της απορροφούμενης ενέργειας, όπως εκφράζονται σε διαφορετικές υδατικές δίαιτες. Η προσέγγιση στη γνώση αυτών των μηχανισμών στην αμπελουργία, αποκτά βαρύνουσα σημασία στην εξοικονόμηση νερού, αφού όπως γνωρίζουμε αυτοί οι μηχανισμοί παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της λεπτής ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής και της ποιότητας των καρπών. Τέλος, αυτό θα οδηγήσει στο χαρακτηρισμό φυσιολογικών κριτηρίων στην επιλογή των κατάλληλων ποικιλιών για την εγκατάστασή τους σε εκείνες

τις εδαφοκλιματικές συνθήκες, όπου ο σχεδιασμός των ελλειμματικών αρδεύσεων θα είναι πιο αποτελεσματικός.

Ειδικότερα οι επιμέρους σκοποί της εργασίας είναι οι εξής:

- I. Η αναζήτηση μεθοδολογικών εργαλείων για τη μελέτη των οικοφυσιολογικών χαρακτηριστικών των ποικιλιών της αμπέλου, όπως εκφράζονται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.*
- II. Η ανάλυση της διαφοροποίησης στις υδατικές σχέσεις και της ρύθμισης της λειτουργίας της στοματικής συσκευής σε ποικιλίες αμπέλου, οι οποίες ενδημούν σε διαφορετικές εδαφοκλιματικές συνθήκες.*
- III. Η μελέτη της απόκρισης του φωτοσυνθετικού μηχανισμού της βλαστικής ανάπτυξης και της ικανότητας για αποτελεσματικότερη χρήση του νερού μετά από έκθεση διαφορετικών ποικιλιών της αμπέλου, σε διαφορετικά επίπεδα υδατικής καταπόνησης.*
- IV. Η αποσαφήνιση των διαφορετικών στρατηγικών που ακολουθούν οι ποικιλίες της αμπέλου στην ανάπτυξη μηχανισμών φωτοαναστολής, φωτοπροστασίας και αντιοξειδωτικής άμυνας σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.*

Υλικά και Μέθοδοι

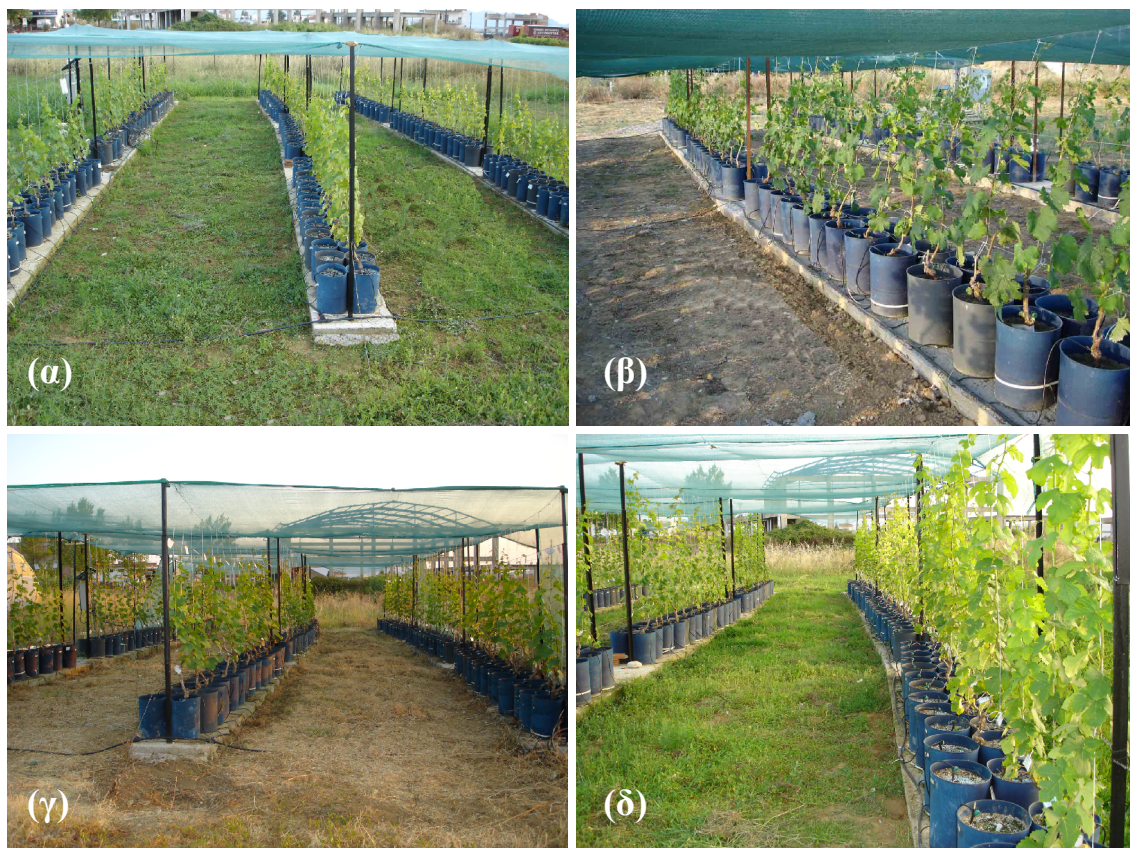


3.1 Φυτικό υλικό και εγκατάσταση του πειράματος

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν την καλοκαιρινή περίοδο των ετών 2006 και 2007. Χρησιμοποιήθηκαν δύο ποικιλίες αμπέλου (*Vitis Vinifera* L.) ηλικίας 2 ετών οι οποίες επιλέχθηκαν για τη διαφορετική προσαρμοστικότητα τους στην ξηρασία. Οι ποικιλίες αυτές ήταν το Σαββατιανό, που προέρχεται από πιο ξηρά κλίματα και θεωρείται πιο προσαρμόσιμη σε συνθήκες έλλειψης νερού και η Μαυροδάφνη, μια κόκκινη ποικιλία που θεωρείται πιο ευαίσθητη στην υδατική καταπόνηση.

Η εγκατάσταση του πειράματος, πραγματοποιήθηκε σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο της Σχολής Διαχείρισης Φυσικών Πόρων και Επιχειρήσεων Αγρινίου με την απαραίτητη υποδομή για τις καλλιεργητικές φροντίδες των πρέμνων (Εικόνα 3.1). Μετά την προμήθεια έρριζων αυτόριζων φυτών της αμπέλου ακολούθησε η μεταφύτευσή τους σε γλάστρες χωρητικότητας 25lt, οι οποίες τοποθετήθηκαν κάτω από αντιχαλαζιακό δίχτυ. Ως εδαφικό υπόστρωμα επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί μίγμα έδαφος-άμμου-τύρφης-περλίτη σε αναλογία 3:1:3:3. Παράλληλα, εγκαταστάθηκε αρδευτικό σύστημα με σταλλάκτες (4L/h) ενώ ο έλεγχος της υγρασίας του υποστρώματος πραγματοποιήθηκε με την εγκατάσταση μικροαισθητήρων εδαφικής υγρασίας στις γλάστρες (σε κάθε χειρισμό χρησιμοποιήθηκαν δύο μικροαισθητήρες, οι οποίοι έδιναν μετρήσεις σε βάθος 15cm). Στα τέλη του Μαρτίου κάθε καλλιεργητικής περιόδου το υπόστρωμα των φυτών λιπαίνονταν με 60 γρ Complesal Drip (11-11-32+2MgO+Ιχνοστοιχεία). Τον Φεβρουάριο τα φυτά κλαδεύονταν πάνω από το δεύτερο οφθαλμό και όταν εκπύσσονταν οι βλαστοί αποκόπτονταν, επιτρέποντας με αυτόν τον τρόπο να αναπτυχθεί ένας βλαστός ανά φυτό κατά διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου. Όλοι οι βλαστοί των φυτών στηρίζονταν σε κάθετη θέση. Επίσης, αμέσως με την εμφάνιση των δευτερευόντων βλαστών και ταξιανθιών απομακρύνονταν με σκοπό να μην επηρεαστεί η φυσιολογία του φυτού. Από την έναρξη της βλαστικής περιόδου των πρέμνων και κατά την διάρκεια αυτής πραγματοποιήθηκαν όλες οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες (κλάδεμα, άρδευση, λίπανση, ζιζανιοκτονία, φυτοπροστασία) ώστε να εξασφαλιστεί αφενός μεν η ομοιόμορφη ανάπτυξη των φυτών της αμπέλου και αφετέρου δε η φυτουγειονομική προστασία τους.

Εφαρμόστηκαν τρεις χειρισμοί υδατικής δίαιτας α) άρδευση ώστε το επίπεδο υγρασίας να διατηρείται στο σημείο υδατοκορεσμού του υποστρώματος (Μάρτυρας) β) άρδευση με την προσθήκη μισής ποσότητας νερού (DI₅₀) από αυτήν που απαιτείται



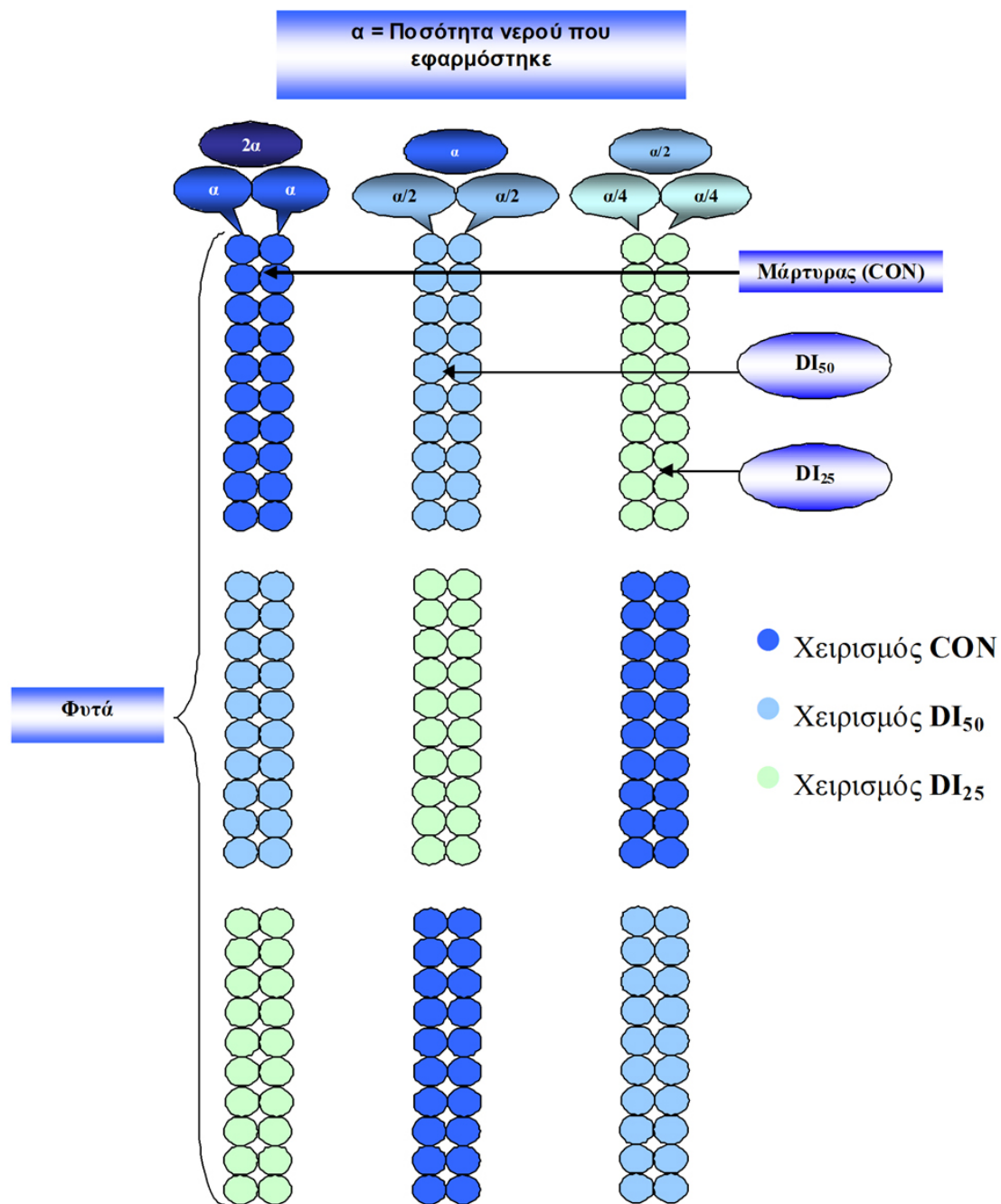
Εικόνα 3.1. Άποψη από την πειραματική εγκατάσταση (α, β) 2006 και (γ, δ) 2007.

για τη διατήρηση της εδαφικής υγρασίας στο σημείο υδατοκορεσμού και γ) άρδευση με την προσθήκη 25% της ποσότητας νερού (DI_{25}) από αυτήν που απαιτείται για τη διατήρηση της εδαφικής υγρασίας στο σημείο υδατοκορεσμού. Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε πλήρως τυχαιοποιημένο σχέδιο τοποθετημένο σε τρεις γραμμές (επαναλήψεις) με δέκα φυτά σε κάθε χειρισμό (Εικόνα 3.2). Κάθε γραμμή περιείχε τους 3 χειρισμούς. Πριν εφαρμοστούν οι χειρισμοί της υδατικής δίαιτας, τα φυτά αρδεύονταν κάθε ημέρα στο σημείο υδατοκορεσμού.

Η ελλειμματική άρδευση εφαρμόζονταν στη διάρκεια του πειραματικού κύκλου κάθε τρίτη ημέρα και ακολουθούσε επανάρδευση στο σημείο υδατοκορεσμού του υποστρώματος στο τέλος του κύκλου για την πλήρη ανάκαμψη των φυτών μετά την υδατική καταπόνηση.

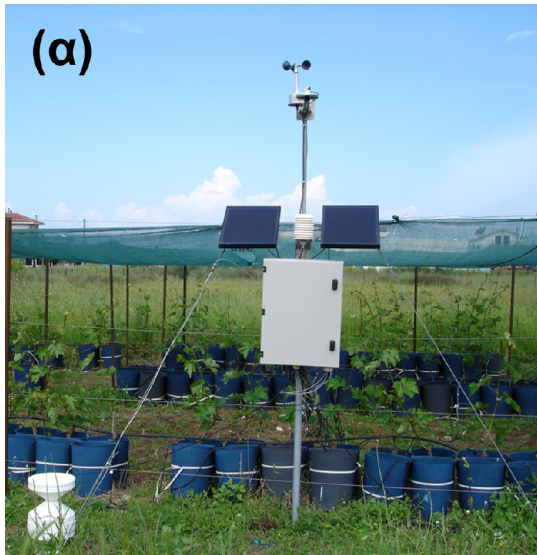
3.2 Μικροκλιματικά Δεδομένα

Πέρα από τα γενικότερα κλιματικά στοιχεία που χαρακτηρίζουν την περιοχή μελέτης, μεγάλη σημασία από οικοφυσιολογική άποψη έχει η εκτίμηση ορισμένων μικροκλιματικών



Εικόνα 3.2. Πειραματική σχεδίαση των χειρισμών υδατικής διαίτας για κάθε ποικιλία. Πλήρες τυχαιοποιημένο σχέδιο.

παραμέτρων στη θέση του πειραματικής εγκατάστασης. Για τη συλλογή και καταγραφή των μικροκλιματικών παραμέτρων εγκαταστάθηκε πλήρης μετεωρολογικός σταθμός (Εικόνα 3.3α, Delta-T Devices, UK) εξοπλισμένος με αισθητήρες ενεργούς φωτοσυνθετικά ακτινοβολίας (PAR), θερμοκρασίας αέρα, σχετικής υγρασίας,



(β)



Εικόνα 3.3. α) Μετεωρολογικός σταθμός στο χώρο του πειράματος β) Μικροαισθητήρας ανίχνευσης εδαφικής υγρασίας.

ταχύτητας ανέμου και βροχόπτωσης και έλεγχου της υγρασίας του υποστρώματος. Επίσης στο μετεωρολογικό σταθμό ήταν συνδεδεμένοι μικροαισθητήρες έλεγχου της υγρασίας του υποστρώματος (Echo EA-10, Decagon Devices, Pullman, USA) οι οποίοι έδιναν μετρήσεις σε βάθος 15cm (Εικόνα 3.3β).

3.3 Υδροδυναμικές παράμετροι

3.3.1 Υδατικό δυναμικό

Το υδατικό δυναμικό, λοιπόν, εκφράζει την ελεύθερη ενέργεια ανά μονάδα όγκου του νερού σε ένα διάλυμα και αποτελεί το αλγεβρικό άθροισμα τριών επιμέρους δυναμικών:

$$-\Psi = \Psi_p - \Psi_s - \Psi_M \quad (3.1)$$

όπου Ψ_p η υδροστατική πίεση ή πίεση σπαργής, Ψ_s το οσμωτικό δυναμικό και Ψ_M το τριχοειδές δυναμικό, το οποίο θεωρείται ότι περιλαμβάνει το νερό που είναι δεσμευμένο με ηλεκτροστατικές δυνάμεις στα κύτταρα και στους μικροτριχοειδείς πόρους των κυτταρικών τοιχωμάτων (Kramer 1983). Το νερό κινείται προς το αρνητικότερο Ψ ή στα αρνητικότερα μέρη του Ψ , έτσι ώστε τα φυτά να μπορούν να απορροφούν νερό από το έδαφος (Boyer 1995). Σε κατάσταση ισορροπίας το Ψ παραμένει ίδιο μεταξύ των διαφόρων ετερογενών κυτταρικών φάσεων (μεταξύ

χυμοτοπίου, κυτοπλάσματος και κυτταρικών τοιχωμάτων). Τα παραπάνω συστατικά του υδατικού δυναμικού είναι δυνατό να διαφέρουν αρκετά μεταξύ των φάσεων που προαναφέρθηκαν. Στο νερό του συμπλάστη, βασικά συστατικά του Ψ αποτελούν το Ψ_S και το Ψ_P ενώ το Ψ_M θεωρείται αμελητέο ($\Psi_M=0$; Boyer 1967), με το Ψ_P να εμφανίζει συνήθως θετικές τιμές:

$$-\Psi^{(p)} = \Psi_P^{(p)} - \Psi_S^{(p)} \quad (3.2)$$

Σε ένα κύτταρο που βρίσκεται σε ισορροπία τα Ψ_P και Ψ_S είναι συνήθως σταθερά κατά μήκος του συμπλάστη. Όπου υπάρχει η ένδειξη (p) αναφέρεται στο πρωτόπλασμα. Τα διάφορα διαλύματα που συμβάλλουν στη μείωση του Ψ_S μπορεί να ποικίλουν ανάμεσα στα τμήματα του συμπλάστη.

Στο νερό όμως του αποπλάστη, δηλ. των κυτταρικών τοιχωμάτων και των ξυλωδών αγγείων υπάρχουν διαλυμένα συστατικά άρα και Ψ_S και δεν υπάρχει σπαργή. Αντ' αυτού, υπάρχουν επιφάνειες τριχοειδών πόρων των κυτταρικών τοιχωμάτων (φορτισμένες επιφάνειες κυτταρικών τοιχωμάτων) οι οποίες υποστηρίζουν την ύπαρξη Ψ_M που εκφράζεται ως νερό υπό τάση (αρνητική πίεση όταν οι πόροι γεμίζουν νερό). Όλα αυτά εκφράζονται από την σχέση:

$$-\Psi^{(a)} = -\Psi_S^{(a)} - \Psi_M^{(a)} \quad (3.3)$$

Η ένδειξη (a) αναφέρεται στα αποπλαστικά μέρη του φυτού.

Το υδατικό δυναμικό στο πρωτοπλάστη είναι σχεδόν πάντα το ίδιο με το υδατικό δυναμικό που επικρατεί στο κυτταρικό του τοίχωμα (Molz and Ferrier 1982) δηλαδή:

$$\Psi^{(p)} = \Psi^{(a)} \quad (3.4)$$

Αντικαθιστώντας τις εξισώσεις 3.2 και 3.3 στην εξίσωση 3.4 έχουμε

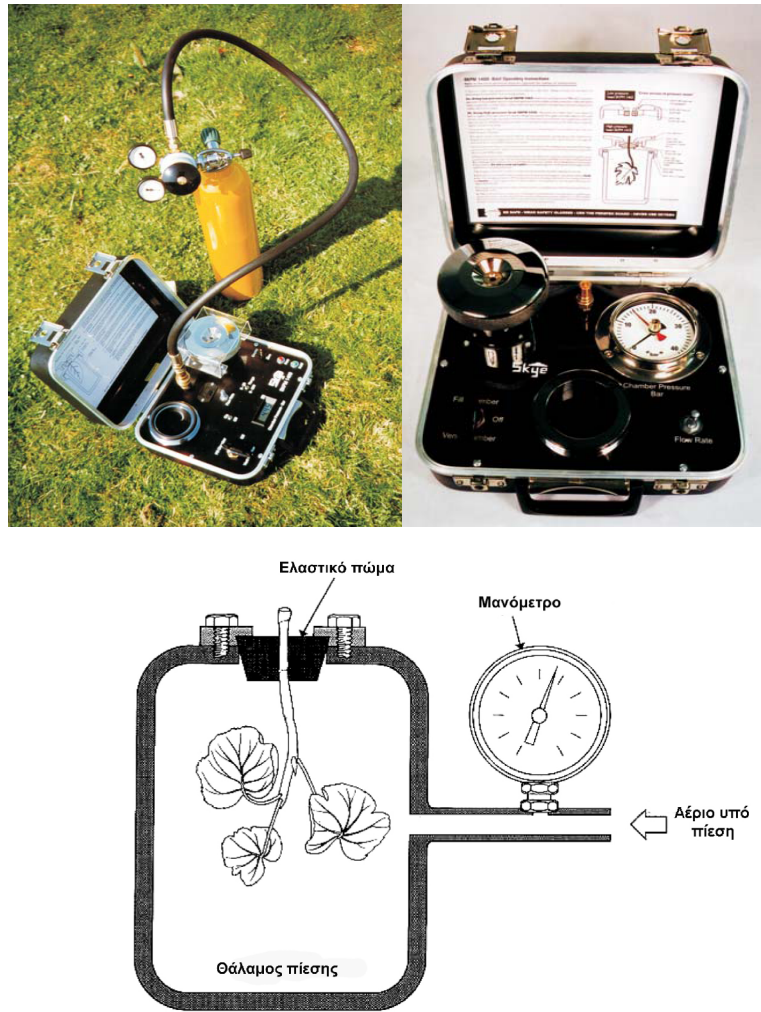
$$-\Psi_S^{(a)} - \Psi_M^{(a)} = \Psi_P^{(p)} - \Psi_S^{(p)} \quad (3.5)$$

Η τελευταία εξίσωση δείχνει πως οι παράγοντες που καθορίζουν το υδατικό δυναμικό στο πρωτοπλάστη είναι διαφορετικοί από αυτούς που καθορίζουν το υδατικό δυναμικό του αποπλάστη, αλλά ισορροπούν μεταξύ τους τοπικά.

Το υδατικό δυναμικό αποτελεί μια θερμοδυναμική παράμετρο που χρησιμοποιείται συνήθως για να περιγράψει την υδατική κατάσταση του φυτού και πιο συγκεκριμένα την ενεργειακή κατάσταση του νερού στα φυτά. Για τη μέτρηση του χρησιμοποιήθηκε θάλαμος πίεσης SKPM 1400/80 (Εικόνα 3.4, Skye, Instruments, Powys, UK). Ο θάλαμος πίεσης αποτελείται από έναν μεταλλικό θάλαμο με χοντρά τοιχώματα, σφραγισμένο με ειδικό μεταλλικό κάλυμμα, στην κεντρική περιοχή του οποίου υπάρχει ελαστικό πώμα που συνδέεται με μια φιάλη παροχής ατμοσφαιρικού αέρα, με μια βαλβίδα ελέγχου και ένα μανόμετρο (Dale and Sutcliffe 1986). Η μέτρηση του υδατικού δυναμικού αποτελεί μια αξιόπιστη και απλή μέθοδο για την εκτίμηση της φυσιολογικής κατάστασης του φυτού, διότι η κυτταρική ανάπτυξη, η φωτοσύνθεση και η φυτική παραγωγή είναι άρρηκτα συνδεδεμένες και επηρεάζονται από την υδατική κατάσταση του φυτού (Repellin et al., 1997; Pardosii et al., 1998; Taiz and Ziegler 1998). Η μέθοδος του θαλάμου πίεσης αναπτύχθηκε από τον H. Dixon στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, αλλά εξαπλώθηκε όταν ο P. Scholander και οι συνεργάτες του τη βελτίωσαν και ανέδειξαν την πρακτική της χρήση (Scholander et al., 1965).

Η τεχνική αυτή (pressure-chamber technique) για τη μέτρηση του υδατικού δυναμικού σε φύλλα ή βλαστούς, έγινε ευρέως αποδεκτή λόγω της ευκολίας εφαρμογής της, λόγω της ταχύτητας και της αξιοπιστίας της καθώς και του γεγονότος ότι δεν απαιτεί ακριβή έλεγχο της θερμοκρασίας (Turner 1981; Koide et al., 1991). Έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε συνθήκες αγρού (Tyree and Hammel 1972). Σε αυτή την τεχνική, για τη μέτρηση του Ψ απαιτείται η κοπή ενός φύλλου ή φυλλοφόρου βλαστού με αιχμηρή λεπίδα και η προσαρμογή του στο θάλαμο όπως φαίνεται στην εικόνα 3.4, έτσι ώστε η επιφάνεια τομής να προεξέχει μερικά χιλιοστά από το δακτύλιο στεγανοποίησης (πώμα).

Στη συνέχεια ο θάλαμος κλείνεται ερμητικά, επιτρέποντας τη σταδιακή αύξηση της πίεσης με την προσθήκη συμπιεσμένου αερίου μέσω βαλβίδας ελέγχου. Η πίεση αυξάνεται μέχρι τη στιγμή που το νερό εμφανίζεται στην επιφάνεια τομής. Ο προσδιορισμός αυτού του σημείου διευκολύνεται με τη χρησιμοποίηση μεγεθυντικού φακού (Koide et al. 1991). Μετά την αποκοπή του φύλλου ή του βλαστού από το φυτό η στήλη του νερού στο ξύλωμα έχει υποχωρήσει, καθώς το νερό είναι υπό τάση. Αυτό γίνεται διότι όταν η στήλη του νερού στον αγωγό ιστό διακόπτεται με την κοπή του φύλλου, το νερό αποτραβιέται από το ξύλωμα στα γειτονικά ζωντανά κύτταρα με το φαινόμενο της ώσμωσης (Nobel 1991). Η επιφάνεια τομής του φυλλικού ή βλαστικού



Εικόνα 3.4. Συσκευή θαλάμου πίεσης SKPM 1400 και σχηματική αναπαράσταση του τρόπου λειτουργίας της.

ιστού εμφανίζεται ξερή. Αν το φύλλο ή ο βλαστός, αμέσως μετά την κοπή, εισέλθει στο θάλαμο πίεσης και εφαρμοσθεί σταδιακά αυξανόμενη πίεση [μέχρις ότου το νερό επανέλθει στην αρχική του κατανομή στα αγγεία (Larcher 1980)] τότε η πίεση σε αυτό το σημείο καλείται πίεση ισορροπίας (balance pressure) και ισούται (κατ' απόλυτη τιμή) με το δυναμικό πίεσης του αποπλάστη, η οποία ισούται με την τιμή του Ψ στο συμπλάστη στην πλειονότητα των περιπτώσεων (Koide et al. 1991). Αυτό γιατί η τιμή της ωσμωτικής πίεσης του αποπλάστη είναι αμελητέα, καθώς η συγκέντρωση οσμωτικά ενεργών ουσιών στο ξύλωμα είναι εξαιρετικά χαμηλή και η τιμή δυναμικού στρώματος του αποπλάστη δεν παίρνει συνήθως σημαντικές τιμές. Η επιπλέον πίεση που εφαρμόζεται αντιστοιχεί στην αρνητική πίεση που προηγουμένως υπήρχε στο φυτικό ιστό (Larcher 1980).

3.3.2 Σχετικό Υδατικό Περιεχόμενο

Το σχετικό υδατικό περιεχόμενο (RWC) εκφράζει την υδατική κατάσταση του φυλλικού ιστού (Koide et al. 1991) και υπολογίζεται με βάση τον τύπο:

$$RWC(\%) = \frac{F_w - D_w}{T_w - D_w} \times 100$$

όπου F_w : το βάρος του φύλλου (g) τη στιγμή της κοπής

D_w : το ξηρό βάρος (g) του φύλλου

T_w : το βάρος του φύλλου (g) σε κατάσταση κορεσμού.

Η μέτρηση ξεκίνησε με ζύγιση δισκίων φυλλικής επιφάνειας 1 cm^2 από το ίδιο σημείο των φύλλων (F_w) σε αναλυτικό ζυγό, αμέσως μετά την κοπή τους. Στη συνέχεια, τα δισκία τοποθετήθηκαν μέσα σε απεσταγμένο νερό σε σκοτεινό και δροσερό μέρος και για ορισμένο χρονικό διάστημα, μέχρι να σταθεροποιηθεί το βάρος τους. Αμέσως μετά τα φύλλα ζυγίστηκαν ξανά (T_w), τοποθετήθηκαν σε φούρνο στους 70°C για 48 ώρες και ζυγίστηκαν μέχρι σταθερού βάρους (D_w) (Smart and Bingham (1974)).

3.4 Φυσιολογικές Παράμετροι

3.4.1. Διαπνοή

Η διαπνοή περιλαμβάνει δύο στάδια: α) τη διαμέσου των κυτταρικών τοιχωμάτων μεταβολή της υγρής φάσης σε αέρια και τη συγκέντρωση υδρατμών στην υποστοματική κοιλότητα και β) τη διάχυση των υδρατμών από εκεί στην ατμόσφαιρα μέσω της στοματικής συσκευής. Ο ρυθμός διαπνοής εξαρτάται από την απαιτούμενη ενέργεια για την εξάτμιση του νερού, από τη διαφορά τάσεως ή συγκεντρώσεως των υδρατμών και από το σύνολο των αντιστάσεων που θα συναντήσει το νερό κατά την κίνηση του από τα φύλλα προς την ατμόσφαιρα.

Η διαπνοή μπορεί να θεωρηθεί ως συνάρτηση της διαφοράς συγκεντρώσεως υδρατμών (C) μεταξύ της υποστοματικής κοιλότητας και της υπερκείμενης του φύλλου ατμόσφαιρας και της αντίστασης διάχυσης (r). Επομένως:

$$E = \frac{C_{\text{leaf}} - C_{\text{air}}}{r_{\text{leaf}} + r_{\text{air}}}$$

Η αν δεχθούμε ότι η συγκέντρωση υδρατμών αντικαθιστάται από τις μερικές πιέσεις τότε:

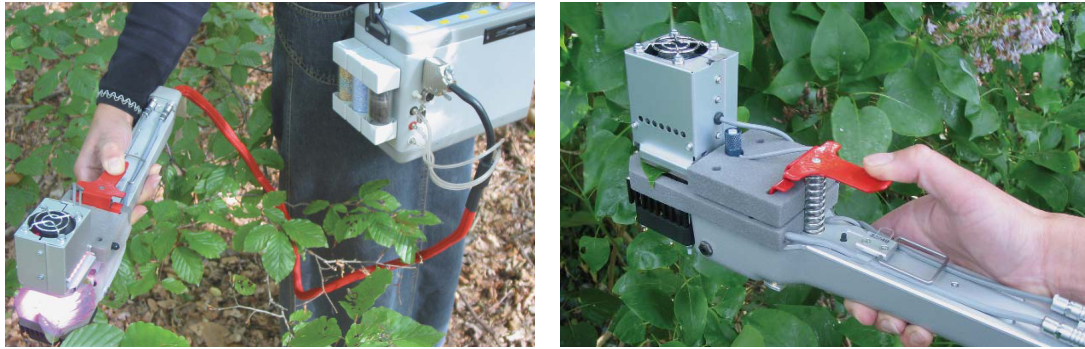
$$E = \frac{e_{\text{leaf}} - e_{\text{air}}}{r_{\text{leaf}} + r_{\text{air}}}$$

όπου E είναι η διαπνοή σε $\text{g cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, C_{leaf} και C_{air} η συγκέντρωση των υδρατμών σε g m^{-3} στα φύλλα και το περιοριστικό διαπνευστικό στρώμα αντίστοιχα, e_{leaf} και e_{air} η τάση των υδρατμών σε mbar ή kPa στα φύλλα και το περιοριστικό διαπνευστικό στρώμα αντίστοιχα, ενώ r_{leaf} η αντίσταση στη διάχυση του νερού στα φύλλα και r_{air} η αντίσταση του περιοριστικού διαπνευστικού στρώματος της ατμόσφαιρας σε s cm^{-1} (Kramer 1983, Pearcy et al. 1991).

Η μέτρηση της διαπνοής έγινε μετά από τοποθέτηση φύλλων των τριών αγρωστωδών, χωρίς να αποκοπούν από το βλαστό, σε θάλαμο φορητού συστήματος φωτοσύνθεσης τύπου LCPro⁺ της εταιρείας ADC Bioscientific Ltd (Εικόνα 3.5). Η συσκευή αυτή αποτελείται από υπέρυθρο αναλυτή αερίων (infrared gas analyzer), θάλαμο με ενσωματωμένους αισθητήρες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτεινής ακτινοβολίας, στον οποίο τοποθετείται το φύλλο κατά τη στιγμή της μέτρησης και σύστημα επεξεργασίας και καταγραφής των δεδομένων. Η μέτρηση των παραμέτρων στηρίζεται σε ποσοτικές μετρήσεις ανταλλαγής αερίων στη ζώνη επαφής φύλλων και ατμόσφαιρας. Όταν ένα φύλλο τοποθετηθεί στον κλειστό θάλαμο της συσκευής, η σχετική υγρασία εντός του θαλάμου αυξάνεται εξαιτίας της διαπνοής. Η αύξηση αυτή αντισταθμίζεται με την είσοδο μερικώς ξηρού αέρα που επιστρέφει στο θάλαμο διαμέσου του αναλυτή αερίων. Ο ρυθμός διαπνοής υπολογίζεται από τη διαφορά υγρασίας μέσα στο θάλαμο, σε συνάρτηση με το χρόνο και το ρυθμό εισόδου του ξηρού αέρα (Εικόνα 3.6).

3.4.2. Στοματική Αγωγιμότητα

Η ταχύτητα διαχύσεως των υδρατμών εκφραζόμενη ως αγωγιμότητα υδρατμών (g_s), διέπεται από το νόμο διάχυσης του Fick. Στην πιο απλή της μορφή εκφράζεται ως η αναλογία μεταξύ του ρυθμού διαπνοής (E) (σε $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) και της διαφοράς των υδρατμών μεταξύ των μεσοκυττάρων χώρων του φύλλου και της ατμόσφαιρας (ΔW) (σε mol mol^{-1}):



Εικόνα 3.5. Υπέρυθρος αναλυτής αερίων (IRGA)

$$g_s = \frac{E}{\Delta W} \text{ (mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}\text{)}$$

Συνήθως, για την έκφραση της αγωγιμότητας χρησιμοποιούνται οι μονάδες $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ αντί των μονάδων cm s^{-1} , επειδή ο αριθμός των mol δεν εξαρτάται από τη θερμοκρασία και την πίεση. Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται η αγωγιμότητα αντί του αντιστρόφου $1/g_s$ που είναι η αντίσταση, επειδή η πρώτη είναι ανάλογη της ροής και εκφράζει το ρυθμιστικό έλεγχο που ασκούν τα στόματα στο ρυθμό διαπνοής.

Η ολική αγωγιμότητα g_{tw} περιλαμβάνει τη στοματική αγωγιμότητα, την αγωγιμότητα της εφυμενίδας (g_{cw}) και την επίδραση του περιοριστικού διαπνευστικού στρώματος στη διάχυση των υδρατμών (g_{bw}) (Nobel 1991):

$$g_{tw} = g_{sw} + g_{cw} + g_{bw}$$

Τα είδη της αγωγιμότητας που είναι παράλληλα, όπως είναι αυτές που βρίσκονται στις δύο πλευρές ενός φύλλου ή αυτή των στομάτων και της εφυμενίδας, απλώς αθροίζονται ($g_{lw} = g_{sw} + g_{cw}$). Αντίθετα, για τα είδη της αγωγιμότητας που είναι σε σειρά, όπως είναι αυτή των στομάτων και του περιοριστικού διαπνευστικού στρώματος, το αντίστροφο της ολικής αγωγιμότητας ισούται με το άθροισμα του αντιστρόφου της κάθε αγωγιμότητας ($\frac{1}{g_{tw}} = \frac{1}{g_{sw}} + \frac{1}{g_{bw}}$).

Κάτω από τις περισσότερες συνθήκες η αγωγιμότητα της εφυμενίδας g_{cw} είναι πολύ μικρή σε σχέση με τη στοματική g_{sw} , όταν τα στόματα είναι ανοιχτά και, επομένως, μπορεί να αγνοηθεί (Pearcy et al. 1991). Από την άλλη πλευρά, η αγωγιμότητα του περιοριστικού διαπνευστικού στρώματος εξαρτάται από το μέγεθος του φύλλου και την ταχύτητα του ανέμου. Κατά τη μέτρηση της στοματικής

αγωγιμότητας με την τοποθέτηση του φύλλου σε κλειστό θάλαμο, είναι απαραίτητη η ύπαρξη επαρκούς ροής αέρα, με την οποία εξασφαλίζεται η ελαχιστοποίηση της επίδρασης του περιοριστικού διαπνευστικού στρώματος (Εικόνα 3.6). Επομένως, υπό αυτές τις συνθήκες $g_{tw} \approx g_{sw}$ (Jones 1983).

Ο υπολογισμός της στοματικής αγωγιμότητας πραγματοποιήθηκε από το ρυθμό διαπνοής, τη θερμοκρασία του φύλλου και του αέρα, με τη χρήση φορητού συστήματος φωτοσύνθεσης (Εικόνα 3.5).

3.4.3. Ρυθμός φωτοσύνθεσης

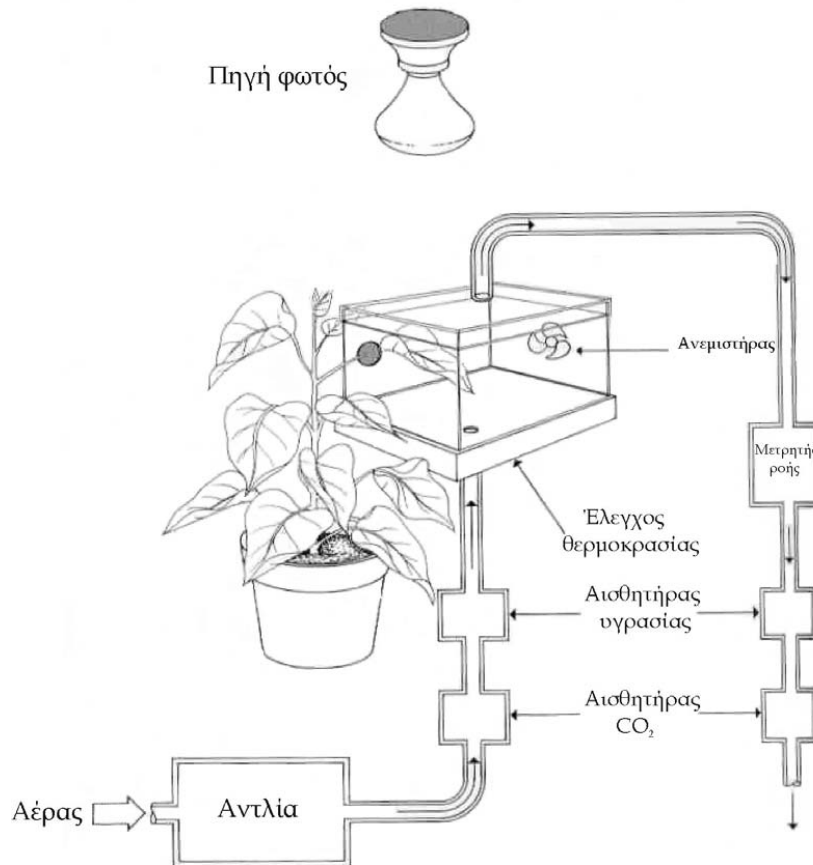
Η φωτοσύνθεση περιλαμβάνει φωτοχημικές διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα παρουσία φωτός, ενζυμικές διαδικασίες που δεν απαιτούν φως (σκοτεινές αντιδράσεις) και διαδικασίες διάχυσης που έχουν ως αποτέλεσμα την ανταλλαγή CO_2 και O_2 μεταξύ χλωροπλαστών και ατμοσφαιρικού αέρα.

Πρωταρχικής σημασίας για την έναρξη της φωτοσύνθεσης, είναι η απορρόφηση ηλιακής ακτινοβολίας από τους χλωροπλάστες. Ο βαθμός με τον οποίο η ακτινοβολία χρησιμοποιείται από τα φυτά, εξαρτάται από τη συγκέντρωση των φωτοσυνθετικά ενεργών χρωστικών. Η φωτοχημική διαδικασία ξεκινά όταν οι χλωροπλάστες προσλαμβάνουν τη φωτοσυνθετικά αξιοποιήσιμη ακτινοβολία. Η ενέργεια και το αναγωγικό δυναμικό που παρέχεται από τις αρχικές αντιδράσεις χρησιμοποιείται για την αναγωγή του CO_2 σε καρβοξύλιο και τη σύνθεση υδατανθράκων υψηλής ενεργειακής αξίας. Ο ρυθμός καρβοξυλίωσης ή διαφορετικά η ταχύτητα με την οποία το προσλαμβανόμενο CO_2 καρβοξυλιώνεται, εξαρτάται κυρίως από τη διαφορά συγκεντρώσεως του CO_2 μεταξύ των θέσεων καρβοξυλίωσης (C_x) και της υποστοματικής κοιλότητας (C_i), δηλ. από το $\Delta C_{CO_2} = C_i - C_x$, από την ενζυμική δραστηριότητα της καρβοξυλάσης ή οξειδάσης της 1,5-διφωσφορικής ριβουλόξης (RuBP) ή της καρβοξυλάσης της φωσφοενολικής μορφής του πυροσταφυλικού οξέος (PEP), όπως επίσης και από τους φυσικοχημικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική λειτουργία.

Κατά τη μεταφορά του από την ατμόσφαιρα προς τους χλωροπλάστες το CO_2 συναντά μία σειρά από αντιστάσεις. Καταρχήν, η ύπαρξη περιοριστικού διαπνευστικού στρώματος περιορίζει τη διάχυση του CO_2 προς την επιφάνεια του φύλλου. Η είσοδος του μέσω της εφυμενίδας θεωρείται αμελητέα κάτω από συνήθεις συνθήκες, επομένως ο πιο καθοριστικός παράγοντας ελέγχου της εισροής του CO_2 στο εσωτερικό του φύλλου θεωρείται το άνοιγμα των στοματικών πόρων. Αφού εισέλθει μέσω των

στομάτων στο φύλλο, το CO_2 κινείται στους μεσοκυττάριους χώρους προς τα κύτταρα του μεσοφύλλου, στα κυτταρικά τοιχώματα των οποίων εισέρχεται στην υγρή φάση. Μέσα στο κύτταρο πλέον, το CO_2 μεταβαίνει μέσω του κυτοπλάσματος στις μεμβράνες των χλωροπλαστών και διαμέσου των τελευταίων στο στρώμα των χλωροπλαστών όπου λαμβάνει χώρα η ενσωμάτωσή του στα προϊόντα της φωτοσύνθεσης (Larcher 1980).

Η μέτρηση της φωτοσύνθεσης είναι δυνατή χωρίς την ταυτόχρονη μέτρηση της διαπνοής, εντούτοις θεωρείται χρήσιμο να μετρώνται οι δύο αυτές παράμετροι ταυτόχρονα, καθώς σημαντικό ρόλο στην ανταλλαγή H_2O και CO_2 διαμέσου των στοματικών πόρων, που καθορίζουν τη διαπνευστική και φωτοσυνθετική συμπεριφορά συγχρόνως, παίζει η λειτουργία της στοματικής συσκευής. Για τη μέτρησή της χρησιμοποιείται συσκευή μέσω της οποίας λαμβάνει χώρα ταυτόχρονη και αμφίδρομη ροή μάζας αερίων, δεδομένου ότι ρυθμίζει τις ποσότητες των αερίων φάσεων τόσο του H_2O που θα εξέλθει (διαπνοή), όσο και του CO_2 που θα εισέλθει (φωτοσύνθεση) (Εικόνα 3.6). Η ποσότητα του διαπνεόμενου H_2O είναι ευθέως ανάλογη προς τη διαφορά συγκέντρωσης των υδρατμών, που τείνει να μειώνεται από τον εσωτερικό μεσοκυττάριο χώρο του φύλλου προς τον εξωτερικό ατμοσφαιρικό χώρο. Κατά τον ίδιο τρόπο η ποσότητα προσλήψεως του CO_2 είναι ευθέως ανάλογη προς τη διαφορά συγκέντρωσης του CO_2 που τείνει να μειώνεται από τον εξωτερικό προς τον εσωτερικό χώρο (θέσεις καρβοξυλίωσης CO_2). Η διαφορά ανάμεσα στην τιμή της ολικής αγωγιμότητας της ροής του CO_2 και αυτής της ροής της αέριας φάσης του H_2O καθορίζει ποσοτικά την είσοδο του CO_2 και την έξοδο του H_2O και αντανακλά κυρίως τη διαφορά μεταξύ των συντελεστών διαχύσεως του CO_2 και του H_2O (Jones 1983, Jones 2004). Πάντως, επειδή ακριβώς είναι κοινό ένα μεγάλο μέρος της διαδρομής του CO_2 και των υδρατμών (ένας δρόμος διπλής κατεύθυνσης), η διαπνοή μπορεί να θεωρηθεί ότι συνήθως λαμβάνει χώρα παράλληλα και ταυτόχρονα με τη φωτοσύνθεση. Το κλείσιμο ή το άνοιγμα της στοματικής συσκευής, θα έχει επομένως αντιφατικές συνέπειες πάνω σε δύο ουσιώδεις φυσιολογικές λειτουργίες του φυτού: τη διαπνοή και τη φωτοσύνθεση αλλά και στην εν γένει παραγωγική αποτελεσματικότητα του φυτού. Έτσι, η μείωση του στοματικού ανοίγματος, επαγόμενη από ξηρασία, έχει σαν αναμενόμενη φυσιολογική συνέπεια τον περιορισμό των διαπνευστικών απωλειών, αλλά συγχρόνως και τη μείωση της ποσότητας του CO_2 , που εισέρχεται στο μεσόφυλλο για να φθάσει στις θέσεις καρβοξυλίωσης. Το αντίστροφο γίνεται με την αύξηση του στοματικού ανοίγματος.



Εικόνα 3.6. Σχηματική αναπαράσταση συστήματος μέτρησης φωτοσύνθεσης

Η πιο διαδεδομένη μέθοδος προσδιορισμού του ρυθμού αφομοίωσης είναι η χρησιμοποίηση συσκευής εφοδιασμένης με υπέρυθρο αναλυτή αερίων (IRGA) (Εικόνα 3.5). Ο προσδιορισμός στηρίζεται στην ισχυρή απορρόφηση του CO_2 στο υπέρυθρο τμήμα του φάσματος (κυρίως στα $4,26 \mu\text{m}$) (Jones 1983, Hunt 2003). Ο αναλυτής αερίων συνδέεται με φωτοσυνθετικό θάλαμο ερμητικά κλειστό στον οποίο εισέρχεται το φύλλο χωρίς να αποκοπεί από το βλαστό. Μέσα στο θάλαμο, το φύλλο συνεχίζει να φωτοσυνθέτει και να διαπνέει. Αν ένα ρεύμα αέρα περνά συνέχεια από το θάλαμο τότε ο εξερχόμενος από αυτόν αέρας θα έχει μειωμένη συγκέντρωση CO_2 και αυξημένη συγκέντρωση H_2O , σε σύγκριση με τον εισερχόμενο στο θάλαμο αέρα. Όταν οι ρυθμοί φωτοσύνθεσης, διαπνοής και ροής του αέρα σταθεροποιηθούν η φωτοσύνθεση υπολογίζεται από τη σχέση:

$$P_N = \frac{u_e^c e - u_o^c o}{L} \text{ (mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}\text{)}$$

όπου u_e η ροή του εισερχόμενου στο θάλαμο αέρα, c_e η συγκέντρωση του CO_2 στον εισερχόμενο αέρα, u_o η ροή του εξερχόμενου αέρα (η οποία διαφέρει από αυτή του εισερχόμενου αέρα γιατί το φύλλο αφαιρεί CO_2 και προσθέτει H_2O), c_o η συγκέντρωση του CO_2 στον εξερχόμενο αέρα και L η επιφάνεια του φυτικού υλικού μέσα στο θάλαμο (Field et al. 1991; Κωστοπούλου 2007).

3.4.4. Εσωτερική συγκέντρωση CO_2

Η συγκέντρωση του CO_2 στους μεσοκυττάριους χώρους (C_i) αποτελεί μέτρο της διαθεσιμότητας του κύριου υποστρώματος για τη φωτοσύνθεση και απαραίτητη παράμετρο για τον καθορισμό του περιορισμού της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας μεταξύ βιοχημικών και παραμέτρων διάχυσης.

Η αγωγιμότητα των φύλλων στη διάχυση των υδρατμών, η οποία υπολογίζεται από μετρήσεις ανταλλαγής H_2O , αποτελεί σημαντικό παράγοντα για τον καθορισμό του C_i , της συγκέντρωσης δηλαδή του CO_2 μέσα στο φύλλο. Ο πιο απλός τρόπος υπολογισμού του C_i στηρίζεται στη χρησιμοποίηση της στοματικής αγωγιμότητας. Επειδή το μονοπάτι διάχυσης τόσο για το H_2O όσο και για το CO_2 είναι κοινό, η αγωγιμότητα του CO_2 μπορεί να υπολογιστεί από την αγωγιμότητα του H_2O :

$$C_i = C_a - \frac{P_N}{g_{tc}}$$

όπου C_i η συγκέντρωση του CO_2 στους μεσοκυττάριους χώρους, C_a η συγκέντρωση του CO_2 στον ατμοσφαιρικό αέρα, P_N η καθαρή φωτοσύνθεση και g_{tc} ο συνδυασμός της αγωγιμότητας CO_2 διαμέσου του περιοριστικού διαπνευστικού στρώματος και της στοματικής συσκευής (Nobel 1991; Κωστοπούλου 2007).

3.4.5. Αποτελεσματικότητα Χρήσης Νερού

Για τη μεγιστοποίηση της φυτικής παραγωγής, είναι πολύ σημαντική η καλύτερη κατανόηση της σχέσης μεταξύ της αφομοίωσης του CO_2 και της κατανάλωσης νερού διαφορετικών φυτικών ειδών ή ποικιλιών σε συνθήκες έλλειψης νερού (Tuberosa et al., 2007; Medrano et al., 2009). Ως γνωστόν, οι υδρατμοί και το CO_2 μοιράζονται το ίδιο μονοπάτι διάχυσης. Στη περίπτωση των υδρατμών η διαφορά συγκέντρωσης (υπεύθυνη για την απώλεια του νερού) είναι πολύ μεγαλύτερη (περίπου 50 φορές) από αυτήν που προκαλεί την πρόσληψη του CO_2 . Μία αύξηση, λοιπόν, της στοματικής αγωγιμότητας

που ευνοεί τη διάχυση του CO₂ αναπόφευκτα οδηγεί σε μεγάλη αύξηση της διαπνοής (Chaves et al. 2004).

Ένα μέτρο ανάλυσης των περιβαλλοντικών παραγόντων, των δομικών και λειτουργικών χαρακτηριστικών των φυτών πάνω στην αριστοποίηση της σχέσης παραγωγής ξηράς ουσίας και κατανάλωσης νερού αποτελεί η αποτελεσματικότητα χρήσης νερού (Water Use Efficiency - WUE). Η οποία ορίζεται ως ο λόγος της αφομοίωσης του CO₂ μέσω της φωτοσυνθετικής βιοχημείας (P_N) προς την απώλεια νερού, λόγω διαπνοής μέσω των στομάτων (E) εκφραζόμενη σε $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$. Τόσο η αφομοίωση (P_N), όσο και η διαπνοή (E) ρυθμίζονται από τη στοματική αγωγιμότητα (g_s) του H₂O και του CO₂ και την αντίστοιχη διαφορά συγκεντρώσεως υδρατμών (W_i-W_a) και CO₂ (C_i-C_a) μεταξύ του εσωτερικού και του εξωτερικού του φύλλου (Bacon 2004). Σε επίπεδο φύλλου η WUE αποτελεί το λόγο του στιγμιαίου ρυθμού καθαρής αφομοίωσης CO₂ (P_N) προς τη διαπνοή E (P_N/E) (Jones 2004). Επειδή η τιμή της WUE εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες και ιδιαιτέρως από το VPD, πολύ συχνά στις οικοφυσιολογικές μελέτες χρησιμοποιείται και η ενδογενής WUE (WUE_i), οριζόμενη ως ο λόγος της αφομοίωσης του CO₂ μέσω της φωτοσύνθεσης (P_N) προς τη στοματική αγωγιμότητα (g_s), ο οποίος παραμένει σχεδόν σταθερός για ένα μεγάλο εύρος συνθηκών, γεγονός μεγάλης οικολογικής σημασίας ιδίως στις περιπτώσεις σύγκρισης WUE κάτω από διαφορετικό VPD (Chaves et al. 2004). Η ενδογενής αποτελεσματικότητα χρησιμοποίησης του νερού (WUE_i) υπολογίστηκε από τη σχέση P_N/g_s (Bacon 2004).

3.5 Φωτοχημικές Παράμετροι

3.5.1. Φθορισμός της Χλωροφύλλης

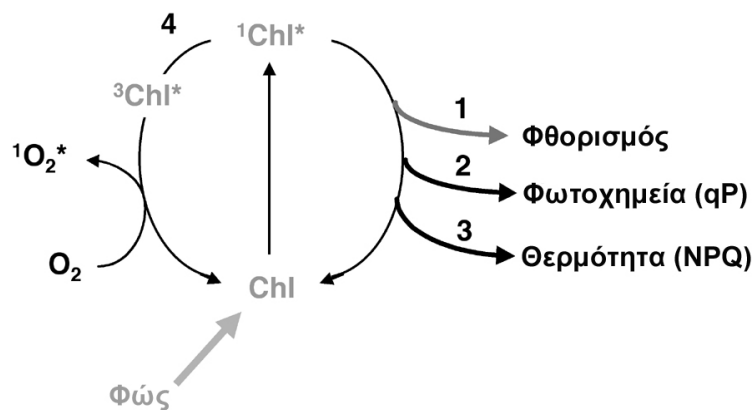
Η μέτρηση του φθορισμού της χλωροφύλλης πραγματοποιήθηκε στα ίδια φύλλα στα οποία μετρήθηκαν οι προαναφερθείσες φυσιολογικές παράμετροι. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε το mini-PAM φθορισμόμετρο (Walz, Effeltrich, Germany) στο οποίο προσαρμόστηκε ένα είδος από «μανταλάκι» (leaf cleap), το 2030 leaf clip holder με το οποίο μετρήθηκε ο μέγιστος ρυθμός μεταφοράς ηλεκτρονίων (electron transport rate, ETR) (Εικόνα 3.7). Η μέτρηση της μέγιστης αποτελεσματικότητας της φωτοχημείας του PSII (F_v/F_m) μετρήθηκε λίγο πριν την ανατολή του ηλίου ενώ οι παράμετροι NPQ και ETR_{max} μετρήθηκαν τις μεσημβρινές ώρες (12:00 -14:00).



Εικόνα 3.7. Φθορισμόμετρο MINI-PAM και μανταλάκι leaf clip holder

Η ανάλυση του φθορισμού της χλωροφύλλης, αποτελεί μια ευρέως διαδομένη τεχνική στη φυσιολογία και οικοφυσιολογία φυτών. Η φωτεινή ακτινοβολία που απορροφάται από τα μόρια των χρωστικών (χλωροφύλλες και καροτενοειδή) στις φωτοσυνθετικές κεραίες των φωτοσυστημάτων μεταφέρεται ως ενέργεια διέγερσης στα κέντρα αντίδρασης των φωτοσυστημάτων I και II (PSI και PSII). Από εκεί ξεκινά η ροή ηλεκτρονίων, ώστε να παραχθεί φωτοχημικό έργο (φωτοχημεία). Η ενέργεια διέγερσης καταναλώνεται εναλλακτικά και με δύο άλλους τρόπους: (i) αποσβένεται ως θερμότητα (thermal dissipation) ή (ii) επανεκπέμπεται ως φως. Φαινόμενο γνωστό ως φθορισμός χλωροφύλλης (chlrophyll fluorescence) (Εικόνα 3.8).

Οι τρεις αυτοί τρόποι λειτουργούν ανταγωνιστικά και επομένως, όταν μεταβάλλεται η απόδοση σε έναν από αυτούς, μεταβάλλεται συμπληρωματικά και στους άλλους δύο. Μετρώντας την απόδοση του φθορισμού της χλωροφύλλης, καθίσταται δυνατή η απόκτηση πληροφοριών σχετικών με τις μεταβολές στην αποτελεσματικότητα της φωτοχημείας και της απελευθέρωσης θερμότητας (Maxwell and Johnson 2000). Σε κανονικές συνθήκες ο φθορισμός προέρχεται σχεδόν αποκλειστικά από το PSII, συνεπώς, οι μεταβολές του φθορισμού αντανακλούν αρχικά στην κατάσταση του φωτοσυστήματος αυτού (Schreiber et al., 1994). Όταν το PSII απορροφήσει φως τότε ένα ηλεκτρόνιο μεταφέρεται στον πρώτο αποδέκτη ηλεκτρονίων



Εικόνα 3.8. Διαφορετικοί οδοί απόσβεσης της ενέργειας που απορροφάται από τη χλωροφύλλη. Όταν η χλωροφύλλη απορροφά το φως ενεργοποιείται στην κατάσταση απλότητας $^1\text{Chl}^*$. Από εκεί υπάρχουν πολλοί τρόποι για να επανέλθει η χλωροφύλλη στην αρχική της μορφή. Μπορεί να επανέλθει στην βασική κατάσταση εκπέμποντας ακτινοβολία (φθορισμό) (1). Η ενέργεια της μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη φωτοσυνθετική αλυσίδα (2), η μπορεί να μετατραπεί σε θερμότητα (3). Και οι δύο τελευταίοι μηχανισμοί μειώνουν το φθορισμό. Αναφέρονται επίσης ως qP και NPQ του φθορισμού της χλωροφύλλης. Τέλος, $^1\text{Chl}^*$ μπορεί να μετατραπεί σε χλωροφύλλη σε κατάσταση τριπλότητας $^3\text{Chl}^*$ (4), η οποία μπορεί με τη σειρά της να παράγει $^1\text{O}_2^*$ (Πηγή: Müller et al., 2001).

Q_A (κινόνη, πρωτεύον αποδέκτης ηλεκτρονίων του PSII), ο οποίος δεν μπορεί να δεχτεί άλλο ηλεκτρόνιο μέχρι να προωθήσει το πρώτο στον επόμενο μεταφορέα ηλεκτρονίων Q_B . Σε αυτό το χρονικό διάστημα το κέντρο αντίδρασης θεωρείται ότι είναι «ανενεργό» ή «κλειστό». Το ποσοστό των κλειστών κέντρων αντίδρασης ποικίλει με το χρόνο και τις διαφορετικές περιβαλλοντικές ή φυσιολογικές συνθήκες του φυτού.

Η αύξηση του ποσοστού αυτού οδηγεί σε ολική μείωση της αποτελεσματικότητας της φωτοχημείας και σε αντίστοιχη αύξηση της απόδοσης του φθορισμού. Γενικά, ο φθορισμός είναι υψηλότερος όταν η φωτοχημεία και η ενέργεια που μετατρέπεται σε θερμότητα, παίρνουν τις χαμηλότερες τιμές. Έτσι λοιπόν, αλλαγές στην απόδοση του φθορισμού, αντανακλούν αλλαγές στην απόδοση της φωτοχημείας και της θερμότητας.

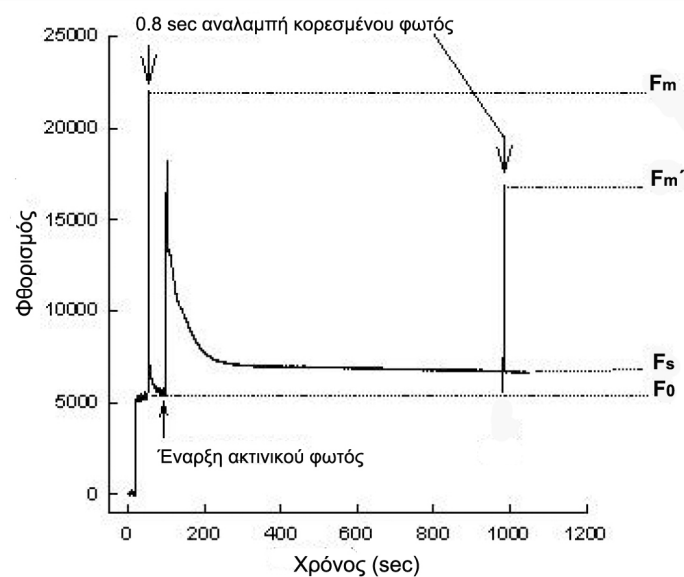
Όταν ένα φύλλο μεταφέρεται από το σκοτάδι στο φως, παρατηρείται μία πρόσκαιρη αύξηση στη απόδοση του φθορισμού. Στη συνέχεια όμως το επίπεδο του φθορισμού αρχίζει να μειώνεται σταδιακά μέσα σε ένα σύντομο χρονικό διάστημα μερικών λεπτών. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται απόσβεση του φθορισμού (fluorescence quenching). Αυτό οφείλεται στη βραδεία ενεργοποίηση του

μεταβολισμού του CO_2 . Ενώ η μεταφορά των ηλεκτρονίων από τα κέντρα αντίδρασης του PSII προς τους πρώτους αποδέκτες της φωτοσυνθετικής αλυσίδας, λαμβάνει χώρα μέσα σε λίγα χιλιοστά του δευτερόλεπτου μετά τον φωτισμό, η ενεργοποίηση των ένζυμων που σχετίζονται με την αφομοίωση του άνθρακα εξαρτάται από το φως και γίνεται με μια χρονική υστέρηση. Έτσι λοιπόν ανταγωνιστικά με το φθορισμό έχουμε ταυτόχρονη ενεργοποίηση της φωτοχημικής απόσβεσης (photochemical quenching) και αύξηση της αποτελεσματικότητας της θερμικής απόσβεσης. Η τελευταία λειτουργία καλείται μη φωτοχημική απόσβεση (non-photochemical quenching). Με αυτόν τον τρόπο ο φθορισμός αποσβένεται και σταθεροποιείται σε μια τιμή F_s , που εξαρτάται τόσο από την ένταση του φωτός όσο και από τη φυσιολογική κατάσταση του φυτού που με τη σειρά τους επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της φωτοχημικής και της θερμικής απόσβεσης. Αυτήν την αλληλεπίδραση μεταξύ των τριών μορφών απόσβεσης της ενέργειας που απορροφάται από το PSII, πρώτος την παρατήρησε ο Kautsky το 1931.

Με την τοποθέτηση ενός φύλλου στο φως ο φθορισμός αυξάνεται ξεκινώντας από ένα ελάχιστο επίπεδο (F_0 , φθορισμός σε συνθήκες σκότους, dark adapted) (Εικόνα 3.9), το οποίο αντιστοιχεί στο επίπεδο του φθορισμού όταν όλα τα κέντρα του PSII είναι ανοιχτά και ικανά για φωτοχημεία. Αν εφαρμόσουμε μια αναλαμπή κορεσμένου φωτός, ο φθορισμός αυξάνεται τάχιστα σε μια μέγιστη τιμή F_m η οποία προκαλείται λόγω του ότι κλείνουν σχεδόν όλα τα κέντρα αντίδρασης του PSII. Αφού φτάσει στο μέγιστο σημείο ο φθορισμός αρχίζει να μειώνεται, φαινόμενο που καλείται απόσβεση, μέχρις ότου φτάσει σε μια σταθερή κατάσταση. Η απόσβεση του φθορισμού έως τη σταθερή κατάσταση αφορά αλλαγές στο φωτοσυνθετικό μηχανισμό που σχετίζονται με την αφομοίωση του CO_2 και την παραγωγή θερμότητας. Αν το φύλλο μείνει για επαρκές διάστημα σε σταθερής έντασης ακτινικό φως (δηλαδή σταθερή ένταση φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολίας, light adapted), ώστε να πραγματοποιείται η φωτοσυνθετική λειτουργία με σταθερό ρυθμό, τότε ο τρέχον φθορισμός σταθεροποιείται στην τιμή F_s . Στη φάση αυτή αν εφαρμοστεί μια αναλαμπή κορεσμένου φωτός ο φθορισμός θα πάρει την μέγιστη του τιμή F_m' η οποία είναι μικρότερη από το F_m , καθώς θα έχουν αναπτυχθεί και οι μηχανισμοί μη φωτοχημικής απόσβεσης. Η διαφορά μεταξύ μέγιστου και ελάχιστου φθορισμού ($F_m - F_0$) ή ($F_m' - F_s$) καλείται κυμαινόμενος ή μεταβλητός φθορισμός (variable fluorescence, F_v). Οι αλλαγές στη τιμή του F_v οφείλονται τόσο στο μέγεθος της δεξαμενής της πλαστοκινόνης όσο και στο ρυθμό αναγωγής και οξείδωσης της, η οποία καθορίζεται από το σχετικό ρυθμό φωτοχημείας του PSII, μέσω της

λειτουργίας της φωτοσυνθετικής αλυσίδας. Η διαφορά $F_m - F_m'$ εκφράζει τη μη φωτοχημική απόσβεση, ενώ ή $F_m' - F_s$ τη φωτοχημική απόσβεση του φθορισμού (Schreiber et al., 1994).

