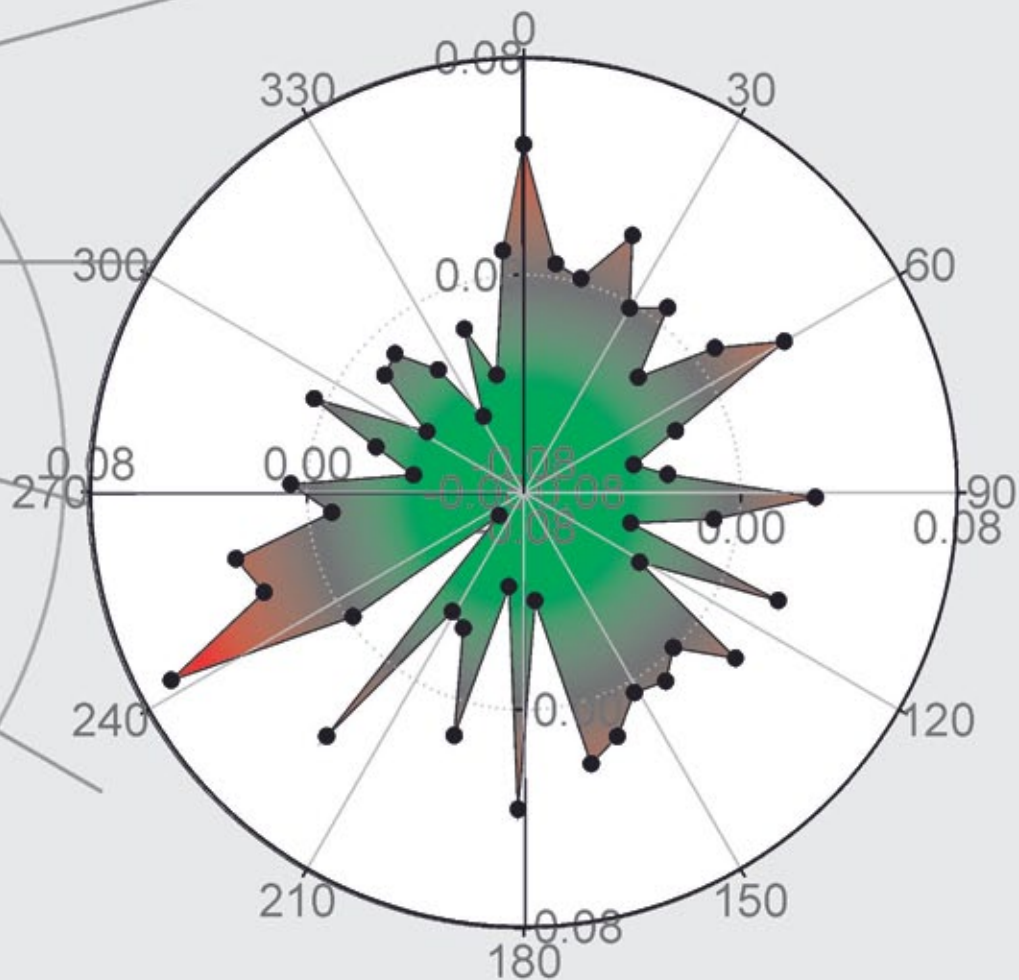


Κατανομή παραμέτρων λειτουργίας
του φωτοσυστήματος II
σε συνάρτηση με τον προσανατολισμό
και τη θέση των φύλλων στην κόμη



ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΠΑΠΑΦΩΤΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΑΘΗΝΑ 2014

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ

**Κατανομή παραμέτρων λειτουργίας του φωτοσυστήματος II
σε συνάρτηση με τον προσανατολισμό
και τη θέση των φύλλων στην κόμη**

ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΠΑΠΑΦΩΤΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΘΗΝΑ 2014

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Σταμάτης Ρήγας, Επίκουρος Καθηγητής (Επιβλέπων)

Γεώργιος Καραμπουρνιώτης, Καθηγητής (Μέλος)

Γεώργιος Λιακόπουλος, Επίκουρος Καθηγητής (Μέλος)

Περιεχόμενα

| | |
|--|----|
| Πρόλογος..... | 7 |
| I. Εισαγωγή..... | 9 |
| I.1. Φωτοσύνθεση..... | 9 |
| I.1.1. Γενικά στοιχεία..... | 9 |
| I.1.2. Οργάνωση των χλωροπλαστών..... | 10 |
| I.1.2.1. Λεπτή δομή χλωροπλαστών..... | 10 |
| I.1.2.2. Οργάνωση των φωτοσυστημάτων στις χλωροπλαστικές μεμβράνες..... | 10 |
| I.1.3. Φωτοσυνθετική λειτουργία..... | 11 |
| I.1.3.1. Φωτοσυλλογή..... | 11 |
| I.1.3.2. Οι φωτεινές αντιδράσεις..... | 12 |
| I.1.3.3. Οι σκοτεινές αντιδράσεις..... | 13 |
| I.1.3.4. Παραλλαγές στη βιοχημική οδό φωτοσυνθετικής ενσωμάτωσης του άνθρακα (C3, C4 και CAM φωτοσύνθεση)..... | 14 |
| I.1.3.5. Καταπόνηση της φωτοσυνθετικής συσκευής από υψηλές εντάσεις ακτινοβολίας, φωτοαναστολή και φωτοπροστασία..... | 16 |
| I.2. Η φθορισμομετρία χλωροφύλλης <i>in vivo</i> ως τεχνική μελέτης της φωτοσύνθεσης..... | 17 |
| I.2.1. Αρχή της μεθόδου..... | 17 |
| I.2.2. Οργανολογία φθορισμομέτρων τύπου PAM..... | 18 |
| I.2.3. Βασικά πειράματα..... | 19 |
| I.2.3.1. Μέτρηση θεμελιώδους φωτοχημικής ικανότητας..... | 19 |
| I.2.3.2. Μέτρηση φωτοχημικής ικανότητας και λοιπών παραμέτρων υπό συνθήκες φωτισμού..... | 21 |
| I.3. Σημασία των μετρήσεων φωτοσύνθεσης σε επίπεδο κόμης στο πεδίο..... | 21 |
| II. Σκοπός της εργασίας..... | 23 |
| III. Υλικά και Μέθοδοι..... | 25 |
| III.1. Φυτικό υλικό και τρόπος διενέργειας μετρήσεων..... | 25 |
| III.2. Μετρήσεις φθορισμού..... | 25 |
| III.2.1. Μετρήσεις θεμελιώδους φωτοχημικής ικανότητας του PSII..... | 25 |
| III.2.2. Μετρήσεις λειτουργικών παραμέτρων της φωτοχημείας του PSII..... | 25 |
| III.3. Μετρήσεις συγκέντρωσης χλωροφυλλών..... | 26 |
| IV. Αποτελέσματα..... | 27 |
| IV.1. Παράμετροι λειτουργίας του PSII στο φυτό <i>Ailanthus altissima</i> | 27 |
| IV.1.1. Θεμελιώδης φωτοχημική απόδοση του PSII και διαφορές μεταξύ της παραμέτρου προ της ανατολής και μετά τη δύση του ήλιου..... | 27 |
| IV.1.2. Λειτουργικές παράμετροι του PSII κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου..... | 29 |
| IV.1.2.1. Φωτοχημική απόδοση του PSII (παράμετρος P ή ΔF/Fm')..... | 29 |
| IV.1.2.2. Κλάσμα της ενέργειας που απορροφάται από τα φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα του PSII το οποίο αποσβένεται μέσω θερμικών απωλειών (παράμετρος D)..... | 32 |
| IV.1.2.3. Κλάσμα της ενέργειας το οποίο πλεονάζει (παράμετρος E)..... | 35 |
| IV.2. Παράμετροι λειτουργίας του PSII στο φυτό <i>Ficus carica</i> | 38 |
| IV.2.1. Θεμελιώδης φωτοχημική απόδοση του PSII και διαφορές μεταξύ της παραμέτρου προ της ανατολής και μετά τη δύση του ήλιου..... | 38 |
| IV.2.2. Λειτουργικές παράμετροι του PSII κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου..... | 40 |
| IV.2.2.1. Φωτοχημική απόδοση του PSII (παράμετρος P ή ΔF/Fm')..... | 40 |
| IV.2.2.2. Κλάσμα της ενέργειας που απορροφάται από τα φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα του PSII το οποίο αποσβένεται μέσω θερμικών απωλειών (παράμετρος D)..... | 42 |
| IV.2.2.3. Κλάσμα της ενέργειας το οποίο πλεονάζει (παράμετρος E)..... | 44 |
| V. Συζήτηση..... | 47 |
| VI. Βιβλιογραφία..... | 51 |

Πρόλογος

Θα ήθελα να απευθύνω θερμές ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή μου, Επίκουρο Καθηγητή κ. Λιακόπουλο Γεώργιο για την ανάθεση της πτυχιακής εργασίας καθώς και για την καθοδήγηση και τις υποδείξεις που μου παρείχε σε κάθε φάση της. Επιπλέον θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την υπομονή και τη στήριξη σε κάθε διόρθωση και σε κάθε πρόβλημα που αντιμετώπισα με την εκπόνηση της εργασίας. Δεν θα ήταν υπερβολή να πω ότι χωρίς την συμβολή του αυτή η εργασία δεν θα είχε ποτέ πραγματοποιηθεί.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Διδάκτορα, μέλος ΕΔΙΠ του εργαστηρίου Δημοσθένη Νικολόπουλο για την βοήθεια που μου παρείχε όποτε την χρειάστηκα. Μαζί με τον κύριο Λιακόπουλο και ο κύριος Νικολόπουλος συνετέλεσε στη δημιουργία ευχάριστου και φιλικού κλίματος στον εργαστηριακό χώρο.

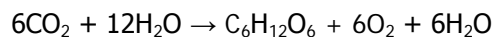
Θα ήθελα τελευταία να ευχαριστήσω την οικογένεια μου για την αγάπη την στήριξη και το ... κουράγιο τους καθώς και τους συμφοιτητές μου και καλούς φίλους για την συνεργασία που είχαμε, για τις ωραίες στιγμές που περάσαμε και την ηθική συμπαράσταση καθόλη την διάρκεια των σπουδών μου.

I. Εισαγωγή

I.1. Φωτοσύνθεση

I.1.1. Γενικά στοιχεία

Η φωτοσύνθεση είναι η διαδικασία μέσω της οποίας τα φυτά χρησιμοποιούν ανόργανα συστατικά για να συνθέσουν οργανικές ενώσεις. Για τη διαδικασία αυτή είναι απαραίτητη η ενέργεια της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και συγκεκριμένα, η παρουσία φωτός κατάλληλης φασματικής περιοχής. Η ακτινοβολία αυτή ονομάζεται φωτοσυνθετικά ενεργός ακτινοβολία (photosynthetically active radiation, PAR) με μήκη κύματος από 400 έως 700 nm. Συνοπτικά, μέσω της φωτοσύνθεσης οι αυτότροφοι οργανισμοί έχουν την ικανότητα να μετατρέπουν το διοξείδιο του άνθρακα και το νερό σε οργανικές ουσίες, όπως γλυκόζη, απαραίτητες για την ανάπτυξη και τη συντήρησή τους, ενώ παράλληλα εκλύεται μοριακό οξυγόνο ως παραπροϊόν. Η απλουστευμένη χημική αντίδραση της φωτοσύνθεσης είναι η παρακάτω:



Οι πιο ενεργοί φωτοσυνθετικοί ιστοί στα ανώτερα φυτά είναι το φωτοσυνθετικό παρέγχυμα των φύλλων και κυρίως οι ανώτερες στοιβάδες του. Τα κύτταρα του μεσοφύλλου έχουν άφθονα οργανίδια που επιτελούν την φωτοσύνθεση και ονομάζονται χλωροπλάστες. Στα οργανίδια αυτά επιτελείται το σύνολο των φωτοχημικών και βιοχημικών σταδίων της φωτοσύνθεσης, η οποία ξεκινά με την δέσμευση της ηλιακής ενέργειας και καταλήγει στην βιοσύνθεση των υδατανθράκων.

Διακρίνουμε δύο φάσεις στην φωτοσύνθεση. Στην πρώτη φάση διεξάγονται οι φωτεινές αντιδράσεις. Η φωτεινή φάση της φωτοσύνθεσης γίνεται στις μεμβράνες των θυλακοειδών των χλωροπλάστων. Η φάση αυτή πραγματοποιείται μόνο υπό την παρουσία φωτεινής ακτινοβολίας. Για το λόγο αυτό συνήθως πραγματοποιείται μόνο κατά τη διάρκεια της ημέρας. Κατά τη φάση αυτή τα φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα και τα φωτοσυστήματα των μεμβρανών δεσμεύουν την ενέργεια της φωτεινής ακτινοβολίας και τη μετατρέπουν σε χημική σχηματίζοντας ATP και NADPH₂. Κατά τα πρώτα στάδια των φωτεινών αντιδράσεων διασπάται (φωτολύεται) το νερό σε πρωτόνια και μοριακό οξυγόνο. Από τα προϊόντα που παράγονται κατά τη φωτεινή φάση, το ATP και το NADPH₂ μεταφέρονται από τα θυλακοειδή στο στρώμα του χλωροπλάστη, για να συνεχίσει η επόμενη φάση της φωτοσύνθεσης (η φάση των σκοτεινών αντιδράσεων). Το οξυγόνο που παράγεται από τη διάσπαση του νερού αποβάλλεται στην ατμόσφαιρα. Η σκοτεινή φάση της φωτοσύνθεσης γίνεται στο στρώμα του χλωροπλάστη. Κατά τη φάση αυτή το φυτό προσλαμβάνει διοξείδιο του άνθρακα από τον αέρα και με τη βοήθεια της μεταβολικής ενέργειας των ATP και NADPH₂ συνθέτει την τριόζη 3-φωσφορογλυκεριναλδεΐδη. Μέσω αυτού του μορίου το οποίο αποτελεί το τελικό προϊόν των σκοτεινών αντιδράσεων συντίθεται η γλυκόζη.

Εισαγωγή

Τα φύλλα διαθέτουν ένα σύνολο από φυσιολογικούς μηχανισμούς και συγκεκριμένα μορφολογικά και ανατομικά χαρακτηριστικά, ώστε η όλη διαδικασία να πραγματοποιείται με τη μέγιστη απόδοση σε επίπεδο οργάνου (Αιβαλάκης κ. α. , 2003).

1.1.2. Οργάνωση των χλωροπλαστών

1.1.2.1. Λεπτή δομή χλωροπλαστών

Στους φωτοσυνθετικούς ευκαρυωτικούς οργανισμούς, η διαδικασία της φωτοσύνθεσης πραγματοποιείται στα υποκυτταρικά οργανίδια που λέγονται χλωροπλάστες. Πρόκειται για οργανίδια με φακοειδές συνήθως σχήμα και διάμετρο από 3 έως 10 μm . Ένα τυπικό φωτοσυνθετικό κύτταρο περιέχει στο κυτταρόπλασμα του από 20 έως 60 ή και περισσότερους χλωροπλάστες. Κάθε χλωροπλάστης περιβάλλεται από τον φάκελο ο οποίος αποτελείται από δύο μεμβράνες. Ο φάκελος είναι περατός ως προς το διοξείδιο του άνθρακα, το οποίο χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα στις σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης. Ο χώρος μεταξύ των δύο μεμβρανών ονομάζεται διαμεμβρανικός χώρος. Στο φάκελο του χλωροπλάστη περικλείεται το θεμελιώδες υλικό του πλαστιδίου το οποίο ονομάζεται στρώμα και είναι ένα άμορφο ζελατινώδες υλικό. Στο στρώμα βρίσκονται τα περισσότερα ένζυμα που καταλύουν τις σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης. Επιπλέον στο χώρο αυτό εντοπίζονται τα ελασμάτια. Πρόκειται για πολυάριθμες αναδιπλώσεις που δημιουργούν ένα εκτεταμένο σύστημα μεμβρανών το οποίο αποτελεί συνέχεια της εσωτερικής χλωροπλαστικής μεμβράνης. Τα ελασμάτια διαπλατύνονται και δημιουργούν μεμβρανώδεις σάκους τα θυλακοειδή των οποίων η εσωτερική κοιλότητα ονομάζεται μικροχώρος (lumen). Πολλές φορές, τα θυλακοειδή οργανώνονται σε μεμβρανικές στιβάδες τα grana. Στα υποοργανίδια αυτά πραγματοποιούνται οι φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης καθώς εκεί εντοπίζονται οργανωμένα τα φωτοσυστήματα.

