

GEOTECHNICAL SCIENTIFIC ISSUES

GEOTECHNICAL CHAMBER OF GREECE

VOL: 15 - ISSUE I - No 2/2004

ISSN 1105-9478

2/2004

ΤΟΜΟΣ 15
ΣΕΙΡΑ I

ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ

ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΟ ΕΠΙΜΕΛΗΤΗΡΙΟ ΕΛΛΑΔΑΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ

GEOTECHNICAL SCIENTIFIC ISSUES

GEOTECHNICAL CHAMBER OF GREECE

VOL: 15 - ISSUE I - No 2/2004

ISSN 1105-9478

2/2004

**ΤΟΜΟΣ 15
ΣΕΙΡΑ Ι**

**ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΑ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ
ΘΕΜΑΤΑ**

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ

ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΟ ΕΠΙΜΕΛΗΤΗΡΙΟ ΕΛΛΑΔΑΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ

CONTENTS

SCIENTIFIC PAPERS

<i>G. Kapotis, E. Konstantopoulou, G. Salahas, K. Akoumianakis, H. Passam, Ch. Olympios</i>	Effect of permeability of polymer films and the initial concentrations of oxygen and carbon dioxide in modified atmosphere storage of tomatoes	4 -14
<i>Savas Th. Kotzamanidis</i>	Efficiency of selection in the barley variety "Athenaida"	15 -19
<i>N. K. Moustakas, H. Ntzanis</i>	Dry matter accumulation and nutrient uptake by flue-cured tobacco (Virginia)	20 - 33
<i>Theodora S. Pritsa, Demetrios G. Voyiatzis, Gregorios C. Diamantidis</i>	Polyamines I. Structure, metabolism and mode of action	34 - 43
<i>Theodora S. Pritsa, Demetrios G. Voyiatzis</i>	Polyamines II. Their role in plant growth and development	44 - 55
<i>I. Zamani, E. Gouli-Vavdinoudi, D. Roupakias</i>	Production of doubled haploids by anther culture in bread wheat (<i>Triticum aestivum</i> L. em. Thell)	56 - 64

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

<i>Γ. Καπότης, Ε. Κωνσταντοπούλου, Γ. Σαλάχας, Κ. Ακουμιανάκης, Χ. Πάσσαμ, Χ. Ολύμπιος</i>	Επίδραση της διαπερατότητας των μεμβρανών πολυμερών και της αρχικής συγκέντρωσης σε οξυγόνο και διοξείδιο του άνθρακα κατά την εφαρμογή τροποποιημένης ατμόσφαιρας στη συντήρηση καρπών τομάτας	4 - 14
<i>Σάββας Θ. Κοτζαμανίδης</i>	Αποτελεσματικότητα επιλογής στην ποικιλία κριθαριού «Αθηναΐδα»	15 - 19
<i>Νικ. Κ. Μουστάκας, Ηλ. Ντζάνης</i>	Παραγωγής ξηρής φυτομάζας και πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων από καπνά Virginia	20 - 33
<i>Θεοδώρα Σ. Πρίτσα, Δημήτριος Γ. Βογιατζής, Γρηγόριος Χ. Διαμαντίδης</i>	Πολυαμίνες I. Δομή, μεταβολισμός και τρόπος δράσης	34 - 43
<i>Θεοδώρα Σ. Πρίτσα, Δημήτριος Γ. Βογιατζής</i>	Πολυαμίνες II. Ο ρόλος τους στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών	44 - 55
<i>Ι. Ζαμάνη, Ε. Γουλή-Βαβδινούδη, Δ. Ρουπακιάς</i>	Δημιουργία διαπλοειδών σειρών στο μαλακό σιτάρι (<i>Triticum aestivum</i> L em. Thell) με την τεχνική της ανθηροκαλλιέργειας	56 - 64

Επίδραση της διαπερατότητας των μεμβρανών πολυμερών και της αρχικής συγκέντρωσης σε οξυγόνο και διοξείδιο του άνθρακα κατά την εφαρμογή τροποποιημένης ατμόσφαιρας στη συντήρηση καρπών τομάτας

Γ. Καπότης¹, Ε. Κωνσταντοπούλου¹, Γ. Σαλάχας¹, Κ. Ακουμιανάκης², Χ. Πάσσαμ², Χ. Ολύμπιος²

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η χρήση πέντε μεμβρανών πολυμερών διαφορετικής διαπερατότητας για την κάλυψη μικροσυσκευασίων τομάτας, είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία τροποποιημένων ατμοσφαιρών με χαμηλή συγκέντρωση O₂ (4-8%) και υψηλή CO₂ (2-5%), που συνέβαλαν στην επιβράδυνση της ωρίμανσης και την αύξηση της μετασυλλεκτικής ζωής των καρπών. Η μικρότερη διαπερατότητα μεμβράνη P.Cling πέτυχε τον αποτελεσματικότερο έλεγχο της ανάπτυξης χρώματος και του μαλακώματος των καρπών αλλά προέκυψαν προβλήματα μυκητολογικών προσβολών και σήψων των καρπών λόγω αυξημένης σχετικής υγρασίας εντός των συσκευασιών. Οι μεμβράνες ES25 και Vita που είχαν μεγαλύτερη διαπερατότητα δεν δημιούργησαν προβλήματα προσβολών αλλά είχαν σχετικά μικρό έλεγχο στις διεργασίες ωρίμανσης των καρπών. Η μεμβράνη Cling με ενδιάμεση διαπερατότητα είχε ικανοποιητικό έλεγχο των παραμέτρων ωρίμανσης (χρώμα, συνεκτικότητα κλπ) χωρίς ιδιαίτερα προβλήματα υψηλής σχετικής υγρασίας και μυκητολογικών προσβολών.

Η εφαρμογή χαμηλής συγκέντρωσης O₂ (3%) κατά την έναρξη της συντήρησης είχε ως αποτέλεσμα την περαιτέρω επιβράδυνση της ανάπτυξης χρώματος και της απώλειας της συνεκτικότητας των καρπών ενώ παράλληλα σημειώθηκε έλεγχος στην έκλυση αιθυλενίου. Η προσθήκη CO₂ (3%) είχε επίσης επιβραδυντικό ρόλο στην ωρίμανση των καρπών, σε μικρότερο όμως βαθμό από ότι το χαμηλό O₂.

Λέξεις κλειδιά: μεμβράνες πολυμερών, συσκευασία, συντήρηση, τομάτα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η τομάτα είναι ένας κλιμακτηριακός καρπός με σχετικά σύντομο χρόνο ωρίμανσης που χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη κόκκινου χρώματος και απώλειας της συνεκτικότητάς της. Έτσι το προϊόν της τομάτας θεωρείται ευαίσθητο και χάνει γρήγορα την εμπορική του αξία, ιδιαίτερα μάλιστα σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας. Όμως, η συντήρηση σε συνθήκες χαμηλών θερμοκρασιών δεν είναι πάντοτε εφικτή δεδομένου ότι ο καρπός της τομάτας είναι ευαίσθητος στις χαμηλές θερμοκρασίες όπου αναπτύσσονται και εμφανίζονται ασθένειες ψύχους (κροστραυματισμοί) (Ryall and Lipton, 1979; Hobson, 1987). Έτσι κατά τις δυο τελευταίες δεκαετίες, δεδομένης της ανάγκης της αγοράς για επιμήκυνση του χρόνου μετασυλλεκτικής ζωής του προϊόντος, έχουν αναζητηθεί νέες τεχνικές συντήρησης. Μεταξύ των μεθόδων αυτών είναι α) η συντήρηση σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα (Geeson κ.α. 1986) και

β) η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (Geeson κ.α. 1985, Frezza κ.α. 1997). Η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (modified atmosphere) συνιστάται στην τοποθέτηση του προϊόντος σε πλαστικό περιέκτη ή και στην περιτύλιξη του περιέκτη με πλαστική μεμβράνη, με συνέπεια η σύνθεση της ατμόσφαιρας σε αέρια εξ αρχής ή στη διάρκεια συντήρησης του προϊόντος να μεταβάλλεται. Έτσι, η τροποποιημένη ατμόσφαιρα που έχει χαμηλή συγκέντρωση O₂ και υψηλή CO₂ επιβραδύνει την ωρίμανση των καρπών και συνολούθα αυξάνει την μετασυλλεκτική τους ζωή (Hobson, 1987; Kader κ.α., 1989).

Οι πλαστικοί περιέκτες και οι μεμβράνες πολυμερών διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους ως προς τη διαπερατότητά τους σε αέρια και υδρατμούς, ανάλογα με το είδος του πλαστικού και τον τρόπο της κατασκευής

¹ ΤΕΙ Μεσολογγίου, Τμήμα Θερμοκηπιακών Καλλιέργειών & Ανθοκομίας

² Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Κηπευτικών Καλλιέργειών

των. Οι πλαστικοί περιέκτες και οι μεμβράνες που χρησιμοποιούνται στη συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας κατασκευάζονται από απλές μεμβράνες ενός συγκεκριμένου πλαστικού, από πολύφυλλες μεμβράνες ή από μεμβράνες συνεξώθησης. Οι πολύφυλλες μεμβράνες κατασκευάζονται με τη συγκόλληση απλών μεμβρανών, και ενδεχόμενα και άλλων εύκαμπτων υλικών, ενώ οι μεμβράνες συνεξώθησης από την ταυτόχρονη συνεξώθηση απλών μεμβρανών με διαφορετικές ιδιότητες. Τόσο οι πολύφυλλες μεμβράνες, όσο και οι μεμβράνες συνεξώθησης εξασφαλίζουν τις καλύτερες συνθήκες από πλευράς διαπερατότητας και άλλων ιδιοτήτων για τη συντήρηση κάθε προϊόντος με το χαμηλότερο κόστος (Jenkins, W.A. and Harrington, J. P. 1991).

Ωστόσο απαιτείται σχολαστική επιλογή των πλαστικών φιλμ έτσι ώστε να έχουν την κατάλληλη διαπερατότητα, για να μη δημιουργηθούν προβλήματα πολύ υψηλής συγκέντρωσης CO₂ ή πολύ χαμηλής συγκέντρωσης O₂ καθώς και υπερβολικής υγρασίας εντός των μικροσυσκευασιών, που είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε σοβαρή υποβάθμιση ή απώλεια του προϊόντος.

Οι Geeson κ.α. (1985) χρησιμοποίησαν πλαστικές μεμβράνες διαφόρου προελεύσεως και με διαφορετική διαπερατότητα ως προς το O₂ και CO₂ και την υγρασία, για την κάλυψη μικρών πακέτων χωρητικότητας περίπου 400 gr τομάτας. Διαπίστωσαν ότι σε διάστημα 3-4 ημερών σε θερμοκρασία 10°C ή 12,5°C στο εσωτερικό των πακέτων δημιουργήθηκαν ατμόσφαιρες με 3-9 % O₂ και 3-9 % CO₂ με αποτέλεσμα την καθυστέρηση της ωρίμανσης των καρπών, που έφτασαν σε πλήρη ωρίμανση μετά το τρύπημα των πακέτων χωρίς αρνητικά αποτελέσματα στην υφή και τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Η χρήση μεμβρανών πολυμερών με πολύ μικρή διαπερατότητα (π.χ. cellulose acetate) δημιούργησε ατμόσφαιρες με 10-18 % CO₂ και O₂ χαμηλότερο του 2%, με αποτέλεσμα την αναχαίτιση της ωρίμανσης αλλά και υψηλά ποσοστά σήψων των καρπών.

Σε παρόμοια πειράματα, ο Hobson (1978) διαπίστωσε ότι τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσε η πλαστική μεμβράνη 'cling wrap' που στους 20°C για έξι ημέρες αύξησε το χρόνο ωρίμανσης κατά 50%.

Παρόμοια αποτελέσματα διαπίστωσαν και άλλοι ερευνητές (Anderson and Poapst 1983, Kader κ.α. 1989, Frezza κ.α. 1998). Ωστόσο σχεδόν κανένα είδος πολυμερούς μεμβράνης δεν έχει γίνει ευρέως αποδεκτή και επιπλέον ελάχιστα έχει εξεταστεί η σκοπιμότητα εφαρμογής χαμηλής συγκέντρωσης O₂ και υψηλής CO₂ κατά τη συσκευασία του προϊόντος.

Αντικείμενο της εργασίας αυτής είναι να μελετηθεί η επίδραση της διαπερατότητας σε αέρια και υδατμούς πέντε πλαστικών μεμβρανών και της αρχικής συγκέντρωσης της συσκευασίας σε οξυγόνο και διοξείδιο του άνθρακα στη συντήρηση καρπών τομάτας με τροποποιημένη ατμόσφαιρα.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Οι καρποί συγκομίστηκαν σχολαστικά με κριτήριο το χρώμα, ώστε να βρίσκονται στο ίδιο στάδιο ωρίμανσης, πράσινοι φυσιολογικά ώριμοι (Mature Green – MG), και τοποθετήθηκαν ανά έξι μέσα σε πλαστικά κύπελλα κάθε ένα από τα οποία περιτυλίγονταν με μεμβράνη πολυμερούς. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά πέντε διαφορετικές μεμβράνες, καθώς και διάτρητη μεμβράνη για το μάρτυρα, οι χαρακτηριστικές ιδιότητες των οποίων έχουν ως εξής: Η πλαστική μεμβράνη Vita παρά το μεγάλο πάχος της (15 μm) είχε τη μεγαλύτερη διαπερατότητα σε υδατμούς (550 g/m²d) καθώς και σε O₂ (16.000 cm³/m²d bar), ενώ η μεμβράνη ES 25 είχε το μικρότερο πάχος (10μm). Οι μεμβράνες P. Cling και RMF-A με σχετικά μεγάλο πάχος (12 και 13 μm αντίστοιχα) είχαν πολύ μικρή διαπερατότητα σε υδατμούς (9,3 και 110 g/m²d αντίστοιχα) και ικανοποιητική διαπερατότητα σε O₂ και CO₂ (Geeson κ.α. 1985, Hobson 1981, 1987, 1992). Η μεμβράνη Cling είχε πάχος 12μm, μεγάλη διαπερατότητα σε υδατμούς (300 g/m²d) και ικανοποιητική διαπερατότητα σε O₂ (11.000 cm³/m²d bar) και σε CO₂ (66.000 cm³/m²d bar). Εξ'αυτών οι Vita, RMF-A και Cling ήταν απλές μεμβράνες από PVC ενώ οι ES 25 και P. Cling προερχόταν από πολυεθυλένιο (PE). Στο τρίτο πείραμα εφαρμόστηκε χαμηλή συγκέντρωση O₂ (3%) ή υψηλή συγκέντρωση CO₂ (3%). Η κάλυψη όλων των μεταχειρίσεων έγινε με την πλαστική μεμβράνη Cling, επειδή επελέγη ως η καλύτερη μεταξύ αυτών που δοκιμάστηκαν, δεδομένου ότι είχε μια μέση διαπερατότητα στα αέρια και τους υδατμούς και δεν δημιούργησε σημαντικά προβλήματα σήψων στους καρπούς (Καπότης 2001). Στα πλαστικά κύπελλα προσαρμόστηκαν δύο μικροί σωλήνες διαμέτρου 1 cm σε δύο αντίθετες πλευρές. Συνεχής ροή αζώτου για 10-20 λεπτά είχε σαν αποτέλεσμα στο εσωτερικό της συσκευασίας να υπάρχει μόνο άζωτο. Ακολουθούσε η προσθήκη του απαιτούμενου O₂ (3%) ή CO₂ (3%) με σύριγγα. Στο πείραμα αυτό εκτός του 'μάρτυρα' που είχε καλυφθεί με διάτρητη μεμβράνη χρησιμοποιήθηκε επίσης η μεταχείριση 'αέρας' που ήταν απλή κάλυψη του κυπέλλου με την μεμβράνη Cling χωρίς

εξαρχής μετατροπή της ατμόσφαιρας.

Όλα τα πειράματα έγιναν σε διαφορετικό χρόνο, σε δύο θερμοκρασίες (10 °C και 20°C) και με τρεις επαναλήψεις. Ο χρόνος συντήρησης στους 10 °C ήταν πάντα μεγαλύτερος (8 ή 9 ημέρες) απ' αυτόν στους 20 °C (6 ημέρες). Η σχετική υγρασία του αέρα στο χώρο συντήρησης, τόσο στους 10°C, όσο και στους 20 °C ήταν 80%.

Η συνεκτικότητα των καρπών μετρήθηκε με αυτόματο όργανο που υπολόγιζε τη συμπίεση που σημειώνεται σε κάθε καρπό υπό το βάρος 1kg για τρία δευτερόλεπτα. Οι τιμές της συνεκτικότητας υπολογιζόταν από επεξεργαστή με βάση τη σχέση 10/συμπίεση σε mm (Hobson, 1981).

Το χρώμα μετρήθηκε με χρωματόμετρο τύπου Hunterlab D25A-9. Οι τιμές του χρώματος των καρπών προκύπτουν από τον τύπο 2000a/Lv ($a^2 + b^2$). Η παράμετρος L μετρά τη φωτεινότητα (από μηδέν – μαύρο μέχρι 100 – λευκό), η a δηλώνει πράσινο χρώμα όταν έχει αρνητικές τιμές και κόκκινο για θετικές και η b μπλε χρώμα για αρνητικές και κίτρινο για θετικές τιμές (Dixon and Hobson, 1984). Σε κάθε καρπό γίνονταν 2 μετρήσεις.

Η συγκέντρωση των αερίων προσδιορίστηκε σε αέριο χρωματογράφο Shimadzu GC-BA με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID) και στήλη ενεργού (activated) αλουμίνιας για το αιθυλένιο και ανιχνευτή θερμοαγωγιμότητας (TCD) και στήλης silica gel για το O₂ και το CO₂.

Η μέτρηση των διαλυτών στερεών έγινε με επιτραπέζιο διαθλασίμετρο με ρυθμιζόμενη θερμοκρασία (20±1°C) και τα σάκχαρα προσδιορίστηκαν με τη χρήση αυτόματου οργάνου Technican Autoanalyser System (Winsor and Adams, 1976).

Παρότι όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε δύο θερμοκρασίες (10°C και 20°C), δεν αναλύθηκαν ως παραγοντικά, αλλά έγινε ξεχωριστή ανάλυση για κάθε θερμοκρασία με το εντελώς τυχαίοποιημένο σχέδιο. Αυτό έγινε διότι η διαφορά θερμοκρασίας ήταν μεγάλη και επομένως τα αποτελέσματα πολύ διαφορετικά, καθώς επίσης και διότι ο χρόνος συντήρησης στους 10°C ήταν μεγαλύτερος απ' αυτόν στους 20°C. Εξάλλου το πρώτο και δεύτερο πείραμα αναλύθηκαν ξεχωριστά, διότι έγιναν σε διαφορετικό χρόνο (διαφορετικοί καρποί και διαφορετικές αρχικές τιμές συνεκτικότητας και χρώματος) και επιπλέον υπήρξε διαφορά μιας ημέρας στη διάρκεια συντήρησης στους 10°C.

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS. Οι διαφορές των μέσων αξιολογήθηκαν με το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων των μέσων Duncan σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

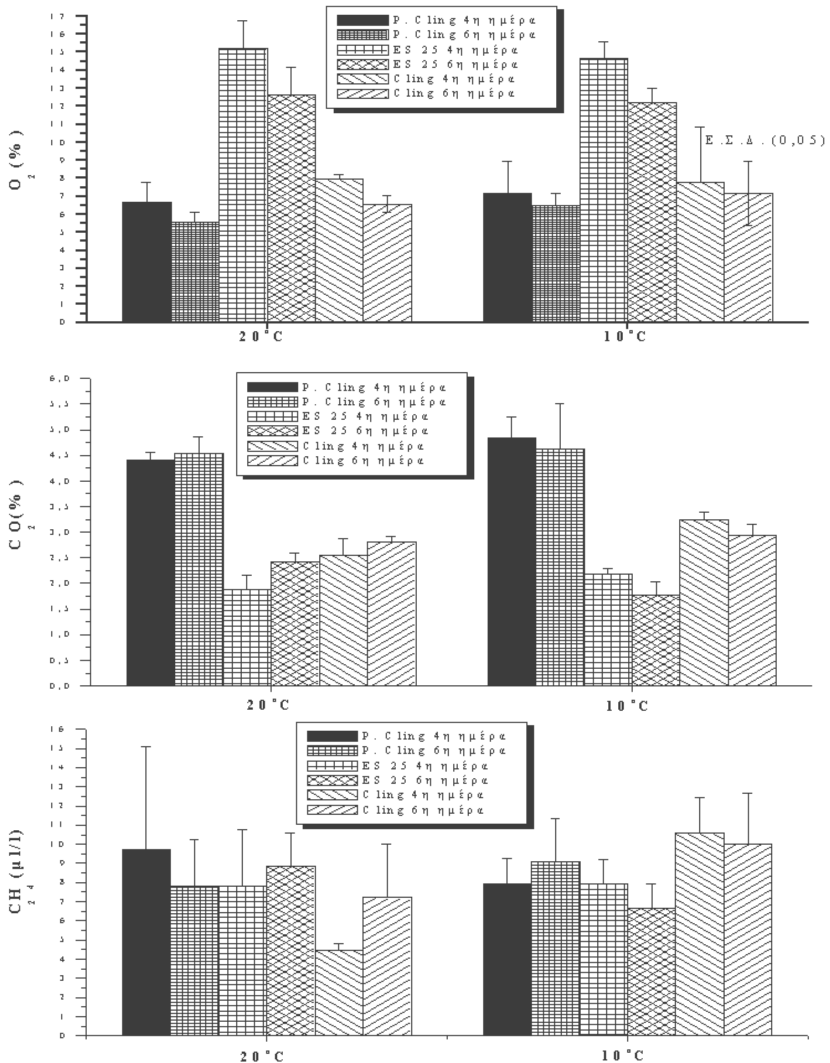
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Διαπερατότητα των μεμβρανών και συγκεντρώσεις O₂, CO₂ και C₂H₄

Η κάλυψη των πλαστικών κυπέλλων με τις διαφορετικές μεμβράνες πολυμερών είχε γενικά σαν αποτέλεσμα τη βαθμιαία μείωση της συγκέντρωσης του O₂ ενώ οι συγκεντρώσεις του CO₂ και του C₂H₄ αυξήθηκαν ή παρέμειναν στο ίδιο επίπεδο με μια μόνο εξαίρεση (Σχήματα 1 και 2). Η μεταβολή αυτή οφειλόταν στην δημιουργία τροποποιημένης ατμόσφαιρας εντός των μικροσυσκευασιών ως αποτέλεσμα της αναπνοής των καρπών.

Παρατηρήθηκαν μεγάλες διαφορές στις ανάλογες συγκεντρώσεις μεταξύ των κυπέλλων που καλύφθηκαν με μεμβράνες διαφορετικής διαπερατότητας. Έτσι στην μεμβράνη P. Cling που είχε τη μικρότερη διαπερατότητα σημειώθηκαν οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις O₂ και οι υψηλότερες CO₂. Αντίθετα οι υψηλότερες συγκεντρώσεις O₂ και χαμηλότερες CO₂ σημειώθηκαν στις μεμβράνες ES25 και Vita που ήταν από τις πλέον περατές. Στις μεμβράνες Cling και RMF-A παρατηρήθηκαν ενδιάμεσες τιμές O₂ και CO₂. Οι διαφορές στις συγκεντρώσεις αερίων μεταξύ πρώτου και δεύτερου πειράματος στις μεταχειρίσεις με την μεμβράνη Cling οφείλονται στο ότι οι καρποί που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα αυτά συλλέχθηκαν σε διαφορετικό χρόνο και προφανώς δεν συνέπιπταν ακριβώς, όσο αφορά το στάδιο ωριμότητάς τους.

Γενικά η μερική διαπερατότητα των μεμβρανών στα εν λόγω αέρια δεν επέτρεψε τη συνεχή μείωση του O₂ και τη συσσώρευση του CO₂ και του C₂H₄ αλλά μετά από λίγες ημέρες παρατηρήθηκε μια σχετική ισορροπία. Έτσι ακόμα και στα πειράματα που από την πρώτη ημέρα εφαρμόστηκαν ατμόσφαιρες με χαμηλό O₂, την επόμενη οι συγκεντρώσεις O₂ στο εσωτερικό των κυπέλλων αυτών ήταν σημαντικά υψηλότερες (Σχήμα 3). Για αυτό στις περιπτώσεις αυτές γινόταν συχνά επαναπροσδιορισμός της ατμόσφαιρας με την εφαρμογή συνεχούς

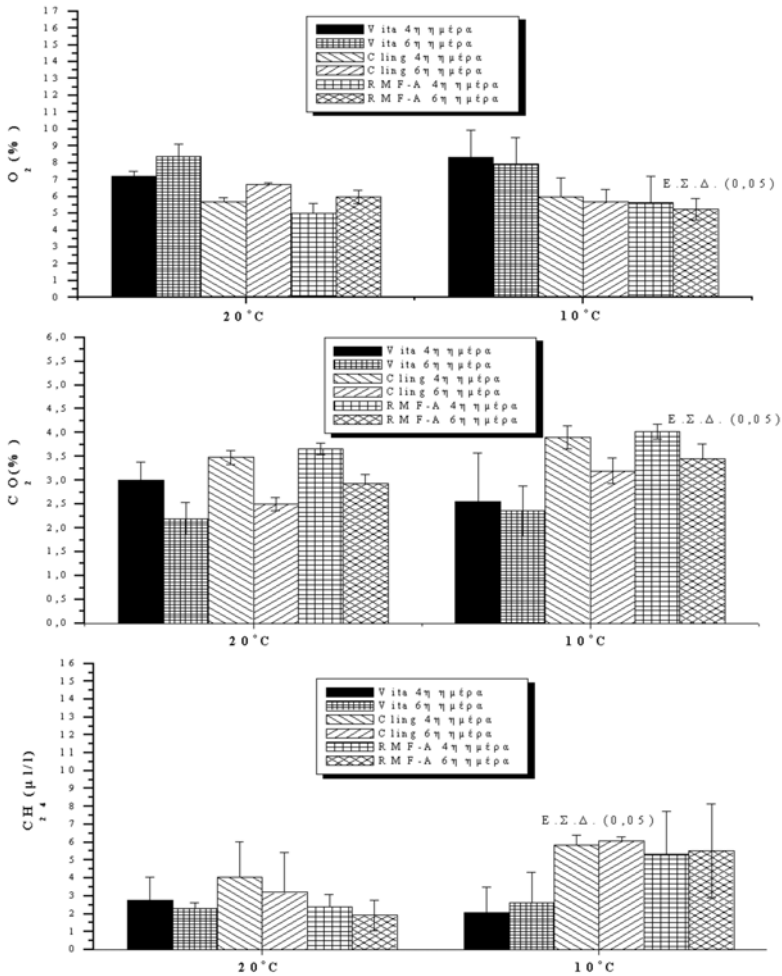


Σχήμα 1. Μεταβολή συγκεντρώσεων O_2 , CO_2 και C_2H_4 κατά τη διάρκεια συντήρησης καρπών τομάτας καλυμμένων με διάφορες μεμβράνες πολυμερών (P. Cling, ES 25 και Cling) σε θερμοκρασίες $20^\circ C$ και $10^\circ C$. Ομπαρές αφορούν την Ε.Σ.Δ. (0,05).

Figure 1. Variations in O_2 , CO_2 and C_2H_4 concentrations over the storage of tomatoes at $20^\circ C$ and $10^\circ C$, following enclosure in various plastic films (P. Cling, ES 25 and Cling). Bars indicate LSD ($p = 0.05$).

ροής N_2 στο εσωτερικό του πακέτου, έτσι ώστε η συγκέντρωση του O_2 να διατηρείται στα χαμηλά επιθυμητά επίπεδα. Είναι αξιοσημείωτο ότι η εφαρμογή χαμηλής συγκέντρωσης O_2 κατά την έναρξη της συντήρησης είχε σαν αποτέλεσμα τη δραστική μείωση του ελγλούμενου αιθυλενίου.

Η συντήρηση σε χαμηλή ($10^\circ C$) ή υψηλή ($20^\circ C$) θερμοκρασία δεν έδωσε σταθερά σημαντικές διαφορές στην παραγωγή CO_2 και C_2H_4 και στη συγκέντρωση O_2 (Σχήμα 1-3). Παρά το ότι η χαμηλή θερμοκρασία είναι βέβαιο ότι ελέγχει τις βιοχημικές διεργασίες του καρπού κατά την αποθήκευσή του και θα έπρεπε να αναμένονται διαφορές και στις συγκεντρώσεις των παραπάνω αερίων, αυτό δεν έγινε δυνατό λόγω της διαπερατό-



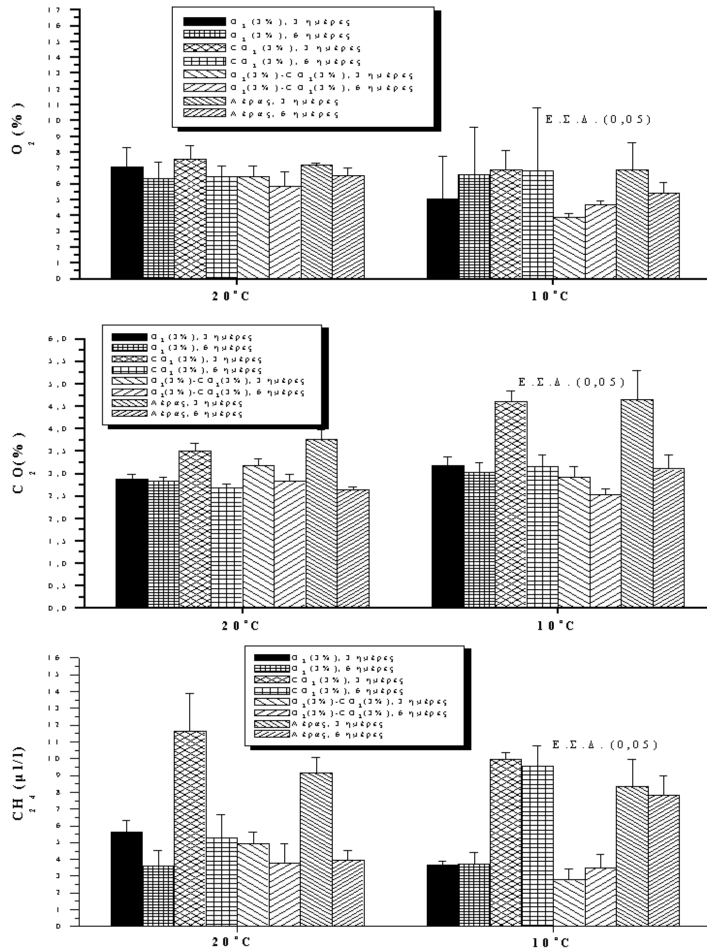
Σχήμα 2. Μεταβολή συγκεντρώσεων O₂, CO₂ και C₂H₄ κατά τη διάρκεια συντήρησης καρπών τομάτας καλυμμένων με διάφορες μεμβράνες πολυμερών (Vita, Cling και RMF-A) σε θερμοκρασίες 20°C και 10°C.

Figure 2. Variations in O₂, CO₂ and C₂H₄ concentrations over the storage of tomatoes at 20°C and 10°C, following enclosure in various plastic films (Vita, Cling and RMF-A).

τητας των μεμβρανών που δεν επέτρεψε αθροιστικές τιμές για το παραγόμενο CO₂ ή το εκλυόμενο C₂H₄ κατά την διάρκεια της συντήρησης των καρπών.

Χρώμα

Οι καρποί του μάρτυρα ανέπτυξαν πολύ περισσότερο χρώμα κατά την αποθήκευσή τους, τόσο στους 20°C για 6 ημέρες, όσο και στους 10°C για 8 ή 9 ημέρες, απ' ότι οι καρποί που καλύφθηκαν με διάφορες μεμβράνες (Πίνακες I, II). Έτσι, σε όλες τις περιπτώσεις οι τιμές του χρώματος των καρπών του μάρτυρα, ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες από τις τιμές των άλλων καρπών, με εξαίρεση τους καρπούς που καλύφθηκαν με τις μεμβράνες ES 25 στους 10°C όπου η διαφορά ήταν στατιστικά μη σημαντική. Οι καρποί που καλύφθηκαν με τις μεμβράνες Cling και P. Cling είχαν σημαντικά μικρότερες τιμές χρώματος από αυτούς της ES 25 και στις δύο θερμοκρασίες (Πίνακας I). Αντίθετα, δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές χρώματος για τις μεμβράνες Vita,



Σχήμα 3. Μεταβολή συγκεντρώσεων O_2 , CO_2 και C_2H_4 κατά τη διάρκεια συντήρησης καρπών τομάτας καλυμμένων με μεμβράνη τύπου Cling και με αρχική εφαρμογή διαφόρων συγκεντρώσεων O_2 (3%) και CO_2 (3%) σε θερμοκρασίες $20^\circ C$ και $10^\circ C$.

Figure 3. Variations in O_2 , CO_2 and C_2H_4 concentrations over the storage of tomatoes at $20^\circ C$ and $10^\circ C$, following enclosure in Cling film with initial O_2 and CO_2 concentrations of 3%.

Cling και RMF-A (Πίνακας II).

Στα πειράματα που έγινε εφαρμογή χαμηλού O_2 (3%) αμέσως μετά την συσκευασία τους με τη μεμβράνη Cling, οι καρποί ανέπτυξαν πάντα σημαντικά λιγότερο χρώμα από όλες τις άλλες μεταχειρίσεις, ενώ αντίθετα στον μάρτυρα οι καρποί είχαν τις μεγαλύτερες τιμές χρώματος (Πίνακας III). Οι καρποί που απλώς καλύφθηκαν με τη μεμβράνη Cling (αέρας) είχαν ενδιάμεσες τιμές χρώματος με σημαντικές όμως διαφορές από τις προαναφερθείσες μεταχειρίσεις. Η εφαρμογή αυξημένης συγκέντρωσης CO_2 (3%) κατά την έναρξη των πειραμάτων, είχε σαν αποτέλεσμα οι καρποί να αναπτύξουν σημαντικά λιγότερο χρώμα από τους καρπούς που απλώς καλύφθηκαν με μεμβράνη Cling μόνο σε μια περίπτωση συντήρησης στους $10^\circ C$ για 8 ημέρες (Πίνακας III). Ο συνδυασμός χαμηλών συγκεντρώσεων O_2 (3%) και υψηλών CO_2 (3%), έδωσε τιμές χρώματος καρπών ανάλογες εκείνων που αποθηκεύτηκαν σε χαμηλό O_2 (3%) χωρίς την προσθήκη CO_2 (Πίνακας III).

Πίνακας I. Συνεκτικότητα (ΑΣΣ) και χρώμα καρπών μετά τη συντήρησή τους στους 20°C για 6 ημέρες και στους 10°C για 9 ημέρες καλυμμένων με διάφορους τύπους μεμβρανών πολυμερών (Cling, ES 25, P. Cling).

Table I. Firmness (ΑΣΣ) and color of tomatoes after storage at 20°C and 10°C for 6 and 9 days respectively,

20°C 6 ημέρες		
	Συνεκτικότητα (ΑΣΣ)* (mm)	Χρώμα**
Μάρτυρας	2,86 a***	49.13 a
Cling	5.89 b	-15.54 c
ES 25	5.02 b	8.67 b
P. Cling	6.69 c	-22.74 c
10°C 9 ημέρες		
	Συνεκτικότητα (ΑΣΣ)* (mm)	Χρώμα**
Μάρτυρας	3.46 a	24.30 a
Cling	3.97 b	9.58 b
ES 25	3.78 b	24.11 a
P. Cling	3.82 b	4.25 b

Αρχική ΑΣΣ 10,28 Αρχικό χρώμα -26,91

* Αντίσταση στη συμπίεση της σάρκας υπό το βάρος 1kg για 3'' (10/συμπίεση σε mm)

** Οι τιμές χρώματος προκύπτουν από τη σχέση $2000 a / L\sqrt{a^2+b^2}$ όπως μετρήθηκαν σε χρωματόμετρο Hunterlab

*** Μέσοι όροι στην ίδια στήλη και για τις ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου συντήρησης που έχουν τον ίδιο δείκτη δεν διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά ($P > 0,05$).

Πίνακας II. Συνεκτικότητα (ΑΣΠ) και χρώμα καρπών τομάτας μετά την συντήρησή τους στους 20°C για 6 ημέρες και στους 10°C για 8 ημέρες καλυμμένων με διάφορους τύπους μεμβρανών πολυμερών (Vita, Cling, RMF-A).

Table II. Firmness (ΑΣΠ) and color of tomatoes after storage at 20°C and 10°C for 6 and 8 days respectively, following enclosure in various plastic films (Vita, Cling, RMF-A).

20°C 6 ημέρες		
	Συνεκτικότητα (ΑΣΣ)* (mm)	Χρώμα**
Μάρτυρας	5.30 a	13.23 a
Vita	6.70 b	-19.70 b
Cling	6.50 b	-19.90 b
RMF - A	8.10 c	-21.37 b
10°C 8 ημέρες		
	Συνεκτικότητα (ΑΣΣ)* (mm)	Χρώμα**
Μάρτυρας	5.51 a	-4.83 a
Vita	7.26 b	-15.32 b
Cling	6.70 b	-17.91 b
RMF - A	6.64 b	-15.30 b

Αρχική ΑΣΣ 10,73 Αρχικό χρώμα -28,51

* Αντίσταση στη συμπίεση της σάρκας υπό το βάρος 1kg για 3'' (10/συμπίεση σε mm)

** Οι τιμές χρώματος προκύπτουν από τη σχέση $2000 a / \sqrt{a^2+b^2}$ όπως μετρήθηκαν σε χρωματόμετρο Hunterlab

*** Μέσοι όροι στην ίδια στήλη και για τις ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου συντήρησης που έχουν τον ίδιο δείκτη δεν διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά ($P > 0,05$).

Συνεκτικότητα

Σε όλα τα πειράματα, τόσο στους 10°C όσο και στους 20°C οι καρποί του μάρτυρα είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες τιμές συνεκτικότητας απ' ότι οι καρποί που καλύφθηκαν με τις διάφορες μεμβράνες. (Πίνακες I, II). Εξ άλλου, μετά την συντήρηση στους 20°C για 6 ημέρες, οι καρποί που καλύφθηκαν με τη μεμβράνη P. Cling ήταν σημαντικά συνεκτικότεροι έναντι των καρπών που καλύφθηκαν με τις μεμβράνες

Πίνακας III. Συνεκτικότητα (ΑΣΣ) και χρώμα καρπών τομάτας μετά την συντήρησή τους σε θερμοκρασίες 20°C για 6 ημέρες και 10°C για 8 ημέρες καλυμμένων με μεμβράνη τύπου Cling και με αρχική εφαρμογή διαφόρων συγκεντρώσεων O₂ (3%) και CO₂ (3%).

Table III. Firmness (ΑΣΣ) and color of tomatoes after storage for 6 and 8 days at 20 °C and 10°C respectively, following enclosure in Cling film and with initial O₂ and CO₂ concentrations of 3%.

20°C 6 ημέρες		
	Συνεκτικότητα (ΑΣΣ)* (mm)	Χρώμα**
Μάρτυρας	3.50 a***	41.44 a
O ₂ 3%	5.63 d	-21.72 c
CO ₂ 3%	4.63 b	-14.07 b
O ₂ 3% + CO ₂ 3%	5.84 d	-21.64 c
Αέρας	5.04 c	-16.30 b
10°C 8 ημέρες		
	Συνεκτικότητα (ΑΣΣ) (mm)	Χρώμα
Μάρτυρας	5.08 a	-2.91 a
O ₂ 3%	6.74 b	-23.73 d
CO ₂ 3%	6.25 b	-15.55 b
O ₂ 3% + CO ₂ 3%	7.37 c	-20.97 d
Αέρας	6.31 b	-17.54 c

Αρχική ΑΣΣ 8,94 Αρχικό χρώμα -26.44

* Αντίσταση στη συμπίεση της σάρκας υπό το βάρος 1kg για 3" (10/συμπίεση σε mm)

** Οι τιμές χρώματος προκύπτουν από τη σχέση $2000 a / L \sqrt{a^2 + b^2}$ όπως μετρήθηκαν σε χρωματομέτρο Hunterlab

*** Μέσοι όροι στην ίδια στήλη και για τις ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου συντήρησης που έχουν τον ίδιο δείκτη δεν διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά (P > 0,05).

Cling και ES 25, ενώ η μεμβράνη RMF-A έδωσε σημαντικά συνεκτικότερους καρπούς από τις μεμβράνες Cling και Vita. Στους 10°C δεν προέκυψαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων μεμβρανών ως προς την συνεκτικότητα των καρπών.

Η εφαρμογή χαμηλών συγκεντρώσεων O₂ (3%) αμέσως μετά την κάλυψη με την μεμβράνη Cling είχε ως αποτέλεσμα μετά την συντήρηση στους 20°C οι καρποί να είναι σημαντικά συνεκτικότεροι εκείνων που απλώς καλύφθηκαν με την μεμβράνη Cling (αέρας) (Πίνακας III). Στους 10°C οι καρποί του μάρτυρα είχαν πάντα σημαντικά μικρότερες τιμές συνεκτικότητας από τις άλλες μεταχειρίσεις.

Η εφαρμογή αυξημένων συγκεντρώσεων CO₂ (3%) κατά την έναρξη των πειραμάτων, δεν έδωσε πάντα θετικά αποτελέσματα στην διατήρηση της συνεκτικότητας των καρπών συγκριτικά με τις μεταχειρίσεις της απλής κάλυψης με τη μεμβράνη Cling (Πίνακας III).

Η συνδυασμένη εφαρμογή χαμηλής συγκέντρωσης O₂ (3%) και αυξημένης CO₂ (3%) έδωσε τους πλέον συνεκτικούς καρπούς (Πίνακας III) και μάλιστα στους 10°C η συνεκτικότητα των εν λόγω καρπών ήταν σημαντικά μεγαλύτερη έναντι όλων των καρπών των άλλων μεταχειρίσεων.