Όταν το φύλλο είναι τοποθετημένο στο σκοτάδι, η F_0 μετριέται με τη χρήση πολύ χαμηλής φωτοσυνθετικής ροής φωτονίων (PPFD, photosynthetic photon flux density) ($<1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), η οποία επιβεβαιώνει ότι σχεδόν όλα τα κέντρα αντίδρασης του PSII θα είναι ανοιχτά (ικανά για φωτοχημεία). Αν σ' αυτό το φύλλο εφαρμοστεί μια αναλαμπή πολύ υψηλού PPFD (συνήθως λιγότερο από 1 s και $>5000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) θα επιτευχθεί η μέγιστη τιμή φθορισμού F_m , καθώς η πλειονότητα των κέντρων αντίδρασης θα έχουν κλείσει. Ο λόγος F_v/F_m σε φύλλα που βρίσκονται στο σκοτάδι εκφράζει τη μέγιστη εν δυνάμει απόδοση του PSII και χρησιμοποιείται συχνά σαν ευαίσθητος δείκτης της φωτοσυνθετικής ικανότητας ενός φυτού. Σε καταγραφή που έγινε σε πολλά είδη C_3 φυτών, από μεγάλο εύρος ενδιατημάτων και συνθηκών ανάπτυξης, διαπιστώθηκε ότι έχει σχετικά σταθερή τιμή (~ 0.83), υπό τον όρο ότι τα φυτά δεν έχουν υποστεί καμιά καταπόνηση (Björkman and Demming 1987). Σε πειράματα στο πεδίο, η μέτρηση της τιμής του F_v/F_m πριν την ανατολή ηλίου, μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες για την επίδραση περιβαλλοντικών καταπονήσεων στο φωτοσυνθετικό μηχανισμό (Björkman and Demming 1987; Maxwell and Johnson 2000). Μείωση της τιμής F_v/F_m που παραμένει σταθερή τις νυχτερινές ώρες συνήθως καλείται μόνιμη "φωτοαναστολή" (Long et al., 1994).



Εικόνα 3.9. Οι παράμετροι του φθορισμού της χλωροφύλλης (Πηγή: Maxwell and Johnson 2000).

3.5.2. Μέγιστος ρυθμός μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR_{max})

Καθώς η παράμετρος F_v/F_m εκφράζει τη φωτοχημική απόδοση του PSII, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό του μέγιστου ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων (electron transport rate) και επομένως της συνολικής φωτοσυνθετικής ικανότητας *in vivo* βάσει τον τύπο:

$$ETR_{max} = PPFD \cdot \left(\frac{F_v}{F_m} \right) \cdot 0,84 \cdot 0,5 \quad (\text{Genty et al., 1989})$$

Όπου PPFD η φωτοσυνθετικά ενεργός ηλιακή ακτινοβολία, F_v/F_m η μέγιστη απόδοση του PSII, 0,84 ή 84% είναι το ποσοστό της προσπίπτουσας ακτινοβολίας που απορροφάται από τη χλωροφύλλη και ο συντελεστής 0,5 χρησιμοποιείται ώστε να λαμβάνεται υπόψη η ίση κατανομή φωτονίων μεταξύ των δύο φωτοσυστημάτων (Schreiber et al. 1994). Το ETR εκφράζεται σε $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

3.5.3. Μη φωτοχημική απόσβεση (NPQ)

Το πλεόνασμα της ενέργειας που απορροφάται, από το PSII μπορεί να αποσβεστεί με τη μορφή θερμότητας. Η μη φωτοχημική απόσβεση του φθορισμού της χλωροφύλλης είναι μία ένδειξη του επιπέδου της απόσβεσης της μη φθορίζουσας ακτινοβολίας στα ενεργά κέντρα του PSII. Η σπουδαιότητα της μη φωτοχημικής απόσβεσης, είναι απόρροια του γεγονότος ότι, τα επίπεδα της ενέργειας που απορροφούνται από τα ενεργά κέντρα του PSII μπορούν να ρυθμιστούν κατάλληλα, έτσι ώστε να μην υπάρχει κορεσμός της αναγωγικής ενέργειας που παράγεται στην φωτοσυνθετική αλυσίδα και επομένως βλάβη στο φωτοσύστημα.

Ένας άμεσος τρόπος υπολογισμού της μη-φωτοχημικής απόσβεσης είναι με τη σχέση:

$$NPQ = \left(\frac{F_m}{F_m'} \right) - 1$$

Η παράμετρος NPQ συνδέεται γραμμικά με την εκπομπή θερμότητας και συνήθως σε πλήρες ηλιακό φως παίρνει τιμές από 0.5 ως 3.5, αν και διαφέρει πολύ ανάλογα με το είδος του φυτού και τις συνθήκες ανάπτυξης πριν τη μέτρηση (Maxwell and Johnson 2000).

Η μη φωτοχημική απόσβεση του φθορισμού επάγεται σε εκείνες τις συνθήκες, όπου ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός δεν μπορεί να χρησιμοποιήσει όλη την αναρροφούμενη ενέργεια για φωτοχημεία. Συνθήκες καταπόνησης, όπως υψηλή

ακτινοβολία και χαμηλή εσωτερική συγκέντρωση CO₂ επάγουν έντονα τη μη φωτοχημική απόσβεση.

Στις περισσότερες περιπτώσεις, το μεγαλύτερο μέρος του NPQ οφείλεται σε φωτοπροστατευτικές διαδικασίες, που απαιτούν την ύπαρξη χαμηλού pH στο εσωτερικό των θυλακοειδών και σχετίζονται με τη φωτο-επαγόμενη παραγωγή της ξανθοφύλλης ζεαξανθίνης (Maxwell and Johnson 2000).

3.6 Μέτρηση της φωτοαναπνοής με τις συνδυασμένες μετρήσεις του φθορισμού της χλωροφύλλης και της ανταλλαγής αερίων

Σύμφωνα με τη μέθοδο του Epron et al. (1995) ο ρυθμός μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR), που προκύπτει από τις μετρήσεις του φθορισμού της χλωροφύλλης θεωρείται ότι αποκλειστικά διατίθεται για την αφομοίωση του CO₂ από τη Rubisco ή για τη φωτοαναπνοή. Έτσι μπορούμε να υπολογίσουμε το ETR από τον τύπο:

$$ETR = ETR_c + ETR_o \quad (3.6)$$

Όπου ETR_c και ETR_o, είναι η μεταφορά ηλεκτρονίων για την καρβοξυλίωση και την οξείδωση της Rubisco, αντίστοιχα.

Αυτός ο υπολογισμός προϋποθέτει ότι οι άλλες λειτουργίες που καταναλώνουν ενέργεια από τη φωτοσυνθετική αλυσίδα είναι αμελητέες ή τουλάχιστον σταθερές. Αυτή η υπόθεση έγινε ευρέως αποδεκτή (Valentini et al., 1995).

Για ένα κύκλο καρβοξυλίωσης και οξείδωσης, χρειάζονται τέσσερα ηλεκτρόνια ενώ για την παράγωγή ενός μορίου CO₂ από την αποκαρβοξυλίωση της γλυκίνης χρειάζονται να ολοκληρωθούν δύο οξειδωτικοί κύκλοι κατά τη φωτοαναπνευστική λειτουργία (Laing et al., 1974). Έτσι το ETR_c μπορεί να εκφραστεί από τον τύπο:

$$ETR_c = 4 (P_N + R_D + P_R) \quad (3.7)$$

Όπου R_D, είναι η μιτοχονδριακή αναπνοή στο σκοτάδι και P_R είναι ο ρυθμός παραγωγής CO₂ από τη φωτοαναπνοή.

Η οξείδωση δύο μορίων RuBP οδηγεί μέσω της φωτοαναπνευστικής οδού, στο μεταβολισμό δύο μορίων φωσφογλυκολικού οξέος σε ένα 3-φωσφογλυκερινικό οξύ και στην απελευθέρωση ενός μορίου CO₂ (από την αποκαρβοξυλίωση της μίας από τις δύο γλυκίνες κατά τη διάρκεια της μετατροπής της γλυκίνης σε σερίνη στα μιτοχόνδρια)

(Sharkey 1988; Peterson 1989; Harley and Sharkey 1991). Επομένως. Το ETR_o μπορεί να εκφραστεί ως:

$$ETR_o = 4 (2 P_R) \quad (3.8)$$

Τελικά προκύπτει ένα σύστημα με τρεις εξισώσεις (3.6, 3.7 και 3.8) και τρεις αγνώστους (P_R , ETR_c και ETR_o). Από τη λύση αυτού του συστήματος εξισώσεων και, θεωρώντας ότι ο ρυθμός της αναπνοής στο σκοτάδι (R_D) είναι ίσος μ'αυτόν που λαμβάνει χώρα στο φώς προκύπτει:

$$ETR_o = \frac{1}{3} [ETR + 8(P_N + R_D)] \quad (3.9)$$

$$ETR_o = \frac{2}{3} [ETR + 4(P_N + R_D)] \quad (3.10)$$

$$P_R = \frac{1}{12} [ETR - 4(P_N + R_D)] \quad (3.11)$$

3.7 Μέτρηση της χλωροφύλλης

Η μέτρηση της χλωροφύλλης μετρήθηκε με χλωροφυλλόμετρο (Chlorophyll Content Meter, CCM-200, USA) (Εικόνα 3.10). Οι μετρήσεις έγιναν σε εκείνα τα φύλλα που χρησιμοποιήθηκαν για τις μετρήσεις των φωτοσυνθετικών και φθορομετρικών παραμέτρων.



Εικόνα 3.10. Χλωροφυλλόμετρο CCM-200

3.8 Βιοχημικές παράμετροι

3.8.1. Εκχύλιση και προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φυτοορμονών

Η εκχύλιση του αμπισισικού οξέως (ABA) πραγματοποιήθηκε σε φύλλα και σε ρίζες των δύο ποικιλιών της αμπέλου. Η συγκέντρωση του ABA και των κυτοκινινών μετρήθηκαν σε δείγματα φύλλων που συλλέχτηκαν λίγο πριν την ανατολή ηλίου κατά τη διάρκεια κύκλων υδατικής διαίτας που εφαρμόστηκαν και τις δύο καλλιεργητικές περιόδους (2006 και 2007). Η περιεκτικότητα του ABA στα φύλλα και στη ρίζα, μετρήθηκε στα ίδια φύλλα και στα ίδια φυτά αντίστοιχα που χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση του υδατικού δυναμικού βάσης (Ψ_{PD}). Η συγκέντρωση του ABA στη ρίζα μετρήθηκε στο τέλος κάθε κύκλου υδατικής διαίτας και μόνο την καλλιεργητική περίοδο 2007.

Αμέσως μετά την μέτρηση του Ψ_{PD} τα φύλλα και οι ρίζες των φυτών από τα οποία προέρχονταν τα δείγματα των φύλλων, πάγωναν σε υγρό άζωτο και αποθηκεύονταν στους -80°C , για περαιτέρω ανάλυση. Η εκχύλιση και η συγκέντρωση του ABA στο φύλλο και τη ρίζα, προσδιορίστηκε όπως περιγράφεται από τους Jesche et al. (1997) και Lovisolo et al. (2002) με κάποιες τροποποιήσεις.

Ειδικότερα, 1 γρ. χλωρού βάρους φυλλικού ιστού λειοτριβήθηκε σε πορσελάνινο γουδί με 10 ml παγωμένης υγρής μεθανόλης 80% (v/v) και εκχυλίστηκε για 48 ώρες στους 4°C σε σκοτάδι. Σε κάθε δείγμα πριν την λειοτρίβηση προσθέτονταν 10 mg l^{-1} βούτυλο-υδροξύ-τουλουένιο (Butylated hydroxytoluence). Το εκχύλισμα φυγοκεντρήθηκε δύο φορές στις 8000 rpm για 20 λεπτά. Τα υπερκείμενα διαλύματα που προέκυψαν μετά την φυγοκέντρωση ενώνονταν σ' ένα δείγμα. Έπειτα τα διαλύματα αυτά περνούσαν από λιπόφυλλο φίλτρο C_{18} Sep-Pak cartridge (Waters, Milford, USA) το οποίο εκπλένονταν πριν με 5 ml από 80% (v/v) μεθανόλης για την απομάκρυνση των φαινολικών ουσιών και των χρωστικών. Η μεθανόλη, απομακρύνονταν με συμπύκνωση του δείγματος σε περιστρεφόμενο εξατμιστή κενού (rotary evaporator, Hei-dolph, Germany) και το υγρό υπόλειμμα συλλέγονταν και εκχυλίζονταν τρεις φορές με οξικό αιθυλεστέρα (33% του όγκου της υγρής φάσης) σε pH 2.5-3.0. Ο οξικός αιθυλεστέρας των ενωμένων οργανικών φάσεων, απομακρύνονταν στον περιστρεφόμενο εξατμιστή κενού ενώ η υγρή φάση που προέκυπτε από την εκχύλιση συλλέγονταν για την εκχύλιση των κυτοκινινών. Το υπόλειμμα της συμπύκνωσης επαναδιαλύονταν σε ρυθμιστικό διάλυμα TBS (TRIS-buffered saline) (150 mM NaCl, 1 mM MgCl_2 and 50 mM TRIS, pH 7.8), αφού περνούσε από λουτρό υπερήχων για 1-2 λεπτά. Η συγκέντρωση του ABA μετρήθηκε με ανοσοενζυμική ανοσοπροσροφητική μέθοδο

(Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay ELISA) (Phytodetek kit supplied by Agdia, Elkhart, USA) ακολουθώντας το πρωτόκολλο του κατασκευαστή.

Η εκχύλιση και η διαδικασία καθαρισμού των κυτοκινινών (CKs) όπως: της ζεατίνης (trans-zeatin, t-Z και trans-zeatin riboside, t-ZR), της διυδροζεατίνης (dihydrozeatin, DHZ και dihydrozeatin riboside, DHZR) και της N⁶-(Δ²-ισοπεντενύλαδενοσύνης (isopentenyladenine, iP και, isopentenyladenosine iPA) πραγματοποιήθηκε στα ίδια δείγματα που πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του ABA σύμφωνα με τις μεθόδους του Chen (1991) και Turnbull et al. (1997), με κάποιες μικρές τροποποιήσεις. Η υγρή φάση που παρέμεινε έπειτα από την εκχύλιση του ABA με τον οξικό αιθυλεστέρα, ρυθμίστηκε σε pH 9.0 με 1 M NaOH και εκχυλίστηκε τέσσερις φορές με βουτανόλη. Η ικανότητα της βουτανόλης στην εκχύλιση και το καθαρισμό των κυτοκινινών τονίστηκε ιδιαίτερα από τον Letham (1974), λόγω της υψηλού συντελεστή κατανομής της βουτανόλης με τις βάσεις των κυτοκινινών και των νουκλεοσιδίων τους σε pH>7. Τα συνενωμένα οργανικά κλάσματα που προέκυψαν από την εκχύλιση, απομακρύνθηκαν σε περιστρεφόμενο εξατμιστή κενού. Το υπόλειμμα επαναδιαλύθηκε όμοια με την ανάλυση του ABA στο ρυθμιστικό διάλυμα TBS και αποθηκεύτηκε στους -20°C μέχρι να αναλυθεί περαιτέρω. Κάθε κυτοκινίνη αναλύθηκε με την ELISA (Phytodetek kit supplied by Agdia, Elkhart, USA), χρησιμοποιώντας αντισώματα έναντι των t-ZR, DHZR και iPA αντίστοιχα, ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η αξιοπιστία της ανοσοενζυμικής μεθόδου επιβεβαιώθηκε σε προηγούμενες μελέτες (Kudoyarova et al., 2007).

Σ' αυτή την μελέτη όλες οι αναλύσεις επανελήφθησαν τρεις φορές και πιθανές αλληλεπιδράσεις των αντισωμάτων με άλλες ουσίες ελέγχθηκαν με κατάλληλες αραιώσεις από ένα συγκεκριμένο δείγμα (Correia et al., 1999). Η ανάκτηση βρέθηκε να είναι μεγαλύτερη του 95% για το ABA και 90% για τις κυτοκινίνες.

3.8.2. Εκχύλιση Πρωτεϊνών

Για τις μετρήσεις της ενεργότητας των ενζύμων και της περιεκτικότητας των πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια φύλλα που πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις του Ψ_{PD}.

Ο ιστός φύλλου (0.3 γρ) λειοτριβήθηκε με γουδί, στους 4°C με 1.5 ml διαλύματος που περιείχε 0,1 M Tris-HCl, pH 7.6, 5 mM DTT, 0,5 mM PMSF, 10 μM λουπεπτίνη (leupeptin), 10% (v/v) γλυκερόλη, 0.25% (w/v) Triton X-100, 1mM αιθύλενο-διάμινο-τετρα-οξικό οξύ (EDTA), παρουσία 1% (w/v) πολυβίνηλο-

πυρρολιντόνη (PVPP-40). Για τη μέτρηση της ενεργότητας της APX, 1 mM ασκορβικού οξέος (ASA) συμπεριλήφθηκε στο διάλυμα εκχύλισης. Η αναλογία δείγματος προς το διάλυμα εκχύλισης ήταν 1:5. Το ομογενοποίημα, αφού κρατήθηκε για 20 λεπτά σε πάγο (4 °C) με περιοδική ανάδευση, φυγοκεντρήθηκε στις 14.000 rpm για 20 λεπτά στους 4 °C (Universal 32R, Hettich, Germany). Το υπερκείμενο μοιράσθηκε και κρατήθηκε στους -80 °C έως ότου γίνει ο προσδιορισμός της ενεργότητας των ενζύμων. Οι μετρήσεις των απορροφήσεων των διαλυμάτων των ενζύμων, έγιναν σε φασματοφωτόμετρο (Hitachi U-1100).

3.8.3. Προσδιορισμός ολικών Πρωτεϊνών

Οι ολικές πρωτεΐνες των εκχυλισμάτων, προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο Bradford (1976). Η μέθοδος στηρίζεται στη σύνδεση της χρωστικής Coomassie Blue G-250 στο μόριο της πρωτεΐνης, με αποτέλεσμα τη μετατόπιση του μεγίστου απορρόφησης της χρωστικής από τα 465 στα 595 nm. Το μητρικό διάλυμα χρωστικής περιείχε 1 γρ. Coomassie Blue G-250, 100 mL 95% αιθανόλης και 200 ml ορθο-φωσφορικού οξέος (88%). Το διάλυμα εργασίας της χρωστικής περιείχε 5 ml μητρικού διαλύματος χρωστικής, 13.5 ml ορθο-φωσφορικού οξέος 88%, 6.6 ml 95% αιθανόλης και 74.9 ml απεσταγμένο νερό. Ποσότητα από το διάλυμα εργασίας της χρωστικής (1,5 ml) αναμίχθηκε με 1 ml διαλύματος πρωτεΐνης και η απορρόφηση μετρήθηκε αμέσως μετά την ανάμιξη. Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η αλβουμίνη του ορού του βοδιού (BSA). Το διάλυμα εργασίας BSA αποτελούνταν από 25 μg BSA/ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris 10 mM (pH=7,6) που περιείχε 0,1 M NaCl. Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν 0-25 μg BSA. Με βάση αυτή την καμπύλη υπολογίστηκαν και οι συγκεντρώσεις πρωτεϊνών στα φυτικά εκχυλίσματα.

3.8.4. Δοκιμή της δράσης της Καταλάσης (CAT)

Η δράση της καταλάσης (CAT) μετρήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο του Aebi (1984). Η αποικοδόμηση του H₂O₂ μετρήθηκε με τη μείωση της απορρόφησης στα 240 nm ($\epsilon = 39.4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) στους 25 °C για ένα λεπτό. Τα 3 ml του διαλύματος της αντίδρασης περιείχαν 50 mM ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου (pH 7.0), 15 mM H₂O₂ και 20 μl πρωτεϊνικού εκχυλίσματος. Η μεταβολή της απορρόφησης του δείγματος μετρήθηκε στα 240 nm με φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-1601

(Shimadzu, Kyoto, Japan). Μία μονάδα ενεργότητας της καταλάσης (U) ορίστηκε ως η αποικοδόμηση της ποσότητας σε $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ ανά λεπτό και ανά mg πρωτεΐνης.

3.8.5. Δοκιμή της δράσης της ασκορβικής υπεροξειδάσης (APX)

Η δράση της ασκορβικής υπεροξειδάσης προσδιορίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Nakano and Asada (1981). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή το διάλυμα αντίδρασης των 3 ml περιείχε 0.5 mM ασκορβικό οξύ, 0.1 mM H_2O_2 , 0.1 nM αιθύλενο-διάμινο-τετρα-οξικό οξύ (EDTA), 50 mM ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου (pH 7.0) και 20 μl πρωτεϊνικό εκχύλισμα. Η αντίδραση ξεκίνησε με την προσθήκη του H_2O_2 . Η ενεργότητα της APX μετρήθηκε ακολουθώντας τη μείωση στην απορρόφηση στα 290 nm ($\epsilon = 2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) λόγω της σταδιακής οξείδωσης του ασκορβικού οξέος. Ο ρυθμός οξείδωσης, διορθώθηκε με τη μέτρηση του χωρίς το πρωτεϊνικό εκχύλισμα. Μια μονάδα ενζυμικής ενεργότητας καθορίστηκε ως η ποσότητα σε μmol του ασκορβικού οξέος που οξειδώνονταν ανά λεπτό και ανά mg ολικών πρωτεϊνών.

3.8.6. Δοκιμή της δράσης της υπεροξειδάσης του γλουταθείου (GPX)

Η δράση της υπεροξειδάσης (GPX), προσδιορίστηκε σύμφωνα με τον Costa et al. (2002). Η συγκεκριμένη μέθοδος στηρίζεται στο γεγονός ότι παρουσία των υπεροξειδασών, το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) αντιδρά με το 2-μεθόξυλ-φαινόλη (Guaiacol), δίνοντας ένα έγχρωμο προϊόν με μέγιστη απορρόφηση στα 470 nm. Η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη για το προσδιορισμό της GPX και η μεταβολή της απορρόφησης στα 470 nm είναι γραμμική μέχρι και τιμές απορρόφησης 0,8 περίπου. Τα 3 ml του διαλύματος της δοκιμής περιείχαν 50 mM φωσφορικού καλίου (pH 7.4), 0.1 mM EDTA, 10 mM guaiacol, 10 mM H_2O_2 και 20 μl πρωτεϊνικού εκχυλίσματος. Η ενζυμική αντίδραση, ξεκίνησε με την προσθήκη 20 μl πρωτεϊνικού εκχυλίσματος. Η μεταβολή της απορρόφησης του δείγματος μετρήθηκε στα 470 nm στο φασματοφωτόμετρο. Η μέτρηση γινόταν σε θερμοκρασία δωματίου ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) και η τιμή της απορρόφησης καταγραφόταν σε τακτά χρονικά διαστήματα. Η ενεργότητα της GPX υπολογίστηκε σύμφωνα με την οξείδωση του υποστρώματος (guaiacol) στα 470 nm χρησιμοποιώντας το συντελεστή απορρόφησης $\epsilon = 26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Μια μονάδα ενεργότητας GPX (U) ορίστηκε ως η ποσότητα σε μmol οξειδωμένου guaiacol ανά λεπτό και ανά mg ολικών πρωτεϊνών.

3.8.7. Δοκιμή της δράσης υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD)

Η συνολική ενεργότητα της SOD προσδιορίστηκε με τη χρησιμοποίηση της φωτοχημικής μεθόδου των Beauchamp and Fridovich (1971). Στο διάλυμα αντίδρασης [50 mM φωσφορικό κάλιο, pH 7.8, 0.1 mM EDTA, 13 mM μεθειονίνη, 75 μ M νιτρο-μπλέ τετραζόλιο (NBT), μ M ριβοφλαβίνη], προστέθηκαν 20 μ g ολικής πρωτεΐνης, σε συνολικό όγκο 3 ml.

Η οξείδωση του νιτρο-μπλέ τετραζόλιου, μετρήθηκε στα 560 nm στους 25°C, για συνολικό χρόνο 10 λεπτών, στο μεσοδιάστημα των οποίων τα δείγματα ήταν τοποθετημένα σε έντονο φως (cool white). Η ριβοφλαβίνη προσθέτονταν στο τέλος και η αντίδραση άρχιζε με την τοποθέτηση των δειγμάτων στο φως. Φωτιζόμενες αντιδράσεις χωρίς ένζυμο και μη φωτιζόμενες αντιδράσεις με ένζυμο χρησιμοποιήθηκαν για τη διόρθωση της τελικής απορρόφησης του δείγματος. Η μείωση της συγκέντρωσης του NBT, ήταν αντιστρόφως ανάλογη της ενεργότητας του ενζύμου. Η μονάδα ενεργότητας της SOD στα πρωτεϊνικά δείγματα, ορίστηκε ως η ποσότητα του ενζύμου που χρειάζεται για να προκαλέσει 50% αναστολή του ρυθμού της μείωσης της συγκέντρωσης του NBT στα 560 nm.

3.8.8. Προσδιορισμός οξείδωση λιπαρών οξέων

Ο προσδιορισμός της μαλονοδιαλδεϋδης (MDA) έγινε με τη μέθοδο του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA) (Heath and Packer 1968). Παγωμένος ιστός φύλλου (0.3 gr) ομογενοποιήθηκε σε 4 ml διαλύματος τριχλωροξικού οξέος (TCA) 1% (w/v) με τη βοήθεια ομογενοποιητή (Ultra-Turrax, IKA-Werke, Staufen, Germany) και φυγοκεντρήθηκε επί 10 λεπτά στους 4 °C στα 10.000 g. Το υπερκείμενο (1.5 ml) επωάστηκε με 1.5 ml διαλύματος TCA 20% (w/v) που περιείχε TBA 0.5% (w/v) επί 30 λεπτά στους 95% και έπειτα τοποθετήθηκε γρήγορα σε πάγο. Το μίγμα φυγοκεντρήθηκε επί 10 λεπτά στα 10.000 g και ακολούθησε ανάγνωση της οπτικής πυκνότητας στα 532 nm. Για τον προσδιορισμό της ακριβούς οπτικής πυκνότητας του MDA αφαιρέθηκε η οπτική πυκνότητα στα 600nm. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του MDA, μετρήθηκε χρησιμοποιώντας το μοριακό συντελεστή απορρόφησης των 155 mM⁻¹ cm⁻¹ και εκφράστηκε σε nmol ανά γραμμάριο χλωρού βάρους.

3.8.9. Προσδιορισμός της συγκέντρωσης του H_2O_2

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του H_2O_2 , έγινε σύμφωνα με τη μεθοδολογία που περιγράφεται από τους Loreto and Velikova (2001), με κάποιες μικρές τροποποιήσεις. Ειδικότερα, 0.2 γρ, φυλλικού ιστού λειοτριβήθηκε με γουδί, στους 4°C με 3 ml διαλύματος που περιείχε 0.1% (w/v) TCA και 0.1 γρ. ενεργοποιημένου άνθρακα (charcoal). Το ομογενοποιημένο δείγμα φυγοκεντρήθηκε για 15λεπτά στους 4 °C στα 12.000 γ. Το υπερκείμενο χωρίστηκε σε δύο όμοια δείγματα όγκου 0.5 ml το καθένα και στο ένα από αυτά προστέθηκε 8 μg καταλάσης (blank). Στη συνέχεια, 0,5 ml ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού καλίου 10 mol/L (pH 7.0) και 1 ml ιοδιούχου καλίου 1 mol/L προστέθηκε κα στα δύο παραπάνω δείγματα. Η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας έγινε στα 390 nm και ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του H_2O_2 έγινε με πρότυπη καμπύλη από γνωστές συγκεντρώσεις διαλύματος H_2O_2 . Όλα τα αντιδραστήρια και οι χημικές ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν υψηλής καθαρότητας και προέρχονταν από το εμπόριο.

3.9 Στατιστική Ανάλυση

Στις περισσότερες των περιπτώσεων ο έλεγχος για την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς μεταξύ των παραμέτρων που εξετάστηκαν, έγινε με Duncans t-test. Για τους στατιστικούς ελέγχους, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago,, IL, USA). Για τη γραμμική ή μη γραμμική συσχέτιση μεταξύ των παραμέτρων που εξεταστήκαν και τον καθορισμός του συντελεστή συσχέτισης χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Origin (version 6.00; Microcal Software, Inc., – Northampton, MA 01060 USA).

Κεφάλαιο 4

Η επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας και της μεθοδολογίας συλλογής του ανερχόμενου χυμού στο pH του ανοδικού ρεύματος σε δύο ποικιλίες αμπέλου που καλλιεργήθηκαν σε συνθήκες ξηρασίας



4.1 Περίληψη

Εξετάστηκε η επίδραση των διαφορών στην πίεση και τον χρόνο της δειγματοληψίας στις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού συλλεγόμενο από το μίσχο με τη μέθοδο του θαλάμου πίεσης. Η μελέτη, πραγματοποιήθηκε μετά την έκθεση σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης σε δύο ποικιλίες αμπέλου (*Vitis vinifera* L., ποικιλίες Σαββατιανού και Μαυροδάφνης) διαφοροποιημένης ικανότητας προσαρμογής στην ξηρασία. Τα τρία κλάσματα (I), (II), (III) του ανερχόμενου χυμού που συλλέχθηκαν από κάθε φύλλο αντιστοιχούσαν σε πίεση 1 MPa, 2 MPa και 2.5 MPa, αντίστοιχως. Οι τιμές pH στο κλάσμα (I) ήταν σημαντικά χαμηλότερες από εκείνες στα κλάσματα (II) και (III). Οι τιμές του pH ανερχόμενου ρεύματος στο κλάσμα (III) φαίνεται ότι περιγράφει ακριβέστερα τις τιμές του αποπλαστικού pH στο φύλλο. Ο χρόνος της δειγματοληψίας βρέθηκε ότι επηρεάζει σημαντικά τις τιμές του pH του ανοδικού ρεύματος στον αγωγό ιστό. Ειδικότερα, θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των τιμών του pH του ανερχόμενου χυμού που μετρήθηκε λίγο πριν την ανατολή του ηλίου και του υδατικού ελλείμματος των φυτών. Αντιθέτως, τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού που μετρήθηκαν αργότερα κατά τη διάρκεια της ημέρας (δηλ. στις 8:00, 9:00 και 10:00 π.μ) δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από τη μείωση της διαθέσιμης εδαφικής υγρασίας και στις δύο ποικιλίες. Διαπιστώθηκε επίσης, σημαντικές διαφορές στις τιμές του pH καθώς επίσης και στην ευαισθησία της στοματικής συσκευής στο pH μεταξύ των δύο ποικιλιών. Αυτές οι διαφορές πιθανών σχετίζονται με τη διαφορετική στρατηγική που ακολουθούν οι ποικιλίες της αμπέλου κατά την προσαρμοστική αποτελεσματικότητα τους σε συνθήκες ξηρασίας. Προτείνεται λοιπόν η δειγματοληψία του περιεχομένου του αγωγού ιστού λίγο πριν την ανατολή ηλίου ως η καταλληλότερη περίοδος προς έλεγχο της επίδρασης της υδατικής καταπόνησης στις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού.

4.2 Εισαγωγή

Οι μεταβολές του pH στο ξύλωμα σε σχέση με τη μείωση της διαθέσιμης εδαφικής υγρασίας αποτελεί ένα γνωστό μηχανισμό της φυσιολογικής απόκριση των φυτών στην ξηρασία (Wilkinson and Davies, 2002). Ειδικότερα, η αύξηση του pH του ανοδικού ρεύματος αναφέρεται ότι αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα του μηχανισμού μεταφοράς σημάτων καταπόνησης από τη ρίζα στο βλαστό που οδηγεί στο κλείσιμο των στομάτων ή/και στη μείωση της βλαστικής ανάπτυξης. Οι πιθανές επιδράσεις των μεταβολών του pH του αγωγού ιστού σε συνθήκες έλλειψης νερού περιλαμβάνουν: (i) άμεσες επιδράσεις στη μετακίνηση των ιόντων διά μέσου της πλασματικής μεμβράνης

των καταφρακτικών κυττάρων (ii) αλλαγές στην κατανομή του ABA μέσα στο φύλλο μέσω μεταβολών στις τιμές του αποπ्लाστικού pH (Wilkinson and Davies, 1997; Wilkinson, 1999; Schachtman and Goodger, 2008). Η τελευταία επίδραση στο αποπ्लाστικό pH του μεσόφυλλου, θεωρείται ότι έχει το σημαντικότερο ρόλο στην επαγωγή σημάτων καταπόνησης από τη ρίζα στο βλαστό (Wilkinson et al., 1998; Schachtman and Goodger 2008). Στο παρελθόν, έχει υιοθετηθεί η παραδοχή ότι η σύσταση του ανερχόμενου χυμού στα ξυλώδη αγγεία είναι βασικά η ίδια με εκείνη του αποπ्लाστη στο φύλλο, ή τουλάχιστον ότι η σύσταση του ανερχόμενου χυμού καθορίζει αυτή του αποπ्लाστη στο φύλλο (Ren et al., 2007). Με βάση αυτή την υπόθεση, σε πολλές μελέτες επιχειρήθηκε η συσχέτιση της στοματικής συμπεριφοράς του φύλλου με τις αλλαγές του pH του ανερχόμενου χυμού (Wilkinson and Davies 1997). Ωστόσο, πρόσφατα δεδομένα αποκαλύπτουν ότι τιμές του pH στον αποπ्लाστη του φύλλου, ενώ μπορούν να επηρεάζεται από το pH του ανερχόμενου χυμού στα ξυλώδη αγγεία, στην πραγματικότητα είναι διαφορετικές από τις τιμές του τελευταίου (Hoffmann and Kosergarten 1995; Mühling and Läuchli 2000; Jia and Davies 2007; Ren et al., 2007). Επίσης, έχει βρεθεί ότι εκτός από την έλλειψη νερού στο έδαφος πολλοί άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού. Ειδικότερα, η ένταση του φωτός, το υδατικό έλλειμμα της ατμόσφαιρας και η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσουν το pH του ανοδικού ρεύματος, πιθανών μέσω αλλαγών στη δραστηριότητα των αντλιών πρωτονίων στις μεμβράνες των κυττάρων (Hartung and Radin 1989; Wilkinson and Davies 2002; Jia and Davies 2007). Λαμβάνοντας υπόψη τις γρήγορες μεταβολές των μικροκλιματικών συνθηκών που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ημέρας, η πιθανότητα της επίδρασης του χρόνου της δειγματοληψίας του ανερχόμενου χυμού από τον αγωγό ιστό στη τιμή του pH παραμένει λίγο πολύ ασαφής. Επιπλέον, η επίδραση της ξηρασίας στη τιμή του pH του ανερχόμενου χυμού δεν εμφανίζεται ομοιόμορφη σε όλα τα φυτικά είδη ή ακόμη και ανάμεσα σε διαφορετικούς γενοτύπους του ίδιου είδους (Prokic et al., 2006; Schachtman and Goodger 2008). Το τελευταίο καθιστά δυσκολότερη την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Δυστυχώς δεν υπάρχουν άμεσες και μη καταστρεπτικές μεθοδολογίες για τη μέτρηση του pH του ανερχόμενου χυμού στο ξύλωμα των φυτών. Ο ανερχόμενος χυμός συνήθως συλλέγεται μετά την πίεση των αποκομμένων φύλλων με τη χρησιμοποίηση του θαλάμου πίεσης, έτσι ώστε να παρακαμφθεί η αρνητική πίεση που δημιουργείται στα φύλλα με τη διαπνοή. Το κυριότερο πρόβλημα που ανακύπτει με τη χρήση αυτής

της τεχνικής είναι το γεγονός ότι ο ανερχόμενος χυμός στο σημείο κοπής του μίσχου αποτραβιέται μέσα στο φύλλο κατά την κοπή και ξαναγεμίζει τα αγγεία μετά την εφαρμογή της πίεσης. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή της σύστασης του ανερχόμενου χυμού και εν συνεχεία και των τιμών του pH του, λόγω της ανταλλαγής διαλυτών ουσιών μεταξύ του αποπλάστη και του συμπλάστη (Schurr 1998; Borel and Simonneau 2002). Επιπροσθέτως, τόσο το επίπεδο της εφαρμοσμένης πίεσης (Else et al., 1995; Gollan et al., 1992; Schurr and Schulze 1995) όσο και ο όγκος του δείγματος που συλλέγεται (Liang and Zhang 1997) μπορεί να επηρεάσει την τιμή του pH στον ανοδικό ρεύμα. Προς επίλυση αυτού του προβλήματος προτάθηκε ο κλασματικός διαχωρισμός του ανερχόμενου χυμού και η συλλογή του κατά τμήματα (Borel and Simonneau 2002).

Συνεπώς ο σκοπός αυτού του πειράματος ήταν η εκτίμηση της επίδρασης της μεθοδολογίας δειγματοληψίας και της έντασης ξηρασίας στις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού. Ειδικότερα εξετάστηκαν: (i) Ποια είναι η κατάλληλη μέθοδος συλλογής του ανερχόμενου χυμού που σε σχέση με το χρόνο της δειγματοληψίας και την εφαρμοσμένη πίεση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη των επιδράσεων της ξηρασίας στις τιμές του pH στο ξύλωμα και (ii) Οι αλλαγές του pH του ανερχόμενου χυμού που επάγονται υπό συνθήκες ξηρασίας καθώς και η ευαισθησία των στομάτων στις μεταβολές του pH, δύο ποικιλιών αμπέλου με διαφορετική προσαρμοστική ικανότητα στην ξηρασία.

4.3 Υλικά και Μέθοδοι

4.3.1. Φυτικό υλικό, συνθήκες ανάπτυξης και χειρισμοί

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε πειραματικό σταθμό του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, ο οποίος βρίσκεται στο Αγρίνιο (38°37' N; 21°24' E). Φυτά αμπέλου, ηλικίας 3 ετών (*Vitis vinifera* L., ποικ. Μαυροδάφνη και Σαββατιανό) τοποθετήθηκαν κάτω από αντιχαλαζιακό δίχτυ. Τα φυτά ήταν αυτόριζα και το ριζικό τους σύστημα ήταν τοποθετημένο σε γλάστρες χωρητικότητας 25 lt οι οποίες περιείχαν μίγμα εδάφους άμμου-τύρφης και βερμικουλίτη σε αναλογία 3:1:1:3. Το Σαββατιανό προέρχεται από πιο ξερικές περιοχές (ανατολική Ελλάδα) και θεωρείται πιο προσαρμοστική ποικιλία στην έλλειψη νερού σε σύγκριση με τη Μαυροδάφνη η οποία προέρχεται από τη δυτική Ελλάδα. Στη διάρκεια των πρώτων δύο μηνών μετά την έκπτυξη των οφθαλμών τα φυτά αρδεύονταν ομοιόμορφα σε καθημερινή βάση στην υδατοϊκανότητα του εδάφους. Έπειτα τα φυτά χωρίστηκαν σε δύο ομοιόμορφες ομάδες οι οποίες περιείχαν 20 φυτά η

κάθε μία. Η πρώτη ομάδα συνέχισε να δέχεται καθημερινά νερό άρδευσης (πλήρως αρδευόμενα φυτά, WW), ενώ στη δεύτερη ομάδα η υδατική καταπόνηση επιβλήθηκε με τη διακοπή της άρδευσης για επτά ημέρες (μη αρδευόμενα φυτά, WS). Σε καθημερινή βάση λαμβάνονταν μετρήσεις του υδατικού δυναμικού βάσης (Ψ_{PD}) από εννιά πλήρως ανεπτυγμένα ώριμα φύλλα (εκτός από την τελευταία μέτρηση που πραγματοποιήθηκε σε δώδεκα φύλλα) με τη χρήση θαλάμου πίεσης (βλέπε σελ 73, Υλικά και μέθοδοι). Το υδατικό δυναμικό (Ψ) στις 8:00, 9:00 και 10:00 π.μ μετρήθηκε σε τρία φύλλα κάθε χειρισμού. Η μέγιστη στοματική αγωγιμότητα (g_s) καταγράφονταν καθημερινά στις 9:00 π.μ σε έξι με εννιά φύλλα με τη βοήθεια φορητού οργάνου μέτρησης της φωτοσύνθεσης (βλέπε σελ 76, Υλικά και μέθοδοι). Το ίδιο πείραμα επαναλήφθηκε τρεις φορές κατά τη διάρκεια της περιόδου 2006 και 4 φορές στη διάρκεια της περιόδου 2007. Για το λόγο ότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους τα δεδομένα που παρουσιάζονται εδώ αναφέρονται σ' ένα τυχαίο πείραμα που πραγματοποιήθηκε το 2007.

4.3.2. Μέθοδος συλλογής του ανερχόμενου χυμού και μέτρηση του pH

Η συλλογή του ανερχόμενου χυμού διαχωρίστηκε σε πολλά διαφορετικά κλάσματα με την εφαρμογή διαφορετικών πιέσεων. Πριν τη συλλογή του περιεχομένου του αγωγού ιστού, ο θάλαμος πίεσης τοποθετήθηκε με κατάλληλη κλίση η οποία αποδείχτηκε ότι διευκολύνει αφενός το σχηματισμό ομοιόμορφων σταγόνων και αφετέρου τη συλλογή τους σε φιαλίδια των 1.5 ml (eppendorf), που προσαρμόζονταν στο μίσχο του φύλλου. Η αφαίρεση του ανερχόμενου χυμού από το μίσχο του φύλλου έγινε στα ίδια φύλλα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση του υδατικού δυναμικού σύμφωνα με την ακόλουθη μεθοδολογία: αφού επιτυγχάνονταν η πίεση αντιστάθμισης η επιφάνεια στο σημείο κοπής του μίσχου σκουπίζονταν. Έπειτα, η πίεση αυξανόταν αργά με σταθερό ρυθμό (0.03 MPa/ λεπτό) μέχρι την εμφάνιση των πρώτων σταγόνων στην επιφάνεια κοπής του μίσχου. Οι σταγόνες αυτές απομακρύνονταν για να αποφευχθεί πιθανή πρόσμιξη του περιεχομένου των κυττάρων που υπέστησαν βλάβη στο σημείο κοπής του μίσχου με τον ανερχόμενο χυμό των ξυλωδών αγγείων (Else et al. 1994; 1995; Wilkinson and Davies 1997; Jokhan et al., 1999; Atkinson et al., 2008). Στη συνέχεια, εφαρμόζονταν επιπρόσθετη πίεση η οποία αυξανόταν με σταθερό ρυθμό (5 kPa/δευτερόλεπτο) ώστε να φτάσει είτε στη τιμή του 1 MPa είτε στο σχηματισμό μιας σταγόνας (περίπου 50μλ) η οποία συλλέγονταν. Στην περίπτωση που ο σχηματισμός της μιας σταγόνας συνέβαινε πριν η πίεση φτάσει στα

επίπεδα του 1 MPa, όπως συνήθως συνέβαινε στα φύλλα του μάρτυρα, η περίσσεια αυτής της σταγόνας απορρίπτονταν έτσι ώστε πάντα ο όγκος του συλλέγοντος χυμού να είναι πάντα σταθερός (50 μλ) στην εν λόγω πίεση. Αυτός ο όγκος του συλλεγόμενου ανερχόμενου χυμού αποτελούσε το κλάσμα I. Αμέσως μετά την επίτευξη της νέας ισορροπίας δύο πρόσθετα κλάσματα (II και III) του ανερχόμενου χυμού συλλέχθηκαν τα οποία αντιστοιχούσαν σε πίεση της τάξης των 2 MPa και των 2.5 MPa, αντιστοίχως. Η ποσότητα του ανερχόμενου χυμού που συλλέγονταν ήταν περίπου 100 μλ (2 σταγόνες) για το κλάσμα II και 200 μλ (4 σταγόνες) για το κλάσμα III. Η συνολική ποσότητα του ανερχόμενου χυμού που συλλέχθηκε από κάθε φύλλο, σύμφωνα με την παραπάνω μεθοδολογία, διατηρήθηκε σταθερή γεγονός το οποίο μειώνει την επίδραση του όγκου στον καθορισμό της τιμής του pH. Επιπροσθέτως, με τη διατήρηση σταθερού ρυθμού πίεσης, επιτεύχθηκε σε όλους τους χειρισμούς σχεδόν όμοιο ρυθμό συλλογής του ανερχόμενου χυμού στο ξύλωμα (20 μλ/λεπτό). Οι τιμές του pH κάθε κλάσματος που συλλέγονταν καταγράφονταν άμεσα με τη χρησιμοποίηση μικροηλεκτροδίου (HI 1083, Hanna HI 9026). Οι τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού μετρήθηκαν πριν την ανατολή ηλίου του ηλίου σε έξι με εννέα φύλλα τα οποία συλλέχτηκαν από έξι με εννέα διαφορετικά φυτά ανά χειρισμό. Τρεις τυχαίες μετρήσεις συνιστούσαν μια επανάληψη. Η ίδια μεθοδολογία ακολουθήθηκε και για τη μέτρηση του pH του ανερχόμενου χυμού στις ώρες 8:00, 9:00 και 10:00 π.μ.

4.3.3. Προσδιορισμός του αμπισισικού οξέος (ABA)

Η συγκέντρωση του αμπισισικού οξέος (ABA) μετρήθηκε σε τέσσερα τυχαία φύλλα λίγο πριν την λίγο πριν την ανατολή του ηλίου, τα οποία συλλέχτηκαν από τα φυτά όλων των χειρισμών στην αρχή και στο τέλος της περιόδου υδατικής καταπόνησης. Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις στη συγκέντρωση του ABA στο κλάσμα III του συλλεγόμενου ανερχόμενου χυμού από κάθε φύλλο με τη μεθοδολογία που περιγράφηκε παραπάνω. Η περιεκτικότητα σε ABA στο φύλλο μετρήθηκε στα ίδια φύλλα που χρησιμοποιήθηκαν για τη συλλογή του ανερχόμενου χυμού. Αμέσως μετά την αφαίρεση του ανερχόμενου χυμού από τα φύλλα τα δείγματα (φύλλα και το κλάσμα III του ανερχόμενου χυμού) καταψύχθηκαν με υγρό άζωτο και τοποθετήθηκαν για αποθήκευση στους -80 °C για περαιτέρω ανάλυση. Η εκχύλιση και ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του ABA πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 3 (3.8 Βιοχημικές παράμετροι, 3.8.1 Εκχύλιση και προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φυτοορμονών, σελ 90).

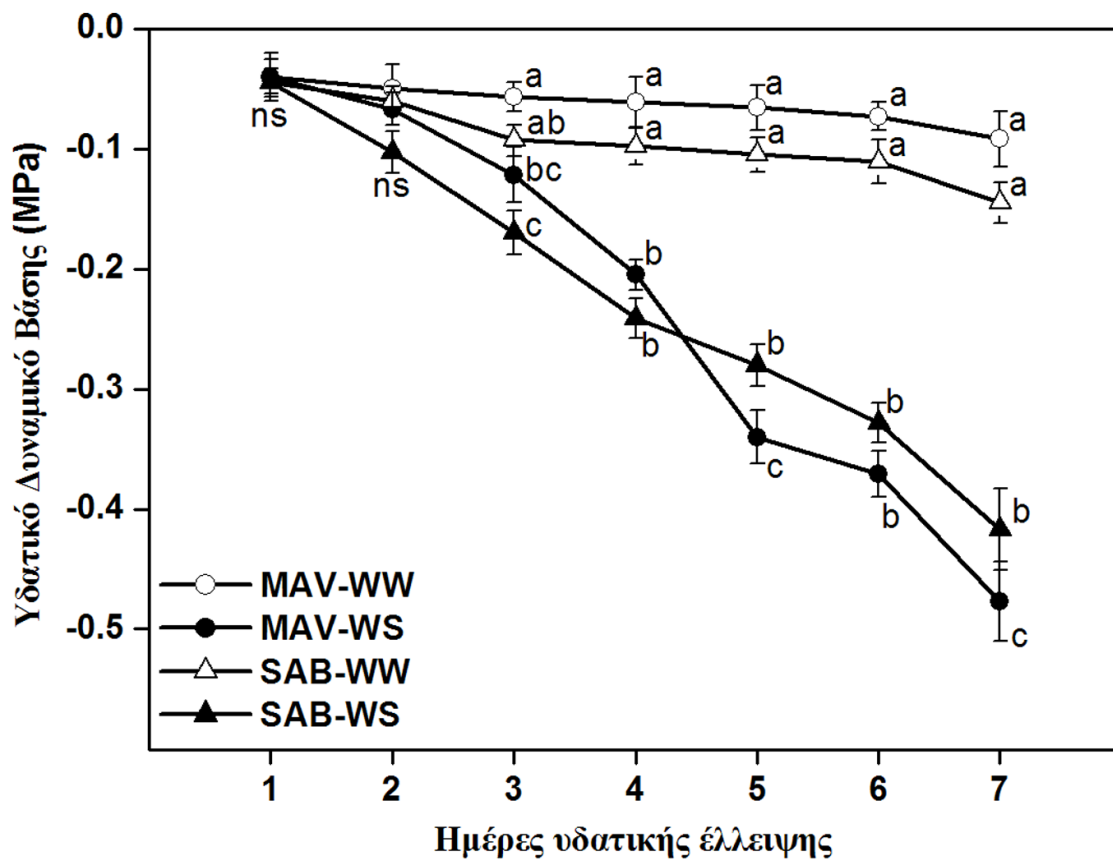
Η συγκέντρωση του ABA εκφράστηκε σε nmol ml^{-1} νερού που περιέχεται στο φύλλο, αφού πρώτα προσδιορίστηκε ο λόγος χλωρό βάρος: ξηρό βάρος για κάθε ποικιλία. Οι μετρήσεις του ABA στο κλάσμα (III) του ανερχόμενου χυμού έγιναν με τη μέθοδο της ELISA χρησιμοποιώντας το Phytodetek kit χωρίς κανένα επιπλέον καθαρισμό του δείγματος. Ο χυμός αραιώθηκε 100 φορές για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του ABA. Τα δείγματα του χυμού έδωσαν υψηλή επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων της μεθόδου για ένα εύρος αραιώσης από 1-100. Σύμφωνα με την παραπάνω μεθοδολογία η ανάκτηση στον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του ABA στα φύλλα και στον ανερχόμενο χυμό βρέθηκε πάνω από 95%.

4.3.4. Στατιστική ανάλυση

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε πλήρες τυχαίοποιημένο σχέδιο. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρησιμοποίηση της μονοπαραγοντικής ανάλυσης της διακύμανσης ή παραλλακτικότητας (one-way ANOVA). Η σύγκριση των μέσων όρων των τιμών του Ψ_{PD} και των συγκεντρώσεων του ABA έγινε με βάση το τεστ Duncan ($P < 0.05$). Η ελάχιστη σημαντική διαφορά (LSD, $P \leq 0.05$) υπολογίστηκε για την εκτίμηση της διαφοράς στις τιμές του PH του κλάσματος III του συλλεγόμενου ανερχόμενου χυμού που μετρήθηκε τις πρωινές ώρες (λίγο πριν την ανατολή του ηλίου) μεταξύ των μελετώμενων χειρισμών. Όλα τα πειραματικά δεδομένα αναλύθηκαν με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS 15.0 για Windows. Η ανάλυση των παλινδρομήσεων και ο προσδιορισμός των συντελεστών συσχέτισης έγιναν με τη χρησιμοποίηση του προγράμματος Origin 6.00 (Microcal Software, Inc.—Northampton, MA 01060 USA).

4.4 Αποτελέσματα

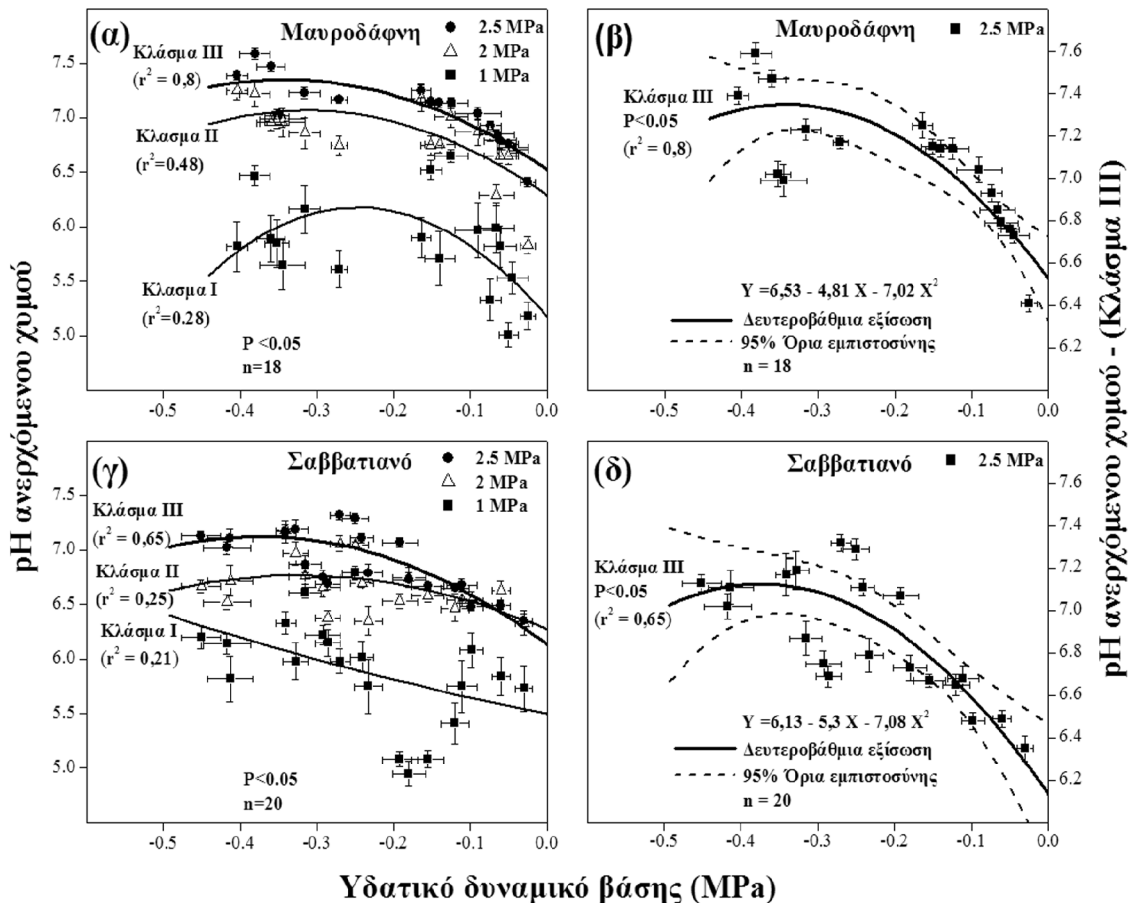
Το υδατικό δυναμικό (Ψ_{PD}) μειώθηκε σταδιακά στα φυτά που υπέστησαν υδατική καταπόνηση και έφτασε στις χαμηλότερες τιμές και στις δύο ποικιλίες στο τέλος της περιόδου ξηρασίας (Εικ. 4.1). Μεταξύ του μάρτυρα (WW) και του χειρισμού της υδατικής καταπόνησης (WS) παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του Ψ_{PD} και στις δύο ποικιλίες ακόμη και από την τρίτη ημέρα εφαρμογής της υδατικής καταπόνησης. Αντίθετα, δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές του Ψ_{PD} μεταξύ των ποικιλιών τις πρώτες τέσσερις ημέρες της περιόδου. Ωστόσο, στο τέλος της περιόδου ξηρασίας τα φυτά της ποικιλίας Σαββατιανό που άνηκαν στο χειρισμό WS διατήρησαν ευνοϊκότερο υδατικό ισοζύγιο σε σύγκριση με τα αντίστοιχα της Μαυροδάφνης όπως αποδεικνύεται από τις υψηλότερες τιμές του Ψ_{PD} (Εικ. 4.1).



Εικόνα 4.1. Μεταβολή του υδατικού δυναμικού βάσης (Ψ_{PD}) στα φύλλα των ποικιλιών Μαυροδάφνης (MAV) και Σαββατιανού (SAB) στους χειρισμούς των πλήρως αρδευόμενων φυτών (WW) και των μη αρδευόμενων (WS) συναρτήσει της χρονικής περιόδου εφαρμογής της υδατικής έλλειψης. Οι τιμές αποτελούν τους μέσους όρους $\pm$ SE από 9-12 μετρήσεις. Οι τιμές που φέρουν το ίδιο γράμμα ανά ημέρα μέτρησης, δε διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P \leq 0.05$ (μέθοδος Duncan). Όπου ns, όχι στατιστικά σημαντικό.

Οι τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού αυξήθηκαν σημαντικά σε σχέση με την εφαρμοζόμενη πίεση (Εικ. 4.2). Ειδικότερα, οι τιμές του pH στο κλάσμα I του συλλεγόμενου ανερχόμενου χυμού ήταν στατιστικά χαμηλότερες συγκριτικά με εκείνες του κλάσματος II, ενώ έτειναν να σταθεροποιηθούν στο κλάσμα III. Επιπροσθέτως, η μείωση του Ψ_{PD} είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση του pH σε όλα τα συλλεγόμενα κλάσματα του ανερχόμενου χυμού στο ξύλωμα. Οι τιμές του pH στο κλάσμα (III) εμφάνισαν σημαντική συσχέτιση με τις μεταβολές του Ψ_{PD} , όπως φαίνεται από τους στατιστικά σημαντικούς συντελεστές συσχέτισης στα φυτά της Μαυροδάφνη

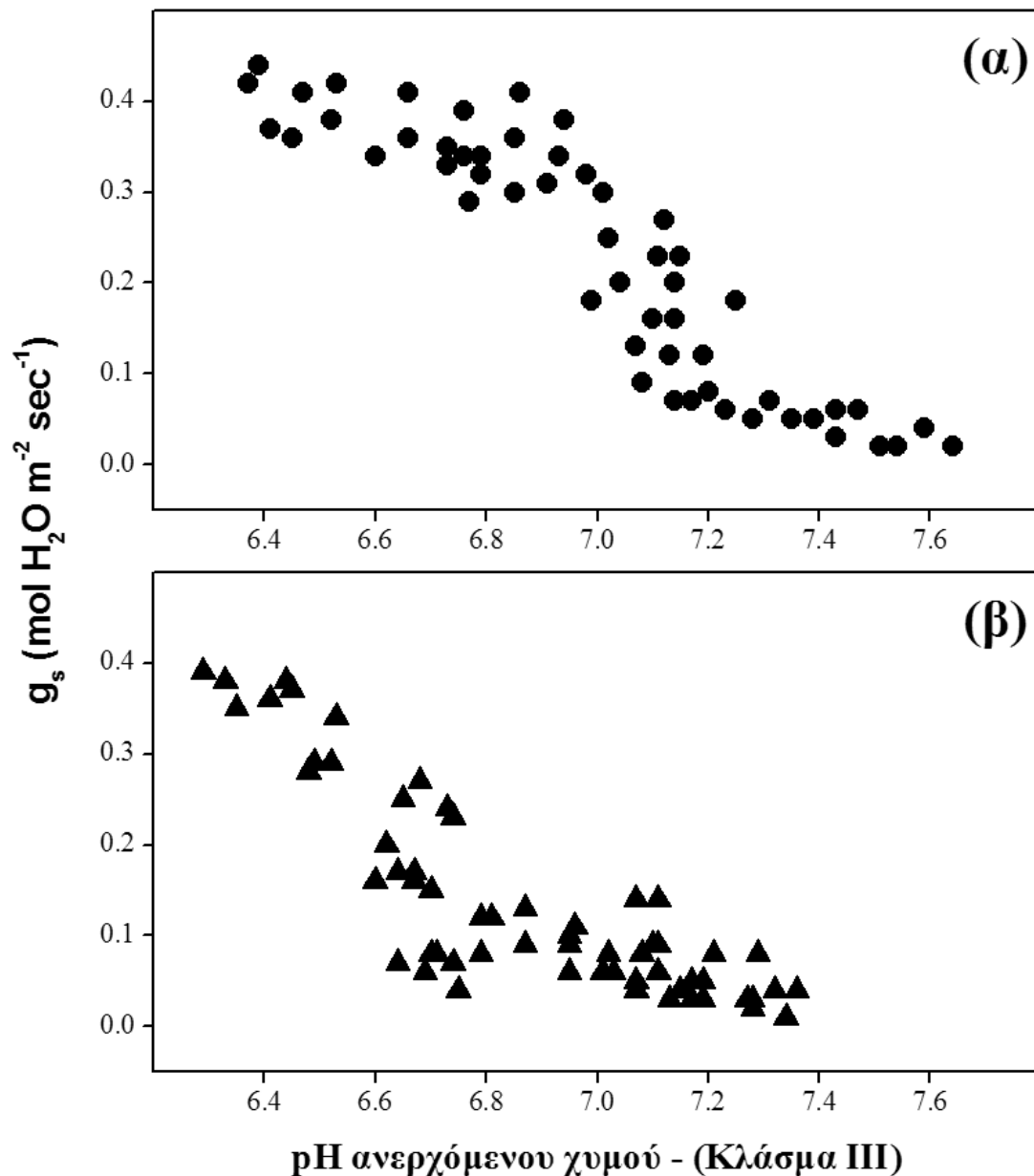
($P \leq 0.05$, $R^2 = 0.8$) και του Σαββατιανού ($P \leq 0.05$, $R^2 = 0.65$) (Εικ. 2β και Εικ. 2δ). Αντίθετα, εκτός από το κλάσμα (II) των φυτών της Μαυροδάφνης ($P \leq 0.05$, $R^2 = 0.48$) δεν υπήρχε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των τιμών του pH των κλασμάτων (I) και (II) και των τιμών του Ψ_{PD} και στις δύο ποικιλίες (βλέπε R^2 και P στην Εικ.4.2).



Εικόνα 4.2. Συμμεταβολή των τιμών του pH του ανερχόμενου χυμού και του υδατικού δυναμικού βάσης (Ψ_{PD}) σε όλα τα κλάσματα (α και β) και στο κλάσμα (III) του συλλεγόμενου χυμού (β και γ) στις δύο ποικιλίες. Κάθε τιμή είναι ο μέσος όρος $\pm$ SE τριών μετρήσεων. Οι διακεκομμένες γραμμές δείχνουν τα όρια εμπιστοσύνης σε $P \leq 0.05$.

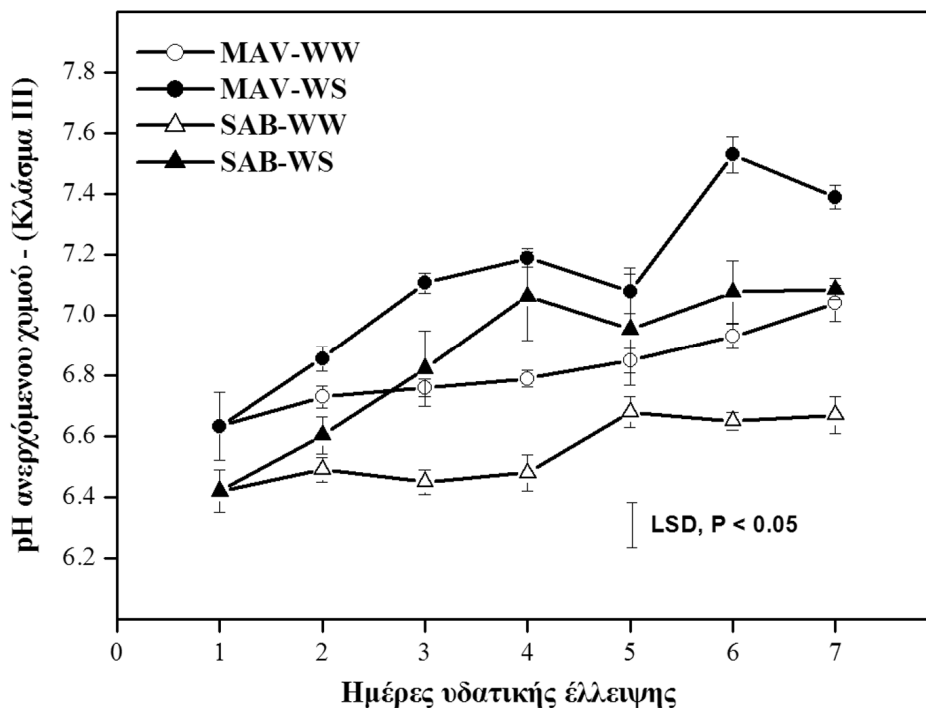
Οι δύο ποικιλίες εμφάνισαν διαφορετικό τύπο συσχέτισης μεταξύ της στοματικής αγωγιμότητας και των τιμών του pH του κλάσματος (III) (Εικ. 4.3) Ειδικότερα, στην ποικιλία Μαυροδάφνη, οι μεταβολές της στοματικής αγωγιμότητας ακολουθούσαν σχεδόν σιγμοειδή καμπύλη. Η στοματική αγωγιμότητα σ' αυτή την ποικιλία παρέμεινε

σχετικώς αμετάβλητη μέχρι το pH να πλησιάσει την τιμή 6.9. Πέρα απ' αυτή την τιμή η στοματική αγωγιμότητα είχε απότομη πτώση (Fig. 4.3α). Από την άλλη πλευρά, η στοματική αγωγιμότητα του Σαββατιανού μειώθηκε σχεδόν γραμμικά σε σχέση με την αύξηση των τιμών του pH από το 6.3 στο 6.9 (Εικ. 3β).