1.1.2.2. Οργάνωση των φωτοσυστημάτων στις χλωροπλαστικές μεμβράνες

Κάθε φωτοσύστημα, αποτελείται από πρωτεΐνες καθώς και από κύριες και βοηθητικές φωτοσυνθετικές χρωστικές. Υπάρχουν δύο τύποι φωτοσυστημάτων, το φωτοσύστημα I και το φωτοσύστημα II. Τα δύο φωτοσυστήματα λειτουργούν συνεργατικά για την σύλληψη και μετατροπή της φωτονιακής ενέργειας σε χημική. Κάθε φωτοσύστημα έχει διακριτό ρόλο και ελαφρώς διαφορετικά ενεργειακά χαρακτηριστικά. Έτσι, η οξειδωση του νερού (φωτόλυση), που αποτελεί μια σημαντική φωτοχημική αντίδραση, πραγματοποιείται στο φωτοσύστημα II ενώ η αναγωγή του NADP^+ προϋποθέτει την ροή ηλεκτρονίων μέσω του φωτοσυστήματος I. Επίσης, στο κέντρο κάθε φωτοσυστήματος βρίσκεται στρατηγικά τοποθετημένο ένα μόριο χλωροφύλλης a το οποίο εμφανίζει χαρακτηριστικό μέγιστο απορρόφησης της ακτινοβολίας και ονομάζεται φωτοχημικό κέντρο αντίδρασης (P700 με μέγιστο απορρόφησης τα 700 nm για το φωτοσύστημα I και P680 με μέγιστο απορρόφησης τα 680 nm για το φωτοσύστημα II). Τα φωτοσυστήματα II, μαζί με τις χλωροφύλλες των αντεννών φωτοσυλλογής και τις συζευγμένες πρωτεΐνες μεταφοράς ηλεκτρονίων, εντοπίζονται κατά κύριο λόγο στα

θυλακοειδή των grana και συγκεκριμένα στην περιοχή κάθε θυλακοειδούς η οποία τοποθετείται επάλληλα των υπολοίπων θυλακοειδών. Τα φωτοσυστήματα I, μαζί με τις χλωροφύλλες των αντεννών φωτοσυλλογής και τις συζευγμένες πρωτεΐνες μεταφοράς ηλεκτρονίων και τα ένζυμα της συνθετάσης του ATP, εδράζονται αποκλειστικά στα θυλακοειδή του στρώματος και στις άκρες των θυλακοειδών στα grana. Η φωτοχημική ροή ηλεκτρονίων λαμβάνει χώρα μεταξύ των δύο φωτοσυστημάτων και συγκεκριμένα με φορά από το φωτοσύστημα II προς το I. Το κυτοχρωμικό σύμπλοκο b_6f , το οποίο αναλαμβάνει την μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ των δύο φωτοσυστημάτων, είναι ομοιογενώς κατανεμημένο μεταξύ του στρώματος και των ελασμάτων των grana.

Έτσι, οι κύριες φωτοχημικές αντιδράσεις οι οποίες προωθούν τη ροή ηλεκτρονίων κατά την οξυγονογενή φωτοσύνθεση είναι χωροταξικά διαχωρισμένες. Αυτός ο διαχωρισμός υποδηλώνει ότι ένας ή περισσότεροι ενδιάμεσοι φορείς ηλεκτρονίων λειτουργούν ως συζεύκτες ανάμεσα στα φωτοσυστήματα. Ειδικότερα, η σύζευξη μεταξύ των φωτοσυστημάτων πραγματοποιείται με τη βοήθεια της πλαστοκινόννης (PQ) και της πλαστοκυανίνης (PC). Παρότι δεν είναι πλήρως διασαφηνισμένος ο πιθανός λειτουργικός ρόλος αυτού του διαχωρισμού ανάμεσα στα φωτοσυστήματα I και II, πιστεύεται από κάποιους ερευνητές ότι ο διαχωρισμός εμπλέκεται στη ρύθμιση της κατανομής της φωτεινής ενέργειας στα δύο φωτοσυστήματα (Allen και Forsberg, 2001). Επιπλέον, ο χωροταξικός διαχωρισμός ανάμεσα στα φωτοσυστήματα I και II υποδεικνύει ότι δεν απαιτείται μια αυστηρή στοιχειομετρία ένα προς ένα ανάμεσα στα δύο φωτοσυστήματα. Σύμφωνα με μετρήσεις του λόγου των δύο φωτοσυστημάτων, υφίσταται περίσσεια των φωτοσυστημάτων II στους χλωροπλάστες. Συνήθως, η αναλογία του φωτοσυστήματος II προς το φωτοσύστημα I είναι περίπου 1, 5:1. Ωστόσο, ο λόγος δεν είναι σταθερός και μεταβάλλεται ανάλογα με το φωτεινό καθεστώς στο οποίο αναπτύσσονται τα φυτά.

1.1.3. Φωτοσυνθετική λειτουργία

1.1.3.1. Φωτοσυλλογή

Υπεύθυνος για την απορρόφηση των φωτονίων της ηλιακής ακτινοβολίας είναι ο φωτοσυλλεκτικός μηχανισμός που εδράζει στις μεμβράνες των θυλακοειδών του χλωροπλάστη. Ο μηχανισμός αυτός αποτελείται από τις φωτοσυνθετικές χρωστικές (χλωροφύλλη a, χλωροφύλλη b και καροτενοειδή) και μαζί με πολυάριθμες πρωτεΐνες απαρτίζουν τα σύμπλοκα ή αντένες φωτοσυλλογής. Στο κέντρο αντίδρασης και των δύο φωτοσυστημάτων και στα σύμπλοκα φωτοσυλλογής βρίσκεται η χλωροφύλλη a ενώ η χλωροφύλλη b και τα καροτενοειδή απαντώνται και μόνο στις αντένες φωτοσυλλογής.

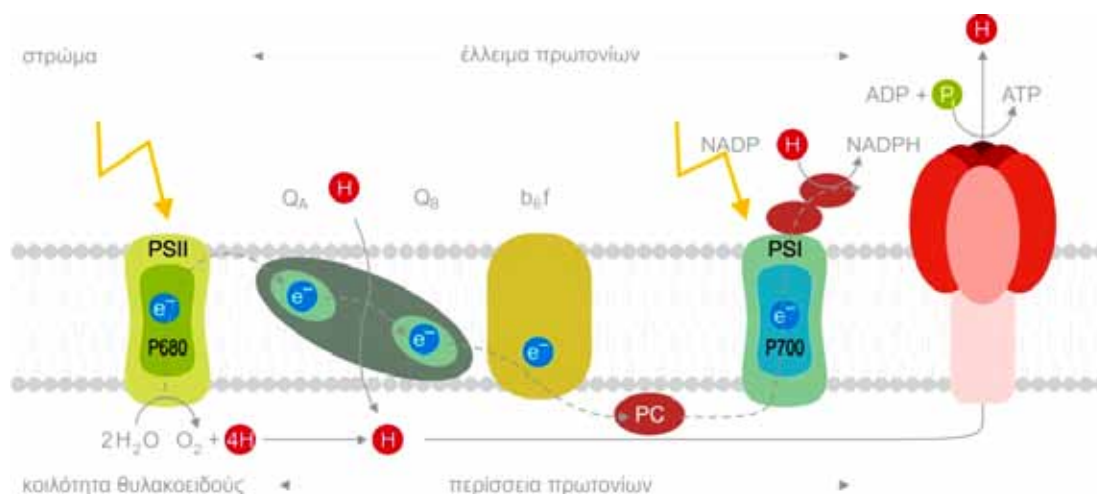
Τα μόρια των φωτοσυνθετικών χρωστικών απορροφούν φωτόνια και διεγείρονται. Αποτέλεσμα της διέγερσης κάθε μορίου είναι οι ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις σε υψηλότερη ενεργειακή στάθμη, με την διαφορά ενέργειας μεταξύ των δύο ενεργειακών σταθμών να αντικατοπτρίζει την ενέργεια του συγκεκριμένου φωτονίου που απορροφήθηκε. Μεταπτώσεις των ηλεκτρονίων μπορούν να συμβούν σε περισσότερες της μίας ενεργειακές στάθμες,

Εισαγωγή

δηλαδή καταστάσεις διέγερσης (Αϊβαλάκις κ. α. , 2003). Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο, τα μόρια των χλωροφυλλών απορροφούν φωτόνια σε δύο περιοχές του φάσματος και συγκεκριμένα στην μπλε και κόκκινη περιοχή με συνέπεια την εμφάνιση δύο μεγίστων στα φάσματα απορρόφησής τους. Οι χρωστικές της κάθε αντέννας έχουν τέτοια ενεργειακά χαρακτηριστικά και είναι έτσι διευθετημένες στην αντέννα ώστε να μεταφέρουν την ενέργεια διέγερση προς τα κέντρα αντίδρασης των δύο φωτοσυστημάτων.

1.1.3.2. Οι φωτεινές αντιδράσεις

Το στάδιο των φωτεινών αντιδράσεων είναι υπεύθυνο για τη συλλογή της φωτονιακής ενέργειας και τη μετατροπής της σε χημική. Η φωτονιακή ενέργεια που συλλέγεται από τους φωτοσυλλεκτικούς μηχανισμούς των δύο φωτοσυστημάτων χρησιμοποιείται για την προώθηση της φωτοχημικής ροής ηλεκτρονίων διαμέσου μιας σειράς οξειδοαναγωγικών ζευγών (Εικόνα 1). Η πλειονότητα των ηλεκτρονίων χρησιμοποιούνται για την αναγωγή του NADP^+ σε NADPH_2 . Την ίδια στιγμή μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης των θυλακοειδών, δημιουργείται μια διαφορά ηλεκτροχημικού δυναμικού πρωτονίων, της οποίας η απόσβεση παρέχει την απαιτούμενη ενέργεια για την παραγωγή ATP. Έτσι η έκβαση των φωτεινών αντιδράσεων είναι η παραγωγή ATP και NADPH_2 . Αυτά τα υποστρώματα απελευθερώνονται στο στρώμα του χλωροπλάστη και χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση υδατανθράκων (Andersson και Barber, 1996).



Εικόνα 1. Οι κυριότεροι παράγοντες των φωτεινών αντιδράσεων και η φωτοχημική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων.

Στο φωτοχημικό κέντρο του φωτοσυστήματος II η οξείδωση δύο μορίων νερού παράγει τέσσερα ηλεκτρόνια, τέσσερα πρωτόνια και ένα μόριο οξυγόνου. Τα πρωτόνια που παράγονται από την οξείδωση του νερού, πρέπει να διαχυθούν στην περιοχή του στρώματος όπου συντίθεται το ATP (Εικόνα 1).

I.1.3.3. Οι σκοτεινές αντιδράσεις

Στο στάδιο των σκοτεινών αντιδράσεων η ενέργεια που έχει παραχθεί στο στάδιο των φωτεινών αντιδράσεων χρησιμοποιείται για την αναγωγή του CO₂ και την βιοσύνθεση υδατανθράκων, μέσω μιας σειράς αντιδράσεων γνωστές ως σκοτεινές αντιδράσεις, με την έννοια ότι για την πραγματοποίησή τους δεν απαιτείται άμεσα η παρουσία φωτός. Παρόλα αυτά, ο ορισμός δεν είναι ακριβής γιατί αφενός ορισμένα ένζυμα που συμμετέχουν στον κύκλο αναγωγής του άνθρακα ενεργοποιούνται από το φως και στο σκοτάδι είναι ανενεργά ή έχουν χαμηλή δραστηριότητα και αφετέρου η έλλειψη φωτός θα οδηγούσε σε ενεργειακή έλλειψη και επίσης σε κλείσιμο στομάτων, συνθήκες οι οποίες δεν θα εξασφάλιζαν τη συνέχιση του σταδίου της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του CO₂.

Η αφομοίωση του CO₂ σε υδατάνθρακες σε όλους τους φωτοσυνθετικούς ευκαρυωτικούς οργανισμούς είναι γνωστή ως φωτοσυνθετικός κύκλος αναγωγής του άνθρακα (PCR). Ο κύκλος αυτός, ο οποίος είναι γνωστός και ως κύκλος Calvin, περιλαμβάνει τρία επί μέρους στάδια, την καρβοξυλίωση, την αναγωγή και την αναγέννηση του δέκτη του CO₂. Κατά τη φάση της καρβοξυλίωσης, το ατμοσφαιρικό CO₂ ενσωματώνεται σε ένα οργανικό μόριο τριών ατόμων άνθρακα την 1, 5-διφωσφορική ριβουλόζη μέσω της δράσης του ενζύμου καρβοξυλάση/οξυγενάση της 1, 5-διφωσφορικής ριβουλόζης (rubisCO). Η καρβοξυλίωση της 1, 5-διφωσφορικής ριβουλόζης παράγει μια ασταθή ενδιάμεση ένωση με έξι άτομα άνθρακα η οποία διασπάται τελικά σε δύο μόρια 3-φωσφογλυκερικού οξέος. Στη συνέχεια οι καρβοξυλικές ομάδες των δύο μορίων του φωσφογλυκερικού οξέος ανάγονται προς τις αντίστοιχες αλδεϋδομάδες της 3-φωσφορογλυκεριναλδεϋδης (αναγωγική φάση κατά την οποία καταναλώνεται το μεγαλύτερο ποσοστό της ενέργειας που είχε παραχθεί κατά τις φωτεινές αντιδράσεις). Στην τρίτη φάση αναγεννάται ο δέκτης του CO₂ με την κατανάλωση επιπλέον ενέργειας. Στη φάση της αναγέννησης συμμετέχουν πέντε μόρια 3-φωσφογλυκεριναλδεϋδης. Αφού με την αρχική ενσωμάτωση ενός μορίου CO₂ παράγονται δύο μόρια 3-φωσφογλυκεριναλδεϋδης, η στοιχειομετρία του κύκλου περιλαμβάνει την ενσωμάτωση τριών μορίων CO₂ (ο κύκλος λειτουργεί τρεις φορές) και την παραγωγή ενός μορίου τριόζης (της 3-φωσφορογλυκεριναλδεϋδης) η οποία αποτελεί και το τελικό προϊόν του κύκλου του Calvin (Taiz and Zeiger, 1998).

Το μόριο αυτό μετατρέπεται στη συνέχεια σε διαλυτούς υδατάνθρακες οι οποίοι κινητοποιούνται όταν υπάρχει ανάγκη και εξάγονται στα μιτοχόνδρια όπου και οξειδώνονται για να καλύψουν τις ανάγκες του κυττάρου σε ενέργεια και άνθρακα κατά τις διεργασίες της αναπνευστικής λειτουργίας. Μέρος της ενέργειας αυτής χρησιμοποιείται για την αφομοίωση του αζώτου και την αναγωγή του θείου καθώς και τις λοιπές ενδιάμεσες μεταβολικές ανάγκες του κυττάρου.

Εισαγωγή

1.1.3.4. Παραλλαγές στη βιοχημική οδό φωτοσυνθετικής ενσωμάτωσης του άνθρακα (C3, C4 και CAM φωτοσύνθεση)

Έως σήμερα έχουν ανακαλυφθεί τρεις κύριες βιοχημικές παραλλαγές του φωτοσυνθετικού μεταβολισμού του άνθρακα. Και οι τρεις διαφοροποιούνται ως προς την αρχική δέσμευση του διοξειδίου του άνθρακα και την τροφοδοσία του προς την αντίδραση καρβοξυλίωσης της 1, 5-διφωσφορικής ριβουλόζης.