Σάκχαρα - Διαλυτά στερεά

Τα ανάγοντα σάκχαρα είχαν τιμές με μικρές διαφορές μεταξύ των διαφόρων μεταχειρίσεων, χωρίς να ακολουθούν κάποια σταθερή διαφοροποίηση μεταξύ του μάρτυρα ή των άλλων επεμβάσεων, τόσο στους 10°C όσο και στους 20°C (Πίνακας IV).

Τα ανάγοντα σάκχαρα δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στους 10°C ενώ στους 20°C οι καρποί που αποθηκεύτηκαν σε ατμόσφαιρες χαμηλής συγκέντρωσης O₂ σε συνδυασμό με υψηλή συγκέντρωση CO₂ (3% O₂ + 3% CO₂) είχαν σημαντικά λιγότερα σάκχαρα από τις άλλες μεταχειρίσεις (Πίνακας IV). Επιπλέον οι καρποί που αποθηκεύτηκαν σε ατμόσφαιρες υψηλού CO₂ (3%) είχαν χαμηλότερα επίπεδα σακχάρων από το μάρτυρα (αέρας). Αντίθετα δεν καταγράφηκε καμία σημαντική διαφορά στις τιμές των συνολικών διαλυτών στερεών, καθώς επίσης του pH και της ογκομετρούμενης οξύτητας (αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται).

Σε υποκειμενικές δοκιμές, τόσο οι καρποί του μάρτυρα όσο και οι καρποί που καλύφθηκαν με τις μεμβρά-

Πίνακας IV. Συνολικά διαλυτά στερεά ($^{\circ}$ Brix) και ανάγοντα σάκχαρα, μετά την συντήρησή τους στους 20°C για 6 ημέρες και στους 10°C για 8 ημέρες, καλυμμένων με μεμβράνη τύπου Cling και με αρχική εφαρμογή διαφόρων συγκεντρώσεων O₂ (3%) και CO₂ (3%).

Table IV. Total soluble solids ($^{\circ}$ Brix) and reducing sugars during storage for 6 and 8 days at 20 °C and 10°C respectively, following enclosure in Cling film and with initial O₂ and CO₂ concentrations of 3%.

	20°C, 6 ημέρες			10°C, 8 ημέρες		
	Συνολ. Στερεά ($^{\circ}$ Brix)	Διαλ.	Αναγ. Σάκχαρα (g/100ml χυμού)	Συνολ. Στερεά ($^{\circ}$ Brix)	Διαλ.	Αναγ. Σάκχαρα (g/100ml χυμού)
Μάρτυρας		31,40 a*	3,90 a	30,60 a		3,17 a
CO ₂ (3%)	29,77 a		3,67 b	29,60 a		3,27 a
O ₂ (3%) + CO ₂ (3%)	29,37 a		3,36 c	29,67 a		3,26 a

* Μέσοι όροι στην ίδια στήλη και για τις ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου συντήρησης που έχουν τον ίδιο δείκτη δεν διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά (P > 0,05).

νες ES 25, Cling και Vita είχαν αρκετά ως πολύ καλά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, ενώ οι καρποί που καλύφθηκαν με τις μεμβράνες P. Cling και RMF-A υπολείπονταν όλων των άλλων καρπών (Καπότης 2001).

Η κάλυψη καρπών με μεμβράνες πολυμερών μικρής διαπερατότητας, επίσης είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη πολύ υψηλής σχετικής υγρασίας εντός των κυπέλλων, έτσι ώστε κατά κανόνα να παρατηρείται συμπίκνωση υδρατμών πάνω στους καρπούς καθώς και στην εσωτερική επιφάνεια των υλικών συσκευασίας. Οι συνθήκες αυτές σε συνδυασμό με τις σχετικά υψηλές θερμοκρασίες ήταν ιδιαίτερα ευνοϊκές για την ανάπτυξη μυκήτων ιδιαίτερα στους καρπούς που καλύφθηκαν με μεμβράνες P. Cling και RMF-A. Ανομοίωμορφη ωρίμανση παρατηρήθηκε κυρίως στο πρώτο πείραμα (Καπότης 2001).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σε όλα τα πειράματα η αναπνοή των καρπών είχε ως αποτέλεσμα την σταδιακή μείωση της συγκέντρωσης του O₂ ή τη διατήρησή της σε χαμηλά επίπεδα στα πειράματα που εφαρμοζόταν εξαρχής χαμηλό O₂ ενώ το επίπεδο του CO₂ ή C₂H₄ εντός των μικροσυσκευασιών αυξήθηκε ή παρέμεινε στα αρχικά του επίπεδα. Η σχετική σταθεροποίηση της συγκέντρωσης των ως άνω αερίων 2 - 4 ημέρες μετά την έναρξη της συντήρησης, είχε ως αποτέλεσμα την δημιουργία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με θετικά αποτελέσματα όσον αφορά την επιβράδυνση της ωρίμανσης των καρπών, τη διατήρηση της ποιότητάς τους και την επιμήκυνση του χρόνου συντήρησής τους. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν βρεθεί και από προηγούμενους ερευνητές (Geeson κ.α. 1985, Hobson and Burton 1989, Nakhasi κ.α. 1991), αν και δεν είναι εύκολη η σύγκριση των συγκεντρώσεων O₂ και CO₂ λόγω του ότι έχουν χρησιμοποιηθεί διαφορετικές συσκευασίες τόσο ως προς τα μέσα συσκευασίας όσο και ως προς την ποσότητα του προϊόντος και την επιφάνεια των μεμβρανών. Είναι ωστόσο φανερό ότι οι μεμβράνες με μεγαλύτερο πάχος όπως το P. Cling είχαν μικρότερη διαπερατότητα και έδωσαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις O₂ και υψηλότερες CO₂ εντός των μικροσυσκευασιών. Αντίθετα, οι μεμβράνες ES 25 και Vita που ήταν λεπτότερες και είχαν μεγάλη διαπερατότητα, παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις O₂ και χαμηλότερες τιμές CO₂.

Επιπλέον, η εφαρμογή χαμηλής συγκέντρωσης O₂, (3%) κατά την έναρξη της συντήρησης, είχε σαν αποτέλεσμα την δραστική μείωση της έκλυσης αιθυλενίου και την περαιτέρω επιβράδυνση της ανάπτυξης του κόκκινου χρώματος και του μαλακώματος των καρπών. Τα αποτελέσματα αυτά, επιβεβαιώνουν τη στενή σχέση μεταξύ έκλυσης αιθυλενίου και πορείας ωρίμανσης των καρπών που έχει υποστηριχθεί από διάφορους ερευνητές (Hobson κ.α. 1984, Geeson κ.α. 1986).

Η έλλειψη σημαντικών διαφοροποιήσεων στις συγκεντρώσεις O₂, CO₂ και C₂H₄ μεταξύ των καρπών που συντηρήθηκαν στους 10°C και στους 20°C, παρά τους υψηλότερους ρυθμούς αναπνοής και της σημαντικότερης ωρίμανσης των καρπών στην υψηλή θερμοκρασία, θα μπορούσε να αποδοθεί αφ' ενός μεν στην διαπερατότητα των

πλαστικών μεμβρανών που δεν επιτρέπει την συνεχή και αθροιστική συγκέντρωση του CO₂ και του C₂H₄ ή τον εκμηδενισμό της συγκέντρωσης του O₂, αφ' ετέρου δε στην αυξημένη διαπερατότητα των μεμβρανών στους 20°C.

Το μαλάκωμα των καρπών και το χρώμα αποτελούν τα κυριότερα χαρακτηριστικά της ωρίμανσης. Γενικά η συνεκτικότητα στους 10°C ήταν υψηλότερη και το χρώμα των καρπών λιγότερο κόκκινο από ότι στους 20°C. Αυτό οφείλεται προφανώς στο ότι στις χαμηλές θερμοκρασίες παρατηρείται μείωση των ενζυμικών διεργασιών και άλλων αλλαγών που οδηγούν στο μαλάκωμα των καρπών, στην αλλαγή χρώματος από πράσινο σε κόκκινο και στην ωρίμανση. Επιπλέον, κατά την συντήρηση στους 20°C οι μεμβράνες πολυμερών που είχαν μικρότερη διαπερατότητα και ως εκ τούτου ταχύτερη και εντονότερη μείωση της συγκέντρωσης του O₂, όπως οι P. Cling και RMF-A, έδωσαν σημαντικά συνεκτικότερους και λιγότερο κόκκινους καρπούς έναντι των μεμβρανών με μεγαλύτερη διαπερατότητα. Εξάλλου, η συνδυασμένη εφαρμογή χαμηλής συγκέντρωσης O₂ (3%) και αυξημένης συγκέντρωσης CO₂ (3%) κατά την έναρξη της συντήρησης, έδειξε ότι ελέγχει αποτελεσματικότερα την ωρίμανση και έδωσε τους πλέον συνεκτικούς καρπούς.

Τα αποτελέσματα τόσο στις τιμές των αναγόντων σακχάρων όσο και εκείνων των συνολικών διαλυτών στερεών, του pH και της ολικής ογκομετρούμενης οξύτητας, δείχνουν ότι η εφαρμογή χαμηλής συγκέντρωσης O₂ ή υψηλής συγκέντρωσης CO₂ ή και ο συνδυασμός τους, δεν ελέγχουν τη διάσπαση του αμύλου και την συγκέντρωση των σακχάρων στους καρπούς κατά την αποθήκευσή τους και δεν επηρεάζουν την οξύτητα.

Οι Goodenough and Thomas (1981) βρήκαν επίσης ότι οι ελεγχόμενες ατμόσφαιρες δεν είχαν σημαντική επίδραση στον μεταβολισμό του αμύλου και στις συγκεντρώσεις των μονοσακχαριτών. Σε πιο πρόσφατες μελέτες αναφέρονται επίσης ασήμαντες αλλαγές στις τιμές των διαλυτών στερεών κατά την συντήρηση των καρπών σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες (Combrink κ.α. 1996), όπως και σε ολιγοήμερες επεμβάσεις με πολύ χαμηλή συγκέντρωση O₂ (0,5%, 1%) ή πολύ υψηλή συγκέντρωση CO₂ (8%) (Klieber κ.α. 1996, Ratanachinakorn κ.α. 1997).

Επίσης, επιβεβαιώνονται και εδώ οι ισχυρισμοί των Goodenough κ.α. (1982), ότι ο μεταβολισμός των οργανικών οξέων εξακολουθεί να γίνεται κατά την συντήρηση των καρπών σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα, όπως και στον μάρτυρα, σε αντίθεση με ότι συμβαίνει στην αλλαγή χρώματος και στο μαλάκωμα των καρπών. Επιπλέον, οι Ratanachinakorn κ.α. (1997), υποστήριξαν ότι η ογκομετρούμενη οξύτητα και το pH δεν επηρεάζονται από την εφαρμογή χαμηλής συγκέντρωσης O₂ ή υψηλής CO₂, ούτε από το στάδιο ωριμότητας των καρπών.

Η κάλυψη μικροσυσκευασιών τομάτας με επιλεγμένες μεμβράνες πολυμερών μερικής διαπερατότητας που δημιουργούν τροποποιημένες ατμόσφαιρες με σχετικά χαμηλό O₂ (4-8%) και υψηλό CO₂ (2-5%) χωρίς συσσώρευση υπερβολικής σχετικής υγρασίας μπορεί να δώσει σοβαρά πλεονεκτήματα στην συντήρηση και διακίνηση του προϊόντος. Η τεχνική αυτή άρχισε ήδη να εφαρμόζεται εμπορικά τα τελευταία χρόνια. Η καθυστέρηση της ωρίμανσης και η αύξηση της μετασλλεκτικής ζωής των καρπών έστω και για λίγες ημέρες χωρίς σοβαρή υποβάθμιση της ποιότητάς τους, μπορεί να συμβάλλει αποτελεσματικά στην επιτυχή διακίνηση και εμπορία του προϊόντος. Καλύτερα αποτελέσματα θα μπορούσαν να επιτευχθούν εάν εξασφαλισθεί δυνατότητα εφαρμογής χαμηλού O₂ (3%) και υψηλού CO₂ (3%) αμέσως μετά την συσκευασία κατά την έναρξη της συντήρησης. Η τεχνική αυτή θα μπορούσε να αποτελέσει μια πολύ καλή πρακτική ακόμα και κατά τη θερινή περίοδο που οι υψηλές θερμοκρασίες και η χαμηλή σχετική υγρασία δημιουργούν προβλήματα λόγω της ταχείας ωρίμανσης και του μαλακώματος των καρπών, καθώς και της υποβάθμισης της ποιότητάς τους ως συνέπεια της ταχείας απώλειας νερού.

Effect of permeability of polymer films and the initial concentrations of oxygen and carbon dioxide in modified atmosphere storage of tomatoes

G. Kapotis¹, E. Konstantopoulou¹, G. Salahas¹, K. Akoumianakis², H. Passam², Ch. Olympios²

Summary

Enclosure of tomatoes in five plastic films with different permeability in combination with a low concentration of O₂ (4-8%) and a high concentration of CO₂ (2-5%) delayed ripening and so increased the post-harvest life of fruits. The film with the lowest permeability (P.Cling) achieved the most effective control of color

¹ T.E.I. of Messolochi, Department of Greenhouse Crops and Floriculture

² Agriculture University of Athens, Lab of Vegetable Crops

development and softening, but resulted in fungal growth and decay due to the high relative humidity within the container. The films FS25 and Vita, which had a greater permeability, also resulted in infections and had relatively little control of the ripening processes of the fruit. Cling film, with intermediate permeability) satisfactorily controlled ripening parameters (color, softening etc.) without causing the excessive accumulation of humidity and infection by fungi. The application of a low concentration of O₂ (3%) at the start of storage increased the delay in the color development and softening, while at the same time reducing the production of endogenous ethylene. The addition of CO₂ (3%) delayed ripening, but to a lesser degree than low O₂.

Key words: plastic film, package, storage, tomato

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anderson, M.G. and Poapst, P.A., 1983. Effect of cultivar, modified atmosphere and rapessed oil on ripening and decay of mature green tomatoes. *Canad. J. P lant Sci.* 63: 509-514.
- Combrink, N.J.J., Hartmann, P.E.O. and Southwood, M.J., 1996. The effects of ripeness, packaging and cold storage treatments on the quality of tomatoes. *J. Southern African Soc. Hort. Sci.*, 6: 82-85.
- Dixon, T.J. and Hobson, G.E., 1984. A general method for the instrumental assessment of the color of tomato fruit during ripening. *J. Sci. Food Agric.*, 35: 1277-1281.
- Frezza, D., Moccia, S., Trincherro, G., Frascina, A., Chiesa, A. and Ben-Yehoshua, S., 1998. MAP: polyolefin and PVC films on the quality and shelf life of tomatoes. *Proceedings of the 14th International Congress on Plastics in Agriculture, Tel Aviv, Israel, March 1997*, pp. 513-520.
- Geeson, J.D., Browne, K.M., Maddison, K., Shepherd, J. and Guaraldi, F., 1985. Modified atmosphere packaging to extend the shelf-life of tomatoes. *J. Food Tech.*, 20, 339-349.
- Geeson, J.D., Browne, K.M. and Guaraldi F., 1986. The effects of ethylene concentration in controlled atmosphere storage of tomatoes. *Ann. Appl. Biol.*, 108: 605-610.
- Goodenough, P.W. and Thomas, T.H., 1981. Biochemical changes in tomatoes stored in modified gas atmospheres. I. Sugars and acids. *Ann. Appl. Biol.*, 98: 507-515
- Goodenough, P.W., Tucker, G.A., Grierson, D. and Thomas, T.H., 1982. Changes in color polygalacturonase monosaccharides and organic acids during storage of tomatoes. *Phytochemistry*, 21: 281-284.
- Hobson, G.E., 1981. The short-term storage of tomato fruit. *J. Hort. Sci.*, 56: 363-368.
- Hobson, G.E., 1987. Low-temperature injury and the storage of ripening tomatoes. *J. Hort. Sci.*, 62: 55-62.
- Hobson, G.E. and Burton, K.S., 1989. The application of plastic film technology to the preservation of fresh horticultural produce. *Prof. Hort.*, 3: 20-23
- Hobson, G.E., Harman, J.E. and Nichols, R., 1984. Ethylene and the control of tomato fruit ripening. In: *Ethylene: Biochemical, physiological and applied aspects* (Eds.: Fuchs, Y. and Chalutz, E.). Martinus Nijhoff/Dr W. Junk, The Hague, 281-289.
- Hobson, G.E., 1992. Slowing the dereriation of fruits and vegetables after harvest. *J. Biol. Educ*, 26:100-105.
- Jenkins W.A. and Harrington J. P. *Packaging foods with plastics*, Technomic Publishing Co. Inc. Basel.
- Kader, A.A., Zagori, D. and Kerbel, E.L., 1989. Modified atmosphere of fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Volume 28, Issue 1: 1-30.
- Καλότης Γ. 2001. Παράγοντες που επηρεάζουν την ωρίμανση και τη μετασυλλεκτική ζωή των καρπών της τομάτας. Διδακτορική διατριβή Γ.Π.Α. σελ. 197.
- Klieber, A., Ratanachinakorn, B. and Simons, D.H., 1996. Effect of low oxygen and high carbon dioxide on tomato cultivar "Bermuda" fruit physiology and composition. *Sci. Hort.*, 65: 251-261.
- Nakhasi, S., Schlimme, D. and Solomos, T., 1991. Storage potential of tomatoes harvested at the breaker stage using modified atmosphere packaging. *J. Food Sci.*, 56: 55-59.
- Ratanachinakorn, B., Klieber, A. and Simons, D.H., 1997. Effect of short-term controlled atmospheres and maturity on ripening and eating quality of tomatoes. *Postharv. Biol. Tech.*, 11: 149-154.
- Ryall, A.L. and Lipton, W.J., 1979. *Handling, transportation and storage of fruits and vegetables*. Vol. 1, Vegetables and Melons, 2nd ed., chap. 8. Avi Publishing Co., Westport, Connecticut, USA.
- Winsor, G.W. and Adams, P., 1976. Changes in the composition and quality of tomato fruit throughout the season. *Annu. Crops Res. Inst.* 1975, 134.

Αποτελεσματικότητα επιλογής στην ποικιλία κριθαριού «Αθηναίδα»

Σάββας Θ. Κοτζαμανίδης¹

Περίληψη

Οι σπόροι από τυχαία δειγματοληψία στάχων καλλιτερευτού της ποικιλίας κριθαριού «Αθηναίδα», αξιολογήθηκαν χωρίς να αναμειχθούν. Η φαινοτυπική επιλογή έγινε με βάση αγρονομικά χαρακτηριστικά. Τα πιο αξιόλογα φυτά συγκρίθηκαν την επόμενη χρονιά σε πυκνή σπορά. Τα έξι υλικά που προκρίθηκαν βάσει ορισμένων αγρονομικών χαρακτηριστικών, πλην απόδοσης, αξιολογήθηκαν για δύο χρόνια σε πειράματα με επαναλήψεις σε δύο τοποθεσίες. Δεν βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ως προς την απόδοση σε καρπό μεταξύ της «Αθηναίδας» (Μάρτυρας) και των έξι επιλογών της ούτε στους τέσσερις μεμονωμένους πειραματικούς ούτε στη συνδυασμένη ανάλυση. Προέκυψαν όμως ενδείξεις αλληλεπίδρασης γενοτύπου Χ τοποθεσία και γενοτύπου Χ έτος.

Συμπερασματικά μπορεί να λεχθεί ότι, με βάση τη μέθοδο επιλογής που χρησιμοποιήθηκε και τις συνθήκες διεξαγωγής του πειράματος, δεν προέκυψε να υπάρχουν γενετικά αξιοποιήσιμες διαφορές ως προς την απόδοση σε καρπό στην ποικιλία «Αθηναίδα» όπως αυτή διατηρείται στο Ινστιτούτο Σιτηρών. Προέκυψαν όμως ενδείξεις που δεν αποκλείουν την ύπαρξη τέτοιων διαφορών, οι οποίες θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν με εφαρμογή πιο αντικειμενικής επιλογής και πληρέστερης αξιολόγησης μεγαλύτερου αριθμού δυνητικών γενοτύπων.

Λέξεις κλειδιά: Γενετική παραλλακτικότητα, φαινοτυπική επιλογή, κριθάρι

Εισαγωγή

Το κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.) είναι ένα από τα αρχαιότερα καλλιεργούμενα σιτηρά. Καλλιεργείται λόγω της πρωιμότητάς του σε ένα μεγάλο εύρος από περιβάλλοντα και προσαρμόζεται από τον Ισημερινό μέχρι τη Σιβηρία και Νορβηγία. Στην Ελλάδα καλλιεργείται από τις βόρειες ορεινές και ημιορεινές έως και τις νότιες περιοχές καθώς και τα νησιά. Η παραγόμενη ποσότητα κριθαριού διατίθεται κυρίως στην κτηνοτροφία και ένα μέρος στη βυνοποιία (Υπουργείο Γεωργίας και ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. – Ινστιτούτο Σιτηρών 1991).

Όσον αφορά τις καλλιεργούμενες ποικιλίες στη χώρα μας οι περισσότερες είναι ξένης προέλευσης ενώ αρκετές είναι ελληνικές, δημιουργίες του Ινστιτούτου Σιτηρών και είναι δίστοιχες ποικιλίες που χρησιμοποιούνται κυρίως στη ζυθοποιία αλλά και ορισμένες για κτηνοτροφική χρήση. Η «Αθηναίδα» καλλιεργείται στη χώρα μας για κτηνοτροφική χρήση και κυρίως στην Κύπρο όπου καταλαμβάνει πάνω από το 90% της καλλιεργούμενης έκτασης. Η ποικιλία αυτή δημιουργήθηκε στην Ανωτάτη Γεωπονική Σχολή Αθηνών το 1936 από επιλογή σε ντόπιους πληθυσμούς κριθαριού. Είναι ποικιλία εξάστοιχη και προσαρμοσμένη κυρίως σε ξηροθερμικές και χαμηλής γονιμότητας περιοχές επιπλέον δε λόγω της μεγάλης της πρωιμότητας, μπορεί να καλλιεργηθεί ακόμη και σε ανοιξιάτικη σπορά. Η διατήρηση της ποικιλίας, που περιλαμβάνει τα στάδια του καλλιτερευτού, προβασιικού και βασικού σπόρου, γίνεται από το Ινστιτούτο Σιτηρών.

Γενετική παραλλακτικότητα σε καθαρές σειρές έχει αναφερθεί με βάση τη φαινοτυπική διαφοροποίηση των ατομικών φυτών από διάφορους ερευνητές, όπως την Fasoula (1990) στην ποικιλία μαλακού σίτου Siete Cerros, τον Tokatlidis (2000) σε καθαρές σειρές αραβοσίτου που απουσία ανταγωνισμού βρήκε παραλλακτικότητα ως προς την απόδοση και άλλα χαρακτηριστικά του φυτού και του σπάδικα. Ο ίδιος ερευνητής μαζί με άλλους (Tokatlidis κ. α. 2004) βρήκαν παραλλακτικότητα εφαρμόζοντας κυφελωτή επιλογή τα δύο πρώτα χρόνια μέσα στην ποικιλία μαλακού σίτου Νέστος σε 4 γνωρίσματα: απόδοση σε καρπό, περιεκτικότητα σπόρου σε πρωτεΐνη, διάκριση ισotόπων άνθρακα (Δ) και περιεκτικότητα σε τέφρα. Βρήκαν δύο οικογένειες που σε συνθήκες κανονικής σποράς υπερέιχαν σημαντικά της αρχικής ποικιλίας κατά 19 και 22% αντίστοιχα. Ακόμη γενετική παραλλακτικότητα έχει αναφερθεί από ερευνητές που εργάστηκαν με μοριακές τεχνικές, όπως είναι οι Zhang κ.α. (1995) που εργάστηκαν με καθαρές σειρές ηλιάνθου χρησιμοποιώντας RFLP

¹ ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. – Ινστιτούτο Σιτηρών 570 01 Θέση-Θεσσαλονίκη

ανάλυση, οι Olufowote κ.α. (1997) που στο ρύζι χρησιμοποίησαν RFLP και microsatellite ανάλυση. Οι Rasmusson και Philips (1997) σε ανασκόπησή τους αναφέρουν ότι το γενετικό υλικό συνεχώς αναδιοργανώνεται με διάφορους μηχανισμούς όπως ο ενδογονιδιακός ανασυνδυασμός, η άνιση ανταλλαγή μεταθετών στοιχείων και η μεθυλίωση του DNA. Οι Gethi κ.α. (2002) βρήκαν 4,6% γενετική παραλλακτικότητα με τη μοριακή τεχνική SSR (Simple sequent repeat) σε 6 καθαρές σειρές καλαμποκιού.

Η διαφανόμενη ενδοποικιλιακή παραλλακτικότητα οδήγησε τους Fasoula και Fasoula (2000) να προτείνουν τη χωρίς διακοπή επιλογή στην ποικιλία ώστε να αποφευχθεί ο βαθμιαίος εκφυλισμός και να αξιοποιηθεί η νεογενής παραλλακτικότητα (de novo variation).

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η μελέτη της γενετικής παραλλακτικότητας εντός της ποικιλίας κριθαριού «Αθηναΐδα» και η δυνατότητα αξιοποίησής της.

Υλικά και μέθοδοι

Το φθινόπωρο του 1995 από τα 3.500 στάχυα που χρησιμοποιήθηκαν για τη διατήρηση της ποικιλίας «Αθηναΐδα» (σπόρος καλλιτερευτή), λήφθηκαν τυχαία 140 και μετρήθηκαν χωριστά. Από αυτά τα 67, που είχαν περισσότερους από 40 κόκκους, θεωρήθηκαν ως δυνητικοί διαφορετικοί γενότυποι και αξιολογήθηκαν την καλλιεργητική περίοδο 1995-96. Χρησιμοποιήθηκε το R-67 κυψελωτό σχέδιο (Fasoulas, 1993) με 24 επαναλήψεις και απόσταση φυτού από φυτό 90 εκατοστά. Εξαιτίας μεγάλης απώλειας φυτών αλλά και μειωμένης απόδοσης των υπολοίπων λόγω της γενικότερης προσβολής από το έντομο ζάμπρο (*Zabrus tenebrioides*) δεν ήταν δυνατό να γίνει επιλογή σύμφωνα με την κυψελωτή μέθοδο και αντ'αυτής πάθρηκε το πιο υψηλο-ποδοτικό φυτό από κάθε μία από τις 67 οικογένειες, δηλαδή συνολικά κρατήθηκαν 67 φυτά.

Οι 67 δυνητικοί γενότυποι και ο σπόρος καλλιτερευτή αξιολογήθηκαν το 1996-97 σε αγρό παρατηρήσεων χωρίς επαναλήψεις. Έτσι ο σπόρος του κάθε φυτού ανάλογα με την ποσότητα (που ήταν αρκετά μικρή) σπάρθηκε σε πυκνή σπορά σε 3 έως 6 γραμμές των τριών μέτρων και απόσταση μεταξύ των γραμμών 0,25 μ.. Μαζί σπάρθηκε σε 6 γραμμές και ο σπόρος καλλιτερευτή που είχε παραχθεί κατά την καλλιεργητική περίοδο 1995-96 από το Ι.Σ.

Η αξιολόγηση των 67 δυνητικών γενοτύπων έγινε με βάση τη γενική αγρονομική εικόνα: αδελφωμα, ημερομηνία ξεσταχιάσματος, μεγάλοι και ομοιόμορφοι στάχεις, ύψος, αντοχή στο πλάγιασμα και τις ασθένειες. Σύμφωνα με τα προηγούμενα χαρακτηριστικά επιλέγησαν έξι γενότυποι που στη συνέχεια θα αναφέρονται ως «επιλογές». Οι επιλογές και ο σπόρος καλλιτερευτή του Ι.Σ. (1995-96) ως μάρτυρας αξιολογήθηκαν το καλλιεργητικό έτος 1997-98 σε δύο τοποθεσίες, στο αγρόκτημα του Ι.Σ. στη Θέσμη και τον Άγιο Μάμα στη Χαλκιδική προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της επιλογής. Η πειραματική διάταξη ήταν τυχαιοποιημένες πλήρεις ομάδες (Randomized complete blocks) σε τέσσερις επαναλήψεις. Κάθε πειραματικό τεμάχιο είχε επτά γραμμές των δύο μέτρων, από τις οποίες συγκομιζόταν οι ενδιάμεσες πέντε. Η αξιολόγηση εναλλάχθηκε και το επόμενο έτος (1998-99) στις ίδιες τοποθεσίες, με μόνη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκε και ένας δεύτερος μάρτυρας, ο βασικός σπόρος «Αθηναΐδας» της σποροπαραγωγής του 1998.

Έγινε στατιστική ανάλυση χωριστά για κάθε έτος και τοποθεσία και συνδυασμένη για τις έξι επιλογές και τον κοινό μάρτυρα στις δύο τοποθεσίες τα δύο καλλιεργητικά έτη. Ο διαχωρισμός των μέσων όρων για απόδοση έγινε με το κριτήριο Duncan.

Αποτελέσματα και συζήτηση

Όπως αναφέρθηκε στα Υλικά και Μέθοδοι η εργασία αυτή στο πρώτο έτος ξεκίνησε με τη σπορά σπόρου καλλιτερευτή σε αραιή σπορά. Προτιμήθηκε ο τρόπος αυτός για να υπάρχει αφενός μεγαλύτερη διαφοροποίηση των φυτών και τα φυτά να σχηματίσουν πολλά αδέρφια ώστε να έχουν μεγάλες αποδόσεις για να συνεχισθεί η ατομική επιλογή την επόμενη χρονιά και αφετέρου να ελεγχθεί καλύτερα το περιβάλλον με πολλές επαναλήψεις σε έλλειψη ανταγωνισμού (Fasoulas, 1993). Εξ'άλλου εργασίες τα τελευταία έτη δείχνουν τη σημασία της απόδοσης των ατομικών φυτών απουσία ανταγωνισμού σαν ένα συστατικό του παραγωγικού δυναμικού της καλλιέργειας (Yan και Wallace 1995, Duvick 1997, Fasoula και Fasoula 1997 a,b).

Εξαιτίας όμως της μεγάλης προσβολής από το ζάμπρο δεν μπόρεσε να γίνει επιλογή με την κυψελωτή μέθοδο. Έτσι, το επόμενο έτος λόγω της μικρής ποσότητας σπόρου που σχηματίστηκε από την προσβολή όλων των φυτών, πάθρηκαν τα πιο αποδοτικά φυτά από κάθε οικογένεια για να συνεχίσουν να μελετηθούν φαινο-

τυπικά σε αγρό παρατηρήσεων χωρίς επαναλήψεις μαζί με τον μάρτυρα. Γιαυτό το λόγο δεν μπόρεσαν να γίνουν πειράματα με επαναλήψεις ως προς την απόδοση και ήταν πλέον δύσκολο να εντοπισθεί αργότερα παραλλακτικότητα μέσα στην ποικιλία αφού δεν μπόρεσαν να παρθούν όλα εκείνα τα μέτρα που εξουδετερώνουν την αρνητική επίδραση της ετερογένειας του εδάφους της αλληλεπίδρασης γενοτύπου Χ περιβάλλον και του ανταγωνισμού. Στη συνέχεια τα επιλεγέντα μόνο με φαινοτυπική εκτίμηση 6 υλικά δοκιμάστηκαν σε πειράματα που εγκαταστάθηκαν για δύο συνεχόμενα έτη σε δύο τοποθεσίες και προέκυψαν τα ακόλουθα αποτελέσματα:

Από τη στατιστική ανάλυση που έγινε για το πρώτο έτος (1997-98) εγκατάστασης του πειράματος, σύμφωνα με τον Πίνακα Ι, στο αγρόκτημα του Ι.Σ. δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ως προς τα εξεταζόμενα γενετικά υλικά. Αντιθέτως στην τοποθεσία του «Αγίου Μάμα» παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, και σύμφωνα με την κατάταξη των αποδόσεων των υλικών (Πίνακας ΙΙ) τα υπ' αριθμόν 2, 3 και 7 υλικά υπερέχον από το 6 υλικό. Ο μάρτυρας βρέθηκε στην 5η θέση χωρίς να διαφέρει σημαντικά από τα άλλα υλικά. Πάντως, αν και μη σημαντικά διακρίθηκαν τα υλικά 2,3,7 που υπερέχον από τον μάρτυρα (1) σε ποσοστό 12, 43%, 11,56% και 6,72% αντίστοιχα, στοιχείο που θα μπορούσε να θεωρηθεί ως ένδειξη γενετικής παραλλακτικότητας. Αν και το στοιχείο της ένδειξης δίνεται με επιφύλαξη, γιατί στην εργασία αυτή δεν μπόρεσαν να παρθούν όλα εκείνα τα μέτρα που εξουδετερώνουν την αρνητική επίδραση της ετερογένειας του χωραφιού αφού δεν έγινε πειραματισμός με επαναλήψεις για απόδοση.

Πίνακας Ι. Ανάλυση παραλλακτικότητας των επιλογών που προήλθαν από την «Αθηνάϊδα» για τα καλλιεργητικά έτη 1997-98 και 1998-99

Table I. Variability analysis of the selection resulting from "Athinaida" during the cultivated years 1997-98 and 1998-99

		Καλλιεργητικό έτος 1997-98			Καλλιεργητικό έτος 1998-99		
Τοποθεσία	Πηγή	B.E.	M.T.	CV%	B.E.	M.T.	CV %
Κεντρικό	Γενότυποι	6	30815,47	14,2	7	57294,64**	8,7
Αγ. Μάμας	Γενότυποι	6	25564,28*	7,8	7	53662,05	7,9

* Στατιστικά σημαντικές διαφορές για επίπεδο 0.05

** » » » » » 0.01

Στο δεύτερο καλλιεργητικό έτος (1998-99) εγκατάστασης του πειράματος με ένα μάρτυρα επιπλέον βρέθηκαν σημαντικές διαφορές για τα εξεταζόμενα υλικά μόνο στο αγρόκτημα του Ι.Σ. (Πίν. Ι). Τα στοιχεία αυτά υποδηλώνουν υπαρκτή αλληλεπίδραση γενοτύπου Χ τοποθεσίας που ανατρέπει την κατάταξη των επιλογών. Αυτό επιβεβαιώνεται από τα δεδομένα του Πίνακα ΙΙ όπου σύμφωνα με την κατάταξη η επιλογή 6 από τελευταία στον Άγιο Μάμα το 1998 βρέθηκε πρώτη στο Ι. Σ. το 1999, ενώ η αντίθετη αντιστροφή παρατηρήθηκε και για την επιλογή 3 που από 2^η βρέθηκε τελευταία. Επιπλέον από τη στατιστική ανάλυση φαίνεται ότι οι επιλογές δεν διέφεραν από την ποικιλία Αθηνάϊδα (μάρτυρας). Η στατιστικώς σημαντική υστέρηση του Μάρτυρα 2 (Αθηνάϊδα 98) έναντι του Μάρτυρα 1 (Αθηνάϊδα) πρέπει να αποδοθεί, στο πειραματικό σφάλμα το οποίο πιθανότατα συγκάλυψε και τυχόν πραγματικές διαφορές μεταξύ των γενοτύπων.

Από τη συνδυασμένη ανάλυση (Πίνακας ΙΙΙ) επιβεβαιώθηκε ότι η μέθοδος που εφαρμόστηκε για την επιλογή μέσα στην ποικιλία δεν επέτρεψε να εντοπιστούν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επιλογών της Αθηνάϊδας. Άλλοι ερευνητές βρήκαν σε διάφορες καλλιέργειες παραλλακτικότητα μέσα στις ποικιλίες τόσο στην απόδοση όσο και σε άλλα χαρακτηριστικά όπως είναι οι Fasoula (1990), Zhang κ.α. (1995), Olufowote κ.α. (1997), Tokatlidis (2000), Gethi κ.α. (2002), Tokatlidis κ.α. (2004). Πιθανώς να ήταν άλλα τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής αν όπως είχε προγραμματισθεί γινόταν τα 2 πρώτα χρόνια κυψελωτή επιλογή και δεν είχε συμβεί η μεγάλη προσβολή από το ζάμπρο. Την υπόθεση αυτή επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματα

Πίνακας II. Κατάταξη επιλογών «Αθηναΐδας» και των μαρτύρων σύμφωνα με την απόδοση σε καρπό
Table II. Rating of selections of «Athenaida» and of the checks according to their grain yield

Επιλογές	Απόδοση σε καρπό Άγιος Μάμας (1997-98) (γρ.)	Επιλογές	Απόδοση σε καρπό Ινστ. Σιτηρών(1998-99) (γρ.)
Επιλογή - 2	1.293 A	Επιλογή - 6	1.584 A
Επιλογή - 3	1.283 A	Επιλογή - 7	1.508 AB
Επιλογή - 7	1.225 A	Επιλογή - 5	1.478 AB
Επιλογή - 4	1.170 AB	Επιλογή - 2	1.470 AB
Αθηναΐδα-1 (Μάρτυρας)	1.150 AB	Αθηναΐδα - 1 (Μάρτυρας)	1.440 AB
Επιλογή - 5	1.143 AB	Επιλογή - 4	1.373 BC
Επιλογή - 6	1.073 B	Επιλογή - 3	1.331 BC
		Αθηναΐδα - 8 (Μάρτυρας)	1.198 C

Μέσοι όροι που φέρουν το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά για $p < 0.05$ (1997-98) και $p < 0.01$ (1998-99) σύμφωνα με το κριτήριο Duncan.

Πίνακας III. Συνδυασμένη ανάλυση παραλλακτικότητας
Table III. Combined variability analysis

Πηγή	ΒΕ	ΜΤ
Έτη	1	7,229 **
Τοποθεσίες	1	4,925 **
Έτη X Τοποθεσίες	1	9,562 **
Επανάληψεις (Τοποθ. X Έτη)	12	0,050
Γενετικά υλικά	6	0,075
Έτη X Γενετ. υλικά	6	0,061
Τοποθ. X Γενετ. υλικά	6	0,157 *
Έτη X Τοποθ. X Γενετ. υλικά	6	0,022
Σφάλμα	72	0,055
		CV% = 10,6

* Στατιστικά σημαντικές διαφορές για επίπεδο 0,05

** » » » » » 0,01

άλλων ερευνητών (Tokatlidis κ.α. 2004) που εφαρμόζοντας κυψελωτή επιλογή τα 2 πρώτα χρόνια μέσα στην ποικιλία μαλακού σίτου Νέστος βρήκαν παραλλακτικότητα και έδειξαν ότι η ενδοποικιλιακή παραλλακτικότητα είναι αξιοποιήσιμη ώστε να αναβαθμισθεί τελικά η παραγωγικότητα μιας ποικιλίας.

Συμπερασματικά η εργασία αυτή με βάση τη μέθοδο επιλογής που χρησιμοποιήθηκε και γενικότερα τις συνθήκες διεξαγωγής του πειράματος εκτιμάται ως μία πρώτη προσέγγιση στη μελέτη της γενετικής παραλλακτικότητας που υπάρχει μέσα στην ποικιλία κριθαριού «Αθηναΐδα».

Efficiency of selection in the barley variety "Athenaida"**Savas Th. Kotzamanidis¹****Abstract**

A random sample of breeder's spikes of the variety "Athenaida" were collected and the plants originating from the seeds of each spike were evaluated. Phenotypic selection was applied according to the agronomic characteristics. The most remarkable plants were evaluated in the next year at high density. The six materials which were selected according to certain agronomic characteristics (yield was excluded) were evaluated in RCB for two years at two locations. There were no statistically significant differences for grain yield among the variety "Athenaida" (check) and the 6 selections neither in the 4 isolated trials nor in the combined analysis. However, there were indications for genotype X location and genotype X year interaction.

Based on the selection method applied and the trial conditions used, it could be concluded that there is no exploitable genetic variation for grain yield in the variety "Athenaida" as it is maintained at the Cereal Institute. There were indications, however, which do not exclude such differences. They could be revealed after application of a more objective selection and the study of a greater number of possible genotypes.

Key words: Genetic variability, phenotypic selection, barley.

Βιβλιογραφία

- Duvick, D.N. 1997. What is yield? In Proceedings of a Symposium for Developing Drought and Low N-Tolerant Maize (Eds G.O. Edmeades, B. Banzinger, H.R. Mickelson και C.B. Pena-Valdivia, March 25-29, 1996, CIMMYT, El Batan, Mexico. CIMMYT, Mexico, D.F.
- Fasoula, D.A. 1990. Correlations between auto-, allo- and nil-competition and their implications in plant breeding. *Euphytica*: 50, 57-62.
- Fasoula, D.A. και V.A. Fasoula. 1997a. Competitive ability and plant breeding. In *Plant Breeding Reviews* (Ed. J. Janick). 14: 89-138.
- Fasoula, D.A. και V.A. Fasoula. 1997b. Gene action and plant breeding. In *Plant Breeding Reviews* (Ed. J. Janick). 15: 315-374.
- Fasoula, V.A. και D.A. Fasoula. 2000. Honeycomb breeding: principles and applications. *Plant Breeding Reviews* 18: 177-250.
- Fasoulas, A.C. 1993. Principles of Crop Breeding (Ed. A.C. Fasoulas) P.O.Box 1555, GR-54006, Thessaloniki 17, Greece.
- Gethi, J.G., J.A. Labate, K.R. Lamkey, M.E. Smith, και S. Kresovich. 2002. SSR Variation in important U.S. maize inbred lines. *Crop Sci.* 42: 951-957.
- Olufowote, J.O., Y. Xu, X. Chen, W.D. Park, H.M. Beachell, R.H. Dilday, M.S. Goto και R. McCouch. 1997. Comparative evaluation of within-cultivar variation of rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite and RFLP markers. *Genome* 40: 370-378.
- Rasmusson. D.C. και R.L. Phillips. 1997. Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. *Crop Sci.* 37: 303-310.
- Tokatlidis, I.S. 2000. Variation within maize lines and hybrids in the absence of competition and relation between hybrid potential yield per plant with line traits. *J. Agric. Sci.* 134: 391-398.
- Tokatlidis, I.S., J.T. Tsialtas, I.N. Xynias, E. Tamoutsidis και M. Irakli. 2004. Variation within a bread wheat cultivar for grain yield, protein content, carbon isotope discrimination and ash content. 2004. *Field Crops Research* 86: 33-42.
- Yan, W. και D.H. Wallace. 1995. Breeding for negatively associated traits. In *Plant Breeding Reviews* (Ed. J. Janick) 13: 141-177.
- Υπουργείο Γεωργίας και ΕΘ.Ι.Α.Γ.Ε. – Ινστιτούτο Σιτηρών. 1991. Οι Ελληνικές ποικιλίες σιτηρών και η καλλιέργειά τους. Αθήνα. Σελ. 161.
- Zhang, Y.X., L. Gentzittel, F. Vear και P. Nicolas. 1995. Assessment of inter- and intra-inbred line variability in sunflower (*Helianthus annuus*) by RFLPs. *Genome* 38: 1040-1048.