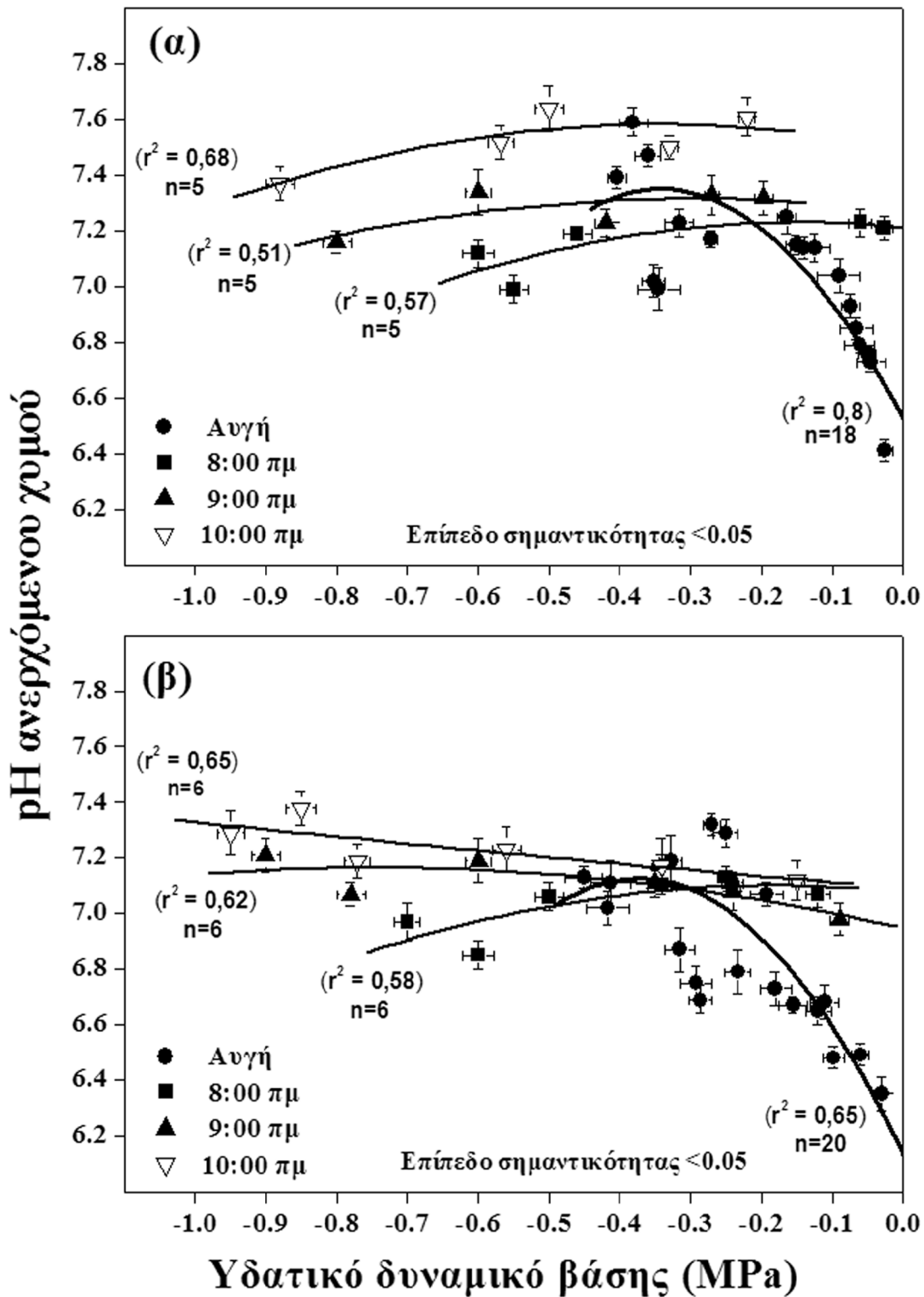
Εικόνα 4.3. Συμμεταβολή της στοματικής αγωγιμότητας (g_s) και των τιμών του pH του κλάσματος (III) του συλλεγόμενου ανερχόμενου χυμού στα μη αρδευόμενα φυτά της Μαυροδάφνης (α) και του Σαββατιανού (β).

Όσον αφορά τη διαφορά μεταξύ των δύο ποικιλιών, η Μαυροδάφνη εμφάνισε σημαντικά μεγαλύτερες τιμές του pH στο κλάσμα (III) σε σύγκριση με το Σαββατιανό και σε συνθήκες υδατικής επάρκειας και σε συνθήκες υδατικής έλλειψης (Fig. 4.4)



Εικόνα. 4.4. Μεταβολή των τιμών του pH του κλάσματος (III) του ανερχόμενου χυμού που μετρήθηκε λίγο πριν την ανατολή ηλίου συναρτήσει της περιόδου υδατικής έλλειψης στα πλήρως αρδευόμενα (○, △) και στα μη αρδευόμενα φυτά (●, ▲) των ποικιλιών Μαυροδάφνης και Σαββατιανού αντίστοιχα. Κάθε τιμή είναι ο μέσος όρος $\pm$ SE έξι έως εννιά μετρήσεων. Η κάθετη μπάρα παριστάνει την ελάχιστη σημαντική διαφορά (LSD) σε $P \leq 0.05$.

Οι τιμές του pH στο κλάσμα (III) στην αρχή της περιόδου υδατικής έλλειψης (λιγότερο αρνητικές τιμές Ψ) ήταν μικρότερες στον ανερχόμενο χυμό που συλλέχτηκε πριν την ανατολή του ηλίου συγκριτικά με εκείνες τις τιμές του pH του χυμού που συλλέχτηκε κατά τη διάρκεια της ημέρας (Εικ. 4.5). Οι παραπάνω διαφορές έτειναν να μειωθούν στο τέλος της περιόδου της υδατικής έλλειψης (περισσότερο αρνητικές τιμές του Ψ). Και στις δύο ποικιλίες, οι τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού που συλλέχτηκε στις 8:00, 9:00 και 10:00 π.μ δεν επηρεάστηκε από την ένταση της υδατικής καταπόνησης.



Εικόνα 4.5 Συμμεταβολή του υδατικού δυναμικού στα φύλλα και των τιμών του pH του ανερχόμενου χυμού στο ξύλωμα που μετρήθηκαν στις 8:00, 9:00 και 10:00 πμ στα φυτά των ποικιλιών Μαυροδάφνη (α) και Σαββατιανό (β). Κάθε τιμή είναι ο μέσος όρος $\pm$ SE τριών μετρήσεων.

Οι συγκεντρώσεις του ABA στο συλλεγόμενο ανερχόμενο χυμό και στο φύλλο αυξήθηκαν σημαντικά σε συνθήκες υδατικής έλλειψης (Πίνακας 4.1). Αμφότερες οι δυο ποικιλίες εμφάνισαν συγκέντρωση ABA στο φύλλο σημαντικά υψηλότερη από εκείνη που βρέθηκε στον ανερχόμενο χυμό του αγωγού ιστού σε συνθήκες υδατικής επάρκειας και υδατικής έλλειψης. Μεταξύ των δύο ποικιλιών δεν υπήρχε καμιά διαφορά στη συγκέντρωση του ABA του ανερχόμενου χυμού. Αντιστρόφως, η συγκέντρωση του ABA στο φύλλο στην ποικιλία Σαββατιανό βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με την αντίστοιχη της ποικιλίας Μαυροδάφνης.

Πίνακας 4.1. Διαφορές στη συγκέντρωση του ABA μεταξύ του ανερχόμενου χυμού του αγωγού ιστού και του φύλλου μεταξύ των δύο ποικιλιών σε συνθήκες επάρκειας νερού και ξηρασίας. Οι τιμές είναι ο μέσος όρος $\pm$ SE τεσσάρων μετρήσεων. Οι διαφορές μεταξύ των χειρισμών οι οποίες είναι στατιστικώς σημαντικές σε $P \leq 0.05$ υποδεικνύεται με διαφορετικά γράμματα που αναγράφονται σε υπερκείμενο επίπεδο.

Χειρισμοί	Ανερχόμενος χυμός (nM)		ABA φύλλου (nM) [*]	
	Μαυροδάφνη	Σαββατιανό	Μαυροδάφνη	Σαββατιανό
Καλώς αρδευόμενα	256 $\pm$ 17.57 ^a	226 $\pm$ 11.77 ^a	665 $\pm$ 87.28 ^b	991 $\pm$ 37.85 ^c
Μη αρδευόμενα	1097 $\pm$ 40.54 ^c	1030 $\pm$ 48.79 ^c	4447 $\pm$ 262.7 ^d	5889 $\pm$ 128.8 ^e

^{*}Στο εκχύλισμα του φύλλου, η συγκέντρωση εκφράζεται σε μονάδες nmol mL⁻¹ νερού που υπάρχει στο φύλλο. Ο λόγος χλωρό βάρος:ξηρό βάρος για την Μαυροδάφνη και το Σαββατιανό ήταν περίπου 3.4:1 και 3.2:1 αντίστοιχα.

4.5 Συζήτηση

Η διαφορά του συντελεστή συσχέτισης μεταξύ του Ψ_{PD} και των τιμών του pH του ανερχόμενου χυμού που ανήκει στο κλάσμα (III) συγκριτικά με τα δύο πρώτα κλάσματα (I, II) (Εικ. 4.2) φανερώνει ό,τι το επίπεδο της εφαρμοζόμενης πίεσης μπορεί να μεταβάλει σημαντικά τη σύνθεση του συλλεγόμενου χυμού. Ειδικότερα, αύξηση στην εφαρμοζόμενη πίεση έχει σαν αποτέλεσμα τη συλλογή αποπ्लाστικού χυμού από το μίσχο, το κεντρικό νεύρο του φύλλου, τις κύριες νευρώσεις, μικρές νευρώσεις και

τελικά από το μεσόφυλλο αντίστοιχα, οι οποίοι εμφανίζουν διαφορετικές τιμές pH (Gabriel and Kesselmeier 1999; Goodger et al., 2005). Επιπροσθέτως, ο όγκος του αποπ्लाστικού χυμού που υπάρχει στον μίσχο, στο κεντρικό νεύρο, στις κυρίως νευρώσεις και στις μικρές νευρώσεις είναι σημαντικά μικρότερος σε σύγκριση με τον όγκο που υπάρχει στο μεσόφυλλο (Borel and Simonneau, 2002). Επομένως, οι μεγάλες διακυμάνσεις των τιμών του pH που παρατηρήθηκαν στα δύο πρώτα κλάσματα (Εικ. 4.2) δείχνουν ότι ο συλλεγόμενος χυμός πιθανόν να αποτελεί ένα μίγμα χυμού προερχόμενου από διαφορετικά σημεία του μίσχου ή του φύλλου. Από την άλλη πλευρά, ο σημαντικά υψηλότερος συντελεστής συσχέτισης του τελευταίου κλάσματος (Κλάσμα III) ενισχύει την άποψη ότι κατά ένα μεγάλο μέρος προέρχεται από το μεσόφυλλο. Στο τελευταίο συνηγορούν και οι υψηλότερες τιμές του pH σ' αυτό το κλάσμα σε σχέση με το σημαντικά υψηλότερο όγκο του συλλεγόμενου χυμού. Κατά συνέπεια, το τελευταίο κλάσμα που συλλέγεται με την προαναφερθείσα μεθοδολογία περιγράφει καλύτερα τις μεταβολές του pH που συμβαίνουν στον αποπλάστη. Αυτό είναι σύμφωνο με την πολύ καλή συσχέτιση που παρατηρήθηκε μεταξύ του pH του κλάσματος (III) του ανερχόμενου χυμού και της στοματικής αγωγιμότητας και στις δύο ποικιλίες (Εικ. 4.3). Έτσι λοιπόν, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο χυμός που συλλέγεται από το μίσχο του φύλλου σε χαμηλές πιέσεις (τα δύο πρώτα κλάσματα) αντικατοπτρίζει καλύτερα τις αλλαγές στη σύσταση του ανοδικού ρεύματος το οποίο εισέρχεται στο φύλλο. Αντίθετα, ο χυμός που συλλέγεται σε υψηλές πιέσεις αντικατοπτρίζει καλύτερα τις αλλαγές στη σύσταση του αποπλάστη του μεσόφυλλου. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται από τους Davies et al. (2002) οι οποίοι κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το pH του κλάσματος του αφαιρούμενου ανερχόμενου χυμού που αντιστοιχούσε στην υψηλότερη εφαρμοζόμενη πίεση αντιπροσώπευε περισσότερο τις τιμές του pH στον αποπλάστη του φύλλου παρά εκείνες του χυμού στο ξύλωμα του φυτού. Οι ερευνητές αυτοί παρατήρησαν ότι το κλάσμα που αντιπροσώπευε περισσότερο τον αποπλάστη του φύλλου συσχετιζόταν στενά με τη στοματική αγωγιμότητα.

Σε επίπεδο μεθοδολογίας υπάρχουν τρία βασικά προβλήματα που έπρεπε να ξεπεραστούν συντείνοντας στην ακριβέστερη μέτρηση-προσδιορισμού του pH του ανερχόμενου χυμού με σκοπό να ερμηνευτούν καλύτερα οι τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού που λαμβάνονται με την πίεση των φύλλων: i) Το ενδεχόμενο της πιθανής «επιμόλυνσης» του συλλεγόμενου ανερχόμενου χυμού από τα κατεστραμμένα κύτταρα στο σημείο κοπής του μίσχου πρέπει να αποκλειστεί (ii) πρέπει να αποτραπεί η

ζημιά των κυττάρων στο μεσόφυλλο ιδιαίτερα στις υψηλές πιέσεις και (iii) Η πιθανή ανάμιξη του αποπ्लाστικού και του συμπλαστικού νερού πρέπει να αποφευχθεί. Στα αποτελέσματα αυτής της εργασίας η επιμόλυνση του συλλεγόμενου ανερχόμενου χυμού στο σημείο κοπής μειώθηκε σημαντικά με την απόρριψη των πρώτων σταγόνων που εμφανίστηκαν με την πίεση του φύλλου. Επιπλέον, η πίεση που εφαρμόστηκε για τη συλλογή του κλάσματος (III) δεν έδειξε να επηρεάζει την ακεραιότητα των κυττάρων στο μεσόφυλλο, γεγονός που επιβεβαιώνεται από τη σημαντικά χαμηλότερη συγκέντρωση του ABA στο κλάσμα (III) σε σύγκριση με τη συγκέντρωση του ABA στα φύλλα (Table 1). Από την άλλη πλευρά, η συνολική ποσότητα του ανερχόμενου χυμού που συλλέχθηκε από το φύλλο και στις δύο ποικιλίες ποτέ δεν ξεπέρασε τα 350μλ τα οποία αντιστοιχούν στο 10% της συνολικής ποσότητας του φύλλου σε νερό. Η εκτιμώμενη ποσότητα νερού που βρίσκεται στον αποπλάστη σε φυτά αμπέλου είναι σημαντικά υψηλότερη, κυμαινόμενη μεταξύ 41 και 52% σε φυτά που υπέστησαν υδατική καταπόνηση και σε φυτά που αρδεύονταν κανονικά, αντιστοίχως (Patakas and Noitsakis 2001). Συνεπώς, η συνολική ποσότητα χυμού που συλλέγεται από το φύλλο αποτελεί ένα μικρό μόνο κομμάτι του αποπλάστη, γεγονός που αποκλείει την πιθανότητα λήψης συμπλαστικού νερού.

Εκτός από την έλλειψη διαθέσιμου νερού στο έδαφος, μεταβολές στο μικροκλίμα των φύλλων μπορούν επίσης να επηρεάσουν τις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού στο ξύλωμα (Davies et al., 2002; Wilkinson and Davies 2008). Έχει προταθεί ότι οι τιμές του αποπ्लाστικού pH μπορεί να είναι αποτέλεσμα της συνδυασμένης επίδρασης των μεταβολών του pH που συμβαίνουν στις ρίζες και στα φύλλα. Η αλλαγή στην τιμή του pH του ανερχόμενου χυμού στις ρίζες θεωρείται ότι ρυθμίζεται κυρίως από τη διαθεσιμότητα του νερού στο έδαφος, ενώ οι αλλαγές του pH στα φύλλα πιθανών να σχετίζονται με τις μικροκλιματικές συνθήκες (Wilkinson and Davies 2008). Συνεπώς μπορεί να θεωρηθεί ότι οι τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού που καταγράφονται πριν την ανατολή του ηλίου (όταν η επίδραση των μικροκλιματικών συνθηκών είναι μικρή) μπορούν να καλύτερα ανταποκρίνονται σε μεταβολές της διαθέσιμης εδαφικής υγρασίας. Πράγματι, τα αποτελέσματα μας δείχνουν μια στενή σχέση μεταξύ των τιμών του pH του ανερχόμενου χυμού και της εδαφικής υγρασίας (Εικ. 4.5). Η παρατηρούμενη αύξηση των τιμών του pH με την αύξηση της ξηρασίας στο έδαφος θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα της μειωμένης δραστηριότητας των αντλιών πρωτονίων (H^+ - ATPases) στις μεμβράνες των κυττάρων που βρίσκονται σε επαφή με το ξυλώδη αγγεία υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Hartung and Radin 1989; Wilkinson

1999; Jia and Davies 2007). Ωστόσο, ο αναφερόμενος παραπάνω μηχανισμός μπορεί να μην είναι ο μόνος που μπορεί να συντελεί στην αύξηση του pH στον ανερχόμενο χυμό. Ειδικότερα η αύξηση της ενεργότητας της νιτρικής ρεδουκτάσης στις ρίζες, η οποία προκαλεί τη μεγαλύτερη συγκέντρωση των οργανικών οξέων (π.χ. μηλικό οξύ) στο ξύλωμα (Bahrun et al., 2002; Dodd et al., 2003; Liu et al., 2005; Wilkinson et al., 2007) συνδέεται με την αύξηση του pH. Τα οργανικά οξέα μπορούν να αυξήσουν το pH στον ανερχόμενο χυμό του αγωγού ιστού με την μεταφορά τους στο συμπλάστη με την ταυτόχρονη λήψη πρωτονίων (Wilkinson and Davies 2002).

Η έκθεση των φυτών σε συνθήκες υψηλής ακτινοβολίας (PPFD), υψηλού υδατικού ελλείμματος της ατμόσφαιρας (VPD) και θερμοκρασίας (Wilkinson and Davies 2002; Wilkinson 2004) μπορεί να προκαλέσει αύξηση στις τιμές του pH στον ανερχόμενο χυμό. Ανάμεσα σ' αυτές τις παραμέτρους, η θερμοκρασία θεωρείται ότι παίζει κυρίαρχο ρόλο (Wilkinson and Davies 2008). Έχει αναφερθεί ότι οι υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να αυξήσουν τις τιμές του pH είτε με την αύξηση της απομάκρυνσης του CO₂ από τον αποπλάστη μέσω της φωτοσύνθεσης, είτε μέσω της αύξησης της απορρόφησης των σακχάρων στο φλοίωμα (Wilkinson and Davies 2008; Savchenko et al., 2000). Στα αποτελέσματα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εργασία, οι τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού που καταγράφηκαν αργότερα κατά τη διάρκεια της ημέρας (δηλ. σε περισσότερο δυσμενείς μικροκλιματικές συνθήκες) ήταν σημαντικά υψηλότερες συγκριτικά με εκείνες που μετρήθηκαν λίγο πριν την ανατολή του ηλίου στην αρχή της περιόδου της υδατικής έλλειψης (Εικ. 4.5). Σε συνθήκες επάρκειας εδαφικής υγρασίας είναι προφανής η σημαντική επίδραση των μικροκλιματικών συνθηκών στις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού. Αυτό συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Stoll et al. (2000) οι οποίοι έδειξαν σε αρδευόμενα φυτά αμπέλου σημαντική αύξηση του pH του ανοδικού ρεύματος, σε δείγματα που συλλέχτηκαν αργά μέσα στην ημέρα συγκριτικά με άλλα που συλλέχτηκαν νωρίς το πρωί. Επιπλέον, θα ήταν αναμενόμενο οι τιμές του pH μέσα στην ημέρα να αυξάνουν με τη μείωση της διαθεσιμότητας σε νερό του εδάφους. Ωστόσο, αυτό δεν συνέβαινε στα αποτελέσματα μας, όπου οι τιμές του pH που μετρήθηκαν κατά τη διάρκεια της ημέρας παρέμειναν σχετικά αμετάβλητες σε σχέση με την έλλειψη νερού στα φυτά (Εικ. 4.5). Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι οι μεταβολές στις μικροκλιματικές συνθήκες επιφέρουν αλλαγές στις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού οι οποίες επικαλύπτουν εκείνες που προκαλούνται από την έλλειψη νερού στο έδαφος. Αυτή η φανερή "κυριαρχία" των μικροκλιματικών παραμέτρων στην ημερήσια διακύμανση των τιμών

του pH του ανερχόμενου χυμού μπορεί επίσης να εξηγήσει την απουσία των διαφορών στις τιμές του pH σε δύο ποικιλίες αμπέλου υπό διαφορετικές υδατικές δόσεις (Rodrigues et al., 2008). Είναι πιθανό ότι αλλαγές του pH λόγω υδατικής καταπόνησης να έχουν παραβλεφθεί στην παραπάνω εργασία, εξαιτίας του γεγονότος ότι δεν διεξαχθήκαν μετρήσεις των τιμών του pH του ανερχόμενου χυμού πριν την ανατολή του ηλίου. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο χρόνος της δειγματοληψίας παίζει σπουδαίο ρόλο στην ερμηνεία των μετρούμενων τιμών του pH στον ανερχόμενο χυμό των φυτών. Ειδικότερα, οι τιμές του pH που μετρήθηκαν πριν την ανατολή ηλίου, σε αντίθεση με εκείνες που μετρήθηκαν κατά τη διάρκεια της ημέρας, φαίνεται να συσχετίζονται καλύτερα με την διαθεσιμότητα του νερού στο έδαφος. Από μεθοδολογικής απόψεως, τα παραπάνω αποτελέσματα εισηγούνται ότι η πιο κατάλληλη χρονική περίοδος για τη δειγματοληψία με σκοπό την καλύτερη διάκριση της επίδρασης της υδατικής καταπόνησης στο pH του ανιόντος χυμού είναι πριν την ανατολή ηλίου. Διαπιστώνεται ότι οι αλλαγές στο pH του ανερχόμενου χυμού στο αμπέλι που συμβαίνουν ως απόκριση στην υδατική καταπόνηση είναι σπουδαιότερες από ό,τι πιστευόταν μέχρι σήμερα κυρίως λόγω των διαφορετικών μεθοδολογιών που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό τους.

Εκτός από τις μικροκλιματικές συνθήκες τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εργασία αποκαλύπτουν σημαντικές διαφορές στο pH του ανερχόμενου χυμού μεταξύ γενοτύπων (Εικ. 4.4). Οι διαφορές στις τιμές του pH μπορεί να σχετίζονται με την ικανότητα των φυτών να προσαρμοστούν σε συνθήκες ξηρασίας, αφού όπως είναι γνωστό οι μεταβολές στο pH του ανερχόμενου χυμού μπορεί να ρυθμίζουν την στοματική απόκριση στο ABA που προέρχεται από τη ρίζα (Slovic and Hartung 1992a; 1992b; Wilkinson and Davies 2002; Wilkinson 2004). Η Μαυροδάφνη θεωρείται περισσότερο ευαίσθητη ποικιλία αμπέλου στην υδατική καταπόνηση σε σύγκριση με το Σαββατιανό. Θα ήταν αναμενόμενο να έχει αναπτύξει μηχανισμούς γρήγορης απόκρισης στη μείωση της διαθεσιμότητας του νερού στο έδαφος. Πράγματι, στη Μαυροδάφνη ακόμη και μικρές αλλαγές στο pH του αγωγού ιστού (από 6.9 σε 7.2) μπορεί να προκαλέσουν σημαντική μείωση της στοματικής αγωγιμότητας (Εικ. 4.3), γεγονός που δείχνει μεγάλη ευαισθησία της στοματικής συσκευής στο pH του ανερχόμενου χυμού. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η υδατική καταπόνηση στα φυτά μπορεί να προκαλέσει αύξηση στις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού, η υψηλότερη στοματική ευαισθησία μπορεί να θεωρηθεί ως ένας αποτελεσματικός μηχανισμός, προσφέροντας στα φυτά αυτής της ποικιλίας την ικανότητα της γρήγορης μείωσης της

στοματικής αγωγιμότητας ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις ABA (ουσιαστικά χωρίς να μεταβληθούν) στο φύλλο (Πίνακας 4.1) (Jia and Davies 2007; Heilmeyer et al., 2007). Από την άλλη πλευρά, το Σαββατιανό εμφάνισε σημαντικά χαμηλότερη στοματική ευαισθησία στην αύξηση του pH του ανερχόμενου χυμού όπως φαίνεται και από το ευρύτερο φάσμα των τιμών του pH στις οποίες έλαβε χώρα το κλείσιμο των στομάτων (Εικ. 4.3). Επιπλέον, το αρχικό κλείσιμο των στομάτων πραγματοποιήθηκε σε τιμές του pH παρόμοιες με εκείνες που εμφάνιζαν τα πλήρως αρδευόμενα φυτά. Το γεγονός αυτό εισηγείται ότι η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας στα μη αρδευόμενα φυτά του Σαββατιανού δεν θα μπορούσε να αποδοθεί εξ ολοκλήρου σε αλλαγές στις τιμές του pH. Ωστόσο, η ερμηνεία ότι η στοματική ρύθμιση ελέγχεται μόνο από το pH του αποπλάστη θεωρείται ως υπεραπλούστευση (Soar et al., 2004). Δεδομένου ότι πληθώρα άλλων σημάτων όπως υδραυλικά (εμβολισμός), χημικά ακόμη και ηλεκτρικά είναι γνωστό ότι μπορούν να συμμετέχουν στο κλείσιμο των στομάτων σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Pou et al., 2008; Shen et al., 2008). Είναι πιθανόν ότι διαφορές ως προς το κυρίαρχο σε κάθε περίπτωση σήμα καταπόνησης μπορεί να υφίστανται μεταξύ των ποικιλιών της αμπέλου επηρεάζοντας την ικανότητα προσαρμογής τους στην ξηρασία.

4.6 Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η μεθοδολογική προσέγγιση προς ακριβή εκτίμηση και ερμηνεία των τιμών του pH του ανερχόμενου χυμού που λαμβάνεται με την εφαρμογή πίεσης στα φύλλα αμπέλου. Τα αποτελέσματά μας τείνουν να επιβεβαιώσουν ότι τα κλάσματα που συλλέγονται σε χαμηλές πιέσεις (κλάσμα I και II) αντικατοπτρίζουν καλύτερα αλλαγές στη σύσταση του ανοδικού ρεύματος που εισέρχεται στο φύλλο. Ενώ αντίθετα τα κλάσματα του ανερχόμενου χυμού που συλλέγονται σε υψηλές πιέσεις αντικατοπτρίζουν αλλαγές στη σύσταση του αποπλάστη του φύλλου. Επιπροσθέτως, βρέθηκε ότι ο χρόνος της δειγματοληψίας μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού. Είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται οι μετρήσεις του pH του ανερχόμενου χυμού που λαμβάνουν χώρα πριν την ανατολή ηλίου, γιατί αντικατοπτρίζουν ακριβέστερα τις επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης στο pH του αποπλάστη. Επιπλέον, τα αποτελέσματα δείχνουν σημαντικές διαφορές στις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού και της στοματικής ευαισθησίας μεταξύ διαφορετικών γενοτύπων της αμπέλου οι οποίες πιθανόν σχετίζονται με την διαφορετική προσαρμοστική ικανότητα τους στην ξηρασία.

Κεφάλαιο 5

Διαφορές στη ρύθμιση της στοματικής λειτουργίας και στη μεταφορά σημάτων καταπόνησης από τη ρίζα στο βλαστό μεταξύ δύο ποικιλιών της αμπέλου που τέθηκαν σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης



5.1 Περίληψη

Μελετήθηκε η μεταβολή της στοματικής αγωγιμότητας μεταξύ δυο ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L., ποικ. Σαββατιανό και Μαυροδάφνη), που έχουν διαφορετική ικανότητα προσαρμογής στην ξηρασία με τη χρήση αυτόριζων φυτών ηλικίας τριών ετών. Τα φυτά αυτά υπεβλήθησαν σε υδατική καταπόνηση με την παρακράτηση του νερού άρδευσης. Η συσχέτιση μεταξύ του υδατικού δυναμικού βάσης και της μέγιστης στοματικής αγωγιμότητας, έδειξε σημαντικές διαφορές ως προς την στοματική ευαισθησία μεταξύ των δύο ποικιλιών. Ειδικότερα το κλείσιμο των στομάτων πραγματοποιήθηκε σε υψηλότερες τιμές του υδατικού δυναμικού βάσης στα φυτά του Σαββατιανού σε σύγκριση με τα φυτά της Μαυροδάφνης. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην υδραυλική αγωγιμότητα των φυτών και στο οσμωτικό δυναμικό σε πλήρη σπαργή (π_{100}) μεταξύ των δύο ποικιλιών. Οι συγκεντρώσεις του αμπισισσικού οξέος (ABA) στο φύλλο και στη ρίζα αυξάνονται ταχύτερα στα φυτά της Μαυροδάφνης σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού στην αρχή της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής έλλειψης. Επιπλέον, τα φυτά της Μαυροδάφνης παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερες τιμές στο pH του ανερχόμενου χυμού (pH αποπλάστη), μεγαλύτερη ευαισθησία της στοματικής συσκευής στην αύξηση του ABA και του pH σε σχέση με το Σαββατιανό. Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν διαφορετικές στρατηγικές προσαρμογής των δύο ποικιλιών σε συνθήκες ξηρασίας. Ειδικότερα η μεγαλύτερη προσαρμοστική ικανότητα στην ξηρασία των φυτών της ποικιλίας Σαββατιανό θα μπορούσε να αποδοθεί στην πιο αποτελεσματική ρύθμιση της λειτουργίας της στοματικής συσκευής. Από την άλλη πλευρά, τα χημικά σήματα που επάγονται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης φαίνονται να αποτελούν τον κυριότερο μηχανισμό της προσαρμογής των φυτών της ποικιλίας Μαυροδάφνη στην ξηρασία.

5.2 Εισαγωγή

Οι ποικιλίες της αμπέλου χαρακτηρίζονται από υψηλή ετερογένεια απόρροια της ανάπτυξης τους σε ευρύ φάσμα κλιματικών συνθηκών από τα ψυχρά κλίματα που βρίσκονται σε γεωγραφικό πλάτος 50°, έως το ξηρό μεσογειακού τύπου κλίμα (Schultz 2003). Αυτή η παραλλακτικότητα του περιβάλλοντος θεωρείται ότι επηρεάζει την πλαστικότητα των μηχανισμών προσαρμογής οδηγώντας σε μεγάλες γενοτυπικές διαφορές όσον αφορά την προσαρμοστικότητα τους στην ξηρασία (Duan et al., 2007). Γενικά, οι ποικιλίες που προέρχονται από πιο ξηρά περιβάλλοντα θεωρούνται πιο προσαρμοστικές στην έλλειψη νερού, σε σύγκριση με εκείνες που προέρχονται από

περιβάλλοντα με υψηλότερη διαθεσιμότητα υγρασίας οι οποίες θεωρούνται περισσότερο ευαίσθητες (Schultz 2003). Πιστεύεται ότι οι παραπάνω διαφορές σχετίζονται στενά με τους διαφορετικούς μηχανισμούς που χρησιμοποιούνται από κάθε ποικιλία με σκοπό να ανταπεξέλθουν στις συνθήκες ξηρασίας. Επιπλέον, προβλεπόμενα σενάρια της κλιματικής αλλαγής κατά τις επόμενες δεκαετίες περιλαμβάνουν υπερθέρμανση του πλανήτη και αλλαγές στην ποσότητα, εποχικότητα και στην κατανομή των κατακρημνίσεων. Η προβλεπόμενη αύξηση της έντασης και της διάρκειας των περιόδων ανομβρίας ειδικά στη μεσογειακή ζώνη, αναμένεται να οδηγήσει σε εκτεταμένα και έντονα ακραία γεγονότα ξηρασίας (Rodrigues et al., 2008). Συνεπώς, η εκτίμηση των διαφορετικών μηχανισμών προσαρμογής στην ξηρασία μεταξύ των ποικιλιών της αμπέλου θεωρείται μείζονος σημασίας.

Η ρύθμιση της στοματικής συσκευής αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στην ικανότητα των ποικιλιών αμπέλου να ανταπεξέρχονται στις συνθήκες υδατικής έλλειψης (Schultz 2003; Soar et al., 2004). Η ρύθμιση του κλεισίματος των στομάτων σε συνθήκες ξηρασίας είναι πολύπλοκο και πολυπαραγοντικό φαινόμενο στο οποίο εμπλέκονται υδραυλικά, χημικά ακόμη και ηλεκτρικά σήματα (Soar et al., 2004; Pou et al., 2008). Γενικά είναι αποδεκτό ότι η φυτορμόνη του αμπισισικού οξέος (ABA) είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που συμμετέχουν στον έλεγχο της στοματικής αγωγιμότητας καθώς μειώνεται η διαθέσιμη ποσότητα νερού στο έδαφος (Wilkinson and Davies 2002). Ωστόσο, προηγούμενες μελέτες που έγιναν σε φυτά αμπέλου που υποβλήθηκαν σε διαφορετική υδατική δίαιτα έδειξαν σημαντική παραλλακτικότητα των αποτελεσμάτων όσον αφορά τη σχέση της στοματικής αγωγιμότητας και της συγκέντρωσης του ABA. Ειδικότερα, η στοματική αγωγιμότητα βρέθηκε να συσχετίζεται στενά με τη συγκέντρωση του ABA στον ανερχόμενο χυμό του αγωγού ιστού, όταν οι μετρήσεις έλαβαν χώρα τις πρώτες πρωινές ώρες, ενώ δεν υπήρχε συσχέτιση κατά τη διάρκεια της ημέρας (Correia et al., 1995). Επιπροσθέτως, η συγκέντρωση του ABA στο ξύλωμα του βλαστού κατά τη διάρκεια του περκασμού βρέθηκε να μη σχετίζεται με τον έλεγχο της στοματικής συσκευής σε φυτά αμπέλου που αναπτύσσονταν σε συνθήκες αγρού, ενώ αντίθετα ήταν εμφανής κατά την ωρίμανση της σταφυλής (Rodrigues et al., 2008). Πρόσφατα, ο Lovisolo et al., (2002) χρησιμοποιώντας φυτά αμπέλου τοποθετημένα σε γλάστρες έδειξε ότι η συγκέντρωση του ABA στο φύλλο ασκεί σημαντική επίδραση στη στοματική λειτουργία κατά τη διάρκεια υδατικής έλλειψης. Αυτά τα αποτελέσματα, αν και διαφέρουν, δεν αντιφάσκουν μεταξύ τους κατ' ανάγκη, λαμβάνοντας υπόψη ότι χρησιμοποιήθηκαν

διαφορετικές μεθοδολογίες για τη διάκριση του πιθανού ρόλου που έχει το ABA στη στοματική ρύθμιση. Πράγματι, σε μερικές απ' αυτές τις μελέτες η συγκέντρωση του ABA στον ανερχόμενο χυμό θεωρήθηκε ως ακριβέστερη τεχνική στη διερεύνηση της επίδρασης του ABA στη στοματική αγωγιμότητα, ενώ σε άλλες μελέτες χρησιμοποιήθηκε η συγκέντρωση του ABA στα φύλλα. Επιπλέον στην υπάρχουσα βιβλιογραφία υπάρχουν σημαντικές διαφορές τόσο στο χρόνο δειγματοληψίας, όσο και στην ένταση της υδατικής καταπόνησης, οι οποίες πιθανόν να επηρεάζουν τις τιμές του ABA, κάνοντας την ερμηνεία των αποτελεσμάτων ακόμη πιο δύσκολη (Borel et al. 1997). Συνεπώς, ο πιθανός ρόλος του ABA στην προσαρμογή των διαφορετικών ποικιλιών αμπέλου στην ξηρασία παραμένει λίγο έως πολύ ασαφής. Από την άλλη πλευρά, σε πολλές δημοσιεύσεις η ύπαρξη υδραυλικού ελέγχου θεωρείται επίσης σημαντική στη λειτουργία της στοματικής συσκευής (Lovisolo et al., 2002; Soar et al., 2004). Μελέτες που έγιναν σε δύο ποικιλίες αμπέλου (Grenache και Syrah) απέδωσαν τη διαφορετική τους στοματική ευαισθησία στην ξηρασία σε διαφορές στην υδραυλική τους αγωγιμότητα (Schultz 2003). Προτάθηκε επίσης ότι σε πολλές περιπτώσεις, οι οποίες εξαρτώνται από την ποικιλία και/ή τις πειραματικές συνθήκες, ενδέχεται να κυριαρχούν οι υδραυλικοί παράγοντες στον έλεγχο της στοματικής συσκευής (Comstock 2002; Rodrigues et al., 2008). Κατά συνέπεια, απομένει να διερευνηθεί η υπόθεση της ύπαρξης διαφορών μεταξύ των ποικιλιών της αμπέλου που αφορά το μηχανισμό του ελέγχου της στοματικής λειτουργίας καθώς επίσης και η υπόθεση ότι αυτές οι διαφορές σχετίζονται με την προσαρμοστική τους ικανότητα στην ξηρασία.

Επομένως, σκοπός αυτής του πειράματος ήταν η αξιολόγηση της σχετικής συμβολής είτε των υδραυλικών παραγόντων, είτε των χημικών σημάτων στη ρύθμιση της στοματικής συμπεριφοράς σε δύο ποικιλίες αμπέλου που διαφέρουν στην προσαρμοστική τους ικανότητα σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.

5.3 Υλικά και Μέθοδοι

5.3.1. Φυτικό υλικό και χειρισμοί

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια δύο διαδοχικών καλλιεργητικών περιόδων (2006 και 2007) στον πειραματικό σταθμό του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων που εντοπίζεται στο Αγρίνιο. Χρησιμοποιήθηκαν αυτόριζα φυτά ηλικίας τριών ετών, δύο ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L., ποικ. Σαββατιανό και Μαυροδάφνη) που εμφυτευμένα σε γλάστρες όγκου 25 L τοποθετήθηκαν κάτω από αντιχαλαζιακό δίχτυ σε συνθήκες αγρού. Το εδαφικό υπόστρωμα στις γλάστρες αποτελούνταν από μίγμα

εδάφους, άμμου, τύρφης και βερμικουλίτη (30%, 10%, 30% and 30% ανά όγκο, αντίστοιχα), ενώ οι γλάστρες ήταν τυλιγμένες με αλουμινόχαρτο για να μειωθεί η θέρμανση του ριζικού συστήματος που προκαλείται από την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας. Τα φυτά κλαδεύονταν στον ένα οφθαλμό. Μετά την εκβλάστηση των οφθαλμών, ο μοναδικός αναπτυσσόμενος βλαστός από κάθε φυτό διαμορφώνονταν κάθετα, ενώ οι πλάγιοι βλαστοί και οι σχηματιζόμενες ταξιανθίες απομακρύνονταν αμέσως μετά το σχηματισμό τους. Στη διάρκεια των δύο πρώτων μηνών τα φυτά αρδεύονταν ομοιόμορφα σε καθημερινή βάση στην υδατοϊκανότητα του εδάφους. Στη συνέχεια, τα φυτά της κάθε ποικιλίας χωρίζονταν σε δύο ομοειδείς ομάδες που κάθε μία αποτελούνταν από 40 φυτά όμοιας φυλλικής επιφάνειας. Δύο διαφορετικές υδατικές δίαιτες εφαρμόστηκαν σε κάθε ομάδα για περίοδο 24 ημερών. Ειδικότερα, η πρώτη ομάδα κάθε ποικιλίας αρδεύονταν κάθε τρεις ημέρες στην υδατοϊκανότητα του εδάφους (πλήρως αρδευόμενα φυτά; WW), ενώ η δεύτερη δέχονταν ελλειμματική άρδευση που αντιστοιχούσε στη μισή ποσότητα που δινόταν στα φυτά του μάρτυρα στην ίδια συχνότητα (DI). Έπειτα από την περίοδο ξηρασίας που εφαρμόστηκε και διήρκεσε 24 ημέρες, τα φυτά που υποβλήθηκαν σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης αρδεύονταν πλήρως στην υδατοϊκανότητα του εδάφους. Το ίδιο πείραμα επαναλήφθηκε τρεις φορές κατά τη διάρκεια του 2006 και τρεις φορές κατά τη διάρκεια του 2007.

5.3.2. Υδατικές σχέσεις και ανταλλαγή αερίων

Αισθητήρες υγρασίας εδάφους (Echo EA-10, Decagon Devices, Pullman, USA) τοποθετήθηκαν σε τρεις γλάστρες κάθε χειρισμού, προκειμένου να καταγράφεται συνεχώς η κατ' όγκο περιεκτικότητα του νερού του εδάφους (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι, σελ. 71). Το υδατικό δυναμικό βάσης (Ψ_{PD}) του φύλλου και το υδατικό δυναμικό μεσημβρίας (Ψ_{MD}) μετρήθηκε με θάλαμό πίεσης (βλέπε Κεφ. 3 σελ 73) κάθε τρεις ημέρες (εννιά φορές στη διάρκεια της περιόδου ξηρασίας που αντιστοιχούσαν στις ημέρες (1,3,6,9,12,15,18,21,24), πριν την άρδευση, σε έξι πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα ανά χειρισμό που συλλέγονταν από διαφορετικά φυτά. Το ωσμωτικό δυναμικό σε πλήρη σπαργή (π_{100}) προσδιορίστηκε επίσης σε έξι φύλλα ανά χειρισμό στο τέλος του κύκλου της ξηρασίας χρησιμοποιώντας την τεχνική της πίεσης-όγκου (Patakas et al., 2003). Η μέγιστη στοματική αγωγιμότητα (g_s), ο φωτοσυνθετικός ρυθμός (P_N) και ο διαπνευστικός ρυθμός μετρήθηκαν σε καθημερινή βάση από τις 9:00 έως τις 10:00 π.μ σε κορεσμένης έντασης φωτός ($PPFD \geq 1100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), σε έξι φύλλα ανά χειρισμό με τη βοήθεια φορητού οργάνου μέτρησης της φωτοσύνθεσης (βλέπε Κεφ 3, σελ 78).

Τα φύλλα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των παραμέτρων της ανταλλαγής αερίων επιλέγονταν από τα ίδια φυτά στα οποία πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις του υδατικού δυναμικού των φύλλων. Η υδραυλική αγωγιμότητα του φυτού (K_1) υπολογίστηκε από το νόμο της αναλογίας του Ohm για τη συνέχεια του εδάφους – φυτού – ατμόσφαιρας (Lovisolo et al., 2002; Pou et al., 2008):

$$E = K_1 \times (\Psi_{\text{soil}} - \Psi_{\text{leaf}})$$

Όπου E , Ψ_{leaf} και Ψ_{soil} είναι ο διαπνευστικός ρυθμός, το υδατικό δυναμικό του φύλλου και το υδατικό δυναμικό του εδάφους, αντίστοιχα. Το Ψ_{PD} θεωρήθηκε ισοδύναμο με το Ψ_{soil} και το Ψ_{MD} θεωρήθηκε ισοδύναμο με το Ψ_{leaf} .

5.3.3. Προσδιορισμός του ABA και του pH

Οι μετρήσεις του pH του ανερχόμενου χυμού πραγματοποιήθηκαν λίγο πριν την ανατολή ηλίου σε τέσσερα από τα έξι φύλλα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του υδατικού δυναμικού βάσης. Η αφαίρεση του ανερχόμενου χυμού από κάθε φύλλο καθώς και η μέτρηση του pH στο κλάσμα (III) πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μεθοδολογία που περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 4 (σελ. 100) (Beis et al., 2007). Ο χυμός που συλλέχτηκε στα δύο πρώτα κλάσματα (I,II) ενώθηκε και χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του ABA. Όμοιες μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στη συγκέντρωση του ABA στα φύλλα και στις ρίζες τεσσάρων δειγμάτων ανά χειρισμό. Τα δείγματα των φύλλων, των ριζών και του συλλεγόμενου ανερχόμενου χυμού τοποθετήθηκαν άμεσα σε υγρό άζωτο και αποθηκεύτηκαν στους -80 °C μέχρι την ανάλυση της συγκέντρωσης του ABA. Το ABA εκχυλίστηκε και μετρήθηκε η συγκέντρωσή του στα δείγματα σύμφωνα με το πρωτόκολλο που περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 3 (3.8 Βιοχημικές παράμετροι, 3.8.1 Εκχύλιση και προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φυτοορμονών, σελ 90).

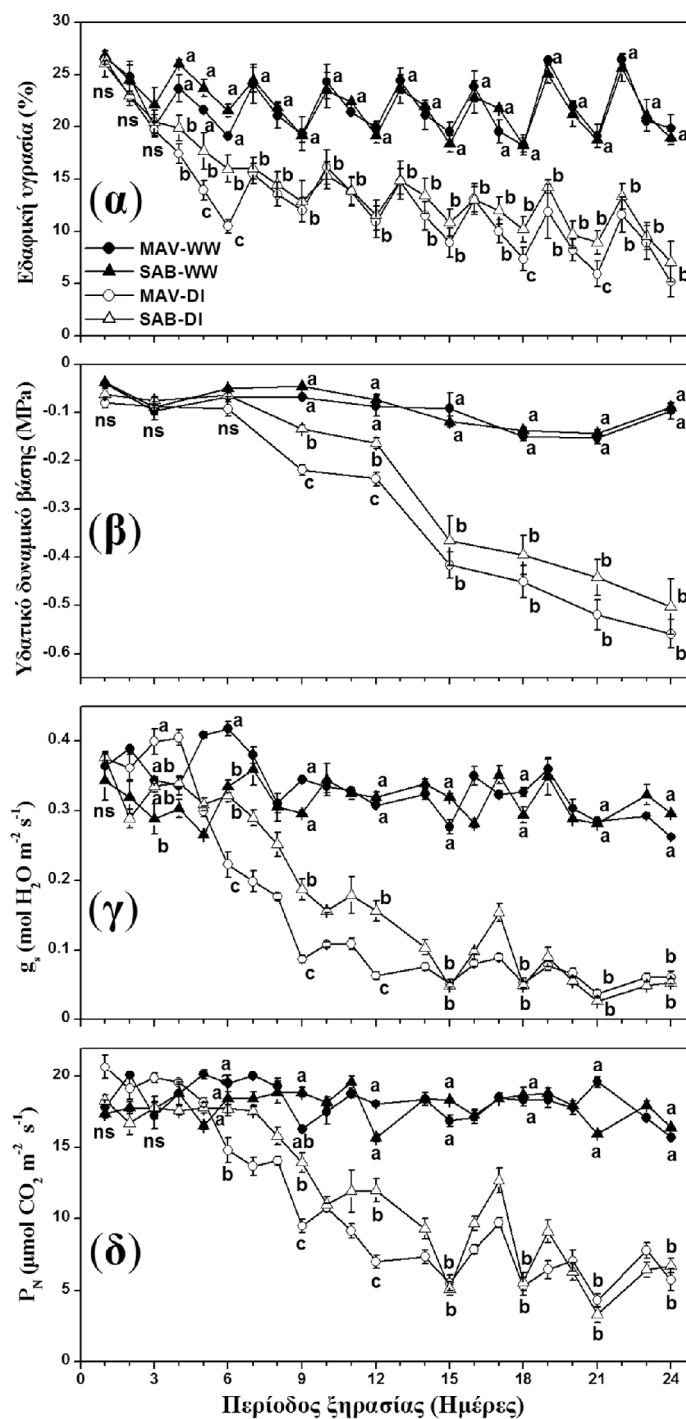
5.3.4. Στατιστική ανάλυση

Εκτός από τα δεδομένα που παρουσιάζονται στην εικόνα 5.3, η οποία αναφέρεται σε μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν τα έτη 2006 και 2007, όλα τα άλλα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτό το κεφάλαιο αφορούν μετρήσεις που έγιναν κατά τη διάρκεια του 2007. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πλήρες τυχαιοποιημένο σχέδιο σχεδιασμού με τη χρησιμοποίηση της

μονοπαραγοντικής ανάλυσης της διακύμανσης (one-way ANOVA). Το τεστ Duncan πραγματοποιήθηκε για να ελεγχτεί η σημαντικότητα των διαφορών μεταξύ των μέσων όρων των χειρισμών σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$ και έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου (SPSS 15.0) σε περιβάλλον των Windows. Η ανάλυση της συμμεταβολής (ANCOVA) επίσης χρησιμοποιήθηκε για να καθοριστεί κατά πόσο οι χειρισμοί (ελλειμματική άρδευση στη Μαυροδάφνη και στο Σαββατιανό) προκαλούν διαφορές στη σχέση μεταξύ των συμμεταβλητών στον άξονα X και των ανεξάρτητων μεταβλητών στον άξονα Y (Εικόνες 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, και 5.6). Το επίπεδο σημαντικότητας της αλλαγής της ευαισθησίας στη μεταβλητή (Y) στις μεταβολές της συμμεταβλητής (X) δίνεται με την αλληλεπίδραση (συμμεταβλητή $\times$ χειρισμός). Η ανάλυση των παλινδρομήσεων και ο προσδιορισμός των συντελεστών συσχέτισης έγιναν με τη χρησιμοποίηση του προγράμματος Origin 6.00 (Microcal Software, Inc.—Northampton, MA 01060 USA).

5.4 Αποτελέσματα

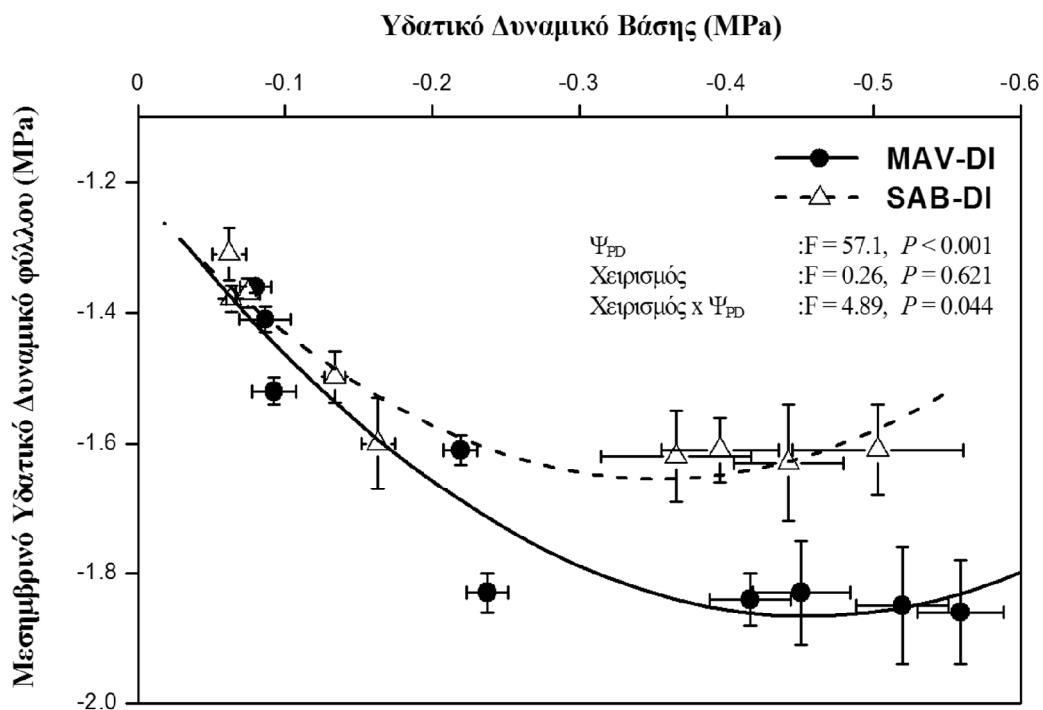
Το υδατικό δυναμικό βάσης του φύλλου (Ψ_{PD}) καθώς και η περιεκτικότητα του εδάφους σε υγρασία μειώθηκε προοδευτικά στους χειρισμούς της ελλειμματικής άρδευσης και στις δύο ποικιλίες (Εικ. 5.1). Ωστόσο, η περιεκτικότητα του εδάφους σε υγρασία ήταν υψηλότερη στα φυτά του Σαββατιανού σε σύγκριση με τα φυτά της Μαυροδάφνης κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών έπειτα από την έναρξη της επιβολής των χειρισμών της ελλειμματικής άρδευσης (Εικ. 5.1). Τα φυτά της Μαυροδάφνης παρουσίασαν απότομη μείωση στις τιμές του υδατικού δυναμικού (Ψ_{PD}) ως απόκριση στη μείωση της διαθέσιμης ποσότητας νερού στο έδαφος, με αποτέλεσμα να εμφανίζουν σημαντικά χαμηλότερες τιμές του Ψ_{PD} σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού κατά την έναρξη της περιόδου ξηρασίας (ημέρες 9 και 12) (Εικ. 5.1). Η χρονική πορεία της μέγιστης στοματικής αγωγιμότητας και του φωτοσυνθετικού ρυθμού εμφάνισε επίσης σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ποικιλιών. Συγκεκριμένα οι τιμές της στοματικής αγωγιμότητας και του φωτοσυνθετικού ρυθμού ήταν χαμηλότερες στα φυτά της Μαυροδάφνης υπό συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης σε σύγκριση με τα αντίστοιχα του Σαββατιανού κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας (ημέρα 6 έως ημέρα 12) (Εικ. 5.1). Επιπλέον, οι τιμές του υδατικού δυναμικού φύλλου που μετρήθηκε το μεσημέρι (Ψ_{MD}) στα φυτά της Μαυροδάφνης ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε



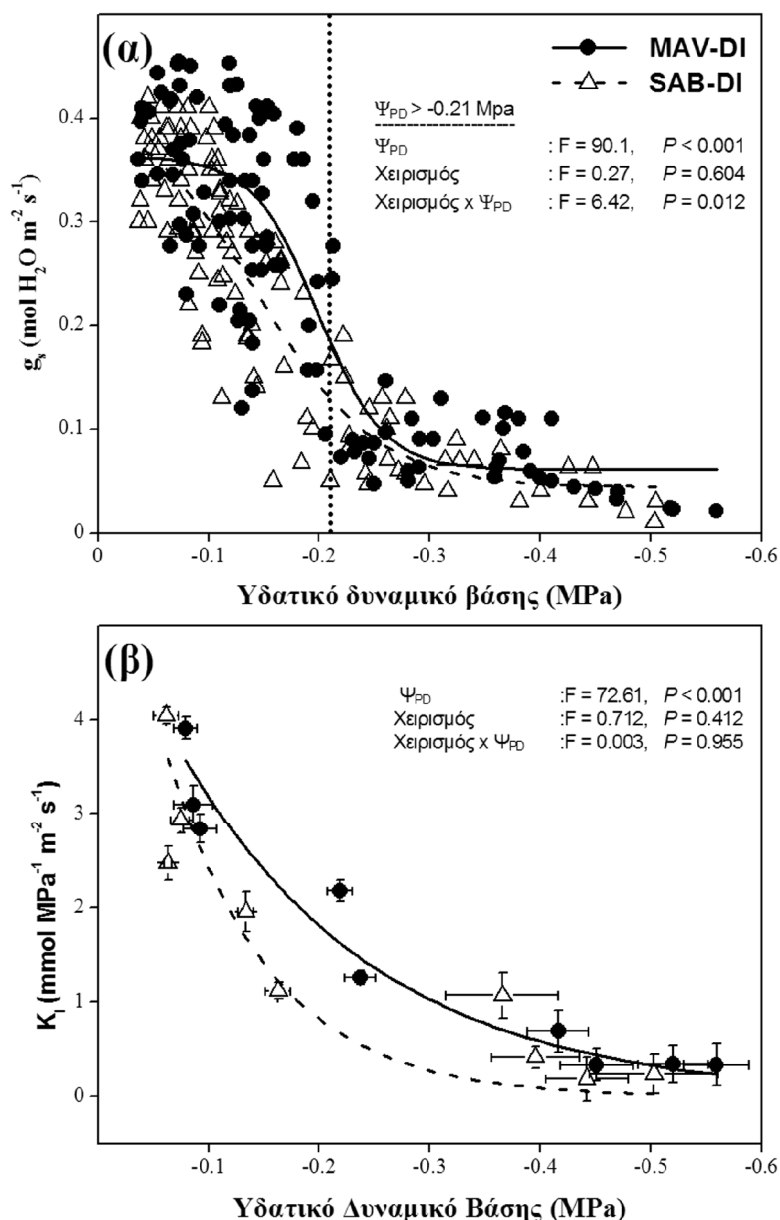
Εικόνα 5.1. Μεταβολές (α) της εδαφικής υγρασίας, (β) του υδατικού δυναμικού βάσης του φύλλου, (γ) της στοματικής αγωγιμότητας (g_s) και (δ) του φωτοσυνθετικού ρυθμού (P_N) σε πλήρως αρδευόμενα φυτά (WW) και σε φυτά που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειματικής άρδευσης (DI) δύο ποικιλιών της αμπέλου Μαυροδάφνης (MAV) και Σαββατιανού (SAB) κατά τη διάρκεια 24 ημερών περιόδου ξηρασίας. Τα αποτελέσματα σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται σε τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2007. Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE από 18 επαναλήψεις (6 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας). ns, μη σημαντικό.

σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού για τις ίδιες τιμές του υδατικού δυναμικού βάσης (Ψ_{PD}) (Εικόνα 5.2).

Η σχέση μεταξύ του υδατικού δυναμικού βάσης του φύλλου (Ψ_{PD}) και της μέγιστης στοματικής αγωγιμότητας έδειξε σημαντικές διαφορές στη στοματική ευαισθησία μεταξύ των δύο ποικιλιών (Εικ. 5.3α). Τα φυτά της Μαυροδάφνης παρουσίασαν υψηλότερες τιμές στοματικής αγωγιμότητας για τις ίδιες τιμές του υδατικού δυναμικού βάσης του φύλλου στην αρχή της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής δίαιτας ($\Psi_{PD} < 0.21$ MPa) σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού.



Εικόνα 5.2. Συμμεταβολή του υδατικού δυναμικού βάσης (Ψ_{PD}) και του μεσημβρινού υδατικού δυναμικού (Ψ_{MD}) του φύλλου σε φυτά των δύο ποικιλιών αμπέλου, της Μαυροδάφνης (MAV) και του Σαββατιανού (SAB) που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται στους τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2007. Κάθε σημείο αντιστοιχεί σε μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές ημέρες (1,3,6,9,12,15,18,21,24) κάθε κύκλου ξηρασίας αντίστοιχα και αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE και για του δύο άξονες (X, Ψ) 18 επαναλήψεις (6 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας). Στους χειρισμούς προσαρμόστηκαν γραμμές παλινδρόμησης ($P < 0.05$). Στην εικόνα φαίνονται οι τιμές του F και του P για κάθε κύρια επίδραση (χειρισμός και Ψ_{PD}) καθώς και της αλληλεπίδρασης τους που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της ANCOVA.



Εικόνα 5.3. Μεταβολές (α) της στοματικής αγωγιμότητας (g_s) και της υδραυλικής αγωγιμότητας (K_l) σε σχέση με το υδατικό δυναμικό βάσης (Ψ_{PD}) στα φυτά των δύο ποικιλιών αμπέλου που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης (DI). Τα δεδομένα που παρουσιάζονται στην εικόνα 3α αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο 3 κύκλων ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2006 (54 σημεία) και το 2007 (54 σημεία) για κάθε ποικιλία. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται στην εικόνα 3β αναφέρονται σε τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2007. Κάθε σημείο αντιστοιχεί σε μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας (1,3,6,9,12,15,18,21,24) κάθε κύκλου ξηρασίας αντίστοιχα και αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE και για τους δύο άξονες (X, Y) 18 επαναλήψεις (6 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας). Στην εικόνα φαίνονται οι τιμές του F και του P για κάθε κύρια επίδραση (χειρισμός και Ψ_{PD}) καθώς και της αλληλεπίδρασης τους που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της ANCOVA.

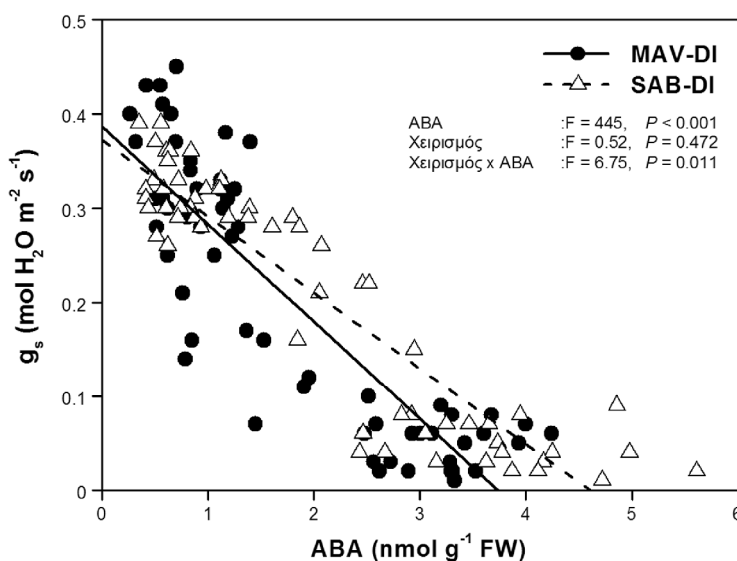
Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στο ωσμωτικό δυναμικό σε πλήρη σπαργή (π_{100}) μεταξύ των φυτών των δυο ποικιλιών που δέχονταν ελλειμματική άρδευση. Το τελευταίο κυμάνθηκε μεταξύ -1.83 ± 0.08 MPa και -1.82 ± 0.09 MPa στα φυτά της Μαυροδάφνης και του Σαββατιανού, αντίστοιχα. Η υδραυλική αγωγιμότητα (K_I) του φυτού επηρεάστηκε σημαντικά από τις αλλαγές του υδατικού δυναμικού βάσης του φύλλου (Εικ. 5.3β).

Ωστόσο, δεν υπήρχαν διαφορές στην υδραυλική αγωγιμότητα των φυτών μεταξύ των δύο ποικιλιών. Επιπλέον, καθώς το υδατικό δυναμικό βάσης του φύλλου μειώνονταν, η υδραυλική αγωγιμότητα του φυτού έφθινε ομοίως στις δυο ποικιλίες.

Η συγκέντρωση του ABA στο φύλλο που μετρήθηκε πριν την ανατολή του ηλίου αυξήθηκε σημαντικά σε σχέση με τη μείωση της διαθεσιμότητας του νερού στο έδαφος και στις δύο ποικιλίες (Πίνακας 5.1). Η συγκέντρωση του ABA στο φύλλο ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στα φυτά της Μαυροδάφνης που δέχονταν ελλειμματική άρδευση σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού στην αρχή της περιόδου ξηρασίας (ημέρα 6 και ημέρα 12), ενώ η αντίθετη τάση ήταν εμφανής κατά τη λήξη της περιόδου ξηρασίας (Πίνακας 5.1).

5.1 Πίνακας. Μεταβολές της συγκέντρωσης του ABA στο φύλλο, στη ρίζα και στον ανερχόμενο χυμό στις δύο ποικιλίες αμπέλου μέσα στην περίοδο ξηρασίας. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτό τον πίνακα αναφέρονται σε τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2007. Οι τιμές είναι οι μέσοι όροι $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 προσδιορισμοί της συγκέντρωσης του ABA x 3 κύκλους ξηρασίας). Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0.05$) μέσα στην ίδια γραμμή επισημαίνονται με διαφορετικά γράμματα. XB, χλωρό βάρος.