- α.** Η C3 φωτοσύνθεση, ουσιαστικά ο κύκλος του Calvin που περιγράφεται παραπάνω, της οποίας η ονομασία υποδηλώνει ότι το πρώτο προϊόν της δέσμευσης του CO₂ είναι μια ένωση με τρία άτομα άνθρακα (το 3-φωσφογλυκερινικό οξύ).
- β.** Η C4 φωτοσύνθεση στην οποία το πρώτο προϊόν της δέσμευσης του CO₂ είναι μια ένωση με τέσσερα άτομα άνθρακα, το οξαλοξικό οξύ.
- γ.** Ο μεταβολισμός οξέων τύπου Crassulaceae (CAM).

Στα C3 φυτά, η φωτοσυνθετική αφομοίωση αποτελείται αποκλειστικά από τις αντιδράσεις του κύκλου του Calvin. Το πρώτο προϊόν ενσωμάτωσης του CO₂ είναι το φωσφορογλυκερινικό οξύ και προέρχεται από την αντίδραση της καρβοξυλίωσης. Αντιθέτως, στα φυτά C4, η πρώτη αντίδραση η οποία και ενσωματώνει το CO₂ δεν αποτελεί μέρος του κύκλου του Calvin αλλά προηγείται του κύκλου. Ακόμα, η αρχική δέσμευση του υποστρώματος και η τελική απόδοσή του στον κύκλο λαμβάνουν χώρα σε διαφορετικά κύτταρα με συνέπεια τα C4 φυτά να παρουσιάζουν διαφορές στην ανατομία του φύλλου συγκριτικά με τα φυτά C3. Εγκάρσια τομή ενός τυπικού C3 φύλλου αποκαλύπτει ένα κύριο τύπο κυττάρων που φέρουν χλωροπλάστες, τα κύτταρα του μεσοφύλλου. Αντίθετα, σε μια τομή ενός τυπικού C4 φύλλου έχουμε δύο διαφορετικούς τύπους κυττάρων που φέρουν χλωροπλάστες, τα κύτταρα του μεσοφύλλου και αυτά του δεσμικού κολεού ενώ η λειτουργία του C4 κύκλου απαιτεί τη συνεργασία και των δύο τύπων κυττάρων.

Κλειδί στον C4 μηχανισμό, αποτελεί το ένζυμο καρβοξυλάση του φωσφοροένολο-πυροσταφυλικού οξέος, το οποίο καταλύει την καρβοξυλίωση του φωσφοροένολο-πυροσταφυλικού οξέος (PEP). Το ένζυμο αυτό χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα τα δισανθρακικά ιόντα HCO₃⁻ και όχι το CO₂. Προϊόν της αντίδρασης αυτής είναι το οξαλοξικό οξύ (OAA, με 4 άτομα άνθρακα), που είναι ασταθές και γρήγορα ανάγεται σε ένα πιο σταθερό μόριο, όπως το μηλικό ή το ασπαραγινικό οξύ. Τα οξέα αυτά, μεταφέρονται από τα κύτταρα του μεσοφύλλου προς τα κύτταρα του κολεού, όπου υφίστανται αποκαρβοξυλίωση και το εκλυόμενο CO₂ αφομοιώνεται διαμέσου του κύκλου του Calvin σε φωσφοροτριόζες στους χλωροπλάστες των κυττάρων του δεσμικού κολεού (Δροσόπουλος, 1998). Μετά το πέρας της αποκαρβοξυλίωσης, τα οξέα με τρία άτομα άνθρακα που έχουν απομείνει, μεταφέρονται πάλι πίσω στα κύτταρα του μεσοφύλλου για να μετατραπούν σε πυροσταφυλικό και φωσφορυλιώνονται για να αναγεννήσουν τον αρχικό δέκτη φωσφοροένολοπυροσταφυλικό οξύ. Καθένα από τα ένζυμα που συμμετέχουν στον C4 κύκλο, απαντάται μόνο σε έναν κυτταρικό τύπο. Έτσι, η PEP-καρβοξυλάση και η κινάση του πυροσταφυλικού-ορθοφωσφορικού περιορίζονται στα κύτταρα

του μεσοφύλλου, ενώ οι αποκαρβοξυλάσες και τα ένζυμα του κύκλου του Calvin εντοπίζονται στα κύτταρα του δεσμικού κολεού (Taiz and Zeiger, 2002).

Συνοπτικά ο φωτοσυνθετικός κύκλος των C4 φυτών αποτελείται από τέσσερα στάδια:

-Στο πρώτο στάδιο διεξάγεται η δέσμευση του διοξειδίου του άνθρακα, με την καρβοξυλίωση της φωσφοροενολικής μορφής του πυροσταφυλικού οξέος στα κύτταρα του μεσοφύλλου για το σχηματισμό ενός C4 οξέος (μηλικού ή ασπαραγινικού).

-Στο δεύτερο στάδιο πραγματοποιείται η μεταφορά των C4 οξέων στα κύτταρα του δεσμικού κολεού.

-Στο τρίτο στάδιο διεξάγεται η αποκαρβοξυλίωση των C4 οξέων και η απελευθέρωση του CO₂, το οποίο στη συνέχεια ανάγεται σε τριόζη μέσω του κύκλου του Calvin. Σε μερικά C4 φυτά προηγείται της αντίδρασης αυτής, η κατάλυση μετατροπή του ασπαραγινικού σε μηλικό οξύ μέσω μιας ασπαραγινικής αμινοτρανσφεράσης.

-Τέλος, στο τέταρτο στάδιο γίνεται η μεταφορά των C3 οξέων (πυροσταφυλικό ή αλανίνη) στα κύτταρα του μεσοφύλλου, με σκοπό την αναγέννηση του PEP που αποτελεί τον δέκτη του CO₂. Όταν το πυροσταφυλικό είναι το μόνο διαθέσιμο C3 οξύ, το φωσφοενολοπυροσταφυλικό οξύ απελευθερώνεται με τη δράση της πυροσταφυλικής φωσφατο-δικινάσης. Στο στάδιο αυτό, ένα επιπλέον μόριο ATP απαιτείται για την μετατροπή του AMP σε ADP, με την αντίδραση αυτή να καταλύεται από μια αδενυλο-κινάση. Στην περίπτωση που η αλανίνη είναι το διαθέσιμο μόριο, ο σχηματισμός πυροσταφυλικού οξέος με τη δράση μιας αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης προηγείται της φωσφορυλίωσης από την πυροσταφυλική-φωσφατο-δικινάση.

Υπάρχουν τρεις παραλλαγές στο μονοπάτι C4, οι οποίες εντοπίζονται σε διαφορετικά είδη. Αυτές διαφέρουν κυρίως στο C4 οξύ (μηλικό ή ασπαραγινικό οξύ) που μεταφέρεται στα κύτταρα του δεσμικού κολεού και στο είδος της αποκαρβοξυλίωσης (Taiz and Zeiger, 2002).

Ένας τρίτος μηχανισμός για τη συγκέντρωση του CO₂ στα σημεία καρβοξυλίωσης μέσω της RubisCO αποτελεί ο όξινος μεταβολισμός τύπου Crassulaceae (CAM, Crassulacean Acid Metabolism—μελετήθηκε πρώτη φορά σε φυτά της οικογένειας Crassulaceae). Σήμερα είναι γνωστό ότι ο μηχανισμός αυτός χαρακτηρίζει 23 οικογένειες, μεταξύ αυτών τις Crassulaceae και Euphorbiaceae. Φυτά με μεταβολισμό CAM είναι προσαρμοσμένα να επιβιώνουν σε εξαιρετικά ξηρές συνθήκες περιβάλλοντος και έχουν παχιά σαρκώδη φύλλα ή βλαστούς των οποίων τα κύτταρα περιέχουν μεγάλα χυμοτόπια. Τα φυτά αυτά χαρακτηρίζονται από το γεγονός ότι τα στόματά τους ανοίγουν κατά την νύκτα, ενώ είναι συνήθως κλειστά κατά την διάρκεια της ημέρας με αποτέλεσμα η πρόσληψη CO₂ να γίνεται μόνο κατά τη διάρκεια της νύχτας. επίσης, τα φυτά αυτά χαρακτηρίζονται από συσσώρευση μηλικού οξέος κατά την νύχτα και μείωση της συγκέντρωσής του κατά την ημέρα. Το νυχτερινό άνοιγμα των στομάτων διευκολύνει την αντίδραση καρβοξυλίωσης από την οποία παράγονται οξέα με τέσσερα άτομα C, που αποταμιεύονται στα μεγάλα χυμοτόπια των κυττάρων των φωτοσυνθετικών ιστών. Το γεγονός αυτό προκαλεί σημαντική οξίνιση του χυμοτοπιακού

Εισαγωγή

χυμού κατά τη διάρκεια της νύχτας. Τα οξέα αποκαρβοξυλιώνονται την ημέρα κατά τη διάρκεια της οποίας πληρούνται οι ενεργειακές προϋποθέσεις ώστε να αφομοιωθεί μέσω του κύκλου του Calvin το παραγόμενο CO₂. Το κεντρικό ένζυμο του μηχανισμού των φυτών CAM είναι η καρβοξυλάση του PEP και το πρώτο προϊόν της αντίδρασης που καταλύει είναι το οξαλοξικό οξύ, το οποίο ανάγεται αμέσως σε μηλικό από την μηλική αφυδρογονάση, που απαιτεί την ταυτόχρονη παρουσία NADH₂. Μετά την παραγωγή του το μηλικό οξύ συσσωρεύεται στο χυμοτόπιο.

Κατά τη διάρκεια της ημέρας, το μηλικό οξύ επανααντλείται από το χυμοτόπιο στο κυτταρόπλασμα, όπου αποκαρβοξυλιώνεται από το σύμπλοκο μηλικό ένζυμο-NAD, προς πυροσταφυλικό οξύ. Το παραγόμενο CO₂ διαχέεται προς τους χλωροπλάστες, όπου αφομοιώνεται από τον κύκλο του Calvin. Η μεγάλη ποσότητα PEP που απαιτείται για τη συντήρηση της αντίδρασης καρβοξυλίωσης, προέρχεται από την διάσπαση του αμύλου διαμέσου των ενζύμων του γλυκολυτικού κύκλου. Το πυροσταφυλικό οξύ που παράγεται από την αποκαρβοξυλίωση του μηλικού, μετατρέπεται σε φωσφοροτριόζη, η οποία επιστρέφει στους χλωροπλάστες και μετατρέπεται σε γλυκόζη και άμυλο. Ο μηχανισμός αυτός των CAM φυτών έχει ιδιαίτερη σημασία ως προσαρμοστικός μηχανισμός επιβίωσης των φυτών που ζουν κάτω από τις εξαιρετικά ξηρές και θερμές συνθήκες των ερημικών και ημιερημικών περιοχών (Δροσόπουλος, 1998).

Συνοπτικά, στα φυτά CAM, το μηλικό οξύ λειτουργεί ως αποταμιευτικό μόριο του διοξειδίου του άνθρακα, ενώ αντίθετα στα C4 φυτά λειτουργεί σαν άμεσος δότης CO₂. Οι καρβοξυλιώσεις στα φυτά CAM διαχωρίζονται χρονικά (ημέρα-νύχτα), ενώ οι καρβοξυλιώσεις στη φωτοσύνθεση των C4 φυτών διαχωρίζονται χωροταξικά καθώς πραγματοποιούνται σε διαφορετικά κύτταρα από αυτά στα οποία πραγματοποιούνται οι φωτεινές αντιδράσεις. Ωστόσο, οι αντιδράσεις της καρβοξυλίωσης γίνονται πάντα παρουσία φωτός καθώς το φως ασκεί σημαντική επίδραση στην ενεργότητα των ενζύμων που συμμετέχουν στον C4 μεταβολισμό.

I.1.3.5. Καταπόνηση της φωτοσυνθετικής συσκευής από υψηλές εντάσεις ακτινοβολίας, φωτοαναστολή και φωτοπροστασία

Τα φύλλα αποτελούν τα όργανα του φυτού που είναι υπεύθυνα για τη βελτιστοποίηση της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του CO₂. Οι δραστήριοι φωτοσυνθετικά ιστοί των φύλλων, είναι εξειδικευμένοι στην απορρόφηση της ηλιακής ακτινοβολίας, η οποία αποτελεί την κινητήρια δύναμη της φωτοσύνθεσης. Ωστόσο, σε υψηλές εντάσεις η ηλιακή ακτινοβολία μπορεί να αποβεί καταστροφική για τη φωτοσυνθετική μηχανή και να προκαλέσει ελάττωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας εάν ο ρυθμός απορρόφησης της ενέργειας υπερβαίνει κατά πολύ το ρυθμό αξιοποίησή της από τις βιοχημικές αντιδράσεις (Hall and Rao, 1999). Το φαινόμενο της μείωσης της φωτοσυνθετικής ικανότητας ενός φυτού ονομάζεται φωτοαναστολή και εκδηλώνεται όταν τα φυτά εκτίθενται σε εντάσεις ακτινοβολίας πολύ υψηλότερες αυτών που επαρκούν για τον ενεργειακό κορεσμό της φωτοσυνθετικής συσκευής,

συνήθως με την ταυτόχρονη παρουσία κάποιας άλλης μορφής καταπόνησης όπως ψύχος ή έλλειψη νερού. Ακόμα και φυτά ταχείας ανάπτυξης με υψηλούς ρυθμούς αφομοίωσης του CO₂, δεν αξιοποιούν συνήθως περισσότερο από το μισό της έντασης του πλήρους ηλιακού φωτός. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η απορρόφηση φωτονίων από τα μόρια χλωροφύλλης αποτελεί μια καθαρά φωτοχημική διαδικασία, η αύξηση της έντασης της φωτεινής ακτινοβολίας προκαλεί υπερτροφοδότηση της φωτοσυνθετικής συσκευής με ενέργεια, η οποία υπερβαίνει αυτή που μπορεί να αξιοποιηθεί κατά τη φωτοχημική ροή ηλεκτρονίων. Το πλεόνασμα ενέργειας που δημιουργείται, μπορεί υπό ορισμένες προϋποθέσεις να οδηγήσει, μέσω μιας πολύπλοκης αλληλουχίας φωτοχημικών αντιδράσεων στην παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου η οποία με τη σειρά της προκαλεί οξειδωτικές βλάβες σε κρίσιμα βιομόρια της φωτοσυνθετικής συσκευής όπως λιπίδια, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα. Σε συνθήκες υψηλής έντασης φωτοσυνθετικά ενεργού ακτινοβολίας, τα φυτά αναπτύσσουν ορισμένες φωτοπροστατευτικές στρατηγικές προκειμένου να προστατευτεί η λειτουργικότητα της φωτοσυνθετικής συσκευής. Οι στρατηγικές αυτές σκοπεύουν είτε στην αποφυγή της υπερβολικής φωτοσυλλογής είτε στην διαχείριση της πλεονάζουσας ενέργειας των φωτοχημικών κέντρων μέσω της λειτουργίας κατάλληλων μηχανισμών απόσβεσής της (στρατηγική της ανθεκτικότητας). Είτε στο στάδιο της φωτοσυλλογής (μη φωτοχημική, μη φωτοσυνθετική απόσβεση) είτε στο στάδιο της φωτοσυνθετικής ροής ηλεκτρονίων μεταξύ των δύο φωτοσυστημάτων (φωτοχημική, μη φωτοσυνθετική απόσβεση) μπορεί να γίνει η ασφαλής απόσβεση της πλεονάζουσας ενέργειας. Οι εναλλακτικές οδοί απόσβεσης της ενέργειας που απορροφάται από τις φωτοσυνθετικές χρωστικές είναι τέσσερις:

- α. Χρήση του παραγόμενου φωτοχημικού έργου για την αναγωγή οργανικών μορίων (κυρίως μέσω του κύκλου του Calvin). Η διαδικασία αυτή είναι η μόνη μέσω της οποίας παράγεται φωτοσυνθετικό έργο.
- β. Επανεκπομπή των φωτονίων με τη μορφή φθορισμού. Η απόσβεση αυτή της ενέργειας διέγερσης των μορίων της χλωροφύλλης είναι ένα φυσικό, μη φωτοχημικό φαινόμενο.
- γ. Κατανάλωση της πλεονάζουσας ενέργειας με τη μορφή ATP σε μεταβολικές διαδικασίες μέσω των οποίων δεν παράγονται ανηγμένα μόρια. Στις διαδικασίες αυτές περιλαμβάνονται η φωτοαναπνοή, η ενεργητική μεταφορά ιόντων και η αντίδραση Mehler. Η απόσβεση αυτή της ενέργειας είναι φωτοχημική, μη φωτοσυνθετική.
- δ. Η πλεονάζουσα ενέργεια των φωτοσυστημάτων αποσβένει με τη μορφή απωλειών θερμότητας (θερμική απόσβεση) (Καραμπουρνιώτης, 2003). Η θερμική απόσβεση είναι ένα φυσικό, μη φωτοχημικό φαινόμενο.