¹ N.A.G.R.E.F. – Cereal Institute 570 01 Thermi-Thessaloniki

Παραγωγής ξηρής φυτομάζας και πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων από καπνά Virginia

Νικ. Κ. Μουστάκας¹ και Ηλ. Ντζάνης²

Περίληψη

Με διετές πείραμα αγρού που πραγματοποιήθηκε στο Αγρίνιο (Δ. Ελλάδα), μελετήθηκε η παραγωγή ξηράς φυτομάζας, καπνού Virginia καθώς επίσης και η πρόσληψη των θρεπτικών στοιχείων αζώτου (N), καλίου (K), φωσφόρου (P), ασβεστίου (Ca) και μαγνησίου (Mg), για την περίοδο από τη μεταφύτευση των καπνόφυτων έως το στάδιο φυσιολογικής ωρίμανσης-σχηματισμού σπόρου (συλλογής). Για το σκοπό αυτό γινόταν δειγματοληψία ολόκληρων φυτών (υπέργειου και υπόγειου τμήματος) ανά εβδομάδα, αρχής γενομένης από την 35^η ημέρα μετά τη μεταφύτευση των καπνόφυτων (ΗμΜ) έως και την 96^η ΗμΜ (φυσιολογικής ωρίμανσης - σχηματισμού σπόρου), για δύο συνεχείς καλλιεργητικές περιόδους. Μετά από κάθε δειγματοληψία γινόταν διαχωρισμός κάθε φυτού σε φύλλα, στελέχη και ρίζες. Επακολουθούσε ξήρανση, ζύγισμα και μέτρηση της συγκέντρωσής των θρεπτικών στοιχείων στη ξηρή βιομάζα. Η παραγωγή ξηράς φυτομάζας αλλά και η πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων, σε ολόκληρο το φυτό αλλά και στα επιμέρους φυτικά τμήματά του ακολουθεί σιγμοειδή καμπύλη η οποία περιγράφεται ικανοποιητικά από τη

λογιστική εξίσωση $W = \frac{\alpha}{1 + e^{(b-ct)}}$. Παρατηρήθηκε μία περίοδος ταχείας μεταβολής στην παραγωγή

ξηράς φυτομάζας στα φύλλα, στελέχη και ρίζες, με διαφορετική ημερομηνία έναρξης αλλά και διάρκειας μεταξύ των φυτικών τμημάτων του καπνού. Επίσης παρατηρήθηκε μία περίοδος ταχείας μεταβολής στην πρόσληψη και κατανομή του N, K, Ca, Mg και P στα φύλλα, στα στελέχη και στις ρίζες με διαφορετική ημερομηνία έναρξης και διάρκειας μεταξύ των φυτικών τμημάτων του καπνού. Η μέγιστη ημερήσια παραγωγή ξηράς φυτομάζας καθώς επίσης και η μέγιστη ημερήσια ποσότητα N, K, Ca, Mg και P, που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα φύλλα, στα στελέχη και στις ρίζες, διαφέρει τόσο ως προς το χρόνο που παρατηρείται όσο και ως προς το ύψος της τιμής.

Λέξεις κλειδιά: Λογιστική εξίσωση, ρυθμός παραγωγής ξηράς φυτομάζας, ρυθμός πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων, ημερήσια παραγωγή ξηράς φυτομάζας, ημερήσια πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων

Εισαγωγή

Ο βιολογικός κύκλος καπνών Virginia είναι σχετικά μικρός, κυμαινόμενος από 90 έως 120 ημέρες και επομένως ο χρόνος διεξαγωγής διορθωτικών επεμβάσεων στη θρέψη των φυτών είναι σύντομος (Mines και Tucker 1990). Επιπλέον διορθωτικές λιπάνσεις μετά από 35 - 40 ΗμΜ, που είναι το στάδιο προσαρμογής των φυτών στο νέο τους περιβάλλον, είναι πρακτικά αδύνατες λόγω του μεγάλου μεγέθους των φυτών.

Για τον καθορισμό μιας ορθολογικής λίπανσης χρειάζεται να είναι γνωστά, εκτός από την κατάσταση γονιμότητας του εδάφους και τα εξής επιπλέον στοιχεία: α) Η μέγιστη ποσότητα πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων που αντιστοιχεί στην μέγιστη απόδοση, β) Ο ρυθμός πρόσληψης των στοιχείων κατά τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου για τον εντοπισμό του σταδίου της μέγιστης πρόσληψης και γ) Η κατανομή των στοιχείων στα φύλλα, στελέχη και ρίζες κατά τη φυσιολογική ωρίμανση, για να εκτιμηθεί η ποσότητα η οποία αφαιρείται από το έδαφος με τη συλλογή των φύλλων.

¹ Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τομέας Εδαφολογίας & Γεωργ. Χημείας

² ΕΘ.Ι.Α.Γ.Ε. Καπνικός Σταθμός Αγρινίου

Οι απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία εκτιμώνται από τα ποσά αυτών που απομακρύνονται από τα φυτά σε μία καλλιεργητική περίοδο σε σχέση με την αντίστοιχη παραγωγή ξηράς ουσίας στα υπέργεια κυρίως τμήματα των φυτών. Η συνολική παραγωγή ξηράς ουσίας και η ποσότητα των θρεπτικών στοιχείων που προσλαμβάνονται ποικίλλει, ανάλογα με την κατηγορία καπνού, την ποικιλία, το υπολειμματικό επίπεδο θρεπτικών στοιχείων, τον αριθμό φυτών ανά στρέμμα, τις κλιματικές συνθήκες αλλά και άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες (Collins και Hawks 1993, Sifola και Postiglione 2002). Επομένως, οι τιμές απορρόφησης θρεπτικών στοιχείων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία απεικονίζουν τις τοπικές περιβαλλοντικές συνθήκες και πρακτικές κάτω από τις οποίες αναπτύσσεται ο καπνός (McCants και Woltz 1967). Γενικά, καπνά Burley και Maryland έχουν υψηλές απαιτήσεις σε N και καλλιεργούνται κυρίως σε γόνιμα εδάφη μέσης ή λεπτόκοκκης κοκκομετρικής σύστασης. Τα καπνά Virginia απαιτούν λιγότερο γόνιμα εδάφη αναπτύσσονται καλύτερα σε αμμώδη (S) και πηλο-αμμώδη εδάφη (LS), ενώ καπνά ανατολικού τύπου αναπτύσσονται καλύτερα σε εδάφη μικρής περιεκτικότητας σε N (Flower 1999). Πληροφορίες για την παραγωγή ξηράς φυτομάζας αλλά και πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων για καπνά Virginia, που καλλιεργούνται σε μεσογειακές κλιματολογικές συνθήκες είναι ελάχιστες και αναφέρονται μόνο στο υπέργειο τμήμα του φυτού (φύλλα και στελέχη), με ελάχιστη ή καθόλου αναφορά για την παραγωγή ξηράς φυτομάζας και πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων στις ρίζες.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη των χαρακτηριστικών παραγωγής ξηράς φυτομάζας αλλά και πρόσληψης και κατανομής των θρεπτικών στοιχείων N, P, K, Ca και Mg στα φύλλα, στελέχη και ρίζες καπνού Virginia, κάτω από μεσογειακές κλιματικές συνθήκες.

Θεωρητική διερεύνηση

Η εφαρμογή των μαθηματικών στη μελέτη των φαινομένων αυξήσεως των φυτών έχει χρησιμοποιηθεί ευρύτατα, μέχρι του σημείου που να αποτελεί σήμερα ιδιαίτερο κλάδο της φυσιολογίας των φυτών. Ο ρυθμός αυξήσεως των φυτών διερεχεται από τρεις συνεχόμενες φάσεις, οι οποίες στο σύνολο τους διαμορφώνουν μία γενική ποσοτική σχέση μεταξύ αποδόσεως και χρόνου. Η σχέση αυτή περιγράφεται με τη σιγμοειδή καμπύλη αυξήσεως.

$$\text{Η λογιστική εξίσωση: } W = \left[\frac{\alpha}{1 + e^{(b-ct)}} \right] \quad (\text{Hunt 1982}) \quad (1)$$

είναι μία μαθηματική έκφραση, η οποία περιγράφει ικανοποιητικά την ανάπτυξη των φυτών, όπου W είναι η τιμή της μεταβλητής του φυτού (παραγωγή φυτομάζας ή πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων) στο χρόνο t, α, b και c παράμετροι των οποίων η τιμή προσδιορίζεται υπολογιστικά. Η λογιστική εξίσωση εκφράζει την παραγωγή ή την πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων συναρτήσει του χρόνου. Επομένως, ο ρυθμός αυξήσεως ή πρόσληψης και κατανομής θρεπτικών στοιχείων, δηλ. η αύξηση της παραγωγής ή πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων στη μονάδα του χρόνου, υπολογίζεται από την πρώτη παράγωγο της εξίσωσης (1) και ισούται με:

$$\frac{dW}{dt} = \frac{abe^{(b-ct)}}{(1 + e^{(b-ct)})^2} \quad (2)$$

Το ήμισυ της μέγιστης τιμής της εξίσωσης (1) είναι σημείο καμπής και αντιστοιχεί σε χρόνο t, στον οποίο έχουμε τη μέγιστη τιμή του ρυθμού ανάπτυξης ή του ρυθμού πρόσληψης, αντίστοιχα.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η δεύτερη παράγωγος της εξισώσεως (1):

$$\frac{dW}{dt} = \frac{abe^{(b-ct)}}{(1 + e^{(b-ct)})^2} \quad (3)$$

Η τιμή t στην οποία μηδενίζεται η δεύτερη παράγωγος αντιστοιχεί στο χρόνο που ο ρυθμός αυξήσεως καθίσταται μέγιστος.

Υλικά και Μέθοδοι

Για το σκοπό της μελέτης πραγματοποιήθηκε ένα πείραμα αγρού δύο ετών στο Αγρίνιο, Δ. Ελλάδα (38°37' N, 21°23' E και 45 m επάνω από τη στάθμη θάλασσας). Το πείραμα εγκαταστάθηκε σε ένα αργιολοπηλώδες

έδαφος (CL) (fine, mixed, thermic, typic Xerofluvent) με 26% άμμο, 43% ιλύ και 31% άργιλο, pH 7,1, ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (IAK) 20,4 cmol_c kg⁻¹ εδάφους, οργανική ουσία 1,8%, ανταλλάξιμο Ca, Mg και K, 17,2, 1,7 και 0,5 cmol_c kg⁻¹ αντίστοιχα και διαθέσιμο φώσφορο (P-Olsen) 6,2 mg kg⁻¹ εδάφους. Ο πειραματικός αγρός πριν την εγκατάσταση του πειραματικού καπνού καλλιεργείτο με καλαμπόκι.

Το κλίμα της περιοχής είναι θερμο-μεσογειακό (FAO-UNESCO 1973). Η μέση ετήσια βροχόπτωση στην περιοχή για 30 περίπου έτη είναι 1022 mm με το 68% των βροχοπτώσεων να παρατηρείται την περίοδο «Νοέμβριος-Απρίλιος» και η μέση ετήσια θερμοκρασία αέρος είναι 14,7°C. Κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου τόσο το 1994 όσο και το 1995 η μέγιστη θερμοκρασία αέρος ήταν μεγαλύτερη από 30°C τον Ιούνιο, τον Ιούλιο και τον Αύγουστο, ενώ η ελάχιστη θερμοκρασία κυμάνθηκε μεταξύ 13 και 19°C το 1994 και μεταξύ 11 και 18°C το 1995. Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε στην κατανομή των βροχοπτώσεων κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου και στα δύο έτη. Εν συντομία, η βροχόπτωση το 1994 ήταν 98 mm και κατανεμήθηκε 23% το Μάιο, 39% τον Ιούλιο και 38% τον Αύγουστο. Το 1995 η βροχόπτωση ήταν 101 mm με παρόμοια κατανομή ήτοι: 24% το Μάιο, 35% τον Ιούλιο και 42% τον Αύγουστο. Τα φυτά του καπνού αρδεύτηκαν 12 φορές το 1994 και 10 φορές το 1995, με συνολικό ύψος νερού 350 mm σε κάθε καλλιεργητική περίοδο. Η ποσότητα νερού που δέχθηκε κάθε πειραματικό τεμάχιο ήταν ίση με τη μέγιστη εξατμισοδιαπνοή (ET_c), η οποία προσδιορίστηκε από τη δυναμική εξατμισοδιαπνοή (ET_p) και το συντελεστή καλλιέργειας (k_c) του καπνού. Η ET_p υπολογίστηκε από τις ημερήσιες τιμές της μέγιστης και ελάχιστης θερμοκρασίας αέρος, της διάρκειας ηλιοφάνειας, της σχετικής υγρασίας και της ταχύτητας του αέρα, με τη χρήση της εξίσωσης Penmann (1948) όπως τροποποιήθηκε από το Frege (1979). Η τιμή k_c κατά τη βλαστική περίοδο της μεταφύτευσης λήφθηκε ίση με 0,4, κατά τη βλαστική περίοδο της ταχείας ανάπτυξης και επιμήκυνσης των φύλλων ίση με 0,7-0,8, τη βλαστική περίοδο μπουμπουκιάσματος - κορυφολόγηματος ίση με 0,9-1,0 και τέλος τη βλαστική περίοδο της πλήρους ωρίμανσης και σχηματισμού σπόρου ίση με 0,85-0,75 (Doorenbos και Pruit 1977). Άρδευση εφαρμοζόταν όταν η υγρασία σε βάθος μέχρι 0,3 m ήταν μικρότερη από το 40% του διαθέσιμου νερού. Η υγρασία μετριόταν με τασίμετρα τα οποία είχαν εγκατασταθεί στον αγρό.

Ο πειραματικός αγρός αποτελείται από 18 πειραματικά τεμάχια κατανεμημένα σε 3 σειρές των 6 τεμαχίων. Η απόσταση των τεμαχίων μεταξύ των σειρών ήταν 1,5 m και επί της σειράς 1 m. Κάθε πειραματικό τεμάχιο περιελάμβανε 15 σειρές καπνού μήκους 10 m η κάθε σειρά (εμβαδόν πειραματικού τεμαχίου 150 m²). Η μισή έκταση (75 m²) κάθε πειραματικού τεμαχίου χρησιμοποιήθηκε για παρακολούθηση του ρυθμού μεταβολής της ξηράς ουσίας και της απορρόφησης των θρεπτικών στοιχείων και η άλλη μισή (75 m²) για συλλογή των ώριμων φύλλων και μετά από την ενδεδειγμένη επεξεργασία τους για τον υπολογισμό της απόδοσης. Φυτά καπνού Virginia ποικιλίας McN-944 μεταφύτευθηκαν στις 18 Μαΐου το 1994 και στις 19 Μαΐου το 1995, σε αποστάσεις 1 m μεταξύ των σειρών και 0,5 m επί των σειρών (2000 φυτά ανά στρέμμα). Η καπνοφύτευα λπάνθηκε κάθε έτος, με ποσότητες λιπασμάτων για μέγιστη απόδοση αλλά και ικανοποιητική ποιοτική παραγωγή καπνού Virginia, σύμφωνα με τις οδηγίες του Ελληνικού Οργανισμού Καπνού (ΕΟΚ 1990). Οι συνολικές ποσότητες λιπασμάτων που εφαρμόστηκαν ήταν 6 g N m⁻², 12 g P m⁻² και 24 g K m⁻². Η εφαρμογή τους έγινε ως εξής: δύο ή τρεις ημέρες πριν από τη μεταφύτευση σε όλα τα πειραματικά τεμάχια προστέθηκαν 4 g N m⁻², 12 g P m⁻² και 17 g K m⁻². Τα λιπάσματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ασβεστούχος νιτρική αμμωνία (26% N), ένα υπερφωσφορικό άλας (21% P₂O₅) και θειικό άλας καλίου (50% K₂O). Η υπόλοιπη ποσότητα 2 g N m⁻² και 7 g K m⁻² εφαρμόστηκε υπό μορφή KNO₃ (13% N και 46% K₂O) έναν μήνα μετά από τη μεταφύτευση. Τα λιπάσματα διασκορπίστηκαν ομοιόμορφα στην επιφάνεια κάθε πειραματικού τεμαχίου και ενσωματώθηκαν στα ανώτερα 0,15 - 0,20 m του εδάφους με σάλισμα. Το κορυφολόγημα των φυτών έγινε όταν το 50% των φυτών κάθε πειραματικού τεμαχίου ήταν σε πλήρη άνθηση (την 75^η και 76^η ΗμΜ το 1994 και το 1995, αντίστοιχα) και το ύψος τους ήταν τόσο ώστε στο φυτό να παραμείνουν 22-24 φύλλα. Το κορυφολόγημα έγινε με το χέρι. Όλες οι καλλιεργητικές μεταχειρίσεις, όπως έλεγχος φυλλιζίων, βλαστολόγημα κ.ά., έγιναν σύμφωνα με τις οδηγίες του Εθνικού Οργανισμού Καπνού Ελλάδας (1990) για καπνά Virginia.

Τρία φυτά από κάθε πειραματικό τεμάχιο επιλεγόμενα τυχαία λαμβάνονταν σε εβδομαδιαία περίπου διαστήματα (54 φυτά για κάθε ημερομηνία δειγματοληψίας), αρχής γενομένης από την 34^η ΗμΜ έως την 96^η ΗμΜ (στάδιο πλήρους ωρίμανσης - σχηματισμού σπόρου). Κάθε φυτό απομακρυνόταν από τη θέση του ύστερα από άνοιγμα τάφρου γύρω από το φυτό επιφάνειας 0,3 m² και βάθους 0,40 m (0,4 m επί της σειράς των φυτών και 0,8 m μεταξύ των σειρών). Μετά από απομάκρυνση του εδάφους από τις ρίζες το φυτό διαχωρίζονταν σε

φύλλα, στελέχη και ρίζες. Τα φύλλα, τα στελέχη και οι ρίζες των τριών φυτών αναμειγνύονταν και σχηματίζονταν ένα σύνθετο δείγμα για κάθε φυτικό τμήμα και κάθε πειραματικό τεμάχιο. Όλα τα φυτικά τμήματα πριν από τη χρησιμοποίησή τους πλύθηκαν σχολαστικά για απομάκρυνση του εδάφους. Τα φύλλα τα στελέχη και οι ρίζες ζυγίστηκαν νωπά, κατόπιν τοποθετήθηκαν σε κλιβάνο θερμοκρασίας 70°C μέχρις απόκτησης σταθερού βάρους και ζυγίστηκαν. Τα ξηρά τμήματα των φυτών αλέστηκαν και κοσκινίστηκαν με κόσκινο 250 mesh. Στη συνέχεια ορισμένη ποσότητα αποτεφρώθηκε στους 550°C και η τέφρα διαλυτοποιήθηκε με πυκνό HNO₃. Κατόπιν μετρήθηκαν στο διάλυμα οι συγκεντρώσεις Ca, Mg με τη χρήση φασματοφωτόμετρου ατομικής απορρόφησης και τη χρήση φλόγας ακετυλενίου-N₂O για το Ca και τη χρήση φλόγας ακετυλενίου – αέρα για το Mg. Η συγκέντρωση του K μετρήθηκε με τη βοήθεια φλογοφωτόμετρου και του P με τη μέθοδο του ασκορβικού οξέος Murphy–Riley. Το ολικό άζωτο υπολογίστηκε με τη μέθοδο Kjeldahl. Οι αναλύσεις των φυτικών τμημάτων έγιναν σύμφωνα με τις μεθόδους που αναφέρονται από τον Page (1982).

Η διάρκεια των διαφόρων σταδίων ανάπτυξης του καπνού και ο αριθμός δειγματοληψιών που έγιναν φαίνονται παρακάτω:

- στάδιο προσαρμογής (35-40 ημέρες, 1 δειγματοληψία)
- στάδιο γόνατος (10-15 ημέρες, 2 δειγματοληψίες)
- στάδιο ταχείας ανάπτυξης και επιμήκυνσης των εκπυκνόμενων φύλλων (10-15 ημέρες, 2 δειγματοληψίες)
- στάδιο μπουμπουκιάσματος και κορυφολογήματος, έναρξη συλλογής (25-35 ημέρες, 2 δειγματοληψίες)
- στάδιο ωρίμανσης και σχηματισμού σπόρου (20-25 ημέρες, 2 δειγματοληψίες).

Το ξηρό βάρος των φύλλων, στελεχών και ριζών μετρήθηκε για κάθε ημερομηνία δειγματοληψίας και εκφράστηκε σε g m⁻². Η ποσότητα του N, K, P, Ca και Mg που προσλήφθηκε και κατανεμήθηκε στα φύλλα, στελέχη και ρίζες υπολογίστηκε από το ξηρό βάρος κάθε φυτικού τμήματος επί την αντίστοιχη συγκέντρωση κάθε στοιχείου και εκφράστηκε σε g m⁻². Τα φύλλα από τα φυτά των πειραματικών τεμαχίων που δεν χρησιμοποιήθηκαν για δειγματοληψία συλλέχθηκαν, αποξηράνθηκαν σε κλιβάνους Bulk curing, έγινε η απαραίτητη επεξεργασία τους και υπολογίστηκε η απόδοση καπνού ανά 1000 m² (στρέμμα).

Μετά τη συλλογή των δεδομένων έγινε στατιστική ανάλυση με την ακόλουθη σειρά:

- a) Εξετάστηκε η επίδραση του έτους και της ημερομηνίας στην παραγωγή ξηράς φυτομάζας στο φυτό και στα επιμέρους φυτικά τμήματά του καθώς επίσης και στην πρόσληψη των θρεπτικών στοιχείων στο φυτό αλλά και στην κατανομή των θρεπτικών στοιχείων στα επιμέρους φυτικά τμήματα του καπνού.
- b) Έγινε έλεγχος, εάν είναι επιτρεπτή η συνδυασμένη ανάλυση των δεδομένων των δύο ετών, με τη χρησιμοποίηση του χ^2 της δοκιμής Bartlett.
- c) Έγινε προσαρμογή των δεδομένων, στη λογιστική εξίσωση με τη χρησιμοποίηση της μη γραμμικής παλινδρόμησης και υπολογισμός των παραμέτρων a , b και c .
- d) Έγινε συσχέτιση για αξιολόγηση προβλεπόμενων και μετρούμενων τιμών.

Αποτελέσματα και συζήτηση

Η κατανομή των βροχοπτώσεων καθώς και των άλλων κλιματολογικών χαρακτηριστικών που επηρεάζουν την ανάπτυξη του καπνού, όπως η μέση ημερήσια ελάχιστη και μέγιστη θερμοκρασίας αέρος, ήταν ικανοποιητικές και στα δύο έτη. Η μέση παραγωγή επεξεργασμένων φύλλων καπνού των δύο ετών ήταν 345 kg στρ.⁻¹.

Από την επεξεργασία των δεδομένων προέκυψε ότι η επίδραση του έτους και της ημερομηνίας στην παραγωγή ξηράς φυτομάζας και στην πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και την κατανομή τους στα επιμέρους φυτικά τμήματα του καπνού δεν ήταν σημαντική. Η δοκιμή χ^2 του Bartlett, έδειξε ότι είναι επιτρεπτή η συνδυασμένη ανάλυση των δεδομένων των δύο ετών. Επιπλέον η απόκλιση μεταφύτευσης των φυτών στα έτη πειραματισμού είναι σχεδόν ανύπαρκτη (1 ημέρα) και επομένως σε μια δεδομένη ημερομηνία δειγματοληψίας τα φυτά βρίσκονταν στο ίδιο βλαστικό στάδιο. Στην ανάλυση που ακολουθεί οι τιμές παραγωγής ξηράς φυτομάζας, καθώς επίσης της πρόσληψης και κατανομής των θρεπτικών στοιχείων στα επιμέρους φυτικά

τιμήματα του καπνού είναι ο μέσος όρος των δύο ετών. Η παραγωγή ξηράς φυτομάζας στα φύλλα (ΞΦΦ), στα στελέχη (ΞΦΣ), στις ρίζες (ΞΦΡ), στο υπέργειο τμήμα (ΞΦ(Φ+Σ)) και σε ολόκληρο το φυτό (ΟΞΦ), κατά τη βλαστική περίοδο φυτών καπνού Virginia, ακολουθεί σιγμοειδή καμπύλη (Σχήματα 1, 2, 3, 4 και 5) η οποία

περιγράφεται ικανοποιητικά από τη λογιστική εξίσωση:

όπου W η παραγωγή ΞΦΦ, ΞΦΣ, ΞΦΡ, ΞΦ(Φ+Σ) και C ξηράς φυτομάζας (g m⁻²), b η αρχική τιμή της ξηράς φυτομάζας $W = \left[\frac{\alpha}{1 + e^{(b-ct)}} \right]$ ελάχιστη τιμή της παραγόμενης ξηράς φυτομάζας (g m⁻²), t ο χρόνος σε ημέρες (d) μετά τη μεταφύτευση και e η βάση υπολογίσθηκαν με τη μέθοδο Rosenbrock's (Machura και Mulawa 1973) με τη χρήση του στατιστικού πακέτου STATISTICA για Windows. Ο συντελεστής συσχέτισης (r), μεταξύ προβλεπομένων και πραγματικών τιμών είναι πολύ υψηλός (r>0.89 σε P<0,001, Πίνακας I) διασφαλίζοντας τη στατιστική αξιοπιστία των καμπυλών.

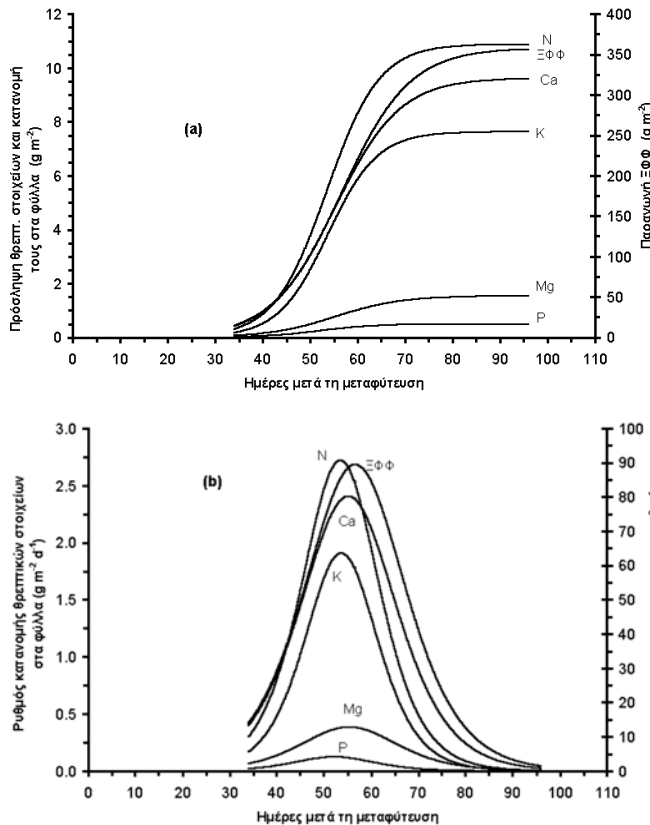
Οι καμπύλες παραγωγής του φυτού και των επιμέρους φυτικών τμημάτων του (φύλλων στελεχών, ριζών και υπέργειου τμήματος) που προέκυψαν από τα δεδομένα με την εφαρμογή της λογιστικής εξίσωσης παρουσιάζονται στα Σχήματα 1, 2, 3, 4 και 5.

Ερμηνεύοντας τις γραφικές παραστάσεις αναφέρονται τα ακόλουθα.

Η παραγωγή ξηράς φυτομάζας στο φυτό και στα επιμέρους φυτικά τμήματά του ήταν αρκετά βραδεία έως την 35^η ΗμΜ, φανερώνοντας έτσι την αργή προσαρμογή των φυτών στο νέο τους περιβάλλον. Ίδιοι χρόνοι περίπου προσαρμογής αναφέρονται από τους Raper και McCants (1967), Atkinson κ.ά. (1977) και Mylonas και Pangos (1980), για καπνά Virginia, Burley και ανατολικού τύπου, αντίστοιχα.

Στη φυσιολογική ωρίμανση έχουν παραχθεί από τα φυτά 843,4 g ξηράς φυτομάζας m⁻² κατανεμημένα ως εξής: 356,4 g m⁻² στα φύλλα, 277,2 g m⁻² στα στελέχη και 240,49 g m⁻² στις ρίζες (Σχήμα 5a), που αντιπροσωπεύουν το 42,3, το 33 και το 28,5%, αντίστοιχα, της ξηράς φυτομάζας του φυτού. Το άθροισμα της ξηράς φυτομάζας των επιμέρους φυτικών τμημάτων του καπνού δεν ισούται με την ολική παραγωγή ξηράς φυτομάζας στο φυτό λόγω της ομαλοποίησης (smoothing) κατά την ανάλυση της παλινδρόμησης.

Τη βλαστική περίοδο από την 34^η ΗμΜ έως την 96^η ΗμΜ (δηλ. μετά την εγκατάσταση στον αγρό έως και τη φυσιολογική ωρίμανση-σχηματισμό σπόρου) παρατηρείται μία περίοδος ταχεί-



Σχήμα 1. (a) Καμπύλες παραγωγής ξηράς φυτομάζας φύλλων (ΞΦΦ), πρόσληψης και κατανομής θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα καπνού Virginia. (b) Ρυθμός παραγωγής ΞΦΦ και κατανομής των προσλαμβανόμενων θρεπτικών στοιχείων στα φύλλα καπνού Virginia. **Figure 1.** (a) Dry matter accumulation and nutrients distribution curves in leaves of Virginia tobacco. (b) Leaves growth rate and leaves nutrients distribution rate of Virginia tobacco.

Πίνακας Ι. Τιμές των παραμέτρων a , b , c της λογιστικής εξίσωσης $W = \left[\frac{\alpha}{1 + e^{(b-c)t}} \right]$ και συντελεστής συσχέτισης (r)

μεταξύ παρατηρούμενων και προβλεπόμενων τιμών (W αντιστοιχεί στην παραγωγή ξηράς ουσίας ή στην πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων).

Table I. Calculated parameters a , b , c , from logistic equation and correlation coefficient (r) between observed and predicted values (W corresponds to dry matter accumulation or nutrient uptake)

Μεταβλητή	α	b	c	r^*
ΞΦΦ	357,8	7,90	0,14	0,992
ΞΦΣ	289,73	8,59	0,12	0,996
ΞΦΡ	240,68	15,85	0,24	0,97
ΞΦ(Φ+Σ)	639,57	7,34	,12	0,992
ΟΞΦ	855,57	7,93	0,13	0,99
NΦ	10,88	9,69	0,18	0,973
NA	3,43	6,97	0,09	0,997
NP	4,56	14,21	0,22	0,97
N(Φ+Σ)	13,7	9,01	0,16	0,992
N	18,27	9,06	0,16	0,996
KΦ	7,68	10,29	0,19	0,887
KΣ	7,47	6,64	0,09	0,989
KΡ	5,33	14,6	0,23	0,97
K(Φ+Σ)	13,27	8,93	0,15	0,992
K	18,57	9,73	0,16	0,996
PΦ	0,49	8,98	0,17	0,867
PΣ	0,25	13,2	0,22	0,939
PP	0,27	13,03	0,20	0,955
P(Φ+Σ)	0,75	9,56	0,17	0,992
P	1,01	9,99	0,17	0,996
CaΦ	9,62	8,06	0,15	0,996
CaΣ	2,36	7,98	0,13	0,999
CaP	3,91	11,23	0,17	0,996
Ca (Φ+Σ)	11,92	7,94	1,14	0,992
Ca	15,84	7,74	0,13	0,996
MgΦ	1,54	7,99	0,14	0,992
MgΣ	0,66	7,59	0,11	0,995
MgP	0,87	12,9	0,20	0,986
Mg (Φ+Σ)	2,17	7,49	0,13	0,992
Mg	3,06	8,12	0,13	0,996

ΞΦΦ, ΞΦΣ, ΞΦΡ, ΞΦ(Φ+Σ), ΟΞΦ: Παραγωγή ξηρά φυτομάζας στα φύλλα, στελέχη, ρίζες, υπέργειο τμήμα και σε ολόκληρο το φυτό, αντίστοιχα.

NΦ, NΣ, NP, N(Φ+Σ), N: Πρόσληψη και κατανομή N στα φύλλα, στελέχη, ρίζες, υπέργειο τμήμα και σε ολόκληρο το φυτό, αντίστοιχα.

KΦ, KΣ, KP, K(Φ+Σ), N: Πρόσληψη και κατανομή K στα φύλλα, στελέχη, ρίζες, υπέργειο τμήμα και σε ολόκληρο το φυτό, αντίστοιχα.

PΦ, PΣ, PP, P(Φ+Σ), P: Πρόσληψη και κατανομή P στα φύλλα, στελέχη, ρίζες, υπέργειο τμήμα και σε ολόκληρο το φυτό, αντίστοιχα.

CaΦ, CaΣ, CaP, Ca (Φ+Σ), Ca: Πρόσληψη και κατανομή Ca στα φύλλα, στελέχη, ρίζες, υπέργειο τμήμα και σε ολόκληρο το φυτό, αντίστοιχα.

MgΦ, MgΣ, MgP, Mg (Φ+Σ), Mg: Πρόσληψη και κατανομή Mg στα φύλλα, στελέχη, ρίζες, υπέργειο τμήμα και σε ολόκληρο το φυτό, αντίστοιχα.

* Όλες οι τιμές είναι στατιστικά σημαντικές σε $P < 0.001$

ας παραγωγής ξηράς φυτομάζας σε ολόκληρο το φυτό και στα επιμέρους φυτικά τμήματα του (Σχήματα 1a, 2a, 3a, 4a και 5a). Η περίοδος ταχείας παραγωγής διαφέρει μεταξύ των φυτικών τμημάτων του καπνού, τόσο ως προς την έναρξη όσο και ως προς τη διάρκειά της. Συγκεκριμένα παρατηρείται μία περίοδος ταχείας παραγωγής ξηράς φυτομάζας στα φύλλα (ΞΦΦ) μεταξύ 41^{ης} και 75^{ης} ΗμΜ (Σχήμα 1a), όπου παράγεται περίπου το 93% της ολικής ξηράς φυτομάζας φύλλων που αντιστοιχεί στο 39,4% της ξηράς φυτομάζας του φυτού στη φυσιολογική ωρίμανση. Ο Suzuki κ.ά. (1970) αναφέρουν ταχεία μεταβολή στη παραγωγή της ξηράς φυτομάζας στα φύλλα καπνού Burley από την 30^η έως την 75^η ΗμΜ. Ο ρυθμός παραγωγής ξηράς φυτομάζας στα στελέχη (ΞΦΣ) παρουσιάζει μία περίοδο ταχείας μεταβολής από την 48^η έως την 90^η ΗμΜ (Σχήμα 2a), όπου παράγεται περίπου το 95% της ολικής ξηράς φυτομάζας στελεχών που αντιστοιχεί στο 11,4% της ξηράς φυτομάζας του φυτού στη φυσιολογική ωρίμανση. Η περίοδος της ταχείας παραγωγής ξηράς φυτομάζας στις ρίζες (ΞΦΡ) αρχίζει την 48^η ΗμΜ και τελειώνει περίπου την 90^η ΗμΜ (Σχήμα 3a). Την περίοδο αυτή παράγεται περίπου το 82% της ολικής ξηράς φυτομάζας ριζών που αντιστοιχεί στο 11,8% της ξηράς φυτομάζας του φυτού κατά τη φυσιολογική ωρίμανση. Από τη μεταφύτευση έως την 48^η ΗμΜ (δηλ. το πρώτο ήμισυ της περιόδου: μετά τη μεταφύτευση έως τη φυσιολογική ωρίμανση - σχηματισμό σπόρου), η ξηρά φυτομάζα που έχει παραχθεί στο φυτό είναι 86,6 g m⁻² στα φύλλα, 18 g m⁻² στα στελέχη και 3 g m⁻² στις ρίζες που αντιπροσωπεύουν το 23, 6,5 και 1,3% της ολικής ξηράς φυτομάζας φύλλων, στελεχών και ριζών, ή το 9,0, 2,0 και 0,4%, αντίστοιχα, της ξηράς φυτομάζας του φυτού κατά τη φυσιολογική ωρίμανση. Επομένως το μεγαλύτερο ποσοστό παραγωγής ξηράς φυτομάζας στο φυτό όσο και στα επιμέρους φυτικά τμήματα του παρατηρείται από την 48^η - 96^η ΗμΜ (δηλ. το δεύτερο ήμισυ της περιόδου μετά τη μεταφύτευση έως τη φυσιολογική ωρίμανση - σχηματισμό σπόρου).

Η αύξηση της παραγωγής ξηράς φυτομάζας στα φύλλα, στα στελέχη και στις ρίζες στη μονάδα του χρόνου, υπολογίζεται από την εξίσωση (2) που εκφράζει το ρυθμό ανάπτυξης, δηλ. την ημερήσια παραγωγή ξηράς φυτομάζας στα διάφορα φυτικά τμήματα του καπνού. Η μέγιστη ημερήσια παραγωγή ξηράς φυτομάζας διαφέρει μεταξύ των φυτικών τμημάτων τόσο ως προς το χρόνο εμφάνισης όσο και ως προς το ύψος της τιμής. Η μέγιστη ημερήσια παραγωγή ξηράς φυτομάζας στα φύλλα, στελέχη και ρίζες εμφανίζεται την 56^η, 70^η και 69^η ΗμΜ με 89,5, 72,4 και 60,2 g m⁻², αντίστοιχα (Σχήματα 1b, 2b, 3b).

Ο ρυθμός αύξησης της ξηράς φυτομάζας του φυτού εξελίσσεται ανοδικά έως την 62^η ΗμΜ όπου φθάνει στη μέγιστη τιμή του. Στη συνέχεια ακολουθεί αντίστροφη πορεία (φθίνουσα) και μηδενίζεται όταν η παραγωγή ξηράς φυτομάζας φθάσει στο μέγιστο. Στο Σχήμα 6 φαίνεται ότι η μέγιστη τιμή του ρυθμού ανάπτυξης δηλ. η μέγιστη ημερήσια παραγωγή ξηράς φυτομάζας επιτυγχάνεται στο χρόνο t, όπου η δεύτερη παράγωγος της εξίσωσης (3) μηδενίζεται και η παραγωγή ξηράς φυτομάζας έχει φθάσει στο μισό της μέγιστης. Η ίδια μορφή εξέλιξης στο ρυθμό ημερησίας απόδοσης ξηράς φυτομάζας παρατηρείται και στα επιμέρους φυτικά τμήματα του καπνού Virginia.

Αξιοσημείωτο είναι ότι η μέγιστη ημερήσια παραγωγή ξηράς φυτομάζας στα φύλλα, στα στελέχη και στις ρίζες εμφανίζεται προς το τέλος του βλαστικού σταδίου μπουμπουκιάσματος - κορυφολογήματος.

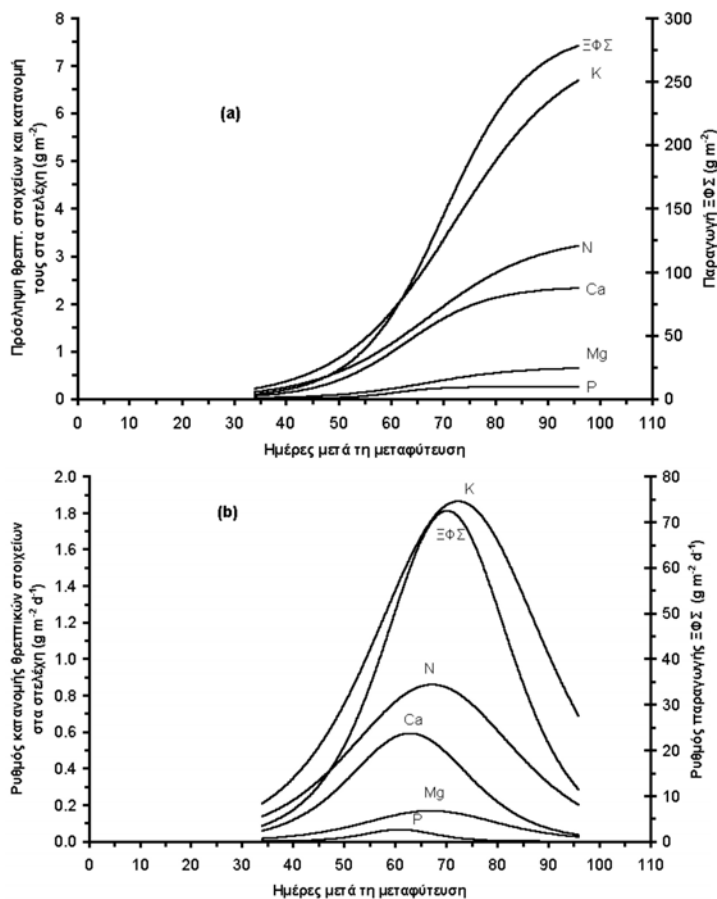
Η πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων σε φυτά καπνού Virginia, καθώς και η πρόσληψη και κατανομή των θρεπτικών στοιχείων στα επιμέρους φυτικά τμήματα του καπνού, ακολουθεί σιγμοειδή καμπύλη (Σχήματα 1, 2,

3, 4 και 5), η οποία περιγράφεται ικανοποιητικά (Πίνακας I) από τη λογιστική εξίσωση:
$$U = \left[\frac{\alpha}{1 + e^{(b-t)}} \right]$$

όπου U η πρόσληψη θρεπτικού στοιχείου στο χρόνο t, A είναι η μέγιστη προσλαμβανόμενη τιμή (g m⁻²), b η αρχική τιμή πρόσληψης (g m⁻²), c σταθερά του ρυθμού πρόσληψης, t ο χρόνος σε ημέρες (d) μετά τη μεταφύτευση και e η βάση των φυσικών λογαρίθμων. Το άθροισμα κάθε θρεπτικού στοιχείου των επιμέρους φυτικών τμημάτων του καπνού δεν ισούται με την ολική πρόσληψη του θρεπτικού στοιχείου στο φυτό, λόγω της ομαλοποίησης (smoothing) κατά την ανάλυση της παλινδρόμησης.