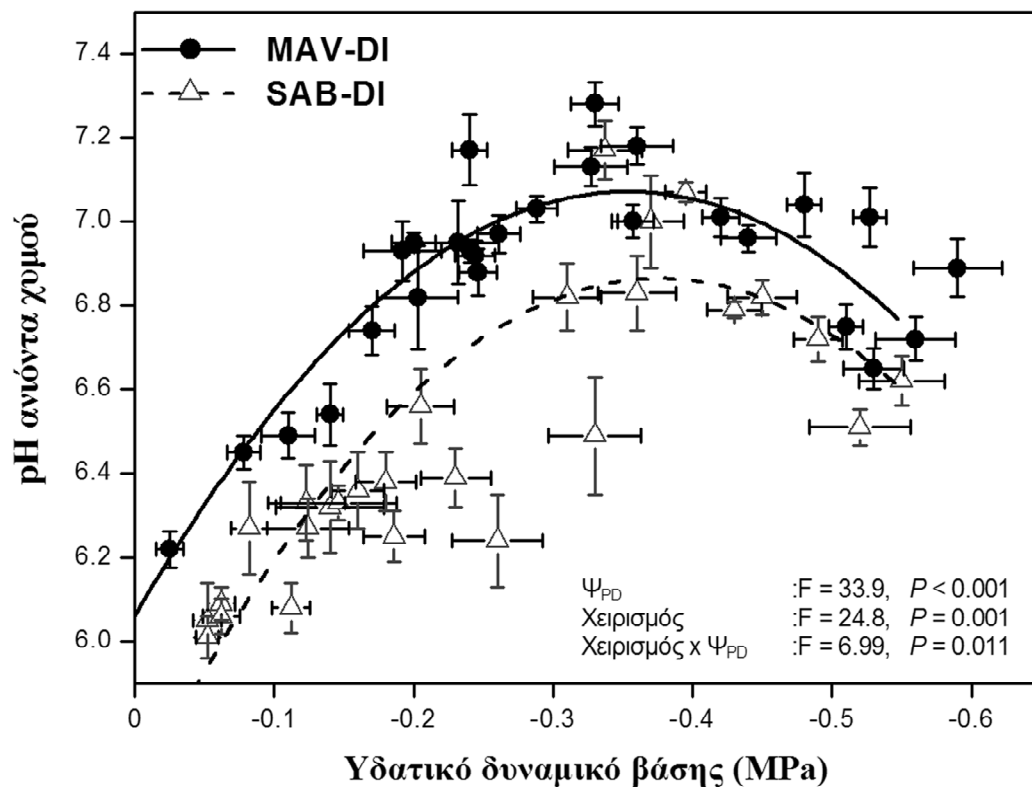
Παράμετροι	Ημέρες περιόδου ξηρασίας	Συγκέντρωση ABA			
		Μαυροδάφνη		Σαββατιανό	
		WW	DI	WW	DI
ABA φύλλου (nmol g ⁻¹ XB)	1	0.643 $\pm$ 0.14 ^a	0.643 $\pm$ 0.14 ^a	0.821 $\pm$ 0.10 ^a	0.821 $\pm$ 0.10 ^a
	6	0.843 $\pm$ 0.19 ^a	1.416 $\pm$ 0.28 ^b	0.740 $\pm$ 0.14 ^a	0.857 $\pm$ 0.29 ^a
	12	1.219 $\pm$ 0.05 ^a	3.231 $\pm$ 0.17 ^c	1.233 $\pm$ 0.15 ^a	2.807 $\pm$ 0.27 ^b
	18	1.011 $\pm$ 0.11 ^a	3.165 $\pm$ 0.61 ^b	1.348 $\pm$ 0.21 ^a	3.876 $\pm$ 0.17 ^c
	24	0.628 $\pm$ 0.09 ^a	2.925 $\pm$ 0.14 ^c	1.162 $\pm$ 0.23 ^b	4.385 $\pm$ 0.41 ^d
ABA ρίζας (nmol g ⁻¹ XB)	1	0.401 $\pm$ 0.06 ^{ab}	0.420 $\pm$ 0.04 ^b	0.335 $\pm$ 0.04 ^{ab}	0.305 $\pm$ 0.01 ^a
	6	0.412 $\pm$ 0.05 ^a	0.565 $\pm$ 0.03 ^b	0.324 $\pm$ 0.04 ^a	0.318 $\pm$ 0.02 ^a
	12	0.465 $\pm$ 0.07 ^{ab}	0.816 $\pm$ 0.12 ^c	0.354 $\pm$ 0.07 ^a	0.614 $\pm$ 0.04 ^b
	18	0.433 $\pm$ 0.05 ^a	0.828 $\pm$ 0.07 ^c	0.403 $\pm$ 0.04 ^a	0.688 $\pm$ 0.10 ^b
	24	0.398 $\pm$ 0.05 ^a	0.843 $\pm$ 0.08 ^b	0.385 $\pm$ 0.03 ^a	0.762 $\pm$ 0.11 ^b
ABA ανιόντα χυμού (nmol ml ⁻¹)	1	0.252 $\pm$ 0.03 ^a	0.256 $\pm$ 0.02 ^a	0.231 $\pm$ 0.01 ^a	0.226 $\pm$ 0.01 ^a
	6	0.344 $\pm$ 0.02 ^a	0.470 $\pm$ 0.04 ^b	0.282 $\pm$ 0.02 ^a	0.445 $\pm$ 0.09 ^b
	12	0.228 $\pm$ 0.04 ^a	1.035 $\pm$ 0.10 ^c	0.342 $\pm$ 0.03 ^a	0.804 $\pm$ 0.11 ^b
	18	0.281 $\pm$ 0.03 ^a	0.844 $\pm$ 0.11 ^c	0.247 $\pm$ 0.04 ^a	0.587 $\pm$ 0.09 ^b
	24	0.240 $\pm$ 0.02 ^a	1.178 $\pm$ 0.04 ^c	0.257 $\pm$ 0.03 ^a	0.732 $\pm$ 0.05 ^b



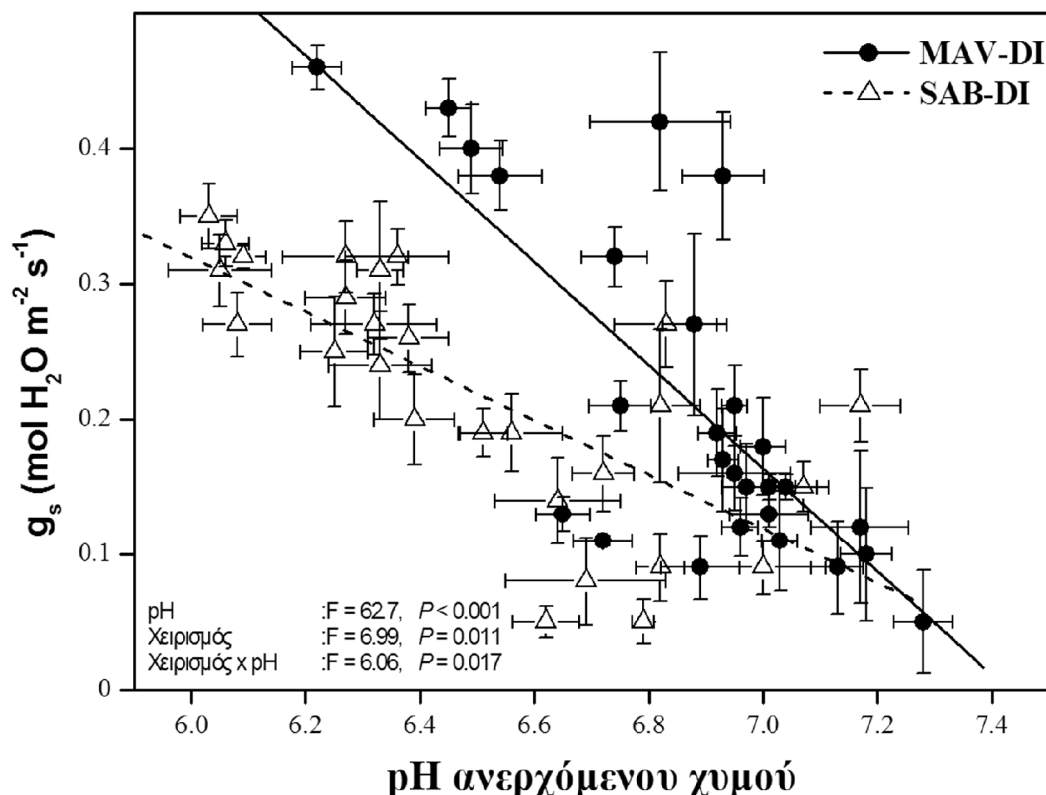
Εικόνα 5.4. Συμμεταβολή της συγκέντρωσης του ABA στο φύλλο και της στοματικής αγωγιμότητας (g_s) στις δύο ποικιλίες αμπέλου που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται σε τρείς κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2007. Στους χειρισμούς προσαρμόστηκαν γραμμές παλινδρόμησης ($P < 0.05$). Στην εικόνα φαίνονται οι τιμές του F και του P για κάθε κύρια επίδραση (χειρισμός και ABA) καθώς και της αλληλεπίδρασης τους που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της ANCOVA.

Η συγκέντρωση του ABA στη ρίζα βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη στα φυτά της Μαυροδάφνης που δέχονταν ελλειμματική άρδευση σχεδόν καθ' όλη την περίοδο της ξηρασίας. Από την άλλη πλευρά, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του ABA στον ανερχόμενο χυμό του αγωγού ιστού μεταξύ των δύο ποικιλιών στην αρχή της περιόδου ξηρασίας (Πίνακας 5.1). Στη συνέχεια, τα φυτά της Μαυροδάφνης παρουσίασαν υψηλότερη συγκέντρωση ABA στον ανερχόμενο χυμό σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού. Επίσης παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των φύλλων σε ABA και της στοματικής αγωγιμότητας (Εικ. 5.4) και στις δύο ποικιλίες, γεγονός που υποδηλώνει ότι το ABA ασκεί σημαντικό έλεγχο στο άνοιγμα του στοματικού πόρου κατά την περίοδο της ξηρασίας. Ωστόσο, η στοματική ευαισθησία στη συγκέντρωση του ABA στο φύλλο ήταν σημαντικά υψηλότερη στη Μαυροδάφνη σε σύγκριση με το Σαββατιανό (Εικ. 5.4). Επιπροσθέτως, οι τιμές του pH στον αποπλάστη του φύλλου αυξήθηκαν σημαντικά και στις δύο ποικιλίες ως απόκριση στην ένταση της υδατικής καταπόνησης (Εικ. 5.5). Τα φυτά της

Μαυροδάφνης εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερες τιμές pH του ανερχόμενου χυμού (pH αποπλάστη) καθώς και υψηλότερες τιμές pH σε μια δεδομένη τιμή του υδατικού δυναμικού βάσης στο φύλλο σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού (Εικ. 5.5). Η σχέση μεταξύ της στοματικής αγωγιμότητας και του pH του ανερχόμενου χυμού έδειξε μεγαλύτερη στοματική ευαισθησία στην αύξηση των τιμών του pH στα φυτά της Μαυροδάφνης σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού (Εικ. 5.6).



Εικόνα 5.5. Συμμεταβολή των τιμών του pH του ανερχόμενου χυμού και του υδατικού δυναμικού βάσης (Ψ_{PD}) στις δύο ποικιλίες αμπέλου Μαυροδάφνης (MAV) και Σαββατιανού (SAB) που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης (DI). Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται σε τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2007. Κάθε σημείο αντιστοιχεί σε μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές ημέρες δειγματοληψίας (1,3,6,9,12,15,18,21,24) κάθε κύκλου ξηρασίας αντίστοιχα και αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE και για τους δύο άξονες (X, Ψ) τεσσάρων επαναλήψεων. Στους χειρισμούς προσαρμόστηκαν γραμμές παλινδρόμησης ($P < 0.05$). Στο φαίνονται οι τιμές του F και του P, που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της ANCOVA, για κάθε κύρια επίδραση (χειρισμός και ABA) και για την αλληλεπίδραση τους.



Εικόνα 5.6. Η συµµεταβολή των τιµών του pH του ανερχόµενου χυµού και της στοµατικής αγωγιµότητας (g_s) στις δυο ποικιλίες αµπέλου που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειµµατικής άρδευσης (DI). Τα δεδοµένα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται σε τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγµατοποιήθηκαν το 2007. Κάθε σηµείο αντιστοιχεί σε µετρήσεις που έγιναν σε διαφορετικές ηµέρες δειγµατοληψίας (1,3,6,9,12,15,18,21,24) του κάθε κύκλου ξηρασίας αντίστοιχα και αντιπροσωπεύει το µέσο όρο $\pm$ SE και για τους δύο άξονες (X, Y) τεσσάρων επαναλήψεων. Στους χειρισµούς προσαρµόστηκαν γραµµές παλινδρόµησης ($P < 0.05$). Στην εικόνα φαίνονται οι τιµές του F και του P, που προσδιορίστηκαν µε τη µέθοδο της ANCOVA, για κάθε κύρια επίδραση (χειρισµός και ABA) και για την αλληλεπίδραση τους.

5.5 Συζήτηση

Οι σηµαντικές διαφορές της στοµατικής ευαισθησίας στη µεταβολή του υδατικού δυναµικού (Εικ. 5.3α) µεταξύ του Σαββατιανού και της Μαυροδάφνης, εισηγούνται την ύπαρξη και λειτουργία διαφορετικών στρατηγικών υπό συνθήκες έλλειψης νερού. Ειδικότερα το Σαββατιανό φανέρωσε αποτελεσµατικότερο έλεγχο της στοµατικής αγωγιµότητας στα αρχικά στάδια της περιόδου της εφαρµογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας, παρά τα υψηλά επίπεδα υγρασίας του εδάφους. Αυτό έχει σαν

αποτέλεσμα αφενός τη μείωση απωλειών νερού μέσω της διαπνοής αφετέρου δε τη διατήρηση του υδατικού περιεχομένου των φύλλων κοντά στα επίπεδα του μάρτυρα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα κατά τη διάρκεια της περιόδου εφαρμογής της ξηρασίας (Εικ. 5.1 και Εικ. 5.2).

Και οι δύο ποικιλίες εμφάνισαν σημαντική μείωση στο υδατικό δυναμικό του φύλλου που μετρήθηκε τις μεσημβρινές ώρες σε σχέση με την υδατική καταπόνηση (Εικ. 5.2), γεγονός που εισηγείται ανισοϋδρική συμπεριφορά. Το γεγονός ότι το μέγεθος της μείωσης του Ψ_{MD} ήταν σημαντικά μικρότερο στο Σαββατιανό υποδηλώνει ότι οι δύο ποικιλίες πιθανόν να διαφέρουν στο βαθμό της ανισοϋδρικότητας, με τη Μαυροδάφνη να εμφανίζει εντονότερη ανισοϋδρική συμπεριφορά.

Είναι παραδεκτό ότι τα στόματα κλείνουν σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης ως απόκριση στις αλλαγές που συμβαίνουν στο έδαφος, στα μεταφερόμενα χημικά σήματα, στη σπαργή των κυττάρων του φύλλου και σε μεταβολές στην υδραυλική αγωγιμότητα (Rou et al., 2008). Λαμβάνοντας υπόψη την έλλειψη των διαφορών στο ωσμωτικό δυναμικό μεταξύ των δύο ποικιλιών, καθώς και την πιο απότομη μείωση στις τιμές του Ψ_{PD} στη Μαυροδάφνη σε σύγκριση με το Σαββατιανό (Εικ. 5.1) τα αποτελέσματά μας εισηγούνται ότι η διαφορά στη στοματική συμπεριφορά, στην αρχή της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας, δεν μπορεί να αποδοθεί σε διαφορές στη σπαργή των κυττάρων που προκαλούνται από τη διαφορετική ικανότητα των ποικιλιών για ωσμωρύθμιση. Σε ό,τι αφορά τις υδραυλικές παραμέτρους, δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των φυτών των δύο ποικιλιών στην υδραυλική αγωγιμότητα (K_I) τους σε σχέση με τη μείωση της διαθέσιμης υγρασίας στο έδαφος (Εικ. 5.3β). Ωστόσο, είναι γνωστό ότι η μέτρηση της K_I σε συνθήκες αγρού υπόκειται σε σφάλματα εξαιτίας του γεγονότος ότι πραγματοποιείται υπό μη σταθερές συνθήκες (Hubbard et al., 2001). Επιπροσθέτως, ο Schultz (2003) απέδειξε ότι είναι η διαφορά στην υδραυλική αγωγιμότητα των βλαστών και ιδιαίτερα των μίσχων, παρά η συνολική υδραυλική αγωγιμότητα του φυτού που ευθύνεται για τη διαφορετική στοματική συμπεριφορά μεταξύ των ποικιλιών της αμπέλου. Αν αυτό είναι ακριβές τότε η μείωση που παρατηρήθηκε νωρίτερα στη στοματική αγωγιμότητα στα φυτά του Σαββατιανού θα μπορούσε να αποδοθεί στα υδραυλικά σήματα.

Η παρουσία των χημικών σημάτων συμβάλλει επίσης στο κλείσιμο των στομάτων σε συνθήκες ξηρασίας (Dodd 2005, 2007; Davies and Zhang 1991; Tardieu et al., 1996; Bacon et al., 1998). Λαμβάνοντας υπόψη ότι δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στην υδραυλική αγωγιμότητα μεταξύ των δύο ποικιλιών (Εικ. 3β), η μεγαλύτερη

ικανότητα των ριζών της Μαυροδάφνης για τη σύνθεση του ABA στην αρχή της περιόδου της εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας (ημέρα 6 και 12) (Πίνακας 5.1) φαίνεται να είναι υπεύθυνη για την παρουσία μεγαλύτερης συγκέντρωσης ABA στα φύλλα αυτής της ποικιλίας. Η μικρότερη συγκέντρωση του ABA στα φύλλα του Σαββατιανού δείχνει ότι η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας που παρατηρήθηκε νωρίτερα κατά την περίοδο της έλλειψης νερού (Εικ. 5.1) θα μπορούσε να μην αποδοθεί στη συσσώρευση του ABA. Ωστόσο, πρόσφατα η σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ABA στα φύλλα και της στοματικής αγωγιμότητας αμφισβητήθηκε λόγω του γεγονότος ότι ένα μέρος της συγκέντρωσης του ABA στα φύλλα μπορεί να παγιδευτεί στο κυτόπλασμα του μεσόφυλλου ή των επιδερμικών κυττάρων, μακριά από τα σημεία δράσης στα στόματα, σύμφωνα με την αρχή της "ανιονικής παγίδας" (anion trap concept) (Jia and Zhang 1999; Hartung et al., 2002; Jia and Davies 2007). Ως εκ τούτου, το μέρος της συνολικής ποσότητας του ABA που εντοπίζεται πλησίον των καταφρακτικών κυττάρων θεωρείται ως πιο σημαντικό για τον καθορισμό της στοματικής αγωγιμότητας (Jia and Zhang 1999). Έτσι, διαφορές στη διαμερισματοποίηση του ABA στο φύλλο μεταξύ των δύο ποικιλιών, μπορεί να ευθύνονται για τη μείωση της στοματικής αγωγιμότητας που παρατηρήθηκε νωρίτερα σε φυτά του Σαββατιανού. Η διαμερισματοποίηση του ABA στα φύλλα μεταξύ του αποπλάστη και του συμπλάστη, είναι γνωστό ότι επηρεάζεται κυρίως από τις αλλαγές στο pH του αποπλάστη (Slovic et al., 1995). Ειδικότερα, αύξηση του pH αναμένεται να επάγει συσσώρευση ABA πλησίον των στομάτων προκαλώντας κλείσιμο των στομάτων ακόμη και σε μικρές συγκεντρώσεις ABA στο φύλλο (Rodrigues et al., 2008). Ωστόσο, η Μαυροδάφνη εμφάνισε σημαντικά υψηλότερες τιμές του pH του «αποπλάστη» σε σύγκριση με το Σαββατιανό κατά τη διάρκεια της περιόδου της υδατικής έλλειψης (Εικ. 5.5), γεγονός που υποδηλώνει ότι υψηλότερες συγκεντρώσεις ABA θα φθάσουν τελικά στα καταφρακτικά κύτταρα για τις ίδιες τιμές της συνολικής συγκέντρωσης του ABA στα φύλλα. Ενώ τα αποτελέσματα αυτά συνάδουν με την υψηλή στοματική ευαισθησία στις μεταβολές της συγκέντρωσης του ABA που παρατηρούνται στα φυτά της Μαυροδάφνης (Εικ. 5.4), υποδηλώνουν επίσης ότι χημικά σήματα που επάγονται κατά την υδατική καταπόνηση πιθανόν να μη συμμετέχουν στη μείωση της στοματικής αγωγιμότητας που συμβαίνει νωρίτερα στην περίοδο της εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας στα φυτά του Σαββατιανού.

Από την άλλη πλευρά, αξίζει να σημειωθεί ότι, παρά τις σχετικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις του ABA στις ρίζες και στον ανερχόμενο χυμό (Πίνακας 5.1) και της

έλλειψης διαφορών στην υδραυλική αγωγιμότητα μεταξύ των δύο ποικιλιών, τα φυτά του Σαββατιανού παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερη συγκέντρωση ABA στα φύλλα σε σύγκριση με τα φυτά της Μαυροδάφνης στο τέλος της περιόδου ξηρασίας. Αυτή η αύξηση της συγκέντρωσης του ABA στα φύλλα των φυτών του Σαββατιανού μπορεί να οφείλεται είτε στη μεγαλύτερη ικανότητα τοπικής σύνθεσης, είτε στο χαμηλότερο βαθμό της αποικοδόμησης του ABA. Ο μεταβολισμός του ABA έχειδειχτεί (Soar et al., 2004) ότι είναι γρήγορος μέσα στα κύτταρα του μεσόφυλλου (Ren et al., 2007), με χρόνο ημίσειας ζωής λιγότερο από 3 ώρες στα φυτά αραβοσίτου (Jia and Zhang 1997) και λιγότερο από 2 ώρες στον ηλιάνθο (Jia and Zhang 1999). Επιπλέον οι Daeter and Hartung (1995) έδειξαν ότι τα κύτταρα της επιδερμίδας έχουν καταβολικό ρυθμό που είναι πέντε φορές μεγαλύτερος από αυτόν των κυττάρων του μεσόφυλλου. Υποθέτοντας ότι δεν υπάρχουν διαφορές στη μεταβολική ενζυμική δραστηριότητα μεταξύ των δύο ποικιλιών, ο ρυθμός αποικοδόμησης του ABA αναμένεται να ρυθμίζεται από τις τιμές του pH του αποπλάστη του φύλλου (Davies et al., 2002; Slovic and Hartung 1992 a, b; Daeter et al., 1993). Ειδικότερα, ακόμη και μια μικρή μείωση στις τιμές του pH στον αποπλάστη μπορεί να επηρεάσει τη διάχυση του ABA στα κύτταρα των φύλλων ενισχύοντας τον καταβολισμό του ABA και, συνεπώς, επηρεάζοντας τη συνολική συγκέντρωση του ABA στα φύλλα (Willkinson and Davies 2002). Στα αποτελέσματά μας τα φυτά του Σαββατιανού εμφάνισαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές pH στον αποπλάστη συγκριτικά με τα φυτά της Μαυροδάφνης κατά τη διάρκεια της περιόδου της εφαρμογής της υδατικής έλλειψης (Εικ. 5.5). Εφόσον οι χαμηλές τιμές του pH στον αποπλάστη των φύλλων συνεπάγεται υψηλά ποσοστά καταβολισμού του ABA, η υψηλότερη συγκέντρωση του ABA που βρέθηκε στα φύλλα του Σαββατιανού δεν θα μπορούσε να αποδοθεί σε διαφορές στο ρυθμό αποδόμησης του ABA, αλλά ίσως σε μια μεγαλύτερη ικανότητα τοπικής σύνθεσης του ABA στα φύλλα του Σαββατιανού (Soar et al. 2006).

5.6 Συμπεράσματα

Τα δεδομένα εισηγούνται ότι οι δύο ποικιλίες αμπέλου αναπτύσσουν διαφορετικές στρατηγικές όσον αφορά την προσαρμογή τους σε συνθήκες ξηρασίας. Ειδικότερα, η μεγαλύτερη ικανότητα προσαρμογής στην ξηρασία των φυτών του Σαββατιανού θα μπορούσε να αποδοθεί στον αποτελεσματικότερο έλεγχο στο κλείσιμο των στομάτων, κάτι το οποίο έχει ως αποτέλεσμα τη διατήρηση της ενυδάτωσης των φύλλων κοντά στα επίπεδα του μάρτυρα, παρά τις αλλαγές στη διαθεσιμότητα του νερού στο έδαφος.

Η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας νωρίτερα στην αρχή της περιόδου εφαρμογής της υδατικής περιοριστικής διαίτας στα φυτά του Σαββατιανού, ταυτόχρονα με την απουσία της αύξησης της συγκέντρωσης του ABA στα φύλλα του εισηγούνται ότι κάποιος άλλος μηχανισμός, πιθανόν σχετιζόμενος με την υδραυλική αγωγιμότητα, μπορεί να είναι υπεύθυνος για αυτή τη στοματική συμπεριφορά. Ωστόσο η αύξηση στη συγκέντρωση του ABA και στο pH του αποπλάστη σε συνθήκες πιο έντονης υδατικής καταπόνησης δείχνει ότι τα χημικά σήματα μπορούν επίσης να συμμετέχουν στη ρύθμιση της στοματικής συσκευής. Συνεπώς το κλείσιμο των στομάτων στο τέλος της περιόδου της ξηρασίας είναι αποτέλεσμα συνδυασμένης δράσης χημικών και υδραυλικών σημάτων που επάγονται κατά την υδατική καταπόνηση. Αντίθετα στη Μαυροδάφνη ο μηχανισμός προσαρμογής στην ξηρασία βασίζεται κυρίως σε χημικά σήματα. Σε αυτή την ποικιλία οι υψηλότερες τιμές του pH, οι οποίες αυξάνουν τη συγκέντρωση του ABA στην περιοχή των καταφρακτικών κυττάρων, ενδέχεται να αναπληρώνουν τον περιορισμένο υδραυλικό έλεγχο στα στόματα, επάγοντας το κλείσιμο των στομάτων. Η υψηλή ευαισθησία της στοματικής αγωγιμότητας στη συγκέντρωση του ABA στα φύλλα των φυτών της Μαυροδάφνης επιβεβαιώνει τον κυρίαρχο ρόλο αυτού του μηχανισμού προσαρμογής στην ξηρασία.

*Διαφοροποιημένη φυσιολογική, φωτοπροστατευτική
και αντιοξειδωτική συμπεριφορά δυο ποικιλιών
αμπέλου που υποβλήθηκαν σε συνθήκες
περιορισμένης υδατικής δίαιτας*



6.1 Περίληψη

Μελετήθηκε η φωτοπροστατευτική και η αντιοξειδωτική προστασία σε δύο ποικιλίες αμπέλου (*Vitis vinifera* L., ποικ. Μαυροδάφνη και Σαββατιανό), που υποβλήθηκαν σε διαφορετικά επίπεδα περιοριστικής υδατικής δίαιτας. Εφαρμόστηκαν οι εξής χειρισμοί: πλήρως αρδευόμενα φυτά (WW) και δύο επίπεδα ελλειμματικής άρδευσης (DI_{50} και DI_{25}), όπου τα φυτά αρδεύονταν σε όλο το ριζικό τους σύστημα με ποσότητα νερού αντιστοίχως ίση με 50% και 25% αυτής του μάρτυρα. Το Σαββατιανό εμφάνισε υψηλότερο υδατικό δυναμικό βάσης (Ψ_{PD}), υδατικό περιεχόμενο (RWC), ρυθμό βλαστικής ανάπτυξης, P_N και g_s συγκριτικά με τη Μαυροδάφνη. Η ελλειμματική άρδευση προκάλεσε μείωση της φωτονικής συγκομιδής του PSII (Φ_{PSII}), του ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR) και αύξηση στη μη-φωτοχημική απόσβεση (NPQ) και στις δύο ποικιλίες. Το Σαββατιανό περιορίσε το ETR μειώνοντας τη Φ_{PSII} μέσω της αύξησης του NPQ. Αντίθετα η Μαυροδάφνη, κατά κύριο λόγο μείωσε στον ίδιο βαθμό το ETR, απενεργοποιώντας τα κέντρα του PSII, όπως φάνηκε με τη μείωση στη μέγιστη απόδοση του φωτοσυστήματος II (F_v/F_m) στο χειρισμό άρδευσης DI_{25} . Εξετάστηκε το ενδεχόμενο λειτουργίας της αποδόμησης της χλωροφύλλης ως ρυθμιστικός μηχανισμός της φωτοσύνθεσης στα φυτά της Μαυροδάφνης. Συγκριτικά με το Σαββατιανό, η Μαυροδάφνη εμφάνισε παρόμοιους ρυθμούς αναπνοής DR αλλά μικρότερο ρυθμό μείωσης της φωτοαναπνοής κατά τη διάρκεια της ελλειμματικής άρδευσης. Η Μαυροδάφνη έδειξε μεγαλύτερη οξειδωτική ζημιά όπως φάνηκε με τη μείωση των χλωροφυλλών, την έντονη αύξηση του H_2O_2 , την οξείδωση των λιπαρών οξέων και τη μείωση της περιεκτικότητας των διαλυτών ολικών πρωτεϊνών. Η ενεργότητα της APX και της SOD αυξήθηκε και στις δύο ποικιλίες σε σχέση με την ένταση της υδατικής καταπόνησης ενώ η ενεργότητα της GPX μειώθηκε. Η ικανότητα του Σαββατιανού να διατηρεί υψηλή ενεργότητα στην CAT πιθανόν να αποτελεί σημαντικό χαρακτηριστικό της ποικιλίας αυτής, που σχετίζεται με την ανθεκτικότητα στην ξηρασία. Αντιθέτως, η ενεργότητα της CAT έδειξε κυρίως μείωση στα φυτά της Μαυροδάφνης κατά τη διάρκεια της υδατικής καταπόνησης. Τα δεδομένα εισηγούνται ότι η CAT φαίνεται να λειτουργεί στη Μαυροδάφνη ως σημαντικός παράγοντας στην επαγόμενη αποδόμηση των χλωροφυλλών μέσω της ρύθμισης των επιπέδων του H_2O_2 . Συμπερασματικά, η μεγαλύτερη ανθεκτικότητα των φυτών του Σαββατιανού υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης βασίζεται στους διαφορετικούς μηχανισμούς φωτοπροστασίας και αντιοξειδωτικής προστασίας που ανέπτυξαν οι δύο ποικιλίες, για να αντισταθούν στην οξειδωτική καταπόνηση που προκαλείται σε συνθήκες έλλειψης νερού.

6.2 Εισαγωγή

Τα φυτά μπορούν να χρησιμοποιήσουν ένα συνδυασμό διαφορετικών μηχανισμών και στρατηγικών για να αποφύγουν, να ανεχτούν ή να αναπτύξουν ανθεκτικότητα σε καταστάσεις έλλειψης νερού (Levitt 1980; Chaves 2003). Εκτός από τα υδραυλικά και χημικά σήματα που παράγονται και μεταφέρονται κατά την υδατική καταπόνηση έτσι ώστε να ρυθμίσουν τη λειτουργία της στοματικής συσκευής, υπάρχουν και άλλοι μηχανισμοί αντίδρασης και προσαρμογής των φυτών που ενεργοποιούνται στα πλαίσια της συνολικής φυσιολογικής απόκρισης των φυτών στην υδατική έλλειψη. Δύο από τους σημαντικότερους μηχανισμούς που αναπτύσσονται στα φυτά σε συνθήκες μειωμένης διαθεσιμότητας του νερού στο έδαφος είναι ο φωτοπροστατευτικός και ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός.

Για να προστατευθεί ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός από την οξειδωτική καταπόνηση κατά τη διάρκεια της ξηρασίας, τα φυτά πρέπει να αποσβέσουν την περίσσεια της απορροφούμενης φωτεινής ενέργειας. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί αφενός μεν με τη θερμική απόσβεση που επιτυγχάνεται μέσω του κύκλου των ξανθοφύλλων και την απόσβεση του ($^1\text{O}_2$) στα κέντρα αντίδρασης του PSII (Demmig-Adams and Adams 1996; Niyogi et al., 1998; Lawlor 2001), αφετέρου δε με τη διατήρηση της ροής των ηλεκτρονίων σε εναλλακτικές οδούς όπως η φωτοαναπνοή και η αντίδραση Mehler (Asada 1999). Ωστόσο, οι δύο τελευταίοι οδοί οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή των ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) όπως η υπεροξειδική ρίζα ($\text{O}_2^{\cdot-}$) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) στα φωτοσυνθετικά κύτταρα (Foyer, 1996). Όπως προαναφέρθηκε οι ROS είναι τοξικά μόρια ικανά να προκαλούν οξειδωτική ζημιά στα λιπίδια, στις πρωτεΐνες και στα νουκλεϊκά οξέα τα οποία είναι απαραίτητα στη λειτουργία και την ακεραιότητα των κυττάρων (Smirnoff 1993; Alscher et al., 1997; Apel and Hirt 2004; Edreva 2005). Επίσης η συσσώρευση των ROS και των ελεύθερων ριζών μπορεί να αποτελέσει την κύρια αιτία του βιοχημικού περιορισμού της φωτοσύνθεσης (Chaves and Oliveira 2004). Ωστόσο, οι Flexas et al. (1998) περιέγραψαν υψηλή σταθερότητα στη φωτοχημεία του φύλλου σε φυτά αμπέλου υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Από την άλλη πλευρά, σε άλλες μελέτες παρατηρήθηκε βιοχημική διαταραχή στο μηχανισμό της φωτοσύνθεσης, ειδικότερα όταν τα φυτά της αμπέλου υποβλήθηκαν σε υδατική καταπόνηση σε συνθήκες αγρού. Αυτές οι αντιφάσεις μπορεί να προκύψουν από τα διάφορα επίπεδα υδατικής καταπόνησης που εφαρμόζονται (Flexas et al., 2002), από τους διαφορετικούς γενοτύπους (Tardieu and Simonneau 1998), από τις περιβαλλοντικές συνθήκες που

επικρατούν κατά τη διάρκεια της υδατικής καταπόνησης (Schulze and Hall 1982) και από την ταχύτητα επιβολής της (Flexas et al., 1999). Όλοι αυτοί οι παράγοντες που αφορούν στην αντίδραση του φωτοσυνθετικού μηχανισμού στην ξηρασία είναι αρκετά πολύπλοκοι και εμπεριέχουν και αντιδράσεις εγκλιματισμού από τα φυτά (Chaves et al., 2009).

Η μείωση των ROS που παράγονται κατά τη φωτοαναγωγή του οξυγόνου μπορεί να επιτευχθεί από ένα σύστημα ενζυματικών και μη ενζυματικών αντιοξειδωτικών που υπάρχει στα φυτικά κύτταρα (Noctor and Foyer 1998). Επιπλέον, η αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών εξαρτάται σημαντικά από την ένταση της καταπόνησης (Zhang and Kirkham 1994), από την ποικιλία (Zhang and Kirkham 1996) και το στάδιο ανάπτυξης (Chaves et al. 2003). Η ανθεκτικότητα των φυτών στην ξηρασία σχετίζεται με την αύξηση της ικανότητας εξουδετέρωσης ή αποτοξίνωσης των ROS (Bowler et al., 1992; Smirnov 1993; Foyer et al., 1994; Zhang and Kirkham 1995). Στην πραγματικότητα, η αυξημένη έκφραση του αντιοξειδωτικού μηχανισμού έχει συσχετισθεί με τη μειωμένη οξειδωτική βλάβη σε είδη ή γενότυπους που είχαν διαφορετική ανθεκτικότητα στην ξηρασία (Smirnov 1995). Πολλές έρευνες που έγιναν σε διαφορετικά φυτικά είδη που υποβλήθηκαν σε συνθήκες έλλειψης νερού έδειξαν ενεργοποίηση του ενζυματικού αντιοξειδωτικού μηχανισμού, κάνοντας αυτό το χάρισμα σημαντικό παράγοντα, στον οποίο βασίζεται η ανθεκτικότητα στην ξηρασία αυτών των φυτών (Sgheri et al., 1992; Zhang and Kirkham 1994; Zhang and Kirkham 1996; Bartoli et al., 1999; Lascano et al., 2001; Egert and Tevini 2002; Jiang and Zhang 2002; Lima et al., 2002; Pinheiro et al., 2004; Ramachandra et al., 2004; Sharma and Dubey 2005; Sofo et al. 2005; Sanchez-Diaz et al., 2007; Wang et al., 2008; Aganchich et al., 2009; Ozkur et al., 2009; Wang et al., 2009).

Αν και η επίδραση της ξηρασίας στη φωτοχημική απόδοση του PSII, στη φωτοαναπνοή και στη θερμική απόσβεση της περίσσειας ενέργειας στην άμπελο έχει λεπτομερώς εξεταστεί (Flexas et al., 1999; Flexas et al., 2002; Medrano et al., 2002; Maroco et al., 2002; de Souza et al., 2003; de Souza et al., 2005), δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα πληροφορίες σε ποικιλίες αμπέλου όσον αφορά την απόκριση του αντιοξειδωτικού τους μηχανισμού στην υδατική καταπόνηση και σε συντονισμό με τη θερμική απόσβεση. Σ' αυτό το πείραμα, ο κύριος σκοπός ήταν να προσδιοριστεί οι μηχανισμοί φωτοπροστασίας και αντιοξειδωτικής προστασίας σε δύο ποικιλίες αμπέλου, με διαφορετική ανθεκτικότητα στην ξηρασία οι οποίες εκτέθηκαν σε διαφορετικά επίπεδα περιοριστικής υδατικής δόιατας. Γ' αυτό το σκοπό, μελετήθηκαν

το υδατικό δυναμικό βάσης των φύλλων, η ανταλλαγή αερίων του φύλλου, ο φθορισμός της χλωροφύλλης, ο ενζυματικός αντιοξειδωτικός μηχανισμός και ο ρυθμός ανάπτυξης του βλαστού. Επίσης για να διαπιστωθούν τυχόν συμπτώματα της οξειδωτικής καταπόνησης στα φυτά μελετήθηκαν η περιεκτικότητα των χλωροφυλλών στο φύλλο, οι συνολικές διαλυτές πρωτεΐνες (SP), η συγκέντρωση του H_2O_2 και η υπεροξειδωση των λιπιδίων (MDA). Αυτή η μελέτη φιλοδοξεί να δώσει μια εικόνα των μηχανισμών προσαρμογής των ποικιλιών της αμπέλου στην ξηρασία, παρέχοντας μ' αυτόν τον τρόπο τη βάση για την ανάπτυξη στρατηγικών, για τη μείωση των κινδύνων που συνδέονται με την ξηρασία και για τη διατήρηση μιας βιώσιμης φυτικής παραγωγής.

6.3 Υλικά και Μέθοδοι

6.3.1. Φυτικό υλικό και συνθήκες ανάπτυξης

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στον πειραματικό σταθμό του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων που υπάρχει στο Αγρίνιο, κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου του 2007. Χρησιμοποιήθηκαν δύο ποικιλίες αμπέλου (*Vitis vinifera* L., ποικ. Μαυροδάφνη και Σαββατιανό) οι οποίες καλλιεργούνται ευρέως στη νότια Ελλάδα. Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε και οι συνθήκες ανάπτυξης των φυτών περιγράφεται στο Κεφάλαιο 3 (Υλικά και Μέθοδοι, σελ 68). Οι γλάστρες καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο με σκοπό να αποφευχθεί η αύξηση της θερμοκρασίας στο ριζικό σύστημα των πρέμνων. Επίσης τοποθετηθήκαν τυχαία και περιστρέφονταν περιοδικά για να ελαχιστοποιηθεί η επίδραση της ετερογένειας του περιβάλλοντος. Στις αρχές Μαΐου του 2007, 60 ομοιόμορφα φυτά (βασίζόμενα στο ύψος, τον αριθμό των φύλλων και τη συνολική φυλλική επιφάνεια) επελέγησαν για τη μελέτη. Το πείραμα συνδύαζε έξι χειρισμούς (2 ποικιλίες x 3 επίπεδα ελλειμματικής άρδευσης) σε παραγοντικό σχεδιασμό στα πλαίσια ενός πλήρους τυχαιοποιημένου σχεδίου. Είκοσι φυτά από κάθε ποικιλία αρδεύονταν στην εδαφο-ικανότητα του υποστρώματος κάθε τρεις ημέρες (φυτά μάρτυρα, WW). Άλλα 20 φυτά δέχονταν τη μισή ποσότητα από αυτήν που απαιτείται για τη διατήρηση της εδαφικής υγρασίας στο σημείο υδατοκορεσμού (DI_{50}). Επιπροσθέτως, 20 φυτά δέχονταν στην ίδια συχνότητα μόνο το 25% της ποσότητας νερού από αυτήν που απαιτείται για τη διατήρηση της εδαφικής υγρασίας στο σημείο υδατοκορεσμού (DI_{25}). Η επίδραση της περιοριστικής υδατικής διαίτας στη φυσιολογία της αμπέλου, αναλύθηκε για τις καλλιεργητικές περιόδους 2006 και 2007. Λόγω του ότι τα αποτελέσματα ήταν όμοια στις δυο μελετώμενες περιόδους, μόνο αυτά που

αποκτήθηκαν το 2007 παρουσιάζονται στην παρούσα εργασία. Το ίδιο πείραμα επαναλήφθηκε τρεις φορές κατά τη διάρκεια του 2007 (3 επαναλήψεις).

6.3.2. Υδατικές σχέσεις των φυτών, φυσιολογικές και φθορομετρικές μετρήσεις

Το υδατικό δυναμικό βάσης στο φύλλο (Ψ_{PD}) μετρήθηκε με θάλαμο πίεσης (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι, σελ. 73). Οι μετρήσεις λάμβαναν χώρα κάθε τρεις ημέρες σε τέσσερα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα που συλλέγονταν αντίστοιχα από τέσσερα διαφορετικά φυτά για κάθε χειρισμό.

Το σχετικό υδατικό περιεχόμενο (RWC) των φυτών μετρήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφηκε (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι σελ. 75) τις ημέρες 1, 12 και 24 της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας. Οι μετρήσεις έγιναν σε τέσσερα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα που συλλέχθηκαν αντίστοιχα από τέσσερα διαφορετικά φυτά για κάθε χειρισμό.

Η μέγιστη στοματική αγωγιμότητα (g_s) και ο μέγιστος φωτοσυνθετικός ρυθμός (P_N) μετρήθηκε 3 ώρες μετά την έναρξη της φωτοπερίόδου σε ατμοσφαιρική συγκέντρωση CO_2 και σε συνθήκες κορεσμένου φωτός ($PPFD = 1300 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι σελ. 76 & 78). Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε 10 πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα που επιλέχθηκαν από διαφορετικά φυτά για κάθε χειρισμό και χρόνο δειγματοληψίας

Οι μετρήσεις φθορισμού έγιναν με φθορισμόμετρο (βλέπε κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι, σελ 83). Ο ελάχιστος φθορισμός (F_0) της χλωροφύλλης με όλα τα ενεργά κέντρα του PSII ανοιχτά μετρήθηκε σε ρυθμιζόμενη ένταση φωτός που ήταν πολύ χαμηλή ($< 0.1 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) για να αποτραπεί σημαντική αστάθεια στον εκπεμπόμενο φθορισμό. Ο μέγιστος φθορισμός της χλωροφύλλης (F_m) με όλα τα ενεργά κέντρα του PSII κλειστά, μετρήθηκε σε φύλλα που ήταν προσαρμοσμένα σε συνθήκες σκότους στα οποία εφαρμόστηκε αναλαμπή κορεσμένου φωτός για 0.8 sec έντασης $10.000 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Ο τρέχον φθορισμός (F_s) καταγράφηκε έπειτα από συνεχή φωτισμό ακτινικής έντασης και έπειτα από την εφαρμογή αναλαμπής κορεσμένου φωτός ($10000 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), καθορίστηκε ο μέγιστος φθορισμός της χλωροφύλλης (F_m') στα φύλλα που ήταν προσαρμοσμένα σε συνθήκες φωτός. Η απόδοση της φωτονιακής συγκομιδής των ανοιχτών κέντρων του PSII (συνθήκες σκότους), υπολογίστηκε από το φθορομετρικό λόγο (F_v/F_m) σε φύλλα προσαρμοσμένα σε συνθήκες σκότους πριν την ανατολή του ηλίου. Η φωτοχημική απόδοση του PSII (Φ_{PSII}) των φύλλων που ήταν προσαρμοσμένα στο φώς υπολογίστηκε το ηλιακό μεσημέρι σύμφωνα με την εξίσωση $\Phi_{PSII} = (F_m' -$

$F_s)/F_m'$ (Genty et al., 1989). Ο ρυθμός μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR) υπολογίστηκε σύμφωνα με τους Kral and Edwards (1992) μέσω της σχέσης: $ETR = \Phi_{PSII} \times PPFD \times 0.5 \times 0.84$, όπου PPFD είναι η φωτοσυνθετικά ενεργή ακτινοβολία που προσπίπτει στο φύλλο, ο συντελεστής 0.5 χρησιμοποιείται ώστε να λαμβάνεται υπόψη η ίση κατανομή φωτονίων μεταξύ των δύο φωτοσυστημάτων, ο συντελεστής 0.84 είναι ο συντελεστής απορρόφησης του φύλλου κοινώς για τα C_3 φυτά (Bjorkman and Demmig 1987) που συμπεριλαμβάνει και τα φύλλα της αμπέλου σε διαφορετικές συνθήκες (Schultz, 1996). Οι μετρήσεις ξεκίνησαν σε ένταση φωτός $5 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, η οποία επιτυγχάνονταν με κάλυψη του φύλλου με ένα μαύρο ύφασμα και προχώρησαν με αλλαγή του προσανατολισμού του φύλλου για την επίτευξη έντασης φωτός στα $1000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Κάθε μέτρηση από τις δύο εντάσεις φωτός λαμβάνονταν από το ίδιο φύλλο και από την ίδια περιοχή του ελάσματος του φύλλου. Κάθε αναλαμπή κορεσμένου φωτός εφαρμόζονταν όταν η τιμή του F_s έφτανε σε σταθερές τιμές (συνήθως μέσα σε 5 λεπτά μετά την κάλυψη του φύλλου ή μετά την εφαρμογή της αναλαμπής κορεσμένου φωτός). Μόλις η επιθυμητή ένταση φωτός επιτυγχάνονταν, η τιμή F_s καταγράφονταν, ενώ η τιμή του F_m' λαμβάνονταν αφού εφαρμόζονταν αναλαμπή κορεσμένου φωτός. Η μη-φωτοχημική απόσβεση (NPQ) υπολογίστηκε από τη σχέση: $NPQ = (F_m / F_m') - 1$.

Η φωτοαναπνοή υπολογίστηκε με τη μέθοδο των Valentini et al. (1995) (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι, σελ 88). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε τέσσερα φύλλα ανά χειρισμό και χρόνο δειγματοληψίας. Η αναπνοή (Dark respiration) μετρήθηκε από τη μέτρηση της ανταλλαγής του CO_2 στο σκοτάδι (σε $0 \mu\text{mol φωτόνια m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

6.3.3. Εκχύλιση ενζύμων

Για τις μετρήσεις των SOD, GPX, APX και CAT, συλλέγονταν τέσσερα φύλλα από κάθε χειρισμό λίγο πριν την ανατολή του ηλίου την 1^η, τη 12^η και την 24^η ημέρα από την αρχή της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας. Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στους 4°C . Τα δείγματα των φύλλων καταψύχθηκαν αμέσως σε υγρό άζωτο και στη συνέχεια διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία -80°C . Η εκχύλιση των διαλυτών πρωτεϊνών έγινε σύμφωνα με τη μεθοδολογία που περιγράφεται στο Κεφάλαιο 3 (Υλικά και Μέθοδοι σελ. 91).

6.3.4. Οξείδωση των λιπαρών οξέων και συγκέντρωση H_2O_2

Ο προσδιορισμός της μαλονοδιαλδεϋδης (MDA) έγινε με τη μέθοδο του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA) (Heath and Packer 1968) (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι, σελ. 94) σε τέσσερα φύλλα από κάθε χειρισμό.

Η περιεκτικότητα του (H_2O_2) προσδιορίστηκε σύμφωνα με τη μεθοδολογία που περιγράφεται στο Κεφάλαιο 3 (Υλικά και Μέθοδοι, σελ. 94) σε τέσσερα φύλλα από κάθε χειρισμό.

6.3.5. Ενεργότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων

Οι ενεργότητες των αντιοξειδωτικών ενζύμων προσδιορίστηκαν σε τέσσερα φύλλα που συλλέχτηκαν από διαφορετικά φυτά ανά χειρισμό και χρόνο δειγματοληψίας. Οι μεθοδολογίες που ακολουθήθηκαν για τη μέτρηση της ενεργότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων (CAT, APX, GPX και SOD) περιγράφονται με λεπτομέρεια στο Κεφάλαιο 3 (Υλικά και Μέθοδοι, σελ 92 & 93).

6.3.6. Βλαστική ανάπτυξη και μέτρηση της περιεκτικότητας των χλωροφυλλών

Το μήκος του βλαστού μετρήθηκε στην έναρξη (ημέρα 1^η), στο μέσον (ημέρα 12^η) και στο τέλος (ημέρα 24^η) της περιόδου εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης, επιλέγοντας 10 διαφορετικά φυτά ανά χειρισμό στα οποία είχε προηγουμένως επισημανθεί το μήκος του βλαστού. Η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη μετρήθηκε με χλωροφυλλόμετρο (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι, σελ. 89) σε δέκα διαφορετικά φυτά ανά χειρισμό. Χρησιμοποιήθηκαν για τις μετρήσεις τέσσερα φύλλα ανά φυτό. Οι μετρήσεις έγιναν σε φύλλα που παρουσίαζαν τον ίδιο προσανατολισμό και που προέρχονταν από τα ίδια φυτά με εκείνα που χρησιμοποιήθηκαν για τις μετρήσεις των φωτοσυνθετικών και φθορομετρικών παραμέτρων.

6.3.7. Στατιστική ανάλυση

Το πείραμα περιείχε δύο παράγοντες που συνδυάστηκαν σε έξι χειρισμούς σχηματίζοντας 2 x 3 παραγοντικό σχεδιασμό (2 ποικιλίες x 3 επίπεδα περιοριστικής υδατικής δόιατας). Στα δεδομένα πραγματοποιήθηκε ανάλυση παραλλακτικότητας δύο παραγόντων (2-way ANOVA), για να ελεγχθεί η επίδραση των επιπέδων της περιοριστικής υδατικής δόιατας και των ποικιλιών στη συγκέντρωση του H_2O_2 και MDA, στο RWC, στο SGR, στην περιεκτικότητα των χλωροφυλλών και των διαλυτών

πρωτεινών (SP), στο λόγο F_v/F_m , στη DR, στην PR, στο Ψ_{PD} , στη g_s , στη Φ_{PSII} , στο ETR, στη NPQ και στις ενεργότητες της CAT, της GPX, της APX και της SOD. Υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικό σφάλμα (SE) και όπου η τιμή F έδειχνε σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$ οι μέσοι όροι συγκρίνονταν με το τεστ Duncan. Όλες οι τιμές που φαίνονται στις εικόνες είναι μέσοι όροι $\pm$ SE. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο SPSS 15.0. Το πείραμα επαναλήφθηκε 3 φορές το έτος 2007.

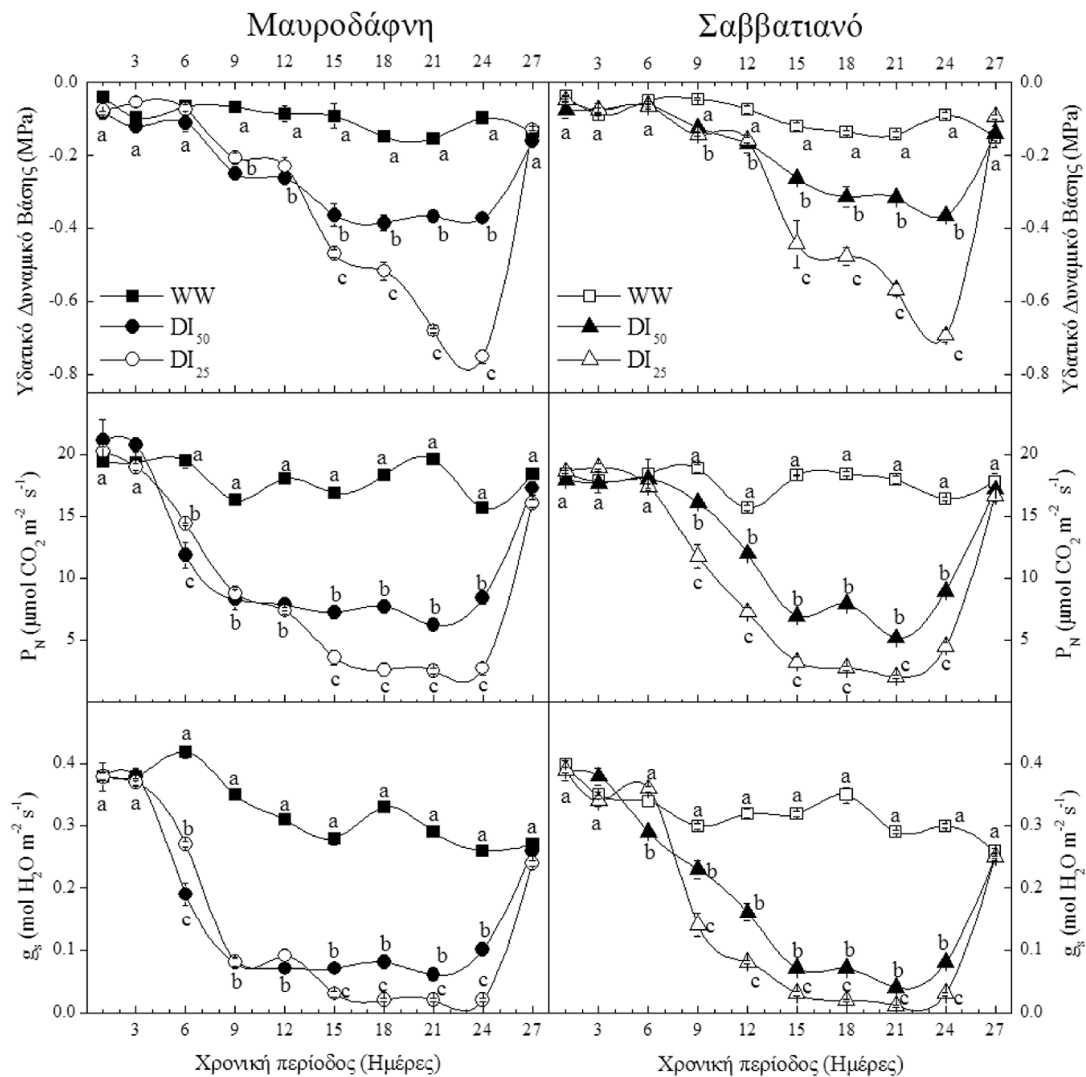
6.4 Αποτελέσματα

6.4.1. Υδατική κατάσταση του φύλλου και μετρήσεις ανταλλαγής αερίων

Το υδατικό δυναμικό βάσης του φύλλου (Ψ_{PD}), μειώθηκε σταδιακά στα φυτά της ελλειμματικής άρδευσης και των δύο ποικιλιών καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου (Εικόνα 6.1). Ωστόσο τα φυτά της Μαυροδάφνης, παρουσίασαν απότομη μείωση στις τιμές του Ψ_{PD} σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού, ειδικότερα στο χειρισμό όπου εφαρμόστηκε λιγότερο νερό άρδευσης (DI_{25}). Παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στις τιμές του Ψ_{PD} μεταξύ των χειρισμών DI_{50} και DI_{25} . Ειδικότερα, οι τιμές του Ψ_{PD} στο χειρισμό DI_{50} ήταν σημαντικά υψηλότερες συγκριτικά με το χειρισμό DI_{25} και στις δύο ποικιλίες με τη διαφορά τους να είναι εμφανής 15 ημέρες μετά την έναρξη των χειρισμών. Από τη άλλη πλευρά οι χειρισμοί DI_{50} και DI_{25} που εφαρμόστηκαν στα φυτά του Σαββατιανού φάνηκε να διατηρούν καλύτερη υδατική κατάσταση από τους αντίστοιχους της Μαυροδάφνης κατά το μεγαλύτερο μέρος της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας. Έπειτα από 12 ημέρες ξηρασίας, το σχετικό υδατικό περιεχόμενο του φύλλου (RWC) που μετρήθηκε λίγο πριν την ανατολή του ηλίου στις δύο ποικιλίες μειώθηκε περίπου από 91% σε 85% και στους δύο χειρισμούς ελλειμματικής άρδευσης (Πίνακας 6.1). Στο τέλος της περιόδου της περιοριστικής υδατικής δίαιτας το RWC των φυτών της Μαυροδάφνης μειώθηκε στο 83% στο χειρισμό DI_{50} και στο 76% στο χειρισμό DI_{25} . Αντίθετα τα φύλλα του Σαββατιανού αφυδατώθηκαν πιο αργά, διατηρώντας το RWC στο 82% και στο 81% στους χειρισμούς DI_{50} και DI_{25} , αντίστοιχα.

Ο φωτοσυνθετικός ρυθμός (P_N) και η στοματική αγωγιμότητα (g_s) ελαττώθηκαν σημαντικά και στις δύο ποικιλίες 6 ημέρες μετά την έναρξη της περιόδου ξηρασίας σ' όλους τους χειρισμούς της ελλειμματικής άρδευσης (Εικόνα 6.1). Τα φυτά του Σαββατιανού που υπέστησαν υδατική καταπόνηση εμφάνισαν υψηλότερες τιμές P_N και

g_s σε σύγκριση με τα φυτά της Μαυροδάφνης, κυρίως στην αρχή της περιόδου ξηρασίας. Επιπλέον, παρατηρήθηκε πιο απότομη μείωση των τιμών της g_s και του P_N



Εικόνα 6.1. Μεταβολές του υδατικού δυναμικού βάσης του φύλλου (Ψ_{PD}), του φωτοσυνθετικού ρυθμού (P_N) και της στοματικής αγωγιμότητας (g_s) σε πλήρως αρδευόμενα φυτά (WW) και σε φυτά που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης (DI₅₀ και DI₂₅) στις δύο ποικιλίες αμπέλου, κατά τη διάρκεια 24 ημερών περιόδου υδατικής έλλειψης. Οι τιμές του Ψ_{PD} αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας). Οι τιμές των P_N και g_s αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο $\pm$ SE 30 επαναλήψεων (10 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας). Διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$.

στα φυτά της Μαυροδάφνης που δέχτηκαν ελλειμματική άρδευση σε σχέση με τα αντίστοιχα του Σαββατιανού. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των ποικιλιών και των επιπέδων ελλειμματικής άρδευσης στο P_N και στη g_s ήταν σημαντική τη 12^η ημέρα, ενώ δεν παρατηρήθηκε καμιά αλληλεπίδραση μεταξύ των ποικιλιών και των επιπέδων

Πίνακας 6.1. Στατιστική ανάλυση παραλλακτικότητας δύο παραγόντων (two-Way Anova) τη 12^η και την 24^η ημέρα εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας στις δύο ποικιλίες για τα διαφορετικά αντιοξειδωτικά ένζυμα, για το υδατικό δυναμικό βάσης (Ψ_{PD}), το φωτοσυνθετικό ρυθμό (P_N), τη στοματική αγωγιμότητα (g_s), τη φωτοχημική συγκομιδή του PSII (Φ_{PSII}), το ρυθμό μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR) και τη μη-φωτοχημική απόσβεση (NPQ).

Παράμετροι	Ημέρα 12			Ημέρα 24		
	Ποικιλίες (Π)	Επίπεδα άρδευσης (Ε.Α.)	Π x Ε.Α.	Ποικιλίες (Π)	Επίπεδα άρδευσης (Ε.Α.)	Π x Ε.Α.
CAT	<0.001	0.018	<0.001	<0.001	0.236	<0.001
GPX	<0.001	0.001	0.171	0.285	<0.001	0.383
APX	0.295	<0.001	0.005	0.273	<0.001	0.012
SOD	0.892	0.258	0.858	0.023	<0.001	0.002
Ψ_{PD}	0.004	<0.001	0.211	0.022	<0.001	0.134
P_N	0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.169
g_s	0.003	<0.001	<0.001	0.369	<0.001	<0.001
Φ_{PSII}	0.103	0.012	0.434	0.012	<0.001	<0.001
ETR	0.685	0.023	0.657	0.016	<0.001	0.034
NPQ	0.143	0.001	0.678	<0.001	<0.001	<0.001

ελλειμματικής άρδευσης στον P_N , στο τέλος της περιόδου εφαρμογής του πειράματος (Πίνακας 6.1). Οι σημαντικές διαφορές στις φυσιολογικές και στις υδροδυναμικές παραμέτρους, μεταξύ των φυτών που υποβλήθηκαν σε συνθήκες περιορισμένης υδατικής δίαιτας και των πλήρως αρδευόμενων φυτών, εξαφανίστηκαν έπειτα από την πλήρη ενυδάτωση των φυτών.

6.4.2. Ανάπτυξη βλαστού, περιεκτικότητα χλωροφύλλης, διαλυτών πρωτεϊνών και φθορομετρικές αναλύσεις

Ο ρυθμός ανάπτυξης του βλαστού (SGR) μειώθηκε στους χειρισμούς ελλειμματικής άρδευσης και στις δύο ποικιλίες (Πίνακας 6.2). Η μείωση του ρυθμού ανάπτυξης του βλαστού φαίνεται να συνδέεται στενά με την ποσότητα του νερού που εφαρμόζεται σε κάθε ποικιλία, δεδομένου ότι δεν παρατηρήθηκε καμιά επίδραση των επιπέδων άρδευσης που εφαρμόστηκαν (Πίνακας 6.2). Ειδικότερα, στο χειρισμό άρδευσης (DI_{50}), ο ρυθμός ανάπτυξης του βλαστού ήταν μεγαλύτερος και στις δυο

ποικιλίες σε σχέση με το χειρισμό (DI_{25}). Τα φυτά του Σαββατιανού έδειξαν σημαντικά υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης του βλαστού απ' αυτόν των φυτών της Μαυροδάφνης όταν συγκρίθηκαν στα όμοια επίπεδα ελλειμματικής άρδευσης στο μέσον και στο τέλος της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής διαίτας.

Στα φυτά του Σαββατιανού τα επίπεδα των χλωροφυλλών διατηρήθηκαν σταθερά σ' όλα τα επίπεδα της ελλειμματικής άρδευσης (DI_{50} και DI_{25}), όπως εξετάστηκαν στο μέσον (12^η ημέρα) και στο τέλος (24^η ημέρα) της περιόδου υδατικής έλλειψης (Πίνακας 6.2). Αντιθέτως, τα επίπεδα των χλωροφυλλών στα φυτά της Μαυροδάφνης μειώθηκαν κατά περίπου 31% στο χειρισμό DI_{25} στο τέλος του κύκλου εφαρμογής της υδατικής έλλειψης, ενώ στα φυτά του χειρισμού DI_{50} παρέμειναν αμετάβλητα κατά τη διάρκεια της μελέτης.

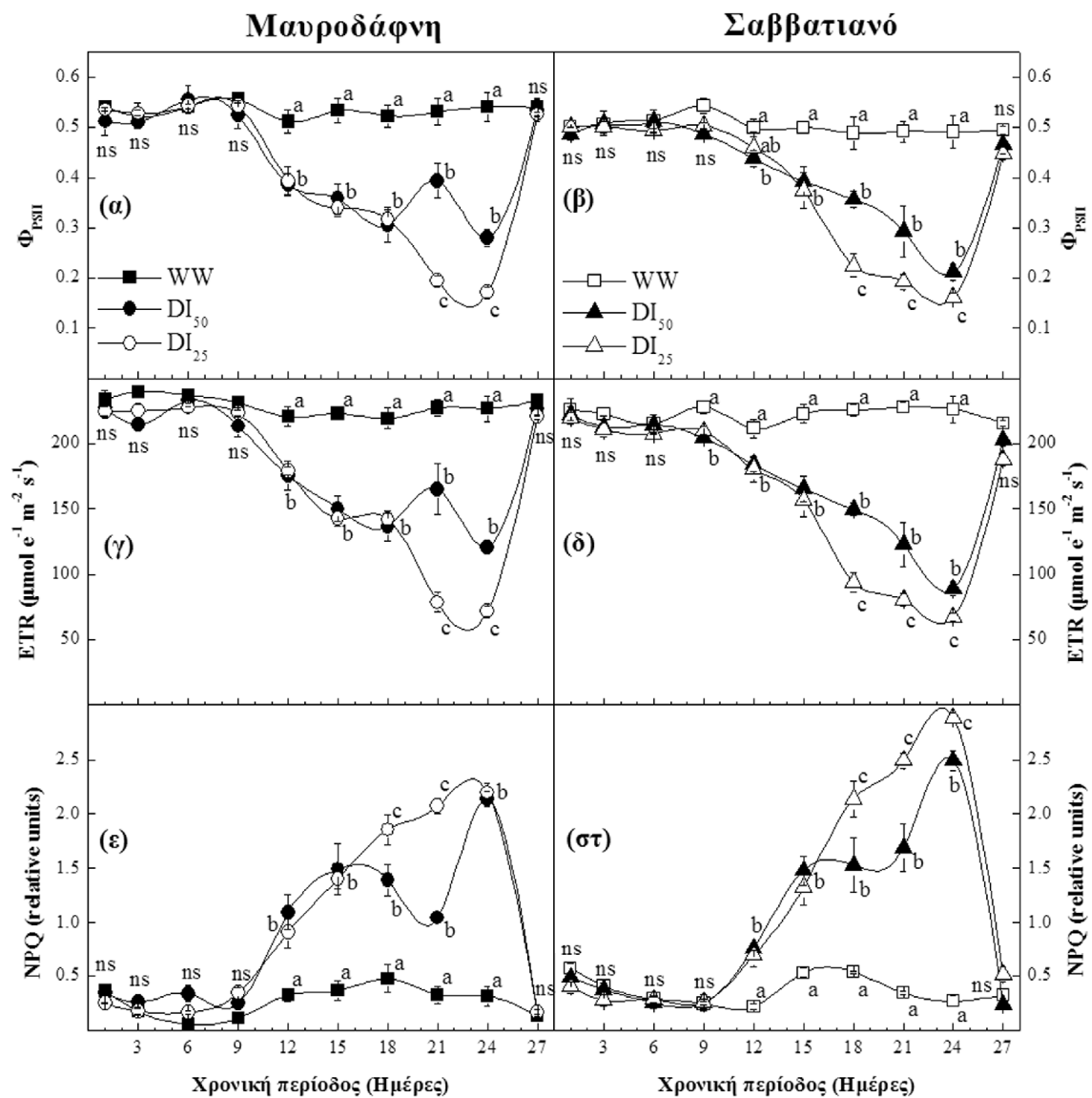
Ανεξάρτητα από το επίπεδο της περιοριστικής υδατικής διαίτας, η έλλειψη νερού δεν είχε σημαντική επίδραση στη συγκέντρωση των διαλυτών πρωτεϊνών (SP) στο φύλλο και στις τιμές του λόγου F_v/F_m και στις δύο ποικιλίες την 12^η ημέρα μετά την επιβολή συνθηκών έλλειψης νερού. Ωστόσο, η διαθεσιμότητα του νερού στο έδαφος είχε σημαντική επίδραση στη συγκέντρωση των διαλυτών πρωτεϊνών και στο λόγο F_v/F_m μόνο στα φυτά της Μαυροδάφνης στο τέλος της περιόδου ελλειμματικής άρδευσης (ημέρα 24^η) (Πίνακας 6.2). Ειδικότερα, τα φυτά της Μαυροδάφνης στο χειρισμό DI_{25} εμφάνισαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές του λόγου F_v/F_m και χαμηλότερη συγκέντρωση SP σε σύγκριση με το χειρισμό DI_{50} . Αντιθέτως, στα φυτά του Σαββατιανού, δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση των χειρισμών στο λόγο F_v/F_m , του οποίου οι τιμές κυμάνθηκαν ανάμεσα στο 0.82 και 0.83, γεγονός που σημαίνει ότι δεν αναπτύχθηκε μόνιμη φωτοαναστολή. Ανάμεσα στις ποικιλίες, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση των SP μεταξύ των ίδιων υδατικών διαίτων. Από την άλλη πλευρά, τα φυτά της Μαυροδάφνης εμφάνισαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές του λόγου F_v/F_m , κυρίως στο χειρισμό DI_{25} σε σχέση με τα φυτά του Σαββατιανού.

Η μείωση του P_N σχετίστηκε με τη μείωση του ETR, της Φ_{PSII} και την αύξηση του NPQ και στις δύο ποικιλίες που εφαρμόστηκε περιοριστική υδατική διαίτα (Εικόνα 6.2). Ο ETR και η Φ_{PSII} μειώθηκαν προοδευτικά όσο η υδατική καταπόνηση γινόταν πιο έντονη και στα δύο επίπεδα υδατικής διαίτας (DI_{50} και DI_{25}) ανεξαρτήτου ποικιλίας. Ο ETR συσχετίστηκε αρνητικά με το Ψ_{PD} (Εικόνα 6.3). Στα φυτά του Σαββατιανού, η μείωση στο ETR και στη Φ_{PSII} και στα δύο επίπεδα υδατικής διαίτας, προηγήθηκε εκείνης που εμφάνισαν τα φυτά της Μαυροδάφνης καθώς η υδατική καταπόνηση εντεινόταν στη διάρκεια της περιόδου υδατικής έλλειψης. Η ανάλυση των παραγόντων

Πίνακας 6.2. Μέτρηση του σχετικού υδατικού περιεχομένου (RWC) του φύλλου, του ρυθμού ανάπτυξης του βλαστού (SGR), της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη (Chl), των διαλυτών πρωτεϊνών (SP), της μέγιστης φωτοχημικής απόδοσης του PSII (F_v/F_m) τις ημέρες 0, 12 και 24 σε φύλλα των δύο ποικιλιών της αμπέλου που υποβλήθηκαν σε τρία διαφορετικά επίπεδα άρδευσης (WW, DI₅₀ και DI₂₅). Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται στους τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2007. Παρουσιάζονται οι μέσοι όροι $\pm$ SE που βασίζονται σε 12 επαναλήψεις (4 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας) για το RWC, SP και το λόγο F_v/F_m , σε 18 επαναλήψεις (6 βλαστοί ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας) για το SGR και σε 30 επαναλήψεις (10 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας) για την περιεκτικότητα σε Chl. Διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($P < 0.05$) μεταξύ των μέσων όρων σύμφωνα με το τεστ Duncan. Οι τιμές P της διπαραγοντικής ανάλυσης διακύμανσης παρουσιάζονται για τη 12^η και την 24^η ημέρα της πειραματικής περιόδου.