1.2. Η φθορισμομετρία χλωροφύλλης *in vivo* ως τεχνική μελέτης της φωτοσύνθεσης

1.2.1. Αρχή της μεθόδου

Τα τελευταία χρόνια, η τεχνική του φθορισμού χλωροφύλλης εφαρμόζεται ευρέως σε μελέτες οικοφυσιολογίας. Ειδικότερα, μελέτες της φωτοσυνθετικής συσκευής ή μελέτες καταπόνησης των φυτών δεν θεωρούνται πλήρεις εάν δεν συμπεριλαμβάνουν δεδομένα

Εισαγωγή

φθορισμομετρίας χλωροφύλλης. Παρά την απλότητα των μετρήσεων, ωστόσο, η υποκείμενη θεωρία και η ερμηνεία των δεδομένων είναι πολύπλοκη και, σε ορισμένα σημεία, αμφιλεγόμενη. Η αρχή στην οποία βασίζεται η ανάλυση φθορισμού της χλωροφύλλης είναι σχετικά απλή. Η φωτεινή ενέργεια που απορροφάται από τα μόρια χλωροφύλλης σε ένα φύλλο μπορεί να διοχετευθεί σε τρεις εναλλακτικές οδούς:

- (α) **φωτοχημικές αντιδράσεις** οι οποίες συνίστανται στη φωτόλυση του νερού και τη ροή ηλεκτρονίων προς διάφορους αποδέκτες (φωτοχημική απόσβεση),
- (β) απόσβεση της ενέργειας των διεγερμένων μορίων **υπό μορφή θερμότητας** (μη-φωτοχημική απόσβεση) και
- (γ) επαναεκπομπή της ενέργειας διέγερσης **μέσω φθορισμού**.

Οι τρεις παραπάνω διαδικασίες είναι μεταξύ τους ανταγωνιστικές, έτσι ώστε οποιαδήποτε μεταβολή της αποδοτικότητας της μίας να οδηγεί σε αντίστοιχη μεταβολή στην απόδοση των άλλων δύο. Ειδικότερα, μεταβολές στη φωτοχημική ή/και μη-φωτοχημική απόσβεση οδηγούν σε μεταβολές στα επίπεδα του εκπεμπόμενου φθορισμού. Ως εκ τούτου, με τη μέτρηση της απόδοσης του φθορισμού της χλωροφύλλης και των διακυμάνσεών της, υπολογίζονται βασικές παράμετροι λειτουργίας των φωτοσυστημάτων κατά τη διεξαγωγή των φωτεινών αντιδράσεων. Παρά το γεγονός ότι το συνολικό ποσό του φθορισμού της χλωροφύλλης είναι πολύ μικρό (μόνο 1 ή 2% του συνόλου της ενέργειας διέγερσης επανεκπέμπεται ως φθορισμός), η απόδοση εκπομπής του φθορισμού μπορεί να ποσοτικοποιηθεί και, συνεπώς, οι μετρήσεις είναι εξαιρετικά αξιόπιστες.

Οι μεταβολές στα επίπεδα του εκπεμπόμενου φθορισμού σε κατάσταση σκότους συσχετίζονται με τη φωτοσυνθετική ικανότητα του δείγματος που εξετάζεται και αποτελούν δείκτες συσσώρευσης βλάβης στη φωτοσυνθετική συσκευή λόγω διαφόρων παραγόντων καταπόνησης. Οι λειτουργικές παράμετροι του φθορισμού χλωροφύλλης που μετρώνται σε δείγμα προσαρμοσμένο στο φως δίνουν μια εκτίμηση της εκτέλεσης των φωτεινών αντιδράσεων, της φωτοσυνθετικής ροής ηλεκτρονίων και του βαθμού πλεονάζουσας ενέργειας και της αποτελεσματικότητας των φωτοπροστατευτικών μηχανισμών οι οποίοι επάγονται για την ασφαλή απόσβεσή της.

1.2.2. Οργανολογία φθορισμομέτρων τύπου PAM

Μία τροποποίηση στα βασικά όργανα μέτρησης που έφερε επανάσταση στις εφαρμογές της φθορισμομετρίας χλωροφύλλης, είναι η χρήση των συστημάτων PAM (Pulse Amplitude Modulated, Παλμικής Διαμόρφωσης Εύρους σήματος, Quick and Horton, 1984). Στα συστήματα αυτά, η επαγωγή του μετρήσιμου φθορισμού πραγματοποιείται με τη βοήθεια της ακτινοβολίας μέτρησης και όχι μέσω της ακτινικής ακτινοβολίας. Με αυτό τον τρόπο μπορούν να ληφθούν μετρήσεις υπό οποιοσδήποτε συνθήκες φωτισμού, ουσιαστικά επιτρέποντας τη μελέτη της φωτοσυνθετικής συσκευής υπό συνθήκες πραγματικής λειτουργίας. Το παραπάνω είναι δυνατό διότι οι διακυμάνσεις στα επίπεδα του (μετρήσιμου) φθορισμού χλωροφύλλης δεν οφείλονται σε διακυμάνσεις του ακτινικού φωτός (το φως μέτρησης μέσω του οποίου παράγεται ο φθορισμός της χλωροφύλλης είναι πάντα σταθερό) αλλά σε τυχόν αλλαγές στη

φωτοχημική κατάσταση του δείγματος. Τα φθορισμόμετρα τύπου PAM διαθέτουν μια σειρά από διαφορετικά είδη ακτινοβολίας τα οποία μπορούν να εφαρμοστούν στο δείγμα:

Φως μέτρησης: Σε αυτό στηρίζεται η μέτρηση των φωτοχημικών παραμέτρων. Είναι συνήθως κόκκινο ή μπλε φως πολύ χαμηλής έντασης (μικρότερη των 0, 5 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) το οποίο πάλλεται σε υψηλή συχνότητα (εκατοντάδες έως και δεκάδες χιλιάδες Hz, τόσο υψηλή ώστε να επιτυγχάνεται αρκετά υψηλός λόγος σήματος προς θόρυβο). Ανάλογα φυσικά πάλλεται και ο φθορισμός που εκπέμπεται ακριβώς ως αποτέλεσμα του φωτός μέτρησης. Λόγω της παλμικής διαμόρφωσης του εύρους του, επιτυγχάνεται ο οπτικο-ηλεκτρονικός διαχωρισμός του από τον υπόλοιπο φθορισμό υποβάθρου.

Φως κορεσμού: Το φως κορεσμού χρησιμοποιείται για την δημιουργία συνθηκών ενεργειακού κορεσμού στο PSII. Είναι ένα σημαντικό στάδιο (διάρκειας περίπου 1 s) το οποίο μπορεί να επαναλαμβάνεται σε καθορισμένα χρονικά διαστήματα ανάλογα με το πρωτόκολλο μέτρησης. Υπό τις συνθήκες αυτές, τα φωτοσυστήματα κλείνουν σε ποσοστό 100% και συνεπώς το φωτοχημικό έργο παροδικά μηδενίζεται. Λόγω του γεγονότος αυτού, τα επίπεδα του φθορισμού αυξάνονται κατά ένα ποσοστό αντίστοιχο με το τρέχον (αμέσως πριν την εφαρμογή του φωτός κορεσμού) φωτοχημικό έργο.

Ακτινικό φως: είναι το φως το οποίο επάγει τις φωτοχημικές αντιδράσεις στους χλωροπλάστες. Ο όρος προέρχεται από τη φωτογραφία και υποδηλώνει το είδος της ακτινοβολίας η οποία προκαλεί αλλαγές σε ένα φωτοευαίσθητο υλικό (π. χ. το φωτογραφικό φιλμ). Συνεπώς, ένα χαμηλής έντασης πράσινο φως ή ένα πολύ χαμηλής έντασης κόκκινο φως δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως ακτινικό ενώ το άπλετο ηλιακό ή το λευκό ή κόκκινο ή μπλε φως επαρκούς έντασης μιας τεχνητής πηγής είναι ακτινικό φως, αφού προκαλεί φωτοσυνθετική ροή ηλεκτρονίων.

1.2.3. Βασικά πειράματα

Ως βασικά πειράματα φθορισμομετρίας χλωροφύλλης μπορούν να χαρακτηριστούν αυτά στα οποία γίνεται καταγραφή των βασικών παραμέτρων λειτουργίας του PSII χωρίς ιδιαίτερους χειρισμούς του δείγματος. Τα πλέον βασικά πειράματα είναι δύο: Στο πρώτο, το δείγμα προσαρμόζεται στο σκοτάδι για ικανό χρονικό διάστημα ώστε να επιτευχθεί πλήρης οξειδωση των φωτοχημικών κέντρων και των δεκτών ηλεκτρονίων. Ακολουθώς μετράται η θεμελιώδης (μέγιστη) φωτοχημική ικανότητα. Στο δεύτερο, μετρώνται οι βασικές λειτουργικές παράμετροι της φωτοχημείας του PSII σε δείγμα το οποίο έχει προσαρμοστεί σε ακτινικό φως της φασματικής σύστασης και της έντασης που ενδιαφέρει σε κάθε μελέτη. Συνήθως, στην πιο απλή περίπτωση, το φως αυτό είναι το φως του ήλιου, όπως το δέχεται το κάθε φύλλο ανάλογα με τη θέση του στην κόμη και την ώρα της ημέρας.

1.2.3.1. Μέτρηση θεμελιώδους φωτοχημικής ικανότητας

Σε ένα δείγμα προσαρμοσμένο στο σκοτάδι η επαγωγή του φθορισμού μετά από αιφνίδιο φωτισμό ακολουθεί χαρακτηριστική κινητική (καμπύλη Kautsky). Σε ορισμένα σημεία της

Εισαγωγή

καμπύλης Kautsky καταγράφονται οι χαρακτηριστικές παράμετροι του εκπεμπόμενου φθορισμού:

F_o (ελάχιστος φθορισμός), ο φθορισμός ο οποίος καταγράφεται ως αποτέλεσμα της ακτινοβολίας μέτρησης. Κατά την καταγραφή του δεν εφαρμόζεται καμία άλλη ακτινοβολία στο δείγμα με αποτέλεσμα τα φωτοχημικά κέντρα αντίδρασης του PSII να είναι ανοικτά και οι αποδέκτες ηλεκτρονίων να παραμένουν σε οξειδωμένη μορφή. Αυξημένες τιμές του F_o υποδηλώνουν την καταστροφή ορισμένων φωτοχημικών κέντρων ή δυσχέρειες στη μεταφορά ενέργειας από την φωτοσυλλεκτικό μηχανισμό προς τα φωτοχημικά κέντρα αντίδρασης του PSII.

F_m (μέγιστος φθορισμός), η μέγιστη δυνατή ένταση φθορισμού που σημειώνεται μέσω εφαρμογής ακτινοβολίας πολύ μεγάλης έντασης (φως κορεσμού). Κατά την καταγραφή του μέγιστου φθορισμού θεωρείται ότι τα φωτοχημικά κέντρα αντίδρασης του PSII και οι αρχικοί δέκτες των ηλεκτρονίων βρίσκονται συνολικά στην ανηγμένη μορφή. Στο σημείο αυτό η φωτοσυνθετική ροή ηλεκτρονίων μηδενίζεται και για τον λόγο αυτό το επίπεδο του εκπεμπόμενου φθορισμού F_m είναι το μέγιστο δυνατό. Η παράμετρος F_m αντιστοιχεί στο μέγιστο φωτοχημικό έργο που θα μπορούσε να παραχθεί από μέγιστη ένταση ακτινοβολίας εάν τα φωτοχημικά κέντρα ήταν ανοικτά.

Από το σημείο του μέγιστου φθορισμού ακολουθεί η αργή (διαρκεί 3-4 min) απόσβεση του φθορισμού αμέσως μετά την παύση του φωτός κορεσμού. Η συμπεριφορά αυτή εξηγείται διότι με την έναρξη λειτουργίας του PSI και τη συνεργασία των δύο φωτοσυστημάτων αποκαθίσταται η ομαλή ροή ηλεκτρονίων και οι αποδέκτες των ηλεκτρονίων επαναοξειδώνονται, οπότε ανοίγουν σταδιακά τα φωτοχημικά κέντρα του PSII.

Από τα παραπάνω επίπεδα εκπεμπόμενου φθορισμού υπολογίζεται η παράμετρος της **θεμελιώδους φωτοχημικής ικανότητας του PSII (Φ_{PSIIo})** ως

$$\Phi_{PSIIo} = F_v/F_m$$

όπου η παράμετρος F_v ονομάζεται **μεταβλητός φθορισμός** και ισούται με F_v = F_m-F_o. Είναι εμφανές από την παραπάνω εξίσωση πως όσο μικρότερη είναι η τιμή του F_o και όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή του F_m συγκριτικά με αυτή του F_o, τόσο υψηλότερες τιμές (με θεωρητικό μέγιστο την τιμή 1) λαμβάνει ο λόγος F_v/F_m. Η παράμετρος Φ_{PSIIo} σχετίζεται άμεσα με τη φωτοχημική απόδοση του PSII και έχει επιπλέον αποδειχθεί ότι σχετίζεται πολύ ικανοποιητικά με την φωτοσυνθετική απόδοση ανά φωτόνιο.

Η τιμή της Φ_{PSIIo} εμφανίζει εντυπωσιακή σταθερότητα, ανεξαρτήτως του φυτικού είδους (ίσως τη μεγαλύτερη μεταξύ όλων των παραμέτρων που μετρώνται στη Φυσιολογία Φυτών). Σε μη καταπονημένα φυτά τα οποία είναι εγκλιματισμένα σε υψηλές εντάσεις φωτεινής ακτινοβολίας (είναι δηλ. φυτά φωτός, πρέπει να αναμένονται τιμές μεταξύ 0, 80 και 0, 85. Συνεπώς, κάθε μείωση της μετρούμενης τιμής από τα παραπάνω υποδηλώνει την ύπαρξη βλαβών του PSII λόγω καταπόνησης και ως εκ τούτου δυσλειτουργίες στο επίπεδο της φωτοσύνθεσης. Αποκλίσεις στην τιμή που λαμβάνει η παράμετρος Φ_{PSIIo} μπορούν να

προέλθουν από μια πληθώρα παραγόντων καταπόνησης (υδατική ή οσμωτική καταπόνηση, έντονη ηλιακή ακτινοβολία, ακραίες θερμοκρασίες, παρουσία ρύπων, προσβολές από παθογόνα ή έντομα, κ. ά.).

1.2.3.2. Μέτρηση φωτοχημικής ικανότητας και λοιπών παραμέτρων υπό συνθήκες φωτισμού

Στο σημείο όπου ένα δείγμα υποβάλλεται σε σταθερό ακτινικό φως για αρκετά ικανό χρονικό διάστημα ώστε η φωτοσύνθεση να είναι σταθερή, μετρώνται οι βασικές φωτοχημικές παράμετροι του PSII μέσω του **φωτός κορεσμού**. Το φως κορεσμού χρησιμοποιείται για την δημιουργία συνθηκών ενεργειακού κορεσμού στο PSII. Είναι ένα σημαντικό στάδιο (διάρκειας περίπου 1 s) το οποίο μπορεί να επαναλαμβάνεται σε καθορισμένα χρονικά διαστήματα ανάλογα με το πρωτόκολλο μέτρησης. Υπό τις συνθήκες αυτές, τα φωτοσυστήματα κλείνουν σε ποσοστό 100% και συνεπώς το φωτοχημικό έργο παροδικά μηδενίζεται. Λόγω του γεγονότος αυτού, τα επίπεδα του φθορισμού αυξάνονται κατά ένα ποσοστό αντίστοιχο με το τρέχον (αμέσως πριν την εφαρμογή του φωτός κορεσμού) φωτοχημικό έργο (F_m'). Μέσω αυτής της τεχνικής (**τεχνική παλμών κορεσμού**), κάθε φορά που εφαρμόζεται ο φωτεινός παλμός κορεσμού εκτελείται η λεγόμενη **ανάλυση απόσβεσης του φθορισμού**. Μέσω της ανάλυσης αυτής υπολογίζεται η σχετική συμβολή δύο κύριων ενεργειακών συμβάντων στους χλωροπλάστες: της **φωτοχημικής απόσβεσης** και της **μη-φωτοχημικής απόσβεσης** του φθορισμού (ή -κατά αναλογία- της ενέργειας διέγερσης).