Πρόσληψη αζώτου (N)

Η καμπύλη ρυθμού πρόσληψης N σε φυτά καπνού Virginia και οι καμπύλες κατανομής της προσλαμβανόμενης ποσότητας N στα φύλλα, στελέχη και ρίζες του φυτού, εμφανίζονται στα Σχήματα 1a, 2a, 3a, 4a και 5a. Η περίοδος ταχείας μεταβολής στην πρόσληψη N εντοπίζεται μεταξύ 41^{ης} και 68^{ης} ΗμΜ (Σχήμα 5a), όπου προσλαμβάνεται το 85% του ολικού N στο φυτό. Η μέγιστη ημερήσια προσλαμβανόμενη ποσότητα N παρατηρείται την 55^η ΗμΜ με 4,5 g m⁻² (Σχήμα 5b). Η περίοδος ταχείας μεταβολής στο ρυθμό κατανομής του



Σχήμα 2. (a) Καμπύλες παραγωγής ξηράς φυτομάζας στελεχών (ΞΦΣ), πρόσληψης και κατανομής θρεπτικών στοιχείων στα στελέχη καπνού Virginia. (b) Ρυθμός παραγωγής ΞΦΣ και κατανομής των προσλαμβανόμενων θρεπτικών στοιχείων στα στελέχη καπνού Virginia.

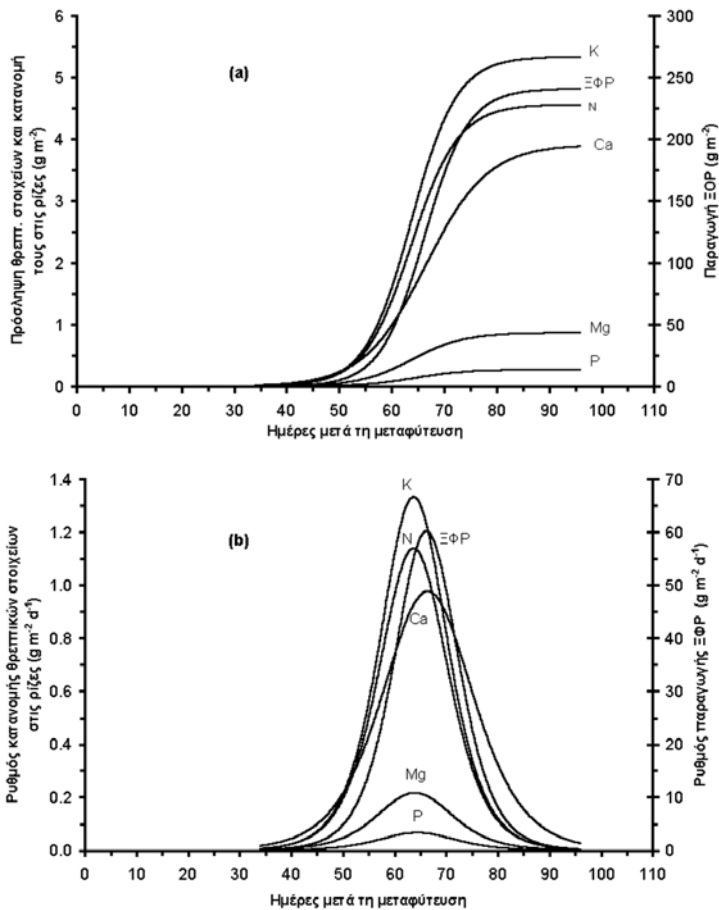
Figure 2. (a) Dry matter accumulation and nutrients distribution curves in stalks of Virginia tobacco. (b) Stalks growth rate and stalks nutrient distribution rate of Virginia tobacco.

προσωπεύει το 58, 13 και 23%, αντίστοιχα του ολικού N στο φυτό. Σύμφωνα με τους McCants και Woltz (1967) είναι επιθυμητή η πρόσληψη και κατανομή μικρής ποσότητας N στα φύλλα καπνού Virginia μετά την άνθηση, για εξασφάλιση καλής ποιότητας.

Πρόσληψη Καλίου (K)

Η περίοδος ταχείας μεταβολής στην πρόσληψη K εντοπίζεται μεταξύ 41^{ης} και 68^{ης} ΗμΜ, όπου προσλαμβάνεται το 81% του ολικού K στο φυτό (Σχήμα 5a). Η μέγιστη ημερήσια προσλαμβανόμενη ποσότητα K παρατηρείται την 61^η ΗμΜ με 4,6 g m⁻². Η περίοδος ταχείας μεταβολής στο ρυθμό κατανομής του προσλαμβανόμενου K στα φύλλα εντοπίζεται μεταξύ 41^{ης} και 68^{ης} ΗμΜ, στα στελέχη μεταξύ 41^{ης} και 90^{ης} ΗμΜ και στις ρίζες μεταξύ 48^{ης} και 75^{ης} ΗμΜ (Σχήματα 1a, 2a, 3a), όπου παράγεται το 93, 92 και 93% του ολικού καλίου φύλλων, στελεχών και ριζών, αντίστοιχα και αντιπροσωπεύει στο 18, 33 και 22,5% του ολικού K στο φυτό. Η ποσότητα K που περιέχει

προσλαμβανόμενου N στα φύλλα εντοπίζεται μεταξύ 41^{ης} και 68^{ης} ΗμΜ (Σχήμα 1a), όπου προσλαμβάνεται το 93% του ολικού N των φύλλων, ή το 56% του ολικού N στο φυτό. Η μέγιστη ημερήσια ποσότητα N που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα φύλλα παρατηρείται την 54^η ΗμΜ με 2,7 g m⁻², στα στελέχη την 67^η ΗμΜ με 0,86 g m⁻² και στις ρίζες την 64^η ΗμΜ με 1,1 g m⁻² (Σχήματα 1b, 2b, 3b). Η ποσότητα N που περιέχει το φυτό κατά τη φυσιολογική ωρίμανση ήταν 18,24 g m⁻², κατανεμημένη ως εξής: 10,9 g m⁻² στα φύλλα, 3,22 g m⁻² στα στελέχη και 4,6 g m⁻² στις ρίζες, που αντιπροσωπεύουν το 60, 18 και 25%, αντίστοιχα, του ολικού N στο φυτό (Σχήμα 5a). Τη βλαστική περίοδο από τη μεταφύτευση έως την 48^η ΗμΜ (δηλ. το πρώτο ήμισυ της περιόδου: μεταφύτευση-φυσιολογική ωρίμανση), το N που έχει προσληφθεί και κατανεμηθεί στα φύλλα, στελέχη και ρίζες είναι 2,9, 0,5 και 0,13 g m⁻² που αντιστοιχεί στο 16, 2,6 και 0,7%, αντίστοιχα, του ολικού N στο φυτό. Κατά το βλαστικό στάδιο μπουμπουκιάσιματος - κορυφολογήματος τα φύλλα, στελέχη και ρίζες περιείχαν 10,7, 2,3 και 4,22 g N m⁻², αντίστοιχα. Οι τιμές αυτές αντιπροσωπεύουν το 98, 72, και 93% του ολικού N που έχει προσληφθεί και κατανεμηθεί στα φύλλα, στελέχη και ρίζες, κατά τη φυσιολογική ωρίμανση και αντι-



Σχήμα 3. (α) Καμπύλες παραγωγής ξηράς φυτομάζας ριζών (ΞΦΡ), πρόσληψης και κατανομής θρεπτικών στοιχείων στις ρίζες καπνού Virginia. (β) Ρυθμός παραγωγής ΞΦΡ και κατανομής των προσλαμβανόμενων θρεπτικών στοιχείων στις ρίζες καπνού Virginia.

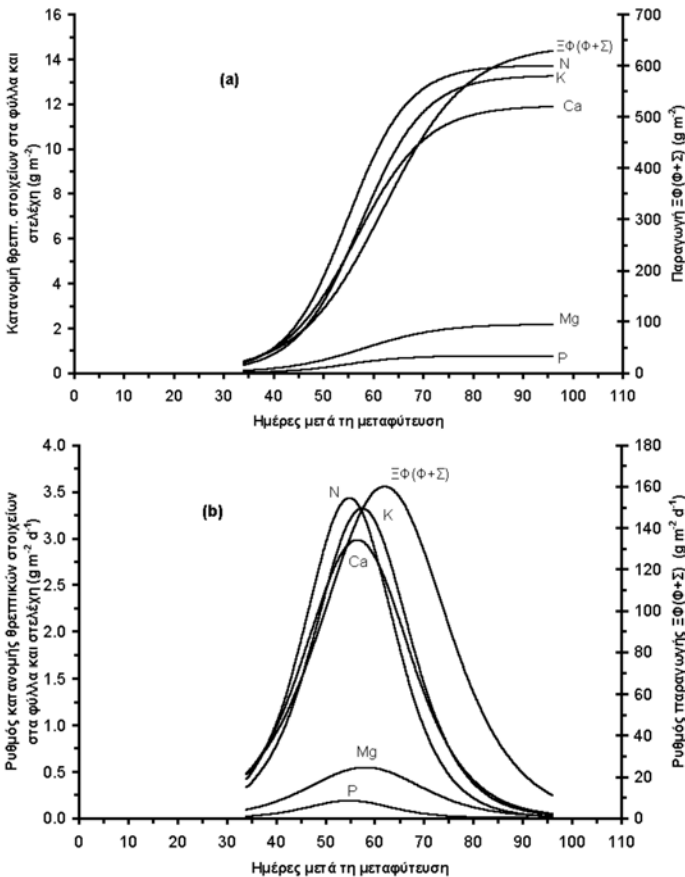
Figure 3. (a) Dry matter accumulation and nutrients distribution curves in roots of Virginia tobacco. (b) Roots growth rate and roots nutrient distribution rate of Virginia tobacco.

νοντας έτσι ότι και το Κ πρέπει να βρίσκεται σε σημαντικά ποσά και στα πρώτα βλαστικά στάδια ανάπτυξης του καπνού. Η μέγιστη ημερήσια πρόσληψη Κ που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα στελέχη εμφανίζεται την 73^η ΗμΜ με $1,86 \text{ g m}^{-2}$ και στις ρίζες την 64^η ΗμΜ με $1,33 \text{ g m}^{-2}$ (Σχήμα 2b, 3b). Η ποσότητα πρόσληψης Ν και Κ που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στο υπέργειο μέρος του φυτού είναι περίπου ίδια, ίση με $18,5 \text{ g m}^{-2}$. Οι McCants και Woltz (1967) αναφέρουν ότι τα καπνά Virginia προσλαμβάνουν μεγαλύτερες ποσότητες Κ από ότι Ν και ότι πρέπει να προστίθενται μεγαλύτερες ποσότητες Κ-ούχων λιπασμάτων από τη μέγιστη προσλαμβανόμενη ποσότητα δεδομένου ότι η απορρόφηση Κ βελτιώνει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του καπνού Virginia.

Πρόσληψη ασβεστίου (Ca)

Το Ca είναι το τρίτο κατά σειρά θρεπτικό στοιχείο που προσλαμβάνεται σε μεγάλες ποσότητες σε καπνά

το φυτό κατά τη φυσιολογική ωρίμανση ήταν $18,54 \text{ g m}^{-2}$, κατανεμημένη ως εξής: $7,6 \text{ g m}^{-2}$ στα φύλλα, $6,7 \text{ g m}^{-2}$ στα στελέχη και $5,3 \text{ g m}^{-2}$ στις ρίζες, που αντιπροσωπεύουν το 41, 36 και 29% του ολικού Κ στο φυτό. Κατά τη βλαστική περίοδο από τη μεταφύτευση έως την 48^η ΗμΜ, το Κ που έχει προσληφθεί και κατανεμηθεί στα φύλλα, στελέχη και ρίζες είναι $1,9$, $0,7$ και $0,14 \text{ g m}^{-2}$ που αντιπροσωπεύει στο 10,3, 3,9 και 0,8%, αντίστοιχα, του ολικού Κ στο φυτό. Κατά το βλαστικό στάδιο μπουμπουκιάσματος – κορυφολογήματος τα φύλλα, στελέχη και ρίζες περιέχουν 7,5, 6,2 και $5,3 \text{ g K m}^{-2}$, αντίστοιχα. Οι τιμές αυτές αντιπροσωπεύουν το 98, 62, και 93% του ολικού Κ που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα φύλλα, στελέχη και ρίζες, κατά τη φυσιολογική ωρίμανση που αντιστοιχούν στο 40,5, 23 και 27%, του ολικού Κ στο φυτό. Η κατανομή του προσλαμβανόμενου καλίου στο φυτό του καπνού δηλώνει ότι η παρουσία Κ είναι απαραίτητη και μετά το στάδιο μπουμπουκιάσματος – κορυφολογήματος. Οι McCants και Woltz (1967) αναφέρουν ότι εφαρμογή Κ-ούχου λίπανσης 3 έως 4 εβδομάδες μετά τη μεταφύτευση ευνοεί το σχηματισμό καλής ποιότητας καπνού. Η μέγιστη ημερήσια ποσότητα Κ που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα φύλλα, παρατηρείται την 54^η ΗμΜ με $1,91 \text{ g m}^{-2}$ (Σχήμα 1b) δηλώ-



Σχήμα 4. (α) Καμπύλες παραγωγής ξηράς φυτομάζας [$\Xi\Phi(\Phi+\Sigma)$], πρόσληψης και κατανομής θρεπτικών στοιχείων στο υπέργειο φυτικό τμήμα καπνού Virginia. (β) Ρυθμός παραγωγής [$\Xi\Phi(\Phi+\Sigma)$] και κατανομής των προσλαμβανόμενων θρεπτικών στοιχείων στο υπέργειο φυτικό τμήμα καπνού Virginia.

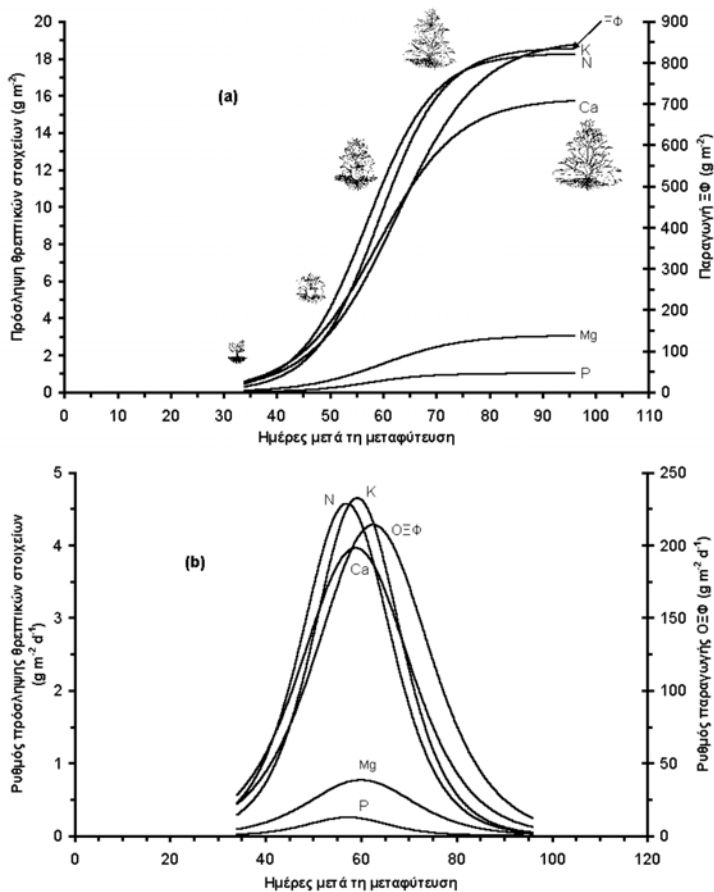
Figure 4. (a) Dry matter accumulation and nutrients distribution curves in the aboveground plant parts of Virginia tobacco. (b) Aboveground crop growth rate and nutrient uptake rate of Virginia tobacco.

που αντιστοιχούν στο 16, 2 και 1%, του ολικού Ca στα αντίστοιχα φυτικά τμήματα στο φυτό. Τα φύλλα, στελέχη και ρίζες περιέχουν 9,1, 1,9 και 3,2 g Ca m⁻², αντίστοιχα, κατά το βλαστικό στάδιο μπουμπουκιάσματος - κορυφολογήματος. Οι τιμές αυτές αντιπροσωπεύουν το 95, 83, και 81% του ολικού Ca που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα φύλλα, στελέχη και ρίζες, κατά τη φυσιολογική ωρίμανση και αντιστοιχούν στο 58, 12 και 20%, του ολικού Ca που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα αντίστοιχα φυτικά τμήματα στο φυτό. Η μέγιστη ημερήσια πρόσληψη Ca από τα φύλλα παρατηρείται την 55^η ΗΜΜ με 2,4 g m⁻², από τα στελέχη την 62^η ΗΜΜ με 0,6 g m⁻² και από τις ρίζες την 66^η ΗΜΜ με 0,98 g m⁻² (Σχήματα 1b, 2b, 3b).

Πρόσληψη Μαγνησίου (Mg)

Η πρόσληψη Mg από τα φυτά του καπνού γίνεται με ταχύ ρυθμό από την 41^η και 75^η ΗΜΜ. Την περίοδο αυτή προσλαμβάνεται το 89% του ολικού Mg που προσλαμβάνεται από το φυτό (Σχήμα 5a). Την 61^η ΗΜΜ το

Virginia. Οι McCants και Woltz (1967) αναφέρουν ότι το κύριο μακροστοιχείο για την ανάπτυξη καπνών Virginia είναι το K, αλλά η προσλαμβανόμενη ποσότητα K ή Ca από τα φύλλα εξαρτάται από τις συνθήκες θρέψης του καπνού και τη διαθεσιμότητα του Ca (Elliot 1978). Το 90% του ολικού Ca στο φυτό προσλαμβάνεται μεταξύ 41^η και 75^η ΗΜΜ, που αντιστοιχεί βεβαίως στην περίοδο ταχείας μεταβολής στην πρόσληψη Ca (Σχήμα 5a). Η περίοδος ταχείας μεταβολής στο ρυθμό κατανομής του προσλαμβανόμενου Ca στα φύλλα εντοπίζεται μεταξύ 34^η και 75^η ΗΜΜ, στα στελέχη μεταξύ 41^η και 90^η ΗΜΜ και στις ρίζες μεταξύ 48^η και 90^η ΗΜΜ (Σχήματα 1a, 2a, 3a). Την περίοδο αυτή προσλαμβάνεται το 95, 98 και 98%, του ολικού Ca φύλλων, στελεχών και ριζών. Τα ποσοστά αυτά αντιπροσωπεύουν το 58, 14 και 4% του ολικού Ca που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα αντίστοιχα φυτικά τμήματα στο φυτό. Η ποσότητα Ca που περιείχε το φυτό κατά τη φυσιολογική ωρίμανση ήταν 9,6 g m⁻² στα φύλλα, 2,3 g m⁻² στα στελέχη και 3,9 g m⁻² στις ρίζες, που αντιπροσωπεύουν το 49, 25 και 27% του ολικού Ca στο φυτό. Κατά τη βλαστική περίοδο από τη μεταφύτευση έως την 48^η ΗΜΜ το Ca που έχει προσληφθεί και κατανεμηθεί στα φύλλα, στελέχη και ρίζες αποτελεί ένα μικρό μέρος του ολικού Ca στο φυτό. Συγκεκριμένα την περίοδο αυτή βρέθηκαν 2,5, 0,3 και 0,17 g m⁻², στα φύλλα, στελέχη και ρίζες,



Σχήμα 5. (α) Καμπύλες παραγωγής ολικής ξηράς φυτομάζας (ΟΞΦ) και πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων κατά τη βλαστική περίοδο καπνού Virginia.

(β) Ρυθμός παραγωγής ΟΞΦ και πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων σε καπνά Virginia.

Figure 5. (a) Dry matter accumulation and nutrients uptake curves over a growing season of Virginia tobacco.

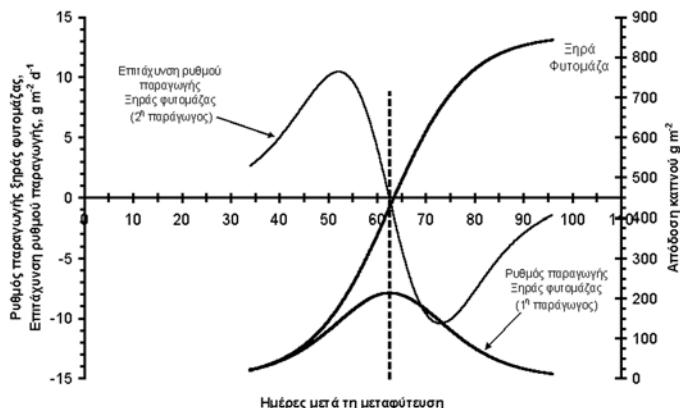
(b) Crop growth rate and nutrient uptake rate over a growing season of Virginia tobacco.

– φυσιολογική ωρίμανση, το Mg που είχε προσληφθεί και κατανεμηθεί στα φύλλα, στελέχη και ρίζες ήταν 0,4, 0,1 και 0,002 g m⁻² και αντιστοιχεί στο 13, 2 και 1%, αντίστοιχα, του ολικού Mg που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα αντίστοιχα φυτική τμήματα του καπνού. Κατά το στάδιο μπουμπουκιάσματος – κορυφολογήματος τα φύλλα, στελέχη και ρίζες περιείχαν 1,4, 0,5 και 0,8 g Mg m⁻², αντίστοιχα. Οι τιμές αυτές αντιπροσωπεύουν το 95, 70, και 90% του ολικού Mg που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα φύλλα, στελέχη και ρίζες, κατά τη φυσιολογική ωρίμανση και αντιστοιχούν στο 48, 16 και 26%, του ολικού Mg που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα αντίστοιχα φυτική τμήματα του καπνού.

Η μέγιστη ημερήσια πρόσληψη Mg στα φύλλα παρατηρείται την 56^η ΗμΜ με 0,38 g m⁻², στα στελέχη την 67^η ΗμΜ με 0,17 g m⁻² και στις ρίζες την 64^η ΗμΜ με 0,22 g m⁻² (Σχήματα 1b, 2b, 3b).

φυτό προσλαμβάνει 0,8 g Mg m⁻², που είναι και η μέγιστη ημερήσια ποσότητα πρόσληψης. Η περίοδος ταχείας μεταβολής στο ρυθμό κατανομής του προσλαμβανόμενου Mg στα φύλλα παρατηρείται μεταξύ της 41^{ης} και 75^{ης} ΗμΜ, όπου προσλαμβάνεται και κατανέμεται το 95% του ολικού Mg των φύλλων και αντιστοιχεί στο 48% του ολικού Mg του φυτού (Σχήμα 1b). Η περίοδος ταχείας μεταβολής στο ρυθμό κατανομής του προσλαμβανόμενου Mg στα στελέχη παρατηρείται μεταξύ της 41^{ης} και 75^{ης} ΗμΜ, όπου προσλαμβάνεται και κατανέμεται το 96% του ολικού Mg των στελεχών και αντιστοιχεί στο 21% του ολικού Mg του φυτού (Σχήμα 2b). Η περίοδος ταχείας μεταβολής στο ρυθμό κατανομής του προσλαμβανόμενου Mg στις ρίζες παρατηρείται μεταξύ της 48^{ης} και 90^{ης} ΗμΜ, όπου προσλαμβάνεται και κατανέμεται το 99% του ολικού Mg των ριζών και αντιστοιχεί στο 28% του ολικού Mg του φυτού (Σχήμα 3b).

Κατά τη φυσιολογική ωρίμανση, η ποσότητα Mg που περιείχε το φυτό ήταν 3,03 g m⁻², κατανεμημένη ως εξής: 1,54 g m⁻² στα φύλλα, 0,6 g m⁻² στα στελέχη και 0,87 g m⁻² στις ρίζες. Οι ποσότητες αυτές αντιπροσωπεύουν το 50, 21 και 28%, αντίστοιχα του ολικού Mg που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα αντίστοιχα φυτική τμήματα του καπνού. Το πρώτο ήμισυ της περιόδου: μεταφύτευση



Σχήμα 6. Καμπύλες ρυθμού ανάπτυξης, ρυθμού παραγωγής ξηράς φυτομάζας (1^η παράγωγος) και ρυθμού επιτάχυνσης παραγωγής ξηράς φυτομάζας (2^η παράγωγος), φυτών καπνού Virginia κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου.

Figure 6. Dry matter accumulation curve, crop growth rate curve (1st derivative) and crop growth acceleration curve (2nd derivative), over a growing season of Virginia tobacco.

Κατά τη φυσιολογική ωρίμανση τα φύλλα περιείχαν $0,5 \text{ g m}^{-2}$, τα στελέχη $0,25 \text{ g m}^{-2}$ και οι ρίζες $0,27 \text{ g m}^{-2}$ στις ρίζες, που αντιπροσωπεύουν το 49, 25 και 27% του ολικού P των αντίστοιχων φυτικών τμημάτων στο φυτό. Από τη μεταφύτευση έως την 48^η ΗμΜ, ο P που είχε προσληφθεί και κατανεμηθεί στα φύλλα, στελέχη και ρίζες ήταν $0,16, 0,01$ και $0,01 \text{ g m}^{-2}$ που αντιστοιχεί στο 16, 25 και 26%, του ολικού P των αντίστοιχων φυτικών τμημάτων στο φυτό. Κατά το βλαστικό στάδιο μπουμπουκιάσματος – κορυφολογήματος τα φύλλα, στελέχη και ρίζες περιείχαν $0,5, 0,24$ και $0,24 \text{ g P m}^{-2}$, αντίστοιχα. Οι τιμές αυτές αντιπροσωπεύουν το 98, 96, και 90% του ολικού P που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα φύλλα, στελέχη και ρίζες, την αντίστοιχη περίοδο και αντιπροσωπεύουν το 49, 25 και 26%, του ολικού P που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα φύλλα, στελέχη και ρίζες του φυτού. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι και ο φώσφορος προσλαμβάνεται στα πρώτα στάδια βλαστικής ανάπτυξης του καπνού και μάλιστα πριν το στάδιο του κορυφολογήματος. Η μέγιστη ημερήσια ποσότητα P που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα φύλλα παρατηρείται την 52^η ΗμΜ με $0,12 \text{ g m}^{-2}$, στα στελέχη την 61^η ΗμΜ με $0,06 \text{ g m}^{-2}$ και στις ρίζες την 64^η ΗμΜ με $0,07 \text{ g m}^{-2}$ (Σχήματα 1b, 2b, 3b).

Παραγωγή ξηράς φυτομάζας και πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων από το υπέργειο μέρος του φυτού

Η παραγωγή (απόδοση) ξηράς φυτομάζας στο υπέργειο τμήμα του φυτού εμφανίζει μία περίοδο ταχείας μεταβολής μεταξύ 48^{ης} και 90^{ης} ΗμΜ (Σχήμα 4a). Έως την 48^η ΗμΜ έχει παραχθεί το 12% της ξηράς φυτομάζας του φυτού, έχει προσληφθεί και κατανεμηθεί το 18% του N, το 13,4% του K, το 17,6% του Ca, το 15,3% του Mg και το 17,2% του P του φυτού. Κατά το στάδιο μπουμπουκιάσματος - κορυφολογήματος, στο υπέργειο τμήμα του φυτού (φύλλα και στελέχη) έχει παραχθεί το 62% της ξηράς φυτομάζας του φυτού, έχει προσληφθεί και κατανεμηθεί το 75,6% του N, το 67,2% του K, το 74% του P, το 70,6% του Ca και το 64,3% του Mg του φυτού. Οι Atkinson κ.ά. (1977) εργαζόμενοι με καπνά Burley, αναφέρουν ότι μόνο το 18% της ξηράς φυτομάζας του υπέργειου τμήματος του φυτού παράγεται κατά την περίοδο του πρώτου ημίσεως της βλαστικής περιόδου. Οι Grizzard κ.ά. (1942) εργαζόμενοι με καπνά Virginia, αναφέρουν ότι κατά το πρώτο ήμισυ μιας καλλιεργητικής περιόδου 90 ημερών παράγεται, στο υπέργειο μέρος του, το 18% της ξηράς φυτομάζας του φυτού.

Η μέγιστη ημερήσια παραγωγή ξηράς φυτομάζας στο υπέργειο τμήμα του φυτού εντοπίζεται την 62^η ΗμΜ με $159,9 \text{ g m}^{-2}$ (Σχήμα 4b). Η μέγιστη ημερήσια πρόσληψη και κατανομή N στο υπέργειο τμήμα του φυτού παρατηρείται την 55^η ΗμΜ με $3,43 \text{ g m}^{-2}$ (Σχήμα 4b). Η μέγιστη ημερήσια πρόσληψη και κατανομή K, Ca, Mg

Πρόσληψη φωσφόρου (P)

Στην περίπτωση του P από την 41^η έως την 75 ΗμΜ προσλαμβάνεται το 96% του ολικού P στο φυτό (Σχήμα 5a) και χαρακτηρίζεται ως η περίοδος ταχείας μεταβολής στην πρόσληψή του. Τη 55^η ΗμΜ παρατηρείται η μέγιστη ημερήσια προσλαμβανόμενη ποσότητα P ίση με $0,24 \text{ g m}^{-2}$. Στα φύλλα η περίοδος ταχείας μεταβολής στο ρυθμό κατανομής του προσλαμβανόμενου P παρατηρείται μεταξύ 34^{ης} και 61^{ης} ΗμΜ, στα στελέχη μεταξύ 41^{ης} και 75^{ης} ΗμΜ και στις ρίζες μεταξύ 48^{ης} και 90^{ης} ΗμΜ (Σχήματα 1a, 2a, 3a). Την περίοδο αυτή προσλαμβάνεται το 94, 95 και 99% του ολικού P φύλλων, στελεχών και ριζών. Οι ποσότητες αυτές αντιπροσωπεύουν το 46, 24 και 26% του ολικού P που προσλαμβάνεται και κατανέμεται στα αντίστοιχα φυτικά τμήματα του καπνού.

και P στο υπέργειο τμήμα του φυτού παρατηρείται την 57^η, 56^η, 58^η και 55^η ΗαΜ με 3,13, 2,98, 0,54 και 0,19 g m⁻², αντίστοιχα (Σχήμα 4b). Παρατηρούμε ότι η μέγιστη ημερήσια πρόσληψη όλων των θρεπτικών στοιχείων που κατανέμονται στο υπέργειο μέρος του φυτού, παρατηρείται 5 έως 7 ημέρες ενωρίτερα από τη μέγιστη ημερήσια παραγωγή ξηράς φυτομάζας. Οι Raper και McCants (1967), αναφέρουν ότι σε καπνά Virginia το 50% του N και του K του φυτού κατανέμεται στο υπέργειο τμήμα τα πρώτα βλαστικά στάδια του καπνού και συγκεκριμένα από την 35^η έως την 42^η ΗμΜ και ότι η πρόσληψη και κατανομή του Ca, Mg και P γίνεται με ένα σχετικά σταθερό ρυθμό σε όλη τη διάρκεια της περιόδου ανάπτυξης των φυτών. Ο Atkinson et al. (1977), Bruns και McIntosh (1988), και Bertinsson κ.ά. (1970) εργαζόμενοι με καπνά Burley, Maryland και καπνά περιτυλίγματος πούρων, αντίστοιχα, αναφέρουν ότι η ημερήσια πρόσληψη και κατανομή των θρεπτικών συστατικών στο υπέργειο μέρος των φυτών ήταν μεγαλύτερη στα τελευταία στάδια της ανάπτυξής των.

Η κατανομή των θρεπτικών στοιχείων ήταν διαφορετική στα φυτικά τμήματα του καπνού, όπως φαίνεται στα Σχήματα 1, 2, 3. Το μεγαλύτερο μέρος του N (60%) και Ca (59%) κατανεμήθηκε στα φύλλα, με αποτέλεσμα να απομακρύνονται από τον αγρό με τη συλλογή των φύλλων. Αντίθετα το μεγαλύτερο μέρος του K, που προσλήφθηκε από το φυτό κατανεμήθηκε στα στελέχη (36%) και στις ρίζες (29%) και θεωρητικά επιστρέφει πίσω στο έδαφος. Το Mg και ο P που προσλήφθηκαν κατανεμήθηκαν εξ ίσου στο φυτικό τμήμα που απομακρύνεται (φύλλα 48-49%) και σ' αυτό που παραμένει στο έδαφος (στελέχη και ρίζες).

Συμπεράσματα

- Κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου του καπνού, παρατηρείται μία περίοδος όπου η παραγωγή ξηράς φυτομάζας καθώς επίσης η πρόσληψη και κατανομή των θρεπτικών στοιχείων στα φυτικά τμήματα του καπνού, γίνεται με έντονο ρυθμό. Η περίοδος αυτή διαφέρει μεταξύ των φυτικών τμημάτων του καπνού ως προς την έναρξη αλλά και ως προς την διάρκεια της.
- Η περίοδος ταχείας παραγωγής ξηράς φυτομάζας και πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων από φυτά καπνού Virginia συμπίπτει με το βλαστικό στάδιο γόνατος και ταχείας επιμήκυνσης των εκπυσσομένων φύλλων και εντοπίζεται μεταξύ 41^{ης} έως 75^{ης} ΗμΜ, που σημαίνει ότι στο διάστημα αυτό συντελούνται οι περισσότερες δραστηριότητες του φυτού. Επομένως το φυτό πρέπει να έχει, την περίοδο αυτή, στη διάθεσή του τις απαιτούμενες ποσότητες θρεπτικών στοιχείων.
- Για χονδρόκοκκα εδάφη συνιστάται εφαρμογή του 1/3 της ποσότητας των N-ούχων και K-ούχων λιπασμάτων 2-3 ημέρες πριν τη μεταφύτευση και των 2/3, 25-30 ημέρες μετά τη μεταφύτευση. Για λεπτόκοκκα εδάφη αντίθετα η εφαρμογή του μεγαλύτερου μέρους (2/3) των λιπασμάτων μπορεί να γίνεται 25-30 ημέρες πριν τη μεταφύτευση και του υπόλοιπου (1/3) 25-30 ημέρες μετά τη μεταφύτευση.

Dry matter accumulation and nutrient uptake by flue-cured tobacco (Virginia)

N. K. Moustakas¹ and H. Ntzanis²

Abstract

A two-year field experiment was conducted in Agrinio, western Greece, to determine dry matter (DM) accumulation and N, K, P, Ca, and Mg uptake in flue-cured (Virginia) tobacco plants. Plants were collected at weekly intervals starting from the 35th day after transplantation (DAT) to physiological maturity (96th DAT). After each sampling each plant was separated in leaves, stalks and roots, oven dried, weighed and analyzed for nutrients concentration. Dry matter accumulation and nutrient uptake and distribution in plant parts are

characterized by a sigmoid curve described satisfactorily by the logistic equation: $W = \left[\frac{\alpha}{1 + e^{(b-ct)}} \right]$

¹ Agricultural Univ. of Athens, Soil Sci. and Agr. Chemistry Lab.

² NAGREF, Agrinio Tobacco Station

A rapid period of dry matter accumulation in leaves, stalks and roots was observed with different starting date and duration in plant parts. A rapid period of uptake and distribution of N, K, P, Ca and Mg, in leaves, stalks and roots was also observed with different starting date and duration in plant parts. The maximum daily dry matter accumulation as well as the maximum daily uptake and distribution of N, K, P, Ca and Mg rate, in leaves, stalks and roots differs between plant parts in date in which observed the maximum value and in the height of value.

Key words: Logistic equation, crop growth rate, crop nutrient uptake and distribution rate, daily crop growth rate, daily nutrient uptake and distribution rate

Βιβλιογραφία

- Atkinson, W.O., L.P. Bush, and J.L. Sims. 1977. Dry matter and nutrient accumulation in Burley tobacco. *Tob. Sci.* 21: 81-82.
- Bertinuson, T.A., E. Larssen, B. Teveris, M. Comfort, and M. Petersen. 1970. Nutrient uptake and dry matter accumulation of Connecticut shade-grown wrapper tobacco for three consecutive years. *Tob. Sci.* 14:155-157.
- Bruns, H.A., and M.S. McIntosh. 1988. Growth rates and nutrients concentrations in Maryland tobacco. *Tob. Sci.* 32: 82-87.
- Collins, W. K., and S.N. Hawks. 1993. Principles of flue-cured production. 1st edition. N. C. State University, Raleigh, NC.
- Doorenbos, J., and W.O. Pruitt. W.O. 1977. Crop water requirements. Irrigation and Drainage. Paper 24 (revised). FAO, Rome.
- Εθνικός Οργανισμός Καπνού, Καπνολογικό Ινστιτούτο Δράμας. (1996) Οδηγός καλλιέργειας καπνού, Ανατολικά – Virginia. – Burley. Δράμα 1996.
- Elliot, J.M. 1978. A survey of flue-cured tobacco grown in Ontario in 1976. Part II. Nutrient elements. *Lighter* 47:19-21.
- FAO-UNESCO. 1973. Carte bioclimatique de la zone Mediterranee. O.N.M. Paris.
- Flower, F.C. 1999. Field practices. In D. Layten Davis and M.T. Nielsen (ed). Tobacco, Production, Chemistry and Technology. Blackwell Science, Inc. Oxford, U.K.
- Frere, M. 1979. A method for the practical application of the Penman formula for the estimation of potential evapotranspiration and evaporation from free water surface. FAO, AGP:Eco/1979/1. Rome.
- Hunt, R. 1982. Plant Growth Curves. Edward Arnold (Publ.) Ltd. London.
- Grizzard, A.L., H.R. Davies, and L.R. Kangas. 1942. The time and rate of nutrients absorption by flue-cured tobacco. *Agron. J.* 34:327-339.
- Machura, M., and A. Mulawa. 1973. Rosenbrock function minimization. Algorithm 450. *Comm. ACM* 16:482-483.
- McCants, C.B., and W.G. Woltz. 1967. Growth and mineral nutrition of tobacco. *Advances in Agronomy* 19:211-265.
- Miner, G.S., and M.R. Tucker. 1990. Plant Analysis as an aid in fertilizing Tobacco. p. 645-657. In R.L. Westerman (ed). Soil testing and plant analysis". 3rd ed. SSSA Book Ser. 3. SSSA Madison, Wi.
- Mylonas, V.A., and E.A. Pangos 1980. Dry matter and nutrient accumulation in various plant parts of oriental neutral type tobacco. CORESTA Congress. 20-24 Nov. Manila, Phillipines.
- Page A. L. 1982. Chemical and microbiological properties. In A.L. Page (ed.). Methods of soil analysis. Part 2. 2nd edition. Agronomy 9. Am. Soc. of Agronomy, Inc. Madison, Wi.
- Penman, H.L. 1948. Natural evaporation from open water, bare soils s and grass. *Proc. Royal Society A.* 193:120-146.
- Raper, C.D., and C.B. McCants. 1967. Nutrient accumulation in Flue-cured tobacco. *Tob. Sci.* 11:190.
- Sifola, M.I., and Postiglione, L. 2002. Effect of increasing nitrogen availability on yield and quality of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Burley type. *Agri. Med.*, 132:33-43.
- Suzuki, M., T. Shinohara, and K. Kona. 1970. Studies on the growth and the absorption of nutrients by burley tobacco plants growth on Ando soils ("Kuruboku"). *Morioka Lab. Tob. Exp. Sta. Bull.* (3):91-109.

Πολυαμίνες

I. Δομή, μεταβολισμός και τρόπος δράσης

Θεοδώρα Σ. Πρίτσα¹, Δημήτριος Γ. Βογιατζής¹ και Γρηγόριος Χ. Διαμαντίδης²

Περίληψη

Οι πολυαμίνες είναι αλειφατικές, μικρού μοριακού βάρους, πολυκατιονικές ενώσεις. Οι σημαντικότερες από αυτές είναι η πουτρεσκίνη (διαμίνη), η σπερμιδίνη (τριαμίνη) και η σπερμίνη (τετραμίνη), που απαντώνται σε ελεύθερη ή μη μορφή. Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι πολυαμίνες εμπλέκονται σε όλα τα στάδια αύξησης και ανάπτυξης των φυτών και γι' αυτό έχουν κινήσει το ερευνητικό ενδιαφέρον την τελευταία εικοσαετία. Οι θεωρίες που αφορούν στον τρόπο δράσης τους περιλαμβάνουν τον ρόλο τους ως κατιόντων, δευτερογενών αγγελιοφόρων ή ορμονών. Στην παρούσα ανασκόπηση, με βάση επιλεγμένη βιβλιογραφία, δίνονται στοιχεία της βιοχημείας, της βιοσύνθεσης του ενδιάμεσου μεταβολισμού των πολυαμινών και καταγράφονται οι διαφορετικές απόψεις που αφορούν τον τρόπο δράσης τους, με σκοπό να γίνει κατανοητός ο ρόλος τους στα φυτά.