Χειρισμοί	RWC (%)	SGR (cm/day)	Chl (CCI)	SP (gr fw ⁻¹)	F_v/F_m
Ημέρα 0					
Μαυροδάφνη WW	91.22 $\pm$ 0.76a	4.912 $\pm$ 0.47 a	26.54 $\pm$ 1.36a	11.53 $\pm$ 1.06a	0.823 $\pm$ 0.0014a
Σαββατιανό WW	90.20 $\pm$ 0.96a	5.484 $\pm$ 0.29a	25.33 $\pm$ 1.16a	12.84 $\pm$ 1.64a	0.823 $\pm$ 0.0013a
Ημέρα 12					
Μαυροδάφνη WW	91.79 $\pm$ 0.76a	4.911 $\pm$ 0.31 a	26.06 $\pm$ 1.86	10.07 $\pm$ 1.62	0.833 $\pm$ 0.0032
DI ₅₀	85.72 $\pm$ 1.38b	2.025 $\pm$ 0.18c	28.20 $\pm$ 1.37	9.90 $\pm$ 0.09	0.833 $\pm$ 0.0036
DI ₂₅	84.59 $\pm$ 0.82b	1.604 $\pm$ 0.08c	24.66 $\pm$ 1.30	9.59 $\pm$ 1.19	0.836 $\pm$ 0.0031
Σαββατιανό WW	90.29 $\pm$ 0.96a	5.088 $\pm$ 0.29a	27.12 $\pm$ 1.77	11.13 $\pm$ 1.05	0.823 $\pm$ 0.0072
DI ₅₀	86.75 $\pm$ 1.96b	4.047 $\pm$ 0.26b	26.92 $\pm$ 1.70	10.42 $\pm$ 0.69	0.831 $\pm$ 0.0024
DI ₂₅	84.52 $\pm$ 0.76b	3.334 $\pm$ 0.34b	25.26 $\pm$ 1.01	13.37 $\pm$ 1.17	0.830 $\pm$ 0.0015
Ημέρα 24					
Μαυροδάφνη WW	90.61 $\pm$ 0.80a	4.616 $\pm$ 0.29a	27.83 $\pm$ 1.89a	10.37 $\pm$ 1.68ab	0.829 $\pm$ 0.0038a
DI ₅₀	83.52 $\pm$ 1.57b	1.665 $\pm$ 0.10c	27.45 $\pm$ 1.69a	6.97 $\pm$ 0.22bc	0.817 $\pm$ 0.0013a
DI ₂₅	76.65 $\pm$ 3.07c	1.033 $\pm$ 0.06d	19.30 $\pm$ 1.31b	5.80 $\pm$ 0.25c	0.785 $\pm$ 0.0022b
Σαββατιανό WW	89.31 $\pm$ 0.17a	4.504 $\pm$ 0.11a	26.08 $\pm$ 0.76a	11.30 $\pm$ 0.95a	0.826 $\pm$ 0.0021a
DI ₅₀	82.26 $\pm$ 1.66b	2.788 $\pm$ 0.18b	26.66 $\pm$ 1.22a	8.55 $\pm$ 1.29abc	0.825 $\pm$ 0.0036a
DI ₂₅	80.95 $\pm$ 1.80bc	2.052 $\pm$ 0.23c	25.10 $\pm$ 1.35a	8.88 $\pm$ 1.47abc	0.824 $\pm$ 0.0028a
Διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (Τιμές- P)					
Ημέρα 12					
Ποικιλίες (Π)	0.303	<0.001	0.350	0.066	0.064
Επίπεδο άρδευσης (W)	<0.001	<0.001	0.134	0.484	0.345
Π x E.A.	0.764	0.022	0.529	0.306	0.555
Ημέρα 24					
Ποικιλίες (Π)	0.684	<0.001	0.410	0.066	0.009
Επίπεδο άρδευσης (E.A.)	<0.001	<0.001	0.001	0.010	0.005
Π x E.A.	0.206	<0.001	0.037	0.696	0.010

στα δεδομένα για το ETR και τη Φ_{PSII} τη 12^η και την 24^η ημέρα του κύκλου που παρουσιάζεται στον πίνακα 6.2, δείχνει ότι τα επίπεδα της περιοριστικής υδατικής



Εκόνα 6.2. Μεταβολές (α,β) της φωτονικής συγκομιδής του PSII (Φ_{PSII}), (γ,δ) του ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR) και (ε,στ) της μη-φωτοχημικής απόσβεσης (NPQ) σε πλήρως αρδευόμενα φυτά (WW) και σε φυτά που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης (DI_{50} και DI_{25}) δύο ποικιλιών της αμπέλου, κατά τη διάρκεια 24 ημερών περιόδου υδατικής έλλειψης. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται στους τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2007. Οι μετρήσεις έγιναν το ηλιακό μεσημέρι, σε ένταση φωτός $1000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Κάθε τιμή αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας). Διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$. ns, μη σημαντικό.

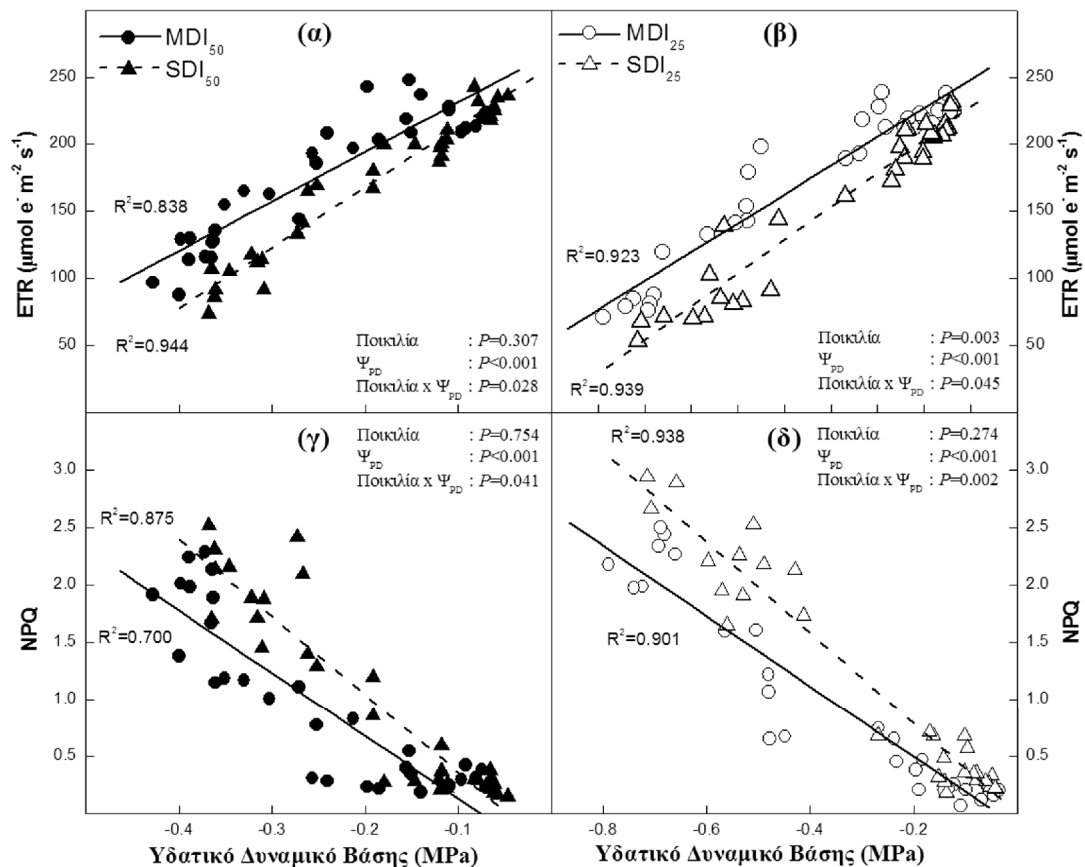
δίαιτας στις δύο ποικιλίες είχαν σημαντική επίδραση σ' αυτές τις παραμέτρους. Περαιτέρω, ο ETR και η Φ_{PSII} στα φυτά του χειρισμού DI_{25} και στις δύο ποικιλίες παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερη μείωση σε σύγκριση με τα φυτά του χειρισμού DI_{50} , κυρίως προς το τέλος της πειραματικής περιόδου. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των ποικιλιών και των επιπέδων άρδευσης που εφαρμόστηκαν (ποικιλία x επίπεδο άρδευσης) στο ETR και στη Φ_{PSII} , δεν ήταν σημαντική στο μέσον της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής δίαιτας, ωστόσο ήταν σημαντική την 24^η ημέρα. Στα φυτά του Σαββατιανού την 24^η ημέρα της περιόδου υδατικής έλλειψης, ο ETR και η Φ_{PSII} μειώθηκαν σημαντικά στο χειρισμό DI_{50} σε σύγκριση με τον αντίστοιχο των φυτών της Μαυροδάφνης, ενώ αντίθετα στο χειρισμό DI_{25} δεν υπήρχε καμιά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο μελετώμενες ποικιλίες.

Αμφότερες οι ποικιλίες είχαν την ικανότητα να αποσβένουν την περίσσεια ενέργεια (όπως υποδεικνύεται από την αύξηση της NPQ), αν και αυτή η ικανότητα μειώθηκε στα φυτά της Μαυροδάφνης στο τέλος της περιόδου της υδατικής έλλειψης (Εικόνα 6.2). Παρόμοια αύξηση της NPQ παρατηρήθηκε μετά από 12 ημέρες εφαρμογής των χειρισμών ελλειμματικής άρδευσης και στις δύο ποικιλίες, ενώ σημαντική αλληλεπίδραση παρουσιάστηκε μεταξύ της ποικιλίας και των επιπέδων άρδευσης (ποικιλία x επίπεδο άρδευσης) στις τιμές της NPQ στο τέλος της πειραματικής περιόδου. Ακολουθώντας τα φυτά του Σαββατιανού εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερη NPQ στους χειρισμούς DI_{50} και DI_{25} στο τέλος της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας σε σύγκριση με τους αντίστοιχους της Μαυροδάφνης. Ως εκ τούτου, ο χειρισμός (DI_{25}) προκαλεί σημαντικά υψηλότερες τιμές του NPQ για το μεγαλύτερο μέρος της περιόδου ξηρασίας από εκείνες τις τιμές του NPQ που προκαλούνται από το χειρισμό DI_{50} .

Στα φυτά του Σαββατιανού, ο ETR εμφάνισε μεγαλύτερη ευαισθησία στη μείωση του Ψ_{PD} απ' ό,τι στα φυτά της Μαυροδάφνης (σημαντική επίδραση ποικιλίας x Ψ_{PD} , Εικόνα 6.3) και στις δύο περιοριστικές υδατικές δίαιτες που εφαρμόστηκαν. Η αλληλεπίδραση μεταξύ της ποικιλίας και του Ψ_{PD} (ποικιλία x Ψ_{PD}) ήταν επίσης σημαντική στην περίπτωση της NPQ (Εικόνα 6.3), με τα φυτά του Σαββατιανού να εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερη NPQ από εκείνα της Μαυροδάφνης σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης.

Η αναπνοή (DR) αυξήθηκε και στις δύο ποικιλίες σε συνθήκες ήπιας υδατικής καταπόνησης (12^η ημέρα) και μειώθηκε στα επίπεδα του μάρτυρα (WW) σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (24^η ημέρα) ανεξαρτήτως του επιπέδου της

εφαρμοζόμενης περιοριστικής υδατικής διαίτας (Πίνακας 6.3). Η διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (two-way ANOVA) αποκάλυψε σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ποικιλιών και των επιπέδων άρδευσης ως προς τη φωτοαναπνοή (PR) στο τέλος της πειραματικής περιόδου (Πίνακας 6.3). Ωστόσο, η κύρια επίδραση της υδατικής διαίτας ήταν σημαντική στο μέσον (12^η ημέρα) και στο τέλος (24^η ημέρα) της



Εικόνα 6.3. Συμμεταβολή μεταξύ (α,β) του ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR) και του υδατικού δυναμικού βάσης του φύλλου (Ψ_{PD}) και (γ,δ) της φωτονικής συγκομιδής του PSII (Φ_{PSII}) και του Ψ_{PD} στις δύο ποικιλίες αμπέλου, της Μαυροδάφνης (M) και του Σαββατιανού (S) στους χειρισμούς DI_{50} και DI_{25} . Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται στους τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2007. Κάθε σημείο αντιστοιχεί σε μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές ημέρες (1,3,6,9,12,15,18,21,24) κάθε κύκλου ξηρασίας αντίστοιχα και αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE και για τους δύο άξονες (X, Y) 12 επαναλήψεις (4 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας). Στους χειρισμούς προσαρμόστηκαν γραμμές παλινδρόμησης ($P<0.05$). Στο φαίνονται οι τιμές του F και του P για κάθε κύρια επίδραση (ποικιλία και Ψ_{PD}) καθώς και της αλληλεπίδρασης τους που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της ANCOVA.

Πίνακας 6.3. Χρονική εξέλιξη σε 3 ημέρες μετρήσεων (0, 12 και 24) της αναπνοής (DR), της φωτοαναπνοής (PR) και των λόγων μεταξύ του ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR) και, αντίστοιχα, του φωτοσυνθετικού ρυθμού (P_N), (P_N+DR), και ($P_N+DR+PR$), σε πλήρως αρδευόμενα φυτά (WW) και σε φυτά που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης (DI_{50} και DI_{25}) των δύο ποικιλιών της αμπέλου, κατά τη διάρκεια 24 ημερών περιόδου υδατικής έλλειψης. Τα δεδομένα είναι μέσοι όροι $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο $\times$ 3 κύκλους ξηρασίας). Διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$ σύμφωνα με το τεστ Duncan. Οι τιμές P που προέκυψαν από την ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων εμφανίζονται για τη 12^η και την 24^η ημέρα της πειραματικής περιόδου.

Ποικιλία	Επίπεδα άρδευσης	Αναπνοή (DR) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Φωτοαναπνοή (PR) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	ETR/ P_n	ETR/(P_n +DR)	ETR/(P_n +DR+PR)
Ημέρα 0						
Μαυροδάφνη	WW	0.55 ± 0.076a	12.12 ± 0.33a	12.05	11.72	7.30
Σαββατιανό	WW	0.60 ± 0.073a	11.25 ± 0.24a	12.31	11.92	7.48
Ημέρα 12						
Μαυροδάφνη	WW	0.54 ± 0.075a	11.35 ± 0.67b c	12.23	11.88	7.37
	DI ₅₀	0.73 ± 0.120ab	10.46 ± 1.23b c	22.37	20.47	9.22
	DI ₂₅	0.96 ± 0.113b	14.39 ± 0.30a	27.84	24.72	9.10
Σαββατιανό	WW	0.63 ± 0.035ab	11.81 ± 0.63b c	13.51	12.99	7.53
	DI ₅₀	0.91 ± 0.074ab	10.22 ± 0.25c	15.34	14.26	7.96
	DI ₂₅	0.97 ± 0.083b	12.32 ± 0.51b	24.87	21.94	8.79
Ημέρα 24						
Μαυροδάφνη	WW	0.55 ± 0.035a	12.81 ± 0.64a	12.78	12.38	7.29
	DI ₅₀	1.16 ± 0.106bc	7.37 ± 0.08b	18.24	12.64	7.79
	DI ₂₅	0.78 ± 0.083ab	5.08 ± 0.15c	37.13	26.47	9.22
Σαββατιανό	WW	0.79 ± 0.084ab	12.75 ± 0.43a	13.80	13.16	7.56
	DI ₅₀	1.24 ± 0.113c	3.97 ± 0.42d	9.39	8.73	6.29
	DI ₂₅	0.91 ± 0.091abc	3.88 ± 0.20d	15.04	12.51	7.40
Διπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (Τιμές- <i>P</i>)						
Ημέρα 12						
Ποικιλίες (Π)		0.329	0.251			
Επίπεδο άρδευσης (Ε.Α.)		0.019	0.001			
Ε.Α. x Π		0.770	0.140			
Ημέρα 24						
Ποικιλίες (Π)		0.132	<0.001			
Επίπεδο άρδευσης (Ε.Α.)		0.002	<0.001			
Ε.Α. x Π		0.795	0.001			

περιόδου έλλειψης νερού. Ειδικότερα, η PR μειώθηκε και στις δύο ποικιλίες ως αντίδραση στην αύξηση της υδατικής καταπόνησης. Παρατηρήθηκε εξαίρεση στο χειρισμό DI_{25} των φυτών της Μαυροδάφνης τα οποία εμφάνισαν αύξηση στη PR στο μέσον της πειραματικής περιόδου, πράγμα που δεν συνέβη στα φυτά του Σαββατιανού. Τα επίπεδα της PR ήταν σημαντικά υψηλότερα στα φυτά της Μαυροδάφνης και στις δύο ελλειμματικές αρδεύσεις στο τέλος της περιόδου έλλειψης νερού (24^η ημέρα).

Γενικά, ο λόγος ETR/P_N και $ETR/(P_N+DR)$ αυξήθηκαν περισσότερο στα φυτά της Μαυροδάφνης ειδικά στο χειρισμό DI_{25} στο τέλος της πειραματικής περιόδου (24^η ημέρα). Επιπροσθέτως, στα φυτά του Σαββατιανού, ο λόγος $ETR/(P_N+DR+PR)$ παρέμεινε ανεπηρέαστος σε μεγάλο βαθμό κατά τη περίοδο εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης, ενώ αντίθετα η διακύμανση αυτού του λόγου στα φυτά της Μαυροδάφνης ήταν πιο έντονη και στις δύο εφαρμοζόμενες περιοριστικές υδατικές δίαιτες (Πίνακας 6.3).

6.4.3. Μεταβολές στη συγκέντρωση του H_2O_2 και της οξείδωσης των λιπαρών οξέων

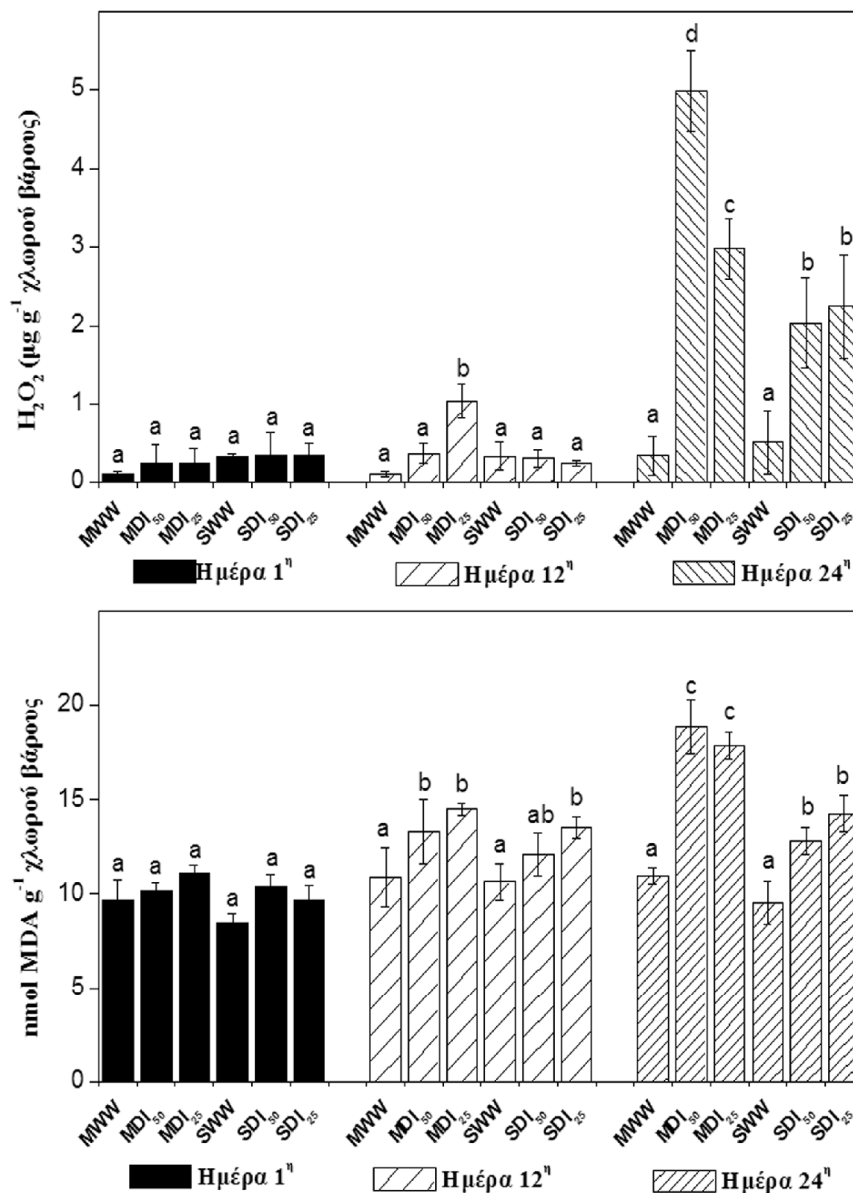
Για να διερευνηθεί η διαφορετική οξειδωτική ζημιά που αναπτύχθηκε λόγω έλλειψης νερού στις δυο ποικιλίες αμπέλου μετρήθηκε η περιεκτικότητα σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και η οξείδωση των λιπαρών οξέων στα φύλλα (Εικόνα 6.4). Σε συνθήκες πλήρους άρδευσης η συγκέντρωση του H_2O_2 στα φυτά του Σαββατιανού και της Μαυροδάφνης ήταν όμοια ($P > 0.05$).

Έπειτα από 12 ημέρες ελλειμματικής άρδευσης μόνο ο χειρισμός DI_{25} των φυτών της Μαυροδάφνης αύξησε σημαντικά τη συγκέντρωση του H_2O_2 . Στο τέλος της πειραματικής περιόδου (24^η μέρα), η συγκέντρωση H_2O_2 των φυτών που ανήκαν στους χειρισμούς της περιοριστικής υδατικής δίαιτας (DI_{50} DI_{25}) ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνες των φυτών του μάρτυρα (WW) και για τις δύο ποικιλίες. Αξίζει να σημειωθεί ότι στο χειρισμό DI_{50} στο τέλος της περιόδου καταγράφηκε η μεγαλύτερη συγκέντρωση H_2O_2 στα φυτά της Μαυροδάφνης, περίπου 10 φορές πάνω από το μάρτυρα. Επιπλέον, όσον αφορά τη διαφορά των δυο ποικιλιών, τα φυτά της Μαυροδάφνης εμφάνισαν υψηλότερη συγκέντρωση H_2O_2 στους χειρισμούς DI_{50} και DI_{25} στο τέλος της περιόδου εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης.

Τα επίπεδα της συγκέντρωσης του MDA σε όλους τους χειρισμούς περιοριστικής υδατικής δίαιτας που εφαρμόστηκαν αυξήθηκαν σημαντικά και στις δύο ποικιλίες στο μέσον της πειραματικής περιόδου με πιο εμφανή αύξηση στους χειρισμούς της Μαυροδάφνης (Εικόνα 6.4). Επιπρόσθετα την 24^η μέρα οι ελλειμματικές αρδεύσεις των δυο ποικιλιών ακολούθησαν παρόμοια τάση αύξησης της συγκέντρωσης του MDA σε σχέση με τη συγκέντρωση του H_2O_2 .

Ως εκ τούτου η σημαντική διαφορά της συγκέντρωσης του H_2O_2 που παρατηρήθηκε μεταξύ των χειρισμών DI_{50} και DI_{25} των φυτών της Μαυροδάφνης δεν αντικατοπτρίστηκε στη συγκέντρωση του MDA. Τα πλήρως αρδευόμενα φυτά εμφάνισαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις του MDA στα φύλλα. Εν τω μεταξύ, δεν

υπήρχαν σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του MDA μεταξύ των χειρισμών DI₅₀ και DI₂₅ για κάθε ποικιλία κατά τη διάρκεια της περιόδου εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης.



Εικόνα 6.4. Μεταβολές στη συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου H_2O_2 και της οξείδωσης των λιπαρών οξέων (MDA) στις δύο ποικιλίες αμπέλου, της Μαυροδάφνης (M) και του Σαββατιανού (S) που υποβλήθηκαν σε διαφορετικούς χειρισμούς υδατικής διαίτας (WW, DI₅₀ and DI₂₅). Κάθε κατακόρυφη μπάρα αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο $\times$ 3 κύκλους ξηρασίας). Σε κάθε ημέρα δειγματοληψίας, τα διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας $P \leq 0.05$.

6.4.4. Ενεργότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων στο φύλλο

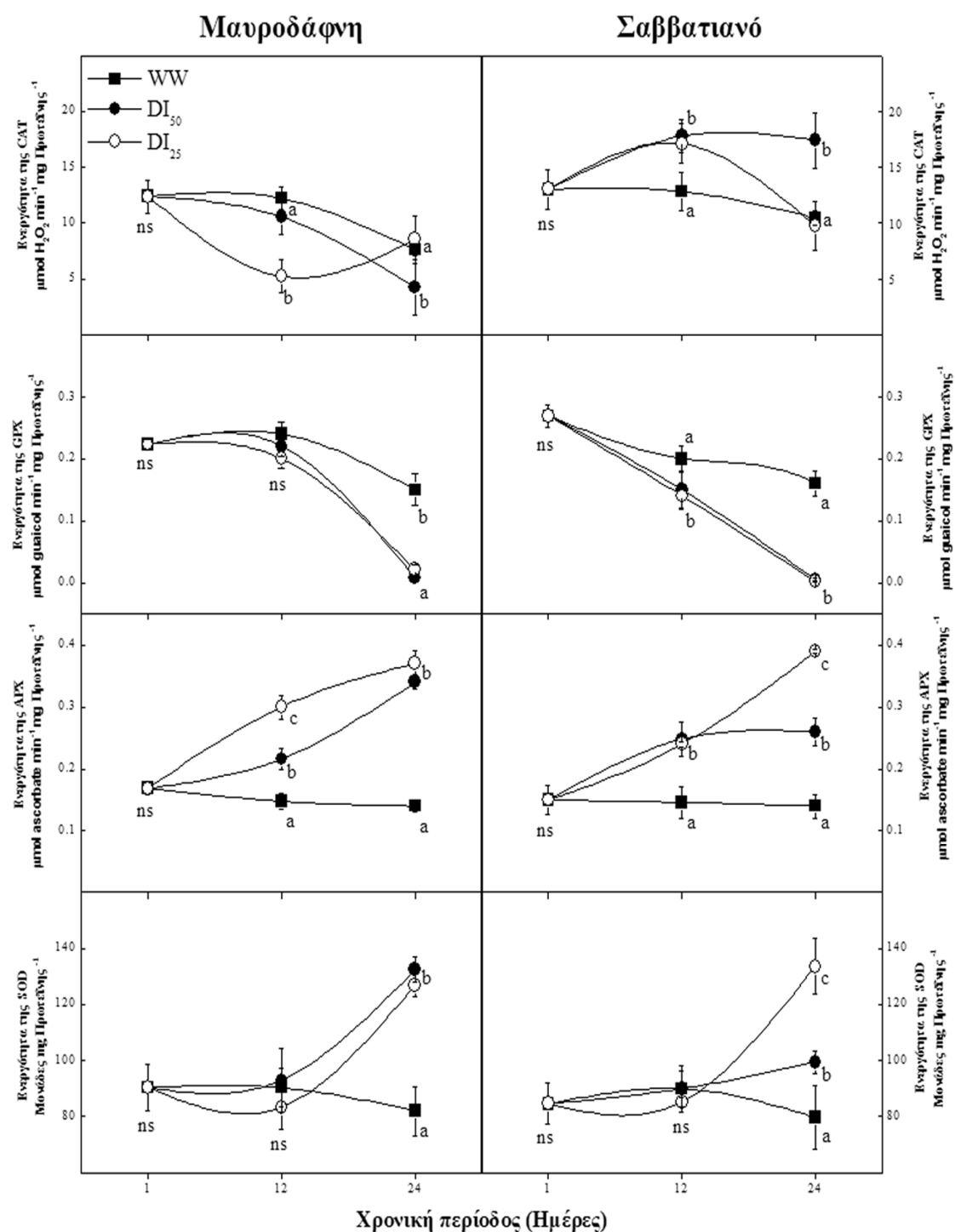
Στα φυτά του Σαββατιανού η ενεργότητα της CAT αυξήθηκε σταδιακά κατά τη διάρκεια της περιόδου έλλειψης νερού, ενώ αντίθετα σημειώθηκε μείωση στην ενεργότητα αυτού του ενζύμου στα φυτά της Μαυροδάφνης (Εικόνα 6.5). Η δραστικότητα της CAT μεταξύ των δυο ποικιλιών, ήταν πολύ διαφορετική σε όλους τους χειρισμούς περιοριστικής υδατικής δίαιτας που εξετάστηκαν, όπως προκύπτει από τη σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των ποικιλιών και των επιπέδων άρδευσης (ποικιλία x επίπεδο άρδευσης) σχετικά με την ενεργότητα της CAT καθ' όλη την πειραματική περίοδο (Πίνακας 6.1). Σε συνθήκες ήπιας υδατικής καταπόνησης (ημέρα 12^η) στο χειρισμό DI₂₅ η ενεργότητα της CAT των φυτών του Σαββατιανού αυξήθηκε σημαντικά, στη συνέχεια η CAT μειώθηκε την 24^η ημέρα φθάνοντας στα επίπεδα του μάρτυρα.

Από την άλλη πλευρά τα φυτά της Μαυροδάφνης ακολούθησαν ένα εντελώς αντίθετο σχέδιο στην ενεργότητα της CAT στον ίδιο χειρισμό. Ειδικότερα η ενεργότητα της CAT τη 12^η μέρα μειώθηκε σημαντικά και έπειτα αυξήθηκε την 24^η ημέρα φθάνοντας τα επίπεδα του μάρτυρα. Η διαφορά στην ενεργότητα της CAT ήταν ιδιαίτερα εμφανής στο χειρισμό DI₅₀ σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (ημέρα 24^η) και στο χειρισμό DI₂₅ σε συνθήκες ήπιας υδατικής καταπόνησης (ημέρα 12^η) της οποίας ένα εντελώς αντίθετο σχέδιο αναπτύχθηκε από τις δύο ποικιλίες.

Ακολούθως την 24^η ημέρα η ενεργότητα της CAT αυξήθηκε 1.5 φορές αυτή του μάρτυρα στο χειρισμό DI₅₀ των φυτών του Σαββατιανού, ενώ στον ίδιο χειρισμό η ενεργότητα της CAT των φυτών της Μαυροδάφνης ήταν 0.5 φορές αυτή του μάρτυρα. Το ίδιο σχέδιο στην ενεργότητα της CAT αναπτύχθηκε μεταξύ των δυο ποικιλιών στο χειρισμό DI₂₅ στο μέσον της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας (ημέρα 12^η).

Η ενεργότητα της GPX ήταν αντιστρόφως ανάλογη με την υδατική καταπόνηση και στις δύο ποικιλίες, δείχνοντας βαθμιαία μείωση ειδικότερα προς το τέλος της πειραματικής περιόδου σ' όλους τους χειρισμούς της ελλειμματικής άρδευσης (Εικόνα 6.5). Η πτώση στην ενεργότητα της GPX στα φυτά του Σαββατιανού προηγήθηκε της αντίστοιχης των φυτών της Μαυροδάφνης κατά τη διάρκεια της περιόδου έλλειψης νερού, φθάνοντας σε αμελητέες τιμές και στις δύο ποικιλίες στο τέλος της περιόδου ξηρασίας.

Η ενεργότητα της APX στον ιστό του φύλλου αυξήθηκε αισθητά στο μέσον της πειραματικής περιόδου στους χειρισμούς της ελλειμματικής άρδευσης, ενώ η αύξηση



Εικόνα 6.5. Επίδραση των χειρισμών υδατικής διαίτας (WW, DI₅₀, DI₂₅) στην ενεργότητα της καταλάσης (CAT), της υπεροξειδάσης του γλουταθείου (GPX), της ασκορβικής υπεροξειδάσης (APX) και της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) στις δυο ποικιλίες αμπέλου. Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλοι ξηρασίας). Διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των χειρισμών σε επίπεδο σημαντικότητας $P \leq 0.05$. ns, μη στατιστικά σημαντικό.

ήταν εντονότερη την 24^η ημέρα εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας και στις δύο ποικιλίες. Ειδικότερα, σε έντονη υδατική καταπόνηση (24^η ημέρα), τα φύλλα των φυτών της Μαυροδάφνης και του Σαββατιανού παρουσίασαν 2.3 και 2.6 φορές αντίστοιχα μεγαλύτερη συγκέντρωση ενεργότητας της APX σε σύγκριση με τα φυτά του μάρτυρα (WW) στον χειρισμό DI₂₅. Επιπλέον η ενεργότητα της APX στο χειρισμό DI₅₀ στο τέλος του κύκλου ελλειμματικής άρδευσης έδειξε μικρότερη αύξηση στα φυτά του Σαββατιανού σε σύγκριση με την αντίστοιχη των φυτών της Μαυροδάφνης στον ίδιο χειρισμό. Δεν παρατηρήθηκε καμιά διαφορά στην ενεργότητα της SOD μεταξύ των δύο μελετώμενων ποικιλιών και μεταξύ όλων των χειρισμών στη 12^η ημέρα της πειραματικής περιόδου (Εικόνα 6.5). Ωστόσο, η ενεργότητα της SOD στους χειρισμούς της περιοριστικής υδατικής δίαιτας αυξήθηκε σημαντικά και στις δύο ποικιλίες έπειτα από 24 ημέρες ελλειμματικής άρδευσης. Οι δύο ποικιλίες διαφοροποιήθηκαν ως προς την αντίδραση τους στις διαφορετικούς χειρισμούς στο τέλος της πειραματικής περιόδου όπως φαίνεται από τη σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των ποικιλιών και των επιπέδων άρδευσης (ποικιλία x επίπεδο άρδευσης) στο πίνακα 6.2. Η διαφορά μεταξύ των δύο ποικιλιών έλαβε χώρα στο χειρισμό DI₅₀, με σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση στην ενεργότητα της SOD στα φυτά της Μαυροδάφνης, περίπου 1.4 φορές μεγαλύτερη για τα φυτά της Μαυροδάφνης.

6.5 Συζήτηση

Το πείραμα αυτό επιβεβαιώνει τη μεγαλύτερη πλαστικότητα στην έλλειψη νερού που εμφανίζουν τα φυτά του Σαββατιανού, λαμβάνοντας υπόψη ότι αυτή η ποικιλία αμπέλου προέρχεται από πιο άνυδρα περιβάλλοντα (Βλέπε Κεφ. 4 και Κεφ. 5). Η διαφοροποίηση της υδατικής κατάστασης των φυτών των δύο ποικιλιών, όπως υπολογίστηκε από το σχετικό υδατικό περιεχόμενο (RWC) στο τέλος της περιόδου εφαρμογής περιοριστικής υδατικής δίαιτας, κάνει αυτή την παράμετρο εξίσου καλό δείκτη στο χαρακτηρισμό των ποικιλιών με διαφορετική ικανότητα προσαρμογής στην ξηρασία (Πίνακας 6.2). Μια άλλη ένδειξη για τη διαφορά της αντοχής στην ξηρασία μεταξύ των δύο ποικιλιών, αποτέλεσε ο ρυθμός ανάπτυξης του βλαστού. Είναι γνωστό ότι κατά τη διάρκεια της ξηρασίας, η βλαστική ανάπτυξη αποτελεί τον πιο ευαίσθητο δείκτη της μείωσης του υδατικού περιεχομένου των φυτικών ιστών (Hsiao 1973; Pellegrino et al., 2005). Στη μελέτη αυτή ο ρυθμός ανάπτυξης του βλαστού των δύο ποικιλιών έδειξε διαφορετικές ευαισθησίες στην υδατική καταπόνηση και στις δύο περιοριστικές υδατικές δίαιτες που εφαρμοστήκαν (Πίνακας 6.2). Ειδικότερα τα φυτά

της Μαυροδάφνης, εμφάνισαν μεγαλύτερη ευαισθησία και στις δύο περιοριστικές δόσεις που εφαρμόστηκαν. Η μείωση του ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων, που συμβαίνει σαν αποτέλεσμα της μείωσης στην αφομοίωση του CO₂ σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, συνδέθηκε στενά με τα επίπεδα της περιοριστικής υδατικής δόσης που εφαρμόστηκαν και στις δύο ποικιλίες (Πίνακας 6.1).

Στην παρούσα μελέτη, η αύξηση της μη-φωτοχημικής απόσβεσης το μεσημέρι εμφανίζει κάποιες διαφορές στη στρατηγική φωτοπροστασίας μεταξύ των δύο ποικιλιών της αμπέλου. Τα φυτά του Σαββατιανού εμφάνισαν υψηλότερη ευαισθησία στον περιορισμό του ETR και της απόσβεσης της απορροφούμενης φωτεινής ενέργειας σε σχέση με τη μείωση του Ψ_{PD} και στα δύο επίπεδα ελλειμματικής άρδευσης (Εικόνα 6.3). Τα δεδομένα αυτά φανερώνουν τη μεγάλη προσαρμοστική ικανότητα των φυτών του Σαββατιανού σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης. Η διαφορετική ικανότητα για φωτο-προστασία του φωτοσυνθετικού μηχανισμού έχει παρατηρηθεί επίσης και σε άλλες μελέτες με διαφορετικά φυτικά είδη που υπέστησαν συνθήκες υδατικής έλλειψης (Sanchez-Diaz et al., 2007; Peguero-Pina et al., 2009). Επιπλέον, οι Medrano et al. (2002) βρήκαν μεγαλύτερη φωτο-προστατευτική ικανότητα στην ποικιλία αμπέλου Manto Negro απ' ό,τι στην ποικιλία Tempranillo σε συνθήκες ξηρασίας. Ωστόσο, η φωτονιακή συγκομιδή του PSII (Φ_{PSII}) ήταν παρόμοια στις δύο ποικιλίες στο χειρισμό άρδευσης DI₂₅ στα τελικά στάδια της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δόσης, όταν τα φυτά υποβλήθηκαν σε παρατεταμένες συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (Εικόνα 6.2). Αυτή η συμπεριφορά συνέπεσε με τη μείωση της φωτοχημικής αποτελεσματικότητας του PSII (F_v/F_m) στα φυτά της Μαυροδάφνης. Το ερώτημα που τίθεται απ' αυτά τα δεδομένα αφορά την επίτευξη ίδιας μείωσης της Φ_{PSII} και ETR με ταυτόχρονη σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση της θερμικής απόσβεσης (NPQ) στα φυτά του Σαββατιανού σε σύγκριση με τα φυτά της Μαυροδάφνης. Φαίνεται ότι η σημαντικά χαμηλότερη συγκέντρωση χλωροφυλλών που παρατηρήθηκε στα φύλλα της Μαυροδάφνης (Πίνακας 6.2) μείωσε την απορρόφηση του φωτός, πράγμα που οδήγησε στη ρυθμιζόμενη μείωση της Φ_{PSII} και του ETR στα καταπονημένα φυτά (Chen and Cheng 2003). Επιπλέον, η ταυτόχρονη μείωση των χλωροφυλλών με τη μείωση του λόγου F_v/F_m υπο υδατική καταπόνηση πιθανόν να λειτουργεί ως ρυθμιστικός μηχανισμός μείωσης των φωτονίων που απορροφούνται από τα φύλλα (Kyparissis et al., 2000; Munne-Bosch and Alegre 2000; Balaguer et al., 2002; Galmés et al., 2007). Η ρύθμιση των επιπέδων των χλωροφυλλών έχει αναφερθεί σε ποικιλίες αμπέλου. Οι Maroco et al (2002) και Flexas et al (2000) βρήκαν σημαντική

μείωση των ολικών χλωροφυλλών στα φυτά των ποικιλιών Tempranillo και Sauvignon αντίστοιχα που αναπτύχθηκαν σε συνθήκες υδατικής έλλειψης. Αντίθετα σε άλλες μελέτες που υλοποιήθηκαν στην ίδια ποικιλία Tempranillo (Medrano et al., 2002), όπως και σε άλλες ποικιλίες αμπέλου αναφέρθηκε παρόμοια περιεκτικότητα σε χλωροφύλλες στα πλήρως αρδευόμενα και στα μη αρδευόμενα φυτά (Chaumont et al., 1997).

Με βάση τα παραπάνω προκύπτουν δύο μηχανισμοί: Ο πρώτος μηχανισμός συνίσταται στη μείωση της απορρόφησης της φωτεινής ενέργειας μέσω της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών ανά μονάδα επιφάνειας και ο δεύτερος μηχανισμός στην αποτελεσματικότερη θερμική απόσβεση της απορροφούμενης ενέργειας. Αμφότεροι οι μηχανισμοί μειώνουν τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα μέσω της μείωσης του ETR. Παρόλα αυτά, η απώλεια της χλωροφύλλης θεωρείται ως αρνητική συνέπεια των καταπονήσεων, λόγω του ότι αποτελεί πρωταρχικό στόχο της οξειδωτικής ζημιάς (Kato and Shimizu 1985; Smirnov 1993). Η μείωση επίσης του λόγου F_v/F_m που μετρήθηκε πριν την ανατολή του ηλίου στα φυτά της Μαυροδάφνης (Πίνακας 6.2) μπορεί να είναι ένδειξη φωτο-βλάβης έπειτα από την έντονη υδατική καταπόνηση που υποβλήθηκαν τα φυτά του χειρισμού DI₂₅. Η μείωση του λόγου F_v/F_m ήταν γενικώς μικρή, ωστόσο σημαντική, δείχνοντας μικρή φωτοανασταλτική επίδραση της υδατικής καταπόνησης. Λαμβάνοντας υπόψη ότι το μεγαλύτερο μέρος της φωτοσυνθετικής ικανότητας και των φωτοσυνθετικών χρωστικών επανήλθε στα επίπεδα του μάρτυρα μετά την επαναενυδάτωση των φυτών, δεν ερμηνεύτηκε η μείωση του λόγου F_v/F_m στα φυτά της Μαυροδάφνης ως μόνιμη ζημιά του φωτοσυνθετικού μηχανισμού. Η διαπίστωση αυτή ενισχύει την άποψη ότι το φαινόμενο της μόνιμης φωτοαναστολής, είναι σπάνιο στα φυτά της αμπέλου σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Flexas et al., 1999b; Flexas et al., 2002; Maroco et al., 2002; de Souza et al., 2003). Η άποψη ότι η αποικοδόμηση των χλωροφυλλών σε συνδυασμό με τη μερική απενεργοποίηση του PSII, λειτουργεί επιπρόσθετα ως φωτο-προστατευτικός μηχανισμός στα φυτά της Μαυροδάφνης είναι ένα θέμα που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Ενώ η φωτοαναπνοή μειώθηκε σε απόλυτες τιμές ο λόγος PR/P_N αυξήθηκε σε συνθήκες παρατεταμένης υδατικής καταπόνησης (Πίνακας 6.3). Αυτά τα αποτελέσματα, αποδεικνύουν ότι η φωτοαναπνοή παίζει σημαντικό ρόλο στη φωτοπροστασία (Kozaki and Takeba 1996; Osmond et al., 1998; Park et al., 1996; Lawlor 2002), βοηθώντας στη διατήρηση υψηλού ETR και της Φ_{PSII} και στις δύο ποικιλίες, όταν η υδατική καταπόνηση επιβάλλεται με γρηγορότερο ρυθμό. Στα φυτά

του Σαββατιανού, η φωτοαναπνοή μειώθηκε εμφανώς και στις δυο περιοριστικές υδατικές δίαιτες που εφαρμοστήκαν στο τέλος της πειραματικής περιόδου, ωστόσο αυτή η έλλειψη αποτελεσματικής φωτοπροστασίας αντισταθμίστηκε με τη αύξηση της NPQ. Αντιμετωπίζοντας τις ίδιες συνθήκες υδατικής έλλειψης με τα φυτά του Σαββατιανού, τα φυτά της Μαυροδάφνης μείωσαν το φωτοαναπνευστικό ρυθμό σε μικρότερο βαθμό με την αύξηση της υδατικής καταπόνησης. Αυτό κατέστησε το ρόλο αυτής της εναλλακτικής οδού απόσβεσης των ηλεκτρονίων πολύ σημαντικό στη φωτοπροστασία γι' αυτή την ποικιλία. Η σταθερότητα του λόγου $ETR/(P_n+DR+PR)$ στο τέλος της πειραματικής περιόδου καταδεικνύει ότι το άθροισμα της φωτοσύνθεσης, της αναπνοής και της φωτοαναπνοής, ευθύνεται για την κατανάλωση των ηλεκτρονίων που μεταφέρονται στη φωτοσυνθετική αλυσίδα (Valentini et al., 1995). Ωστόσο, η έλλειψη ισορροπίας μεταξύ των ηλεκτρονίων που παράγονται φωτοσυνθετικά και καταναλώνονται στη φωτοσύνθεση, στην αναπνοή και στη φωτοαναπνοή ήταν πιο εμφανής στα φυτά της Μαυροδάφνης. Αυτό υποδηλώνει ότι εναλλακτικές δεξαμενές για τα ηλεκτρόνια, όπως η αντίδραση Mehler μπορούν να παίζουν σημαντικότερο ρόλο σ' αυτή την ποικιλία ειδικότερα σε πιο έντονες συνθήκες καταπόνησης. Συνέπεια της ύπαρξης της αντίδρασης Mehler σ' αυτή την ποικιλία είναι ότι δυνητικά εμπεριέχει έναν κίνδυνο οξειδωτικής βλάβης όταν τα περίσσεια ηλεκτρόνια αντιδράσουν με το O_2 , παράγοντας ROS. Επίσης πρέπει να λάβουμε υπόψη ότι η παραγωγή καταστρεπτικών ποσοτήτων αυτών των ριζών δεν απαιτεί απαραίτητως μεγάλη ροή ηλεκτρονίων (Lawlor 2002).

Πολλές μελέτες έχουν δείξει, οξείδωση των λιπαρών οξέων στους φυτικούς ιστούς σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Price and Hendry 1991; Fu and Huang 2001; Sofo et al., 2004; Bacelar et al., 2006). Η οξείδωση των λιπαρών οξέων είναι μια φυσική μεταβολική διαδικασία σε κανονικές αερόβιες συνθήκες και αποτελεί μια από τις πιο διερευνημένες δράσεις των ROS στη δομή και στη λειτουργία των μεμβρανών (Blokhina et al., 2003). Δεδομένου ότι όλες οι κυτταρικές μεμβράνες αποτελούν πρωταρχικούς στόχους των ROS, η διατήρηση της ακεραιότητας και της σταθερότητας τους, υπό συνθήκες έλλειψης νερού, αποτελούν ένα σημαντικό συστατικό της αντοχής των φυτών στην ξηρασία (Bacelar et al., 2006). Η μαλονοδιαλδεϋδη (MDA) είναι μια αλδεϋδη χαμηλού μοριακού βάρους με τρία άτομα άνθρακα που παράγεται από την επίθεση των ριζών στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και η συγκέντρωσή της χρησιμοποιείται ως δείκτης του βαθμού της οξείδωσης των λιπαρών οξέων που προκαλείται από την ξηρασία και την οξειδωτική καταπόνηση (Smirnov 1993; Moran et

al., 1994; Zhang and Kirkham 1996; Egert and Tevini 2002; Hanaux et al., 2005; Alboresi et al., 2008). Τα αποτελέσματα έδειξαν διαφορετικά επίπεδα ευαισθησίας στην οξειδωση των λιπαρών οξέων μεταξύ των δύο ποικιλιών. Στην πραγματικότητα, τα φυτά του Σαββατιανού εμφάνισαν υψηλή αντίσταση στην οξειδωση των λιπαρών οξέων στα δύο επίπεδα ελλειμματικής άρδευσης, όπως παρατηρήθηκε από τη χαμηλότερη αύξηση της συγκέντρωσης του MDA. Η πιο έντονη οξειδωτική καταπόνηση που εμφάνισαν τα φυτά της Μαυροδάφνης στο τέλος της πειραματικής περιόδου μπορεί να εξηγηθεί από τη σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του H_2O_2 όπως παρατηρήθηκε στα φύλλα, πιθανόν λόγω της αυξημένης φωτοαναπνοής. Σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης η διατήρηση υψηλών επιπέδων του ETR συνεπάγεται αύξηση στη φωτοαναπνοή οδηγώντας με τη σειρά της σε μεγαλύτερη συσσώρευση αναγωγικής δύναμης στα φυτά της Μαυροδάφνης, σε σχέση με τα φυτά του Σαββατιανού. Αυτό μπορεί να προκαλέσει πλεόνασμα φωτοσυνθετικών ηλεκτρονίων στην πορεία τους προς το οξυγόνο. Κατά συνέπεια, στα φυτά της Μαυροδάφνης μπορεί να σχηματιστούν περισσότερες ενεργές ρίζες οξυγόνου, ειδικά στα φυτά του χειρισμού DI_{50} των οποίων η φωτοαναπνοή διατηρήθηκε σε υψηλά επίπεδα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα κατά τη διάρκεια της περιόδου έλλειψης νερού. Ωστόσο, δεν μπορεί να αποκλειστεί η ύπαρξη διαφορετικών ενζυματικών και μη ενζυματικών μονοπατιών στην παραγωγή των ROS, στο χειρισμό της πιο έντονης περιοριστικής υδατικής δίαιτας (DI_{25}), που να προκαλούν στον ίδιο βαθμό οξειδωση των λιπαρών οξέων με τα φυτά του χειρισμού DI_{50} . Η οξειδωση των λιπαρών οξέων μαζί με την αποικοδόμηση των χρωστικών από τις ROS που βρέθηκαν στα φυτά του χειρισμού DI_{25} , μπορεί να αποτελέσουν δείκτες αθροιστικών συμπτωμάτων της οξειδωτικής καταπόνησης στα φυτά της Μαυροδάφνης (Seel et al., 1992; Moran et al., 1994; Egert and Tevini 2002). Το ενδεχόμενο ότι η μείωση της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών να είναι αποτέλεσμα οξειδωτικής καταπόνησης που οφείλεται στη δράση των ROS ή/και να αποτελεί μηχανισμό προσαρμογής στην ξηρασία που αναπτύσσεται από τα φυτά της Μαυροδάφνης, δεν μπορεί να αποκλειστεί.

Η ικανότητα διατήρησης υψηλών επιπέδων αντιοξειδωτικών και/ή ικανότητα της αύξησης των αντιοξειδωτικών ενζύμων συνήθως χαρακτηρίζουν τη δυνατότητα των φυτικών ειδών ή των ποικιλιών για την προσαρμογή τους σε διάφορες περιβαλλοντικές καταπονήσεις όπως η ξηρασία (Smirnoff 1995; Ramachandra et al., 2004; Turkan et al., 2005). Στα φυτά της Μαυροδάφνης η μειωμένη ικανότητα της CAT να εξουδετερώνει το ενεργό οξυγόνο, πιθανόν είχε ως αποτέλεσμα την υψηλή συγκέντρωση του H_2O_2 που

παράχθηκε από τη φωτοαναπνοή. Ωστόσο, και οι δύο ποικιλίες είχαν την ικανότητα να διατηρούν την ενεργότητα της CAT κοντά στα επίπεδα του μάρτυρα σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης. Η CAT έχει υψηλό ρυθμό αντίδρασης αλλά σχετικά χαμηλή συγγένεια με το H_2O_2 (Willekens et al., 1997) και με την παρουσία φωτός είναι ασταθής και φωτο-απενεργοποιείται (Hertwig et al., 1992). Η μείωση στην ενεργότητα της CAT στο μέσον και η αύξηση της στο τέλος της περιόδου ελλειμματικής άρδευσης, αποκάλυψε ότι η CAT αποτελεί έναν αποτελεσματικό εξουδετερωτή του H_2O_2 όταν υψηλές συγκεντρώσεις H_2O_2 παράγονται σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (24^η ημέρα) τουλάχιστον στα φυτά της Μαυροδάφνης (Willekens et al., 1997). Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώνεται από τις σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις H_2O_2 που βρέθηκαν στα φυτά του χειρισμού DI₂₅ σε σχέση με τα φυτά του χειρισμού DI₅₀ στο τέλος της περιόδου ξηρασίας. Επιπλέον, η μείωση της ενεργότητας της CAT στα φυτά του χειρισμού DI₅₀ την 24^η ημέρα του πειράματος πιθανόν να είναι μερικώς υπεύθυνη για την υψηλή συγκέντρωση του H_2O_2 , η οποία με τη σειρά της προκαλεί οξείδωση των λιπαρών οξέων στα φύλλα των φυτών της Μαυροδάφνης. Στα φυτά του Σαββατιανού, η ενεργότητα της CAT διατηρήθηκε σε υψηλά επίπεδα προστατεύοντας μ' αυτόν τον τρόπο πιο αποτελεσματικά το φύλλο από την οξειδωτική καταπόνηση που προκαλείται από το H_2O_2 το οποίο παράγεται στα περοξεισωμάτια κατά την οξείδωση του γλυκολικού οξέος. Παραταύτα, η όποια μείωση της ενεργότητας της CAT που παρατηρήθηκε στους χειρισμούς της περιοριστικής υδατικής δίαιτας των δύο ποικιλιών, πιθανόν να οφείλεται σε απενεργοποίηση και αποικοδόμηση αυτού του ενζύμου (Feierabend et al., 1992; Sofo et al., 2005). Η συνεχιζόμενη πρωτεϊνοσύνθεση είναι αναγκαία για τη διατήρηση της ενεργότητας της καταλάσης, επειδή αυτό το ένζυμο υφίσταται συνεχείς αναγεννήσεις στο φώς (Foyer and Noctor 2000). Στην παρούσα μελέτη η διαταραχή της πρωτεϊνοσύνθεσης κατά τη διάρκεια της ξηρασίας ήταν περισσότερο εμφανής στα φυτά της Μαυροδάφνης, η οποία είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της συνολικής συγκέντρωσης και τελικά της ενεργότητας της CAT (Hertwig et al., 1992). Εκτός από την εξουδετέρωση των ROS, το αντιοξειδωτικό σύστημα μπορεί να συμμετέχει στη ρύθμιση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης των κυττάρων και να διευκολύνει τη μεταφορά σημάτων που έχουν σχέση με μεταβολές της κατάστασης αυτής. Η μείωση στην ενεργότητα της CAT στα φυτά της Μαυροδάφνης που έχει ως συνέπεια τη συσσώρευση H_2O_2 μπορεί επίσης να παίζει έμμεσα ρυθμιστικό ρόλο στην αποικοδόμηση των χλωροφυλλών. Δεδομένου ότι το H_2O_2 , δυνητικά και η CAT, λαμβάνουν χώρα σε πολύ γνωστές διεργασίες απόκρισης των φυτών στην υδατική

καταπόνηση, όπως είναι η αντίδραση υπερευαισθησίας (συστημική επίκτητη αντοχή-systemic acquired resistance, SAR) (Chen et al., 1993; Rao et al., 1997; Levine et al., 1994; Dat et al., 1998; Dat et al., 2000; Neil et al., 2002), η παροδική καταστολή της ενεργότητας της CAT κατά τη διάρκεια της έλλειψης νερού μπορεί να έχει βραχυπρόθεσμα στρατηγική σημασία. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μείωση της περιεκτικότητας της χλωροφύλλης, η οποία αποτελεί τον κύριο στόχο των ROS (Peguero-Pina et al., 2009), πιθανόν επιτρέπει στα φυτά της Μαυροδάφνης να διαχειριστούν προσεκτικά την προσπίπτουσα φωτεινή ακτινοβολία που απαιτείται για το μεταβολισμό, οδηγώντας σε ισοζύγιο προσφοράς και ζήτησης αποφεύγοντας μ' αυτόν τον τρόπο το φαινόμενο της μόνιμης φωτοαναστολής. Είναι ενδιαφέρον να τονιστεί ότι η CAT αποσυνθέτει το H_2O_2 σε νερό και σε μοριακό οξυγόνο, χωρίς να καταναλώνει αναγωγικά μέσα, κατά συνέπεια μπορεί να προμηθεύσει στα φυτικά κύτταρα ένα ενεργειακά αποδοτικό μηχανισμό για την απομάκρυνση του H_2O_2 (Scandalios et al., 1997). Επομένως οι καταλάσες θα μπορούσαν να λειτουργούν ως ρυθμιστικός παράγοντας για τον έλεγχο των συνολικών επιπέδων του H_2O_2 που καταλήγουν σε διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα στη διάρκεια της υδατικής καταπόνησης και του φυσιολογικού μεταβολισμού (Willekens et al., 1997; Mittler 2002). Στο σύνολό τους αυτές οι παρατηρήσεις παρέχουν σημαντικά στοιχεία που αποδεικνύουν ότι αυτό το αντιοξειδωτικό ένζυμο διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην προσαρμογή των φυτών στην ξηρασία (Foyer and Noctor 2000). Μείωση στην ενεργότητα της CAT ως απόκριση στην παρατεταμένη ξηρασία έχει αναφερθεί και σε άλλα φυτικά είδη (Chowdhury and Choudhuri 1985; Hertwig et al., 1992; Moran et al., 1994; Fu and Huang 2001; Radotic et al., 2000; Sharma and Dubey 2005). Οι Zhang and Kirkham (1996) έχουν αναφέρει επίσης ότι η ενεργότητα της CAT δεν επηρεάστηκε από συνθήκες ήπιας υδατικής καταπόνησης. Σε άλλες μελέτες έχει καταγραφεί αύξηση στην ενεργότητα της CAT (Sofa et al., 2005; Wang et al., 2008) καθώς επίσης και διαφοροποίηση της ρύθμισης της μεταξύ των ποικιλιών σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Pinheiro et al., 2004; Ramachandra et al., 2004). Φαίνεται ότι η επίδραση του χειρισμού, η γενετική παραλλακτικότητα, η ένταση της υδατικής καταπόνησης και οι πειραματικές συνθήκες ρυθμίζουν την ενεργότητα της CAT με μοναδικό τρόπο, έτσι ώστε να είναι δύσκολο να καθοριστεί η επίδραση ενός παράγοντα.

Οι υπεροξειδάσες στην άμπελο δείχνουν ένα υψηλό βαθμό πολυμορφισμού (Ros Barcelo et al., 2003), η έκταση του οποίου μπορεί να διαφοροποιείται ανάλογα με την

ποικιλία, με το όργανο του φυτού ακόμη και με το στάδιο ανάπτυξης (Perez and Burgos 2004). Η διαπίστωση ότι η συγκεκριμένη ενεργότητα της GPX μειώνεται με την ξηρασία και στις δύο ποικιλίες (Εικόνα 6.5), δείχνει ότι αυτό το ένζυμο δεν έχει σημαντική αντιοξειδωτική λειτουργία στην άμπελο. Αυτή η διαπίστωση συνάδει με τις προηγούμενες μελέτες, στις οποίες η GPX φάνηκε να συμμετέχει όχι μόνο στην εξουδετέρωση του H_2O_2 , αλλά και στην κυτταρική ανάπτυξη των φυτών (Kochhar et al., 1979; Mac Adam et al., 1992; Fry 1995; Bacon et al., 1997; Ros Barcelo et al., 2003). Αποδεικτικά στοιχεία που ελήφθησαν από άλλα φυτικά είδη έδειξαν ότι η GPX παίζει σημαντικό ρόλο στη λιγνοποίηση, στην εναπόθεση σουβερίνης στα κυτταρικά τοιχώματα και στη διαμόρφωση της δομής των κυτταρικών τοιχωμάτων (Passardi et al., 2005).

Η συμμετοχή της APX σε μια από τις κυριότερες οδούς εξουδετέρωσης των ROS από τα φυτά (του κύκλου της γλουταθειόνης και του ασκορβικού), που απαντώνται σχεδόν σε όλα τα κυτταρικά διαμερίσματα, καθώς και υψηλή συγγένεια της APX με το H_2O_2 , καταδεικνύει το σημαντικό ρόλο αυτού του ενζύμου στον έλεγχο των επιπέδων του H_2O_2 (Mittler 2002; Hernandez and Almansa 2002; Foyer and Noctor 2005). Βρέθηκε σημαντική αύξηση στην ενεργότητα της APX και στις δύο ποικιλίες σ' όλα τα επίπεδα της περιοριστικής υδατικής δίαιτας που εφαρμόστηκαν (Εικόνα 6.4). Αυτό υποδηλώνει ένα βασικό ρόλο της APX στο να καταστήσει τις δύο ποικιλίες ικανές να αντιμετωπίζουν τις ενδεχόμενες αυξήσεις του H_2O_2 συμβάλλοντας μ' αυτόν τον τρόπο στην προστασία των χλωροπλαστών οι οποίοι σε συνθήκες καταπόνησης είναι οι κύριοι παραγωγοί και στόχοι της δράσης των ROS (Asada 1999; Sofo et al., 2005). Παρά το γεγονός ότι τα φυτά της Μαυροδάφνης είχαν υψηλή ενεργότητα αυτού του ενζύμου στο χειρισμό DI_{50} , εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα H_2O_2 στο τέλος της περιόδου ξηρασίας (Εικόνα 6.4). Αυτό δείχνει ότι η αυξημένη ενεργότητα της APX πιθανόν να είναι ανεπαρκής στην εξουδετέρωση όλης της ποσότητας του H_2O_2 που παράγεται σε περίσσεια στα φυτά του χειρισμού DI_{50} .

Μέσα σε ένα κύτταρο, η SOD συνιστά την πρώτη γραμμή άμυνας έναντι των ROS (Alscher et al., 2002). Μελέτες έχουν δείξει ότι η υπερέκφραση της SOD μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερη αντοχή των φυτών στην ξηρασία (Mckersie et al., 1996). Στη μελέτη αυτή παρατηρήθηκε αυξημένη ενεργότητα της SOD στο τέλος της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας (Εικόνα 6.5). Αυτό ενδεχομένως θα μπορούσε να αποδοθεί στην παραγωγή $O_2^{\cdot-}$ σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης στα φυτά της αμπέλου, η οποία μπορεί να ευνοήσει τη ρύθμιση της

αποσβεστικής λειτουργίας της SOD. Επιπλέον, από τα αποτελέσματα είναι φανερό ότι σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης, η ισορροπία μεταξύ του σχηματισμού του ενεργοποιημένου οξυγόνου και του συστήματος εξουδετέρωσης του μπορεί να διατηρηθεί στα φυτά της αμπέλου. Παρόμοια αποτελέσματα σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης επιτεύχθηκαν από διαφορετικά φυτικά είδη τα οποία εμφάνισαν αύξηση στην ενεργότητα της SOD (Lima et al., 2002; Liang et al., 2003; Ramachandra et al., 2004).

Η παρατεταμένη εφαρμογή περιοριστικής υδατικής δίαιτας αύξησε την ενεργότητα της APX και της SOD και στις δύο ποικιλίες. Η αύξηση της ενεργότητας της APX προηγήθηκε της αύξησης της ενεργότητας της SOD, αποφεύγοντας μ' αυτόν τρόπο τη συσσώρευση του H_2O_2 . Το γεγονός αυτό κρίνεται σημαντικό για το λόγο ότι η παρουσία του τελευταίου μαζί με το υπεροξείδιο του οξυγόνου θα μπορούσε να οδηγήσει στο σχηματισμό επικίνδυνων υδροξυλικών ριζών μέσω της Herbert-Weiss αντίδρασης (Bowler et al., 1992). Λαμβάνοντας υπόψη την ίδια ικανότητα των δύο ποικιλιών για αύξηση της SOD και της APX σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (24^η ημέρα), η υψηλότερη ενεργότητα της SOD και της APX που παρατηρήθηκε στα φυτά του χειρισμού της ήπιας περιοριστικής υδατικής δίαιτας (DI_{50}), αποτελεί ισχυρή ένδειξη υψηλότερης παραγωγής των ROS στα φυτά της Μαυροδάφνης σε σχέση με αυτά του Σαββατιανού. Το τελευταίο υποδηλώνει ότι στην ποικιλία Μαυροδάφνη η οξειδωτική έκρηξη είναι εντονότερη στο τέλος της περιόδου εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης.