Μέσω της τεχνικής της φθορισμομετρίας τύπου PAM, υπολογίζεται ένα πλήθος φωτοχημικών παραμέτρων του PSII με κύριες τις παραμέτρους Φ_{PSII} (λειτουργική φωτοχημική ικανότητα του PSII), q_P (συντελεστής φωτοχημικής απόσβεσης του φθορισμού) και q_N ή NPQ (συντελεστές μη-φωτοχημικής απόσβεσης του φθορισμού).

1.3. Σημασία των μετρήσεων φωτοσύνθεσης σε επίπεδο κόμης στο πεδίο

Η έρευνα της φωτοσύνθεσης εστιάζεται σε πολλά επίπεδα τα οποία κυμαίνονται από το βασικό επίπεδο της φωτοχημείας της φωτοσύνθεσης έως το επίπεδο της φωτοσύνθεσης σε πλανητική κλίμακα. Η μελέτη της φωτοσύνθεσης σε κλίμακες μεγαλύτερες αυτής του μεμονωμένου φύλλου απαιτούν τη χρήση βιοχημικών και άλλων δεδομένων της φωτοσύνθεσης σε μοντέλα πρόβλεψης της φωτοσυνθετικής ταχύτητας σε επίπεδο κόμης, φυτείας ή σε μοντέλα μεγαλύτερης κλίμακας. Τα μοντέλα αυτά περιγράφουν, σε διάφορα επίπεδα πολυπλοκότητας, τις φυσιολογικές διεργασίες των φυτών. Τα δεδομένα με τα οποία τροφοδοτούνται τα μοντέλα αυτά είναι συνήθως τριών κατηγοριών (Sarlikioti et al. 2011): α) φωτομετρικά δεδομένα και δεδομένα οπτικών ιδιοτήτων των φύλλων (π.χ. θέση και ένταση της φωτεινής πηγής, απορροφητικότητα του φύλλου), β) δεδομένα αρχιτεκτονικής της κόμης (π.χ. φυλλική επιφάνεια, γωνίες κλίσης των φύλλων ως προς το οριζόντιο επίπεδο, προσανατολισμός των φύλλων) και γ) βιοχημικά δεδομένα της φωτοσυνθετικής συσκευής (την μοντελοποιημένη εξάρτηση της φωτοσυνθετικής ταχύτητας από την ένταση της

Εισαγωγή

ακτινοβολίας και άλλες παραμέτρους όπως η θερμοκρασία και η συγκέντρωση του CO₂ του αέρα).

Η αξιοπιστία και η αποτελεσματικότητα ενός μοντέλου πρόβλεψης της φωτοσυνθετικής ταχύτητας και τελικά το κέρδος σε άνθρακα της κόμης εξαρτάται από το κατά πόσο ο βαθμός πολυπλοκότητάς του μοντέλου προσεγγίζει την πολυπλοκότητα του βιολογικού συστήματος (Medlyn et al. 2003). Για παράδειγμα, το μοντέλο 'SUNLIT-SHADED' (Zhu et al. 2012), ένα από τα πλέον αποδοτικά μοντέλα πρόβλεψης το οποίο πλεονεκτεί μεταξύ άλλων για το γεγονός ότι προσομοιώνει φυσιολογικές λειτουργίες σε επίπεδο φύλλου, εμπεριέχει απλοποιήσεις όπως η θεώρηση ότι όλα τα φύλλα της κόμης, τόσο τα εξωτερικά ηλιόλουστα όσο και τα σκιαζόμενα, δέχονται μια μέση ένταση προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε μια σειρά από ανακρίβειες στις τελικές προβλέψεις και παγιώνεται η αντίληψη ότι όλα τα φύλλα συμπεριφέρονται οπτικώς και βιοχημικώς με τον ίδιο τρόπο. Μελλοντικά, η ακρίβεια των μοντέλων φωτοσύνθεσης κόμης αναμένεται να βελτιωθεί αισθητά μεταξύ άλλων με την ενσωμάτωση παραμέτρων όπως η επίδραση της γωνίας πρόσπτωσης του φωτός στις οπτικές ιδιότητες των φύλλων ή η διαφοροποίηση των παραμέτρων λειτουργίας της φωτοσυνθετικής συσκευής ανάλογα με τον προσανατολισμό των φύλλων. Επί του παρόντος, πέρα από το γεγονός ότι οι βελτιώσεις αυτές απαιτούν επανασχεδιασμό των μοντέλων, τα πρωτογενή δεδομένα όσον αφορά στην επίδραση των παραπάνω παραμέτρων στη φωτοσυνθετική λειτουργία δεν είναι διαθέσιμα.

II. Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη των παραμέτρων λειτουργίας της φωτοσυνθετικής συσκευής ανάλογα με τον προσανατολισμό των φύλλων. Είναι από πολύ παλιά γνωστό πως τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των φύλλων διαφοροποιούνται ανάλογα με τον προσανατολισμό τους. Για το λόγο αυτό συνηθίζεται σε όλες τις οικοφυσιολογικές και αγρονομικές μελέτες πεδίου να επιλέγονται φύλλα τα οποία έχουν μέγιστη έκθεση ως προς τον ηλιακό δίσκο κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (για το βόρειο ημισφαίριο τα φύλλα αυτά είναι τα της νότιας έκθεσης). Ωστόσο, οι μελέτες λεπτομερούς καταγραφής των διαφοροποιήσεων αυτών στη λειτουργία της φωτοσυνθετικής συσκευής είναι ελάχιστες.

Θα επιχειρηθεί μια συστηματική μελέτη των χαρακτηριστικών της φωτοσυνθετικής συσκευής σε επίπεδο φύλλου και το πώς αυτά τα χαρακτηριστικά διαφοροποιούνται ανάλογα με τη χωροταξική διεύθυνση των φύλλων στην κόμη. Τα πειράματα θα διεξαχθούν υπό συνθήκες πεδίου με την τεχνική της φθορισμομετρίας χλωροφύλλης.

III. Υλικά και Μέθοδοι

III.1. Φυτικό υλικό και τρόπος διενέργειας μετρήσεων

Χρησιμοποιήθηκαν φυτά *Ailanthus altissima* και *Ficus carica* που αναπτύσσονται σε φυσικές συνθήκες στο χώρο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Τα φυτά ήταν ελεύθερα από κάθε πλευρά έτσι ώστε να δέχονται το ηλιακό φως από την ανατολή έως τη δύση χωρίς σκίαση από άλλα φυτά ή άλλα εμπόδια. Στο φυτό *A. altissima* οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στις 9 Νοεμβρίου 2012 ενώ στο φυτό *F. carica* στις 26 Νοεμβρίου 2012. Σε κάθε φυτό οι μετρήσεις αφορούσαν στο χρονικό διάστημα πριν την ανατολή του ηλίου έως και μετά τη δύση του. Κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου οι μετρήσεις λαμβάνονταν ανά μία ώρα περίπου. Σε κάθε φυτό και κάθε χρονική στιγμή μετρήθηκαν περίπου 48 φύλλα στην περιφέρεια της κόμης καταναμημένα σε όλη την περιφέρεια βάσει προσανατολισμού (δηλαδή περίπου 12 φύλλα μεταξύ δύο διαδοχικών σημείων του ορίζοντα).

III.2. Μετρήσεις φθορισμού

Σε όλα τα πειράματα χρησιμοποιήθηκε το φθορισμόμετρο χλωροφύλλης PAM-2100 (Walz, Efeltrich, Germany). Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου με πρώτο και τελευταίο την μέτρηση της θεμελιώδους φωτοχημικής ικανότητας του PSII, ενώ οι ενδιάμεσες μετρήσεις αφορούσαν τη μέτρηση των λειτουργικών παραμέτρων των φύλλων στο φωτεινό καθεστώς στο οποίο βρίσκονταν κάθε ώρα της ημέρας.

III.2.1. Μετρήσεις θεμελιώδους φωτοχημικής ικανότητας του PSII

Για τη μέτρηση της θεμελιώδους φωτοχημικής ικανότητας του PSII (Φ_{PSII0}) εφαρμόστηκε ακτινοβολία μέτρησης (650 nm, PAR < 0, 15 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) η ένταση της οποίας ρυθμίστηκε σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του οργάνου μέτρησης. Για τις εντάσεις οι οποίες εφαρμόστηκαν δεν παρατηρήθηκε ακτινικό αποτέλεσμα βάσει της παρακολούθησης της σταθερότητας της έντασης του φθορισμού βάσης (F_0) (Logan et al. , 2007). Ακολούθως εφαρμόστηκε παλμός κορεσμού (0, 8 s, λευκό φως, PAR 15000 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) για την καταγραφή του μέγιστου φθορισμού (F_m). Η Φ_{PSII0} υπολογίστηκε ως F_v / F_m όπου $F_v = F_m - F_0$.

III.2.2. Μετρήσεις λειτουργικών παραμέτρων της φωτοχημείας του PSII

Για τη μέτρηση των λειτουργικών παραμέτρων του PSII εφαρμόστηκε η ακτινοβολία μέτρησης σε ένταση ίση με αυτή της πρώτης μέτρησης για την καταγραφή του τρέχοντος φθορισμού (F_s) και ακολούθως εφαρμόστηκε παλμός κορεσμού (0, 8 s, λευκό φως, PAR 15000 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) για την καταγραφή του μέγιστου φθορισμού (F'_m). Κατά τη διεξαγωγή των μετρήσεων δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή ώστε να μην αλλάξει ο προσανατολισμός των φύλλων και να μην σκιάζονται τα φύλλα από τον χειριστή του οργάνου ή το ίδιο το όργανο ώστε η μετρήσεις να αντιστοιχούν στο φωτεινό καθεστώς στο οποίο βρισκόταν κάθε φύλλο. Η λειτουργική φωτοχημική ικανότητα (Φ_{PSII}) υπολογίστηκε ως $\Delta F / F'_m$, όπου $\Delta F = F'_m - F_s$ και είναι ισοδύναμη με το ποσοστό της ενέργειας που απορροφάται από τις

Υλικά και Μέθοδοι

αντέννες και αποσβένεται φωτοχημικά (P). Η μέγιστη λειτουργική φωτοχημική ικανότητα υπολογίστηκε ως F_v' / F_m' , όπου $F_v' = F_m' - F_o'$. Το F_o' υπολογίστηκε βάσει της εξίσωσης $F_o' = F_o / [(F_v / F_m) + (F_o / F_m')]$ σύμφωνα με τους Oxborough and Baker (1997). Το ποσοστό της ενέργειας που απορροφάται από τις αντέννες και αποσβένεται μη-φωτοχημικά (D) υπολογίστηκε ως $1 - (F_v' / F_m')$ σύμφωνα με τους Demmig-Adams et al. (1996). Βάσει των P και D, υπολογίστηκε η πλεονάζουσα ενέργεια (E). Οι συντελεστές φωτοχημικής και μη φωτοχημικής απόσβεσης υπολογίστηκαν ως $qP = \Delta F / (F_m' - F_o') = (F_m' - F_v') / (F_m' - F_o')$ και $qN = (F_m - F_m') / (F_m - F_o')$ αντίστοιχα. Ο συντελεστής μη φωτοχημικής απόσβεσης Stern-Volmer υπολογίστηκε ως $NQP = (F_m - F_m') / F_m'$.

III.3. Μετρήσεις συγκέντρωσης χλωροφυλλών

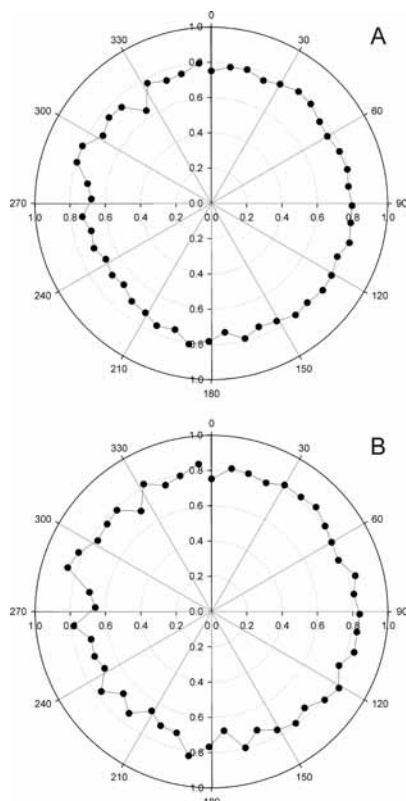
Παράλληλα με τις μετρήσεις φθορισμού, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση χλωροφυλλών στα ίδια φύλλα με φορητό χλωροφυλλόμετρο (SPAD-502, Minolta Co Ltd. , Japan). Η μέτρηση με το συγκεκριμένο όργανο βασίζεται στη σύγκριση της διαπερατότητας του φύλλου σε δύο μήκη κύματος, στα 650 nm όπου απορροφούν οι χλωροφύλλες και στα 940 nm, όπου δεν απορροφά κανένα συστατικό του φύλλου, ώστε να μετρηθεί η μείωση της ακτινοβολίας λόγω ανάκλασης ή σκέδασης. Οι προκύπτουσες τιμές είναι ανάλογες της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών στα φύλλα. Καθώς το χλωροφυλλόμετρο δίνει σχετικές τιμές, είναι αναγκαία η βαθμονόμηση του με τις πραγματικές συγκεντρώσεις χλωροφυλλών που προκύπτουν από την κλασσική φωτομετρική μέθοδο (Lichtenthaler and Wellburn, 1983). Οι αντίστοιχες πρότυπες καμπύλες για κάθε είδος κατασκευάστηκαν ως εξής: φύλλα με συγκέντρωση χλωροφύλλης που καλύπτει το εύρος των πειραματικών μετρήσεων εκχυλίστηκαν σε πορσελάνινο γουδί με άμμο εκχύλισης και μικρή ποσότητα $CaCO_3$, χρησιμοποιώντας ακετόνη 80%. Το εκχύλισμα φυγοκεντρήθηκε για 5 λεπτά στις 4000 rpm, ογκομετρήθηκε και ακολούθησε φωτομέτρηση στα 720, 663 και 646 nm. Η απορρόφηση στα 720 nm οφείλεται σε πιθανό σκεδασμό και η τιμή αυτή αφαιρείται από τις αντίστοιχες στα 663 και 646 nm. Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των χλωροφυλλών σε μg ανά ml εκχυλίσματος χρησιμοποιήθηκαν οι εξισώσεις των Lichtenthaler and Wellburn (1983).