Λέξεις κλειδιά: βιοσύνθεση πολυαμινών, καταβολισμός πολυαμινών, πουτρεσκίνη, σπερμιδίνη, σπερμίνη

1. Εισαγωγή

Οι πολυαμίνες είναι αλειφατικές, μικρού μοριακού βάρους αζωτούχες ενώσεις (Πίν.Ι). Οι κυριότερες είναι η διαμίνη πουτρεσκίνη (Put), η τριαμίνη σπερμιδίνη (Spd) και η τετραμίνη σπερμίνη (Spm) και πιθανολογείται ότι απαντώνται σε όλα τα ανώτερα φυτικά και ζωικά είδη. Από αυτές, μόνο η σπερμίνη δεν έχει ανιχνευτεί σε προκαρυωτικά κύτταρα (Galston and Kaur-Sawhney 1995). Σε ψυχανθή έχει προσδιοριστεί και η διαμίνη καδαβερίνη (Cad) (Huang et al. 2001).

Με την ανάπτυξη των μεθόδων χημικής ανάλυσης καθώς και με την ανακάλυψη των ενζύμων που συμμετέχουν στη βιοσύνθεσή τους οι πολυαμίνες μελετήθηκαν από πολλούς ερευνητές (Seiler 1977), αλλά προσέλυσαν ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον μετά τον συσχετισμό τους με τα στάδια του βιολογικού κύκλου του κυττάρου (Serafini-Fracassini 1991). Μέρος της μελέτης τους σε ζωικούς οργανισμούς αφορά τη σχέση τους με την κυτταροδιαίρεση και τον σχηματισμό άμορφης μάζας κυττάρων (καρκίνωμα) (Bardócz and White 1999). Στα φυτά έχουν συσχετισθεί με μεγάλο αριθμό διεργασιών αύξησης και ανάπτυξης (Evans and Malmberg 1989, Scoccianti et al. 2000), από τη διαίρεση, τη διαφοροποίηση των κυττάρων και την προστασία σε συνθήκες καταπόνησης, έως και τον γηρασμό (Galston and Kaur-Sawhney 1990, Chattopadhyay and Ghosh 1998, Bouchereau et al. 1999, Del Duca et al. 2000, Kakkar et al. 2000, Pandey et al. 2000). Εντούτοις, δεν έχει διευκρινιστεί έως σήμερα ο ακριβής τρόπος δράσης τους (Huang et al. 2001).

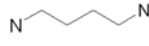
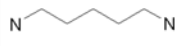
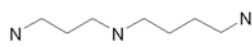
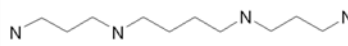
Η μοριακή προσέγγιση στη μελέτη της βιοσύνθεσης των πολυαμινών, τεχνικές βιοτεχνολογίας όπως η κλωνοποίηση των γονιδίων των ενζύμων της βιοσύνθεσής τους και η δημιουργία φυτών μεταλλαγμένων ως προς τον μεταβολισμό τους, έδωσε ώθηση στην έρευνα του ρόλου τους στα ανώτερα φυτά (Martin-Tanguy 1997, Malmberg et al. 1998, Primikiriou and Roubelakis-Angelakis 1999). Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι ο ρόλος τους είναι ορμονικός ή τις κατατάσσουν στην ευρύτερη ομάδα των ρυθμιστών αύξησης των φυτών. Άλλοι ερευνητές θεωρούν ότι δρουν έμμεσα ως δευτερογενείς αγγελιοφόροι, ή "τυχαία", ως κατιόντα, με μη εξειδικευμένη δράση.

Σκοπός της ανασκόπησης αυτής είναι η σύντομη καταγραφή, με βάση επιλεγμένη βιβλιογραφία, των

¹ Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Βιολογίας Οπωροκηπευτικών Φυτών, 54 124 Θεσσαλονίκη (e-mail: voyiatzi@agro.auth.gr)

² Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Γεωργικής Χημείας, 54 124 Θεσσαλονίκη

Πίνακας 1. Δομή των ευρέως διαδεδομένων πολυαμινών .

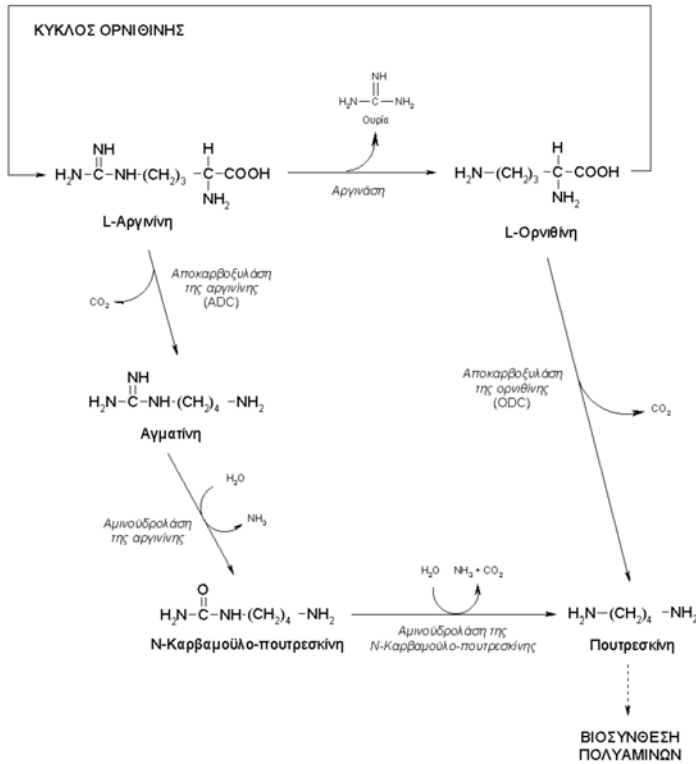
Πουτρεσκίνη	$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$
Put	 1,4-Διαμινοβουτάνιο ($\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}_2$)
Καδαβερίνη	$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$
Cad	 1,5-Διαμινοπεντάνιο ($\text{C}_5\text{H}_{14}\text{N}_2$)
Σπερμιδίνη	$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$
Spd	 N-[3-Αμινοπροπυλο]-1,4-βουτανοδιαμίνη ($\text{C}_7\text{H}_{19}\text{N}_3$)
Σπερμίνη	$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$
Spm	 N-N'-δι-[3-Αμινοπροπυλο]-1,4-βουτανοδιαμίνη ($\text{C}_{10}\text{H}_{26}\text{N}_4$)

νεότερων πληροφοριών που αφορούν τη δομή, τον μεταβολισμό και τους πιθανούς τρόπους δράσης των πολυαμινών. Αυτό μπορεί να βοηθήσει στην πληρέστερη κατανόηση του ρόλου των ουσιών αυτών στις φυσιολογικές διεργασίες των φυτών και να οδηγήσει σε νέα πεδία έρευνας.

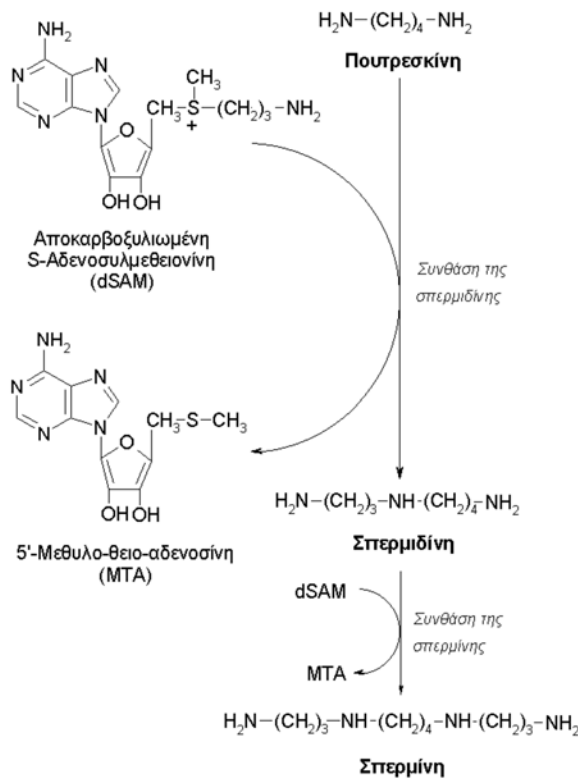
2. Μεταβολισμός και διαμερισματοποίηση των πολυαμινών

Η διαμίνη πουτρεσκίνη είναι προϊόν της αποκαρβοξυλίωσης του αμινοξέος ορνιθίνης, με δράση του ενζύμου *αποκαρβοξυλάση της ορνιθίνης* (ODC: *ornithine decarboxylase*, EC 4.1.1.17). Συντίθεται επίσης από το αμινοξύ αργινίνη με ενδιάμεσο προϊόν την αγματίνη, που προκύπτει από την αποκαρβολύλιωση της αργινίνης με δράση του ενζύμου *αποκαρβοξυλάση της αργινίνης* (ADC: *arginine decarboxylase*, EC 4.1.1.19) (Slocum 1991) (Σχ.1). Στα φυτά και στα βακτήρια η πουτρεσκίνη συντίθεται και με τις δύο μεταβολικές οδούς, ενώ στους μύκητες μόνο με τη δράση της ODC, αφού στερούνται του ενζύμου ADC (Tabor and Tabor 1984, Tiburcio et al. 1997).

Εάν θα ακολουθηθεί η βιοσυνθετική οδός της ODC ή της ADC, εξαρτάται από το φυτικό είδος, το είδος και το στάδιο της φυσιολογίας του φυτικού ιστού και τις συνθήκες του περιβάλλοντος (Faust and Wang 1992, Tarengghi and Martin-Tanguy 1995). Για παράδειγμα, σε αναπτυσσόμενους καρπούς τομάτας η πουτρεσκίνη συντίθεται δια της οδού της ODC (Alabadí and Carbonell 1998). Παρουσία αναστολέων της δράσης του ενζύμου αυτού αποδείχθηκε ότι η οδός της ADC δεν ενεργοποιείται εναλλακτικά (Cohen et al. 1982). Αντίθετα, οι Tiburcio et al. (1989) διαπίστωσαν ότι η σύνθεση πουτρεσκίνης κατά τον σχηματισμό ριζικών καταβολών οφείλεται στη δράση της



Σχ. 1. Μεταβολική οδός βιοσύνθεσης πουτρεσκίνης στα φυτά (κατά Slocum 1991).



Σχ. 2. Βιοσύνθεση σπερμιδίνης και σπερμίνης από την πουτρεσκίνη (κατά Slocum 1991).

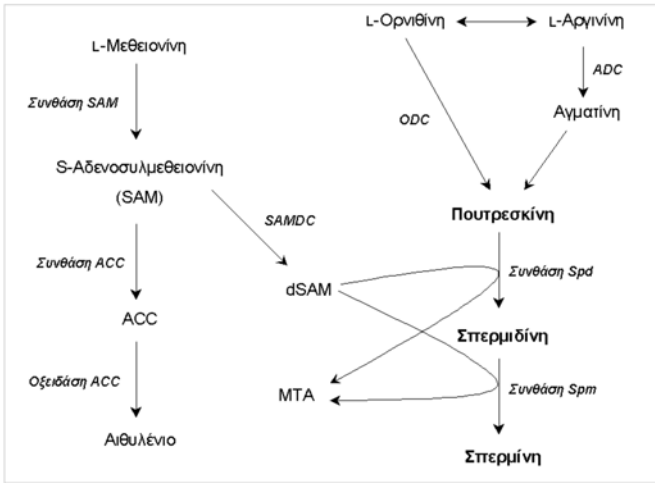
(Σχ.3).

Οι πολυαμίνες εμπλέκονται και στον μεταβολισμό των αλκαλοειδών. Συγκεκριμένα, με μεθυλίωση της πουτρεσκίνης παράγονται αλκαλοειδή της ομάδας της τροπίνης (tropane alkaloids), ενώ από την πουτρεσκίνη και τη σπερμιδίνη παράγεται ομο-σπερμιδίνη, που είναι πρόδρομος ένωση των αλκαλοειδών της ομάδας των πυρρολιζιδινών (pyrrolizidine alkaloids). Σημαντική έρευνα έχει διεξαχθεί σχετικά με την παραγωγή αλκαλοειδών από τις πολυαμίνες, κυρίως σε σχέση με την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος των φυτών (Graser and Hartmann 1997, Ford et al. 1998, Graser and Hartmann 2000).

Στον καταβολισμό των πολυαμινών το πρώτο στάδιο αποτελεί η οξειδωτική απαμίνωσή τους, με ενζυμική δράση. Η πουτρεσκίνη οξειδώνεται με τη δράση διαμινο-οξειδάσης (DAO, EC 1.4.3.6), ενώ η σπερμιδίνη και η σπερμίνη με τη δράση πολυαμινο-οξειδάσης (PAO, EC 1.5.3.3). Τα ένζυμα αυτά ανιχνεύθηκαν στον αποπλάστη και συσχετίστηκαν με τη λιγνινοποίηση και σκλήρυνση των κυτταρικών τοιχωμάτων (Bouchereau et al. 1999). Με τη δράση των DAO παράγονται υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), αμμωνία (NH_3) και αλδεΐδη, η οποία μπορεί να δεχθεί περαιτέρω οξείδωση. Με την δράση των PAO επί της σπερμιδίνης και της σπερμίνης παράγεται διαμινο-προπάνιο και πυρρολίνη ή 1,5-διαζω-δικυκλοεννάνιο (1,5-diazabicyclononane), αντίστοιχα (Σχ.4) (Bagni and Torrigiani 1992). Εκτός από το ότι συμβάλλουν στη μείωση της συγκέντρωσης πολυαμινών στους ιστούς, τα ένζυμα καταβολισμού τους και τα προϊόντα της δράσης τους έχουν συσχετισθεί με διάφορες διεργασίες της αύξησης και της ανάπτυξης των φυτών. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 4, παράγονται ενώσεις που εμπλέκονται στον κύκλο του αζώτου και στον μεταβολισμό του κυττάρου, γενικότερα. Ερευνητικό πεδίο μεγάλου ενδιαφέροντος αποτελεί η παραγωγή H_2O_2 , το οποίο επηρεάζει την αύξηση των ιστών μεταβάλλοντας τον πολυμερισμό και τη συνδετική ικανότητα των πολυμερών των κυτταρικών τοιχωμάτων (Bouchereau et al. 1999).

ADC. Γενικά, η ODC έχει συνδεθεί με την κυτταροδιαίρεση και μελετήθηκε ευρέως στα θηλαστικά λόγω της εμπλοκής της στο σχηματισμό καρβινικών κυττάρων, ενώ η ADC έχει συνδεθεί, κυρίως, με την τάνυση των κυτταρικών τοιχωμάτων, και ειδικότερα με μη μιτωτικές διεργασίες (Tiburcio et al. 1997, Malmberg et al. 1998). Επίσης, στη δράση της ADC έχει αποδοθεί η συσσώρευση πολυαμινών που παρατηρείται σε φυτά που αναπτύσσονται σε αντίξοες συνθήκες, δηλαδή βρίσκονται σε κατάσταση καταπόνησης, γι' αυτό και έχει χαρακτηριστεί ως "ένζυμο καταπόνησης" (Slocum 1991, Edreva et al. 1998, Kakkar et al. 2000).

Με την προσθήκη μίας αμινοπρότυλο-ομάδας στην πουτρεσκίνη παράγεται η τριαμίνη σπερμιδίνη και με προσθήκη μίας δεύτερης αμινοπρότυλο-ομάδας στη σπερμιδίνη παράγεται η τετραμίνη σπερμίνη (Σχ.2). Οι δύο αυτές διαδοχικές αντιδράσεις καταλύονται από τα ένζυμα *συνθήκη της σπερμιδίνης* (EC 2.5.1.16) και *συνθήκη της σπερμίνης* (EC 2.5.1.22), αντίστοιχα. Δότης της αμινοπρότυλο-ομάδας είναι η αποκαρβοξυλιωμένη S-αδενοσυλμεθειονίνη, που παράγεται με τη δράση του ενζύμου *αποκαρβοξυλάση της S-αδενοσυλμεθειονίνης* (SAMDC: *S-Adenosylmethionine decarboxylase*, EC 4.1.1.50). Εναλλακτικά, η S-αδενοσυλμεθειονίνη διοχετεύεται στη μεταβολική οδό βιοσύνθεσης αιθυλενίου (Bagni and Torrigiani 1992)



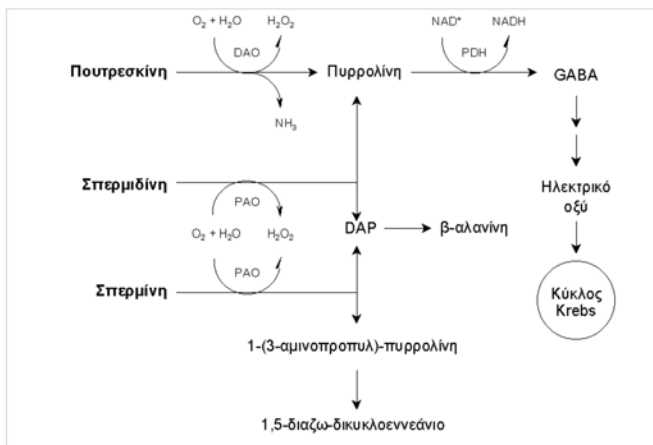
Σχ. 3. Απλοποιημένη σχηματική παράσταση βιοσύνθεσης πολυαμινών (Πρίτσα 2000).

ACC: 1-αμινο-κυκλοπροπάνιο-1-καρβοξυλικό οξύ, ADC: αποκαρβοξυλάση της αργινίνης, dSAM: αποκαρβοξυλιωμένη SAM, MTA: 5'-Μεθυλο-θειο-αδενοσίνη, ODC: αποκαρβοξυλάση της ορνιθίνης, SAMDC: αποκαρβοξυλάση της SAM, Spd: σπερμιδίνη, Spm: σπερμίνη.

Οι επιμέρους αντιδράσεις του μεταβολισμού των πολυαμινών έχουν μελετηθεί με τη χρήση επισημασμένων (^{13}C , ^{14}C , ^3H) υποστρωμάτων (αμινοξέων) και ειδικών αναστολέων της δράσης των ενζύμων (Evans and Malmberg 1989) (Πίν.ΙΙ).

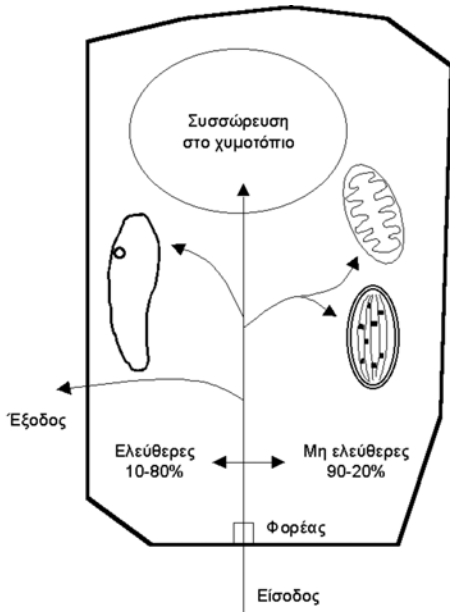
Πολυαμίνες έχουν βρεθεί σε διάφορα κυτταρικά οργανίδια όπως στα χυμοτόπια, όπου αποθηκεύονται κυρίως, στα μιτοχόνδρια, στον πυρήνα και στους χλωροπλάστες (Σχ.5) (Slocum 1991). Η πουτρεσκίνη και η σπερμίνη συσσωρεύονται κυρίως στο κυτόπλασμα και στο κυτταρικό τοίχωμα, αντίστοιχα (Pistocchi et al. 1987, Tiburcio et al. 1997, Scoccianti 2000). Στη διαμερισματοποίηση των πολυαμινών και των ενζύμων μεταβολισμού τους εντός του κυτάρου, καθώς και στη διαθεσιμότητα των δύο πρόδρομων αμινοξέων, αποδόθηκε η επιλεκτική δράση των δύο ενζύμων, της ODC ή της ADC, που οδηγεί στην αντίστοιχη οδό βιοσύνθεσης (Shargool et al. 1988, Faust and Wang 1992).

Κατά τους Primikiriou and Roubelakis-Angelakis (1999), το επίπεδο των ενδογενών πολυαμινών εξαρτάται από: (α) τα ενδοκυτταρικά αποθέματα σε πολυαμίνες, (β) τη διαθεσιμότητα πρόδρομων αμινοξέων, (γ) τον ρυθμό βιοσύνθεσης της πουτρεσκίνης, (δ) τον ρυθμό σύνθεσης σπερμιδίνης και σπερμίνης από την πουτρεσκίνη, (ε) τη δράση των ενζύμων καταβολισμού (οξειδωσης) και (στ) τη μετάβαση από την “ελεύθερη” στη συζευγμένη μορφή και αντίστροφα.



Σχ 4. Σχηματική παράσταση καταβολισμού πολυαμινών με οξειδωτική αποικοδόμηση (από Bouchereau et al. 1999).

DAO: Διαμινο-οξειδάση, DAP: Διαμινο-προπάνιο, GABA: γ-Αμινο-βουτυρικό οξύ, PAO: Πολυαμινο-οξειδάση, PDH: Αφυδροφογώωση της πυρρολίνης.



Σχ. 5. Διαμερισματοποίηση πολυαμινών στο κύτταρο (από Bagni and Torrigiani 1992).

αυξινών (Bagni and Pistocchi 1991, Kanchanaroom et al. 1991, Bagni and Torrigiani 1992). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε “διευκολυνόμενη” είσοδος τους στο χυμοτόπιο διαμέσου του τονοπλάστη, ενεργός είσοδος τους στο “στρώμα” του μιτοχονδρίου και ενεργός κίνησή τους διαμέσου του πλασμαλήμματος (Pistocchi et al. 1990, Antognoni et al. 1995, Tiburcio et al. 1997).

4. Μορφές πολυαμινών και τρόπος δράσης τους

Οι πολυαμίνες απαντώνται στους οργανισμούς σε *ελεύθερη* (free form) και μη μορφή. Στο κυτταρικό pH

Πίνακας 2. Οι συνθέστερα χρησιμοποιούμενοι αναστολείς της δράσης των ενζύμων της βιοσύνθεσης των πολυαμινών (από Evans and Malmberg 1989).

DFMO	Διφθορο-μεθυλο-ορνιθίνη <i>Αναστολέας αποκαρβοξυλάσης της ορνιθίνης (ODC)</i>
DFMA	Διφθορο-μεθυλο-αργινίνη <i>Αναστολέας αποκαρβοξυλάσης της αργινίνης (ADC)</i>
MGBG	Μεθυλο-γλυοξάλ-δι(γουανυλδραζόνη) <i>Αναστολέας αποκαρβοξυλάσης της SAM (SAMDC)</i>
CHA	Κυκλοεξυλαμίνη <i>Αναστολέας σύνθεσης της σπερμιδίνης</i>

3. Μετακίνηση πολυαμινών εντός του φυτού

Η πρώτη ένδειξη μετακίνησης των πολυαμινών αφορά την ανίχνευση ελεύθερων πολυαμινών στο φλοιώμα και στο ξύλωμα φυτικών ειδών, γεγονός που επιβεβαίωσε τη μεταφορά τους σε μεγάλες αποστάσεις (Friedman et al. 1986, Bagni and Pistocchi 1991, Antognoni et al. 1998, Kuznetsov et al. 2002). Επίσης, με εξωγενή εφαρμογή επισήμασμένων πολυαμινών αποδείχθηκε η δυνατότητα απορρόφησής τους από το ριζικό σύστημα και μετακίνησής τους στο υπέργειο τμήμα του φυτού. Η ακροπέταλη κίνησή τους είναι ταχύτατη, εξαρτώμενη, κυρίως, από τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία και λαμβάνει χώρα με την κινητήρια δύναμη που προκαλείται από τη διαπνοή και τη ριζική πίεση. Βασιπέταλη κίνησή τους ανιχνεύτηκε σε μικρότερο βαθμό. Ενδείξεις της πρόσληψής τους από τους φυτικούς ιστούς και της βασιπέταλης κίνησης που ακολουθεί, προέκυψαν με εξωγενή εφαρμογή τους στο υπέργειο τμήμα. Γενικά, η κίνηση των πολυαμινών στο φυτό είναι μη πολική και εξυπηρετεί τις ανάγκες των διαφόρων φυτικών οργάνων τα οποία έχουν διαφορετική ικανότητα σύνθεσης και περιεκτικότητα πολυαμινών (Rabiti et al. 1989, Bagni and Pistocchi 1991, Tiburcio et al. 1997, Kuznetsov et al. 2002).

Σε κυτταρικό επίπεδο η μετακίνηση των πολυαμινών πραγματοποιείται με μεγάλη ταχύτητα, με τη βοήθεια πρωτεϊνικών φορέων ή αντλιών και ενισχύεται από την παρουσία

βρίσκονται συνήθως με την ιονική τους (ελεύθερη) μορφή (Flores and Martin-Tanguy 1991, Bouchereau et al. 1999). Λόγω του ευθύγραμμου και μικρού μήκους “σκελετού” τους οι πολυαμίνες είναι “ευέλικτες” και μπορούν να αλληλεπιδρούν με άλλα μόρια, με ηλεκτροστατικές δυνάμεις ή δεσμούς υδρογόνου, γεγονός που προκαλεί αλλαγές στη στερεοχημική δομή και στη δράση τους (Bagni and Torrigiani 1992).

Οι “μη ελεύθερες” πολυαμίνες, που συνήθως υπερέχουν ποσοτικά των ελεύθερων, μπορεί να φτάσουν έως και το 90% του συνόλου των πολυαμινών του φυτικού σώματος (Evans and Malmberg 1989, Smith 1991, Walden et al. 1997). Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει τις *διαλυτές συζευγμένες* (soluble conjugated) καθώς και τις *αδιάλυτες συζευγμένες* (insoluble conju-

gated), που αναφέρονται και ως δεσμευμένες (bound) πολυαμινες.

Οι *διαλυτές συζευγμένες* είναι σύμπλοκα πολυαμινών με ενώσεις μικρού μοριακού βάρους, κυρίως φαινόλες. Ευρέως διαδεδομένα σε φυτικά και ζωικά κύτταρα είναι τα αμιδιά του υδροξυ-κινναμωμικού οξέος που σχηματίζονται με ένωση πολυαμινών και υδροξυ-κινναμωμικού οξέος, με αμιδικό δεσμό (Kotzabasis and Senger 1994, Scoccianti et al. 2000). Οι *αδιάλυτες συζευγμένες* μορφές είναι σύμπλοκα πολυαμινών με ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους, όπως φωσφολιπίδια, πρωτεΐνες, συστατικά κυτταρικών τοιχωμάτων (ουρονικά οξέα και λγνίνη), νουκλεϊκά οξέα και συστατικά ριβοσωμάτων. Τα σύμπλοκα σταθεροποιούνται με ανάπτυξη πολυαριθμων δεσμών υδρογόνου ή με ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις (Smith 1991, Kotzabasis and Senger 1994, Scoccianti et al. 2000).

Οι Tassoni et al. (1996) αναφέρουν ότι οι πολυαμινες, εκτός από την “τυχαία” αλληλεπίδραση τους με άλλα μόρια, σχηματίζουν και δεσμούς εξειδικευμένους, οι οποίοι εξαρτώνται από την απόσταση των φορτίων σε αμφότερα τα αντιδρώντα μόρια. Η ιδιότητα αυτή είναι χαρακτηριστικό και των φυτικών ορμονών (Weyers and Paterson 2001). Παράδειγμα του γεγονότος αυτού αποτελούν τα σύμπλοκα πολυαμινών με νουκλεϊκά οξέα, που σχηματίζονται με δεσμούς δύο τύπων. Ο ένας είναι εξειδικευμένος και απαιτεί τμήμα νουκλεϊκού οξέος με συγκεκριμένη αλληλουχία βάσεων. Ο δεύτερος αφορά μη εξειδικευμένους δεσμούς, που δημιουργούνται λόγω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ νουκλεϊκών οξέων (αρνητικό φορτίο) και πολυαμινών (θετικό φορτίο) (Creus et al. 1991).

Η μελέτη του τρόπου δράσης των πολυαμινών στηρίζεται σε πειράματα στα οποία μελετήθηκαν: (α) τα επίπεδα των ενδογενών πολυαμινών και οι ενεργότητες των ενζύμων μεταβολισμού τους, (β) η αντίδραση των φυτών σε εξωγενώς εφαρμοζόμενες πολυαμινες, (γ) η αύξηση και ανάπτυξη των φυτών παρουσία αναστολέων της βιοσύνθεσης των πολυαμινών, (δ) η μετακίνηση και ο μεταβολισμός επισημασμένων (^{13}C , ^{14}C , ^3H) πολυαμινών που εφαρμόζονται εξωγενώς και (ε) η συμπεριφορά φυτών μεταλλαγμένων ως προς τον μεταβολισμό των πολυαμινών (Egea-Cortines and Mizrahi 1991, Tiburcio et al. 1997, Walden et al. 1997, Malmberg et al. 1998, Scoccianti et al. 2000).

Ο κύριος όγκος του ερευνητικού έργου σε θέματα πολυαμινών αναφέρεται στην ελεύθερη μορφή πούτρεσκήνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης. Η μορφή αυτή αποτελεί, όπως προαναφέρθηκε, ένα μικρό μέρος της συνολικής τους ποσότητας στους φυτικούς ιστούς. Από τη δεκαετία του '80 το ενδιαφέρον προσανατολίστηκε στις συζευγμένες πολυαμινες και αποδείχθηκε ότι έχουν ιδιαίτερο ρόλο στη φυσιολογία του φυτού (Bagni 1991, Creus et al. 1991, Flores and Martin-Tanguy 1991, Scoccianti et al. 2000). Οι *διαλυτές συνεζευγμένες* πολυαμινες επηρεάζουν στάδια της ανάπτυξης των φυτών, όπως είναι η ανθογονία, η άνθηση και η αύξηση καρπού και σπερμάτων, καθώς και η αντοχή σε ασθένειες (Martin-Tanguy et al. 1988, Flores and Martin-Tanguy 1991, Havelange et al. 1996, Martin-Tanguy 1997). Οι *αδιάλυτες συνεζευγμένες* πολυαμινες επιδρούν στη διαπερατότητα αλλά και στη σταθεροποίηση των μεμβρανών και του κυτταρικού τοιχώματος, εμποδίζοντας τη γήρανση των ιστών (Altman et al. 1977, Schuber et al. 1983, Schuber 1989, Faust and Wang 1992, Tassoni et al. 1996, Del Duca et al. 2000, Pandey et al. 2000). Μελέτες του ρόλου τους στην ανθογονία και καρποφορία έδειξαν εξειδίκευση δράσης τόσο ως προς την μορφή (ελεύθερη ή μη), όσο και ως προς το είδος (κυρίως μεταξύ σπερμιδίνης και σπερμίνης) της πολυαμίνης (Kakkar and Rai 1993). Για παράδειγμα, η ολική (ελεύθερη και μη) σπερμίνη αποτέλεσε ποιοτικό δείκτη, ενώ η ελεύθερη σπερμιδίνη ποσοτικό δείκτη της παρεναιτοφορίας της ελιάς (Πρίτσα κ.ά. 2003).

Η δέσμευση των πολυαμινών στο κυτταρικό τοίχωμα πιθανολογείται ότι γίνεται με ανάπτυξη δεσμών με τη λγνίνη και τα ουρονικά οξέα, αντικαθιστώντας τα ιόντα Ca^{2+} στις θέσεις δέσμευσής τους, με διαφορετική επιλεκτικότητα για τις διάφορες πολυαμινες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα: (α) την επίδραση στην τάνυση των κυτταρικών τοιχωμάτων λόγω μείωσης του pH στο περιβάλλον του κυτταρικού τοιχώματος, (β) την αναγνώριση της πηκτίνης από τις μεθυλεστεράσες και (γ) τη ρύθμιση της αλληλεπίδρασης ξενιστή-παθογόνου. Συνεπώς, η δημιουργία τέτοιων συμπλόκων μπορεί να επηρεάσει τη μορφολογία, τη λειτουργία και την επιβίωση του κυττάρου (Messiaen et al. 1997, Messiaen and Van Cutsem 1999).

Με ενζυμική δράση τρανσγλουταμινασών (EC 2.3.2.13), που είναι Ca^{2+} -εξαρτώμενα ένζυμα, σχηματίζονται σύμπλοκα μεταξύ πολυαμινών και πρωτεϊνών (Tiburcio et al. 1997). Αποτέλεσμα είναι η μεταβολή του ηλεκτρικού φορτίου και η τροποποίηση του πρωτεϊνικού μορίου (Serafini-Fracassini et al. 1995). Επιπλέον, με τη δημιουργία συμπλόκων με ένζυμα, επηρεάζεται άμεσα η μεταβολική δραστηριότητα του κυττάρου (Bouchereau et al. 1999). Τέλος, με τη δημιουργία δεσμών μεταξύ πολυαμινών και νουκλεϊκών οξέων, που αναφέρθηκαν παραπάνω, σταθεροποιείται η δομή διπλής έλικας και το γενετικό υλικό προστατεύεται από τη δράση των πολυμερασών (Creus et al. 1991, Bagni and Torrigiani 1992, D' Agostino and Di Luccia 2002).

Βασίζόμενοι στις παραπάνω ιδιότητες και τη “συμπεριφορά” των πολυαμινών σε κυτταρικό επίπεδο, οι

ερευνητές προσπαθούν να ερμηνεύσουν τον τρόπο με τον οποίο δρουν οι πολυαμίνες στους φυτικούς οργανισμούς. Μέχρι σήμερα έχουν διατυπωθεί τρεις θεωρίες που αναφέρουν ότι ο τρόπος δράσης τους είναι: (α) ορμονικός, (β) δευτερογενών μεταφορέων μηνυμάτων και (γ) ιοντικός, μη εξειδικευμένος.

Στο Διεθνές Συνέδριο Ρυθμιστών Αύξησης των Φυτών, το 1982, έγινε αποδεκτός ο χαρακτηρισμός “ρυθμιστές αύξησης” για τις πολυαμίνες (Davis 1995). Κατά τον Galston (Davis 1995) η κατάταξη των ουσιών αυτών στους ρυθμιστές αύξησης στηρίζεται στις εξής παρατηρήσεις: (α) απαντώνται σε όλα τα φυτικά κύτταρα και μπορούν να επηρεάσουν την αύξηση και ανάπτυξη σε σχετικά μικρές συγκεντρώσεις (mM) και (β) φυτά γενετικά τροποποιημένα ως προς την περιεκτικότητά τους σε πολυαμίνες δεν παρουσιάζουν φυσιολογική ανάπτυξη. Έως και σήμερα πολλοί ερευνητές χαρακτηρίζουν τις πολυαμίνες ως “ρυθμιστές αύξησης”, αποφεύγοντας τον όρο “ορμόνες” που είναι πιο εξειδικευμένος (Bagni and Torrigiani 1992, Rajasekaran and Blake 1999).

Η συγκέντρωση των πολυαμινών στους φυτικούς ιστούς είναι υψηλή, σε σχέση με αυτή των “γνωστών” ρυθμιστών αύξησης. Σε κυτταρικό όμως επίπεδο παρατηρείται, όπως προαναφέρθηκε, κατανομή τους στα διάφορα κυτταρικά οργανίδια και μόνο σε ένα μικρό ποσοστό παραμένουν ελεύθερες στο κυτόπλασμα (Σχ.5) (Tiburcio et al. 1997). Διαμερισματοποίηση παρατηρήθηκε και για τα ένζυμα που συμμετέχουν στον μεταβολισμό των πολυαμινών. Ο καταμερισμός πολυαμινών και ενζύμων θα μπορούσε να ερμηνεύσει την αντίδραση του φυτού, η οποία αφορά μεταβολικές διεργασίες επηρεαζόμενες από μικρές συγκεντρώσεις πολυαμινών, παρά την συνολικά υψηλή συγκέντρωσή τους στους ιστούς (Torrighiani et al. 1986, Bagni 1991, Bagni and Torrigiani 1992).

Η δεύτερη θεωρία υποστηρίζει ότι οι πολυαμίνες δρουν ως δευτερευόντες αγγελιοφόροι (second messengers), μεταφέροντας ορμονικά μηνύματα (Galston 1983). Ο Kauss (1996) ανέφερε δέσμευσή τους από το ένζυμο συνθάση της καλλόξης, σαν αποτέλεσμα της λήψης μηνύματος για σύνθεση καλλόξης. Με τον τρόπο αυτό το ένζυμο ενεργοποιείται. Άλλοι, αμφισβητούν τη δράση των πολυαμινών ως απλών αγγελιοφόρων, οι οποίοι δρουν σε υψηλές συγκεντρώσεις. Η άποψη αυτή στηρίχθηκε σε πειράματα εξωγενούς εφαρμογής πολυαμινών σε συγκεντρώσεις χαμηλές, παρόμοιες με αυτές στις οποίες δρουν οι “γνωστοί” ρυθμιστές αύξησης (Bagni and Torrigiani 1992).

Κατά την τρίτη θεωρία η δράση των πολυαμινών οφείλεται στο γεγονός ότι συμπεριφέρονται ως κατιόντα, ρυθμίζοντας το pH, την ωσμωτική και ιοντική ομοιοστασία του κυττάρου και εξασφαλίζοντας την ακεραιότητα και λειτουργικότητα των μακρομορίων, των μεμβρανών και του κυτταρικού τοιχώματος (Edreva et al. 1998). Η άποψη αυτή στηρίζεται στο ότι: (α) λαμβάνοντας υπόψη το σύνολο των μορφών τους (ελεύθερες και μη), οι πολυαμίνες ανιχνεύονται σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις, σε σχέση με αυτές των “γνωστών” ρυθμιστών αύξησης, (β) η μεταφορά τους σε μεγάλες αποστάσεις δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως και (γ) παρατηρήθηκε συσώρευση πολυαμινών (πυρροσκόνης, σπερμιδίνης και σπερμίνης) σε συνθήκες έλλειψης ανόργανων κατιόντων (κυρίως K⁺) στους φυτικούς ιστούς (Bouchereau et al. 1999).

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η διαμόρφωση της αντίδρασης του φυτού στις πολυαμίνες ερμηνεύεται από τη δράση των ενζύμων βιοσύνθεσής τους, την ταχύτητα μετατροπής τους από ελεύθερες σε μη και αντιστρόφως, την είσοδό τους στα κυτταρικά οργανίδια και τη μεταφορά τους διαμέσου πλασμοδεσμών (Bagni 1991). Με τη μοριακή προσέγγιση στις λειτουργίες αυτές έχουν προκύψει ενδείξεις με βάση τις οποίες διατυπώθηκαν οι θεωρίες που αφορούν τον τρόπο δράσης των πολυαμινών, ο οποίος όμως δεν έχει μέχρι σήμερα διευκρινιστεί. Με βάση τα ήδη υπάρχοντα πειραματικά δεδομένα διανοίγονται νέα πεδία έρευνας στο θέμα της διευκρίνισης του ρόλου και του τρόπου δράσης των ουσιών αυτών.

Polyamines

I. Structure, metabolism and mode of action

Theodora S. Pritsa¹, Demetrios G. Voyiatzis¹ and Gregorios C. Diamantidis²

Abstract

Polyamines (PAs) are aliphatic, polycations, of low molecular weight. The major PAs are putrescine (diamine), spermidine (triamine) and spermine (tetramine), which are present in free, conjugated or bound form. There is evidence suggesting their implication in all stages of plant growth and development, so that they

¹ Aristotelian University of Thessaloniki, Faculty of Agriculture, Lab. of Biology of Horticultural Plants, 54 124 Thessaloniki (e-mail: voyiatzi@agro.auth.gr)

² Aristotelian University of Thessaloniki, Faculty of Agriculture, Lab. of Agricultural Chemistry, 54 124 Thessaloniki

have attracted ample scientific interest in the last two decades. Their role has not yet been clearly defined and according to various theories their mode of action concerns cationic, second messenger or hormonal function. In the present review, based on selected literature, the PA biochemistry, including biosynthesis and metabolism, is presented together with a brief description of the various aspects on their mode of action, in order to clarify their role in plant function. A better understanding of this role may initiate further research for the benefit of our knowledge for this interesting class of substances.