6.6 Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα αυτού του πειράματος υποστηρίζουν ότι η ποικιλία του Σαββατιανού είναι πιο ικανή να αντέξει σε ξηρά περιβάλλοντα και να διατηρήσει το υδατικό περιεχόμενο και το φωτοσυνθετικό ρυθμό σε σύγκριση με την ποικιλία της Μαυροδάφνης. Παρατηρήθηκαν διαφορές στην ικανότητα φωτοπροστασίας μεταξύ των δύο ποικιλιών. Το Σαββατιανό εμφάνισε αυξημένη φωτοπροστασία, συνέπεια της αποτελεσματικότερης θερμικής απόσβεσης σε αντίθεση με τη Μαυροδάφνη η οποία αύξησε περισσότερο τη φωτοαναπνοή κατά τη διάρκεια της περιόδου εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης. Αυτές οι διαφορές, οξύνθηκαν σε παρατεταμένη έλλειψη νερού και στους δύο χειρισμούς της περιοριστικής υδατικής δίαιτας. Φαίνεται ότι η διαφορετική στρατηγική προσαρμογής στην ξηρασία που αναπτύχθηκε από την ποικιλία Μαυροδάφνη, εμπεριέχει αποδόμηση των χλωροφυλλών στα πλαίσια

αντιμετώπισης της περιορισμένης ικανότητας διαχείρισης της περίσσειας φωτεινής ενέργειας. Το Σαββατιανό έδειξε συγκριτικά πιο ανθεκτικό φωτοσυνθετικό μηχανισμό έναντι της οξειδωτικής καταπόνησης που προκαλείται από την έλλειψη νερού, όπως έδειξαν οι μειωμένες οξειδωτικές βλάβες στο φύλλο. Αντίθετα, στα φυτά της Μαυροδάφνης, η παραγωγή δραστικών ενώσεων ξεπέρασε την ικανότητα αποτοξίνωσης των κυττάρων, με συνέπεια η οξειδωτική καταπόνηση να είναι πιο εμφανής. Όσον αφορά τις ενεργότητες των αμυντικών αντιοξειδωτικών ενζύμων, βρέθηκε αύξηση των σημαντικότερων ενζύμων εξουδετέρωσης των ROS στις δυο μελετώμενες ποικιλίες σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης. Τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν το σημαντικό ρόλο της καταλάσης στη ρύθμιση των επιπέδων του H_2O_2 στις δύο ποικιλίες. Ο διαφοροποιημένος ρόλος αυτού του ενζύμου πιθανόν να σχετίζεται με την προσαρμοστική αποτελεσματικότητα των ποικιλιών αυτών στην ξηρασία. Ο ρόλος αυτός έχει να κάνει αφενός με την αποτοξίνωση του H_2O_2 και αφετέρου με την ρύθμιση των συγκεντρώσεων του σ' εκείνα τα επίπεδα που οδηγούν σε διάσπαση των φωτοσυνθετικών χρωστικών. Σύμφωνα με όσα γνωρίζουμε μέχρι σήμερα, αυτή είναι η πρώτη μελέτη που αναφέρει παράλληλες μεταβολές στο φωτοπροστατευτικό μηχανισμό και στις ενεργότητες των αντιοξειδωτικών ενζύμων σε δύο ποικιλίες αμπέλου που υποβλήθηκαν σε διαφορετικά επίπεδα περιοριστικής υδατικής διαίτας. Περαιτέρω μελέτες στη διαφοροποίηση των μη ενζυματικών αντιοξειδωτικών μορίων και στην ύπαρξη διαφορετικών φωτοπροστατευτικών μηχανισμών, πιθανόν να δώσουν μια πληρέστερη εξήγηση για την υψηλή προσαρμοστικότητα του φωτοπροστατευτικού μηχανισμού που αναπτύχθηκε στην άμπελο σε συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης, όπως είναι η ξηρασία.

*Επίδραση της ελλειμματικής άρδευσης στην
αποτελεσματικότητα χρήσης νερού και στην
συγκέντρωση των κυτοκινινών στο φύλλο δυο
ποικιλιών αμπέλου*



7.1 Περίληψη

Μελετήθηκε η φυσιολογική απόκριση δύο ποικιλιών αμπέλου (Μαυροδάφνη και Σαββατιανό) στην ελλειμματική άρδευση. Η έρευνα πραγματοποιήθηκε επί δύο συνεχή έτη (2006 και 2007). Εφαρμόστηκαν οι εξής χειρισμοί: πλήρως αρδευόμενα φυτά (CON) και δύο επίπεδα ελλειμματικής άρδευσης (DI_{50} και DI_{25}), όπου τα φυτά αρδεύονταν σε όλο το ριζικό τους σύστημα με ποσότητα νερού αντιστοίχως ίση με 50% και 25% αυτής του μάρτυρα. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι η ελλειμματική άρδευση συμβάλλει στη διατήρηση ευνοϊκότερου υδατικού ισοζυγίου στην ποικιλία Σαββατιανό σε σύγκριση με την ποικιλία Μαυροδάφνη με τη μεγαλύτερη διαφορά να εμφανίζεται σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης. Η ποικιλία του Σαββατιανού παρουσίασε μεγαλύτερο φωτοσυνθετικό ρυθμό, στοματική αγωγιμότητα και ρυθμό βλαστικής ανάπτυξης, συγκριτικά με την ποικιλία Μαυροδάφνη στο μεγαλύτερο μέρος της περιόδου έλλειψης νερού. Η επίδραση της υδατικής καταπόνησης ήταν περισσότερο εμφανής στα φυτά της Μαυροδάφνης, προκαλώντας σημαντική μείωση της μέγιστης αποτελεσματικότητας του PSII (F_v/F_m) το έτος 2007. Η μεγαλύτερη αύξηση της ενδογενούς αποτελεσματικότητας χρήσης νερού (WUE_i) στα φυτά του Σαββατιανού στους χειρισμούς DI σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης, μαρτυρά ανατομικές διαφορές μεταξύ των δύο ποικιλιών που επάγονται από την ξηρασία. Η συγκέντρωση των κυτοκινινών (ζεατίνης (t-ZR), διυδροζεατίνης (DHZR) και της N^6 -(Δ^2 -ισοπεντενύλ-αδενοσύνης (IPA)) στα φύλλα μειώθηκε σε όλους τους χειρισμούς περιοριστικής υδατικής δόσης σε σχέση με το μάρτυρα με την ποικιλία Μαυροδάφνη να εμφανίζει μεγαλύτερη μείωση καθ' όλη την περίοδο εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης σε σχέση με την ποικιλία Σαββατιανό. Τα δεδομένα εισηγούνται αφενός ότι υπό συνθήκες έντονης ελλειμματικής άρδευσης η αύξηση της αποτελεσματικότητας χρήσης νερού είναι σημαντικά μεγαλύτερη στην ποικιλία του Σαββατιανού, αφετέρου δε ότι ο μεγαλύτερος περιορισμός του ρυθμού ανάπτυξης του βλαστού και υψηλότερη διάσπαση των χλωροφυλλών στην ποικιλία Μαυροδάφνη σε σχέση με την ποικιλία του Σαββατιανού πιθανόν σχετίζεται με την μικρότερη συγκέντρωση των κυτοκινινών.

7.2 Εισαγωγή

Ένα μεγάλο ποσοστό της αμπελοκαλλιέργειας εντοπίζεται σε περιοχές που χαρακτηρίζονται από έντονη εποχική ξηρασία. Σ' αυτές τις συνθήκες η έλλειψη διαθέσιμης εδαφικής υγρασίας και το υψηλό υδατικό έλλειμμα της ατμόσφαιρας σε

συνδυασμό με την υψηλή θερμοκρασία, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες περιορισμού της παραγωγής και της ποιότητας. Τα τελευταία χρόνια, ο αριθμός των ημερών ξηρασίας έχει αυξηθεί στη νότια Ευρώπη (Chaves et al., 2007) και αυτή η τάση πιθανόν να αυξηθεί στο μέλλον, σύμφωνα με τα μοντέλα πρόγνωσης της παγκόσμιας κλιματικής αλλαγής που προβλέπουν υπερθέρμανση του πλανήτη (Petit et al., 1999). Αυτό θα έχει σοβαρό αντίκτυπο στην αμπελοκαλλιέργεια (Schultz 2000), με τους αμπελοκαλλιεργητές σ' αυτές τις περιοχές να βασίζονται περισσότερο στην άρδευση για τη σταθεροποίηση της παραγωγής και της ποιότητας των οίνων. Παραμένει όμως αναπάντητο το ερώτημα σχετικά με τον ορισμό του χρόνου και της ποσότητας αρδευτικής δόσης που πρέπει να εφαρμόζεται σε κάθε ποικιλία σε δεδομένες περιβαλλοντικές συνθήκες (Chaves et al., 2007). Ένα σημαντικό προς την επίλυση του παρόντος προβλήματος αποτελεί η μελέτη ποικιλιών της αμπέλου που χαρακτηρίζονται από διαφορετική στρατηγική απόκρισης στην ξηρασία. Ο εντοπισμός εκείνων των μηχανισμών που διαφοροποιούν τις ποικιλίες ως προς την αποτελεσματικότητα χρήσης νερού σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, μπορεί να οδηγήσει σε νέες προσεγγίσεις για το προγραμματισμό της άρδευσης στοχεύοντας την αριστοποίηση χρήσης νερού.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί η βελτίωση της ποιότητας στην αρδευόμενη αμπελοκαλλιέργεια μπορεί να επιτευχθεί με την κατάλληλη ισορροπία μεταξύ της βλάστησης και της παραγωγής, αφού όπως είναι γνωστό η υπερβολική βλάστηση μπορεί να έχει ανεπιθύμητες επιπτώσεις στην ποιότητα των καρπών (McCarthy 1997). Η διατήρηση ήπιας υδατικής καταπόνησης μέσω ελλειμματικής άρδευσης μπορεί να αυξήσει την αποτελεσματικότητα χρήσης νερού, να μειώσει την βλαστική ανάπτυξη και τον ανταγωνισμό για υδρογονάνθρακες πετυχαίνοντας μ' αυτόν τον τρόπο ανακατανομή των προϊόντων της φωτοσύνθεσης και των δευτερογενών μεταβολιτών προς τα αναπαραγωγικά όργανα. Οι αλλαγές αυτές στο μεταβολισμό του φυτού που προκαλούνται από μια ήπια υδατική καταπόνηση μπορεί να αυξήσουν την ποιότητα των καρπών. Η ελλειμματική άρδευση μπορεί να επηρεάσει άμεσα την ανάπτυξη του βλαστού και να αυξήσει την αποτελεσματικότητα χρήσης νερού στην άμπελο. Ωστόσο, υπάρχει περιορισμένη γνώση όσον αφορά τους φυσιολογικούς μηχανισμούς που επηρεάζουν τη βλαστική ανάπτυξη και την αποτελεσματικότητα χρήσης νερού υπό συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης. Ενώ πολλές μελέτες έχουν εστιάσει σχετικά με τον τρόπο δράσης του ABA στο κλείσιμο των στομάτων (Schroeder et al., 2001b) και στη βλαστική ανάπτυξη (Dodd and Davies 1996; Thompson et al., 1997; Cramer et al., 1998; Bacon 1999), πολύ λίγα είναι γνωστά αφενός για το μηχανισμό της επίδρασης των

κυτοκινινών στα καταφρακτικά κύτταρα και στη βλαστική ανάπτυξη και αφετέρου για την αλληλεπίδραση τους με άλλα χημικά σήματα καταπόνησης. Οι κυτοκινίνες (CKs) είναι γνωστό ότι ρυθμίζουν πολλές πτυχές της βλαστικής αύξησης και της ανάπτυξης (Haberer and Kieber 2002; Rivero et al., 2007), επιδρώντας στην στοματική συμπεριφορά (Reeves and Enemy 2007; Haisel et al., 2008; Hegele et al., 2008), το σχηματισμό και την προστασία των κυτταρικών δομών (Chiappetta et al., 2006) και την επαγωγή και ενεργοποίηση της σύνθεσης των πρωτεϊνών (Selivankina et al., 2004; Chernyad'ev 2005).

Η αποτελεσματικότητα χρήσης νερού ποικίλει μεταξύ των ειδών που προέρχονται από διαφορετικά οικοσυστήματα (Garten and Taylor 1992). Ειδικότερα στα μεσογειακά είδη, η βελτίωση της αφομοίωσης του άνθρακα και η ελαχιστοποίηση της απώλειας του νερού έχει περιγραφεί ως προσαρμοστικό χαρακτηριστικό αυτών των φυτών στην ανεπάρκεια του νερού (Reichstein et al., 2002; 2003). Η βελτίωση της αποτελεσματικότητας χρήσης νερού σε συνθήκες ξηρασίας επιτυγχάνεται με μείωση του ανοίγματος των στομάτων για ένα δεδομένο φωτοσυνθετικό ρυθμό (Galmés et al., 2007). Η γνώση των μηχανισμών που ρυθμίζουν τη φωτοσύνθεση των φυτών της αμπέλου υπό διαφορετικά επίπεδα περιοριστικής υδατικής διαίτας έχει ιδιαίτερη σημασία στην κατανόηση εκείνων των παραγόντων που ρυθμίζουν την αποτελεσματικότητα χρήσης νερού και τη βλαστική ανάπτυξη ενώ υπάρχει εξοικονόμηση νερού. Από την άλλη πλευρά, η καλύτερη κατανόηση της σχέσης μεταξύ της αφομοίωσης του άνθρακα και της απώλειας νερού στο επίπεδο του φύλλου μεταξύ των ποικιλιών αμπέλου σε συνθήκες ξηρασίας, μπορεί να αποτελέσει ένα σημαντικό βήμα για την εγκατάσταση και εξάπλωση των ποικιλιών αυτών στις κατάλληλες εδαφοκλιματικές συνθήκες με σκοπό τη βελτίωση της παραγωγής και της ποιότητας.

Μελετήθηκε λοιπόν η επίδραση διαφορετικών επιπέδων περιοριστικής υδατικής διαίτας στη φυσιολογία και στη βλαστική ανάπτυξη δύο ποικιλιών της αμπέλου (Μαυροδάφνη και Σαββατιανό) κατά τη διάρκεια δύο διαδοχικών ετών (2006-2007). Ο σκοπός του πειράματος ήταν να διερευνηθεί η διαβάθμιση στην ικανότητα των ποικιλιών της αμπέλου για αποτελεσματικότερη χρήση νερού καθώς επίσης να εξεταστεί ο ρόλος των κυτοκινινών στη φυσιολογική απόκριση των δύο ποικιλιών αμπέλου υπό συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης.

7.3 Υλικά και Μέθοδοι

7.3.1. Φυτικό υλικό και πειραματικές συνθήκες

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια των καλλιεργητικών περιόδων 2006 και 2007 στον πειραματικό σταθμό του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων όπως περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 3 (Υλικά και Μέθοδοι, σελ 68). Η εικόνα 7.1 δείχνει τη μέση μηνιαία βροχόπτωση και τη μέση θερμοκρασία στον πειραματικό σταθμό κατά τη διάρκεια των πειραματικών μετρήσεων και των δύο μελετώμενων ετών.

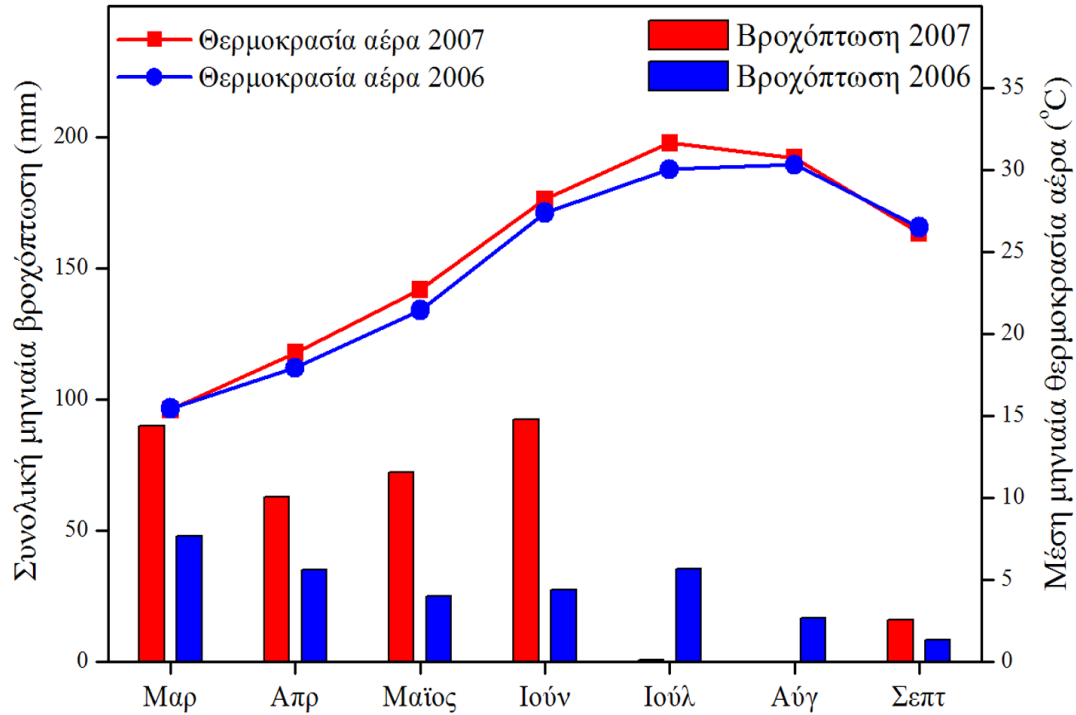
Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε περιγράφεται στο Κεφάλαιο 3 (Υλικά και Μέθοδοι, σελ. 68). Τα έτη 2006 και 2007 η χρονική περίοδο εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής διαίτας διήρκεσε 18 ημέρες και 24 ημέρες αντίστοιχα. Στα αποτελέσματα του έτους 2007 περικλείονται δεδομένα πλήρους ενυδάτωσης των φυτών που υποβλήθηκαν σε περιοριστική υδατική διαίτα, μετά τη χρονική περίοδο ολοκλήρωσης των 24 ημερών ξηρασίας. Στις αρχές Μαΐου του 2006, 60 ομοιόμορφα φυτά (βασίζόμενα στο ύψος, τον αριθμό των φύλλων και τη συνολική φυλλική επιφάνεια) επελέγησαν για τη μελέτη. Το πείραμα συνδύαζε έξι χειρισμούς (2 ποικιλίες x 3 επίπεδα ελλειμματικής άρδευσης), σε παραγοντικό σχεδιασμό στα πλαίσια ενός πλήρους τυχαιοποιημένου σχεδίου. Είκοσι φυτά από κάθε ποικιλία αρδεύονταν στην εδαφο-ικανότητα του υποστρώματος κάθε τρεις ημέρες (φυτά μάρτυρα, WW). Άλλα 20 φυτά δέχονταν τη μισή ποσότητα από αυτήν που απαιτείται για τη διατήρηση της εδαφικής υγρασίας στο σημείο υδατοκορεσμού (DI_{50}). Επιπροσθέτως, 20 φυτά δέχονταν στην ίδια συχνότητα μόνο το 25% της ποσότητας νερού από αυτήν που απαιτείται για τη διατήρηση της εδαφικής υγρασίας στο σημείο υδατοκορεσμού (DI_{25})

7.3.2. Υδατικές σχέσεις των φυτών, εδαφική υγρασία και μετρήσεις ανταλλαγής αερίων

Η υγρασία (ποσοστό κατά όγκο) του υποστρώματος, στο οποίο ήταν φυτεμένα τα πρέμνα, μετρήθηκε με κατάλληλους αισθητήρες μέτρησης της υγρασίας (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι σελ. 71). Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος σε 3 γλάστρες ανά χειρισμό. Οι αισθητήρες τοποθετήθηκαν κάθετα στο έδαφος και οι μετρήσεις καταγράφονταν σε διαστήματα των 30 δευτερολέπτων.

Το υδατικό δυναμικό βάσης στο φύλλο (Ψ_{PD}) μετρήθηκε με θάλαμο πίεσης (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι, σελ. 73). Οι μετρήσεις λάμβαναν χώρα κάθε τρεις ημέρες σε τέσσερα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα που συλλέγονταν αντίστοιχα από

τέσσερα διαφορετικά φυτά για κάθε χειρισμό. Ο ολοκληρωμένος δείκτης της υδατικής καταπόνηση (S_{ψ}) προσδιορίστηκε σύμφωνα με τον Meyers (1988). Το S_{ψ} εκφράζει την



Εικόνα 7.1. Συνολική βροχόπτωση και μέση μηνιαία θερμοκρασία αέρα στην πειραματική εγκατάσταση κατά τη διάρκεια των καλλιεργητικών περιόδων 2006 και 2007.

ένταση της υδατικής καταπόνησης που δέχεται συνολικά κάθε χειρισμός και υπολογίζεται με το άθροισμα της διάρκειας του υδατικής καταπόνησης πάνω από μια μέγιστη τιμή του Ψ_{PD} . Υπολογίστηκε για τ (=9) μετρήσεις του Ψ_{PD} σε διαστήματα των n (=3) ημερών ως εξής:

$$S_{\psi} = \left| \sum_{i=0}^{i=\tau} (\Psi_{PD+i} - c) \cdot n \right|$$

Όπου $\Psi_{PD, i+1}$ είναι ο μέσος όρος του υδατικού δυναμικού βάσης για κάθε διάστημα i , $i+1$, και το c (= -0.034 MPa) είναι το μέγιστο Ψ_{PD} που μετρήθηκε σε κάθε περίοδο εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής διαίτας (Διαφορετική τιμή χρησιμοποιήθηκε για κάθε έτος)

Η μέγιστη στοματική αγωγιμότητα (g_s) και ο μέγιστος φωτοσυνθετικός ρυθμός (P_N) μετρήθηκε 3 ώρες μετά την έναρξη της φωτοπεριόδου σε ατμοσφαιρική συγκέντρωση CO_2 και σε συνθήκες κορεσμένου φωτός ($PPFD = 1300 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι σελ. 76 & 78). Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε 10 πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα που επιλέχθηκαν από διαφορετικά φυτά για κάθε χειρισμό και χρόνο δειγματοληψίας. Η ενδογενής αποτελεσματικότητα χρησιμοποίησης του νερού (WUE_i) υπολογίστηκε από τη σχέση P_N/g_s .

7.3.3. Βλαστική ανάπτυξη, μέτρηση χλωροφυλλών και φθορισμός της χλωροφύλλης

Το μήκος των βλαστών μετρήθηκε στην αρχή και στο τέλος της περιόδου ξηρασίας σε 9 διαφορετικά φυτά κάθε χειρισμού. Η μέτρηση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλες στο φύλλο έγινε με χλωροφυλλόμετρο (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι, σελ. 89) σε 10 φυτά που επιλέχθηκαν από κάθε χειρισμό. Οι μετρήσεις φθορισμού της χλωροφύλλης μετρήθηκε στα ίδια φύλλα που μετρήθηκε η ανταλλαγή αερίων με τη βοήθεια φθορισμόμετρου (βλέπε Κεφάλαιο 3, Υλικά και Μέθοδοι, σελ. 83). Ο ελάχιστος φθορισμός (F_0) της χλωροφύλλης με όλα τα ενεργά κέντρα του PSII ανοιχτά μετρήθηκε σε ρυθμιζόμενη ένταση φωτός που ήταν πολύ χαμηλή ($< 0.1 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) για να αποτραπεί σημαντική αστάθεια στον εκπεμπόμενο φθορισμό. Ο μέγιστος φθορισμός της χλωροφύλλης (F_m) με όλα τα ενεργά κέντρα του PSII κλειστά, μετρήθηκε σε φύλλα πριν την ανατολή ηλίου στα οποία εφαρμόστηκε αναλαμπή κορεσμένου φωτός για 0.8 sec έντασης $10.000 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Η μέγιστη απόδοση της φωτονιακής συγκομιδής των ανοιχτών κέντρων του PSII (συνθήκες σκότους), υπολογίστηκε από το φθορομετρικό λόγο $[(F_m - F_0)/F_m]$.

7.3.4. Προσδιορισμός συγκέντρωσης των φυτοορμονών

Η συγκέντρωση του αμπισισικού οξέος (ABA) και των κυτοκινινών (CKs), μετρήθηκε σε τέσσερα τυχαία φύλλα λίγο πριν την ανατολή του ηλίου, τα οποία συλλέχθηκαν από τα φυτά κάθε χειρισμού τέσσερις φορές για κάθε πειραματική περίοδο του 2006 (Ημέρες 1^η, 6^η, 12^η και 18^η) και πέντε φορές για κάθε πειραματική περίοδο το 2007 (Ημέρες 1^η, 6^η, 12^η, 18^η και 24^η). Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του ABA και των CKs έγινε στα ίδια φύλλα που χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση του Ψ_{PD} . Αμέσως μετά τον προσδιορισμό του Ψ_{PD} τα φύλλα τοποθετήθηκαν σε υγρό άζωτο και έπειτα αποθηκεύτηκαν στους -80°C για περαιτέρω ανάλυση. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του ABA και των CKs πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφεται στο

Κεφάλαιο 3 (3.8 Βιοχημικές παράμετροι, 3.8.1 Εκχύλιση και προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φυτοορμονών, σελ 90 & 91).

7.3.5. Στατιστική ανάλυση

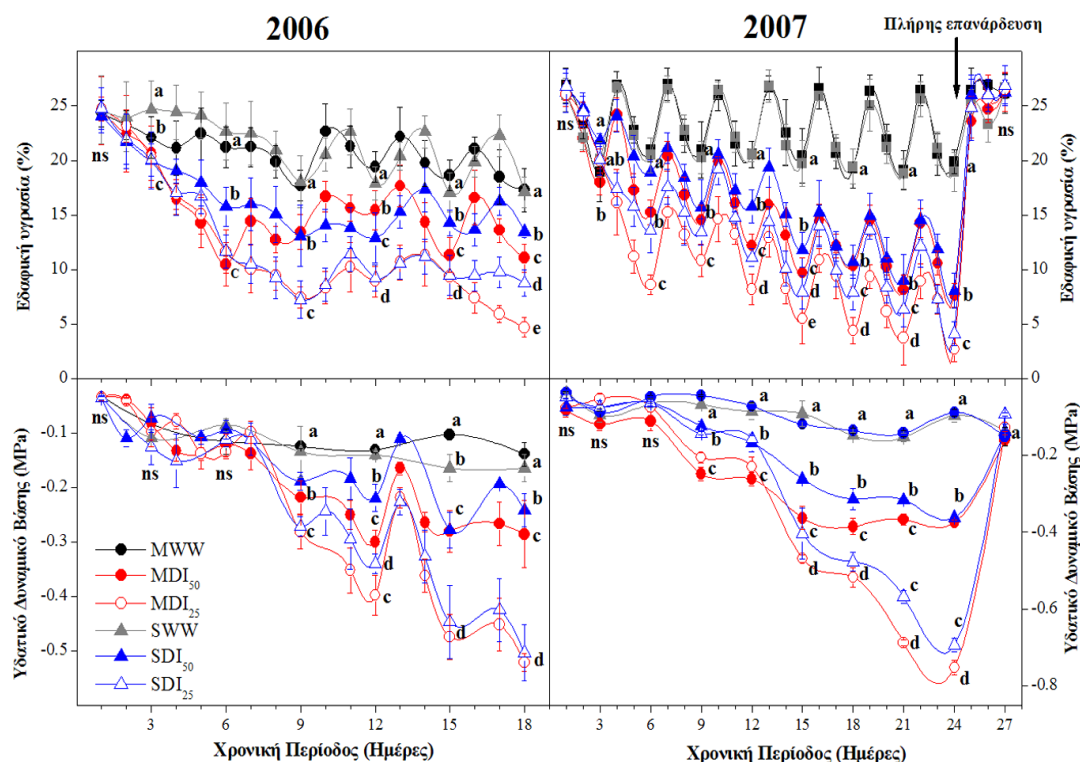
Η μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) στα δεδομένα έγινε σύμφωνα με το πλήρως τυχαίοποιημένο σχέδιο χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο (SPSS 15) σε περιβάλλον των Windows. Το τεστ Duncan πραγματοποιήθηκε για να ελεγχθεί η σημαντικότητα των διαφορών μεταξύ των μέσων όρων των χειρισμών σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$. Η ανάλυση της συμμεταβολής (ANCOVA) επίσης χρησιμοποιήθηκε για να καθοριστεί κατά πόσο οι χειρισμοί (ελλειμματική άρδευση στη Μαυροδάφνη και στο Σαββατιανό) προκαλούν διαφορές στη σχέση μεταξύ των συμμεταβλητών στον άξονα X και των ανεξάρτητων μεταβλητών στον άξονα Y. Το επίπεδο σημαντικότητας της αλλαγής της ευαισθησίας στη μεταβλητή (Y) στις μεταβολές της συμμεταβλητής (X) δίνεται με την αλληλεπίδραση (συμμεταβλητή x χειρισμός). Η ανάλυση των παλινδρομήσεων και ο προσδιορισμός των συντελεστών συσχέτισης έγιναν με τη χρησιμοποίηση του προγράμματος Origin 6.00 (Microcal Software, Inc.—Northampton, MA 01060 USA).

7.4 Αποτελέσματα

7.4.1. Υδατική κατάσταση φύλλου και βλαστική ανάπτυξη

Το υδατικό δυναμικό βάσης του φύλλου (Ψ_{PD}) διατηρήθηκε σε υψηλά επίπεδα στα φυτά του μάρτυρα (WW) στις δύο καλλιεργητικές περιόδους εφαρμογής της υδατικής έλλειψης και στις δύο ποικιλίες (Εικ. 7.2). Το Ψ_{PD} καθώς και η περιεκτικότητα του εδάφους σε υγρασία μειώθηκε προοδευτικά στους χειρισμούς της ελλειμματικής άρδευσης και στις δύο ποικιλίες με την επίτευξη των χαμηλότερων τιμών στο τέλος της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής δίαιτας (Εικ. 7.2). Ωστόσο, η περιεκτικότητα του εδάφους σε υγρασία ήταν υψηλότερη στα φυτά του Σαββατιανού σε σύγκριση με τα φυτά της Μαυροδάφνης στο μεγαλύτερο μέρος των περιόδων εφαρμογής των χειρισμών της ελλειμματικής άρδευσης (Εικ. 7.2). Επίσης στο διάστημα αυτό τα φυτά του Σαββατιανού εμφάνισαν μεγαλύτερο Ψ_{PD} και στους δύο χειρισμούς ελλειμματικής άρδευσης σε σύγκριση με τους αντίστοιχους της Μαυροδάφνης. Η χαμηλότερη τιμή του Ψ_{PD} καταγράφηκε την περίοδο 2007 στα φυτά της Μαυροδάφνης (-0.752 Mpa) στον χειρισμό DI₂₅. Τα φυτά της Μαυροδάφνης παρουσίασαν απότομη μείωση στις τιμές του υδατικού δυναμικού (Ψ_{PD}) ως απόκριση στη μείωση της

διαθέσιμης ποσότητας νερού στο έδαφος, με αποτέλεσμα να εμφανίζουν σημαντικά χαμηλότερες τιμές του Ψ_{PD} σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού κατά την έναρξη της περιόδου ξηρασίας (ημέρες 9 και 12) και στα δύο έτη (Εικ. 7.2).



Εικόνα 7.2. Μεταβολές της εδαφικής υγρασίας και του υδατικού δυναμικού βάσης του φύλλου (Ψ_{PD}) σε πλήρως αρδευόμενα φυτά (WW) και σε φυτά που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης (DI₅₀ και DI₂₅) στις δύο ποικιλίες αμπέλου, της Μαυροδάφνης (M) και του Σαββατιανού (S) κατά τη διάρκεια περιόδων υδατικής έλλειψης που εφαρμόστηκαν το 2006 και το 2007. Κάθε σημείο της εδαφικής υγρασίας και του Ψ_{PD} αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο $\times$ 3 κύκλους ξηρασίας). Σε κάθε ημέρα δειγματοληψίας, διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$. ns, μη στατιστικά σημαντικό.

Η διαθεσιμότητα του νερού στο έδαφος επηρέασε σημαντικά το ρυθμό βλαστικής ανάπτυξης. Στη διάρκεια των δύο καλλιεργητικών περιόδων ο ρυθμός ανάπτυξης του βλαστού ήταν σημαντικά χαμηλότερος στους χειρισμούς της περιοριστικής υδατικής δίαιτας που εφαρμόστηκαν στα φυτά της Μαυροδάφνης (Εικ. 7.3). Η διαφοροποίηση

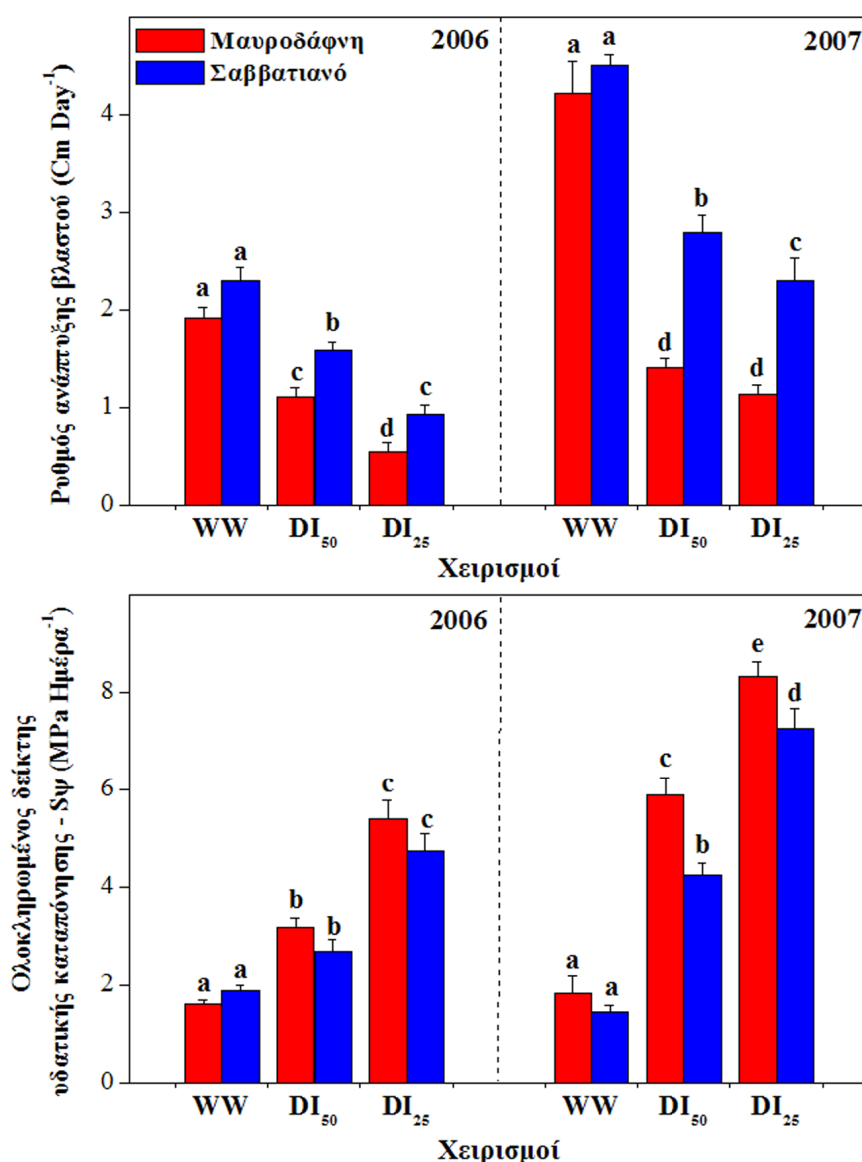
των δύο ποικιλιών ήταν περισσότερο αισθητή την καλλιεργητική περίοδο 2007. Σ' αυτή την περίοδο ακόμη και τα φυτά του χειρισμού DI_{50} της Μαυροδάφνης, εμφάνισαν όμοιο ρυθμό ανάπτυξης του βλαστού με τα φυτά που άνηκαν στο χειρισμό της πιο έντονης ελλειμματική άρδευσης (DI_{25}). Η βλαστική ανάπτυξη των φυτών του μάρτυρα, δεν διέφερε ανάμεσα στις δύο ποικιλίες και στα δύο έτη, ωστόσο το 2007 ήταν σχεδόν διπλάσια από την αντίστοιχη του 2006.

Ο ολοκληρωμένος δείκτης υδατικής καταπόνησης (S_{ψ}), ο οποίος ουσιαστικά αθροίζει την ένταση και τη διάρκεια της υδατικής καταπόνησης που υφίσταται κάθε χειρισμός εμφάνισε διαφορές μεταξύ των δύο ποικιλιών οι οποίες δεν ήταν σταθερές μεταξύ των δύο ετών εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας (Εικ. 7.3). Ενώ φάνηκε και στα δύο έτη η υπεροχή του δείκτη S_{ψ} στα φυτά της Μαυροδάφνης σε σχέση μ' αυτά του Σαββατιανού και στις δύο περιοριστικές υδατικές δίαιτες που εφαρμόστηκαν, ωστόσο μόνο το 2007 ήταν στατιστικά σημαντική αυτή η διαφορά. Την εντονότερη υδατική καταπόνηση την εμφάνισαν τα φυτά του χειρισμού DI_{25} της ποικιλίας Μαυροδάφνης κατά την περίοδο 2007 εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης.

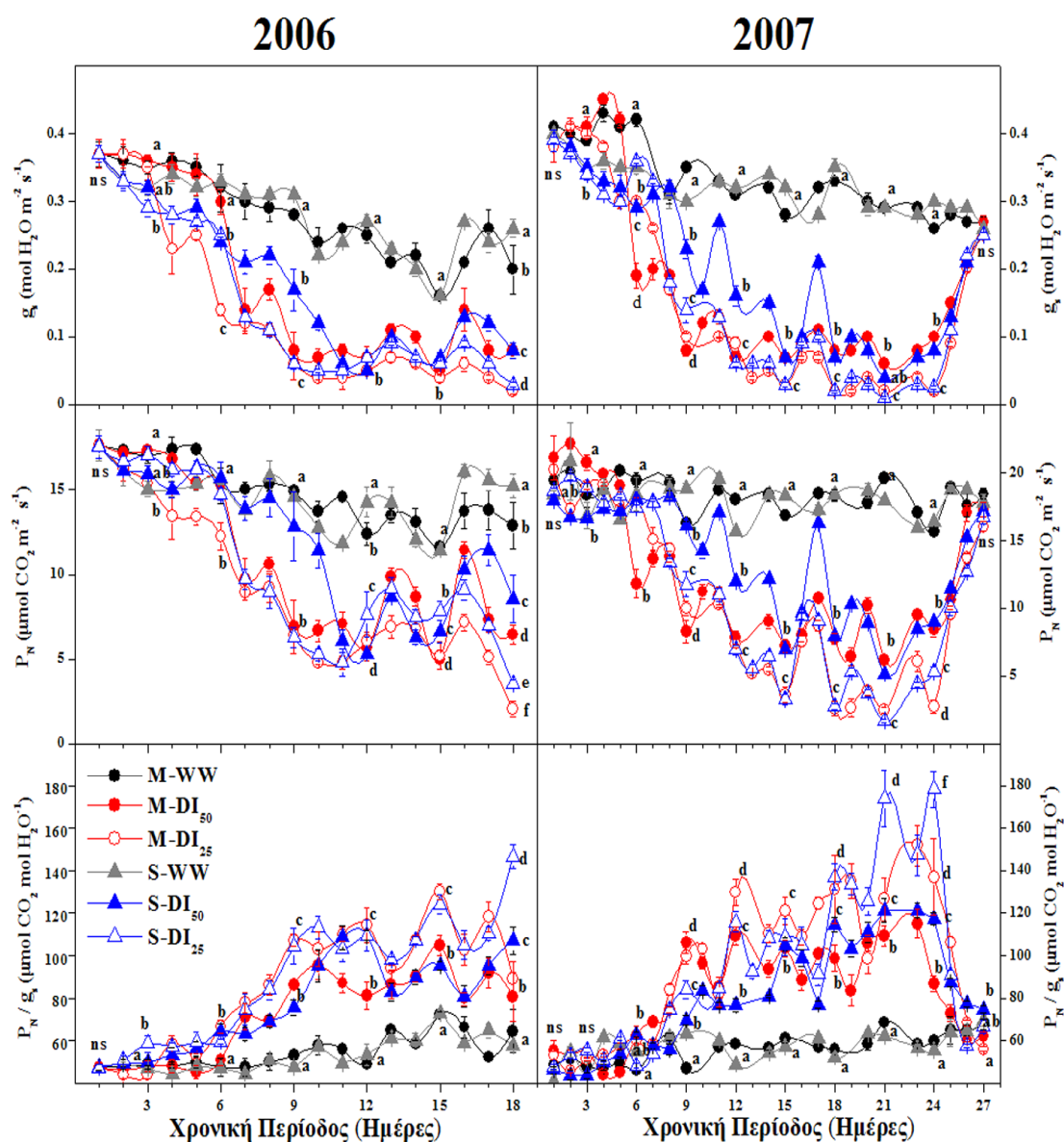
7.4.2. Φωτοσυνθετική απόδοση και αποτελεσματικότητα χρήσης νερού

Η πορεία του μέγιστου φωτοσυνθετικού ρυθμού (P_N), της στοματικής αγωγιμότητας (g_s) και της ενδογενής αποτελεσματικότητας χρήσης νερού ($WEU_i = P_N/g_s$) παρουσιάζονται στην εικόνα 7.4. Ο P_N και η g_s μειώθηκαν στη διάρκεια της περιόδου εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης με τις διαφορές να είναι εμφανείς μεταξύ των δύο ποικιλιών στις πρώτες ημέρες της περιόδου. Μόνο τα φυτά της ποικιλίας Σαββατιανού στο χειρισμό DI_{25} σημείωσαν τη μεγαλύτερη μείωση στις τιμές της g_s ($<0.01 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) στη διάρκεια των περιόδων έλλειψης νερού το έτος 2007. Η διαφορά του P_N και της g_s μεταξύ των δύο ποικιλιών ήταν εντονότερη στο χειρισμό της ήπιας περιοριστικής υδατικής δίαιτας (DI_{50}). Ειδικότερα οι τιμές του P_N και της g_s στα φυτά του Σαββατιανού που υποβλήθηκαν σε περιοριστική υδατική δίαιτα ήταν πιο κοντά στις τιμές του μάρτυρα σε σχέση με τα αντίστοιχα της Μαυροδάφνης. Η πλήρης επαναενυδάτωση των φυτών την καλλιεργητική περίοδο 2007 επανέφερε το φωτοσυνθετικό ρυθμό και τη στοματική αγωγιμότητα στους χειρισμούς DI_{50} και DI_{25} και των δύο ποικιλιών, στα επίπεδα που ήταν πριν την εφαρμογή της περιοριστικής υδατικής δίαιτας.

Η αποτελεσματικότητα χρήσης νερού (P_N/g_s ή WUE_i) έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ποικιλιών στο τέλος της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας. Ειδικότερα, η ποικιλία Σαββατιανό εμφάνισε μεγαλύτερη WUE_i στο τέλος των περιόδων ξηρασίας που εφαρμόστηκαν και τα δύο έτη (Εικ. 7.4).



Εικόνα 7.3. Επίδραση των διαφορετικών χειρισμών άρδευσης (WW, DI₅₀ και DI₂₅) που εφαρμόστηκαν στις δύο ποικιλίες αμπέλου στο ρυθμό ανάπτυξης βλαστού και στον ολοκληρωμένο δείκτη υδατικής καταπόνησης (S_{ψ}). Τα αποτελέσματα στην εικόνα αυτό αναφέρονται σε τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2006 και το 2007. Κάθε κατακόρυφη μπάρα για το ρυθμό ανάπτυξης του βλαστού αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE 30 επαναλήψεων (10 βλαστοί ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας). Διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας $P \leq 0.05$.



Εικόνα 7.4. Μεταβολές της στοματικής αγωγιμότητας (g_s), του φωτοσυνθετικού ρυθμού (P_N) και της αποτελεσματικότητας χρησιμοποίησης του νερού P_N/g_s σε πλήρως αρδευόμενα φυτά (WW) και σε φυτά που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης (DI₅₀ και DI₂₅) των δύο ποικιλιών της αμπέλου, της Μαυροδάφνης (M) και του Σαββατιανού (S) κατά τη διάρκεια περιόδων υδατικής έλλειψης που εφαρμόστηκαν το 2006 και το 2007. Κάθε τιμή του Ψ_{PD} αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο $\times$ 3 κύκλους ξηρασίας). Κάθε τιμή των P_N και g_s αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE 30 επαναλήψεων (10 φύλλα ανά κύκλο $\times$ 3 κύκλους ξηρασίας). Σε κάθε ημέρα δειγματοληψίας, διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$. ns, μη στατιστικά σημαντικό.

Οι διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ήταν εντονότερες στα φυτά του χειρισμού DI₂₅ και στα δύο έτη. Η υψηλότερη τιμή της WUE_i παρατηρήθηκε την καλλιεργητική περίοδο του 2007 στα φυτά του Σαββατιανού που άνηκαν στο χειρισμό DI₂₅ (~180 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$).

Η μέτρηση της στοματικής αγωγιμότητας τις μεσημβρινές ώρες έδειξε διαφορές μεταξύ των ποικιλιών. Ειδικότερα τα φυτά των χειρισμών της ελλειμματικής άρδευσης (DI₅₀ και DI₂₅) της ποικιλίας του Σαββατιανού έκλεισαν τα στόματα σε μεγαλύτερο βαθμό στην αρχή της περιόδου ξηρασίας συγκριτικά με αντίστοιχα της Μαυροδάφνης (Εικ. 7.5). Στο τέλος της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας δεν υπήρχαν διαφορές ανάμεσα στις ποικιλίες, όταν συγκρίθηκαν στο ίδιο επίπεδο ελλειμματικής άρδευσης.

Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική συσχέτιση του WUE_i και του Ψ_{PD} και στις δύο ποικιλίες ($P < 0.001$) (Εικ. 7.6α). Η αύξηση της WUE_i ήταν μεγαλύτερη στα φυτά του Σαββατιανού σε σχέση με τα φυτά της Μαυροδάφνης όταν η στοματική αγωγιμότητα ήταν κοντά στο μηδέν. Η μέθοδος ανάλυσης της συμμεταβολής (ANCOVA) έδειξε σημαντικές διαφορές στην ευαισθησία αύξησης της WUE_i μεταξύ των δύο ποικιλιών. Η σχέση του Ψ_{PD} και της WUE_i φανέρωσε σημαντικά μεγαλύτερη ευαισθησία στην αύξηση της WUE_i στα φυτά της ποικιλίας Σαββατιανού συγκριτικά με τα φυτά της ποικιλίας Μαυροδάφνης (Ποικιλία x Ψ_{PD} , $P < 0.001$) (Εικ. 7.6β). Η κύρια επίδραση του Ψ_{PD} στην WUE_i ήταν σημαντική επιβεβαιώνοντας τον κανόνα ότι η αποτελεσματικότητα χρήσης νερού αυξάνεται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Αντίθετα η ποικιλία δεν άσκησε καμία επίδραση στην WUE_i.

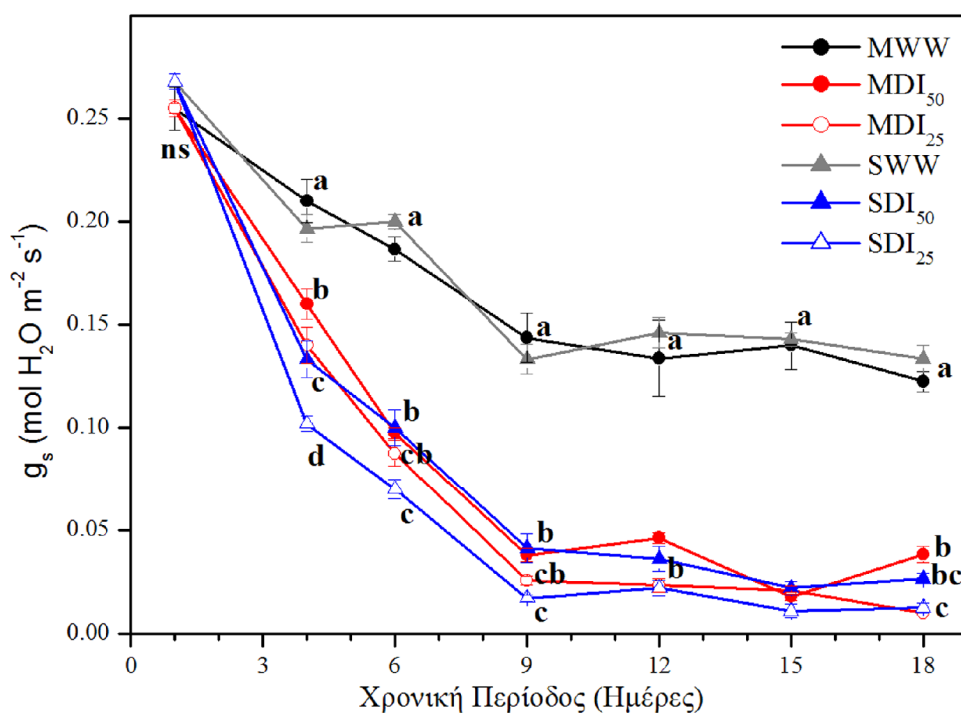
Η μέτρηση της περιεκτικότητας των χλωροφυλλών που πραγματοποιήθηκε και τις δύο καλλιεργητικές περιόδους, έδειξε σημαντική μείωση στο χειρισμό DI₂₅ των φυτών της ποικιλίας Μαυροδάφνης στο τέλος της περιόδου της ελλειμματικής άρδευσης (Εικ. 7.7α και Εικ. 7.7β). Αντίθετα, τα φυτά του Σαββατιανού σ' όλους τους χειρισμούς της περιοριστικής υδατικής δίαιτας διατήρησαν τα επίπεδα των χλωροφυλλών κοντά στο μάρτυρα καθ' όλη την περίοδο εφαρμογής υδατικού ελλείμματος.

Η μέγιστη απόδοση του PSII (F_v/F_m) έδειξε ότι δεν μειώθηκε στους χειρισμούς της περιοριστικής υδατικής δίαιτας (DI₅₀ και DI₂₅) και στις δύο ποικιλίες την καλλιεργητική περίοδο 2006 (Εικ. 7.7γ). Αντίθετα το 2007, στην ποικιλία Μαυροδάφνη τα φυτά του χειρισμού DI₂₅ έδειξαν μείωση του λόγου F_v/F_m κάτω από την τιμή 0.8 προς το τέλος της περιόδου εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης (Εικ. 7.7δ). Ωστόσο, αυτή η μείωση μετά από την πλήρη ενυδάτωση των φυτών επανήλθε στα φυσιολογικά επίπεδα.

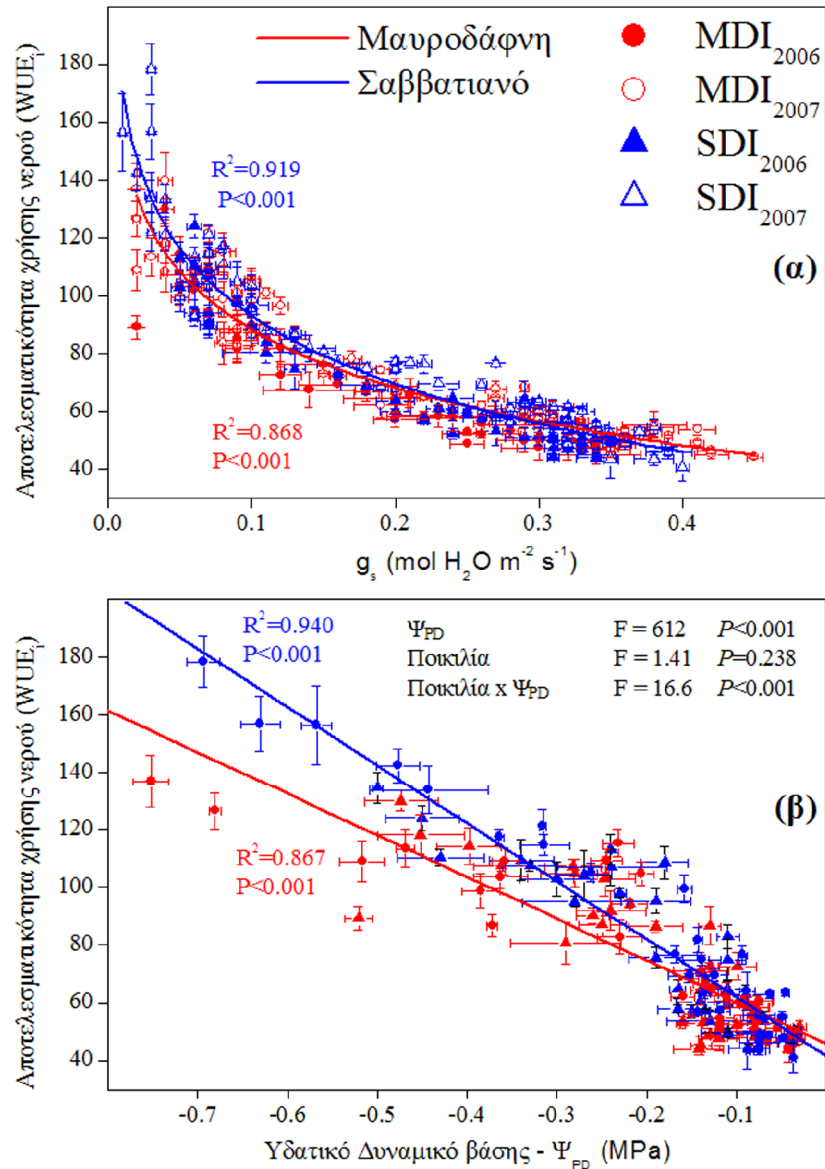
Αυτό αποτελεί ένδειξη ότι μόνιμη φωτοαναστολή δεν υπήρχε στα φυτά του χειρισμού DI₂₅.

7.4.3. Συγκέντρωση του ABA και των κυτοκινινών στο φύλλο

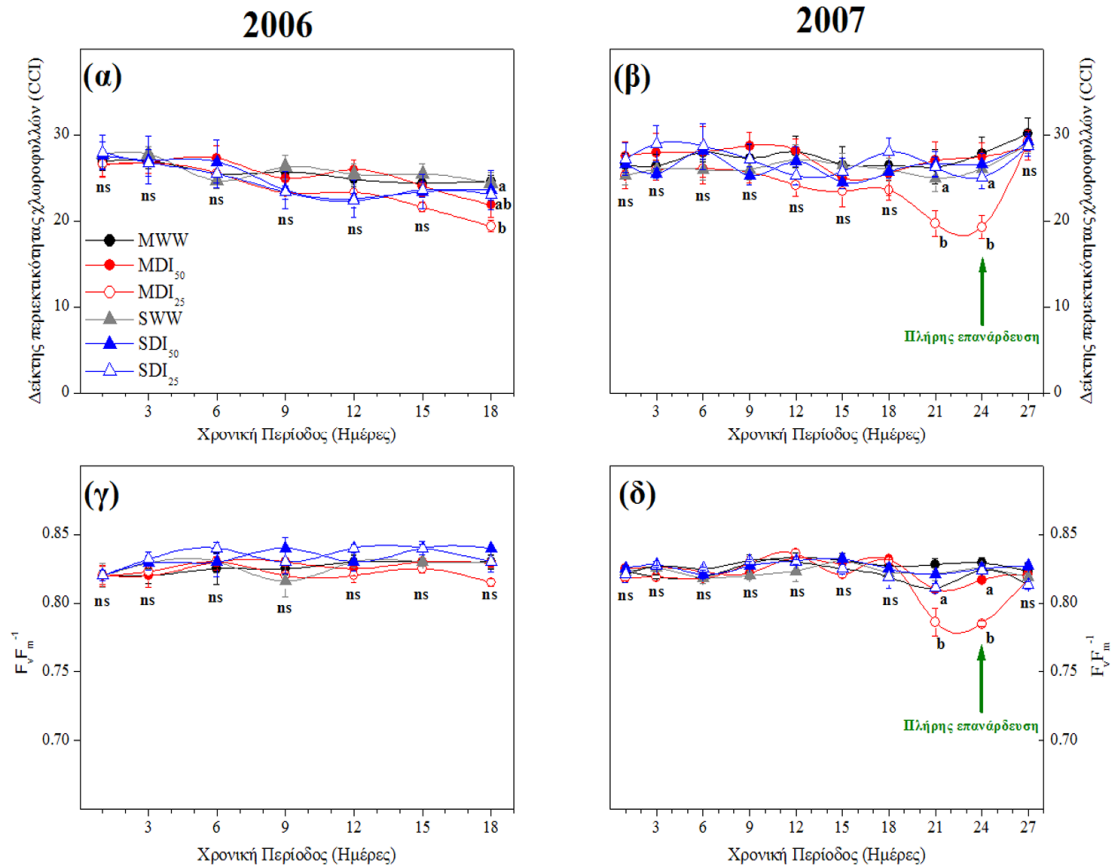
Η συγκέντρωση του ABA στο φύλλο που μετρήθηκε λίγο πριν την ανατολή του ηλίου, αυξήθηκε σημαντικά σε σχέση με τη μείωση της διαθεσιμότητας του νερού στο έδαφος και στις δύο ποικιλίες στις δύο καλλιεργητικές περιόδους (2006 και 2007) (Εικ. 7.8). Αντίθετα, τα φυτά του μάρτυρα και των δύο ποικιλιών έδειξαν παρόμοιες συγκεντρώσεις ABA στη διάρκεια των κύκλων ελλειμματικής άρδευσης. Η συγκέντρωση του ABA στο φύλλο ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στα φυτά της



Εικόνα 7.5. Μεταβολές της στοματικής αγωγιμότητας (g_s) τις μεσημβρινές ώρες, σε πλήρως αρδευόμενα φυτά (WW) και σε φυτά που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης (DI₅₀ και DI₂₅) των δύο ποικιλιών της αμπέλου, της Μαυροδάφνης (M) και του Σαββατιανού (S) κατά τη διάρκεια περιόδων υδατικής έλλειψης που εφαρμόστηκαν το 2006. Κάθε τιμή του Ψ_{PD} αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο $\times$ 3 κύκλους ξηρασίας). Κάθε τιμή των P_N και g_s αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE 30 επαναλήψεων (10 φύλλα ανά κύκλο $\times$ 3 κύκλους ξηρασίας). Σε κάθε ημέρα δειγματοληψίας, διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.05$. ns, μη στατιστικά σημαντικό.

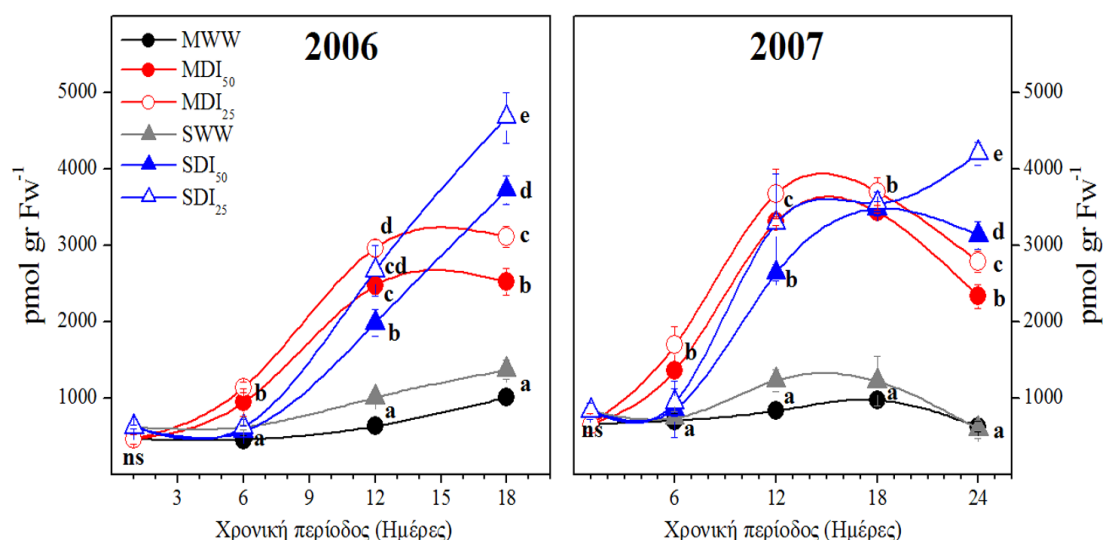


Εικόνα 7.6. Συμμεταβολή της αποτελεσματικότητας χρήσης νερού (WUE_i) (α) με το υδατικό δυναμικό βάσης του φύλλου (Ψ_{PD}) και (β) με τη στοματική αγωγιμότητα (g_s) στις δύο ποικιλίες αμπέλου, της Μαυροδάφνης (M) και του Σαββατιανού (S) που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται σ' όλους τους χειρισμούς περιοριστικής υδατικής διαίτας (DI₅₀ και DI₂₅) και στους τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2006 και το 2007. Κάθε σημείο αντιστοιχεί σε μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές ημέρες κάθε κύκλου ξηρασίας αντίστοιχα και αντιπροσωπεύει το μέσο όρο $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας) για τον άξονα X και 30 επαναλήψεων (10 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας) για τον άξονα Ψ. Στους χειρισμούς προσαρμόστηκαν γραμμές παλινδρόμησης ($P<0.05$). Στην εικόνα (β) φαίνονται οι τιμές του F και του P για κάθε κύρια επίδραση (Ποικιλία και Ψ_{PD}) καθώς και της αλληλεπίδρασης τους, που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της ANCOVA.



Εικόνα 7.7. Μεταβολή (α,β) της περιεκτικότητας των χλωροφυλλών στο φύλλο (CCI) και (γ,δ) της μέγιστης απόδοσης του PSII (F_v/F_m) στις δυο ποικιλίες αμπέλου, της Μαυροδάφνης (M) και του Σαββατιανού (S) μέσα στην περίοδο ξηρασίας. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται σε τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2006 και το 2007. Για τη CCI κάθε τιμή αποτελεί το μέσο όρο $\pm$ SE 30 επαναλήψεων (10 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας), ενώ για τη F_v/F_m κάθε τιμή αποτελεί το μέσο όρο $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας). Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0.05$) μέσα στην ίδια γραμμή επισημαίνονται με διαφορετικά γράμματα. ns, στατιστικά μη σημαντικό.

Μαυροδάφνης που δέχονταν ελλειμματική άρδευση σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού στην αρχή της περιόδου ξηρασίας (ημέρα 6 και ημέρα 12), ενώ η αντίθετη τάση ήταν εμφανής κατά τη λήξη της περιόδου ξηρασίας (Εικ. 7.8). Η υψηλότερη συγκέντρωση του ABA καταγράφηκε στο χειρισμό της έντονης ελλειμματικής άρδευσης (DI_{25}) των φυτών του Σαββατιανού και στα δύο έτη όπου πραγματοποιήθηκαν οι κύκλοι ξηρασίας.



Εικόνα 7.8. Μεταβολές της συγκέντρωσης του αμπισισικού οξέος (ABA) στο φύλλο στις δύο ποικιλίες αμπέλου, της Μαυροδάφνης (M) και Σαββατιανού (S) μέσα στην περίοδο ξηρασίας. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτή την εικόνα αναφέρονται σε τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2006 και το 2007. Οι τιμές είναι οι μέσοι όροι $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 φύλλα ανά κύκλο x 3 κύκλους ξηρασίας). Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0.05$) μέσα στην ίδια γραμμή επισημαίνονται με διαφορετικά γράμματα. ns, στατιστικά μη σημαντικό.

Για να καθοριστούν οι διαφορές μεταξύ των δύο ποικιλιών στο μηχανισμό επαγωγής χημικών σημάτων εκτός από το ABA, έγιναν και μετρήσεις κυτοκινινών στα φύλλα κατά τη διάρκεια του κύκλου της ελλειμματικής άρδευσης (Πίνακας 7.1 και 7.2). Η συγκέντρωση όλων των μορφών των κυτοκινινών (t-ZR, DHZR και iPA) βρέθηκε να αντιδρά με ευαισθησία στη μεταβολή της εδαφικής υγρασία του εδάφους. Ειδικότερα, σ' όλους τους χειρισμούς της περιοριστικής υδατικής διαίτας και των δύο ποικιλιών σημειώθηκε σημαντική μείωση στη συγκέντρωση των κυτοκινινών σε σχέση με το μάρτυρα κατά τη διάρκεια της περιόδου ξηρασίας. Αυτή η μείωση παρατηρήθηκε και στα δύο έτη όπου πραγματοποιήθηκαν κύκλοι ξηρασίας. Η μεγαλύτερη μείωση στη συγκέντρωση όλων σχεδόν των μορφών των κυτοκινινών σημειώθηκε στους χειρισμούς της ελλειμματικής άρδευσης των φυτών της ποικιλίας Μαυροδάφνης στο τέλος της περιόδου έλλειψης νερού. Τα φυτά του Σαββατιανού που άνηκαν στους χειρισμούς της ελλειμματικής άρδευσης και ιδιαίτερα ο χειρισμός DI₅₀ εμφάνισε σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις των περισσότερων κυτοκινινών συγκριτικά με τον αντίστοιχο της Μαυροδάφνης κατά το μεγαλύτερο μέρος της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής διαίτας. Στις περισσότερες μορφές των κυτοκινινών τα φυτά του Σαββατιανού στο χειρισμό του μάρτυρα εμφάνισαν μεγαλύτερη συγκέντρωση κυτοκινινών στα

Πίνακας 7.1. Μεταβολές της συγκέντρωσης των κυτοκινινών (CKs) στο φύλλο στις δύο ποικιλίες αμπέλου μέσα στην περίοδο ξηρασίας. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτό τον πίνακα αναφέρονται σε τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2006. Οι τιμές είναι οι μέσοι όροι $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 προσδιορισμοί της συγκέντρωσης των CKs x 3 κύκλους ξηρασίας). Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0.05$) μέσα στην ίδια γραμμή επισημαίνονται με διαφορετικά γράμματα.