IV. Αποτελέσματα

IV.1. Παράμετροι λειτουργίας του PSII στο φυτό *Allanthurus altissima*

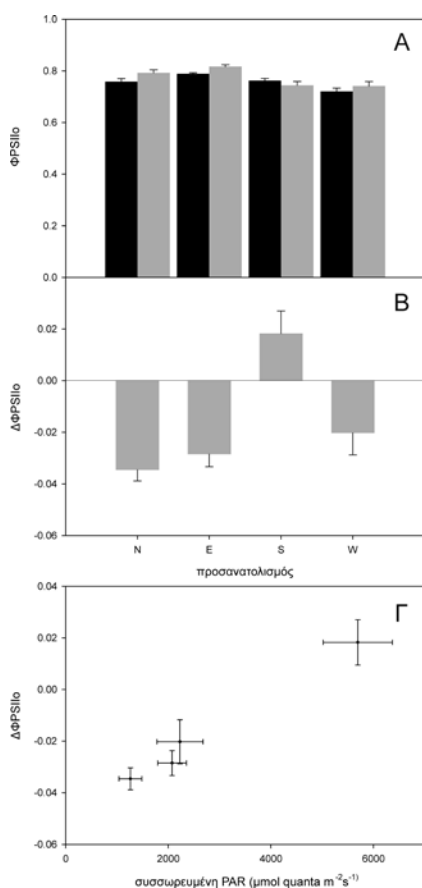
IV.1.1. Θεμελιώδης φωτοχημική απόδοση του PSII και διαφορές μεταξύ της παραμέτρου προ της ανατολής και μετά τη δύση του ήλιου

Η θεμελιώδης φωτοχημική ικανότητα του PSII του φυτού *Allanthurus altissima* εμφάνισε μικρές διαφορές τόσο μεταξύ των δύο χρονικών στιγμών όσο και μεταξύ των τεσσάρων προσανατολισμών (εικόνες 2 και 3). Συγκεκριμένα, τα φύλλα βόρειας και ανατολικής έκθεσης εμφάνισαν τις υψηλότερες τιμές της παραμέτρου συγκριτικά με αυτά της νότιας και δυτικής έκθεσης πριν την ανατολή του ήλιου. Μετά τη δύση, τα φύλλα της βόρειας και ανατολικής έκθεσης εμφάνισαν υψηλότερες τιμές της παραμέτρου $\Delta\Phi_{PSIIo}$ συγκριτικά με αυτά της νότιας και δυτικής έκθεσης (εικόνες 2 και 3A). Μετά τη δύση του ηλίου, τα φύλλα της νότιας έκθεσης παρουσίασαν μείωση της τιμής της παραμέτρου $\Delta\Phi_{PSIIo}$ σε σύγκριση με τη χρονική στιγμή πριν την ανατολή ενώ τα φύλλα των υπόλοιπων τριών προσανατολισμών εμφάνισαν αύξηση (εικόνα 3B). Εξετάζοντας τη συσχέτιση μεταξύ της παραμέτρου $\Delta\Phi_{PSIIo}$ και της συσσωρευμένης PAR (εικόνα 3Γ), φαίνεται πως οι αυξημένες τιμές ηλιακής ακτινοβολίας τις



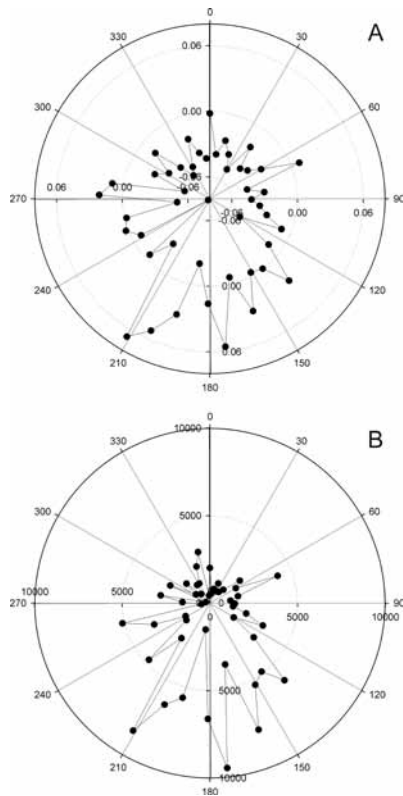
Εικόνα 2. Πολικό διάγραμμα της παραμέτρου Φ_{PSIIo} πριν την ανατολή του ήλιου (A) και μετά τη δύση (B) για το φυτό *Allanthurus altissima*. Το σημείο 0° αντιστοιχεί στο βορά.

Αποτελέσματα



Εικόνα 3. (Α) Οι τιμές της παραμέτρου Φ_{PSIIo} για όλα τα φύλλα (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου) κάθε προσανατολισμού (N, E, S και W) πριν την ανατολή του ήλιου (μαύρες ράβδοι) και μετά τη δύση (γκρι ράβδοι) για το φυτό *Ailanthus altissima*. (Β) η διαφορά στις τιμές της παραμέτρου Φ_{PSIIo} μεταξύ των δύο χρονικών περιόδων (πριν την ανατολή-μετά τη δύση, $\Delta\Phi_{PSIIo}$) για κάθε προσανατολισμό. (Γ) τιμές της παραμέτρου $\Delta\Phi_{PSIIo}$ συναρτήσει της συσσωρευμένης έντασης της PAR ανά προσανατολισμό.

οποίες δέχονται τα φύλλα της νότιας έκθεσης (βλ. επίσης εικόνα 4B) σχετίζονται με τη μείωση της μέγιστης φωτοχημικής ικανότητας του PSII μετά τη φωτοπερίοδο στα φύλλα αυτά (εικόνες 3B, 3Γ και 4). Η χωροταξική κατανομή των τιμών της $\Delta\Phi_{PSIIo}$ ταυτίζεται με τη χωροταξική κατανομή των τιμών της συσσωρευμένης PAR, ακολουθώντας ηλιοτροπικό πρότυπο κατανομής (εικόνα 4).



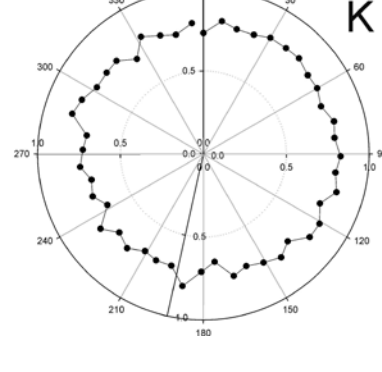
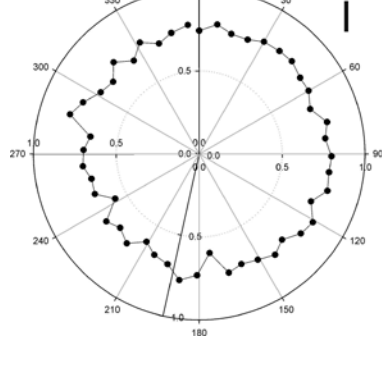
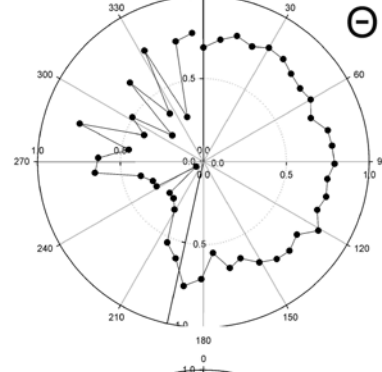
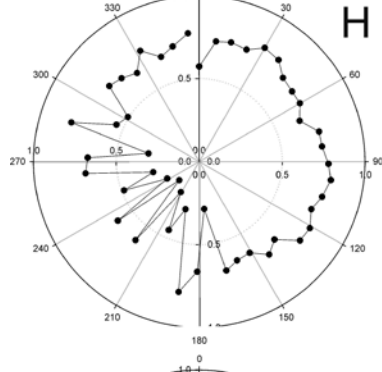
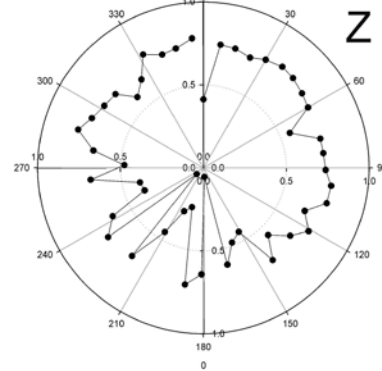
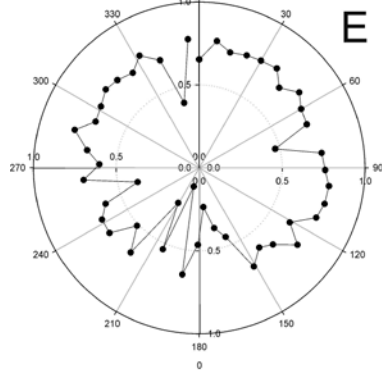
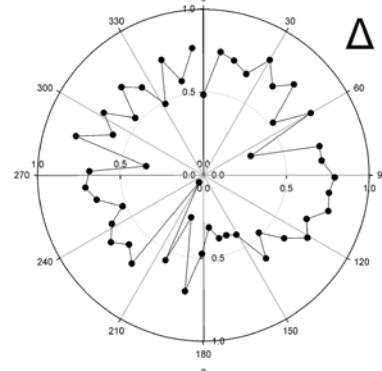
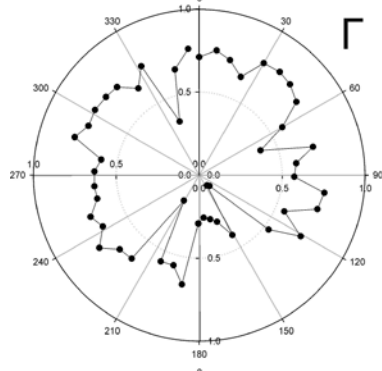
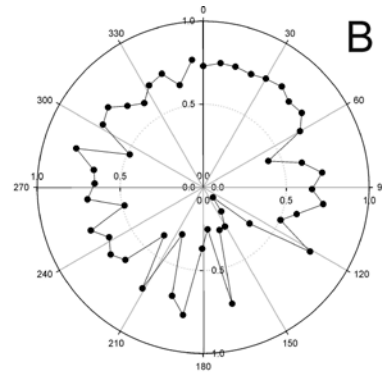
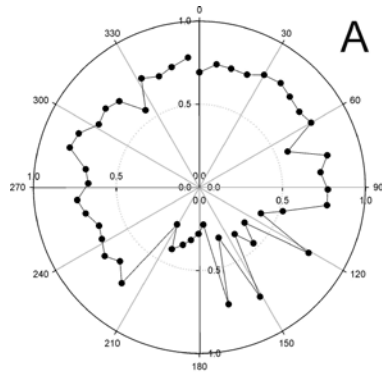
Εικόνα 4. Πολικό διάγραμμα της παραμέτρου ΔF_{PSII} (A) και της συσσωρευμένης PAR (B) για το φυτό *Ailanthus altissima*. Το σημείο 0° αντιστοιχεί στο βορρά.

IV.1.2. Λειτουργικές παράμετροι του PSII κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου

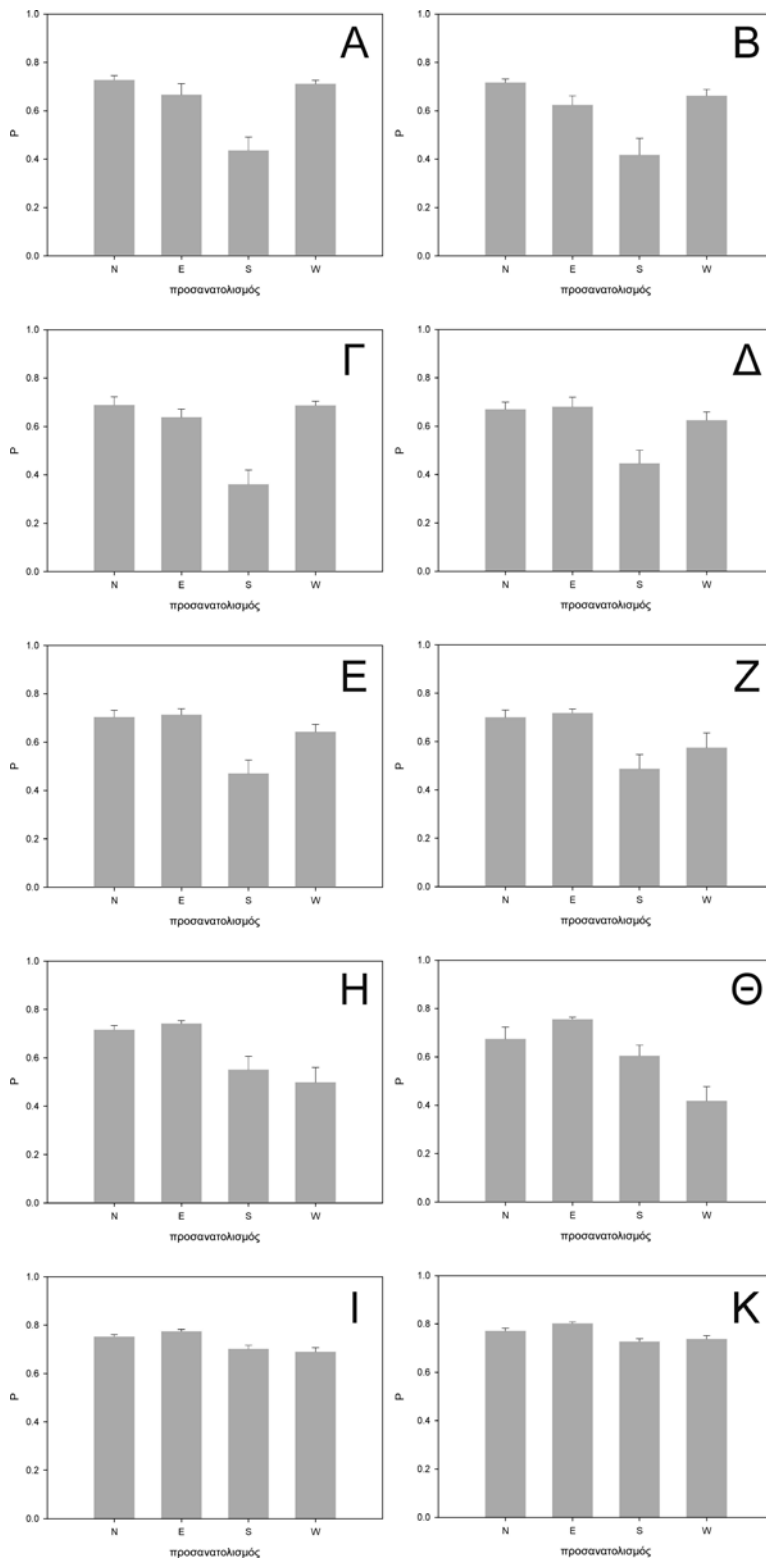
IV.1.2.1. Φωτοχημική απόδοση του PSII (παράμετρος P ή $\Delta F/F_m'$)

Σ τα πολικά διαγράμματα της εικόνας 5 παρατηρούνται μεγάλες διαφορές στις τιμές της φωτοχημικής απόδοσης σε κάθε χρονική στιγμή της φωτοπεριόδου. Χρονικά οι διαφορές στις τιμές της παραμέτρου P ακολουθούν ηλιοτροπικό μοτίβο. Τις πρώτες πρωινές ώρες (έως τις 10:30, εικόνες 5Α-Γ και 6Α-Γ) καθώς και τις απογευματινές ώρες (στις 15:30, εικόνες 5Θ και 6Θ) παρατηρούνται οι χαμηλότερες τιμές της παραμέτρου P ανεξαρτήτως ώρας της ημέρας και προσανατολισμού.

Αποτελέσματα



Εικόνα 5 (προηγούμενη σελίδα). Πολικά διάγραμμα της παραμέτρου P κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (A: 8³⁰, B: 9³⁰, Γ:10³⁰, Δ:11³⁰, Ε:12³⁰, Ζ:13³⁰, Η:14³⁰, Θ:15³⁰, Ι:16³⁰, Κ:17³⁰) για το φυτό *Ailanthus altissima*. Το σημείο 0° αντιστοιχεί στο βορά.