Key words: polyamine biosynthesis, polyamine catabolism, putrescine, spermidine, spermine

Βιβλιογραφία

- Alabadí, D. and Carbonell, J. 1998. Expression of ornithine decarboxylase is transiently increased by pollination, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and gibberellic acid in tomato ovaries. *Plant Physiol.* 118: 323-328.
- Altman, A., Kaur-Sawhney, R. and Galston, A. 1977. Stabilization of oat leaf protoplasts through polyamine-mediated inhibition of senescence. *Plant Physiol.* 60: 570-574.
- Antognoni, F., Fornalé, S., Grimmer, C., Konor, E. and Bagni, N. 1998. Long-distance translocation of polyamines in phloem and xylem of *Ricinus communis* L. plants. *Planta* 204: 520-527.
- Antognoni, F., Pistocchi, R., Casali, P. and Bagni, N. 1995. Does calcium regulate polyamine uptake in carrot protoplasts? *Plant Physiol. Biochem.* 33(6): 701-708.
- Bagni, N. 1991. Transport and compartmentation of polyamines in plants. In: Galston A.W. and Tiburcio A.F. (eds). *Lecture Course on Polyamines as Modulators of Plant Development*. Fundacion Juan March, Madrid, pp. 27-29.
- Bagni, N. and Pistocchi, R. 1991. Uptake and transport of polyamines and inhibitors of polyamine metabolism in plants. In: Slocum, R.D. and Flores, H.E. (eds). *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A, pp. 105-121.
- Bagni, N. and Torrigiani, P. 1992. Polyamines: A new class of growth substances. In: Kassen, C.M., van Loon, L.C. and Vreugdenhil, D. (eds.). *Progress in Plant Growth Regulation*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 264-275.
- Bardócz, S. and White, A. 1999. Polyamines in health and nutrition. www.Wkap.nl/book.htm/0-412-82220-2. Kluwer Academic Publishers, Boston, 352 pp.
- Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F. and Martin-Tanguy, J. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sci.* 140: 103-125.
- Chattopadhyay, M.K. and Ghosh, B. 1998. Molecular analysis of polyamine biosynthesis in higher plants. *Curr. Sci.* 74(6): 517-522.
- Cohen, E., Arad, S.M., Heimer, Y.M. and Mizrahi, Y. 1982. Participation of ornithine decarboxylase in early stages of tomato fruit development. *Plant Physiol.* 70: 540-543.
- Creus, J.A., Encuentra, A., Cavaldá, E.G. and Barcelo J. 1991. Binding of polyamines to different macromolecules in plant. In: Galston A.W. and Tiburcio A.F. (eds). *Lecture Course on Polyamines as Modulators of Plant Development*. Fundacion Juan March, Madrid.
- D' Agostino, L. and Di Luccia, A. 2002. Polyamines interact with DNA as molecular aggregates. *Eur. J. Biochem.* 269(17): 4317-4325.
- Davis, P.J. 1995. The plant hormones: their nature, occurrence and function. In: Davis, P.J. (ed.). *Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology* (2nd edition). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 1-12.
- Del Duca, S., Dondini, L., Della Mea, M., Munoz de Rueda, P. and Serafini-Fracassini, D. 2000. Factors affecting transglutaminase activity catalysing polyamine conjugation to endogenous substrates in the entire chloroplast. *Plant Physiol. Biochem.* 38(6): 429-439.
- Edreva, A., Yordanov, I., Kardjieva, R. and Gesheva, E. 1998. Heat shock responses of bean plants: involvement of free radicals, antioxidants and free radical/active oxygen scavenging systems. *Biol. Plant.* 41(2): 185-191.
- Egea-Cortines, M. and Mizrahi, Y. 1991. Polyamines in cell division, fruit set and development, and seed germination. In: Slocum, R.D. and Flores, H.E. (eds). *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A, pp. 143-158.

- Evans, P.T. and Malmberg, R. 1989. Do polyamines have role in plant development? *Annu. Rev. Plant Physiol.* 40: 235-269.
- Faust, M. and Wang A.Y. 1992. Polyamines in horticulturally important plants. *Hort. Rev.* 14: 333-356.
- Flores, H.E. and Martin-Tanguy, J. 1991. Polyamines and plant secondary metabolites. In: Slocum, R.D. and Flores, H.E. (eds). *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A, pp. 57-76.
- Ford, Y.Y., Ratcliffe, R.G. and Robins, R.J. 1998. In vivo nuclear-magnetic-resonance analysis of polyamine and alkaloid metabolism in transformed root cultures of *Datura stramonium* L.: evidence for the involvement of putrescine in phytohormone-induced de-differentiation. *Planta* 205: 205-213.
- Friedman, R.A., Levin, N. and Altman A. 1986. Presence and identification of polyamines in xylem and phloem exudates of plants. *Plant Physiology* 82: 1154-1157.
- Galston, A.W. 1983. Polyamines as modulators of plant development. *BioScience* 33(6): 382-388.
- Galston, A.W. and Kaur-Sawhney, R. 1990. Polyamines in plant physiology. *Plant Physiol.* 94: 406-410.
- Galston, A.W. and Kaur-Sawhney, R. 1995. Polyamines as endogenous growth regulators. In: Davies P.J. (ed.), *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, pp. 158-178.
- Graser, G. and Hartmann, T. 1997. Biosynthetic incorporation of the aminobutyl group of spermidine into pyrrolizidine alkaloids. *Phytochemistry* 45(8): 1591-1595.
- Graser, G. and Hartmann, T. 2000. Biosynthesis of spermidine, a direct precursor of pyrrolizidine alkaloids in root culture of *Senecio vulgaris* L. *Planta* 211: 239-245.
- Havelange, A., Lejeune, P., Barnier, G., Kaur-Sawhney, R. and Galston, W. 1996. Putrescine export from leaves in relation to floral transition in *Sinapis alba*. *Physiol. Plant.* 96: 59-65.
- Huang, X.-L., Li, X.-J., Yin, L. and Huang, L.-Z. 2001. The effect of AOA on ethylene and polyamine metabolism during early phases of somatic embryogenesis in *Medicago sativa*. *Physiol. Plant.* 113: 424-429.
- Kakkar, R.K., Bhaduri, S., Rai, V.K. and Kumar, S. 2000. Amelioration of NaCl Stress by Arginine in Rice Seedlings: Changes in Endogenous Polyamines. *Biol. Plant.* 43(3): 419-422.
- Kakkar, R.K. and Rai, V.K. 1993. Plant polyamines in flowering and fruit ripening. *Phytochemistry* 33: 1281-1288.
- Kanchanapoom, M., Antognoni, F., Pistocchi, R. and Bagni, N. 1991. Effect of auxins on spermine uptake into carrot protoplasts. *Physiol. Plant.* 82: 19-23.
- Kauss, H. 1996. Callose synthesis. In: Smallwood, M., Knox, J.P. and Bowles, D.J. (Eds.). *Membranes: Specialized Function in Plants*. BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford, U.K., pp. 77-92.
- Kotzabasis, K. and Senger, H. 1994. Free, conjugated and bound polyamines during the cell cycle in synchronized cultures of *Scenedesmus obliquus*. *Z. Naturforsch.* 49c: 181-185.
- Kuznetsov, V.V., Rakitin, V.Y., Sadomov, N.G., Dam, D.V., Stetsenko, L.A. and Shevyakova, N.I. 2002. Do polyamines participate in long-distance translocation of stress signals in plants? *Russ. J. Plant Physiol.-Engl. Tr.* 49(1): 120-130.
- Malmberg, R.L., Watson, M.B., Galloway, G. and Yu, W. 1998. Molecular genetic analyses of plant polyamines. *Crit. Rev. Plant Sci.* 17(2): 199-224.
- Martin-Tanguy, J. 1997. Conjugated polyamines and reproductive development: biochemical, molecular and physiological approaches. *Physiol. Plant.* 100: 675-688.
- Martin-Tanguy, J., Martin, C., Paynot, M. and Rossin, N. 1988. Effect of hormone treatment on growth bud formation and free amine and hydroxycinnaloyl putrescine levels in leaf explant of *Nicotiana tabacum* cultivated in vitro. *Plant Physiol.* 88: 600-604.
- Messiaen, J. and Van Cutsem, P. 1999. Polyamines and pectins. II. Modulation of pectic-signal transduction. *Planta* 208: 247-256.
- Messiaen, J., Cambier, P. and Van Cutsem, P. 1997. Polyamines and pectins. I. Ion exchange and selectivity. *Plant Physiol.* 113: 387-395.
- Pandey S. Ranade S.A., Nagar P.K. and Kumar N. 2000 Role of polyamines and ethylene as modulators of plant senescence. *J. Biosc.* 258(3): 291-299.
- Pistocchi, R., Antognoni, F., Bagni, N. and Zannoni, D. 1990. Spermidine uptake by mitochondria of *Helianthus tuberosus*. *Plant Physiol.* 92: 690-695.

- Pistocchi, R., Bagni, N. and Creus, J.A. 1987. Polyamine uptake in carrot cell cultures. *Plant Physiol.* 84: 374-380.
- Primikiriou, N.I. and Roubelakis-Angelakis, A. 1999. Cloning and expression of an arginine decarboxylase cDNA from *Vitis vinifera* L. cell-suspension cultures. *Planta* 208: 574-582.
- Πρίτσα, Θ. 2000. Διερεύνηση του ρόλου φυσιολογικών και χημικών παραγόντων στην οργανογενετική και οντογενετική ικανότητα της ελιάς (*Olea europaea* L.). Διδακτορική διατριβή. Θεσσαλονίκη 2000.
- Πρίτσα, Θ., Δ. Βογιατζής και Γ. Διαμαντίδης. 2003. Διακυμάνσεις ενδογενών πολυαμινών σε ωθήζες και φύλλα ελιάς κατά την περίοδο άνθησης και καρπόδεσης και σχέση με την παρειναυροφορία του δένδρου. *Πρακτικά ΕΕΕΟ* 10: 167-170.
- Rabiti A.L., Pistocchi, R. and Bagni, N. 1989. Putrescine uptake and translocation in higher plants. *Physiol. Plant.* 77: 225-230.
- Rajasekaran, L.R. and Blake, T.J. 1999. New plant growth regulators protect photosynthesis and enhance growth under drought of jack pine seedlings. *J. Plant Growth Regul.* 18: 175-181.
- Schuber, F. 1989. Influence of polyamines on membrane function. *Biochemistry J.* 260: 1-10.
- Schuber, F., Hong, K., Dószgónes, N. and Papahadjopoulos, D. 1983. Polyamines as modulators of membrane fusion: aggregation and fusion of liposomes. *Biochemistry* 22: 6134-6140.
- Scoccianti, V., Sgarbi, E., Fraternali, D. and Biondi, S. 2000. Organogenesis from *Solanum melongena* L. (eggplant) cotyledon explants is associated with hormone-modulated enhancement of polyamine biosynthesis and conjugation. *Protoplasma* 211: 51-63.
- Seiler, N. 1977. Chromatography of biogenic amines. I. Generally applicable separation and detection methods. *J. Chromatogr.* 143: 221-146.
- Serafini-Fracassini, D. 1991. Cell cycle-dependent changes in plant polyamine metabolism. In: Slocum, R.D. and Flores, H.E. (eds). *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A, pp. 159-174.
- Serafini-Fracassini, D., Del Duca, S. and Beninati, S. 1995. Plant transglutaminases. *Phytochemistry* 40(2): 355-365.
- Shargool, P.D., Jain, J.C. and McKay, G. 1988. Ornithine biosynthesis, and arginine biosynthesis and degradation in plant cells. *Phytochemistry* 27(6): 1571-1574.
- Slocum, R.D. 1991. Polyamine biosynthesis in plants. In: Slocum, R.D. and Flores, H.E. (eds). *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A, pp. 23-40.
- Smith, T. A. 1991. Occurrence and distribution of polyamines in the plant kingdom. In: Galston A.W. and Tiburcio A.F. (eds). *Lecture Course on Polyamines as Modulators of Plant Development*. Fundacion Juan March, Madrid, pp. 15-18.
- Tabor, C.W. and Tabor, H. 1984. Polyamines. *Annu. Rev. Biochem.* 53: 749-790.
- Tarengi, E. and Martin-Tanguy, J. 1995. Polyamines, floral induction and floral development of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.). *Plant Growth Regul.* 17: 157-165.
- Tassoni, A., Antognoni, F. and Bagni, N. 1996. Polyamine binding to plasma membrane vesicles isolated from zucchini hypocotyls. *Plant Physiol.* 110: 817-824.
- Tiburcio, A.F., Altabella, T., Borrell, A. and Masgrau, C. 1997. Polyamine metabolism and its regulation. *Physiol. Plant.* 100(3): 664-674.
- Tiburcio, A.F., Gendy, C.A. and Tran Thanh, Van K. 1989. Morphogenesis in tobacco subepidermal cells: putrescine as marker for root differentiation. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 19: 43-54.
- Torrigiani, P., Serafini-Fracassini, D., Biondi, S. and Bagni, N. 1986. Evidence for the subcellular localization of polyamines and their biosynthetic enzymes in plant cells. *J. Plant Physiol.* 124: 23-29.
- Walden, R., Cordeiro, A. and Tiburcio, A.F. 1997. Polyamines: small molecules triggering pathways in plant growth and development. *Plant Physiol.* 113: 1009-1013.
- Weyers, J.D.B. and N.W. Paterson 2001. Plant hormones and the control of physiological processes. *New Phytol.* 152: 375-407.

Πολυαμίνες

Π. Ο ρόλος τους στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών

Θεοδώρα Σ. Πρίτσα¹ και Δημήτριος Γ. Βογιατζής¹

Περίληψη

Η σχέση των πολυαμινών με τον σχηματισμό και την αύξηση των φυτικών οργάνων είναι αποδεδειγμένη. Η συγκέντρωσή τους εμφανίζεται αυξημένη κατά το στάδιο της κυτταροδιαίρεσης και του έντονου ρυθμού αύξησης και μειώνεται καθώς το φυτικό όργανο ολοκληρώνει την αύξησή του και οδηγείται προς τη γήρανση. Λόγω της επίδρασής τους στη διαίρεση και διαφοροποίηση των κυττάρων έχει μελετηθεί ο ρόλος τους σε όλα τα στάδια αύξησης και ανάπτυξης των φυτών. Η ανασκόπηση αυτή αναφέρεται στη συμμετοχή των πολυαμινών σε βασικές λειτουργίες των φυτών, που αφορούν τη φύτευση, τη βλαστική αύξηση, τη διαφοροποίηση ριζικών καταβολών και ανθικών μεριστωμάτων, τη βλάστηση της γύρης, την εμβρυογένεση, την αύξηση και ωρίμανση των καρπών, τη γήρανση των κυττάρων και των ιστών, καθώς και την αντίδραση των φυτών σε συνθήκες καταπόνησης.

Λέξεις κλειδιά: ανθογονία, καταπόνηση, πουτρεσκίνη, ριζογένεση, σπερμιδίνη, σπερμίνη

1. Εισαγωγή

Υπάρχουν πολλές ενδείξεις συμμετοχής των πολυαμινών στη διαίρεση, τάνυση και διαφοροποίηση των κυττάρων και σε διάφορα στάδια αύξησης και ανάπτυξης του φυτού, χωρίς, έως σήμερα, να έχει διευκρινιστεί ο ακριβής τρόπος δράσης τους (Bouchereau et al. 1999, Torrigiani 1996, Tassoni et al. 2000). Οι Galston and Kaur-Sawhney (1995) αναφέρουν ότι φυτικοί ιστοί που βρίσκονται σε έντονη κυτταροδιαίρεση, εμφανίζουν υψηλή συγκέντρωση σε πολυαμίνες, ενώ το αντίθετο συμβαίνει σε ιστούς στους οποίους συμβαίνει τάνυση των κυτταρικών τοιχωμάτων. Γενικά, πολυαμίνες έχουν ανιχνευτεί σε μεγάλες ποσότητες σε φυτικούς ιστούς που βρίσκονται σε έντονη μεταβολική δραστηριότητα. Η παρουσία τους και η δράση των ενζύμων μεταβολισμού τους έχει συνδεθεί με τη φύτευση (Bagni 1970, Kyriakidis 1983) και τη μορφογένεση των σποροφύτων (Slocum et al. 1984), το στάδιο νεανικότητας (Königshofer 1989, Fraga et al. 2003), τη διαφοροποίηση των οφθαλμών, την άνθηση και τη γονιμοποίηση (Tarenghi and Martin-Tanguy 1995), την καρπόδεση (Biasi et al. 1988) και την αύξηση του καρπού (Egea-Cortines and Mizrahi 1991). Συσώρευση πολυαμινών έχει παρατηρηθεί σε αναπτυσσόμενα όργανα, όπως σε άνθη και ωοθήκες καπνού (Slocum and Galston 1985), τομάτας (Cohen et al. 1982), μηλιάς (Costa and Bagni 1983, Biasi et al. 1988) και εσπεριδοειδών (Kushad et al. 1990). Οι πολυαμίνες εμφανίστηκαν συγκεντρωμένες στα αυξανόμενα μεσογονάτια, στα νεαρά φύλλα και στις ωοθήκες, ενώ πολύ μικρότερη ήταν η συγκέντρωσή τους στα ώριμα μεσογονάτια της βάσης του στελέχους, στα πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα και στα καρπίδια (Kaur-Sawhney and Applewhite 1993, Fujihara and Yoneyama 2001).

Κατά τη διάρκεια της έντονη κυτταρική διαίρεση έχει επίσης παρατηρηθεί έντονη δράση των ενζύμων ADC (αποκαρβοξυλάση της αργινίνης, *arginine decarboxylase*), ODC (αποκαρβοξυλάση της ορνιθίνης, *ornithine decarboxylase*) και SAMDC (αποκαρβοξυλάση της S-αδενοσυλομεθειονίνης, *S-Adenosylmethionine decarboxylase*) της βιοσύνθεσης των πολυαμινών (Biasi et al. 1988, Egea-Cortines and Mizrahi 1991). Σε πολλές περιπτώσεις η δράση των ενζύμων αυτών ενισχύθηκε με την εφαρμογή ρυθμιστών αύξησης (Biasi et al. 1988), όπως αυξινών, κυτοκινινών, αμπισικινικού ξέος και γιββερελλικού οξέος (Kyriakidis 1983, Foudouli and Kyriakidis 1990, Davies 1997, Mazewska-Sawka et al. 1997, Scoccianti et al. 2000).

Λόγω της σύνδεσης των μεταβολικών οδών βιοσύνθεσης πολυαμινών και αιθυλενίου, διερευνάται ο ρόλος των πολυαμινών στον γηρασμό των κυττάρων και των ιστών (Slocum 1991, Kakkar et al. 2000, Πέτκου κ.ά. 2003). Αντικείμενο έρευνας αποτελεί επίσης ο ρόλος και ο μηχανισμός δράσης των πολυαμινών σε φυτά που αναπτύσσο-

¹ Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Βιολογίας Οπωροκηπευτικών Φυτών, 54 124 Θεσσαλονίκη (e-mail: voyiatzi@agro.auth.gr)

νται σε συνθήκες καταπόνησης (Evans and Malmberg 1989, Galston and Kaur-Sawhney 1995, Galston et al. 1997, Bouchereau et al. 1999). Κατά τους Aziz et al. (1999) μεταβολή κυτταρικών συστατικών, όπως οι πολυαμίνες, μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τους γενετιστές ως βιοχημικός δείκτης για την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας γενοτύπων.

Λόγω της επίδρασή τους στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών, οι πολυαμίνες προσέλκυσαν το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών. Στην παρούσα εργασία γίνεται ανασκόπηση του ρόλου των ουσιών αυτών, με ιδιαίτερη έμφαση στα καλλιεργούμενα φυτικά είδη, με στόχο να ανοίξουν δρόμοι για μελλοντική έρευνα.

2. Φύτρωση σπερμάτων

Από τη δεκαετία του '70 είχε παρατηρηθεί ότι κατά τη φύτρωση των σπερμάτων και κυρίως κατά τη φάση ταχείας σύνθεσης νουκλεϊκών οξέων, σημειώνονται υψηλά επίπεδα πολυαμινών (Bagni 1970). Αργότερα, αναφέρθηκε σχέση πολυαμινών αφενός και διακοπής του ληθάργου και διατήρησης της φυτρωτικής ικανότητας σπερμάτων αφετέρου (Mukhopadhyay et al. 1983, Bagni and Serafini-Fracassini 1985). Η θετική συσχέτιση των ουσιών αυτών και κυρίως της σπερμίνης, με τη φύτρωση, αποδείχθηκε και με εξωγενή προφυτρωτική εφαρμογή τους σε σπόρο φασιολιού (Altman 1982).

Σπέρματα που βρίσκονται σε κατάσταση ληθάργου βρέθηκε ότι έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε πολυαμίνες. Εφαρμογή γιββερελλικού οξέος για διακοπή του ληθάργου, προκάλεσε αύξηση της δράσης της ADC και συσσωρευση ελεύθερης πουτρεσκίνης σε σπέρματα του είδους *Euonymus europaeus* (spindle tree) (Beranger-Novat et al. 1997) ή της ODC σε σπέρματα κριθής (Kyriakidis 1983). Θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι, ανάλογα με το φυτικό είδος, έχει αναφερθεί δράση μόνο της ADC ή μόνο της ODC ή και των δύο ενζύμων κατά τη φύτρωση. Ο ρόλος των πολυαμινών στο στάδιο αυτό της ανάπτυξης των ανώτερων φυτών έχει αποδειχθεί και εμμέσως όταν αναστολές της βιοσύνθεσής τους ανέστειλαν τη φύτρωση ή παρέτειναν τον λήθαργο, ακόμα και σε σπέρματα στα οποία είχε εφαρμοστεί γιββερελλικό οξύ (Huang and Villanueva 1992, Beranger-Novat et al. 1994).

Αρχικά, υπήρχε η άποψη ότι κατά τη διαδικασία της φύτρωσης πραγματοποιείται σύνθεση πολυαμινών (Bagni 1970). Αργότερα, με την βελτίωση της μεθοδολογίας προσδιορισμού των ελεύθερων και μη μορφών τους και με τον ακριβέστερο προσδιορισμό του ρόλου τους, οι Bonneau et al. (1994a) διατύπωσαν το συμπέρασμα ότι πηγή ελεύθερων πολυαμινών στον σπόρο αποτελούν οι συζευγμένες μορφές τους. Οι μορφές αυτές βρίσκονται σε υψηλή συγκέντρωση πριν τη φύτρωση και κατόπιν υδρολύονται ενζυμικά για να δώσουν ελεύθερες πολυαμίνες που θα επηρεάσουν την αύξηση του νεαρού σποροφύτου.

Στη νεαρή ρίζα των σποροφύτων, ανιχνεύθηκαν αν τρεις περισσότερο διαδεδομένες πολυαμίνες (πουτρεσκίνη, σπερμιδίνη και σπερμίνη). Στα πρώτα στάδια της φύτρωσης ρυζιού έως και την εμφάνιση του ριζιδίου παρατηρήθηκε συνεχώς αυξανόμενη δράση της ADC και συσώρευση αγκιτίνης, που είναι το πρώτο προϊόν της δράσης του ενζύμου αυτού (βλέπε βιοσύνθεση πολυαμινών στο 1^ο μέρος της ανασκόπησης) (Bonneau et al. 1994a). Οι Dumortier et al. (1983) προσδιόρισαν το είδος των πολυαμινών κατά μήκος της αυξανόμενης πρωτογενούς ρίζας κάλαμποκιού και παρατήρησαν αυξανόμενη συγκέντρωση πουτρεσκίνης από την κορυφή προς τη βάση της ρίζας, δηλαδή μικρή συγκέντρωση στη μεριστωματική ζώνη. Η παρατήρηση αυτή στηρίζει την άποψη των Bonneau et al. (1994b) σύμφωνα με την οποία η υψηλή συγκέντρωση της πουτρεσκίνης συνδέεται με την τάνυση των κυτταρικών τοιχωμάτων και τη γήρανση των ιστών. Οι ίδιοι ερευνητές (Dumortier et al. 1983) προσδιόρισαν ελεύθερη σπερμίνη σε όλο το μήκος ενώ συζευγμένες μόνο στην κορυφή της ρίζας, δηλαδή στη μεριστωματική ζώνη. Το γεγονός αυτό, σύμφωνα με τους Bonneau et al. (1994a), μπορεί να αποδοθεί στο ότι τα σπέρματα περιέχουν συζευγμένες πολυαμίνες που υδρολύομενες δίνουν ελεύθερες μορφές σε ιστούς με έντονη κυτταροδιαίρεση. Εξωγενής εφαρμογή αναστολέων της βιοσύνθεσης των πολυαμινών επηρέασε τόσο τον αριθμό όσο και το μήκος των πρωτογενών ριζών κατά τη φύτρωση σπερμάτων (Walker et al. 1985, Bonneau et al. 1994b).

3. Ριζογένεση

Η επίδραση ενδογενών και εξωγενών εφαρμοζόμενων πολυαμινών στη δημιουργία επίκτητων ριζών μελετήθηκε αρχικά σε υποκοτύλες φασιολιού (mung bean). Παρατηρήθηκε συσώρευση τους μετά από εφαρμογή ουσιών που προάγουν τη ριζογένεση, όπως οι αυξίνες και οι αναστολές της αύξησης (Friedman et al. 1982, Wang and Faust 1986, Porlingis and Koukourikou-Petridou 1996). Παράλληλα, η εφαρμογή αναστολέων της βιοσύνθεσης των πολυαμινών επηρέασε τον σχηματισμό ριζών και την αύξησή τους (Hummel et al. 2002).

Οι Friedman et al. (1982) παρατήρησαν ότι ενώ η ριζοβολία υποκοτυλών φασιολιού ανεστάλη με την εφαρμο-

γή αναστολέων του μεταβολισμού των πολυαμινών, η εξωγενής εφαρμογή πολυαμινών και πρόδρομων ουσιών της βιοσύνθεσής τους (αργινίνη, ορνιθίνη) δεν είχε καμία επίδραση. Αντιθέτως, οι Jarvis et al. (1983), ανέφεραν προαγωγή της ριζογένεσης από εξωγενώς εφαρμοζόμενη σπερμίνη, στο ίδιο φυτικό είδος. Η επίδραση εξωγενώς εφαρμοζόμενων πολυαμινών στη ριζογένεση έχει επίσης μελετηθεί σε οπωροφόρα είδη. Σημαντική βελτίωση της *in vitro* ριζογένεσης παρατηρήθηκε σε μικρομοσχεύματα ελιάς (Rugini 1992) και κερασιάς (Biondi et al. 1990). Σε μικρομοσχεύματα αμυγδαλιάς είχε ελαφρώς θετικό αποτέλεσμα, ενώ σε μικρομοσχεύματα μηλιάς και φισικιάς δεν παρατηρήθηκε επίδραση (Rugini 1992). Οι Rugini et al. (1993) διατύπωσαν την άποψη ότι θετικά ανταποκρίνονται τα φυτικά είδη με χαμηλή ενδογενή περιεκτικότητα σε πολυαμίνες. Αντιθέτως, σε φυτικά είδη με υψηλή περιεκτικότητα η εξωγενής εφαρμογή οδηγεί σε τοξικότητα. Σε παρόμοιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Tarenghi et al. (1995) μετά από μελέτη ριζοβολίας μικρομοσχευμάτων φράουλας.

4. Βλαστική αύξηση

Η βλαστική αύξηση των φυτών έχει κατά καιρούς συνδεθεί με τη δράση φυτοορμονών. Συγκεκριμένα, είναι γνωστό ότι η επιμήκυνση των μεσογονατίων διαστημάτων σε γενετικώς νάνα φυτά οφείλεται στη δράση γιββερελλινών. Οι Dai et al. (1982) παρατήρησαν έντονη δράση της ADC και συσσώρευση πουτρεσκίνης και σπερμιδίνης κατά την επιμήκυνση των μεσογονατίων διαστημάτων σε νάνα φυτά μπιζελιού, στα οποία είχε εφαρμοστεί γιββερελλίνη. Τον συσχετισμό των πολυαμινών και της δράσης των ενζύμων μεταβολισμού τους με την αύξηση του βλαστού μελέτησαν και άλλοι ερευνητές. Απεδείχθη ότι με εφαρμογή αναστολέων της βιοσύνθεσης των πολυαμινών και συγκεκριμένα του DFMA (*Διφθορο-μεθυλο-αργινίνη*, αναστολέας της ADC) η αύξηση παρουσία γιββερελλίνης ήταν μειωμένη έως και κατά 70% (Kaur-Sawhney et al. 1985, Smith et al. 1985). Η Smith (1990) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι πολυαμίνες είναι απαραίτητες για την κανονική αύξηση, χωρίς όμως να αποτελούν «μεσολαβητές» της δράσης των γιββερελλινών. Ο ρόλος τους επικεντρώνεται στη φάση της κυτταροδιαίρεσης των αυξανόμενων βλαστικών τμημάτων, προάγοντας το ρόλο των γιββερελλινών.

Πειραματική προσέγγιση των παραπάνω συμπερασμάτων στη μηλιά απέδειξε ότι οι κανονικής ανάπτυξης ποικιλίες έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πολυαμίνες, σε σχέση με τις γενετικώς νάνες ποικιλίες, που περιέχουν μικρότερες συγκεντρώσεις γιββερελλινών. Δεν βρέθηκε όμως συσχέτιση των πολυαμινών με τις μεταβολές του ρυθμού βλαστικής αύξησης στη διάρκεια του έτους (Wang and Faust 1993). Αντιθέτως, στην φουντουκιά αναφέρθηκε συσσώρευση σπερμιδίνης και σπερμίνης κατά την ταχεία αύξηση των βλαστών και την αύξηση του ελάσματος των φύλλων (Rey et al. 1994a). Δείχθηκε επίσης ότι το είδος των ελεύθερων πολυαμινών (λόγος πουτρεσκίνης προς άθροισμα σπερμιδίνης και σπερμίνης) που περιέχουν τα φύλλα της φουντουκιάς αποτελεί φυσιολογικό δείκτη του σταδίου νεανικότητας των βλαστών, μετά το κλάδευμα (Rey et al. 1994b). Υψηλή συγκέντρωση πολυαμινών, κυρίως των ελεύθερων μορφών, και έντονη δράση των ενζύμων βιοσύνθεσής τους ανιχνεύτηκαν κατά την αύξηση βλαστικών τμημάτων και άλλων φυτικών ειδών. Έτσι, ενισχύεται η άποψη περί εμπλοκής των ουσιών αυτών στην κυτταροδιαίρεση και κατ' επέκταση στη μεριστωματική δραστηριότητα, καθώς και της χρήσης τους ως δεικτών του σταδίου νεανικότητας (Palavan and Galston 1982, Bonneau et al. 1994b, Fraga et al. 2003).

5. Ανθογονία, άνθηση, γονιμοποίηση

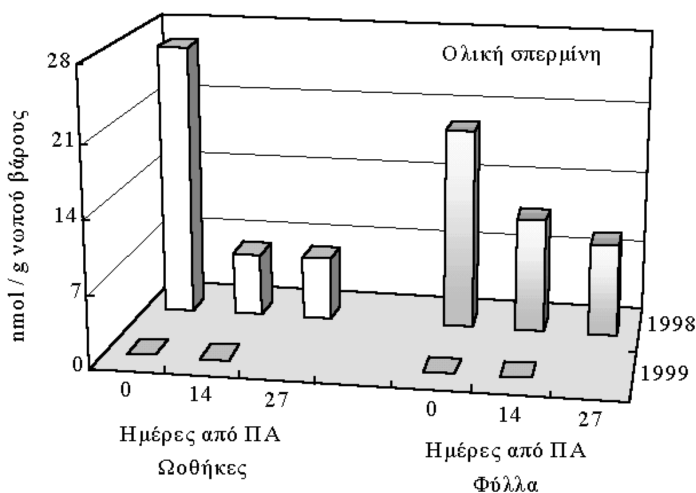
Οι πολυαμίνες και κυρίως η πουτρεσκίνη, η σπερμιδίνη και η σπερμίνη είναι πολύ διαδεδομένες στους φυτικούς ιστούς και έχουν συσχετισθεί με μεγάλο αριθμό φυσιολογικών και μορφογενετικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένης και της αναπαραγωγικής διαδικασίας. Τόσο οι ελεύθερες όσο και οι συζευγμένες μορφές τους επιδρούν στον φυσιολογικό σχηματισμό και στην έκφραση του φύλου των ανθέων (Evans and Malmberg 1989). Οι Kakkar and Rai (1993) και οι Rey et al. (1994b) παρατήρησαν ότι η συσσώρευση σπερμίνης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως χρονικός δείκτης της διαφοροποίησης του βλαστικού μεριστώματος σε ανθικό. Επίσης, οι Faust and Wang (1992) αναφέρουν ότι το επίπεδο των ενδογενών πολυαμινών είναι χαμηλό κατά τον σχηματισμό των καταβολών των ανθικών οργάνων και του εμβρύου (μετά τη γονιμοποίηση) και αυξάνει στα στάδια που ακολουθούν και τα οποία χαρακτηρίζονται από έντονη κυτταροδιαίρεση. Έτσι, διατυπώθηκε η άποψη ότι η περίοδος χαμηλών συγκεντρώσεων σε πολυαμίνες συνδέεται με τον συγχρονισμό των σταδίων ανάπτυξης όλων των ιστών που συμμετέχουν στη δημιουργία του νέου οργάνου (Bernier et al. 1981).

Ο ρόλος των πολυαμινών στον σχηματισμό και στην αύξηση των διαφόρων ανθικών τμημάτων αποδείχθη-

κε και με μελέτη της συμπεριφοράς μεταλλαγμένων φυτών (Malmberg and McIndoo 1983, Martin-Tanguy 2001), καθώς και σε φυτικά είδη που παρουσιάζουν ποιοτικό φωτοπεριοδισμό, όπως η σόγια, η φράουλα και το χρυσάνθεμο (Galston and Flores 1991, Aribaud and Martin-Tanguy 1994, Caffaro and Vicente 1994 και 1995, Tarengghi and Martin-Tanguy 1995). Συγκεκριμένα, κατά τη φωτοπεριοδική διαφοροποίηση (βραχυήμερες συνθήκες) του ανθικού μεριστώματος στη φράουλα και πριν από την έκπτυξη του ανθοφόρου οφθαλμού σημειώθηκε συσσώρευση πολυαμινών στις κορυφές των βλαστών που θα φέρουν τα άνθη, γεγονός που δεν παρατηρήθηκε σε φυτά που αναπτύχθηκαν μόνο βλαστικά (σε συνθήκες μακράς ημέρας) (Tarengghi and Martin-Tanguy 1995). Ομοίως, στην ελιά που χαρακτηρίζεται από το φαινόμενο της παρενιαυτοφορίας, η περιεκτικότητα ωθηκών και φύλλων σε πολυαμίνες, κατά το έτος χαμηλής καρποφορίας, ήταν χαμηλή, έως και μηδενική για την σπερμίνη (Σχ. 1) (Πρίτσα 2000, Πρίτσα κ.ά. 2003).

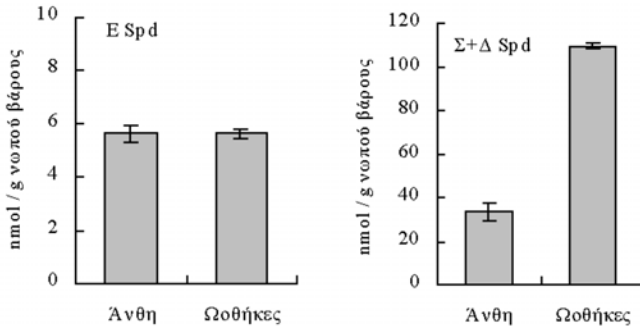
Σε δένδρα που εμφανίζουν λήθαργο οφθαλμών παρατηρήθηκε μειωμένη περιεκτικότητα σε πολυαμίνες και προδρόμους ενώσεις τους (π.χ. αργινίνη) κατά την περίοδο του ληθάργου, ενώ το αντίθετο παρατηρήθηκε κατά την περίοδο αύξησης των ανθικών οργάνων (Edwards 1986, Caffaro and Vicente 1994). Στην κεραιαία ανιχνεύθηκαν πολυαμίνες σε όλα τα στάδια της εξέλιξης των ανθοφόρων οφθαλμών μετά την πτώση των φύλλων. Το επίπεδό τους κυμαινόταν σε πολύ χαμηλά επίπεδα κατά την περίοδο ληθάργου, ενώ παρουσίασε απότομη αύξηση με την έκπτυξη των οφθαλμών (Wang et al. 1985). Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα σε οφθαλμούς μηλιάς, όπου οι πολυαμίνες αυξήθηκαν μετά την ικανοποίηση των αναγκών σε ψύχος και την πάροδο της περιόδου του ληθάργου. Μελέτη του επιπέδου ενδογενών πολυαμινών κατά τα διάφορα στάδια της ανάπτυξης των οφθαλμών έδειξε ότι υψηλότερη είναι η περιεκτικότητα των ιστών κατά την αύξηση των ανθικών οργάνων (μετά τον λήθαργο), παρά κατά την ανθογονία, δηλαδή τη διαφοροποίηση του βλαστικού μεριστώματος σε ανθικό (Wang and Faust 1994).

Κατά την άνθηση οι στήμονες και οι ωθηκές περιέχουν το 80% των ολικών πολυαμινών, με έντονη συσσώρευση κατά τα πρώτα στάδια αύξησης του άνθους (Kushad et al. 1990, Flores and Martin-Tanguy 1991, Tarengghi and Martin-Tanguy 1995). Ποσοτικός προσδιορισμός των πολυαμινών σε άνθη καπνού (Martin-Tanguy et al. 1978) έδειξε ότι η ελεύθερη μορφή τους εμφανίζεται κυρίως στα αρσενικά, ενώ η συζευγμένες στα θηλυκά αναπαραγωγικά όργανα. Στην ελιά, προέκυψε το ίδιο συμπέρασμα ως προς τη συζευγμένη μορφή τους, ενώ θηλυκά και αρσενικά αναπαραγωγικά όργανα δεν διέφεραν ως προς την περιεκτικότητά τους σε ελεύθερη μορφή (Σχ.2) (Πρίτσα 2000). Γενικά, άγονα αναπαραγωγικά όργανα δεν περιέχουν διαλυτές



Σχ. 1. Περιεκτικότητα ωθηκών και φύλλων ελιάς, ποικ. Χονδρολιά Χαλκιδικής, σε ολική σπερμίνη, τις πρώτες 27 ημέρες από την πλήρη άνθηση (ΠΑ), για δύο διαδοχικά έτη, το 1998 και το 1999, που χαρακτηρίστηκαν από υψηλή και χαμηλή καρποφορία, αντίστοιχα, λόγω του φαινομένου της παρενιαυτοφορίας (Πρίτσα 2000).

συζευγμένες πολυαμίνες, ενώ και η περιεκτικότητά τους σε ελεύθερες και αδιάλυτες συζευγμένες μορφές είναι χαμηλή (Tarengghi and Martin-Tanguy 1995). Έχει αναφερθεί ότι οι συζευγμένες πολυαμίνες είναι απαραίτητες για τη δημιουργία γόνιμου άνθους και αποτελούν βιοχημικό δείκτη γονιμότητας των αναπαραγωγικών οργάνων και κατ' επέκταση της καρπόδεσης (Martin-Tanguy et al. 1978, Cabanne et al. 1981, Martin-Tanguy 2001, Πρίτσα κ.ά. 2003). Ο ρόλος των πολυαμινών στη γονιμοποίηση του άνθους συνδέεται και με την αύξηση του γυρεοσωλήνα, η οποία αναστέλλεται παρουσία αναστολέων της βιοσύνθεσης των πολυαμινών (Rajam 1989), όπως οι MGBG [Μεθυλο-γλυοξαλοδι(γουανυλδραζόνη)], αναστολέας της SAMDC], DFMO [Διφθορο-μεθυλο-οριθίνη], αναστολέας της



Σχ. 2. Περιεκτικότητα ανθέων και ωοθηκών ελιάς, ποικ. Κορωνέικη, σε ελεύθερη (E Spd) και μη ελεύθερη (Σ+Δ Spd: συνεξυγμένη και δεσμευμένη μορφή) σπερμιδίνη. Οι μπάρες αντιστοιχούν στο τυπικό σφάλμα των μέσων όρων (Πρίτσα 2000).

Προκειμένου να διευκρινιστεί ο ρόλος των πολυαμινών στην άνθηση και καρπόδεση προσδιορίστηκε η ενδογενής συγκέντρωσή τους σε άνθη διαφόρων σταδίων, αλλά, παράλληλα, και σε δείγματα βλαστικών οργάνων (Sagee and Lovatt 1991, Harkess et al. 1992, Πρίτσα 2000). Επίσης, υπήρξαν ενδείξεις για μεταφορά πολυαμινών από τα φύλλα προς τους οφθαλμούς κατά την ανθογονία (Caffaro and Vicente 1994, Caffaro et al. 1993 και 1994). Σήμερα είναι γνωστό ότι μεταξύ ώριμων φύλλων και ανθοφόρου οφθαλμού υπάρχει σχέση πηγής-δεξαμενής πολυαμινών (Caffaro and Vicente 1995).

6. Αύξηση και ωρίμανση καρπού

Ερευνητικό ενδιαφέρον έχει και η σχέση των πολυαμινών με την αύξηση του καρπού, που συνδέεται με στάδια έντονης κυτταροδιαίρεσης και τάνυσης των κυτταρικών τοιχωμάτων. Επιχειρήθηκε προσπάθεια διευκρίνισης του ρόλου των πολυαμινών στην αύξηση των επί μέρους ιστών του καρπού και του σπέρματος, αλλά και η σχέση τους με την παραγωγή αιθυλενίου που παρατηρείται κατά την ωρίμανση.

Σε αυξανόμενους καρπούς παρατηρείται συσσώρευση πολυαμινών κατά το στάδιο της έντονης κυτταροδιαίρεσης, αμέσως μετά τη γονιμοποίηση, ενώ αργότερα, όταν ο ρυθμός αύξησης του καρπού οφείλεται σε αύξηση του όγκου των κυτάρων, η συγκέντρωσή τους μειώνεται δραστικά (Σχ.1) (Biasi et al. 1988, Serrano et al. 1995, Kondo et al. 2001). Σύμφωνα με τους Biasi et al. (1988), η σχέση αυτή αφορά τις ελεύθερες πολυαμίνες, αφού η διακύμανση των υπόλοιπων μορφών δεν οδηγεί σε συγκεκριμένα συμπεράσματα. Η υπόθεση όμως αυτή δεν επιβεβαιώθηκε από άλλους ερευνητές, οι οποίοι απέδειξαν ότι οι διάφοροι ιστοί του καρπού διαφέρουν ως προς τη διακύμανση ελεύθερων και μη πολυαμινών κατά τα διάφορα στάδια αύξησής τους. Στο περικάρπιο της ράγας σταφυλιού, για παράδειγμα, σημειώθηκε έντονη αύξηση των συζευγμένων παρά των ελεύθερων πολυαμινών, 30 ημέρες μετά την πλήρη άνθηση. Παράλληλα, σημειώθηκε αύξηση των ελεύθερων και μείωση των συζευγμένων πολυαμινών στα σπέρματα της ράγας (Shiozaki et al. 2000). Γενικά, στα σπέρματα πολλών φυτικών ειδών σημειώθηκε συσσώρευση πολυαμινών κατά τη φάση αύξησης του εμβρύου (Garin et al. 1995, Minocha et al. 1999). Κατά τον Kushad (1998), τόσο η περιεκτικότητα σε πολυαμίνες όσο και η δράση των ενζύμων μεταβολισμού τους, στους διάφορους ιστούς του καρπού, μεταβάλλονται ανεξάρτητα η μία από την άλλη.