Παράμετροι	Χρονική περίοδος (Ημέρες)	Συγκέντρωση Κυτοκινινών					
		Μαυροδάφνη			Σαββαπανό		
		WW	DI ₅₀	DI ₂₅	WW	DI ₅₀	DI ₂₅
t-ZR (nmol g ⁻¹ XB)	1	42 $\pm$ 2.52b	42 $\pm$ 2.52b	42 $\pm$ 2.52b	50 $\pm$ 4.35a	50 $\pm$ 4.35a	50 $\pm$ 4.35a
	6	33 $\pm$ 2.03b	28 $\pm$ 3.00bc	26 $\pm$ 2.69c	49 $\pm$ 4.03a	31 $\pm$ 5.67b	35 $\pm$ 2.16b
	12	32 $\pm$ 1.21b	26 $\pm$ 3.57c	23 $\pm$ 1.15c	50 $\pm$ 4.21a	33 $\pm$ 5.79b	33 $\pm$ 1.45b
	18	31 $\pm$ 1.33b	23 $\pm$ 3.22c	22 $\pm$ 2.63c	44 $\pm$ 5.97a	33 $\pm$ 6.43b	30 $\pm$ 3.10b
DHZR (nmol g ⁻¹ XB)	1	76 $\pm$ 4.67b	76 $\pm$ 4.67b	76 $\pm$ 4.67b	86 $\pm$ 7.84a	86 $\pm$ 7.84a	86 $\pm$ 7.84a
	6	76 $\pm$ 3.65a	68 $\pm$ 5.15b	64 $\pm$ 5.27b	82 $\pm$ 6.65a	57 $\pm$ 7.64b	46 $\pm$ 3.44c
	12	73 $\pm$ 4.75b	51 $\pm$ 4.69c	51 $\pm$ 3.11c	81 $\pm$ 5.75a	78 $\pm$ 8.85ab	72 $\pm$ 14.4b
	18	69 $\pm$ 2.75ab	41 $\pm$ 4.83c	36 $\pm$ 2.62c	76 $\pm$ 6.75a	74 $\pm$ 6.01a	64 $\pm$ 4.77b
iPA (nmol g ⁻¹ XB)	1	57 $\pm$ 6.84a	57 $\pm$ 6.71a	57 $\pm$ 6.71a	66 $\pm$ 8.49a	66 $\pm$ 8.49a	66 $\pm$ 8.49a
	6	53 $\pm$ 5.84b	23 $\pm$ 4.61c	24 $\pm$ 3.39c	67 $\pm$ 7.62a	14 $\pm$ 4.87d	13 $\pm$ 2.86d
	12	51 $\pm$ 5.56b	14 $\pm$ 1.03d	8 $\pm$ 1.18d	66 $\pm$ 6.56a	34 $\pm$ 2.60c	11 $\pm$ 0.88d
	18	50 $\pm$ 3.50a	11 $\pm$ 1.10c	13 $\pm$ 3.21c	55 $\pm$ 4.50a	29 $\pm$ 5.11b	16 $\pm$ 4.33c

Πίνακας 7.2. Μεταβολές της συγκέντρωσης των κυτοκινινών (CKs) στο φύλλο στις δύο ποικιλίες αμπέλου μέσα στην περίοδο ξηρασίας. Τα δεδομένα που παρουσιάζονται σ' αυτό τον πίνακα αναφέρονται σε τρεις κύκλους ξηρασίας που πραγματοποιήθηκαν το 2007. Οι τιμές είναι οι μέσοι όροι $\pm$ SE 12 επαναλήψεων (4 προσδιορισμοί της συγκέντρωσης των CKs x 3 κύκλους ξηρασίας). Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0.05$) μέσα στην ίδια γραμμή επισημαίνονται με διαφορετικά γράμματα.

Παράμετροι	Χρονική περίοδος (Ημέρες)	Συγκέντρωση Κυτοκινινών					
		Μαυροδάφνη			Σαββαπανό		
		WW	DI ₅₀	DI ₂₅	WW	DI ₅₀	DI ₂₅
t-ZR (nmol g ⁻¹ XB)	1	12 $\pm$ 0.50b	12 $\pm$ 0.50b	12 $\pm$ 0.50b	15 $\pm$ 1.45a	15 $\pm$ 1.45a	15 $\pm$ 1.45a
	6	11 $\pm$ 0.67b	11 $\pm$ 0.50b	9 $\pm$ 0.12c	16 $\pm$ 1.33a	12 $\pm$ 0.50b	10 $\pm$ 0.12bc
	12	9 $\pm$ 0.93c	7 $\pm$ 0.40cd	8 $\pm$ 0.33d	15 $\pm$ 2.08a	11 $\pm$ 0.33b	12 $\pm$ 0.33b
	18	9 $\pm$ 1.21b	2 $\pm$ 0.12c	2 $\pm$ 0.23c	12 $\pm$ 1.21a	1 $\pm$ 0.12c	3 $\pm$ 0.23c
	24	7 $\pm$ 0.68b	3 $\pm$ 0.23c	2 $\pm$ 0.42c	10 $\pm$ 1.68a	4 $\pm$ 0.67c	4 $\pm$ 0.42c
DHZR (nmol g ⁻¹ XB)	1	54 $\pm$ 3.65a	54 $\pm$ 3.65a	54 $\pm$ 3.65a	55 $\pm$ 4.09a	55 $\pm$ 4.09a	55 $\pm$ 4.09a
	6	52 $\pm$ 3.60ab	32 $\pm$ 6.13c	25 $\pm$ 0.88d	55 $\pm$ 5.20a	48 $\pm$ 6.06b	37 $\pm$ 3.44c
	12	48 $\pm$ 5.10a	31 $\pm$ 4.33c	23 $\pm$ 3.45d	53 $\pm$ 6.62a	38 $\pm$ 10.4b	24 $\pm$ 14.4d
	18	43 $\pm$ 6.90ab	23 $\pm$ 3.46c	14 $\pm$ 2.03d	47 $\pm$ 5.20a	39 $\pm$ 6.33b	14 $\pm$ 4.77d
	24	35 $\pm$ 3.50a	12 $\pm$ 2.89c	10 $\pm$ 0.45c	37 $\pm$ 3.19a	14 $\pm$ 0.88c	25 $\pm$ 1.45b
iPA (nmol g ⁻¹ XB)	1	37 $\pm$ 2.45b	37 $\pm$ 2.45b	37 $\pm$ 2.45b	53 $\pm$ 6.33a	53 $\pm$ 6.33a	53 $\pm$ 6.33a
	6	35 $\pm$ 3.20b	26 $\pm$ 1.23c	18 $\pm$ 1.15d	46 $\pm$ 6.75a	39 $\pm$ 4.78b	42 $\pm$ 7.48ab
	12	34 $\pm$ 2.89b	20 $\pm$ 2.10c	12 $\pm$ 2.10d	40 $\pm$ 4.23a	10 $\pm$ 4.00d	16 $\pm$ 4.04cd
	18	28 $\pm$ 4.20b	12 $\pm$ 1.12c	6 $\pm$ 0.67d	37 $\pm$ 5.65a	22 $\pm$ 2.31b	13 $\pm$ 1.73c
	24	25 $\pm$ 1.98b	6 $\pm$ 0.56d	4 $\pm$ 0.24d	34 $\pm$ 4.65a	14 $\pm$ 4.62c	14 $\pm$ 0.79c

φύλλα σε σχέση με τα αντίστοιχα της Μαυροδάφνης. Την περίοδο 2007 τα φυτά και των δύο ποικιλιών εμφάνισαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα κυτοκινινών συγκριτικά με την περίοδο του 2006.

7.5 Συζήτηση

Είναι γνωστό ότι όταν υπάρχει έλλειψη νερού η στοματική αγωγιμότητα συνήθως μειώνεται γρηγορότερα απ' ό,τι η αφομοίωση του άνθρακα, οδηγώντας σε αύξηση της WUE_i (Chaves et al., 2004). Πράγματι, η αποτελεσματικότητα χρήσης νερού (WUE_i), αυξήθηκε σημαντικά στα φυτά και των δύο ποικιλιών στα οποία εφαρμόστηκε ελλειμματική άρδευση κατά τη διάρκεια της περιόδου ξηρασίας (Εικ. 7.4). Ωστόσο για την ίδια τιμή του Ψ_{PD} η ποικιλία Σαββατιανό εμφάνισε σημαντική αύξηση της WUE_i συγκριτικά με τα φυτά της Μαυροδάφνης (Εικ. 7.6α και Εικ. 7.6β). Η υψηλή WUE_i μπορεί να είναι αποτέλεσμα στοματικής ρύθμισης (Van den Boogaard et al., 1997; Tambussi et al., 2007), υψηλότερου φωτοσυνθετικού ρυθμού ή συνδυασμού και των δύο άνω παραγόντων (Condon et al., 2002). Στα αποτελέσματα της εργασίας αυτής η υψηλότερη WUE_i που παρατηρήθηκε στα φυτά του Σαββατιανού μπορεί να αποδοθεί σε μεγαλύτερη ικανότητα αφομοίωσης του άνθρακα ιδίως σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης (Εικ. 7.6α). Η μείωση της WUE_i που παρατηρήθηκε στα φυτά της Μαυροδάφνης σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης, δεν μπορεί να αποδοθεί σε διαταραχές βιοχημικών διεργασιών. Η επαναφορά του φωτοσυνθετικού ρυθμού στα επίπεδα του μάρτυρα μετά την επαναενυδάτωση των φυτών της Μαυροδάφνης, αποκλείει την ύπαρξη μόνιμης φωτοαναστολής παρά τη μείωση του λόγου F_v/F_m το έτος 2007 (Εικ. 7.7δ). Οι διαφορές που υπάρχουν στη φωτοσυνθετική ικανότητα των δύο ποικιλιών είναι δυνατόν να οφείλονται σε διαφορά στη διάχυση του CO_2 στο μεσόφυλλο. Τέτοιες διαφορές μεταξύ ποικιλιών αμπέλου στην μεσοφυλλική αγωγιμότητα του CO_2 έχουν ήδη αναφερθεί σε παλιότερες μελέτες (Caemmerer and Evans 1991; Patakas et al., 2003). Σύμφωνα μ' αυτές η διαφοροποίηση μεταξύ των ποικιλιών της αμπέλου στο φωτοσυνθετικό ρυθμό, αποδόθηκε στη μεγαλύτερη επιφάνεια των κυτταρικών τοιχωμάτων που ήταν εκτεθειμένη στους μεσοκυττάριους χώρους, στις ποικιλίες που εμφάνιζαν υψηλό φωτοσυνθετικό ρυθμό, διευκολύνοντας τη διάχυση μεγαλύτερης ποσότητας CO_2 μέσω των κυτταρικών τοιχωμάτων. Ωστόσο, η συμμετοχή και άλλων παραγόντων που διευκολύνουν τη διάχυση του CO_2 μέσω της κυτοπλασματικής και χλωροπλαστικής μεμβράνης των κυττάρων δεν θα πρέπει να αποκλειστούν (καρβοξυλικές

αφυδρογονάσεις, υδατοπορίνες) (Flexas et al., 2004; Uehlein et al., 2003; Hanba et al., 2004). Οι αλλαγές στα ανατομικά χαρακτηριστικά του φύλλου σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης μπορούν να μεταβάλλουν τη μεσοφυλλική αντίσταση του CO₂ από την υποστοματική κοιλότητα στα σημεία καρβοξυλίωσης με αποτέλεσμα να μεταβάλλουν και τη φωτοσυνθετική ικανότητα των φυτών. Οι Escalona et al. (2000) βρήκαν σημαντική διαφοροποίηση της WUE_i μεταξύ των ποικιλιών αμπέλου Manto Negro και Tempranillo. Η ποικιλία Manto Negro ως πιο ανθεκτική στην ξηρασία εμφάνισε μεγαλύτερη WUE_i ιδιαίτερα σε συνθήκες έλλειψης νερού στο έδαφος, γεγονός που εισηγείται ότι η αύξηση της WUE_i μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κριτήριο αντοχής των φυτών της αμπέλου στην ξηρασία (Schultz 1996; Barcelo et al., 1998).

Μέχρι σήμερα υπάρχει περιορισμένη γνώση στην ακριβή σχέση της έλλειψης νερού και της μεταγωγής σημάτων καταπόνησης σε μεγάλη απόσταση μέσα στο φυτό και ως προς το ρόλο του ABA και τη φύση των αλληλεπιδράσεων του ABA με άλλα χημικά σήματα, όπως οι κυτοκινίνες (CKs) και το αιθυλένιο (Sauter et al., 2001). Σημαντικά πειραματικά αποτελέσματα στηρίζουν την υπόθεση ότι το ABA δρα ως θετικό σήμα μεταξύ της ρίζας και του βλαστού (Davies et al., 1994; Comstock, 2002), αντιθέτως με τις CKs που πιθανό δρουν ως αρνητικά σήματα καταπόνησης στο διαπνευστικό ρεύμα (Shashidhar et al., 1996; Hare et al., 1997; Jackson, 2002; Forde, 2002; Hansen and Dorffling, 2003). Ειδικότερα, η μείωση της συγκέντρωσης των κυτοκινινών στο διαπνευστικό ρεύμα έχει αναφερθεί ότι προκαλεί αφενός κλείσιμο των στομάτων (Incoll et al., 1990; Badenoch-Jones et al. 1996) και αφετέρου αύξηση της στοματικής ευαισθησίας στο ABA (Wilkinson and Davies 2002). Η μείωση των κυτοκινινών (tZ και tZR) στον ανερχόμενο χυμό του αγωγού ιστού της αμπέλου, συνδέεται άμεσα με το κλείσιμο των στομάτων (Stoll et al., 2000). Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συγκέντρωσης όλων των χημικών ισοδύναμων κυτοκινινών στα φύλλα και των δύο ποικιλιών, σ' όλους τους χειρισμούς ελλειμματικής άρδευσης (DI₅₀ και DI₂₅), αποτελώντας ένα δυνατό ισχυρό σήμα έγκαιρης προειδοποίησης στην έναρξη της περιόδου εφαρμογής της περιοριστικής υδατικής δίαιτας (ημέρα 6) (Πίνακας 7.1 και Πίνακας 7.2). Λαμβάνοντας υπόψη την υπόθεση ότι οι CKs κατά κύριο λόγο προέρχονται από τη ρίζα, όπως είναι ευρέως αποδεκτό ότι στην καλύπτρα των ριζικών τριχιδίων είναι το σημείο όπου βιοσυντίθενται οι κυτοκινίνες (Torrey, 1976; Letham and Palni 1983; Stoll et al., 2000), μια σημαντική μείωση στη συγκέντρωση των κυτοκινινών στον ανερχόμενο χυμό του αγωγού ιστού πολύ γρήγορα γίνεται αισθητή από τα φύλλα. Μ' αυτόν τον τρόπο τα

μεταφερόμενα σήματα των CKs από τη ρίζα στο βλαστό πιθανόν να ενισχύουν τη δράση του ABA στο διαπνευστικό ρεύμα των φυτών, αφού όπως είναι γνωστό η μείωση των CKs ευνοεί το κλείσιμο του στοματικού πόρου (Radin et al., 1982; Fusseder et al., 1992). Αν αυτό είναι αλήθεια οι CKs και το ABA μπορεί στενά να αλληλεπιδρούν σε απόκριση στην υδατική καταπόνηση ρυθμίζοντας ως ένα βαθμό τη φυσιολογία των στομάτων στα φυτά της αμπέλου. Επιπλέον η συσσώρευση του ABA και η μείωση των CKs προηγήθηκε της μείωσης της στοματικής αγωγιμότητας. Είναι λοιπόν λογικό να υποθέσουμε ότι αυτά τα χημικά σήματα πράγματι προκαλούν το κλείσιμο των στομάτων με τις συνακόλουθες επιπτώσεις στη ανάπτυξη των φυτών. Στα φυτά του Σαββατιανού η μείωση των κυτοκινινών ήταν σημαντική στην αρχή της περιόδου, σε αντίθεση με την συγκέντρωση του ABA. Επομένως, δεν μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο, η μείωση αυτή των κυτοκινινών να αύξησε την ευαισθησία των στομάτων στην υπάρχουσα συγκέντρωση του ABA.

Η συγκέντρωση όλων των μετρούμενων CKs και στις δύο ποικιλίες μειώθηκε σημαντικά στα φυτά των χειρισμών της περιοριστικής υδατικής διαίτας σε σχέση με τα φυτά του μάρτυρα και αυτό μπορεί να συνδέεται άμεσα με τη σημαντική μείωση του ρυθμού ανάπτυξης του βλαστού (Pospisilova et al., 2000; Stoll et al., 2000) (Εικ. 7.3α). Παρ' όλα αυτά, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα φυτά του Σαββατιανού στο τέλος της περιόδου ξηρασίας εμφάνισαν στους χειρισμούς ελλειμματικής άρδευσης μεγαλύτερη συγκέντρωση κυτοκινινών από τα αντίστοιχα της Μαυροδάφνης. Αυτή η διαφορά στη συγκέντρωση των κυτοκινινών μεταξύ των δύο ποικιλιών συνέπεσε με το σημαντικά υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης του βλαστού που παρατηρήθηκε στα φυτά του Σαββατιανού. Ωστόσο, η υψηλότερη συγκέντρωση του ABA και των κυτοκινινών που εμφάνισαν τα φυτά της ελλειμματικής άρδευσης του Σαββατιανού στο τέλος της περιόδου ξηρασίας υποδηλώνει ότι σε συνθήκες έντονης καταπόνησης η αλληλεπίδραση των χημικών σημάτων καθορίζει τη φυσιολογική απόκριση των στομάτων. Δεδομένου ότι και στις δύο ποικιλίες στο τέλος της περιόδου ξηρασίας στο χειρισμό της έντονης ελλειμματικής άρδευσης η στοματική αγωγιμότητα δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ποικιλιών, η αυξημένη συγκέντρωση των κυτοκινινών που παρατηρήθηκε στα φύλλα του Σαββατιανού πιθανόν να μείωσε τη στοματική ευαισθησία στις αυξημένες συγκεντρώσεις του ABA. Όμοια και στην περίπτωση της βλαστικής ανάπτυξης, όπου τα φυτά του Σαββατιανού φάνηκαν να υπερέχουν όχι μόνο στους χειρισμούς της περιοριστικής υδατικής διαίτας αλλά και στο χειρισμό του μάρτυρα. Όλα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι οι CKs συμμετέχουν στη ρύθμιση της

στοματικής λειτουργίας σε συνθήκες ξηρασίας, αν και αυτή η απλοϊκή ανάλυση στερείται από πολλές εκτιμήσεις που έχουν να κάνουν με την επίδραση της ελλειμματικής άρδευσης στη λειτουργία και στην τύχη που έχουν οι διάφορες μορφές των CKs που προέρχονται από τη ρίζα, καθώς και τις πιθανές αλληλεπιδράσεις τους με το ABA στην υποστοματική κοιλότητα. Επιπλέον η μεγαλύτερη συγκέντρωση των κυτοκινινών που εμφάνισαν τα φυτά του Σαββατιανού στο χειρισμό DI₂₅, αύξησε τη διατήρηση της ακεραιότητας των χλωροφύλλων (Εικ. 7.7α και Εικ. 7.7β), αφού όπως είναι γνωστό οι κυτοκινίνες επιβραδύνουν την πρόωρη γήρανση και προστατεύουν τις χλωροφύλλες από τη διάσπαση τους (Smart et al., 1991; Gan and Amasino, 1995; Ori et al., 1999; Kim et al., 2006). Αντίθετα η σημαντική μείωση των χλωροφυλλών στον αντίστοιχο χειρισμό της Μαυροδάφνης, πιθανόν να οφείλεται στη μειωμένη προστατευτική δράση των κυτοκινινών. Η ανάπτυξη του βλαστού στις περιόδους ξηρασίας που εφαρμόστηκαν το 2007, ήταν σημαντικά υψηλότερη συγκριτικά με τις αντίστοιχες του 2006. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην πιο ζωντανή ανάπτυξη που παρουσίασαν τα πρέμνα λόγω οντογενετικών μεταβολών που πιθανόν να οφείλονταν στην ηλικία τους. Τέλος είναι φανερό ότι η συγκέντρωση των κυτοκινινών στο φύλλο συνδέεται άμεσα με την ηλικία των φυτών, αφού από τα δεδομένα υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση της συγκέντρωσης των κυτοκινινών από έτος σε έτος και στις δύο ποικιλίες.

7.6 Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η ελλειμματική άρδευση ενίσχυσε την αύξηση της αποτελεσματικότητας χρήσης νερού περισσότερο στα φυτά του Σαββατιανού σε σύγκριση με τα φυτά της Μαυροδάφνης, ιδιαίτερα σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης. Επίσης ήταν φανερό ότι η αντίδραση στην ελλειμματική άρδευση διαφέρει μεταξύ των ποικιλιών και ιδιαίτερα σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης. Το τελευταίο αφορά το συμπέρασμα ότι σε συνθήκες παρατεταμένης ξηρασίας (έτος 2007) οι διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ήταν πιο εμφανείς. Οι χειρισμοί της ελλειμματικής άρδευσης της ποικιλίας του Σαββατιανού εμφάνισαν κατά το μεγαλύτερο διάστημα των κύκλων ξηρασίας υψηλότερο υδατικό δυναμικό βάσης του φύλλου από τους αντίστοιχους της Μαυροδάφνης. Αυτό ήταν αποτέλεσμα του καλύτερου ελέγχου της στοματικής αγωγιμότητας τις πρώτες πρωινές ώρες και κατά τη διάρκεια της ημέρας, στην αρχή της περιόδου εφαρμογής των ελλειμματικών αρδεύσεων. Μολονότι, οι σημαντικές διαφορές στο ρυθμό αύξησης της WUE_i πιθανόν

να οφείλονται σε ανατομικές μεταβολές που διευκολύνουν τη διάχυση του CO₂ μέσω των κυτταρικών και χλωροπλαστικών μεμβρανών στα φυτά του Σαββατιανού, η ανάπτυξη του φαινομένου της δυναμικής φωτοαναστολής στα φυτά της Μαυροδάφνης σε πολύ έντονη υδατική καταπόνηση δεν αποκλείεται. Η μείωση των κυτοκινινών κατά τη διάρκεια της περιόδου ξηρασίας φαίνεται να αλληλεπιδρά και να επηρεάζει άλλα χημικά σήματα όπως το ABA που συμμετέχουν στη στοματική ρύθμιση και στη βλαστική ανάπτυξη των δύο ποικιλιών. Η δράση των κυτοκινινών σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης πιθανόν να σχετίζεται και με τη διάσπαση των χλωροφυλλών στα φύλλα της Μαυροδάφνης. Τέλος το πείραμα αυτό αποκαλύπτει ότι η δυνατότητα διατήρησης της φωτοσυνθετικής ικανότητας σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης αυξάνει την αποτελεσματικότητα χρήσης νερού και βελτιώνει σημαντικά την αντοχή στην ξηρασία των ποικιλιών της αμπέλου.

Γενικά Συμπεράσματα



8.1 Γενικά Συμπεράσματα

Από την έρευνα σχετικά με την αξιολόγηση της προσαρμοστικής αποτελεσματικότητας της φυσιολογίας παραγωγής ποικιλιών της αμπέλου που αναπτύσσονται σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Προσδιορίστηκε με ακρίβεια η μεθοδολογία μέτρησης του pH του αποπλάστη των φύλλων με τη χρησιμοποίηση του θαλάμου πίεσης.
2. Τα κλάσματα που συλλέγονται σε χαμηλές πιέσεις (κλάσμα I και II) αντικατοπτρίζουν καλύτερα αλλαγές στη σύσταση του ανοδικού ρεύματος που εισέρχεται στο φύλλο.
3. Οι μετρήσεις του pH του ανερχόμενου χυμού που λαμβάνουν χώρα πριν την ανατολή ηλίου, αντικατοπτρίζουν ακριβέστερα τις επιπτώσεις της υδατικής καταπόνησης στο pH του αποπλάστη.
4. Οι σημαντικές διαφορές στις τιμές του pH του ανερχόμενου χυμού και της στοματικής ευαισθησίας μεταξύ διαφορετικών γενοτύπων της αμπέλου πιθανόν σχετίζονται με την διαφορετική προσαρμοστική ικανότητα τους στην ξηρασία.
5. Η μεγαλύτερη ικανότητα προσαρμογής στην ξηρασία της ποικιλίας του Σαββατιανού θα μπορούσε να αποδοθεί στον αποτελεσματικότερο έλεγχο που ασκεί στο κλείσιμο της στοματικής συσκευής, κάτι το οποίο έχει ως αποτέλεσμα τη διατήρηση της ενυδάτωσης των φύλλων σε υψηλά επίπεδα, παρά τις αλλαγές στη διαθεσιμότητα του νερού στο έδαφος.
6. Η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας νωρίτερα στην αρχή της περιόδου εφαρμογής της υδατικής περιοριστικής διαίτας στα φυτά του Σαββατιανού, ταυτόχρονα με την απουσία της αύξησης της συγκέντρωσης του ABA στα φύλλα του εισηγούνται ότι κάποιος άλλος μηχανισμός, πιθανόν σχετιζόμενος με την υδραυλική αγωγιμότητα, μπορεί να είναι υπεύθυνος για αυτή τη στοματική συμπεριφορά.
7. Στην ποικιλία του Σαββατιανού, το κλείσιμο των στομάτων στο τέλος της περιόδου της ξηρασίας είναι αποτέλεσμα συνδυασμένης δράσης χημικών και υδραυλικών σημάτων που επάγονται κατά την υδατική καταπόνηση.
8. Στην ποικιλία Μαυροδάφνη ο μηχανισμός προσαρμογής στην ξηρασία βασίζεται κυρίως σε χημικά σήματα.

9. Οι υψηλότερες τιμές του pH, οι οποίες αυξάνουν τη συγκέντρωση του ABA στην περιοχή των καταφρακτικών κυττάρων, ενδέχεται να αναπληρώνουν τον περιορισμένο υδραυλικό έλεγχο στα στόματα, επάγοντας το κλείσιμο των στομάτων. Η υψηλή ευαισθησία της στοματικής αγωγιμότητας στη συγκέντρωση του ABA στα φύλλα των φυτών της Μαυροδάφνης επιβεβαιώνει τον κυρίαρχο ρόλο αυτού του μηχανισμού προσαρμογής στην ξηρασία.
10. Το Σαββατιανό εμφάνισε αυξημένη φωτοπροστασία, συνέπεια της αποτελεσματικότερης θερμικής απόσβεσης, σε αντίθεση με τη Μαυροδάφνη η οποία αύξησε περισσότερο τη φωτοαναπνοή κατά τη διάρκεια της περιόδου εφαρμογής της ελλειμματικής άρδευσης.
11. Η διαφορετική στρατηγική προσαρμογής στην ξηρασία που αναπτύχθηκε από την ποικιλία Μαυροδάφνη, εμπεριέχει αποδόμηση των χλωροφυλλών στα πλαίσια αντιμετώπισης της περιορισμένης ικανότητας διαχείρισης της περίσσειας φωτεινής ενέργειας.
12. Το Σαββατιανό έδειξε πιο ανθεκτικό φωτοσυνθετικό μηχανισμό έναντι της οξειδωτικής καταπόνησης που προξενείται από την έλλειψη νερού, όπως έδειξαν οι μειωμένες οξειδωτικές βλάβες στο φύλλο.
13. Όσον αφορά τον αμυντικό ενζυματικό αντιοξειδωτικό μηχανισμό, βρέθηκε αύξηση στις ενεργότητες των σημαντικότερων ενζύμων εξουδετέρωσης των ROS στις δυο μελετώμενες ποικιλίες σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης.
14. Τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν το σημαντικό ρόλο της καταλάσης στη ρύθμιση των επιπέδων του H_2O_2 στις δύο ποικιλίες. Ο διαφοροποιημένος ρόλος αυτού του ενζύμου πιθανόν να σχετίζεται με την προσαρμοστική αποτελεσματικότητα των ποικιλιών αυτών στην ξηρασία. Ο ρόλος αυτός έχει να κάνει αφενός με την αποτοξίνωση του H_2O_2 (Σαββατιανό) και αφετέρου με την ρύθμιση των συγκεντρώσεων του σ' εκείνα τα επίπεδα που οδηγούν σε διάσπαση των φωτοσυνθετικών χρωστικών (Μαυροδάφνη).
15. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η ελλειμματική άρδευση αύξησε την αποτελεσματικότητα χρήσης νερού περισσότερο στα φυτά του Σαββατιανού, ιδιαίτερα σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης.
16. Η καλύτερες υδατικές σχέσεις της ποικιλίας Σαββατιανού ήταν αποτέλεσμα του καλύτερου ελέγχου της στοματικής αγωγιμότητας τις πρώτες πρωινές ώρες και κατά τη διάρκεια της ημέρας, στην αρχή της περιόδου εφαρμογής των ελλειμματικών αρδεύσεων.

17. Οι μεγαλύτερη αύξηση της WUE_i σε συνθήκες περιοριστικής υδατικής διαίτας πιθανόν να οφείλονται σε ανατομικές μεταβολές που διευκολύνουν τη διάχυση του CO_2 μέσω των κυτταρικών και χλωροπλαστικών μεμβρανών στην ποικιλία Σαββατιανό σε σχέση με την ποικιλία Μαυροδάφνη.
18. Η μείωση των κυτοκινινών κατά τη διάρκεια της περιόδου ξηρασίας φαίνεται να αλληλεπιδρά και να επηρεάζει άλλα χημικά σήματα όπως το ABA που συμμετέχουν στη στοματική ρύθμιση και στη βλαστική ανάπτυξη των δύο ποικιλιών.
19. Η δράση των κυτοκινινών σε συνθήκες έντονης υδατικής καταπόνησης πιθανόν να σχετίζεται και με τη διάσπαση των χλωροφυλλών στα φύλλα της Μαυροδάφνης.
20. Η δυνατότητα διατήρησης της φωτοσυνθετικής ικανότητας και της αποτελεσματικότητας χρήσης νερού σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης, βελτιώνει σημαντικά την αντοχή στην ξηρασία των ποικιλιών της αμπέλου.
21. Τα αποτελέσματα της παρούσης διδακτορικής διατριβής υποστηρίζουν ότι η ποικιλία του Σαββατιανού είναι πιο ικανή να αντέξει σε ξηρά περιβάλλοντα και να διατηρήσει το υδατικό περιεχόμενο και το φωτοσυνθετικό ρυθμό σε σύγκριση με την ποικιλία της Μαυροδάφνης

8.2 Ερευνητικές προοπτικές στην οικοφυσιολογία της υδατικής καταπόνησης

Σημαντική προτεραιότητα πρέπει να δοθεί στην έρευνα για την κατανόηση της απόκρισης του φωτοσυνθετικού μηχανισμού στην έλλειψη νερού και στις διάφορες πρακτικές αρδεύσεων. Οι αλλαγές πολλών μεταβολικών συστατικών ή μηχανισμών που επιδρούν στη φωτοσύνθεση στη διάρκεια μιας υδατικής καταπόνησης είναι μέχρι σήμερα άγνωστες και πρέπει να εκτιμηθούν. Από αυτές τις αλλαγές οι πιο σημαντικές είναι (i) τα ένζυμα που συμμετέχουν στην αναγέννηση της RuBP στο κύκλο του Calvin, (ii) η οξειδωτική καταπόνηση που επιφέρει η έλλειψη νερού καθώς και οι προστατευτικοί μηχανισμοί που αναπτύσσονται πέρα από τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, (iii) η φωτοφωσφορυλίωση και (iv) παράγοντες που πιθανόν επηρεάζουν τη διάχυση του CO_2 μέσα στο φύλλο (καρβοξυλικές αφυδρογονάσεις, υδατοπορίνες). Ομοίως, πρέπει να εκτιμηθεί η αναπνοή και τα συστατικά που συμμετέχουν σ' αυτήν αφού αποτελεί μαζί με τη φωτοσύνθεση το άλλο σημαντικό συστατικό της φυτικής παραγωγής. Είναι πλέον γνωστό ότι η μη φωτοχημική απόσβεση της περίσσειας φωτεινής ενέργειας αποτελεί σημαντική λειτουργία στη φωτοπροστασία των φυτών σε

συνθήκες υδατικής καταπόνησης (αντιπροσωπεύει πάνω από το 80% της συνολικής απορροφούμενης φωτεινής ενέργειας). Από τα αποτελέσματα της παρούσης εργασίας έγινε κατανοητός ο σημαντικός ρόλος αυτού του φωτοπροστατευτικού μηχανισμού στην απόκριση των φυτών στην υδατική καταπόνηση, όπως αυτή εκφράζεται στις διαφορετικές ποικιλίες. Έγινε επίσης γνωστό πως η διαφοροποίηση της ξηρανθεκτικότητας των ποικιλιών της αμπέλου βασίζεται σ' ένα μεγάλο βαθμό στο μηχανισμό της θερμικής απόσβεσης. Ωστόσο, η καλύτερη κατανόηση αυτού του μηχανισμού όπως και άλλων φωτοπροστατευτικών μηχανισμών, είναι αναγκαία για μια πληρέστερη εξήγηση της προσαρμοστικής αποτελεσματικότητας στην ξηρασία διαφορετικών φυτικών ειδών ή ποικιλιών. Τα τελευταία χρόνια έχει καλύτερα κατανοηθεί ο ρόλος του κύκλου των ξανθοφυλλών στην απόσβεση της φωτεινής ενέργειας. Ωστόσο, περαιτέρω έρευνα χρειάζεται για να διευκρινιστεί ο μηχανισμός της αλληλεπίδρασης των αποεποξειδωμένων καροτενοειδών και των H^+ ο οποίος ευνοεί τη θερμική απόσβεση της ενέργειας.

Η ρύθμιση της στοματικής συσκευής βασιζόμενη στη γνώση που υπάρχει όσον αφορά τη μεταγωγή χημικών σημάτων καταπόνησης σε συνθήκες υδατικής έλλειψης έχει ήδη χρησιμοποιηθεί στη γεωργία για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας χρήσης νερού, τη φυτική ανάπτυξη και την παραγωγή (Davies et al., 2002). Εντούτοις, η αλληλεπίδραση των υδραυλικών και χημικών σημάτων και ο ρόλος τους σε συνθήκες αγρού φαίνεται να αποτελεί κρίσιμο σημείο για την κατανόηση και το σχεδιασμό της λειτουργίας της στοματικής συσκευής. Όπως φάνηκε στην παρούσα διατριβή αλλά και στη μέχρι σήμερα βιβλιογραφία τα χημικά σήματα που προέρχονται από τη ρίζα σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης σχετίζονται άμεσα με τη μείωση της διαπνοής και/ή με τη μείωση της βλαστικής ανάπτυξης. Ωστόσο, η ταυτότητα και η σχετική συμβολή του καθ' ένα από τα σήματα αυτά στη μεταγωγή των σημάτων καταπόνησης από τη ρίζα στο βλαστό παραμένει μέχρι σήμερα αμφιλεγόμενη. Αυτή η αμφισβήτηση μπορεί να οφείλεται: α) στη διαφορετική απόκριση που παρουσιάζουν στην υδατική καταπόνηση ορισμένα φυτικά είδη όπως και διαφορετικές ποικιλίες μέσα στο ίδιο είδος όπως έδειξαν τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας, β) στη διαφορετική ένταση της υδατικής καταπόνησης που εφαρμόζεται, γ) στο διαφορετικό χρόνο συλλογής των δειγμάτων κατά τη διάρκεια της καταπόνησης και δ) στις διαφορετικές μεθοδολογίες που ακολουθούνται κατά τη συλλογή δειγμάτων (π.χ. συλλογή ανερχόμενου χυμού για τον προσδιορισμό των χημικών σημάτων στο διαπνευστικό ρεύμα). Έτσι λοιπόν κρίνεται σκόπιμη η δοκιμή της μεθοδολογίας συλλογής του ανερχόμενου χυμού που

αναπτύχθηκε σ' αυτή την εργασία και σ' άλλα φυτικά είδη και ποικιλίες για μια πληρέστερη εικόνα της σύστασης του χυμού αυτού αλλά και των χημικών σημάτων που μεταφέρονται στο διαπνευστικό ρεύμα κατά τη διάρκεια μιας υδατικής καταπόνησης.

Δεν υπάρχει καμιά αμφιβολία για το σημαντικό ρόλο που παίζει ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός των κυττάρων στην αποφυγή του φαινομένου της φωτοαναστολής. Στην εργασία αυτή διερευνήθηκε η δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων σε συνθήκες υδατικού ελλείμματος σε δυο ποικιλίες αμπέλου. Τα αποτελέσματα έδειξαν το σημαντικό ρόλο αυτών των ενζύμων στην αντιοξειδωτική άμυνα του φυτού. Ιδιαίτερα αναδείχθηκε ο ρόλος της καταλάσης στη διαφοροποιημένη συμπεριφορά των φωτοσυστημάτων των δυο ποικιλιών σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Εντούτοις, υπάρχει ανάγκη για βαθύτερη γνώση της ρύθμισης του ενζυματικού και μη αντιοξειδωτικού μηχανισμού τόσο σε διαφορετικά επίπεδα υδατικής καταπόνησης όσο και σε άλλες ποικιλίες ή φυτικά είδη. Η ανάπτυξη διαγνωστικών εργαλείων οξειδωτικής ζημιάς στα φυτικά κύτταρα, είναι σημαντική τόσο για το σχεδιασμό κατάλληλων προγραμμάτων εφαρμογής ελλειμματικής άρδευσης όσο και για την εκτίμηση εγκατάστασης νέων ποικιλιών σε συγκεκριμένες εδαφοκλιματολογικές συνθήκες. Τέλος η καλύτερη γνώση των συστημάτων αντιοξειδωτικής προστασίας των φυτών μπορεί να οδηγήσει την έρευνα μέσω της μοριακής γενετικής στη βελτίωση της προσαρμοστικής αποτελεσματικότητας των φυτών στην ξηρασία.

Η ανάλυση της ανάκαμψης του φωτοσυνθετικού μηχανισμού και των συστατικών του κατά την επαναενυδάτωση από διάφορες επίπεδα εντάσεως της υδατικής καταπόνησης διαφορετικών ποικιλιών και συνθηκών μπορεί να επιτρέψει την αποτελεσματικότερη ανάπτυξη προγραμμάτων ελλειμματικής άρδευσης. Επίσης μπορεί να δώσει εκ των προτέρων μια πληρέστερη εικόνα για τις παραγωγικές δυνατότητες κάποιων ποικιλιών της αμπέλου σε συγκεκριμένα οικοσυστήματα από τη γνώση μόνο των κλιματικών δεδομένων.

Υπάρχει μεγάλο πεδίο έρευνας για τη μοριακή γενετική η οποία μπορεί να επιτύχει σημαντική προσέγγιση στους μηχανισμούς και τους παράγοντες που επηρεάζουν την απάντηση των φυτών στην υδατική καταπόνηση σε μοριακό επίπεδο. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τον προσδιορισμό γονιδίων υπεύθυνων για την έκφραση προσαρμοστικών χαρακτηριστικών των φυτών στην ξηρασία.

Από πρακτικής απόψεως η βελτιωμένη γνώση της φυσιολογίας θα μπορούσε να επάγει την ανάπτυξη φυσιολογικών κριτηρίων για τη βελτίωση αρδευτικών

προγραμμαμάτων σε περιοχές που χαρακτηρίζονται από ξηρό περιβάλλον και τα οποία μπορούν να δοκιμαστούν σε πραγματικές συνθήκες αγρού. Υπό την έννοια αυτή, απαιτείται μετάβαση από προγράμματα μελέτης φυσιολογικών παραμέτρων σε προγράμματα εφαρμογής τους στην γεωργική πρακτική.

8.3 Έρευνα και στρατηγικές εξοικονόμησης νερού

Η σπανιότητα του νερού (ποιοτικά και ποσοτικά) και ο αυξημένος ανταγωνισμός για υδατικούς πόρους μεταξύ της γεωργίας και άλλων δραστηριοτήτων εξωθούν τους παραγωγούς να αναλογιστούν πιο υπεύθυνα την υιοθέτηση στρατηγικών εξοικονόμησης νερού κυρίως σε περιοχές όπου υπάρχει εντατική γεωργική δραστηριότητα και περιορισμένοι υδατικοί πόροι. Αυτό αποκτά ιδιαίτερη σημασία αν σκεφτούμε τη σταδιακή αύξηση του κόστους του νερού.

Πολλές δημοσιευμένες εργασίες αναφέρουν ότι οι στρατηγικές ελλειμματικής άρδευσης μπορούν να εφαρμοστούν επιτυχώς σε πολλές σημαντικές οπωροκηπευτικές καλλιέργειες. Ειδικότερα σε εκείνες τις καλλιέργειες που τυπικά είναι ανθεκτικές στην υδατική καταπόνηση (π.χ άμπελος) με σκοπό την αύξηση της WUE και την εξοικονόμηση νερού. Ωστόσο, έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί στα ίδια φυτικά είδη έχουν οδηγήσει σε αντιφατικά αποτελέσματα. Επομένως είναι φανερό ότι υπάρχει ανάγκη για καλύτερη γνώση της επίδρασης των ποικιλιών, των υποκειμένων ή των χαρακτηριστικών του εδάφους στην απόκριση των φυτών στην έλλειψη νερού. Είναι απαραίτητη επίσης η καλύτερη γνώση της ευπάθειας του κάθε φαινολογικού σταδίου των φυτών στην ξηρασία με σκοπό να εφαρμοστούν οι πιο κατάλληλες τεχνικές ή πρακτικές αρδεύσεων (RDI, DI, PRD). Μελέτες στη μακροπρόθεσμη επίδραση των ελλειμματικών αρδεύσεων στη φυσιολογική λειτουργία και στην απόδοση των φυτών κρίνονται σημαντικές για πολυετής καλλιέργειες όπως δέντρα οπωροφόρων ή αμπέλια. Η σύγκριση της απόκρισης ποικιλιών με διαφορετική αντοχή ή ανοχή στην έλλειψη νερού σε νέες αρδευτικές μεθοδολογίες ή πρακτικές μπορεί να αποτελέσουν αντικείμενα περαιτέρω έρευνας. Ομοίως, μπορεί να διερευνηθεί η πιθανότητα επέκτασης των ελλειμματικών αρδεύσεων σε μεγάλο φάσμα οπωροκηπευτικών καλλιεργειών και κυρίως εκείνων όπου είναι ευαίσθητες στην υδατική καταπόνηση.

Ο συνδυασμός στρατηγικών ελλειμματικών αρδεύσεων με άλλες γεωργικές πρακτικές όπως οι καλλιέργειες χαμηλής κάλυψης μπορεί να βοηθήσει στη βελτίωση της WUE, μειώνοντας της απώλειες της παραγωγής και της ποιότητας σε κηπευτικές καλλιέργειες (Kirnak and Demirtas 2006). Ο εμβολιασμός σε κατάλληλα υποκείμενα τα

οποία είναι καλύτερα προσαρμοσμένα σε συνθήκες μειωμένης διαθεσιμότητας του νερού στο έδαφος μπορεί να αποτελέσει ένα καλό εργαλείο βελτίωσης της φυτικής ανάπτυξης σε τεχνητές ήπιας μορφής υδατικές καταπονήσεις. Τελικά, η ανάπτυξη συστημάτων παρακολούθησης και ελέγχου με ακρίβεια της υδατικής κατάστασης των φυτών, σε συνθήκες αγρού ή θερμοκηπίου, θα βοηθήσουν σημαντικά τη διαχείριση των καλλιεργειών σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Β

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aganchich B, Wahbi S, Loreto F, Centrito M** (2009) Partial root zine drying: regulation of phoyosynthetic limitations and antioxidant enzymatic activities in young olive (*Olea europaea*) saplings. *Tree Physiology* **29**: 685-696.
- Alboresi A, Ballottari M, Hienerwadel R, Giacometti GM, Morosinotto T** (2009) Antenna complexes protect Photosystem I from Photoinhibition. *BMC Plant Biology* **9**: 71
- Allen RD** (1995) Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiology* **107**: 1047-1054.
- Alscher RG, Donahue JL, Ctamer CL** (1997) Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. *Physiology Plantarum* **100**: 224-233.
- Alvarez S, Marsh EL, Schroeder SG, Schachtman DP** (2008) Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought. *Plant, Cell Environment* **31**: 325–340.
- Anderson JV, Hess JL, Cheione BJ** (1990) Purification, characterization, and immunological properties for two isoforms of glutathione reductase from eastern white pine needles. *Plant Physiology* **94**: 1402-1409.
- Apel K, Hirt H** (2004) Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annual Review of Plant of Botany* **55**: 373-399.
- Arisi A-CM, Cornic G, Jouanin L, Foyer CH** (1998) Overexpression of superoxide dismutase in transformed modifies the regulation of photosynthesis at low CO₂ partial pressures or following exposure to prooxidant herbicide methyl viologen. *Plant Physiology* **117**: 565-574.
- Asada K** (1994) Production and action of oxygen species in photosynthetic tissues. In CH Foyer, PM Mullineaux, eds, Causes of photo-oxidative stress and amelioration of defense systems in plants, CRC Press, Boca Raton **pp** 77-104.
- Asada K** (1996) Radical production and scavenging in the chloroplasts. In N.R. Baker (Ed.), Photosynthesis and the Environment, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, **pp** 123–150.
- Asada K** (1999) The water-water cycle in chloroplasts in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**: 601-639.

- Atkinson CJ, Harroson-Murray RS, Taylor JM** (2008) Rapid flood-induced stomatal closure accompanies xylem sap transportation of root-derived acetaldehyde and ethanol in Forsythia. *Environmental of Experimental Botany* **64**: 196-205.
- Bacelar EA, Santos DL, Moutinho-Pereira JM, Goncalves BC, Ferreira HF, Correia CM** (2006) Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Science* **170**: 596-605.
- Bacon M** (2004) Water Use Efficiency in Plant Biology. In: Bacon MA, ed. Water Use Efficiency in Plant Biology. Blackwell Publishing, UK. pp. 1–26.
- Bacon M, Thompson D, Davies W** (1997) Can cell wall peroxidase activity explain the leaf growth response of *Lolium tumulentum* L. during drought? *Journal of Experimental Botany* **48**: 2075-2085.
- Bacon MA** (1999) The biochemical control of leaf expansion during drought. *Plant Growth Regulation* **29**: 101-112.
- Bacon MA** (2004) Water use efficiency in plant biology. In: Water use efficiency in plant biology. Ed. M.A. Bacon (Oxford: Blackwell Publishing) pp. 1-22.
- Bacon MA, Wilkinson S, Davies WJ** (1998) pH-regulated leaf cell expansion in droughted plants is abscisic acid dependent. *Plant Physiology* **118**: 1507–1515.
- Badenoch-Jones J, Parker CW, Letham DS, Singh S** (1996) Effect of cytokinins supplied via the xylem at multiples of endogenous concentrations on transpiration and senescence in derooted seedlings of oat and wheat. *Plant, Cell and Environment* **19**: 504-516.
- Bahrún A, Jensen CR, Asch F, Mogensen VO** (2002) Drought induced changes in xylem pH, ionic composition, and ABA concentration act as early signals in field grown maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany* **53**: 251-263.
- Balaguer L, Pugnaire FI, Martínez-Ferri E, Armas C, Valladares F, Manrique E** (2002) Ecophysiological significance of chlorophyll loss and reduced photochemical efficiency under extreme aridity in *Stipa tenacissima* L. *Plant Soil* **240**: 343-352.
- Barceló AR, Pomar F, López-Serrano, Pedreño MA** (2003) Peroxidase: a multifunctional enzyme in grapevines. *Functional Plant Biology* **30**: 577-591.
- Barcelo J, Escalona JM, Flexas J, Savé R, Medrano H** (1998) Variety effect on water relation changes in response to drought in field grown grapevines. In ‘Proceedings of the 10^{emes} Journées Groupe d’ Etudes des Systèmes de Conduite de la Vigne (GESCO)’. pp. 25-29. (Changins: Suisse.)

- Barker DH, Seaton GGR, Robinson SA** (1997) Internal and external photoprotection in developing leaves of the CAM plant *Cotyledon orbiculata*. *Plant, Cell and Environment* **20**: 617-624.
- Bartoli G, Simontacchi M, Tambussi E, Beltrano J, Montaldi E, Puntarulo S** (1999) Drought and watering-dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. leaves. *Journal of Experimental Botany* **50**: 373-381.
- Beauchamp C, Fridovich I** (1971) Superoxide dismutases: improved assays and an assay predictable to arcylamide gels. *Analytical Biochemistry* **44**: 276-287.
- Behboudian MH, Singh Z** (2001) Water relations and irrigation scheduling in grapevine. *Horticultural Reviews* **27**: 189–225.
- Beis A, Zotos A, Patakas A** (2007) Changes in xylem pH induced by different levels of pressure in detached water stressed grapevines leaves. Proceedings of XVth international GESCO symposium. June 19-23. Porec-Croatia, **pp**: 767-774.
- Beis A, Zotos A, Patakas A** (2009) Influence of sampling time and sap extraction methodology on xylem pH values in two grapevine varieties grown under drought conditions. *Environmental and Experimental Botany* **67**: 305-311.
- Biehler K, Fock H** (1996) Evidence for the contribution of the Mehler-peroxidase reaction in dissipating excess electrons in drought-stressed wheat. *Plant Physiology* **112**: 265-272.
- Bjorkman O, Demmig B** (1987) Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta* **170**: 589-504.
- Björkman O, Demming-Adams B** (1994) Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. In ‘Ecophysiology of photosynthesis’. (Eds E-D Schulze and MM Caldwell) **pp**. 17-47. (Springer-Verlag: Berlin)
- Blackman PG, Davies WJ** (1985) Root to shoot communication in maize plants of the effects of soil drying. *Journal of Experimental Botany* **36**: 39-48.
- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV** (2003) Antioxidants, Oxidative Damage and Deprivation Stress: a Review. *Annals of Botany* **91**: 179-194.
- Bolwell GP, Wojtaszek P** (1997) Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence - a broad perspective. *Annual Botany* **83**: 51–55.
- Bongi G, Loreto F** (1989) Gas-exchange properties of salt-stressed olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Plant Physiology* **90**: 1408–1416.

- Borel C, Frey A, Marion-Poll A, Tardieu F, Simonneau T** (2001) Does engineering ABA biosynthesis in *Nicotiana plumbaginifolia* modify stomatal response to drought. *Plant, Cell and Environment* **24**: 477-489.
- Borel C, Simonneau T** (2002) Is the ABA concentration in the sap collected by pressurizing leaves relevant for analysing drought effects on stomata? Evidence from ABA-fed leaves of transgenic plants with modified capacities to synthesize ABA. *Journal of Experimental Botany* **53**: 287-296.
- Borel CH, Simonneau TH, This D, Tardieu F** (1997) Stomatal Conductance and ABA Concentration in the Xylem Sap of Barley Lines of Contrasting Genetic Origins. *Australian Journal of Plant Physiology* **24**: 607-615.
- Bota J, Flexas J, Medrano H** (2004) Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytologist* **162**: 671-681.
- Bowler C, Van Montagu M, Inzé D** (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **43**: 83-116.
- Boyer J** (1967) Leaf water potentials measured with a pressure chamber. *Plant Physiology* **42**: 133-137.
- Boyer J** (1995) Measuring the Water Status of Plants and Soils. Academic Press, London.
- Boyer JS, Wong SC, Farquhar GD** (1997) CO₂ and water vapour exchange across leaf cuticle (epidermis) at various water potentials. *Plant Physiology* **114**: 185-191
- Bradford MM** (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* **72**: 248-254.
- Bravdo BA, Hepner Y, Loinger C, Cohen S, Tabacmen H** (1985) Effect of irrigation and crop level on growth, yield and wine quality of Cabernet Sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture* **36**: 132-139.
- Brugnoli E, Lauteri M** (1991) Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C₃ non-halophytes. *Plant Physiology* **95**: 628-635.
- Buckley TN, Farquhar GD, Mott KA** (1997) Qualitative effects of patchy stomatal conductance distribution features on gas-exchange calculations. *Plant, Cell & Environment* **20**: 867-880.

- Bueno P, Varela J, Gimeenez- Gallego G, Rio LAd** (1995) Peroxisomal copper, zinc superoxide dismutase. Characterization of the isoenzyme from watermelon cotyledons. *Plant Physiology* **108**: 1151-1160.
- Bungard RA, Ruban AV, Hibberd JM, Press MC, Horton P, Scholes JD** (1999) Unusual carotenoid composition and a new type of xanthophyll cycle in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **96**: 1135-1139.
- Caemmerer S, Evans JR** (1991) Determination of the CO₂ partial pressure in chloroplasts from leaves of several C₃ plants. *Australian Journal of Plant Physiology* **18**: 287–305.
- Campa A** (1991) Biological roles of plant peroxidases: known and potential function. In: Everse J., Everse K.E. and Grisham M.B. (Eds.), *Peroxidases in Chemistry and Biology*, Vol II, CRC Press, Boca Raton, FL, pp 25–50, 1991.
- Chaitanya KV, Sundar D, Jutur PP, Ramachandra Reddy A** (2002) Water stress effects on photosynthesis in different mulberry cultivars. *Plant Growth Regulation* **40**: 75-80.
- Chartzoulakis K, Noitsakis B, Therios I** (1993) Photosynthesis, plant growth and dry matter distribution in kiwifruit as influenced by water deficits. *Irrigation Science* **14**: 1-5.
- Chartzoulakis, K., A. Patakas, G. Kofidis, A. Bosabalidis and A. Nastou** (2002). Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. *Science Horticulture* **95**: 39-50.
- Chaumont M, Osório ML, Chaves MM, Vanacker H, Morot-Gaudry J-F, Foyer CH** (1997) The absence of photoinhibition during the mid-morning depression of photosynthesis in *Vitis vinifera* grown in semi-arid and temperate climates. *Journal of Plant Physiology* **150**: 743-751.
- Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS** (2003) Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* **30**: 239-264
- Chaves MM, Santos TP, Souza CR, Ortuño MF, Rodrigues ML, Lopes CM, Maroco JP, Pereira JS** (2007) Deficit irrigation in grapevine improves water- use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology* **150**: 237-252.
- Chaves and Oliveira** (2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany* **55**: 2365-2384.

- Chaves MM** (1991) Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany* **42**: 1-16.
- Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C** (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* **103**: 551-560.
- Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS** (2003) Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* **30**: 239-264.
- Chaves MM, Oliveira MM** (2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: Prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental of Botany* **55**: 2365–2384.
- Chaves MM, Osório J, Pereira JS** (2004) Water use efficiency and photosynthesis. In: Bacon, M.A. (Ed.), *Water Use Efficiency in Plant Biology*. Blackwell Publishing Ltd., London, UK, pp. 42-74.
- Chaves MM, Pereira JS, Maroco J, Rodrigues ML, Ricardo CPP, Osório ML, Carvalho I, Faria T, and Pinheiro C** (2002) How Plants Cope with Water Stress in the Field. Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany* **89**: 907-916.
- Chen LS, Cheng L** (2003) Both xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and the antioxidant system are up-regulated in grape (*Vitis labrusca* L. cv. Concord) leaves in response to N limitation. *Journal of Experimental Botany* **54**: 2165-2175.
- Chen WS** (1991) Changes in Cytokinins before and during Early Flower Bud Differentiation in Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). *Plant Physiology* **96**: 1203-1206.
- Chen Z, Silva H, Klessig RF** (1993) Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by SA. *Science* **262**: 1883-1886.
- Chernyad'ev II** (2005) Effect of water stress on the photosynthetic apparatus of plants and the protective role of cytokinins: a review. *Applied Biochemistry and Microbiology* **41**: 115–128.
- Chiappetta A, Michelotti V, Fambrini M, Bruno L, Salvini M, Petrarulo M, Azmi A, Van Onckelen H, Pugliesi C, Bitonti MB** (2006) Zeatin accumulation and misexpression of a class I knox gene are intimately linked in the epiphyllous response of the interspecific hybrid EMB-2 (*Helianthus annuus* x *Helianthus tuberosus*). *Planta* **223**: 917–931.
- Chowdhury SR, Choudhuri MA** (1985) Hydrogen peroxide metabolism as an index of water stress tolerance in Jute. *Physiologia Plantarum* **65**: 476-480.

- Cifre J, Bota J, Escalona JM, Medrano H, Flexas J** (2005) Physiological tools for irrigation scheduling in grapevine (*Vitis vinifera* L.). An open gate to improve water-use efficiency? *Agriculture, Ecosystems & Environment*. **106**: 159–170.
- Cochard H, Bréda N, Granier A** (1996) Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism. *Annual Forestry Science* **53**: 197-206.
- Comstock J, Mencuccini M** (1998) Control of stomatal conductance by leaf water potential in *Hymenoclea salsola* (T. and G.), a desert subshrub. *Plant, Cell and Environment* **21**: 1029-1038.
- Comstock JP** (2002) Hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and transpiration. *Journal of Experimental Botany* **53**: 195-200.
- Condon AG, Richards RA, Rebetzke GJ, Farquhar GD** (2002) Improving intrinsic water-use efficiency and crop yield. *Crop Science* **42**: 122–131.
- Corchard H, Coll L, Le Roux X, Ameglio T** (2002) Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiology* **128**: 282-290.
- Cornic G** (1994) Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis. In ‘Photoinhibition of photosynthesis. From molecular mechanisms to the field’. (Eds NR Baker and JR Bowyer) **pp.** 297-313. (BIOS Scientific: Oxford)
- Cornic G, Fresneau C** (2002) Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for Photosystem II activity during a mild drought. *Annals of Botany* **89**: 887-894.
- Cornic G, Ghashghaie J** (1999) Effects of temperature on net CO₂ assimilation and photosystem II quantum yield of electron transfer of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves during drought stress. *Planta* **185**: 255-260.
- Cornic G, Ghashghaie J, Genty B, Brianatis JM** (1992) Leaf photosynthesis is resistant to a mild drought stress. *Photosynthetica* **27**: 295-309.
- Cornic G, Le Gouallec JL, Briantais JM, Hodges M** (1989) Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants: *Phaseolus vulgaris* L. and *Elastostema repens* (Lour.) Hall F. *Planta* **177**: 84–90.
- Correia MJ, Pereira JS** (1995) The control of leaf conductance of white lupin by xylem ABA concentration decreases with the severity of water deficits. *Journal of Experimental Botany* **46**: 101-110.

- Correia MJ, Pereira JS, Chaves MM, Pacheco CA** (1995) ABA xylem concentrations determine maximum daily leaf conductance of field-grown *Vitis vinifera* L. plants. *Plant, Cell & Environment* **18**: 511–521.
- Correia MJ, Rodrigues ML, Osorio ML, Chaves MM** (1999) Effects of growth temperature on the response of lupin stomata to drought and abscisic acid. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 549-559.
- Costa H, Gallego SM, Tomaro ML** (2002) Effect of UV-B radiation on antioxidant defence system in sunflower cotyledons. *Plant Science* **162**: 939-945.
- Costa JM, Ortuño MF, Chaves MM** (2007) Deficit Irrigation as a Strategy to Save Water: Physiology and Potential Application to Horticulture.
- Cramer GR, Bowman DC** (1991) Kinetics of maize leaf elongation. I. Increased yield threshold limits short-term, steady-state elongation rates after exposure to salinity. *Journal of Experimental Botany* **42**: 1417-1426.
- Cramer GR, Krishnan K, Abrams SR** (1998) Kinetics of maize leaf elongation. IV. Effects of (+)- and (-)-abscisic acid. *Journal of Experimental Botany* **49**: 191-198.
- Cutler AJ, Krochko JE** (1999) Formation and breakdown of ABA. *Trends in Plant Science* **4**: 472-478.
- Daeter W, Hartung W** (1995) Stress-dependent redistribution of abscisic acid (ABA) in *Hordeum vulgare* L. leaves: the role of epidermal ABA metabolism, tonoplastic transport and the cuticle. *Plant, Cell & Environment* **18**: 1367-1376.
- Daeter W, Slovic S, Hartung W** (1993) The pH-gradients in the root system and the abscisic acid concentration in xylem and apoplastic saps. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* **341**: 49-56.
- Dale JE, Sutcliffe JF** (1986) Water relations of plant cells. pp. 1-43. In: Plant Physiology, Volume IX. (F.C. Steward, Ed). Academic Press, Orlando.
- Dangl JL, Dietrich RA, Richberg MH** (1996) Death don't have no mercy: cell death programs in plant-microbe interactions. *Plant Cell* **8**: 1793–1807.
- Dat JF, Lopez-Delgado H, Foyer CH, Scott JM** (1998) Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiology* **116**: 1351-1357.
- Dat JF, Vandenbeeke S, Vranova E, Van Motagu M, Inzé D, Van Breusegem F** (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences* **57**: 779-795.

- Davies WJ, Bacon MA, Thompson DS, Sobeih W, Rodriguez LG** (2000) Regulation of leaf and fruit growth in plants growing in drying soil: Exploitation of the plant's chemical signalling system and hydraulic architecture to increase the efficiency of water use in agriculture. *Journal of Experimental Botany* **51**: 1617–1626.
- Davies WJ, Kudoyarova G, Hartung W** (2005) Long-distance ABA signalling and its relation to other signalling pathways in the detection of the soil drying and the mediation of the plant's response to drought. *Journal of Plant Growth Regulation* **24**: 285-295.
- Davies WJ, Tardieu F, Trejo CL** (1994) How do chemical Signal work in plants that grow in drying soil? *Plant Physiology* **104**: 309-314.
- Davies WJ, Wilkinson S, Loveys BR** (2002) Stomatal control by chemical signaling and the exploitation of this mechanism to increase water use efficiency in agriculture. *New Phytologist* **153**: 449-460.
- Davies WJ, Zhang J** (1991) Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **42**: 55-76.
- de Souza CR, Maroco JP, dos Santos TP, Rodrigues ML, Lopes C, Pereira JS, Chaves MM** (2003) Partial rootzone drying: regulation of stomatal aperture and carbon assimilation in field-grown grapevines (*Vitis vinifera* cv. Moscatel). *Functional Plant Biology* **30**: 653-662.
- de Souza CR, Maroco JP, dos Santos TP, Rodrigues ML, Lopes C, Pereira JS, Chaves MM** (2005) Control of stomatal aperture and carbon uptake by deficit irrigation in two grapevine cultivars. *Agriculture Ecosystems and Environment* **106**: 261-274.
- Del Rio LA, Pastori GM, Palma JM, Sandalio LM, Sevilla F, Corpas FJ, Jimenez A, Lopez-Huertas E, Hernandez JA** (1998) The activated oxygen role of peroxisomes in senescence. *Plant Physiology* **166**: 1195–1200.
- Delfine S, Loreto F, Alvino A** (2001) Drought-stress effects on physiology, grown and biomass production of rainfed and irrigated Bell Pepper plants in the Mediterranean region. *Journal of American Society of Horticultural Sciences* **126**: 297-304.
- Demmig-Adams B** (1998) Survey of thermal energy dissipation and pigment composition in sun and shade leaves. *Plant and Cell Physiology* **39**: 474-482.

- Demmig-Adams B, Adams WW** (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **43**: 599-626.
- Demmig-Adams B, Adams WW** (1996) The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* **1**: 21-26.
- Demming B, Winter K, Krüger A, Cryan FC** (1987) Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves. A possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. *Plant Physiology* **84**: 218-224.
- Demming-Adams B, Adams WW III** (1996) Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plants. *Planta* **198**: 460-470.
- Desikan R, Cheung MK, Bright J, Henson D, Hancock JT, Neill SJ** (2004) ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. *Journal of Experimental Botany* **55**: 205-212.
- Dietz KJ, Heber U** (1983) Carbon dioxide gas exchange and the energy status of leaves of *Primula palinuri* under water stress. *Planta* **158**: 349-356.
- Dodd IC** (2003) Hormonal interactions and stomatal responses. *Journal of Plant Growth Regulation* **22**: 32-46.
- Dodd IC** (2005) Root-to-shoot signalling: assessing the roles of “up” in the up and down world of long-distance signalling in plants. *Plant and Soil* **274**: 251-270.
- Dodd IC** (2007) Soil moisture heterogeneity during deficit irrigation alters root-to-shoot signalling of abscisic acid. *Functional Plant Biology* **34**: 439-448.
- Dodd IC, Davies WJ** (1996) The relationship between leaf growth and ABA accumulation in the grass leaf elongation zone. *Plant, Cell and Environment* **19**: 1047-1056.
- Dodd IC, Stikic R, Davies WJ** (1996) Chemical regulations of gas exchange and growth of plants in drying soil in the field. *Journal of Experimental Botany* **47**: 1475-1490.
- Dodd IC, Tan LP, He J** (2003) Do increases in xylem sap pH and/or ABA concentration mediate stomatal closure following nitrate deprivation? *Journal of Experimental Botany* **54**: 1281-1288.
- Dokoozlian NK, Kliewer WM** (1996) Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **121**: 869-874.

- Dry PR, Loveys BR** (1998) Factors influencing grapevine vigour and the potential for control with partial rootzone drying. *Australian Journal of Grape Wine Research* **4**: 140–148.
- Dry PR, Loveys BR, Botting D, Düring H** (1996) Effect of partial root-zone drying on grapevine vigour yield composition of fruit and use of water. In: Stockeley C, Sas A, Johnstone R, Lee T, eds. Proceedings of the Ninth Australian Wine Industry Technical Conference. Adelaide. **pp.** 128–131.
- Dry PR, Loveys BR, Düring H** (2000a) Partial drying of the rootzone of grape. I. Transient changes in shoot growth and gas exchange. *Vitis* **39**: 3–7.
- Dry PR, Loveys BR, Düring H** (2000b) Partial drying of the rootzone of grape. II. Changes in the pattern of root development. *Vitis* **39**: 9–12.
- Duan B, Yang Y, Lu Y, Korpelainen H, Berninger F, Li C** (2007) Interactions between water deficit, ABA, and provenances in *Picea asperata*. *Journal of Experimental Botany* **58**: 3025–3036.
- Edreva A** (2005) Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. *Agriculture Ecosystem and Environment* **106**: 119–133.
- Egert M, Tevini M** (2002) Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). *Environment of Experimental Botany* **48**: 43–49.
- Ehleringer JR, Mooney HA** (1983) Productivity of desert and Mediterranean-climate plants. In Encyclopedia of Plant Physiology. Physiological Plant Ecology II (eds. Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H), Vol. 12, **pp.** 205–231 Springer-Verlag, Berlin.
- Else MA, Davies WJ, Whitford PN, Hall KC, Jackson MB** (1994) Concentrations of abscisic acid and other solutes in xylem sap from root systems of tomato and castor-oil plants are distorted by wounding and variable sap flow rates. *Journal of Experimental Botany* **45**: 317–323.
- Else MA, Hall KC, Arnold GM, Davies WJ, Jackson MB** (1995) Export of abscisic acid, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, phosphate, and nitrate from roots to shoots of flooded tomato plants (accounting for effects of xylem sap flow rate on concentration and delivery). *Plant Physiology* **107**: 377–384.
- Eltner EF** (1982) Oxygen activation and oxygen toxicity. *Annual Review of Plant Physiology* **33**: 73–96.