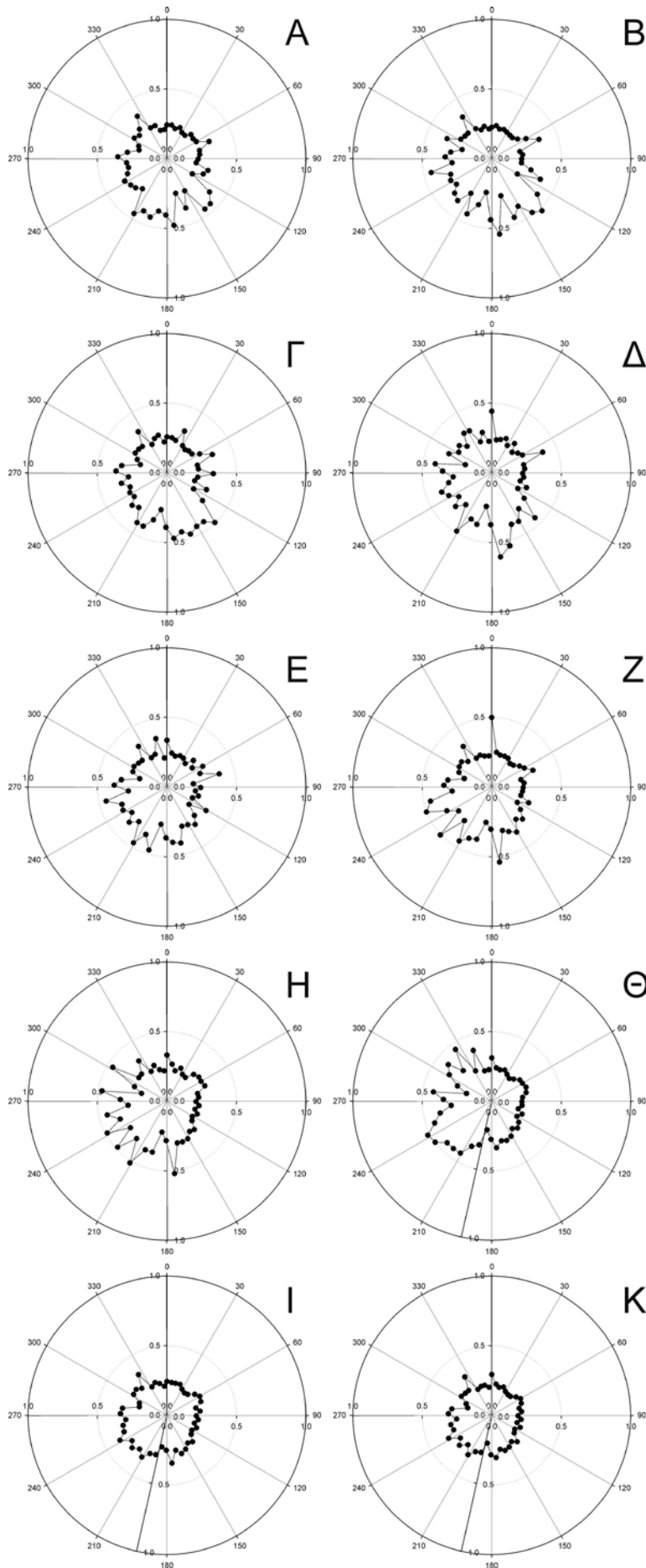
Εικόνα 6. Οι τιμές της παραμέτρου P για όλα τα φύλλα (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου) κάθε προσανατολισμού (N, E, S και W) κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (A: 8³⁰, B: 9³⁰, Γ:10³⁰, Δ:11³⁰, Ε:12³⁰, Ζ:13³⁰, Η:14³⁰, Θ:15³⁰, Ι:16³⁰, Κ:17³⁰) για το φυτό *Ailanthus altissima*.

Αποτελέσματα

IV.1.2.2. Κλάσμα της ενέργειας που απορροφάται από τα φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα του PSII το οποίο αποσβένεται μέσω θερμικών απωλειών (παράμετρος D)

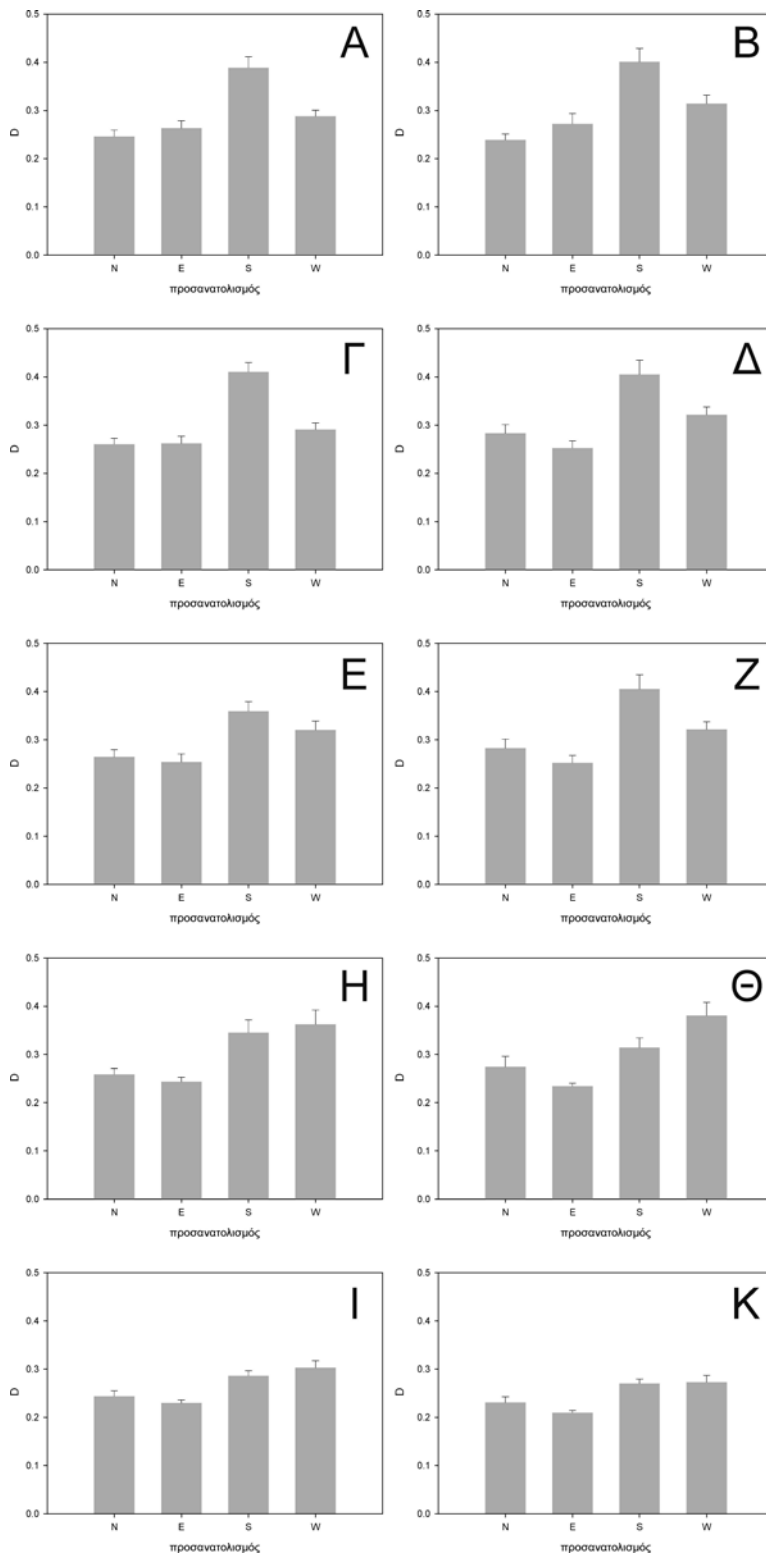
Οι τιμές της παραμέτρου D εμφανίζουν έντονο ηλιοτροπικό μοτίβο (εικόνα 7). Επίσης μεγάλες διακυμάνσεις των τιμών αυτών σημειώνονται στα φύλλα διαφορετικών προσανατολισμών. Συγκεκριμένα, τα φύλλα με νότιο προσανατολισμό παρουσιάζουν τις υψηλότερες τιμές της παραμέτρου D (εικόνες 8A- Z) προφανώς ως αποτέλεσμα της μεγαλύτερης έκθεσης αυτών στο ηλιακό φως. Ωστόσο, παρατηρείται πως, μεμονωμένα, αρκετά υψηλές τιμές παρατηρούνται στα φύλλα με ανατολικό και νότιο προσανατολισμό κατά την ανατολή του ήλιου (εικόνα 7B) καθώς και στα φύλλα με νότιο και δυτικό προσανατολισμό κατά την δύση (εικόνες 7H). Κατά τις τελευταίες χρονικές στιγμές της φωτοπεριόδου οι διαφορές μεταξύ των τιμών της παραμέτρου στα φύλλα διαφορετικών προσανατολισμών εξομαλύνονται και εμφανίζονται αρκετά μειωμένες καθώς οι φωτοπροστατευτικοί μηχανισμοί απεμπλέκονται (εικόνες 7I-K και 8I-K). Ωστόσο, τόσο κατά την ανατολή του ήλιου (στις 8:30, εικόνες 7A και 8A) όσο και κοντά στη δύση του ήλιου (εικόνες 7I-K και 8I-K) παρατηρούνται ιδιαίτερα υψηλές τιμές της παραμέτρου D στα φύλλα νότιας και νότιας-δυτικής έκθεσης αντίστοιχα.

Αποτελέσματα



Αποτελέσματα

Εικόνα 7 (προηγούμενη σελίδα). Πολικά διάγραμμα της παραμέτρου D κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (A: 8³⁰, B: 9³⁰, Γ:10³⁰, Δ:11³⁰, Ε:12³⁰, Ζ:13³⁰, Η:14³⁰, Θ:15³⁰, Ι:16³⁰, Κ:17³⁰) για το φυτό *Ailanthus altissima*. Το σημείο 0° αντιστοιχεί στο βορά.

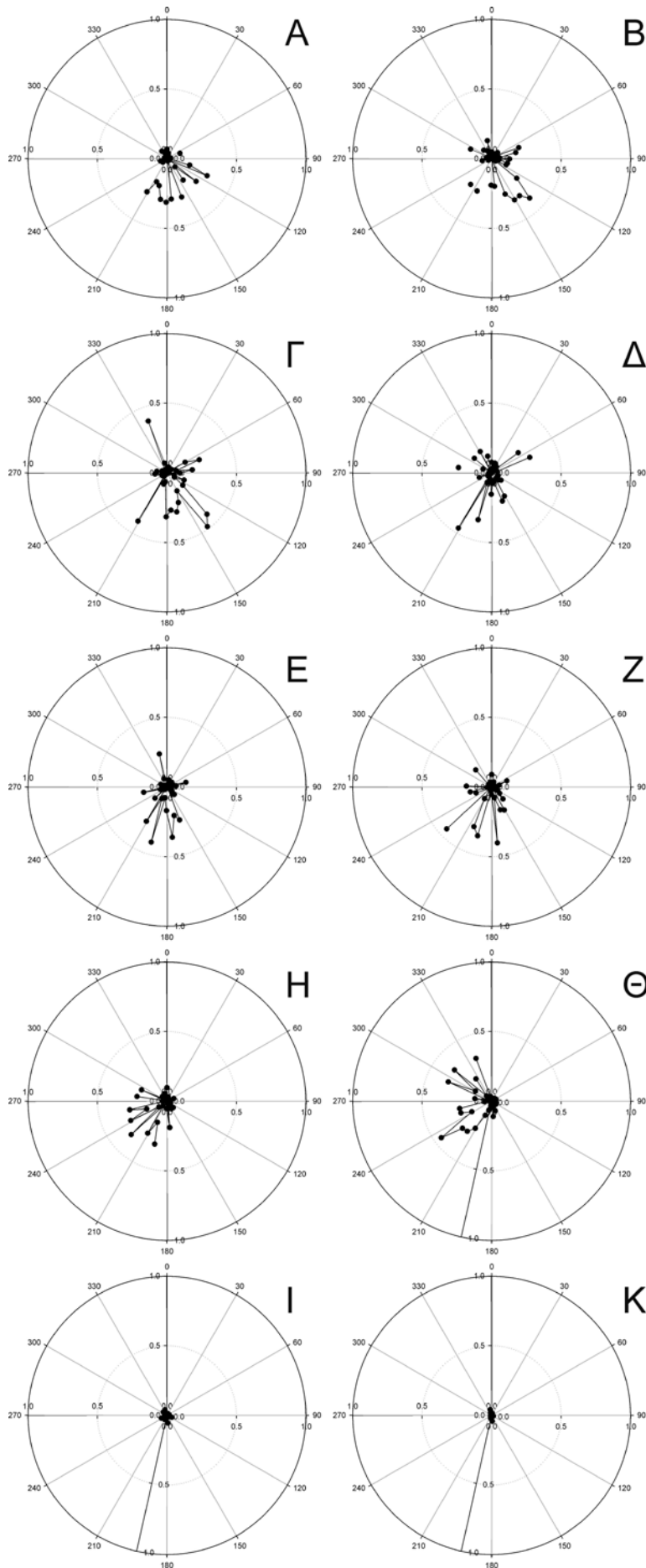


Εικόνα 8. Οι τιμές της παραμέτρου D για όλα τα φύλλα (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου) κάθε προσανατολισμού (N, E, S και W) κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (A: 8³⁰, B: 9³⁰, Γ:10³⁰, Δ:11³⁰, Ε:12³⁰, Ζ:13³⁰, Η: 14³⁰, Θ:15³⁰, Ι:16³⁰, Κ:17³⁰) για το φυτό *Ailanthus altissima*.

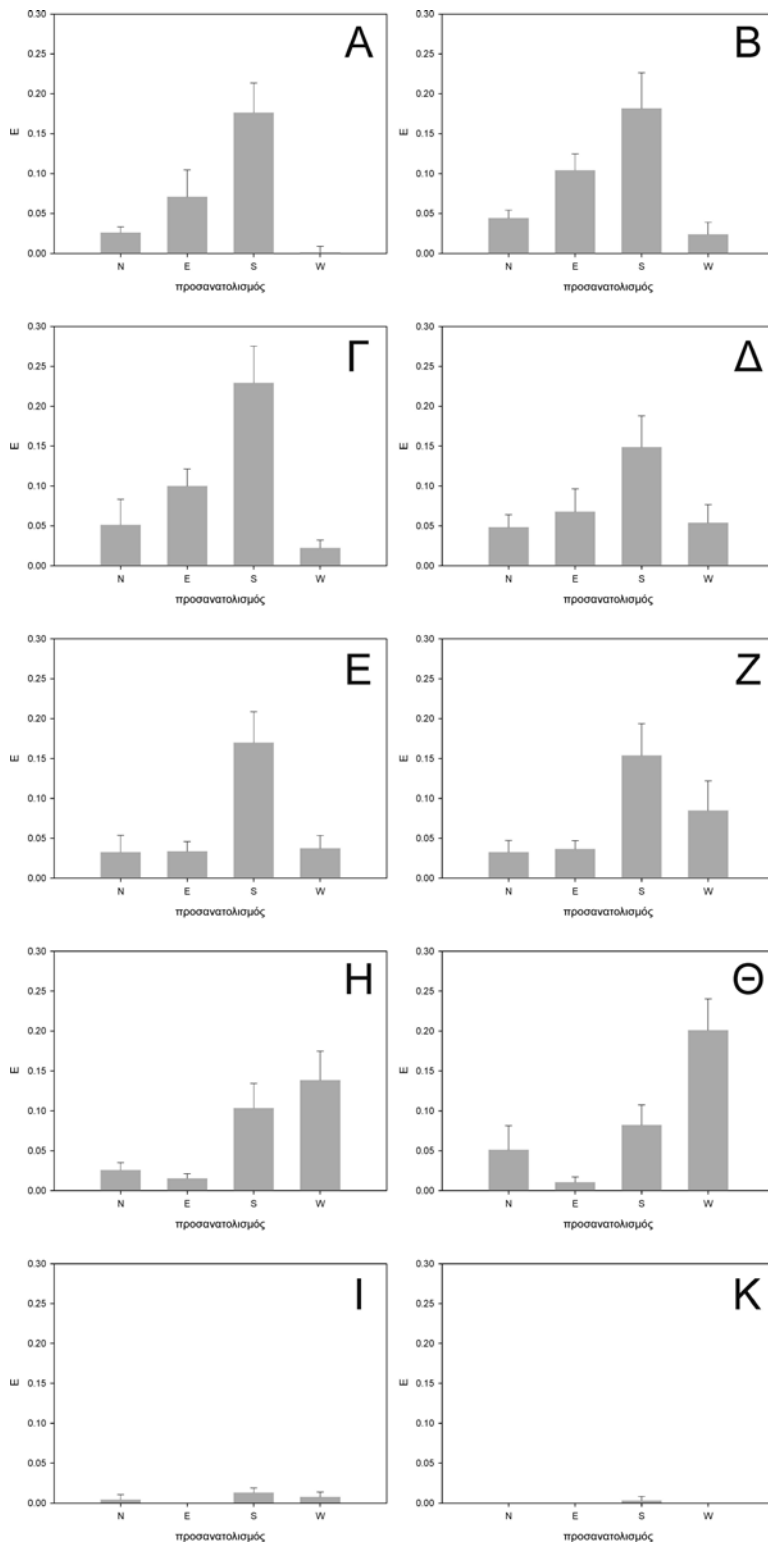
IV.1.2.3. Κλάσμα της ενέργειας το οποίοι πλεονάζει (παράμετρος E)

Η παράμετρος E παρουσιάζει σημαντικές αυξομειώσεις στα φύλλα διαφορετικών προσανατολισμών κατά της διάρκεια της ημέρας. Στα πολικά διαγράμματα (εικόνα 9) παρατηρείται έντονο ηλιοτροπικό μοτίβο σε αντιστοιχία με αυτό που παρατηρείται στη μελέτη των παραμέτρων P και D . Τις πρώτες πρωινές ώρες (εικόνες 9A, 9B) παρατηρούνται σχετικά μικρές τιμές E που στα επόμενα χρονικά διαστήματα της φωτοπεριόδου (κυρίως κατά το μεσημέρι, εικόνες 9Γ-Δ) αυξάνονται. Τη μεγαλύτερη μέση τιμή της παραμέτρου E εμφανίζουν τα φύλλα νότιου προσανατολισμού στις περισσότερες χρονικές στιγμές (εικόνες 10Α-Ζ) εκτός της δύσης του ήλιου (εικόνες 10Η-Θ) όπου οι υψηλότερες τιμές παρατηρούνται στα φύλλα της δυτικής έκθεσης. Στη χρονική περίοδο λίγο πριν την δύση του ηλίου το κλάσμα της ενέργειας που πλεονάζει σχεδόν μηδενίζεται (εικόνες 9Ι-Κ και 10Ι-Κ).