Υψηλή συγκέντρωση πολυαμινών, αλλά και έντονη δραστηριότητα των ενζύμων βιοσύνθεσής τους, προσδιορίστηκε στα πρώτα στάδια αύξησης καρπών μανδαρινιάς (Nathan et al. 1984), ενώ σε αυξανόμενες ωοθήκες πατάτας η συγκέντρωση ελεύθερων πολυαμινών ήταν χαμηλή κατά τη διάρκεια σχηματισμού του ενδοσπερμίου και αυξήθηκε πριν το τελικό στάδιο σχηματισμού του εμβρύου (Olson and Nowak 1988). Επίσης, η ενδογενής περιεκτικότητα καρπιδίων και βλαστικών τμημάτων (π.χ. φύλλων) σε πολυαμίνες έχει συσχετισθεί με το φαινόμενο της καρπόπτωσης (Biasi et al. 1988, Aziz 2003), αλλά και με το καρπικό φορτίο σε ποικιλίες ελιάς που παρενιαυτοφορούν έντονα (Πρίτσα κ.ά. 2003).

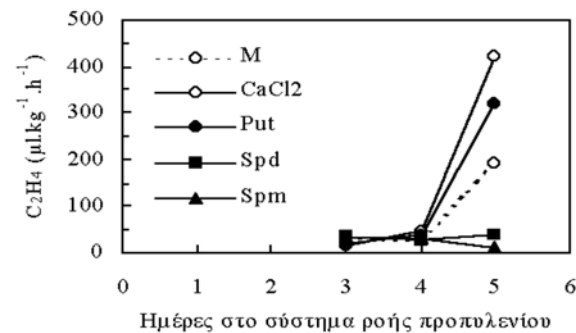
Εξωγενής εφαρμογή πολυαμινών δεν είχε σταθερά αποτελέσματα στα διάφορα φυτικά είδη. Στην τομάτα επέδρασε θετικά στην αύξηση του καρπού, η οποία ανεστάλη όταν εφαρμόστηκαν αναστολείς της βιοσύνθε-

ODC) και DFMA (Διφθορο-μεθυλο-αργινίνη, αναστολέας της ADC) (βλέπε 1^ο μέρος ανασκόπησης).

Αύξηση του ποσοστού καρπόδεσης έχει επιτευχθεί με εξωγενή εφαρμογή πολυαμινών κατά την άνθηση, σε οπωροφόρα δένδρα (Costa and Bagni 1983). Σε αυτο-ασυμβίβαστες ποικιλίες ελιάς (Leccino και Lendolino) και σε ορισμένες ποικιλίες αχλαδιάς, μόνον η πουτρεσκίνη αύξησε το ποσοστό καρπόδεσης και τη συνολική παραγωγή όταν εφαρμόστηκε, σε υψηλές συγκεντρώσεις, στα άνθη πριν το άνοιγμα της στεφάνης ή κατά την πλήρη άνθηση (Rugini and Mencuccini 1985, Βασιλακάκης 1988).

σης των πολυαμινών κατά το στάδιο της έντονης κυτταροδιαίρεσης (Cohen et al. 1982). Στη μηλιά (Costa and Bagni 1983), στην αχλαδιά (Crisosto et al. 1986) και στην ελιά (Rugini et al. 1986) εξωγενείς πολυαμίνες προκάλεσαν αύξηση της καρπόδεσης και της συνολικής παραγωγής. Στη σόγια εκτός από αύξηση της καρπόδεσης επηρέαστη θετικά και η ελαιοπεριεκτικότητα του σπόρου (Sharma and Ali 1998).

Κατά την ωρίμανση κλιμακτικών καρπών, όπως η τομάτα και το αβοκάντο, παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ πολυαμινών και αιθυλενίου. Το γεγονός αυτό οδήγησε στην υπόθεση ότι ο ρόλος των πολυαμινών στην ωρίμανση του καρπού είναι η αναστολή ή η μείωση της βιοσύνθεσης του αιθυλενίου (Winer and Apelbaum 1986, Kushad et al. 1988).



Σχ. 3. Ρυθμός έκλυσης αιθυλενίου από καρπούς ακτινιδίου. Στους καρπούς εφαρμόστηκε υπό πίεση (5 atm) διάλυμα CaCl₂ 1 mM, διαλύματα πολυαμινών 1 mM ή νερό (M: μάρτυρας) και κατόπιν τοποθετήθηκαν σε ανοιχτό σύστημα ροής προπυλενίου (130 μm/L), στους 20°C, για τεχνητή ωρίμανση (Πέτκου κ.ά. 2003). Put: πουτρεσίνη, Spd: σπερμιδίνη, Spm: σπερμίνη

μετασυλλεκτική φυσιολογία τους (Kondo et al. 2001, Perez-Vicente et al. 2002, Petkou et al. 2003).

7. Εποχιακή διακύμανση ενδογενών πολυαμινών σε ανώτερα φυτά

Η μελέτη της εποχιακής διακύμανσης των ενδογενών πολυαμινών ενός φυτού δίνει μια γενική εικόνα του ρόλου των ουσιών αυτών στα διάφορα στάδια της φυσιολογικής εξέλιξης των ιστών του. Αυτό όμως έχει πραγματοποιηθεί σε περιορισμένο αριθμό φυτικών ειδών, γεγονός που αποδίδεται στη δυσκολία της συλλογής ομοιόμορφων δειγμάτων από φυτά που αναπτύσσονται στο ύπαιθρο και στον πολύ μεγάλο αριθμό δειγμάτων που πρέπει να αναλυθούν, δεδομένου του ότι θα πρέπει να μελετηθεί η συμπεριφορά διαφόρων φυτικών οργάνων, για μεγάλο χρονικό διάστημα (Königshofer 1989, 1990 και 1991, Wang and Faust 1993, Rey et al. 1994a). Αντίθετα, υπάρχει πληθώρα ερευνητικών εργασιών όπου μελετάται ένα συγκεκριμένο στάδιο της φυσιολογίας των φυτικών οργάνων, φυτών που αναπτύσσονται υπό ελεγχόμενες συνθήκες. Με την προσέγγιση αυτή απλοποιούνται τεχνικοί χειρισμοί και διευκολύνεται ο πειραματισμός.

Καταγραφή των διακυμάνσεων των ενδογενών πολυαμινών σε δενδρώδη είδη έδειξε συσχέτιση της υψηλής συγκέντρωσης σπερμιδίνης και σπερμίνης και της χαμηλής συγκέντρωσης πουτρεσίνης με την περίοδο άνθησης και αύξησης βλαστών και φύλλων της φουντουκιάς (Rodríguez et al. 1988). Το αντίθετο παρατηρήθηκε κατά την περίοδο ληθάργου και μετην πρόοδο της ηλικίας των φύλλων της φουντουκιάς και της ελάτης (Königshofer 1989, Königshofer 1990, Rodríguez et al. 1991, Rey et al. 1994a). Η σχέση αυτή βρέθηκε να επηρεάζεται και από άλλες ουσίες που προάγουν (π.χ. IAA) ή αναστέλλουν (π.χ. ABA) την αύξηση (Dai et al. 1982, Sood and Nagar 2003). Σε πολλά φυτικά είδη, όπως στην φουντουκιά και στο καλαμπόκι, το μέγιστο της συγκέντρωσης των ελεύθερων πολυαμινών συνέπεσε, χρονικά, με το μέγιστο του ρυθμού επιμήκυνσης των βλαστών (Dumortier et al. 1983, Smith 1985, Rey et al. 1994b). Στη μηλιά όμως παρατηρήθηκε και δεύτερο μέγιστο πολυαμινών μετά τον Αύγουστο, περίοδο κατά την οποία συνήθως δεν συμβαίνει βλαστική αύξηση (Wang and Faust 1993).

8. Συνθήκες καταπόνησης (stress)

Εκτός από την εμπλοκή των πολυαμινών σε όλα τα στάδια της βιολογίας των φυτών που αναπτύσσονται σε κανονικές συνθήκες, ενδιαφέρον προκαλεί και η συσχέτισή τους με την αντίδραση των φυτών που αναπτύσσονται κάτω από αντίξοες συνθήκες. Η πρώτη σχετική αναφορά έγινε τη δεκαετία του '50 και αφορούσε συσσώρευση πουτρεσκίνης σε συνθήκες έλλειψης καλίου. Από τότε διερευνήθηκε η σχέση των πολυαμινών με διάφορους παράγοντες καταπόνησης, όπως η έλλειψη θρεπτικών στοιχείων, το όζον, τα ζιζανιοκτόνα, τα παθογόνα κ.ά., καθώς και η έλλειψη νερού (υδατική καταπόνηση), η αλατότητα και η χαμηλή θερμοκρασία που έχουν ως κοινή επίδραση την αφυδάτωση του κυττάρου. Στις συνθήκες αυτές παρατηρήθηκε, γενικά, αύξηση του επιπέδου των ενδογενών πολυαμινών και τροποποίηση της αναλογίας των ελεύθερων και μη μορφών τους (Kakkar et al. 2000, Scaramagli et al. 2000). Από την πληθώρα των δεδομένων που αφορούν τη σχέση των πολυαμινών με την αντοχή των φυτών, εδώ θα αναφερθούν μόνο τα σημαντικότερα σημεία.

Πολύ λίγα είναι γνωστά για τον ρόλο των πολυαμινών στην αντίδραση των φυτών και ακόμα λιγότερα για τον μηχανισμό δράσης των μορίων αυτών, στις αντίξοες συνθήκες. Από πειράματα σε συνθήκες ωσμωτικής καταπόνησης προέκυψε ότι ανθεκτικοί γενότυποι είναι αυτοί που "υπερ-παράγουν" πολυαμίνες και κυρίως πουτρεσκίνη. Αντίθετα, γενότυποι ανθεκτικοί σε συνθήκες αλατότητας ήταν αυτοί με χαμηλή περιεκτικότητα σε ελεύθερη ενδογενή πουτρεσκίνη (Zacchini et al. 1997). Συσσώρευση της πολυαμίνης αυτής, σε ελεύθερη ή μη μορφή, ανάλογα με το φυτικό είδος, παρατηρήθηκε και σε συνθήκες έλλειψης καλίου, αζώτου ή μαγνησίου (Geny et al. 1997 και 1998).

Γενικά, η πουτρεσκίνη είναι η κύρια, αλλά όχι η μοναδική, πολυαμίνη που σχετίζεται με την αντίδραση των φυτών σε αντίξοες συνθήκες. Από τα μέχρι τώρα πειραματικά δεδομένα προκύπτει ότι η συσσώρευση της πουτρεσκίνης οφείλεται κυρίως στην αυξημένη δράση της ADC, σε σχέση με την ODC, γι' αυτό και η ADC αναφέρεται συχνά ως "ένζυμο καταπόνησης" (Flores and Galston 1982, Young and Galston 1983, Flores and Galston 1984, Kakkar et al. 2000). Σύμφωνα με τους Bouchereau et al. (1999), η πουτρεσκίνη καθίσταται τοξική πάνω από ένα επίπεδο συγκέντρωσής της, κατά το βλαστικό στάδιο του φυτού. Έτσι, στα ανθεκτικά φυτά, ενεργοποιείται η μετατροπή της σε τρι- και τετρα-αμίνες (σπερμιδίνη και σπερμίνη, αντίστοιχα) που συμβάλλουν στη συνέχιση της ανάπτυξης των καταπονημένων φυτών και τα οποία "οδηγούνται" στο στάδιο της ωριμότητας, προκειμένου να αναπαραχθούν, και στο γήρας. Έτσι αιτιολογήθηκε η αυξημένη περιεκτικότητα σε σπερμιδίνη και σπερμίνη κάποιων ανθεκτικών γενοτύπων, όπως ποικιλίες ρυζιού και τομάτας, που αναπτύχθηκαν σε συνθήκες αλατότητας, έλλειψης νερού ή ακραίων θερμοκρασιών (Basu and Ghosh 1991, Phillips and Kuehn 1991, Galston and Kaur-Sawhney 1995, Scaramagli et al. 2000, Königshofer and Lechnen 2002).

Για φυτά που εμφανίζουν αντοχή σε συνθήκες καταπόνησης έχει αναφερθεί ότι οι πολυαμίνες: (α) παίζουν ρόλο στην ιοντική ισορροπία, κυρίως η πουτρεσκίνη, σε συνθήκες έλλειψης καλίου ή χαμηλού pH, (β) συμβάλλουν στη διατήρηση της ακεραιότητας των μεμβρανών και (γ) χρησιμοποιούνται για τη σύνθεσή τους σκελετούς άνθρακα που διαφορετικά θα συμμετείχαν στην σύνθεση αιθυλενίου (βλέπε 1^ο μέρος ανασκόπησης), με αποτέλεσμα την κατάθρεση των ιστών (Young and Galston 1983, Galston and Kaur-Sawhney 1995, Bouchereau et al. 1999).

Δεν έχει διευκρινιστεί ακόμη αν οι ποσοτικές μεταβολές των ενδογενών πολυαμινών αποτελούν παράγοντα με συγκεκριμένο προστατευτικό ρόλο ή είναι απλώς σύμπτωμα της καταπόνησης που υφίστανται τα φυτά. Πολλά ερωτήματα σχετικά με τον ρόλο των ουσιών αυτών στην αύξηση και ανάπτυξη φυτών σε φυσιολογικές και σε συνθήκες καταπόνησης, δεν έχουν ακόμα βρει απάντηση. Μερικά από αυτά είναι: (α) με ποιόν τρόπο οι πολυαμίνες ρυθμίζουν τις συγκεκριμένες μεταβολικές διεργασίες στις οποίες φαίνεται να εμπλέκονται, (β) πώς μετακινούνται στο φυτό και γιατί συσσωρεύονται σε συγκεκριμένους ιστούς, (γ) κάτω από ποιές συνθήκες δημιουργούν σύμπλοκα και ποιος είναι ο ακριβής ρόλος των συμπλόκων αυτών, (δ) πώς ρυθμίζεται η σχέση πολυαμινών και αιθυλενίου, (ε) ποια η σχέση τους με τους άλλους ρυθμιστές της αύξησής των φυτών.

Στη διερεύνηση των ερωτημάτων αυτών συμβάλλει ήδη η δημιουργία φυτών μεταλλαγμένων ως προς τον μεταβολισμό των πολυαμινών. Η παρούσα ανασκόπηση δίνει μία πολύ συνοπτική εικόνα του ρόλου των πολυαμινών στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών, προκειμένου να κατανοηθεί η σημασία τους και να δημιουργηθούν εναύσματα για περαιτέρω μελέτη των ουσιών αυτών.

Polyamines

II. Their role in plant growth and development

Theodora S. Pritsa¹ and Demetrios G. Voyiatzis¹

Summary

Polyamines have been implicated in a wide range of biological processes, including growth and development of plant organs. Their level is high during cell division and rapid growth and decreases with growth completion and organ aging. Due to their implication in the regulation of cell division and differentiation their involvement in all stages of plant growth and development has been investigated. This review deals with the role that polyamines play in vital plant functions such as: seed germination, vegetative growth, root formation, flower induction, pollen germination, embryogenesis, fruit growth and ripening, cell and tissue senescence and protection of tissues under stress conditions.

Key words: flower induction, putrescine, rizogenesis, sermidine, spermine, stress

Βιβλιογραφία

- Altman, A. 1982. Retardation of radish leaf senescence by polyamines. *Physiol. Plant.* 54: 189-193.
- Aribaud, M. and Martin-Tanguy, J. 1994. Polyamine metabolism in normal and sterile *Chrysanthemum morifolium*. *Phytochemistry* 37(4): 927-932.
- Aziz, A. 2003. Spermidine and related-metabolic inhibitors modulate sugar and amino acid levels in *Vitis vinifera* L.: possible relationships with initial fruitlet abscission. *J. Exp. Bot.* 54(381): 355-363.
- Aziz, A., Martin-Tanguy, J. and Larher, F. 1999. Salt stress-induced accumulation and changes in tyramine and polyamine levels are linked to ionic adjustment in tomato leaf discs. *Plant Sci.* 145: 83-91.
- Bagni, N. 1970. Metabolic changes of polyamines during the germination of *Phaseolus vulgaris*. *New Phytol.* 69: 159-164.
- Bagni, N. and Serafini-Fracassini, D. 1985. Involvement of polyamines in the mechanism of break of dormancy. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 132, *Actual. Bot.* 1: 119-125.
- Bagni, N. and Torrigiani, P. 1992. Polyamines: A new class of growth substances. In: Kassen, C.M., van Loon, L.C. and Vreugdenhil, D. (eds.). *Progress in Plant Growth Regulation*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 264-275.
- Βασιλακάκης, Μ. 1988. Επίδραση τριών πολυαμινών και ενός αναστολέα σύνθεσης αιθυλενίου στην καρπόδεση τριών ποικιλιών αχλαδιάς. *Επιστ. Επετ. Τμ. Γεωπ. Σχ. Γεωτ. Επιστ.* 27: 29-35.
- Basu, R. and Ghosh, B. 1991. Polyamines in various rice (*Oryza sativa*) genotypes with respect to sodium chloride salinity. *Physiol. Plant.* 82: 575-581.
- Beranger-Novat, N., Monin, J. and Martin-Tanguy, J. 1994. Polyamines and their biosynthetic enzymes in dormant embryos of the spindle tree (*Euonymus europaeus* L.) and on dormancy break obtained after treatment with gibberellic acid. *Plant Sci.* 102: 139-145.
- Beranger-Novat, N., Monin, J., Jasse, J. and Martin-Tanguy, J. 1997. Polyamine catabolism in dormant embryos of the spindle tree (*Euonymus europaeus* L.) and in dormancy break obtained after treatment with gibberellic acid. *Plant Growth Regul.* 21: 65-70.
- Bernier, G., Kinet, J.-M. and Sachs, R.M. 1981. *The physiology of flowering (Volume II)*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, pp. 231
- Biaz, R., Bagni, N. and Costa, G. 1988. Endogenous polyamines in apple and their relationship to fruit set and fruit growth. *Physiol. Plant.* 73: 210-205.
- Biondi, S., Diaz, T., Inglesias, I., Gamberini, G. and Bagni, N. 1990. Polyamines and ethylene in relation to adventitious root formation in *Prunus avium* shoot cultures. *Physiol. Plant.* 78: 474-483.
- Bonneau, L., Carre, M. and Martin-Tanguy, J. 1994a. Polyamines and related enzymes in rice seeds differing

¹ Aristotelian University of Thessaloniki, Faculty of Agriculture, Lab. of Biology of Horticultural Plants, 54 124 Thessaloniki (e-mail: voyiatzi@agro.auth.gr)

- in germination potential. *Plant Growth Regul.* 15: 75-82.
- Bonneau, L., Carre, M., Dreunont, C. and Martin-Tanguy, J. 1994b. Polyamine metabolism during seedling development in rice. *Plant Growth Regul.* 15: 83-92.
- Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F. and Martin-Tanguy, J. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sci.* 140: 103-125.
- Cabanne, F., Dalebrou, M.A., Martin-Tanguy, J. and Martin, C. 1981. Hydroxycinnamic acid amides and ripening to flower of *Nicotiana tabacum* var. Xanthi n.c. *Physiol. Plant.* 59: 399-404.
- Caffaro, S.V. and Vicente, C. 1994. Polyamine implication during soybean flowering in induction and early reproductive transition of vegetative buds. *Plant Physiol. Biochem.* 32: 391-397.
- Caffaro, S.V. and Vicente, C. 1995. Early changes in the content of leaf polyamines during the photoperiodic flowering induction in soybean. *J. Plant Physiol.* 145: 756-758.
- Caffaro, S.V., Antognoni, F., Scaramagli, S. and Bagni, N. 1994. Polyamine translocation following photoperiodic flowering induction in soybean. *Physiol. Plant.* 91: 251-256.
- Caffaro, S.V., Scaramagli, S., Antognoni, F. and Bagni, N. 1993. Polyamine content and translocation in soybean plants. *J. Plant Physiol.* 141: 563-568.
- Cohen, E., Arad, S.M., Heimer, Y.M. and Mizrahi, Y. 1982. Participation of ornithine decarboxylase in early stages of tomato fruit development. *Plant Physiol.* 70: 540-543.
- Costa, G. and Bagni, N. 1983. Effects of polyamines on fruit-set of apple. *HortScience* 18: 59-61.
- Crisosto, C.H., Vasilakakis, M.D., Lombard, P.B., Richardson, D. and Tetley, R. 1986. Effect of ethylene inhibitors on fruit set, ovule longevity, and polyamine levels, in 'Comice' pear. *Acta Hort.* 179: 229-236.
- Dai, Y.R., Kaur-Sawhney, R. and Galston, A.W. 1982. Promotion by gibberellic acid of polyamine biosynthesis in internodes of light-grown dwarf peas. *Plant Physiol.* 69: 103-106.
- Davies, D.G. 1997. Polyamines, auxins and organogenesis in leafy spurge (*Euphorbia esula* L.). *J. Plant Physiol.* 151: 603-609.
- Dumortier, F.M., Flores, H.E., Shekhawat, N. and Galston, A.W. 1983. Gradient of polyamines and their biosynthetic enzymes in coleoptiles and roots of corn. *Plant Physiol.* 72: 915-918.
- Edwards, G.R. 1986. Ammonia, arginine, polyamines and flower initiation in apple. *Acta Hort.* 179: 363 (abstract).
- Egea-Cortines, M. and Mizrahi, Y. 1991. Polyamines in cell division, fruit set and development, and seed germination. In: Slocum, R.D. and Flores, H.E. (eds). *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A, pp. 143-158.
- Evans, P.T. and Malmberg, R. 1989. Do polyamines have role in plant development? *Ann. Rev. Plant Physiol.* 40: 235-269.
- Faust, M. and Wang A.Y. 1992. Polyamines in horticulturally important plants. *Hort. Rev.* 14: 333-356.
- Flores H.E. and Galston A.W. 1982. Polyamines and Plant Stress: activation of putrescine biosynthesis by osmotic shock. *Science* 217: 1259-1261.
- Flores H.E. and Galston A.W. 1984. Osmotic stress-induced polyamine accumulation in cereal leaves. II. Relation to amino acid pools. *Plant Physiol.* 75: 110-113.
- Flores, H.E. and Martin-Tanguy, J. 1991. Polyamines and plant secondary metabolites. In: Slocum, R.D. and Flores, H.E. (eds). *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A, pp. 57-76.
- Foudouli, A.Ch. and Kyriakidis, D.A. 1990. Introduction of ornithine decarboxylase activity by growth regulators in bean and corn plants. *Plant Growth Regul.* 9: 247-253.
- Fraga, M.F., Rodrguez, R. and Caqal, M.J. 2003. Reinvigoration of *Pinus radiata* is associated with partial recovery of juvenile-like polyamine concentrations. *Tree Physiol.* 23: 205-209.
- Friedman, R.A., Altman, A. and Bachrach, U. 1982. Polyamines and root formation in mung bean hypocotyl cuttings. I. Effect of exogenous compounds and changes in endogenous polyamine content. *Plant Physiol.* 70: 844-848.
- Fujihara, S. and Yoneyama, T. 2001. Endogenous levels of polyamines in the organs of cucumber plant (*Cucumis sativus*) and factors affecting leaf polyamine contents. *Physiol. Plant.* 113: 416-423.
- Galston, A.W. and Flores, H.E. 1991. Polyamines and plant morphogenesis. In: Slocum, R.D. and Flores, H.E. (Eds). *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp. 175-186.

- Galston, A.W. and Kaur-Sawhney, R. 1995. Polyamines as endogenous growth regulators. In: Davies P.J. (ed.), *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, pp. 158-178.
- Galston, A.W., Kaur-Sawhney, R., Altabella, T. and Tiburcio, A.F. 1997. Plant polyamines in reproductive activity and response to abiotic stress. *Bot. Acta* 110: 197-207.
- Garin, E., Grenier-De March, G., Grenier, E. and Martin-Tanguy, J. 1995. Polyamine changes during the development of zygotic embryos in *Prunus avium*. *Plant Growth Regul.* 16: 279-286.
- Geny, L., Broquedis, M., Martin-Tanguy, J., Soyer, J.P. and Bouard, J. 1997. Effects of potassium nutrition on polyamine content of various organs of fruiting cuttings of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.* 48:85-91.
- Harkess, R.L., Lyons, R.E. and Kushad, M.M. 1992. Floral morphogenesis in *Rudbeckia hirta* in relation to polyamine concentration. *Physiol. Plant.* 86: 575-582.
- Huang, H. and Villanueva, V.R. 1992. Inhibition of polyamine biosynthesis and seed germination in *Picea abies*. *Phytochemistry* 31(10): 3353-3356.
- Hummel, I., Coue, I., El Amrani, A., Martin-Tanguy, J. and Hennion, F. 2002. Involvement of polyamine in root development at low temperature in the subantarctic cruciferous species *Pringlea antiscorbutica*. *J. Exp. Bot.* 53(373): 1463-1473.
- Jarvis, D.C., Shannon, P.R.M. and Yasmin, S. 1983. Involvement of polyamines with adventitious root development in stem cuttings of mung bean. *Plant Cell Physiol.* 24: 677-683.
- Kakkar, R.K. and Rai, V.K. 1993. Plant polyamines in flowering and fruit ripening. *Phytochemistry* 33:1281-1288.
- Kakkar, R.K., Bhaduri, S., Rai, V.K. and Kumar, S. 2000. Amelioration of NaCl Stress by Arginine in Rice Seedlings: Changes in Endogenous Polyamines. *Biol. Plant.* 43(3): 419-422.
- Kaur-Sawhney, R. and Applewhite, P.B. 1993. Endogenous protein-bound polyamines: correlation with regions of cell division in tobacco leaves, internodes and ovaries. *Plant Growth Regul.* 12: 223-227.
- Kaur-Sawhney, R., Dai, Y.R. and Galston, A.W. 1985. Effect of inhibitors of polyamine biosynthesis on gibberellin-induced internode growth in light-grown dwarf peas. *Plant Cell Physiol.* 27: 253-260.
- Kondo, S., Posuya, P. and Kanlayanarat, S. 2001. Changes in physical characteristics and polyamines during maturation and storage of rambutans. *Sci. Hort.* 91: 101-109.
- Königshofer, H. 1989. Seasonal changes in polyamine content in different parts of juvenile spruce trees [*Picea abies* (L.) Karst.]. *J. Plant Physiol.* 134: 736-740.
- Königshofer, H. 1990. Polyamine content in needles, shoot-axes, buds and xylem exudates of mature spruce trees [*Picea abies* (L.) Karst.]. *J. Plant Physiol.* 136: 377-380.
- Königshofer, H. 1991. Distribution and seasonal variation of polyamines in shoot-axes of spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. *J. Plant Physiol.* 137: 607-612.
- Königshofer, H. and Lechner, S. 2002. Are polyamines involved in the synthesis of heat-shock proteins in response to high-temperature stress? *Plant Physiol. Biochem.* 40: 51-59.
- Kushad, M.M. 1998. Changes in polyamine levels in relationship to the double-sigmoidal growth curve of peaches. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123(6): 950-955.
- Kushad, M.M., Ovros, A.R. and Yelenosky, G. 1990. Relative changes in polyamines during citrus flower development. *HortScience* 25: 946-948.
- Kushad, M.M., Yelenosky, G. and Knight, R. 1988. Interrelationship of polyamine and ethylene biosynthesis during avocado fruit development and ripening. *Plant Physiol.* 87:463-467.
- Kyriakidis, D.A. 1983. Effect of plant growth hormones and polyamines on ornithine decarboxylase activity during the germination of barley seeds. *Physiol. Plant.* 57: 499-504.
- Li, N., Parsons, B.L., Liu, D. and Matoo, A.K. 1992. Accumulation of wound inducible ACC synthase transcripts in tomato fruit is inhibited by salicylic acid and polyamines. *Plant Mol. Biol.* 18: 477-487.
- Majewska-Sawka, A., Niklas, A. and Jazdzewska, E. 1997. The effect of polyamines on the development of sugar beet protoplasts. *Biol. Plant.* 39(4): 561-567.
- Malmberg, R.L. and McIndoo, J. 1983. Abnormal floral development of tobacco mutant with elevated polyamine levels. *Nature* 305: 623-625.
- Martínez-Madrid, M.C., Serrano, M., Riquelme, F., Romojaro, F., 1996. Polyamines, abscisic acid and ethylene production in tomato fruit. *Phytochemistry* 43(2): 323-326.
- Martin-Tanguy, J. 2001. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new ap-

- proaches). *Plant Growth Regul.* 34: 135-148.
- Martin-Tanguy, J., Cabanne, F., Perdrizet, E. and Martin, C. 1978. The distribution of hydroxycinnamic acid amides in flowering plants. *Phytochemistry* 17: 1927-1928.
- Minocha, R., Smith, D.R., Reeves, C., Steele, K.D. and Minocha, S.C. 1999. Polyamine levels during the development of zygotic and somatic embryos of *Pinus radiata*. *Physiol. Plant.* 105: 155-164.
- Mukhopadhyay, A., Choudhuri, M.M., Sen, K. and Ghosh, B. 1983. Changes in polyamines and related enzymes with loss of viability in rice seeds. *Phytochemistry* 22: 1547-1551.
- Nathan, R., Altman, A. and Monselise, A.P. 1984. Changes in activity of polyamine biosynthetic enzymes and in polyamine content in developing fruit tissues of 'Murcott' mandarin. *Sci. Hort.* 22: 359-364.
- Olson, A.R. and Nowak, J. 1988. Free polyamines in postpollination placenta and ovule of potato. *HortScience* 23(6): 1042-1044.
- Palavan, N. and Galston, A.W. 1982. Polyamine biosynthesis and titer during various developmental stages of *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Plant.* 55: 438-444.
- Pérez-Vicente A., Martvnez-Romero D., Carbonell A., Serrano M., Riquelme F., Guillun, F. and Valero D. 2002. Role of polyamines in extending shelf life and the reduction of mechanical damage during plum (*Prunus salicina* Lindl.) storage. *Postharvest Biol. Technol.* 25: 25-32.
- Πέτκου, Ι., Πρίτσα Θ. και Σφακιωτάκης Ε. 2003. Η επίδραση πολυαμινών και ασβεστίου στην αυτοκαταλυτική παραγωγή αιθυλενίου και στην ωρίμανση καρπών ακτινιδιάς ποικιλίας Hayward. *Πρακτικά ΕΕΕΟ* 10: 571-574.
- Petkou I., Pritsa T. and Sfakiotakis E. 2003. Effect of Dipping and Pressure Infiltration of Putrescine on the Propylene Induced Autocatalytic Ethylene Production and Ripening of 'Hayward' Kiwifruit. *Acta Hort.* 610: 261-266.
- Phillips, G.C. and Kuehn, G.D. 1991. Uncommon polyamines in plants and other mechanisms. In: Slocum, R.D. and Flores, H.E. (eds). *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A, pp. 121-133.
- Porlingis, I.C. and Koukourikou-Petridou, M. 1996. Promotion of adventitious root formation in mung bean cuttings by four triazole growth retardants. *J. Hort. Sci.* 71(4): 573-579.
- Πρίτσα, Θ. 2000. Διερεύνηση του ρόλου φυσιολογικών και χημικών παραγόντων στην οργανογενετική και οντογενετική ικανότητα της ελιάς (*Olea europaea* L.). Διδακτορική διατριβή. Θεσσαλονίκη 2000.
- Πρίτσα, Θ., Βογιατζής, Δ. και Διαμαντίδης, Γ. 2003. Διακλύσεις ενδογενών πολυαμινών σε ωθημένες και φύλλα ελιάς κατά την περίοδο άνθησης και καρπώσεως και σχέση με την παρεναιουροφορία του δένδρου. *Πρακτικά ΕΕΕΟ* 10: 167-170.
- Rajam, M.V. 1989. Restriction of pollen germination and tube growth in lilly pollen by inhibitors of polyamine metabolism. *Plant Sci.* 59: 53-56.
- Rey, M., Díaz-Sala, C. and Rodríguez, R. 1994a. Comparison of endogenous polyamine content in hazel leaves and buds between the annual dormancy and flowering phases of growth. *Physiol. Plant.* 91: 45-50.
- Rey, M., Díaz-Sala, C. and Rodríguez, R. 1994b. Effect of repeated severe pruning on the endogenous polyamine content in hazelnut trees. *Physiol. Plant.* 92: 487-492.
- Rodríguez, A., Cañal, M.J. and Sanchez-Tamés, R. 1988. Indoleacetic acid, abscisic acid and phenolic substances during development of hazel leaves. *Physiol. Plant.* 73: 92-96.
- Rodríguez, A., Cañal, M.J. and Sanchez-Tamés, R. 1991. Seasonal changes of plant growth regulators in *Corylus*. *J. Plant Physiol.* 138: 29-32.
- Rugini, E. 1992. Involvement of polyamines in auxin and *Agrobacterium rhizogenes*-induced rooting of fruit trees in vitro. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117(3): 532-536.
- Rugini, E. and Mencuccini, M. 1985. Increased yield in the olive with putrescine treatment. *HortScience* 20(1): 102-103.
- Rugini, E., Bongi, C. and Mencuccini, M. 1986. Effect of putrescine, L-arginine and cobalt on fruit set, ethylene content and apparent parthenocarpy in olive (*Olea europaea* L.). *Acta Hort.* 179: 365-368.
- Rugini, E., Jacoboni, A. and Luppino, M. 1993. Role of basal shoot darkening and exogenous putrescine treatments on in vitro rooting and on endogenous polyamine changes in difficult-to-root woody species. *Sci. Hort.* 53: 63-72.
- Saftner, R.A. and Baldi, B.G. 1990. Polyamine levels and tomato fruit development: possible interaction with

- ethylene. *Plant Physiol.* 92: 547-550.
- Sagee, O. and Lovatt, C.J. 1991. Putrescine content parallels ammonia and arginine metabolism in developing flowers of the 'Washington' Navel orange. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116(2): 280-285.
- Scaramagli, S., Biondi, S., Leone, A., Grillo, S. and Torrigiani, P. 2000. Acclimation to low water potential in potato cell suspension cultures leads to changes in putrescine metabolism. *Plant Physiol. Biochem* 38(4): 345-351.
- Scoccianti, V., Sgarbi, E., Fraternali, D. and Biondi, S. 2000. Organogenesis from *Solanum melongena* L. (eggplant) cotyledon explants is associated with hormone-modulated enhancement of polyamine biosynthesis and conjugation. *Protoplasma* 211: 51-63.
- Serrano, M., Martvnez-Madrid, M.C., Riquelme, F. and Romojaro, F. 1995. Endogenous levels of polyamines and abscisic acid in pepper fruit during growth and ripening. *Physiol. Plant.* 95: 73-76.
- Sharma, M.L. and Ali, M. 1998. Polyamines as modulators of soybean productivity. *J. Agron. Crop Sci.* 181: 189-191 (Short communication).
- Shiozaki, S., Ogata, T. and Horiuchi, S. 2000. Endogenous polyamines in the pericarp and seed of the grape berry during development and ripening. *Sci. Hort.* 83: 33-41.
- Slocum, R. and Galston, A. 1985. Changes in polyamine biosynthesis associated with postfertilization growth and development in tobacco ovary tissues. *Plant Physiol.* 79: 336-343.
- Slocum, R.D. 1991. Polyamine biosynthesis in plants. In: Slocum, R.D. and Flores, H.E. (eds). *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A, pp. 23-40.
- Slocum, R.D., Kaur-Sawhney, R. and Galston, A.W. 1984. The physiology and biochemistry of polyamines in plants. *Arch. Biochem. Biophys.* 235(2): 283-303.
- Smith, M.A. 1990. The involvement of polyamines in the genetic and gibberellic acid control of internodal growth in peas. In: Flores, H.E., Arteca, R.N. and Shannon, J.C. (eds). *Polyamine and Ethylene: Biochemistry, Physiology and Interactions*. Am. Soc. Plant Physiol., Rockville, pp. 101-111.
- Smith, M.A., Davis, P.J. and Reid, J.B. 1985. Role of polyamines in gibberellin-induced internode growth in peas. *Plant Physiol.* 78: 92-99.
- Smith, T.A. 1985. Polyamines. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36: 117-143.
- Sood, S. and Nagar, P.K. 2003. The effect of polyamines on leaf senescence in two diverse rose species. *Plant Growth Regul.* 39(2):155-160.
- Tarenghi, E. and Martin-Tanguy, J. 1995. Polyamines, floral induction and floral development of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.). *Plant Growth Regul.* 17: 157-165.
- Tarenghi, E., Carrè, M. and Martin-Tanguy, J. 1995. Effects of inhibitors of polyamine biosynthesis and polyamines on strawberry microcutting growth and development. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 42: 47-55.
- Tassoni, A., Van Buuren, M., Franceschetti, M., Fornalè, S. and Bagni, N. 2000. Polyamine content and metabolism in *Arabidopsis thaliana* and effect of spermidine on plant development. *Plant Phys. Biochem.* 38(5): 383-393.
- Torrigiani, P. 1996. Polyamines as regulators of plant growth and development. *G. Bot. Ital.* 30: 15-21.
- Walker, M.A., Roberts, D.R., Shih, C.Y. and Dumbroff, E.B. 1985. A requirement for polyamines during the cell division phase of radicle emergence in seeds of *Acer saccharum*. *Plant Cell Physiol.* 26(5): 967-971.
- Wang, S.Y. and Faust, M. 1986. Effect of growth retardants or root formation and polyamine content in apple seedlings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111: 912-917.
- Wang, S.Y. and Faust, M. 1993. Comparison of seasonal growth and polyamine content in shoot of orchard-grown standard and genetic dwarf apple trees. *Physiol. Plant.* 89: 376-380.
- Wang, S.Y. and Faust, M. 1994. Changes in polyamine content during dormancy in flower buds of 'Anna' apple. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119(1): 70-73.
- Wang, S.Y., Faust, M. and Steffens, G.L. 1985. Metabolic changes in cherry flower buds associated with breaking of dormancy in early and late blooming cultivars. *Physiol. Plant.* 65: 89-94.
- Winer, L. and Apelbaum, A. 1986. Involvement of polyamines in the development and ripening of avocado fruit. *J. Plant Physiol.* 126: 223-233.
- Young, N.D. and Galston, A.W. 1983. Putrescine and acid stress. Induction of arginine decarboxylase activity and putrescine accumulation by low pH. *Plant Physiol.* 71: 767-771.
- Zacchini, M., Marotta, A. and de Agazio, M. 1997. Tolerance to salt stress in maize callus lines with different polyamine content. *Plant Cell Rep.* 17: 119-122.

Δημιουργία διαπλοειδών σειρών στο μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum* L em. Thell) με την τεχνική της ανθηροκαλλιέργειας

I. Ζαμάνη¹, Ε. Γουλή-Βαβδινούδη² και Δ. Ρουπακιάς²

Περίληψη

Η τεχνική της ανθηροκαλλιέργειας, μία διαδικασία παραγωγής απλοειδών φυτών, εξασφαλίζει στους βελτιωτές καθαρές σειρές μέσα σε μία μόνο γενεά και επιταχύνει κατά τρία τουλάχιστον χρόνια την κλασική βελτιωτική διαδικασία. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η διαδικασία της ανθηροκαλλιέργειας στο μαλακό σιτάρι και γίνεται αναφορά σε παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της τεχνικής και της παραγωγής διαπλοειδών σειρών. Σημειώνεται η σημαντική επίδραση του γενοτύπου στην αντίδραση στην ανθηροκαλλιέργεια, καθώς έχει παρατηρηθεί αυξημένη διαφοροποίηση μεταξύ των γενοτύπων του σιταριού όσον αφορά την ανδρογενετική τους ικανότητα, ενώ παρουσιάζονται οι δυνατότητες αξιοποίησης της μεθόδου στα βελτιωτικά προγράμματα. Έτσι, οι διαπλοειδείς σειρές που προήλθαν από ανθηροκαλλιέργεια μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη βελτιωτική διαδικασία, εφόσον έχουν την ίδια συμπεριφορά με τις σειρές που προέρχονται από τις παραδοσιακές μεθόδους βελτίωσης. Σύγκριση μεταξύ τους έδειξε ότι η ανθηροκαλλιέργεια μπορεί να δώσει ομόζυγες σειρές με καλή παραγωγική συμπεριφορά στον αγρό και με επιθυμητά αγρονομικά χαρακτηριστικά, όπως ακριβώς και η κλασική βελτιωτική μεθοδολογία. Συμπεραίνεται ότι η ανθηροκαλλιέργεια μπορεί να αποτελέσει ένα ικανοποιητικό σύστημα παραγωγής νέων γενοτύπων και αξιόλογων ποικιλιών.