- Elvira S, Alonso R, Castillo FJ, Gimeno BS** (1998) On the response of pigments and antioxidants of *Pinus halepensis* seedlings to Mediterranean climatic factors and long term ozone exposure. *The New Phytologist* **138**: 419-342.
- Epron D** (1997) Effects of drought on photosynthesis and on the thermotolerance of photosystem II in seedlings of cedar (*Cedrus atlantica* and *C. libani*). *Journal of Experimental Botany* **48**: 1835-1841.
- Epron D, Godard G, Cornic G, Genty B** (1995) Limitation of net CO₂ assimilation rate by internal resistances to CO₂ transfer in the leaves of two tree species (*Fagus sylvatica* and *Castanea sativa* Mill.) *Plant, Cell and Environment* **18**: 43-51.
- Epron D., Dreyer E, Breda N** (1992) Photosynthesis of oak trees [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.] during drought under field conditions – diurnal course of net CO₂ assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. *Plant, Cell and Environment* **15**: 809-820.
- Escalona JM, Flexas J, Medrano H** (1999) Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis under water stress in field-grown grapevines. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 421-433.
- Escalona JM, Flexas J, Medrano H** (2000) Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis under water stress in field-grown grapevines. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 421-433.
- Esteban MA, Villanueva MJ, Lissarrague JR** (2001) Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81**: 409–420.
- Fambrini, M, Paolo V, Toncelli ML, Rossi VD, Pugliesi C** (1995) Characterization of a wilted sunflower (*Helianthus annuus* L.) mutant III. Phenotypic interaction in reciprocal grafts from wilted mutant and wild-type plants. *Journal of Experimental Botany* **286**: 525-530.
- Faria T, Silvério D, Breia E, Cabral R, Abadia A, Abadia J, Pereira JS, Chaves MM** (1998) Differences in the response of carbon assimilation to summer stress (water deficits, high light and temperature) in four Mediterranean tree species *Physiologia Plantarum* **102**: 419-428.
- Farquhar GD, Sharkey TD** (1982) Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* **33**: 317–345.

- Feierabend J, Schaan C, Hertwig B** (1992) Photoinactivation of catalase occurs under both high and low temperature stress conditions and accompanies photoinhibition of photosystem II. *Plant Physiology* **100**: 1554-1561.
- Field CB, Ball JT, Berry JA** (1991) Photosynthesis: principles and field techniques. pp. 209-253. In: Plant Physiological Ecology. Field Methods and Instrumentation (R.W. Pearcy, J. Ehleringer, H.A. Mooney and P.W. Rundel, Eds). Chapman and Hall, London.
- Flexas J** (2000) 'Regulation of the photosynthetic processes in response to drought in leaves of *Vitis vinifera* L.' PhD thesis, University of the Balearic Islands, Spain.
- Flexas J, Badger M, Chow WS, Medrano H, Osmond CB** (1999b) Analysis of the relative increase in photosynthetic O₂ uptake when photosynthesis in grapevine leaves is inhibited following low night temperatures and/or water stress. *Plant Physiology* **121**: 675-684.
- Flexas J, Bota J, Escalona JM, Sampol B, Medrano H** (2002b) Effects of drought on photosynthesis in grapevine under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology* **29**: 461-471.
- Flexas J, Bota J, Loreto F, Cornic G, Sharkey TD** (2004) Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. *Plant Biology* **6**: 269-279.
- Flexas J, Briantais J-M, Cerovic Z, Medrano H, Moya I** (2000) Steady-state and maximum chlorophyll fluorescence responses to water stress in grapevine leaves: a new remote sensing system. *Remote Sensing of the Environment* **73**: 283-297.
- Flexas J, Diaz-Espejo A, Galmés J, Kaldenhoff R, Medrano H, Ribas-Carbo M** (2007) Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. *Plant, Cell & Environment* **30**: 1284-1298.
- Flexas J, Escalona JM, Evain S, Gulias J, Moya I, Osmond CB, Medrano H** (2002a) Steady-state chlorophyll fluorescence (F_s) measurements as a tool to follow variations of net CO₂ assimilation and stomatal conductance during water-stress in C₃ plants. *Physiologia Plantarum* **114**: 231-240.
- Flexas J, Escalona JM, Medrano H** (1998) Down-regulation of photosynthesis by drought under field conditions in grapevine leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* **25**: 893-900.

- Flexas J, Escalona JM, Medrano H** (1999a) Water stress Induces different photosynthesis and electron transport rate regulation in grapevine. *Plant, Cell & Environment* **22**: 39-48.
- Flexas J, Josefina B, Escalona JM, Sampol B, Medrano H** (2002) Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology* **29**: 461-471.
- Flexas J, Medrano H** (2002a) Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plants: stomatal and non-stomatal limitation revisited. *Annals of Botany* **89**: 183-189.
- Flexas J, Medrano H** (2002b) Energy dissipation in C₃ plants under drought. *Functional Plant Biology* **29**: 1209-1215.
- Flexas J, Ribas-Carbo' M, Bota J, Galme's J, Henkle M, Martínez-Canellas S, Medrano H** (2006b) Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. *New Phytologist* **172**: 73–82.
- Flexas J, Ribas-Carbo' M, Hanson DT, Bota J, Otto B, Cifre J, McDowell N, Medrano H, Kaldenhoff R** (2006a) Tobacco aquaporin NtAQP1 is involved in mesophyll conductance to CO₂ in vivo. *The Plant Journal* **48**: 427–439.
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Diaz-Espejo A, Galmés J, Medrano H** (2008) Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell & Environment* **31**: 602–621.
- Forde BG** (2002) The role of long-distance signaling in plant responses to nitrate and other nutrients. *Journal of Experimental Botany* **53**: 39-43.
- Foreman J, Demidchik V, Bothwell JH, Mylona P, Miedema H, Torres MA, Linstead P, Costa S, Brownlee C, Jones JDG, Davies JM, Dolan L** (2003) Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature* **27**: 442-446.
- Foyer CH** (1996) Oxygen processing in photosynthesis. *Biochemical Society Transactions* **24**: 427-433.
- Foyer CH, Lelandais M, Kunert KJ** (1994) Photooxidative stress in plants. *Physiology Plantarum* **92**: 696-717.
- Foyer CH, Lopez-Delgado H, Dat JF, Scott IM** (1997) Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling. *Physiologia Plantarum* **100**: 241-254.

- Foyer CH, Noctor G** (2000) Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. *New Phytologist* **146**: 359-388.
- Foyer CH, Noctor G** (2005) Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell Environment* **28**: 1056-1071.
- Fridovich I** (1986) Biological effects of the superoxide radical. *Archives in Biochemistry and Biophysics* **247**: 1–11.
- Fry S** (1995) Polysaccharide-modifying enzymes in the plant cell wall. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology* **46**: 497-520.
- Fryer MJ, Andrews JR, Oxborough K, Blowers DA, Baker NR** (1998) Relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport, and active O₂ metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature. *Plant Physiology* **116**: 571-580.
- Fu J, Huang B** (2001) Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany* **45**: 105-114.
- Fuchs EE, Livingston NJ** (1996) Hydraulic control of stomatal conductance in Douglas fir and alder seedlings. *Plant, Cell & Environment* **19**: 1091-1098.
- Fusseder A, Wartinger A, Hartung W, Schultze ED, Heilmeyer H** (1992) Cytokinins in the xylem sap of desert grown almond (*Prunus dulcis*) trees: daily courses and their possible interactions with abscisic acid and leaf conductance. *New Phytologist* **122**: 45-52.
- Gabriela M, Foyer CH** (2002) Common components network and pathway of cross tolerance to stress. The central role of redox and abscisic-mediated controls. *Plant Physiology* **129**: 460-468.
- Gabriel R, Kesselmeier J** (1999) Apoplastic Solute Concentrations of Organic Acids and Mineral Nutrients in the Leaves of Several Fagaceae. *Plant Cell Physiology* **40**: 604-612.
- Galme's J, Medrano H, Flexas J** (2007a) Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist* **175**: 81–93.
- Galmes J, Abadia A, Cifre J, Medrano H, Flexas J** (2007) Photoprotection processes under water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits. *Physiologia Plantarum* **130**: 495-510

- Gamble PE, Burke JJ** (1984) Effects of water stress on the chloroplast antioxidant system. 1. Alterations in glutathione reductase activity. *Plant Physiology* **76**: 615-621.
- Gan S and Amasino RM** (1995) Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. *Science* **270**: 1986-1988.
- Garcia-Plazaola JI, Faria T, Abadia J, Abadia A, Chaves MM, Pereira JS** (1997) Seasonal changes in xanthophyll composition and photosynthesis in cork oak (*Quercus Suber* L.) leaves under Mediterranean climate. *Journal of Experimental Botany* **48**: 1667-1674.
- Garten CT, Taylor GE** (1992) Foliar delta C-13 within a temperate deciduous forest-spatial, temporal, and species sources of variation. *Oecologia* **90**: 1-7.
- Gaudillère JP, van Leeuwen C, Ollat N** (2002) Carbon isotope composition of sugars in grapevines, an integrated indicator of vineyard water status. *Journal of Experimental Botany* **369**: 757-763.
- Genty B, Briantais JM, Baker NR** (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* **990**: 87-92.
- Genty B, Meyer S, Piel C, Badeck F, Liozon R** (1998) CO₂ diffusion inside leaf mesophyll of ligneous plants. In: Garab Ged. Photosynthesis: mechanisms and effects. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 3961–3967.
- Gillon JS, Yakir D** (2000) Internal conductance to CO₂ diffusion and C¹⁸OO discrimination in C₃ leaves. *Plant Physiology* **123**: 201–213.
- Gilmore AM** (1997) Mechanistic aspects of xanthophylls cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves. *Physiologia plantarum* **99**: 197-209.
- Giménez C, Mitchell VJ, Lawlor DW** (1992) Regulation of photosynthesis rate of two sunflower hybrids under water stress. *Plant Physiology* **98**: 516-524.
- Gollan T, Schurr U, Schulze ED** (1992) Stomatal response to drying soil in relation to changes in xylem sap composition of *Helianthus annuus*. I. The concentration of cations, anions, amino acids in, and pH of, the xylem sap. *Plant, Cell & Environment* **15**: 551-559.
- Goodger JQD, Sharp RE, Marsh EL, Schachtman DP** (2005) Relationships between xylem sap constituents and leaf conductance of well-watered and water-stressed

- maize across three xylem sap sampling techniques. *Journal of Experimental Botany* **56**: 2389-2400.
- Gould KS** (2003) Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants. In Thomas B, Murray B (ed) *Encyclopedia of Applied Plant Science* London, Academic Press, 9-16.
- Gould KS, Lee DW** (2002) Anthocyanins in Leaves: Advances in Botanical Research, vol. **37**. London: Academic Press.
- Gowing DJ, Davies WJ, Jones HG** (1990) A positive root sourced signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus x domestica* Borkh. *Journal of Experimental Botany* **41**: 1535-1540.
- Gruber BR, Schultz HR** (2009) Comparison of physiological parameters for scheduling low-frequency irrigation on steep slopes in a cool climate grape (*Vitis vinifera* L.) growing region. *Irrigation Science*, in press.
- Gulias J, Flexas J, Abadia A, Medrano H** (2002) Photosynthesis responses to water deficit in six Mediterranean sclerophyll species: possible factors explaining the declining of *Rhamnus ludovici-salvatoris*, an Balearic species. *Tree Physiology* **22**: 687-697.
- Gunasekera D, Berkowitz GA** (1992) Heterogeneous stomatal closure in response to leaf water deficits is not a universal phenomenon. *Plant Physiology* **98**: 660-665.
- Haberer G, Kieber JJ** (2002) Cytokinins: new insights into a classic phytohormone. *Plant Physiology* **128**: 354-362.
- Haisel D, Vankova R, Synkova H, Pospisilova J** (2008) The impact of transzeatin O-glucosyltransferase gene over-expression in tobacco on pigment content and gas exchange. *Biologia Plantarum* **52**: 49-58.
- Hanaux M, Eymery F, Porfirova S, Rey P, Dormann P** (2005) Vitamin E protects against photoinhibition and photooxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* **17**: 3451-3469.
- Hanba YT, Shibasaka M, Hayakawa T, Kasamo K, Terashima I, Katsuhara M** (2004) Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2;1 increases internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of transgenic rice plants. *Plant and Cell Physiology* **45**: 521-529.
- Hanba YT, Shibasaka M, Hayashi Y, Hayakawa T, Kasamo K, Terashima I, Katsuhara M.** (2004) Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2;1 increases

- internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of transgenic rice plants. *Plant Cell Physiology* **45**: 521–529.
- Hansen H, and Dorffling K** (1999) Changes of free and conjugated abscisic acid and phaseic acid in xylem sap of drought-stressed sunflower plants. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1599–1605.
- Hansen H, Dörffling K** (2003) Root-derived trans-zeatin riboside and abscisic acid in drought-stressed and rewatered sunflower plants: interaction in the control of leaf diffusive resistance? *Functional Plant Biology* **30**: 365-375.
- Hardie WJ, Considine JA** (1976). Response of grapes to water-deficit stress in particular stages of development. *American Journal of Enology and Viticulture* **27**: 55–61
- Hare PD, Cress WA, van Staden J** (1997) The involvement of cytokinins in plant responses to environmental stress. *Plant Growth Regulation* **23**: 79-103.
- Harley PC, Sharkey TD** (1991) An improved methods of C₃ photosynthesis at high CO₂: Reversed O₂ sensitivity explained by lack of glycerate reentry into the chloroplast. *Photosynthesis Research* **27**: 169-178.
- Hartung W** (1983) The site of action of abscisic acid at the guard cell plasmalemma of *Valerianella locusta*. *Plant, Cell & Environment* **6**: 427-428.
- Hartung W, Radin JW** (1989) Absciscic acid in the mesophyll apoplast and in the root xylem sap of water-stressed plants: the significance of pH gradients. *Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology* **8**: 110-124.
- Hartung W, Radin JW, Hendrix DL** (1988) Absciscic acid movement into the apoplastic solution of water stressed cotton leaves. Role of apoplastic pH. *Plant Physiology* **86**: 908-913.
- Hartung W, Sauter A, Hose E** (2002) Absciscic acid in the xylem: where does it come from, where does it go to? *Journal of Experimental Botany* **53**: 27-32.
- Haupt-Herting S, Fock H** (2000) Exchange of oxygen and its role in energy dissipation during drought stress in tomato plants. *Physiologia Plantarum* **110**: 489-495.
- Haupt-Herting S, Fock H** (2002) Oxygen exchange in relation to carbon assimilation in water-stressed leaves during photosynthesis. *Annals of Botany* **89**: 851-859.
- Haupt-Herting S, Klug K, Fock H** (2001) A new approach to measure gross CO₂ fluxes in leaves. Gross CO₂ assimilation, photorespiration, and mitochondrial

- respiration in the light in tomato under drought stress. *Plant Physiology* **126**: 388-396.
- He T, Cramer GR** (1996) Absciscic acid concentrations are correlated with leaf area reductions in two salt-stressed rapid-cycling Brassica species. *Plant and Soil* **179**: 25-33.
- Heath RL, Packer L** (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **125**: 189-198.
- Hegele M, Manochai P, Naphrom D, Sruamsiri P, Wunsche J** (2008) Flowering in langan (*Dimocarpus longan* L.) induced by hormonal changes following KClO₃ applications. *European Journal of Horticultural Science* **73**: 49–54.
- Heilmeier H, Schulze E-D, Fan J, Hartung W** (2007) General relations of stomatal responses to xylem sap absciscic acid under stress in the rooting zone – A global perspective. *Flora* **202**: 624-636.
- Hernandez JA, Almansa MS** (2002) Short term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves. *Physiology Plantarum* **115**: 251-257.
- Hertwig B, Streb P, Feierabend J** (1992) Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence of interfering stress conditions. *Plant Physiology* **100**: 1547–1533.
- Hoffmann B, Kosergarten H** (1995) FITC-dextran for measuring apoplastic pH and apoplastic pH gradients between various cell types in sunflower leaves. *Physiology Plantarum* **95**: 327-335.
- Holbrook NM, Shashidhar VR, James RA, Munns R** (2002) Stomatal control in tomato with ABA-deficient roots: response of grafted plants to soil drying. *Journal of Experimental Botany* **53**: 1503-1514.
- Horton P, Ruban AV, Walters RG** (1996) Regulation of light harvesting in green plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **47**: 655-684.
- Hsiao TC** (1973) Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* **24**: 519-570.
- Hubbard RM, Ryan MG, Stiller V, Sperry JS** (2001) Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in *ponderosa pine*. *Plant, Cell & Environment* **24**: 113–121.

- Hunt S** (2003) Measurements of photosynthesis and respiration in plants. *Physiologia Plantarum* **117**: 314-325.
- Incoll ID, Roy JP, Jewer PC** (1990) Do cytokinins act as root to shoot signals. In: Davies, W.J., Jeffcoat, B., eds. Importance of root to shoot communication in the responses to environmental stress. Monograph No. 21, Long Aston, Bristol, UK: British Society for Plant Growth Regulation, 185-199.
- Incoll LD Jewer PC** (1987) Cytokinins and stomata. In Stomatal Function (eds E. Zeiger, G.D. Farquhar & I.R. Cowan), Stanford University Press, Stanford, CT, pp. 281-292.
- IPCC** (2007) Climate Change 2007: Impacts, adaptation and vulnerability. In Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Eds. Parry ML, Canziani OF, Palutikof JP, Van der Linden CE, Hanson PJ. Cambridge University Press, Cambridge.
- IPCC** (2008) Climate Change and Water. IPCC Tech. Paper VI (Eds. B.C. Bates, Z.W. Kundzewicz, S. Wu, J.P. Palutikof) (Geneva, Switzerland) pp. 210.
- Jackson GE, Irvine J, Grace J, Khalil AAM** (1995) Abscissic acid concentration and fluxes in droughted conifer saplings. *Plant, Cell & Environment* **18**: 13-22.
- Jackson MB** (2002) Long-distance signalling from roots to shoots assessed: the flooding story. *Journal of Experimental Botany* **53**: 175-181.
- Jesche WD, Holobrada M, Hartung W** (1997) Growth of *Zea mays* L. plants with their seminal roots only. Effects on plant development, xylem transport, mineral nutrition and the flow and distribution of abscissic acid (ABA) as a possible shoot to root signal. *Journal of Experimental Botany* **48**: 1229-1239.
- Jia W, Davies WJ** (2007) Modification of leaf apoplastic pH in relation to stomatal sensitivity to root-sourced abscissic acid signals. *Plant Physiology* **143**: 68-77.
- Jia W, Zhang JH** (1997) Comparison of exportation and metabolism of xylem-delivered ABA in maize leaves at different water status and xylem sap pH. *Plant Growth Regulation* **21**: 43-49.
- Jia W, Zhang JH** (1999) Stomatal closure is induced rather by prevailing xylem abscissic acid than by accumulated amount of xylem-derived abscissic acid. *Physiologia Plantarum* **106**: 268-275.
- Jiang M, Zhang J** (2002) Water stress-induced abscissic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of

- antioxidant enzymes in maize leaves. *Journal of Experimental Botany* **53**: 2401-2410.
- Johnson SM, Doherty SJ, Croy RRD** (2003) Biphasic superoxide generation in potato tubers. A self amplifying response to stress. *Plant Physiology* **13**: 1440-1449.
- Jokhan AD, Harink RJ, Jackson MB** (1999) Concentration and delivery of abscisic acid in xylem sap are greater at the shoot base than at a target leaf nearer to the shoot apex. *Plant Biology* **1**: 253-260.
- Jones GV, White MA, Cooper OR, Storchmann K** (2005) Climate Change and Global Wine Quality. *Climate Change* **73**: 319-343.
- Jones H** (2004) What is water use efficiency? pp. 27-41. In: Water Use Efficiency in Plant Biology (M.A. Bacon, Ed). Blackwell Publishing, Oxford.
- Jones HG** (1973) Moderate-term water stresses and associated changes in some photosynthetic parameters in cotton. *New Phytologist* **72**:1095–1105.
- Jones HG** (1983) Plants and Microclimate. A Quantitative Approach to Environmental Plant Physiology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Jones HG** (1992) Plants and Microclimate. A Quantitative Approach to Environmental Plant Physiology, 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge.
- Jones HG** (2007) Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. *Journal of Experimental Botany* **58**: 119-130.
- Jones HG, Sharp CS, Higgs KH** (1987) Growth and water relations of wilted mutants of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Experimental Botany* **38**: 1848-1856.
- Jones RJ, Mansfield TA** (1970) Suppression of stomatal opening in leaves treated with abscisic acid. *Journal of Experimental Botany* **21**: 714-719.
- Karabourniotis G, Bornman JF** (1999) Penetration of UV-A, UV-B and blue light through the leaf trichome layers of two xeromorphic plants, olive and oak, measured by optical fibre microprobes. *Physiologia Plantarum* **105**: 655-661.
- Kato M, Shimizu S** (1985) Chlorophyll metabolism in higher plants. VI. Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation. *Plant Cell Physiology* **26**: 1291-1301.
- Kim HJ, Ryu H, Hong SH, Woo HR, Lim PO, Lee IC, Sheen J, Nam HG and Hwang I** (2006) Cytokinin-mediated control of leaf longevity by AHK3 through phosphorylation of ARR2 in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**: 814-819.

- Kirnak H, Demirtas MN** (2006) Effects of different irrigation regimes and mulches on yield and macronutrition levels of drip-irrigated cucumber under open field conditions. *Journal of Plant Nutrition* **29**: 1675–1690.
- Kochhar S, Kochhar VK, Khanduja SD** (1979) Changes in the pattern of isoperoxidases during maturation of grape berries cv Gulabi as affected by ethephon (2-chloroethyl) phosponic acid. *American Journal of Enology and Viticulture* **30**: 275-277.
- Koide RT, Robichaux RH, Morse SR, Smith CM** (1991). Plant water status, hydraulic resistance and capacitance. pp. 161-183. *In*: Plant Physiological Ecology. Field Methods and Instrumentation (R.W. Pearcy, J. Ehleringer, H.A. Mooney and P.W. Rundel, Eds). Chapman and Hall, London.
- Kozaki A, Takeba G** (1996) Photorespiration protects C₃ plants from photooxidation. *Nature* **384**: 557-560.
- Krall JP, Edwards GE** (1992) Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. *Physiology Plantarum* **86**: 180-187.
- Kramer PJ** (1983) Water Relations of Plants. Academic Press, New York.
- Kramer PJ** (1988) Changing concepts regarding plant relations. *Plant, Cell & Environment* **1**: 565-568.
- Krömer S, Heldt HW** (1991) On the role of mitochondrial oxidative phosphorylation in photosynthesis metabolism as studied by the effect of oligomycin on photosynthesis protoplasts and leaves of barley (*Hordeum vulgare*). *Plant Physiology* **95**: 1270-1276.
- Kudoyarova GR, Vysotskaya LB, Cherkozyanova A, Dodd IC** (2007) Effect of partial rootzone drying on the concentration of zeatin-type cytokinins in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Experimental Botany* **58**: 161-168.
- Kyparissis A, Petropoulou Y, Manetas Y** (1995) Summer survival of leaves in a soft-leaved shrub (*Phlomis fruticosa* L., Labiatae) under Mediterranean field conditions: avoidance of photoinhibitory damage through decreased chlorophyll contents. *Journal of Experimental Botany* **46**: 1825-1831.
- Kyparissis A, Drilias P, Manetas Y** (2000) Seasonal fluctuations in photoprotective (xanthophyll cycle) and photoselective (chlorophylls) capacity in eight Mediterranean plant species belonging to two different growth forms. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 265-272.

- Καραμπουρνιώτης ΓΑ, Λιακόπουλος Γ** (2009) Οικοφυσιολογία Μεσογειακών Φυτών Ειδών. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.
- Κωστοπούλου Π** (2007) Οικοφυσιολογικοί δείκτες αξιολόγησης παραγωγικής αποτελεσματικότητας λιβαδικών ειδών σε υποβαθμισμένα από βαρέα μέταλλα και ξηρασία περιβάλλοντα. Εκδόσεις Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.
- Ladjal M, Epron D, Ducrey M** (2000) Effects of drought preconditioning on thermo tolerance of photosystem II and susceptibility of photosynthesis to heat stress in cedar seedlings. *Tree Physiology* **20**: 1235-1241.
- Laing WA, Ögren WL, Hageman RH** (1974) Regulation of soybean net photosynthetic CO₂ fixation by the interaction of CO₂, O₂ and ribulose-1.5-bisphosphate carboxylase. *Plant Physiology* **54**: 678-685.
- Lal A, Ku MSB, Edwards GE** (1996) Analysis of inhibition of photosynthesis due to water stress in the C₃ species *Hordeum vulgare* and *Vicia faba*: electrons transport, CO₂ fixation and carboxylation capacity. *Photosynthesis Research* **49**: 57-69.
- Larcher, W** (1980) Physiological Plant Ecology. Springer-Verlag, Berlin.
- Lascano H, Antonicelli G, Luna C, Melchiorre M, Racca R, Trippi V, Casano L** (2001) Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and in vitro studies. *Australian Journal of Plant Physiology* **28**: 1095-1102
- Lauteri M, Scartazza A, Guido MC, Brugnoli E** (1997) Genetic variation in photosynthetic capacity, carbon isotope discrimination and mesophyll conductance in provenances of *Castanea sativa* adapted to different environments. *Functional Ecology* **11**: 675–683.
- Lawlor DW** (1995) The effects of water deficit on photosynthesis. In 'Environment and plant metabolism. Flexibility and acclimation'. (Ed. N Smirnoff) pp. 129-160. (BIOS Scientific: Oxford)
- Lawlor DW** (2001) Photosynthesis. 3rd edition. Oxford: Bios Scientific Publishers.
- Lawlor DW** (2002) Limitation to Photosynthesis in Water-stressed Leaves: Stomata vs. Metabolism and the Role of ATP. *Annals of Botany* **89**: 871-885.
- Lawlor DW, Cornic G** (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell & Environment* **25**: 275–294.
- Letham DS, Palni LMS** (1983) The biosynthesis and metabolism of cytokinins. *Annual Review of Plant Physiology* **34**: 163-197.

- Levine A, Tenhaken R, Dixon R, Lamb C** (1994) H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* **79**: 583-593.
- Levitt J** (1980) Responses of plants to environmental stress: chilling, freezing and high temperature stresses, 2nd ed. New York: Academic Press.
- Li XP, Björkman O, Shih C, Grossman AR, Rosenquist M, Jansson S, Niyogi KK** (2000) A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting. *Nature* **403**: 391-395.
- Liang J, Zhang J** (1997) Collection of xylem sap at flow rate similar to in vivo transpiration flux. *Plant Cell Physiology* **38**: 1375-1381.
- Liang Y, Chen Q, Liu Q, Zhang W, Ding R** (2003) Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Plant Physiology* **160**: 1157-1164.
- Lima ALS, DaMatta FM, Pinheiro HA, Totola MR, Loureiro ME** (2002) Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environmental of Experimental Botany* **47**: 239-247
- Liu F, Jensen CR, Shahnazari A, Andersen MN, Jacobsen SE** (2005) ABA regulated stomatal control and photosynthetic water use efficiency of potato (*Solanum tuberosum* L.) during progressive soil drying. *Plant Science* **168**: 831-836.
- Long SP, Bernacchi CJ** (2003) Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* **54**: 2393-2401.
- Long SP, Humphries S, Falkowski PG** (1994) Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology* **45**: 633-662.
- Loreto F, Harley PC, Di Marco G, Sharkey TD** (1992) Estimation of mesophyll conductance to CO₂ flux by three different methods. *Plant Physiology* **98**: 1437-1443.
- Loreto F, Sharkey TD** (1993) On the relationship between the isoprenene emission and photosynthetic metabolites under different environmental conditions. *Planta* **189**: 420-424.
- Loveys BR, During H** (1984) Diurnal changes in water relations and abscisic acid in field-grown *Vitis vinifera* cultivars. II. Absciscic acid changes under semi-arid conditions. *New Phytologist* **97**: 37-47.
- Loveys BR, Stoll M, Davies WJ** (2004) Physiological approaches to enhance water use efficiency in agriculture: Exploiting plant signalling in novel irrigation practice. In:

- Bacon MA, ed. Water Use Efficiency in Plant Biology. Blackwell Publishing, UK. pp. 113–141.
- Lovisolo C, Hartung W, Schubert A** (2002) Whole-plant hydraulic conductance and root-to-shoot flow of abscisic acid are independently affected by water stress in grapevines. *Functional Plant Biology* **29**: 1349-1356.
- Lu C, Zhang J** (1999) Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1199-1206.
- Mac Adam JE, Sharp RE, Nelson CJ** (1992) Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone.
- Mano J** (2002) Early events in environmental stresses in plants-induction mechanisms of oxidative stress. In: Inze D, Montago MV, editors. Oxidative stress in plants. New York, USA: Taylor and Francis Publishers pp. 217-245.
- Maroco JP, Rodrigues ML, Lopes C, Chaves MM** (2002) Limitations to leaf photosynthesis in field-grown grapevine under drought-metabolic and modeling approaches. *Functional Plant Biology* **29**: 451-459.
- Martin B, Ruiz-Torres NA** (1992) Effects of water-deficit stress on photosynthesis, its components and component limitations, and on water use efficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* **100**: 733-739.
- Martinez-Ferri E, Balaguer L, Valladares F, Chico JM, Manrique E** (2000) dissipation in drought-avoiding and drought – tolerant tree species at midday the Mediterranean summer. *Tree Physiology* **20**: 131-138.
- Matsubara S, Gilmore AM, Osmond CB** (2001) Diurnal and acclimatory responses of violaxanthin and lutein epoxide in the Australian mistletoe *Amyema miquelii*. *Australian Journal of Plant Physiology* **28**: 793-800.
- Matthews MA, Anderson MM** (1989) Reproductive development in grape (*Vitis vinifera* L.): Responses to seasonal water deficits. *American Journal of Enology and Viticulture* **40**: 52–60.
- Matthews MA, Ishii R, Anderson MM, O'Mahomy M** (1990) Dependence of wine sensory attributes on vine water status. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **51**: 321–335.
- Maxwell K, Johnson GN** (2000) Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* **51**: 659-668.

- McCarthy MG** (1997) The effect of transient water deficit on berry development of cv Shiraz (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research* **3**: 102–108.
- McCarthy MG, Loveys BR, Dry PR** (2002) Regulated deficit irrigation and partial rootzone drying as irrigation management techniques for grapevines. In: Deficit Irrigation Practices. Water Reports Publication. 22, FAO, Rome. pp. 79–87.
- Mckersie BD, Bowley SR, Harjanto E, Lepreince O** (1996) Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. *Plant Physiology* **111**: 1171-1181.
- Medrano H, Bota J, Abadia A, Sampol B, Escalona JM, Flexas J** (2002) Effects of drought on light-energy dissipation mechanisms in high-light-acclimated, field-grown grapevines. *Functional Plant Biology* **29**: 1197-1207.
- Medrano H, Flexas J, Galmés J** (2009) Variability in water use efficiency at the leaf level among Mediterranean plants with different growth forms. *Plant Soil* **317**: 17-29.
- Meyers BJ** (1988) Water stress integral: a link between short-term stress and long-term growth. *Tree Physiology* **4**: 315-323.
- Mittler R** (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* **7**: 405-410.
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F** (2004) Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science* **9**: 490-498.
- Møller IM** (2001) Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NAPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **52**: 561-591.
- Molz FJ, Ferrier JM** (1982) Mathematical treatment of water movement in plant cells and tissue: A review. *Plant, Cell & Environment* **5**: 191-206.
- Moran JF, Becana M, Iturbe-Ormaestre I, Frechilla S, Klucas RV, Aparicio-Tejo** (1994) Drought induces oxidative stress in pea plants. *Planta* **194**: 346-352.
- Morison JIL, Lawson T, Cornic G** (2007) Lateral CO₂ diffusion inside dicotyledonous leaves can be substantial: quantification in different light intensities. *Plant Physiology* **145**: 680–690.
- Mühling KH, Läuchli A** (2000) Light-induced pH and K⁺ changes in the apoplast of intact leaves. *Planta* **212**: 9-15.

- Müller P, Li X-P, Nyogy KK** (2001). Non-Photochemical Quenching. A Response to Excess Light Energy. *Plant Physiology* **125**: 1558-1566.
- Muller JE, Whitsitt** (1996) Plant cellular response to water deficit. *Plant Growth Regulation* **20**: 41-46.
- Munné-Bosch S, Alegre L** (2000a) The xanthophyll cycle is induced by light irrespective of water status in field-grown lavender (*Lavandula stoechas*) plants. *Physiologia Plantarum* **108**: 147-151.
- Munné-Bosch S, Alegre L** (2000b) Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. *Planta* **210**: 925-931.
- Munne-Bosch S, Alegre L** (2000c) The significance of β -carotene, α -tocopherol and the xanthophyll cycle in droughted *Melissa officinalis* plants. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 139-146.
- Munné-Bosch S, Schwarz K, Alegre L** (1999) Enhanced formation of α -tocopherol and highly oxidized abietane diterpenes in water-stressed rosemary plants. *Plant Physiology* **121**: 1047-1052.
- Murphy TM, Huerta AJ** (1990) Hydrogen peroxide formation in cultured rose cells in response to UV-C radiation. *Physiologia Plantarum* **78**: 247-253.
- Nakano Y, Asada K** (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* **22**: 867-880.
- Navari-Izzo F, Pinzino C, Quartacci MF, Sgherri CLM, Izzo R** (1994) Intracellular membranes: kinetics of superoxide production and changes in thylacoids of resurrection plants upon dehydration and rehydration. *Proc R Soc Edinburgh* **102B**: 187-191.
- Neil S, Desikan R, Hancock J** (2002) Hydrogen peroxide signaling. *Current Opinion in Plant Biology* **5**: 388-395.
- Neil SJ, Desikan R, Hancock JT** (2003) Nitric oxide signalling in plants. *New Phytologist* **159**: 11-35.
- Nicault A, Alleaume S, Brewer S, Carrer M, Nola J** (2008) Mediterranean drought fluctuation during the last 500 years based on tree-ring data. *Climate Dynamics* **31**: 227-245.
- Niyogi KK** (1999) Photoprotection revisited: Genetic and Molecular Approaches. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**: 333-359.

- Niyogi KK, Grossman AR, Björkman O** (1998) Arabidopsis mutants define a central role of the xanthophyll cycle in the regulation of photosynthetic energy conversion. *The Plant Cell* **10**: 1121-1134.
- Nobel PS** (1991) Physicochemical and Environmental Plant Physiology. Academic Press, San Diego.
- Noctor G, Foyer CH** (1998) Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **49**: 249-279.
- Noctor G, Veljovic-Jovanovic S, Driscoll S, Novitskaya L, Foyer CH** (2002) Drought and oxidative load in the leaves of C-3 plants: a predominant role for photorespiration? *Annals of Botany* **89**: 841-850.
- Ogawa K, Kanematsu S, Takebe K, Asada K** (1995) Attachment of Cu, Zn SOD to thylakoid membranes at the site of superoxide generation (PSI) in spinach chloroplasts: Detection by immunogold labeling after rapid freezing. *Plant Cell Physiology* **36**: 565-57.
- Ori N, Juarez MT, Jackson D, Yamaguchi J, Banowetz GM and Hake S** (1999) Leaf senescence is delayed in tobacco plants expressing the maize homeobox gene knotted1 under the control of a senescence activated promoter. *Plant Cell* **11**: 1073-1080.
- Ort DR** (2001) When there is too much light. *Plant Physiology* **125**: 29-32.
- Ort DR, Oxborough K, Wise RR** (1994) Depressions of photosynthesis in crops with water deficits. In 'Photoinhibition of photosynthesis. From molecular mechanisms to the field.' (Eds NR Baker and JR Bowyer) **pp**. 315-329. (BIOS Scientific Publishers: Oxford. UK).
- Ortiz-López A, Ort DR, Boyer JS** (1991) Photophosphorylation in attached leaves of *Helianthus annuus* at low water potentials. *Plant Physiology* **96**: 1018-1025.
- Osmond B, Badger MR, Maxwell K, Björkman O, Leegood R** (1997) Too many photons: photorespiration, photoinhibition and photooxidation. *Trends in Plant Science Research News* **2**: 119-121.
- Osmond CB** (1994) What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: Baker NR, Bowyer JR (eds) Photoinhibition of photosynthesis: from molecular mechanisms to the field. Bios Scientific Publishers Ltd, Oxford, **pp** 1-24.

- Osmond CB, Badger M, Maxwell K, Björkman O, Leegood R** (1997) Too many photons – photorespiration, photoinhibition and photooxidation. *Trends in Plant Science* **2**: 119-121.
- Osmond CB, Grace SC** (1995) Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: Quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* **46**: 1351-1362.
- Ozkur O, Ozdemir F, Bor M, Turkan I** (2009) Physiochemical and antioxidant responses of the perennial *xerophyte* *Capparis ovata* Desf. to drought. *Environmental and Experimental Botany* **66**: 487-492.
- Pankovic D, Sakac Z, Kevresan S, Plesnicar M** (1999) Acclimation to long-term water deficit in the leaves of two sunflower hybrids: photosynthesis, electron transport and carbon metabolism. *Journal of Experimental Botany* **50**: 127-138.
- Pardossi A, Malorgio F, Oriolo D, Gucci R, Sera G, Tognoni F** (1998) Water relations and osmotic adjustment in *Apium graveolens* during long-term NaCl stress and subsequent relief. *Physiologia Plantarum* **102**: 369-376.
- Park Y-I, Chow WS, Osmond CB, Anderson JM** (1996) Electron transport to oxygen mitigates against the photoinactivation of Photosystem II in vivo. *Photosynthesis Research* **50**: 23-32.
- Parkhurst DF** (1994) Diffusion of CO₂ and other gases inside leaves. *New Phytologist* **126**: 449-479.
- Parry MAJ, Andralojc PJ, Khan S, Lea PJ, Keys AJ** (2002) Rubisco activity: effects of drought stress. *Annals of Botany* **89**: 833-839.
- Passardi F, Cosio C, Penel C, Dumand C** (2005) Peroxidases have more function than a Swiss army knife. *Plant Cell Report* **24**: 255-265.
- Pastori and Foyer** (2002) Common Components, Networks, and Pathways of Cross-Tolerance to Stress. The Central Role of “Redox” and Abscissic Acid-Mediated Controls. *Plant Physiology* **129**: 460-468.
- Pastory G, Mullineaux P, Foyer CH** (2000) Post transcriptional regulation prevents accumulation of glutathione reductase protein and activity in the bundle sheath cells of maize. Implication on the sensitivity of maize to low temperatures. *Plant Physiology* **122**: 667-675.
- Patakas A, Kofidis G, Bosabalidis AM** (2003) The relationship between CO₂ transfer mesophyll resistance and photosynthetic efficiency in grapevine cultivars. *Scientia Horticulturae* **97**: 255-263.

- Patakas A, Noitsakis B, Chouzouri A** (2005) Optimization of irrigation water use in grapevines using the relationship between transpiration and plant water status. *Agriculture Ecosystem and Environment* **106**: 253-259.
- Patakas A, Nikolaou N, Zioziou E, Radoglou K, Noitsakis B** (2002) The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. *Plant Science* **163**: 361-367.
- Patakas A, Noitsakis B** (2001) Leaf age effects on solute accumulation in water-stressed grapevines. *Journal of Plant Physiology* **158**: 63-69.
- Patakas AA, Zotos A, Beis AS** (2009) Production, localization and possible roles of nitric oxide in drought-stressed grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* doi: 10.1111/j.1755-0238.2009.00064.x.
- Pearcy RW, Schulze ED, Zimmermann R** (1991). Measurement of transpiration and leaf conductance. pp. 137-160. In: Plant Physiological Ecology. Field Methods and Instrumentation (R.W. Pearcy, J. Ehleringer, H.A. Mooney and P.W. Rundel, Eds). Chapman and Hall, London.
- Peguero-Pina JJ, Sancho-Knapik D, Morales F, Flexas J, Gil-Pelegrin E** (2009) Differential photosynthetic performance and photoprotection mechanisms of three Mediterranean evergreen oak under severe drought stress. *Functional Plant Biology* **36**: 453-462.
- Pegu C** (1970) Précis de Climatologie, Masson, Paris, pp. 468.
- Pellegrino A, Lebon E, Simonneau T, Wery J** (2005). Towards a simple indicator of water stress in grapevine (*Vitis vinifera* L.) based on the differential sensitivities of vegetative growth components. *Australian Journal of Grape Wine Research* **11**: 306-315.
- Peltzer D, Dreyer E, Polle A** (2002) Temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species. *Plant Physiology Biochemistry* **40**: 141-150.
- Peñuelas J, Filella L, Llusà J, Siscart D, Piñol J** 1998) Comparative field study of spring and summer leaf gas exchange and photobiology of the Mediterranean trees *Quercus ilex* and *Phillyrea latifolia*. *Journal of Experimental Botany* **49**: 229-238.
- Perez FJ, Burgos B** (2004) Alterations in the pattern of peroxidase isoenzymes and transient increases in its activity and in H₂O₂ levels take place during the dormancy cycle of grapevine buds: the effect of hydrogen cyanamide. *Plant Growth Regulation* **43**: 213-220.

- Petersen KL, Moreshet S, Fuchs M** (1991) Stomatal responses of field grown cotton to radiation and soil moisture. *Agronomy Journal* **83**: 1059-1065.
- Peterson RB** (1989) Partitioning the non-cyclic photosynthetic electron transport to O₂-dependent dissipative processes as proved by fluorescence and CO₂ exchange. *Plant Physiology* **90**: 1322-1328.
- Petit JR, Jouzel J, Raynaud D, Barkov NI, Barnola J-M, Basile I et al.** (1999) Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature* **399**: 429–436.
- Pinheiro HA, DaMatta FM, Chaves ARM, Fontes EPB, Loureiro ME** (2004) Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science* **167**: 1307-1314.
- Pospíšilová J, Synková H, Rulcová J** (2000) Cytokinins and water stress. *Biologia Plantarum* **43**: 321-328.
- Pou A, Flexas J, Alsina MM, Bota J, Carambula C, Herralde F, Galmes J, Lovisolo C, Jimenez M, Ribas-Carbo M, Rusjan D, Secchi F, Tomas M, Zsofi Z, Medrano H** (2008) Adjustments of water use efficiency by stomatal regulation during drought and recovery in the drought-adapted Vitis hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* x *V. rupestris*). *Physiologia Plantarum* **134**: 313-323.
- Price AH, Hendry GAF** (1991) Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought in nine native grasses and three cereals. *Plant, Cell & Environment* **14**: 477-484.
- Prokic L, Jovanovic Z, McAinsh MR, Vucinic Z, Stikic R** (2006) Species-dependent changes in stomatal sensitivity to abscisic acid mediated by external pH. *Journal of Experimental Botany* **57**: 675-683.
- Radin JW, Parker LL, Guinn G** (1982) Water relation of cotton plants under nitrogen deficiency. V. Environmental control of abscisic acid accumulation and stomatal sensitivity to abscisic acid. *Plant Physiology* **70**: 1066-1070.
- Radotic K, Ducic T, Mutavdzic D** (2000) Changes in peroxidase activity and isozymes in spruce needles after exposure to different concentration of cadmium. *Environmental and Experimental Botany* **44**: 105-113.
- Ramachandra Reddy A, Chaitanya KV, Jutur PP, Sumithra K** (2004) Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *Environmental Experimental Botany* **52**: 33-42.

- Rao MV, Paliyath G, Ormrod DP, Murr DP, Watkins CB** (1997) Influence of salicylic acid on H₂O₂-metabolizing enzymes. Salicylic acid-mediated and H₂O₂ production, oxidative stress, and H₂O₂-metabolizing enzymes. Salicylic acid – mediated oxidative damage requires H₂O₂. *Plant Physiology* **115**: 137-149.
- Reeves I, Emery RJN** (2007) Seasonal patterns of cytokinins and microclimate and the mediation of gas exchange among canopy layers of mature *Acer saccharum* trees. *Tree Physiology* **27**: 1635–1645.
- Reichstein M, Tenhunen JD, Rouspard O, Ourcival JM, Rambal S, Miglietta F, Peressotti A, Pacchiari M, Tirone G, Valentini R** (2002) Severe drought effects on ecosystem CO₂ and H₂O fluxes at three Mediterranean evergreen sites: revision of current hypotheses? *Global Change Biology* **8**: 999-1017.
- Reichstein M, Tenhunen JD, Rouspard O, Ourcival JM, Rambal S, Miglietta F, Peressotti A, Pacchiari M, Tirone G, Valentini R** (2003) Inverse modeling of seasonal effects on canopy CO₂/H₂O exchange in three Mediterranean ecosystems. *Journal of Geophysical Research* **108**: 4726.
- Ren HB, Kaifa W, Wensuo J, Davies WJ, Zhang J** (2007) Modulation of root signals in relation to stomatal sensitivity to root-sourced abscisic acid in drought-affected plants. *Journal of Integrative Plant Biology* **49**: 1410-1420.
- Renou J-L, Gerbaud A, Just D, Andre M** (1990) Differing substomatal and chloroplastic concentrations in water-stressed wheat. *Planta* **182**: 415–419
- Repellin A, Laffray D, Daniel C, Braconnier S, Zuily-Fodil Y** (1997) Water relations and gas exchange in young coconut palm (*Cocos nucifera* L.) as influenced by water deficit. *Canadian Journal of Botany* **75**: 18-27.
- Reynolds AG, Naylor AP** (1994) ‘Pinot noir’ and ‘Riesling’ grapevines respond to water stress duration and soil water-holding capacity. *Horticulture Science* **29**: 1505–1510.
- Rivero RM, Kojima M, Gepdtein A, Sakakibara H, Mittler R., Gepstein S, Blumwald E** (2007) Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**: 19631-19636.
- Rizhsky L, Hallak-Herr E, Van Breusegem F, Rachmilevitch S, Barr JE, Rodermel S, Inzé D, Mittler R** (2002) Double antisense plants lacking ascorbate peroxidase and catalase are less sensitive to oxidative stress than single antisense plants lacking ascorbate peroxidase or catalase. *Plant Journal* **32**: 329-342.

- Rodrigues ML, Santos TP, Rodrigues AP, Souza CR, Lopes CM, Maroco JP, Pereira JS, Chaves MM** (2008) Hydraulic and chemical signaling in the regulation of stomatal conductance and plant water use in field grapevines growing under deficit irrigation. *Functional Plant Biology* **35**: 565–579.
- Ros Barcelo A, Pomar F, Lopez-Serrano M, Pedreno MA** (2003) Peroxidases: a multifunctional enzyme in grapevines. *Functional Plant Biology* **30**: 577-591.
- Ruuska S, Badger MR, Andrews TJ, von Caemmerer S** (2000) Photosynthetic electron sinks in transgenic tobacco with reduced amounts of Rubisco: little evidence for significant Mehler reaction. *Journal of Experimental Botany* **51**: 357-368.
- Sakakibara H** (2006) Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 431–449.
- Saliedra NZ, Sperry JS, Comstock JP** (1995) Influence of leaf water status on stomatal response to humidity, hydraulic conductance, and soil drought in *Betula occidentalis*. *Planta* **196**: 357-366.
- Sanchez-Diaz M, Tapia C, Antolin MC** (2007) Drought-induced oxidative stress in different Canarian laurel forest tree species growing under controlled conditions. *Tree Physiology* **27**: 1415–1422.
- Sánchez-Rodríguez J, Pérez P, Martínez-Carrasco R** (1999) Photosynthesis, carbohydrate levels and chlorophyll fluorescence-estimated intercellular CO₂ in water-stressed *Casuarina equisetifolia* Forst. And Forst. *Plant, Cell & Environment* **22**: 867-873.
- Santos TP, Lopes CM, RodriguesML, Souza CR, Maroco JP, Pereira JS et al.** (2003) Partial rootzone drying: Effects on growth, and fruit quality of field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Functional of Plant Biology* **30**: 663–671.
- Sauter A, Davies WJ, Hartung W** (2001) The long-distance abscisic acid signal in the droughted plants: the fate of the hormone on its way from root to shoot. *Journal of Experimental Botany* **52**: 1991-1998.
- Savchenko G, Wiese C, Neimanis S, Hedrich R, Heber U.** (2000) pH regulation in apoplastic and cytoplasmic cell compartments of leaves. *Planta* **211**: 246-255.
- Savé R, Biel C, de Herralde F** (2000) Leaf pubescence, water relations and chlorophyll fluorescence in two subspecies of *Lotus creticus* L. *Biologia Plantarum* **43**: 239-244.
- Scandalios J, ed.** (1997) Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defences. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Lab. Press.

- Scandalios JG** (1993) Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology* **101**: 7-12.
- Scartazza A, Lauteri M, Guido MC, Brugnoli E** (1998) Carbon isotope discrimination in leaf and stem sugars, water-use efficiency and mesophyll conductance during different developmental stages in rice subjected to drought. *Australian Journal of Plant Physiology* **25**: 489–498.
- Schachtman DP, Goodger JQ** (2008) Chemical root to shoot signalling under drought. *Trends in Plant Science* **13**: 281-287.
- Schachtman DP, Shin R** (2007) Nutrient sensing and signaling: NPKS. *Annual Review of Plant Biology* **58**: 47-69.
- Scholander PF, Hammel HT, Bradstreet ED, Hemmingsen EA** (1965) Sap pressure in vascular plants. *Science* **148**: 339-346.
- Schreiber U, Bilger W, Neubauer C** (1994) Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In "Ecophysiology of Photosynthesis – Ecological Studies – vol. 100" Eds Schultze ED, Caldwell MM. Springer-Verlag, Berlin. pp 49-70.
- Schroeder JL, Kwak JM, Allen GJ** (2001a) Guard cell abscisic acid signaling and engineering drought hardiness in plants. *Nature* **410**: 327-330
- Schroeder JL, Allen GJ, Hugouvieux V, Kwak JM, Waner D** (2001b) Guard cell signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **52**: 627-658.
- Schultz HR** (1996) Water relations and photosynthetic responses of two grapevine cultivars of different geographical origin during water stress. *Acta Horticulture* **427**: 251-266.
- Schultz HR** (2000) Climate change and viticulture: a European perspective on climatology, carbon dioxide and UV B effects. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**: 2-12.
- Schultz HR** (2003) Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant, Cell & Environment* **26**: 1393-1405.
- Schulze E-D, Hall AE** (1982) Stomatal responses, water loss and CO₂ assimilation rates of plants in contrasting environments. In 'Encyclopedia of plant physiology Vol. 12. Physiological plant ecology ecosystem processes.' (Eds Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H) pp. 263-324. (Springer-Verlag: Berlin, Germany).

- Schurr U** (1998) Xylem sap sampling-new approaches to an old topic. *Trends in Plant Science* **3**: 293-298.
- Schurr U, Schulze E-D** (1995) The concentration of xylem sap constituents in root exudate, and in sap from intact, transpiring castor bean plants (*Ricinus communis* L.). *Plant, Cell & Environment* **18**: 409-420.
- Schwab KB, Schreiber U, Heber U** (1989) Response of photosynthesis and respiration of resurrection plants to desiccation and rehydration. *Planta* **177**: 217-227.
- Schwanz P, Poole A** (1998) Antioxidative systems, pigment and protein contents in leaves of adult Mediterranean oak species (*Quercus pubescens* and *Q. ilex*) with lifetime exposure to elevated CO₂. *The New Phytologist* **149**: 411-423.
- Seel WE, Hendry GAF, Lee AJ** (1992) Effects of desiccation on some activated oxygen processing enzymes and antioxidants in mosses. *Journal of Experimental Botany* **43**: 1031-1037.
- Selivankina SY, Karavaiko NN, Maslova GG, Zubkova NK, Prokoptseva OS, Smith AR, Hall MA, Kulaeva ON** (2004) Cytokinin-binding protein from *Arabidopsis thaliana* leaves participating in transcription regulation. *Plant Growth Regulator* **43**: 15-26.
- Sgherri CL, Navari-Izzo F** (1995) Sunflower seedlings subjected to increasing water deficit stress: Oxidative stress and defense mechanisms *Physiologia Plantarum* **93**: 25-30.
- Sharkey TD** (1988) Estimating the rate of photorespiration in leaves. *Physiologia Plantarum* **73**: 147-152.
- Sharkey TD, Seemann JR** (1989) Mild water stress effects on carbon-reduction cycle intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity, and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. *Plant Physiology* **89**: 1060-1065.
- Sharma P, Dubey RS** (2005) Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation* **46**: 209-221.
- Shashidhar VR, Prasad TG, Sudharshan L** (1996) Hormone Signals from Roots to Shoots of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Moderate Soil Drying Increases Delivery of Abscissic Acid and Depresses Delivery of Cytokinins in Xylem Sap. *Annals of Botany* **78**: 151-155.
- Shen FY, Guo R, Sun Q, Gao RF, Shen YB, Zhang ZY** (2008) Possible causes for embolism repair in xylem. *Environmental and Experimental Botany* **62**: 139-144.

- Silva JM, Maroco JP et al.** (2005) Effects of partial root-zone drying irrigation on cluster microclimate and fruit composition of fieldgrown Castelão grapevines. *Vitis* **44**, 117–125.
- Silvestroni O, Mattioli S, Neri D, Palliotti A, Carthechini A** (2005) Down-regulation of photosynthetic activity for field-grown grapevines. *Acta Horticulture* **689**: 285-291.
- Slovic S, Daeter W, Hartung W** (1995) Compartmental redistribution and long-distance transport of abscisic acid (ABA) in plants as influenced by environmental changes in the rhizosphere - a biomathematical model. *Journal Experimental Botany* **46**: 881-894.
- Slovic S, Hartung W** (1992a) Compartmental distribution and redistribution of abscisic acid in intact leaves. II. Model analysis. *Planta* **187**: 26-36.
- Slovic S, Hartung W** (1992b) Compartmental distribution and redistribution of abscisic acid in intact leaves. III. Analysis of the stress signal chain. *Planta* **187**: 37-47.
- Smart CM, Scofield SR, Bevan MW and Dyer TA** (1991) Delayed leaf senescence in tobacco plants transformed with tmr, a gene for cytokinin production in *Agrobacterium*. *Plant Cell* **3**: 647-656.
- Smart RE, Bingham GE** (1974) Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology* **53**: 258-260.
- Smirnoff N** (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytology* **125**: 27-58.
- Smirnoff N** (1995) Antioxidant systems and plant response to the environment. In: Smirnoff N, ed. *Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation*. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 217-243.
- Soar CJ, Speirs J, Maffei SM, Loveys BR** (2004) Gradients in stomatal conductance, xylem sap ABA and bulk leaf ABA along canes of *Vitis vinifera* cv. Shiraz: molecular and physiological studies investigating their source. *Functional Plant Biology* **31**: 659-669.
- Soar CJ, Speirs J, Maffei SM, Penrose AB, McCarthy MG, Loveys BR** (2006) Grape vine varieties Shiraz and Grenache differ in their stomatal response to VPD: Apparent links with ABA physiology and gene expression in leaf tissue. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **12**: 2-12.

- Sofa A, Dichio B, Xiloyannis C, Masia A** (2004) Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. *Plant Science* **166**: 293-302.
- Sofa A, Dichio B, Xiloyannis C, Masia A** (2005) Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. *Functional Plant Biology* **32**: 45-53.
- Souza CR, Maroco J, Santos T, Rodrigues ML, Lopes CM, Pereira JS et al.** (2005) Impact of deficit irrigation on water use efficiency and carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) of field-grown grapevines under Mediterranean climate. *Journal of Experimental Botany* **56**: 2163–2172.
- Sperry JS, Hacke UG, Oren R, Comstock JP** (2002) Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant, Cell & Environment* **25**: 251-263.
- Stadtman ER** (1992) Protein oxidation and aging. *Science* **257**: 1220–1224.
- Stoll M, Loveys BR, Dry P** (2000). Hormonal changes induced by partial root zone drying of irrigated grapevine. *Journal of Experimental Botany* **51**: 1627–1634.
- Stone PJ, Wilson DR, Beid JB, Gillespie RN** (2001) Water deficit effects on weet corn I. water use, radiation use efficiency, growth, and yield. *Australian Journal of Agricultural Research* **52**: 103–113.
- Stuhlfauth T., Scheuermann R, Fock HP** (1990) Light energy dissipation under water-stressed conditions – contribution of reassimilation and evidence for additional processes. *Plant Physiology* **92**: 1053-1061.
- Taiz L, Ziegler E** (1998) Plant Physiology. 2nd Edition. Sinauer Associates, Sunderland.
- Tambussi EA, Bort J, Araus JL** (2007) Water use efficiency in C3 cereals under Mediterranean conditions: a review of physiological aspects. *Annals of Applied Biology* **150**: 307-321.
- Tardieu F, Davies WJ** (1992) Stomatal response to abscisic acid is a function of current plant water status. *Plant Physiology* **98**: 540-545.
- Tardieu F, Davies WJ** (1993) Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. *Plant, Cell & Environment* **16**: 341-349.
- Tardieu F, Lafarge T, Simonneau TH** (1996) Stomatal control by fed or endogenous xylem ABA in sunflower: interpretation of correlations between leaf water potential

- and stomatal conductance in anisohydric species. *Plant, Cell & Environment* **19**: 75-84.
- Tardieu F, Zhang J, Davies WJ** (1992) What information is conveyed by an ABA signal from maize roots in drying field soil? *Plant, Cell & Environment* **15**: 185-191.
- Tardieu F, Simonneau T** (1998) Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporating demand: modeling isohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany* **49**: 419-432.
- Teplova I** (2000) Response of tobacco plants transformed with the ipt gene to elevated temperature. *Russian Journal of Plant Physiology* **47**: 367-369.
- Teplova IR, Farhutdinov RG, Mitrichenko AN, Ivanov II, Veselov SY, Valcke RL, Kudoyarova GR** (2000) Response of tobacco plants transformed with the ipt gene to elevated temperature. *Russian Journal of Plant Physiology* **47**: 367-369.
- Terashima I** (1992) Anatomy of non-uniform leaf photosynthesis. *Photosynthesis Research* **31**: 195-212.
- Tezara W, Martinez D, Rengifo E, Herrera A** (2003) Photosynthetic responses of the tropical spiny shrub *Lycium nodosum* (Solanaceae) to drought, salinity and saline spray. *Annals of Botany* **92**: 757-765.
- Tezara W, Mitchell VJ, Driscoll SD, Lawlor DW** (2002) Effects of water deficit and its interaction with CO₂ supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. *Journal of Experimental Botany* **53**: 1781-1791.
- Thimmanaik S, Giridara Kumar S, Jyothsna Kumari G, Suryanarayana N, Sudhakar C** (2002) Photosynthesis and the enzymes of photosynthetic carbon reduction cycle in mulberry during water stress and recovery. *Photosynthetica* **40**: 233-236.
- Thompson DS, Wilkinson S, Bacon MA, Davies WJ** (1997) Multiple signals and mechanisms that regulate leaf growth and stomatal behaviour during deficit. *Physiologia Plantarum* **100**: 303-313.
- Tonietto J, Carbonneau A** (2004) A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology* **124**: 81-97.
- Torrey JG** (1976) Root hormones and plant growth. *Annual Review of Plant Physiology* **27**: 435-459.
- Tourneux C, Peltier G** (1995) Effect of water deficit on photosynthetic oxygen exchange measured using ¹⁸O₂ and mass spectrometry in *Solanum tuberosum* L. leaf discs. *Planta* **195**: 570-577.

- Tuberosa R, Giuliani S, Parry MAJ, Araus JL** (2007) Improving water use efficiency in Mediterranean agriculture: what limits the adoption of new technologies? *Annual Applied Biology* **150**: 157-162.
- Türkan I, Bor M, Ozdemir F, Koca H** (2005) Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought tolerant *P. acutifolius* Gray and drought sensitive *P. vulgaris* L. subjected to PEG mediated water stress. *Plant Science* **168**: 223-231.
- Turnbull CGN, Raymond MAA, Dodd IC, Morris SE** (1997) Rapid increases in cytokinin concentration in lateral buds of chickpea (*Cicer arietinum* L.) during release of apical dominance. *Planta* **202**: 271-276.
- Turner NC** (1986) Crop water deficits: a decade of progress. *Advances in Agronomy* **39**: 1-51.
- Tyree MT, Hammel HT** (1972) The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. *Journal of Experimental Botany* **23**: 267-282.
- Tyson BJ, Dement WA, Mooney HA** (1974) Volatilisation of terpenes from *Salvia melifera*. *Nature* **252**: 119-120.
- Uehlein N, Lovisolo C, Siefritz F, Kadenhoff R** (2003) The tobacco aquaporin NtAQP1 is a membrane CO₂ pore with physiological functions. *Nature* **425**: 734–737.
- Valentini R, Epron D, de Angelis P, Matteucci G, Dreyer E** (1995) In situ estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Quercus cerris* L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant, Cell & Environment* **18**: 631-640.
- Valladares F, Pugnaire FI** (1999) Tradeoffs between irradiance capture and avoidance in semi-arid environments assessed with a crown architecture model. *Annals of Botany* **83**: 459-469.
- Van den Boogaard R, Alewijnse D, Veneklaas EJ, Lambers H** (1997) Growth and water-use efficiency of 10 *Triticum aestivum* cultivars at different water availability in relation to allocation of biomass. *Plant, Cell & Environment* **20**: 200–210.
- Van Leeuwen C, Gaudillère J-P, and Tregoat O** (2001) L'évaluation du régime hydrique de la vigne à partir du rapport isotopique ¹³C/¹²C. L'intérêt de sa mesure sur les sucres du moût à maturité. *Journal International de Sciences de Vigne et du Vin* **35**: 195-105.

- Vassey TL, Quick WP, Sharkey TD, Stitt M** (1991) Water stress, carbon dioxide and light effects on sucrose phosphate synthase activity in *Phaseolus vulgaris*. *Physiologia Plantarum* **81**: 37-44.
- Vassey TL, Sharkey TD** (1989) Mild water stress of *Phaseolus vulgaris* plants leads to reduced starch synthesis and extractable sucrose phosphate activity. *Plant Physiology* **89**: 1066-1070.
- Verslues PE, Sharp RE** (1999) Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials. II. Metabolic source of increased proline deposition in the elongation zone. *Plant Physiology* **119**: 1349-1360.
- Von Caemmerer S, Edmundson DL** (1986) The relationship between steady state gas exchange in vivo RuP2 carboxylase activity and some carbon cycle intermediates in *Raphanus sativus*. *Australian Journal of Plant Physiology* **13**: 669-688.
- Wagner BA, Buettner GR, Burns PC** (1996) Vitamin E slows the rate of free radical-mediated lipid peroxidation in cells. *Archives in Biochemistry and Biophysics* **334**: 261-267.
- Wang WB, Kim YH, Lee HS, Kim KY, Deng XP, Kwak SS** (2009) Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* **47**: 570-577.
- Wang ZY, Li FM, Xiong YC** (2008) Soil-Water Threshold Range of Chemical Signals and Drought Tolerance Was Mediated by ROS Homeostasis in Winter Wheat During Progressive Soil Drying. *Journal of Plant Growth Regulation* **27**: 309-319.
- Warren CR** (2006) Estimating the internal conductance to CO₂ movement. *Functional Plant Biology* **33**: 431-442.
- Warren CR, Livingston NJ, Turpin DH** (2004) Water stress decreases the transfer conductance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziensis*) seedlings. *Tree Physiology* **24**: 971-979.
- Webb LB, Whetton PH, and Barlow EW** (2008) Climate change and wine grape quality in Australia. *Climate Research* **36**: 99-111.
- Webb LB, Whetton PH, Barlow, EWR** (2007) Modelled impact of future climate change on the phenology of grapevines in Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **13**: 165-175.
- Whetten RW, MacKay JJ, Sederoff RR** (1998) Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **49**: 585-609.

- Wilkinson S** (1999) PH as a stress signal. *Plant Growth Regulation* **29**: 87-99.
- Wilkinson S** (2004) Water use efficiency and chemical signalling. In: Bacon MA, ed. Water Use Efficiency in Plant Biology. Oxford, UK: Blackwell Press, Oxford, pp 75-112.
- Wilkinson S, Bacon MA, Davies WJ** (2007) Nitrate signalling to stomata and growing leaves: interactions with soil drying, ABA, and xylem sap pH in maize. *Journal of Experimental Botany* **58**: 1705-1716.
- Wilkinson S, Corlett JE, Oger L, Davies WJ** (1998) Effects of xylem sap pH on transpiration from wild-type and flacca mutant tomato leaves: a vital role for abscisic acid in preventing excessive water loss from well-watered plants. *Plant Physiology* **117**: 703-709.
- Wilkinson S, Davies WJ** (1997) Xylem sap pH increase: a drought signal received at the apoplastic face of the guard cell that involves the suppression of saturable abscisic acid uptake by the epidermal symplast. *Plant Physiology* **113**: 559-573.
- Wilkinson S, Davies WJ** (2002) ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell & Environment* **25**: 195-210.
- Wilkinson S, Davies WJ** (2008) Manipulation of the apoplastic pH of intact plants mimics stomatal and growth responses to water availability and microclimatic variation. *Journal of Experimental Botany* **59**: 619-631.
- Willekens H, Chamnongpol S, Davey M, Schraudner M, Langebartels C, Van Montagu M, Inzé D, Van Camp W** (1997) Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. *The EMBO Journal* **16**: 4806-4816.
- Williams LE, Matthews MA** (1990) Grapevine. In: Stewart BA, Nielsen DR, eds. Irrigation of Agricultural Crops. Series of Agronomy n. 30, Madison, Wisconsin. pp. 1019-1055.
- Wingler A, Quick WP, Bungard RA, Bailey KJ, Lea PJ, Leegood RC** (1999) The role of photorespiration during drought stress: an analysis utilizing barley mutants with reduced activities of photorespiratory enzymes. *Plant, Cell & Environment* **22**: 361-373.
- Wright STC** (1977) The relationship between leaf water potential and levels of abscisic acid and ethylene in excised wheat leaves. *Planta* **134**: 183-189.
- Yao C, Moreschet S, Aloni B** (2001) Water relations and hydraulic control of stomatal behavior in bell pepper plant in partial soil drying. *Plant, Cell & Environment* **24**: 227-235.

- Zhang J, Davies WJ** (1991) Antitranspirant activity in the xylem sap of maize plants. *Journal of Experimental Botany* **42**: 317-321.
- Zhang J, Davies WJ** (1987) Increased synthesis of ABA in partially dehydrated root tips and ABA transport from roots to leaves. *Journal of Experimental Botany* **38**: 2015-2023.
- Zhang J, Davies WJ** (1989) Abscissic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. *Plant, Cell & Environment* **12**: 73-81.
- Zhang J, Kirkham MB** (1994) Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant Cell Physiology* **35**: 785-791.
- Zhang J, Kirkham MB** (1995) Water relations of water-stressed, split-root C4 (*Sorghum bicolor*; Poaceae) and C3 (*Helianthus annuus*; Asteraceae) plants. *American Journal of Botany* **82**: 1220-1229.
- Zhang J, Kirkham MB** (1996) Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytology* **132**: 361-373.
- Zhang JH, Schurr U, Davies WJ** (1987) Control of stomatal behavior by abscisic-acid which apparently originates in the roots. *Journal of Experimental Botany* **38**: 1174-1181.