Λέξεις κλειδιά: *Triticum aestivum*, ανθηροκαλλιέργεια, διαπλοειδή, βελτίωση

Εισαγωγή

Το μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum*) είναι μία από της σημαντικότερες καλλιέργειες στον Ελληνικό χώρο τόσο σε έκταση όσο και σε οικονομική σημασία. Η δημιουργία νέων ποικιλιών με τη συμβατική μεθοδολογία είναι διαδικασία όπου απαιτούνται τουλάχιστον 5 κύκλοι επιλογής και δύο γενεές αξιολόγησης σε συγκριτικά πειράματα. Η μακρόχρονη αυτή βελτιωτική διαδικασία θα μπορούσε να επιταχυνθεί κατά τρία τουλάχιστον χρόνια με την εφαρμογή της ανθηροκαλλιέργειας. Η χρησιμοποίηση της τεχνικής αυτής εξασφαλίζει στους βελτιωτές καθαρές σειρές μέσα σε μία μόνο γενεά και την ικανότητα να κάνουν αποτελεσματική επιλογή για αγρονομικά χαρακτηριστικά σε ομόζυγα φυτά (Tuvesson κ.α., 2000). Επομένως, η ενσωμάτωση της τεχνικής σε εφαρμοσμένη κλίμακα, εφόσον διασφαλίζεται η αποτελεσματικότητα και το οικονομικά εφικτό σε σύγκριση με τις συμβατικές προσεγγίσεις της γενεαλογικής επιλογής, είναι ασφαλώς επιθυμητή σε κάθε βελτιωτικό πρόγραμμα που αποβλέπει στη δημιουργία ποικιλιών. Προϋπόθεση αξιοποίησης της μεθοδολογίας είναι η βελτίωση των σχετικών τεχνικών in-vitro καλλιέργειας για την παραγωγή διαπλοειδών σειρών, που θα εξασφαλίσουν την ταχεία και αποτελεσματική δημιουργία των καθαρών σειρών που θα χρησιμοποιηθούν για αξιολόγηση και επιλογή.

Η παραγωγή απλοειδών φυτών σιταριού μέσω της καλλιέργειας ανθήρων αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1973 από τρεις διαφορετικές επιστημονικές ομάδες: Ouyang κ.α., Picard και De Buyser, Chu κ.α. (Henry and De Buyser, 1990). Τα προβλήματα της αρχικής μεθοδολογίας αντιμετωπίστηκαν ικανοποιητικά και η σύγχρονη βελτιωμένη τεχνική έχει σαν αποτέλεσμα να αυξηθεί το ποσοστό εμβρυοειδών δομών που παράγονται από τους καλλιεργούμενους ανθήρες καθώς και το ποσοστό παραγωγής πράσινων φυτών. Έτσι, για συγκεκριμένους γενοτύπους και κάτω από άριστες συνθήκες καλλιέργειας από ένα στάχυ μαλακού σιταριού είναι εφικτό να αποκτηθούν 40 έως 100 πράσινα φυτά (Puolimatka and Pauk, 2000).

Η βελτίωση των συνθηκών ανθηροκαλλιέργειας είχε ως αποτέλεσμα την αξιοποίηση της σχετικής μεθοδο-

¹ Δ/ση Αγροτικής Ανάπτυξης Γρεβενών

² Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας Α.Π.Θ.

λογίας διαπλοειδών στα προγράμματα δημιουργίας ποικιλιών. Η ποικιλίες μαλακού σιταριού 'Jinghua No.1' στην Κίνα (Hu, 1986) και η Florin στη Γαλλία (Henry and DeBuyser, 1990) και η ποικιλία ρυζιού 'Joiku No. 394' είναι οι πρώτες που δημιουργήθηκαν με αξιοποίηση της τεχνικής της ανθηροκαλλιέργειας (Raina, 1997).

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η παρουσίαση της τεχνικής της ανθηροκαλλιέργειας ως μεθοδολογίας δημιουργίας διαπλοειδών σειρών στο σιτάρι, με βάση τα δεδομένα της βιβλιογραφίας και ειδικότερα τους παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της τεχνικής ως προς την παραγωγή απλοειδών φυτών καθώς και την αξιοποίηση της μεθόδου στα προγράμματα δημιουργίας ποικιλιών.

Η τεχνική της ανθηροκαλλιέργειας

Η ανθηροκαλλιέργεια, για το μαλακό σιτάρι, ακολουθεί τα παρακάτω στάδια:

α. Καλλιέργεια ανθήρων

Χρησιμοποιούνται στάχυα από φυτά που βρίσκονται στο στάδιο του φύλλου σημαία και γίνεται έλεγχος της γαμετογένεσης. Επιλέγονται μόνο τα στάχυα, τα μικροσπόρια των οποίων είναι στο μέσο ή στο τέλος του μονοπύρηνου σταδίου. Στη συνέχεια οι ανθήρες απομακρύνονται σε ασηπτικές συνθήκες και τοποθετούνται σε τριβλία με βασικό υπόστρωμα W_{14} (Ouyang κ.α., 1989), σε στερεή ή υγρή μορφή. Τα τριβλία μεταφέρονται σε θάλαμο ανάπτυξης, στο σκοτάδι σε θερμοκρασία 28° C, όπου παραμένουν για 4 έως 6 εβδομάδες, μέχρι να εμφανιστούν οι εμβρυοειδείς δομές.

β. Αναγέννηση φυτών – Δημιουργία απλοειδών

Τα εμβρυοειδή που έχουν ικανοποιητικό μέγεθος, συνήθως μεγαλύτερο του 1mm μεταφέρονται σε υπόστρωμα αναγέννησης και τοποθετούνται σε θάλαμο ανάπτυξης με θερμοκρασία 28° C και φωτοπερίοδο 16 ωρών για 2 έως 3 εβδομάδες. Κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας, τα εμβρυοειδή εμφανίζουν πράσινες κορυφές, μεγάλο ποσοστό των οποίων εξελίσσεται σε φυτάρια. Παράλληλα αναπτύσσονται και ανεπιθύμητες μορφές χλωρωτικών φυταριών, τα αλβίνα, που απομακρύνονται. Τα πράσινα φυτάρια τοποθετούνται στη συνέχεια σε κωνικές φιάλες συνήθως με υπόστρωμα MS (Murashige and Skoog, 1962) που δεν περιέχει ορμόνες, για να αναπτύξουν ικανοποιητικό ριζικό σύστημα. Το επόμενο στάδιο είναι η προσαρμογή των φυτών σε φυσικό περιβάλλον ανάπτυξης. Τα φυτά μεταφυτεύονται σε γλάστρες και αναπτύσσονται σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας 20 / 16° C (ημέρα / νύχτα) και φωτοπερίοδο 16 ώρες, μέχρι την παραγωγή σπόρων.

Αποτελεσματικότητα παραγωγής απλοειδών φυτών

Η αποτελεσματικότητα της τεχνικής της ανθηροκαλλιέργειας αναφορικά με τον αριθμό των απλοειδών φυτών που θα δώσουν σπόρο επηρεάζεται από παράγοντες που επιδρούν πριν ή κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας αλλά και από τον γενότυπο.

α. Παράγοντες πριν από τη διαδικασία της ανθηροκαλλιέργειας

Φυτά-Δότες

Ο πιο σημαντικός παράγοντας είναι η επιλογή των φυτών που θα χρησιμοποιηθούν ως δότες. Συνήθως χρησιμοποιούνται ανθήρες από φυτά που έχουν καλλιεργηθεί στο θερμοκήπιο ή στο χωράφι. Η χρησιμοποίηση ανθήρων από φυτά θερμοκηπίου πλεονεκτεί λόγω της δυνατότητας εφαρμογής της μεθόδου καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου. Παρουσιάζει όμως το μειονέκτημα της μειωμένης παραγωγής εμβρυοειδών δομών σε σχέση με τη χρησιμοποίηση ανθήρων από φυτά που καλλιεργήθηκαν στο χωράφι (Ouyang κ.α., 1987). Μειωμένη επίσης παρουσιάζεται και η παραγωγή των πράσινων φυτών σε ανθηροκαλλιέργεια φυτών θερμοκηπίου. Δεδομένα των Andersen κ.α. (1988) από δέκα ποικιλίες μαλακού σιταριού που καλλιεργούνται στις Σκανδιναβικές χώρες έδειξαν ότι τα φυτά που καλλιεργήθηκαν στον αγρό ήταν η καλύτερη πηγή παραγωγής πράσινων φυτών, αφού στο μέσο όρο έδωσαν 50% περισσότερα απλοειδή σε σύγκριση με φυτά που καλλιεργήθηκαν στο θερμοκήπιο. Σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές φυτά καλλιεργούμενα στο θερμοκήπιο μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο για την αναγνώριση γενότυπων με καλή αντίδραση στην ανθηροκαλλιέργεια.

Ανάλογα με τα προηγούμενα ήταν και τα δεδομένα των Zamani κ.α. (1997) σε δέκα Ελληνικές ποικιλίες

μαλακού σιταριού, που επίσης έδειξαν ότι τα καλύτερα αποτελέσματα προέκυψαν από φυτά που αναπτύχθηκαν στον αγρό. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ως προς την παραγωγή εμβρυοειδών δομών και την ικανότητα αναγέννησης. Εξαιρέση αποτέλεσε η ποικιλία Τζενερόζο που παρουσίασε αυξημένη παραγωγή εμβρυοειδών όταν τα φυτά δότες καλλιεργήθηκαν στο θερμοκήπιο (Πίν. Ι). Αντίθετα οι Bjornstad κ.α. (1989) αναφέρουν ότι τα φυτά που αναπτύσσονται σε συνθήκες γεωργού είχαν μειωμένη αντίδραση στην ανθηροκαλλιέργεια σε σχέση με φυτά θερμοκηπίου. Τέτοια αντιφατικά δεδομένα πιθανόν να οφείλονται στις διαφορές θερμοκρασίας και έντασης φωτός που παρουσιάζονται στα δύο περιβάλλοντα και την αλληλεπίδρασή τους με το γενότυπο.

Πίνακας Ι. Επίδραση του περιβάλλοντος των φυτών-δοτών στην παραγωγή εμβρυοειδών δομών, την αναγέννηση φυτών και την παραγωγή αλβίνων φυτών. (Zamani κ.α. 1997)

Γενότυπος	Χωράφι			Θάλαμος ανάπτυξης		
	Παραγωγή εμβρυοειδών %	Αναγέννηση φυτών %	Παραγωγή αλβίνων φυτών %	Παραγωγή εμβρυοειδών %	Αναγέννηση φυτών %	Παραγωγή αλβίνων φυτών %
ΚVZ	34,79	2,57	0,00	6,55	0,00	0,00
Σ. Σιέρρος	10,88	1,16	0,17			
Άγελως	12,30	4,90	1,34	0,73	0,00	0,00
Χίος	8,06	6,25	2,73	0,70	0,00	42,11
Δίο	1,73	0,00	0,00			
Βεργίνα	20,10	0,33	2,80	4,91	4,62	30,77
Νέστος	1,81	0,00	0,00			
Τζενερόζο	5,90	3,85	2,40	19,13	0,00	0,00
Μύκονος	15,71	0,31	0,61	6,17	1,41	35,21
Πηγιός	0,16	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00

Στάδιο κοπής των στάξεων

Η κοπή των στάξεων γίνεται όταν το στάχυ ετοιμάζεται να βγει από τον κολεό του τελευταίου φύλλου. Θεωρείται σημαντικός παράγοντας γιατί ουσιαστικά αντικατοπτρίζει το στάδιο στο οποίο βρίσκονται τα μικροσπόρια τη χρονική στιγμή που τοποθετούνται στο υπόστρωμα οι ανθήρες και το οποίο επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου (Heberle-Bors, 1985). Μελέτη της επίδρασης του σταδίου των μικροσπορίων στην ανθηροκαλλιέργεια της ποικιλίας ΚVZ έδειξε ότι το ποσοστό των εμβρυοειδών δομών υποδιπλασιάστηκε όσο το μικροσπόριο εξελισσόταν από το μέσο του μονοπύρηνου σταδίου (MU) έως την πρώτη μιτωτική διαίρεση (Ζαμάνη κ.α., 2001). Σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές ο αριθμός των πράσινων φυτών ήταν αυξημένος όταν η καλλιέργεια ανθίρων έγινε στο τελικό μονοπύρηνο στάδιο (LU). Αν και το καταλληλότερο στάδιο λήψης των ανθίρων εξαρτάται από το είδος, οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν ότι τοποθετείται πριν την πρώτη μιτωτική διαίρεση, δηλαδή στο μέσο ή το τέλος του μονοπύρηνου σταδίου (Hassawi and Liang, 1990). Μόνο κατά τη διάρκεια αυτών των σταδίων μπορούν οι συνθήκες του περιβάλλοντος ή η χρήση ορμονών να επιδράσουν στη διαδικασία δημιουργίας του αρσενικού γαμετόφυτου και να αναγκάσουν το μικροσπόριο να ακολουθήσει την σποροφυτική οδό (Heberle-Bors, 1985).

Προμεταχειρίσεις

Διάφορα είδη προμεταχειρίσεων εφαρμόζονται σε ολόκληρο το στάχυ ή στους ανθήρες πριν την τελική τοποθέτησή τους στο θρεπτικό υπόστρωμα καλλιέργειάς τους. Η επέμβαση στο στάχυ με χαμηλή θερμοκρασία έχει συμβάλει θετικά στην ανθηροκαλλιέργεια του ρυζιού (Raina, 1997) και του κριθαριού (Lezin κ.α., 1996). Η εφαρμογή της στο μαλακό σιτάρι είχε σαν αποτέλεσμα μια αυξημένη ομογενοποίηση των μικροσπορίων και συγχρονισμένη εξέλιξή τους, γεγονός που αύξησε το ποσοστό παραγωγής εμβρυοειδών δομών (H.Hu, 1986). Οι Lazar κ.α. (1990) χρησιμοποίησαν προμεταχείριση σε στάχυα σιταριού με δύο διαφορετικές χαμηλές θερμοκρασίες 4 και 10° C και τέσσερις διαφορετικές χρονικές περιόδους εφαρμογής 0, 7, 14 και 21 ημέρες.

Όσον αφορά τους γενοτύπους που μελετήθηκαν παρατηρήθηκε ότι την καλύτερη αντίδραση στην ανθηροκαλλιέργεια παρουσίασαν ανθήρες από στάχια που τοποθετήθηκαν στους 4° C για 7 ή 14 ημέρες.

Αντίθετα αποτελέσματα από την εφαρμογή της προμεταχείρισης με κρύο παρατηρήθηκαν από τους Ghaemi κ.α. (1995) στο σκληρό σιτάρι. Τοποθέτηση των στάχων για 7 ημέρες στους 4° C μείωσε την παραγωγή των εμβρυοειδών δομών. Η αρνητική επίδραση της χαμηλής θερμοκρασίας έχει επιβεβαιωθεί και σε πειράματα με μαλακό σιτάρι (Marsolais κ.α. 1984, McGreco και McHughen 1990). Επίσης οι Ζαμάνη κ.α. (2001) εφαρμόζοντας χαμηλές θερμοκρασίες (4° C) σε στάχια έξι ποικιλιών μαλακού σιταριού παρατήρησαν σημαντική μείωση της παραγωγής εμβρυοειδών δομών και πράσινων φυτών. Μόνο σε μία ποικιλία η ανδρογενετική ικανότητα και η αναγέννηση φυτών δεν επηρεάστηκε από την προμεταχείριση.

Η προμεταχείριση ανθέρων σε υψηλές θερμοκρασίες (35°C) αποτελεί το σημαντικότερο παράγοντα για την παραγωγή εμβρυοειδών από φυτά του γένους Brassica (Keller and Armstrong, 1983). Οι ίδιες υψηλές θερμοκρασίες αύξησαν την αντίδραση στην ανθηροκαλλιέργεια στο καλαμπόκι (Immonen and Merjankari, 1997) και στη βρώμη (Kiviharju, 1999). Στο σιτάρι προμεταχείριση με υψηλές θερμοκρασίες (32 °C) δύο ποικιλιών μαλακού σιταριού (Αχελώος και Βεργίνα) και του υβριδίου τους είχε ως αποτέλεσμα σημαντική αύξηση στην παραγωγή πράσινων φυτών του υβριδίου Αχελώος x Βεργίνα (Χυπίας κ.α., 2001).

Σύμφωνα με τα προηγούμενα αντιφατικά δεδομένα δεν φαίνεται να προκύπτει η θετική επίδραση των προμεταχειρίσεων των στάχων με χαμηλές ή υψηλές θερμοκρασίες στην ανθηροκαλλιέργεια. Η αποτελεσματικότητα των μεθόδων αυτών φαίνεται ότι εξαρτάται τόσο από το φυτικό είδος όσο και τον γενότυπο.

β. Παράγοντες κατά τη διαδικασία της ανθηροκαλλιέργειας

Θρεπτικό μέσο καλλιέργειας

Η επιλογή του θρεπτικού υποστρώματος παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της ανθηροκαλλιέργειας και επηρεάζει τόσο την αντίδραση των ανθέρων, όσο και την ικανότητα αναγέννησης των εμβρυοειδών δομών. Το βασικό υπόστρωμα αποτελείται από ανόργανα άλατα, βιταμίνες, μία πηγή υδατανθράκων, ορμόνες, αμινοξέα και παράγοντες στερεοποίησης. Η επίδραση των διαφόρων συστατικών του υποστρώματος παρουσιάζεται στον πίνακα II.

Συνθήκες καλλιέργειας

Η επίδραση της θερμοκρασίας θεωρείται κρίσιμη σε όλη τη διάρκεια της ανθηροκαλλιέργειας. Η ικανότητα παραγωγής εμβρυοειδών δομών αυξάνεται με αύξηση της θερμοκρασίας από 24° C σε 27° C, ενώ έχει βρεθεί ότι η άριστη θερμοκρασία για την ανθηροκαλλιέργεια του μαλακού σιταριού φαίνεται να είναι από 28 έως 32° C ενώ εξαρτάται και από το γενότυπο (Ouyang κ.α., 1987). Θερμοκρασίες από 24 έως 28° C θεωρούνται κατάλληλες για μία επιτυχή φάση αναγέννησης και παραγωγής πράσινων φυτών (Marsolais κ.α. 1984, Andersen κ.α. 1988).

Αντίθετα, η ένταση του φωτός και η διάρκεια της φωτοπεριόδου δεν επηρεάζουν την παραγωγή εμβρυοειδών δομών. Πειράματα με τοποθέτηση ανθέρων σε σκοτάδι ή σε φωτοπερίοδο 16 ωρών δεν έδειξαν σαφείς διαφορές στην αντίδραση των ανθέρων στην in-vitro καλλιέργεια (Henry and De Buyser, 1990). Φυσικά, η παρουσία φωτός είναι απαραίτητη για την αναγέννηση των εμβρυοειδών δομών και την παραγωγή πράσινων φυτών (Ekiz και Konzak, 1997) αλλά ο υπερβολικός φωτισμός μπορεί να έχει αρνητικό αποτέλεσμα. Ένταση φωτός 500-2000lx κρίνεται ικανοποιητική για τη δημιουργία των πράσινων βλαστών.

γ. Η επίδραση του γενοτύπου

Ο γενότυπος είναι σημαντικός παράγοντας στην προσπάθεια μεγιστοποίησης της αντίδρασης στην ανθηροκαλλιέργεια. Έχει παρατηρηθεί αυξημένη διαφοροποίηση μεταξύ των γενοτύπων του σιταριού όσον αφορά την ανδρογενετική τους ικανότητα. Οι Orlov κ.α. (1993) μελέτησαν την ικανότητα παραγωγής πράσινων φυτών σε 30 ποικιλίες μαλακού σιταριού, 12 ποικιλίες σκληρού σιταριού και 18 γενοτύπους από άγρια συγγενικά είδη σιταριού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι μισές ποικιλίες μαλακού σιταριού καθώς και το μεγαλύτερο ποσοστό των υπόλοιπων γενοτύπων ήταν ακατάλληλα υλικά για ανθηροκαλλιέργεια, λόγω της έλλειψης ικανότητας παραγωγής πράσινων φυτών. Δεδομένα των Ζαμάνη κ.α. (2000) έδειξαν σημαντική επίδραση του γενοτύπου στην παραγωγή εμβρυοειδών δομών και πράσινων φυτών, όταν μελετήθηκε η αντίδραση στην

Πίνακας II. Επίδραση των διαφόρων συστατικών του υποστρώματος

Συστατικό υποστρώματος	Αποτελέσματα	Πηγές
<u>Ανόργανα άλατα</u>		
Ιόντα καλίου	Αύξηση της συγκέντρωσης κατά 3,5 έως 7mM αυξάνει το ποσοστό παραγωγής πράσινων φυτών.	Ouyang κ.α. (1999)
Ιόντα NH ₄ ⁺	Απαραίτητη η παρουσία τους σε συγκέντρωση από 2 έως 7mM.	Ouyang κ.α. (1999)
Ιόντα H ₂ PO ₄	Η παραγωγή εμβρυοειδών αυξάνει όσο η συγκέντρωση αυξάνει από 0,25 σε 8mM.	Ouyang κ.α. (1999)
<u>Αμινοξέα</u>		
Γλουταμίνη	Προσθήκη στο σιτάρι σε ποσότητες 0-10 μmol/L δεν επηρέασε την παραγωγή εμβρυοειδών δομών και πράσινων φυτών.	Puolimatka and Pauk (2000)
Ενδυασμός 19 αμινοξέων	Αύξησε τον αριθμό των εμβρυοειδών και των πράσινων φυτών πέντε γενωτύπων μαλακού σιταριού.	Trottier κ.α. (1993)
<u>Πηγή υδατανθράκων</u>		
Σουκρόζη	Υψηλό οσμωτικό δυναμικό αυξάνει τον αριθμό των πράσινων φυτών και μειώνει των αλβίνων.	Zhou κ.α. (1991), Hoekstra κ.α. (1993), Pescitelli κ.α. (1990)
Μαλτόζη	Έχει οδηγήσει σε σημαντική βελτίωση της ανδρογενεακής ικανότητας του σιταριού. Η παραγωγή εμβρυοειδών δομών αυξήθηκε.	Orshinsky and Sadasivaiah (1994) Ofani και Shimada (1993), Navarro-Alvarez κ.α. (1994)
	Αρνητική η επίδραση της μαλτόζης στην παραγωγή πράσινων φυτών.	Trottier κ.α. (1993)
<u>Ορμόνες</u>		
2,4-D	Δίνει μεγαλύτερο αριθμό καλοσχη-ματισμένων εμβρύων από υς IAA και NAA.	Henry and De Buyser (1990)
IAA	Εντείνει την άμεση εμβρυογένεση	Ball κ.α. (1993)
NAA	Αναγέννηση των εμβρυοειδών δομών στο ίδιο υπόστρωμα χωρίς την μεταφορά τους σε υπόστρωμα αναγέννησης.	Liang κ.α. (1987)
Κιντάνη	Καλύτερη ποιότητα εμβρυοειδών δομών.	Henry και De Buyser (1990)
<u>Παράγοντες στερεοποίησης</u>		
Χωρίς (Υγρό υπόστρωμα)	Καλύτερο για την παραγωγή εμβρυοειδών δομών	Lazar κ.α. (1985)
	Η ικανότητα παραγωγής πράσινων φυτών ήταν πολύ χαμηλότερη σε σχέση με το στερεό υπόστρωμα.	Zhou και Konzak (1989)
Ficoll	Αποφεύγεται η βύθιση των εμβρυοειδών δομών στο διάλυμα.	Kao (1981)
	Αύξησε την αναγέννηση πράσινων φυτών αλλά μείωσε την παραγωγή των εμβρυοειδών δομών στο σιτάρι.	Zhou κ.α. (1992)
	Δεν επηρέασε την ανδρογενεακή ικανότητα δύο ποικιλιών σιταριού.	Puolimatka και Pauk (2000)

ανθηροκαλλιέργεια δέκα ποικιλιών μαλακού σιταριού και πέντε F₁. Στο ίδιο πείραμα παρατηρήθηκαν και αλληλεπιδράσεις μεταξύ γενοτύπου και μέσου καλλιέργειας για την εμβρυογενετική ικανότητα και την ικανότητα αναγέννησης φυτών. Παρόμοια δεδομένα αναφέρθηκαν από τους Ghaemi κ.α. (1995) που μελέτησαν την αντίδραση στην ανθηροκαλλιέργεια σε δύο ποικιλίες σκληρού σιταριού.

Η ανδρογενετική ικανότητα στο σιτάρι, ως παραγωγή εμβρυοειδών και αναγέννηση πράσινων φυτών ελέγχεται από γονίδια που βρίσκονται στα χρωμοσώματα 2A, 2D, 5A, 5B, 4A και 2B (Agache κ.α. 1989, Zhang και Li 1984). Επίσης η ύπαρξη του χρωμοσωμικού συνδυασμού 1B/1R αυξάνει το ποσοστό αντίδρασης των ανθήρων (Orlun κ.α., 1993). Σύμφωνα με τους Lazar κ.α. (1984) και Deaton κ.α. (1987) η παραγωγή εμβρυοειδών και πράσινων φυτών στην ανθηροκαλλιέργεια πιθανότατα είναι ποσοτικό χαρακτηριστικό, που επηρεάζεται από γονίδια του πυρήνα με αθροιστική και μη αθροιστική δράση. Επίσης, σύμφωνα με τους Tuvesson κ.α. (1989) η κληρονομηση της ανδρογενετικής ικανότητας στο σιτάρι εξαρτάται από δύο ομάδες γονιδίων. Η μία ομάδα, με αθροιστική κυρίως δράση, μεταβάλλει το ποσοστό των πράσινων φυτών επηρεάζοντας το ποσοστό αναγέννησης από πράσινες κορυφές, ενώ η δεύτερη ομάδα που αποτελείται από δύο ή περισσότερα γονίδια επηρεάζει την αρχική συχνότητα των εν γενέσει πράσινων φυτών.

Δημιουργία διαπλοειδών φυτών με τη μέθοδο της in-vitro καλλιέργειας ανθήρων

Η βελτίωση της αντίδρασης στην ανθηροκαλλιέργεια οδηγεί στην παραγωγή αυξημένου αριθμού πράσινων φυτών που στο μεγαλύτερο ποσοστό τους είναι απλοειδή. Τα πράσινα αυτά φυτά, αν και είναι επιθυμητοί ανασυνδυασμοί, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε προγράμματα βελτίωσης, μόνο έπειτα από διπλασιασμό του χρωμοσωμικού τους αριθμού, που οδηγεί στη δημιουργία καθαρών σειρών, γνωστών ως διαπλοειδών.

Η παραγωγή διαπλοειδών φυτών με αυτόματο διπλασιασμό μέσω της διαδικασίας της ανθηροκαλλιέργειας έχει αναφερθεί σε πολλά είδη, όπως στο καλαμπόκι (Saisintong κ.α., 1996), στο είδος Brassica (Chen and Beversdorf, 1992) και στο σιτάρι (Mentewab and Sarrafi, 1997). Το φαινόμενο οφείλεται σε συγχώνευση πυρήνων, ενδομίτωση ή ενδοαναδιπλασιασμό (Henry and De Buyser, 1990). Το ποσοστό όμως των φυτών που διπλασιάζουν το χρωμοσωμικό τους αριθμό, εξαρτάται κυρίως από τον γενότυπο και συνήθως κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα (Mentewab and Sarrafi 1997, Saisintong κ.α. 1996). Επομένως στη διαδικασία της ανθηροκαλλιέργειας είναι απαραίτητη μία αποτελεσματική τεχνική διπλασιασμού του χρωμοσωμικού αριθμού των απλοειδών φυτών (Loh and Ingram, 1983).

Η πιο διαδεδομένη μέθοδος διπλασιασμού του αριθμού των χρωμοσώμων στο σιτάρι είναι η εφαρμογή κολχικίνης σε φυτά νεαρής ηλικίας. Συγκεκριμένα, οι ρίζες του φυτού, που βρίσκεται στο στάδιο των τριών φύλλων, εμβαπτίζονται σε διάλυμα κολχικίνης για πέντε ώρες, στη συνέχεια ξεπλένονται πολύ καλά και το φυτό επανατοποθετείται στη γλάστρα. Η μέθοδος δεν έχει μεγάλη επιτυχία γιατί η κολχικίνη είναι τοξική ουσία και το ποσοστό των φυτών που δεν επιζούν είναι υψηλό. Επιπλέον παρατηρείται παραγωγή μιξοπλοειδών ή χιμαιρικών φυτών (Mathias and Robbelen, 1991). Για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων, οι Barnabas κ.α. (1991) πρότειναν την προσθήκη κολχικίνης στο υπόστρωμα ανθηροκαλλιέργειας του σιταριού, με σκοπό το διπλασιασμό του γενώματος του μονοπύρηνου μικροσπορίου πριν την πρώτη μίτωση και επομένως την παραγωγή ενός ομοζυγου διαπλοειδούς φυτού. Η εφαρμογή της κολχικίνης για τρεις ημέρες σε ανθήρες, στην αρχή της διαδικασίας της ανθηροκαλλιέργειας, μείωσε το ποσοστό παραγωγής εμβρυοειδών δομών αλλά βελτίωσε την ικανότητα αναγέννησης και αύξησε το ποσοστό των διαπλοειδών φυτών (Navarro-Alvarez κ.α., 1994b). Η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε και στην ανθηροκαλλιέργεια Ελληνικών ποικιλιών μαλακού σιταριού, όμως η μεταχείριση των μικροσπορίων με κολχικίνη δεν επηρέασε σημαντικά την παραγωγή εμβρυοειδών δομών και πράσινων φυτών (Zamani κ.α. 2000, Ζαμάνη κ.α. 2001).

Αξιοποίηση των διαπλοειδών φυτών στα προγράμματα βελτίωσης

Η χρησιμοποίηση διαπλοειδών φυτών, προϊόντων ανθηροκαλλιέργειας, στα προγράμματα βελτίωσης είναι ευνοϊκή. Αναμεικτά πλεονεκτήματα είναι η μεγαλύτερη γενετική παραλλακτικότητα, η καλύτερη αντίδραση στην επιλογή που οφείλεται στην ομοζυγωτία και η ουσιαστική σύντμηση του χρόνου που απαιτείται για την δημιουργία μιας ποικιλίας κατά τρία έως πέντε χρόνια σε σχέση με την κλασική προσέγγιση (Picard κ.α., 1990). Συγκεκριμένο παράδειγμα αποτελεί η πρώτη ποικιλία που προήλθε από διαπλοειδή σειρά με τη διαδικασία της ανθηροκαλλιέργειας και έγινε δεκτή για εγγραφή στον εθνικό κατάλογο της Γαλλίας το 1985 (De Buyser κ.α.,

1987). Για την ποικιλία αυτή χρησιμοποιήθηκαν μόνο 64 διαπλοειδή φυτά μίας διασταύρωσης και απαιτήθηκαν μόνο επτά χρόνια για να δοθεί η ποικιλία για εμπορεία.

Η αξιοποίηση των διαπλοειδών σειρών για δημιουργία νέων ποικιλιών προϋποθέτει την ύπαρξη σταθερής παραγωγικής συμπεριφοράς. Αποτελέσματα των τελευταίων χρόνων έχουν δείξει ότι το 90% των απογόνων των διαπλοειδών σειρών έχουν σταθερότητα συμπεριφοράς στον αγρό για μορφολογικά χαρακτηριστικά και ανθεκτικότητα σε ασθένειες (Hu 1986, Henry και De Buysier 1990, Picard 1990, Hu and Kasha 1997).

Για να χρησιμοποιηθούν, όμως, στη βελτιωτική διαδικασία οι διαπλοειδείς σειρές που δημιουργούνται με την τεχνική της ανθηροκαλλιέργειας, πρέπει να έχουν την ίδια παραγωγική συμπεριφορά με τις σειρές που προέρχονται από τις παραδοσιακές μεθόδους βελτίωσης. Σύγκριση μεταξύ διαπλοειδών σειρών από δύο διασταυρώσεις κριθαριού και αντίστοιχων σειρών που προήλθαν από τις ίδιες διασταυρώσεις με τη μέθοδο επιλογής καταγωγή από μεμονωμένους σπόρους (Single Seed Descent) δεν έδειξε διαφορές μεταξύ τους για την απόδοση, την ημερομηνία ξεσταχυσίματος και το ύψος φυτού (Choo κ.α., 1982). Δεδομένα από καλαμπόκι (Murigneux κ.α., 1993), ρύζι (Courtois, 1993) και τριτικάλε (Charmet and Branlard, 1985) έδειξαν ότι οι δύο μέθοδοι έχουν την ίδια δυνατότητα ως προς την παραγωγή καθαρών σειρών που θα αξιοποιηθούν στη διαδικασία βελτίωσης. Στο μαλακό σιτάρι οι Mitchell κ.α. (1992) μελέτησαν διαπλοειδείς σειρές από ανθηροκαλλιέργεια και σειρές που προήλθαν από τη μέθοδο επιλογής καταγωγή από μεμονωμένους σπόρους. Σύμφωνα με τα δεδομένα τους, η ανθηροκαλλιέργεια μπορεί να δώσει ομόζυγες σειρές με απογόνους που χαρακτηρίζονται από καλή συμπεριφορά στον αγρό και με επιθυμητά αγρονομικά χαρακτηριστικά, όπως ακριβώς και η κλασική μέθοδος βελτίωσης. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται από τη συγκριτική αξιολόγηση διαπλοειδών σειρών και F_6 σειρών γενεαλογικής επιλογής στο μαλακό σιτάρι (Ε. Γουλή-Βαβδινούδη κ.α., 2000). Από τα παραπάνω δεδομένα γίνεται φανερό ότι η ανθηροκαλλιέργεια μπορεί να αποτελέσει ένα ικανοποιητικό σύστημα παραγωγής νέων γενοτύπων και αξιόλογων ποικιλιών. Ο συνδυασμός της τεχνικής της ανθηροκαλλιέργειας με την γενεαλογική επιλογή θα μπορούσε να οδηγήσει σε αύξηση της αποτελεσματικότητας στην δημιουργία καθαρών σειρών σε συντομότερο χρονικό διάστημα.

Production of doubled haploids by anther culture in bread wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell)

I. Zamani¹, E. Gouli-Vavdinoudi² and D. Roupakias²

Abstract

Application of the in-vitro anther culture technique for the production of doubled haploids is of great importance in breeding programs because it generates completely homozygous individuals in one generation and it could reduce the time needed for a variety to be released. Thus this paper reviews the anther culture method in bread wheat. Furthermore, the effect of various factors in anther culture response and doubled haploid production is presented. Genetic factors have been recognized to be the major contributors to the androgenic ability of wheat genotypes. The agronomic performance and stability of the doubled haploid plants produced from anther culture was also considered. It is stated that the doubled haploid lines were homogenous and had a stable performance in the field. No differences were reported between the doubled haploid lines and the conventional wheat cultivars. It was concluded that the anther culture technique could be efficient employed in breeding programmes.

Key words: *Triticum aestivum*, anther culture, doubled haploids, breeding programmes

Βιβλιογραφία

Agache S., B. Bachelier, J. de Buysier, Y. Henry and S. Snape. 1989. Genetic analysis of anther culture response in wheat using aneuploid, chromosome substitution and translocation lines. Theor. Appl. Genet. 77:7-11.

¹ Agrarion Development Office, Grevena

² Department of Genetics and Plant Breeding, Aristotle University of Thessaloniki

- Andersen S.B., I.K. Due and A. Olesen. 1988. Results with anther culture in some important Scandinavian varieties of winter wheat. *Acta Agric. Scand.* 38:289-292.
- Ball S.T., HP Zhou and C.F. Konzak. 1993. Influence of 2,4-D, IAA, and duration of callus induction in anther cultures of spring wheat. *Plant Sci.* 90:195-200.
- Barnabas B., P.L. Pfahler and G. Kovacs. 1991. Direct effect of colchicine on the microspore embryogenesis to produce dihaploid plants in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 81:675-678.
- Bjornstad A., H.G. Opsahl-Ferstad and M. Aasmo. 1989. Effects of donor plant environment and light during incubation on anther cultures of some spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 17:27-37
- Charmet G. and G. Branlard. 1985. A comparison of androgenetic doubled-haploid, and single seed descent lines in Triticale. *Theor. Appl. Genet.* 71:193-200.
- Chen J.L. and W.D. Beversdorf. 1992. Production of spontaneous diploid lines from isolated microspores following cryopreservation in spring rapeseed (*Brassica napus* L.). *Plant Breeding* 108:324-327.
- Choo T.M., E. Reinbergs and S.J. Park. 1982. Comparison of frequency distributions of doubled haploid and single seed descent lines in barley. *Theor. Appl. Genet.* 61:215-218.
- Courtois B. 1993. Comparison of single seed descent and antherculture- derived lines of three single crosses of rice. *Theor. Appl. Genet.* 85:625-631.
- Γουλή-Βαβδινούδη Ε., Ι. Ζαμάνη και Δ. Ρουπακιάς. 2000. Συγκριτική αξιολόγηση διαπλοειδών σειρών από ανθηροκαλλιέργεια και F6 σειρών γενεαλογικής επιλογής, απουσία ανταγωνισμού, στο μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum* L em. Thell). 8^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Επιστημονικής Εταιρείας Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών. Άρτα
- Deaton W.R., Metz S.G., Armstrong T.A. and Mascia P.N. 1987. Genetic analysis of the anther-culture response of three spring wheat crosses. *Theor Appl Genet* 74:334-338.
- De Buyser J., Henry Y., Lonnet P., Hertzog R. and Hespel A. 1987. 'Florin': A doubled haploid wheat variety developed by the anther culture method. *Plant Breeding* 98:53-56.
- Ekiz H. and C.F. Konzak. 1997. Effects of light regimes on anther culture response in bread wheat. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 50:7-12.
- Ghaemi M., A. Sarrafi and G. Alibert. 1995. Influence of genotype, media composition, cold pretreatment and their interactions on androgenesis in durum wheat (*Triticum turgidum*). *Cereal Res. Commun.* 23:215-222.
- Hassawi D.S. and G.H. Liang. 1990. Effect of cultivar, incubation temperature, and stage of microspore development on anther culture in wheat and triticale. *Plant Breeding* 105:332-336.
- Heberle-Bors, 1985. *In-vitro* formation from pollen: a critical review. *Theor. Appl. Genet.* 71: 361-374.
- Henry Y. and J. De Buyser. 1990. Wheat anther culture: Agronomic performance of doubled haploid lines and the release of a new variety 'Florin'. In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol13. Wheat (ed. By Y.P.S. Bajaj).
- Hoekstra S., M.H. van Zijderveld, F. Heidekamp and F. van der Mark 1993. Microspore culture of *Hordeum vulgare* L.: the influence of density and osmolality. *Plant Cell Rep.* 12:661-665.
- Hu H. 1986. Wheat: improvement through anther culture. In: Bajaj YPS (ed) *Biotechnology in agriculture and forestry*, vol2: Crops I. Springer, pp 55-72.
- Hu T. and K.J. Kasha. 1997. Performance of isolated microspore-derived doubled haploids of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Can. J. Plant Sci.* 77:549-554.
- Immonen S. and I. Merjankari. 1997. Experiences from triticale anther culture. In: Abstracts of the third meeting of the WG-1 and WG-2 of the COST 824 Gametic Embryogenesis, 11-14 September 1997, Norway.
- Kao K. N. 1981. Plant formation from barley anther cultures with ficoll media. *Z. Pflanzenzuchtg* 103:437-443.
- Keller W. A. and K. C. Armstrong 1983. Production of haploids via anther culture in *Brassica oleracea* var. ital. *Euphytica* 32:151-160.
- Kiviharju E. 1999. Plant regeneration from oat anther culture. In: Abstracts of the workshop of the WG-1

- and WG-4 of the COST 824 Gametic Embryogenesis, 10-13 June 1999, Jokioinen, Finland.
- Lazar M.D. , G.W.Schaeffer and P.S.Baenziger. 1984. Cultivar and cultivar x environment effects on the development of callus and polyhaploid plants from anther cultures of wheat. *Theor Appl Genet* 67:273-277.
- Lazar M.D., G.W.Schaeffer and P.S.Baenziger. 1985. The physical environment in relation to high frequency callus and plantlet development in anther cultures of Wheat (*Triticum aestivum* L.) cv. Chris. *J. Plant Physiol.* 121:103-109.
- Lazar M.D., G.W. Schaeffer and P.S. Baenziger. 1990. The effects of interactions of culture environment with genotype on wheat (*Triticum aestivum*) anther culture response. *Plant Cell Reports* 8: 525-529.
- Lezin F., A. Sarrafi and G. Alibert. 1996. The effects of genotype, ploidy level and cold pretreatment on barley anther culture responsiveness. *Cereal Res. Commun.* 24:7-13.
- Liang H.G. , A.Xu and H.Tang. 1987. Direct generation of wheat haploids via anther culture. *Crop Sci.* 27:336-339.
- Loh C.S. and D.S. Ingram. 1983. The response of haploid secondary embryoids and secondary embryogenic tissue of winter oilseed rape to treatment with colchicine. *New Phytol.* 95:359-366.
- Marsolais A.A., G. Seguin-Swartz and K.J. Kasha. 1984. The influence of anther cold pretreatments and donor plant genotypes on in vitro androgenesis in wheat. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 3:69-79.
- Mathias R. And G. Robbelen. 1991. Effective diploidization of microspore-derived haploids of rape (*Brassica napus* L.) by in vitro colchicine treatment. *Plant Breeding* 106:82-84.
- Mc Gregor M.D. and A. Mc Hughen. 1990. The influence of various cultural factors on anther culture of four cultivars of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Can. J. Plant Sci.* 70:183-191.
- Mentewab A. and A. Sarrafi. 1997. Androgenic ability and chromosome doubling by different colchicine treatments in anther culture of hexaploid wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Res. Comm.* 25:897-903.
- Mitchell M.J., R.H. Busch and H.W. Rines. 1992. Comparison of lines derived by anther culture and single seed descent in a spring wheat cross. *Crop Sci.* 32:1446-1451.
- Murashige T. and F. Skoog 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Murigneux A., S. Baud and M. Beckert. 1993. Molecular and morphological evaluation of doubled haploid lines in maize. 2. Comparison with single seed descent lines. *Theor. Appl. Genet.* 87:278-287.
- Navarro-Alvarez W., P.S. Baenziger, K.M. Eskridge, D.R. Shelton, V.D. Gustafson and M. Hugo. 1994a. Effects of sugars in wheat anther culture media. *Plant Breeding* 112:53-62.