Αποτελέσματα



Εικόνα 9 (προηγούμενη σελίδα). Πολικά διάγραμμα της παραμέτρου E κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (A: 8³⁰, B: 9³⁰, Γ: 10³⁰, Δ: 11³⁰, E: 12³⁰, Z: 13³⁰, Η: 14³⁰, Θ: 15³⁰, Ι: 16³⁰, Κ: 17³⁰) για το φυτό *Ailanthus altissima*. Το σημείο 0° αντιστοιχεί στο βορά.



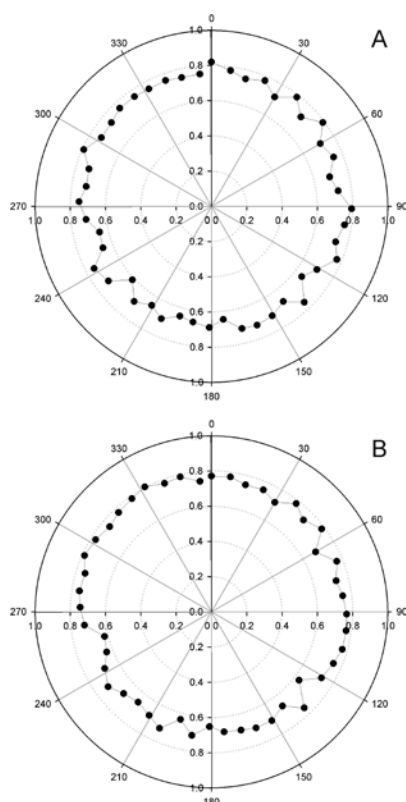
Εικόνα 10. Οι τιμές της παραμέτρου E για όλα τα φύλλα (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου) κάθε προσανατολισμού (N, E, S και W) κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (A: 8³⁰, B: 9³⁰, Γ: 10³⁰, Δ: 11³⁰, E: 12³⁰, Z: 13³⁰, Η: 14³⁰, Θ: 15³⁰, Ι: 16³⁰, Κ: 17³⁰) για το φυτό *Ailanthus altissima*.

Αποτελέσματα

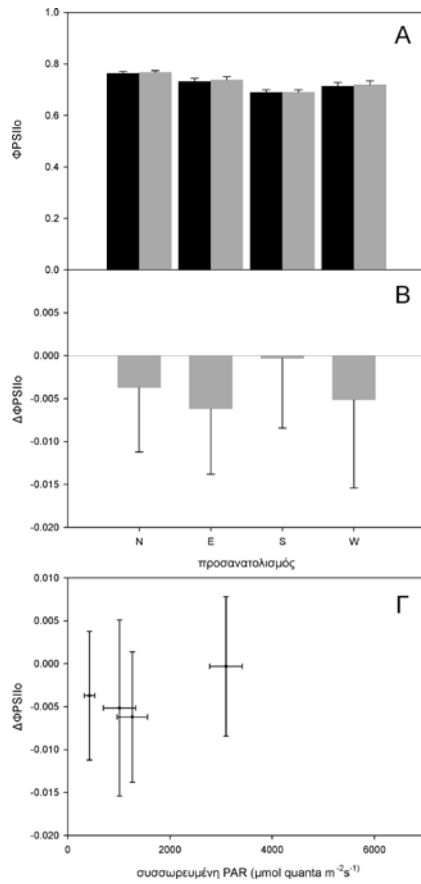
IV.2. Παράμετροι λειτουργίας του PSII στο φυτό *Ficus carica*

IV.2.1. Θεμελιώδης φωτοχημική απόδοση του PSII και διαφορές μεταξύ της παραμέτρου προ της ανατολής και μετά τη δύση του ήλιου

Η θεμελιώδης φωτοχημική ικανότητα του PSII του φυτού *Ficus carica* εμφάνισε αμελητέες διαφορές μεταξύ των δύο χρονικών στιγμών ανεξαρτήτως προσανατολισμού των φύλλων (εικόνες 11 και 12). Από την άλλη μεριά, η μέση τιμή της παραμέτρου για τα φύλλα της νότιας έκθεσης και δευτερευόντως για αυτά της δυτικής έκθεσης είναι μικρότερη αυτών των υπολοίπων προσανατολισμών (εικόνα 12A). Επίσης, δεν παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ της παραμέτρου $\Delta\Phi_{PSII0}$ και της συσσωρευμένης PAR (εικόνα 12Γ) υποδηλώνοντας πως για τις διαφορές στην παράμετρο Φ_{PSII0} μεταξύ των προσανατολισμών δεν είναι υπεύθυνη η διαφορετική έκθεση των φύλλων στο ηλιακό φως. Το τελευταίο είναι εμφανές και μετά από εξέταση των τιμών της $\Delta\Phi_{PSII0}$ (εικόνα 13A) όπου δεν διαπιστώνεται ηλιοτροπικό μοτίβο παρόλο που αυτό ακριβώς το μοτίβο διαπιστώνεται στην παράμετρο της συσσωρευμένης PAR (εικόνα 13B).

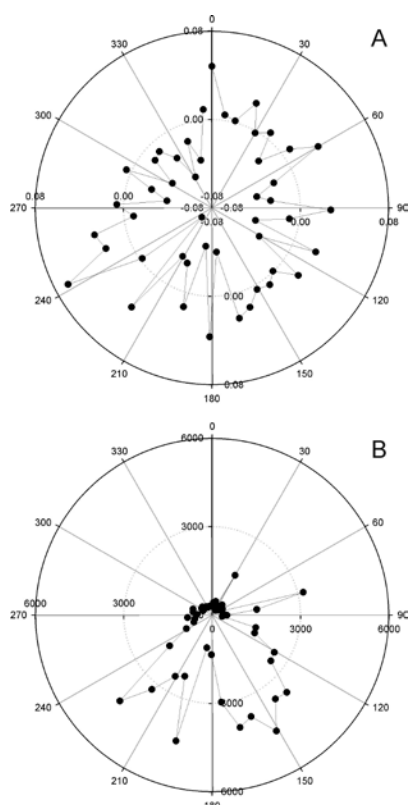


Εικόνα 11. Πολικό διάγραμμα της παραμέτρου Φ_{PSII0} πριν την ανατολή του ήλιου (A) και μετά τη δύση (B) για το φυτό *Ficus carica*. Το σημείο 0° αντιστοιχεί στο βορά.



Εικόνα 12. (Α) Οι τιμές της παραμέτρου Φ_{PSIIo} για όλα τα φύλλα (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου) κάθε προσανατολισμού (N, E, S και W) πριν την ανατολή του ήλιου (μαύρες ράβδοι) και μετά τη δύση (γκρι ράβδοι) για το φυτό. (Β) η διαφορά στις τιμές της παραμέτρου Φ_{PSIIo} μεταξύ των δύο χρονικών περιόδων (πριν την ανατολή-μετά τη δύση, $\Delta\Phi_{PSIIo}$) για κάθε προσανατολισμό. (Γ) τιμές της παραμέτρου $\Delta\Phi_{PSIIo}$ συναρτήσει της συσσωρευμένης έντασης της PAR ανά προσανατολισμό.

Αποτελέσματα

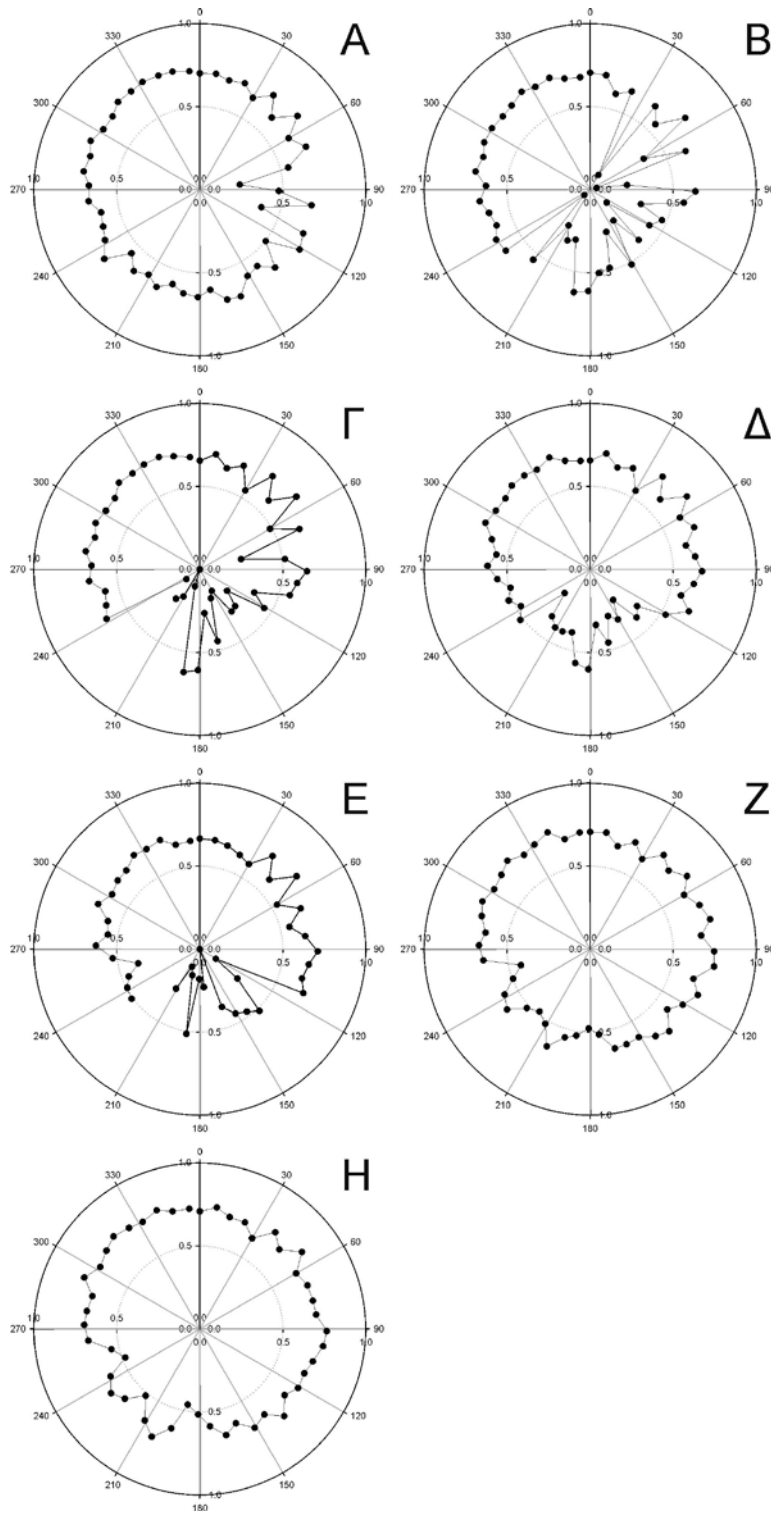


Εικόνα 13. Πολικό διάγραμμα της παραμέτρου ΔF_{PSII} (A) και της συσσωρευμένης PAR (B) για το φυτό *Ficus carica*. Το σημείο 0° αντιστοιχεί στο βορά.

IV.2.2. Λειτουργικές παράμετροι του PSII κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου

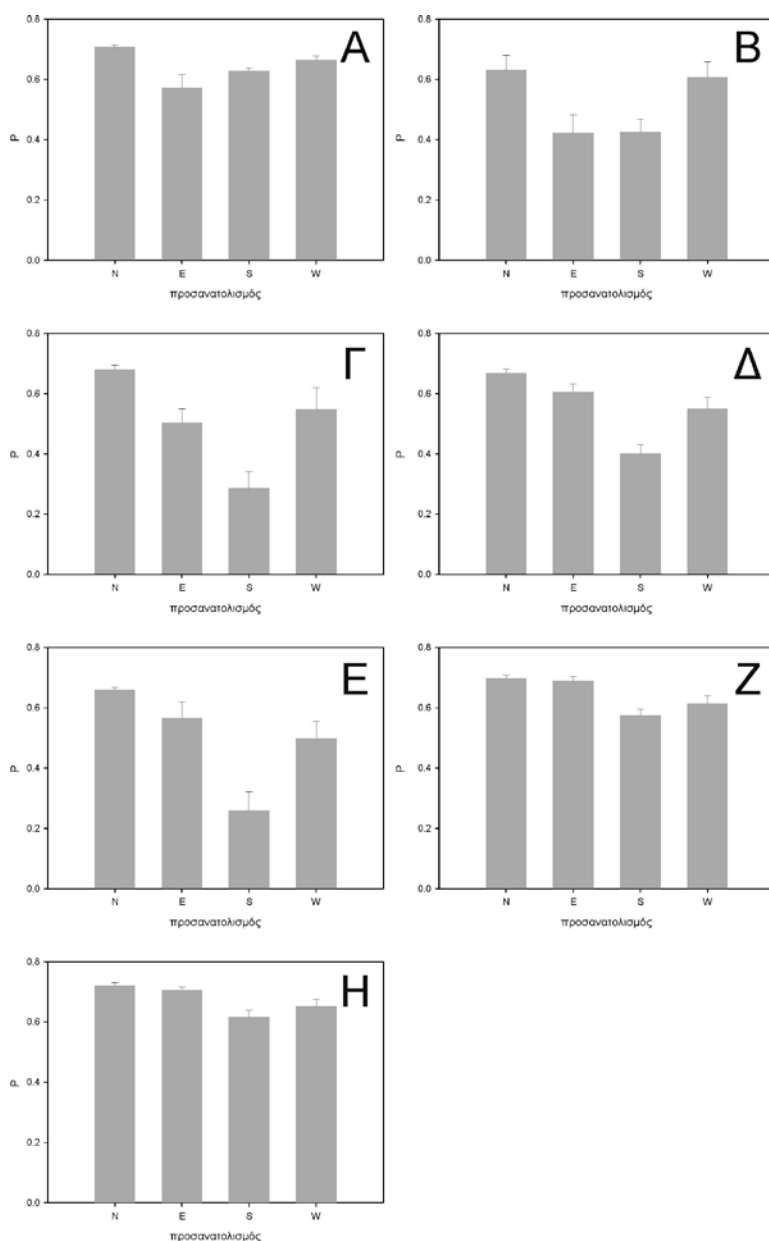
IV.2.2.1. Φωτοχημική απόδοση του PSII (παράμετρος P ή $\Delta F/F_m'$)

Σ τα πολικά διαγράμματα της εικόνας 14 παρατηρούνται μεγάλες διαφορές στις τιμές της φωτοχημικής απόδοσης σε κάθε χρονική στιγμή της φωτοπεριόδου. Τις πρώτες πρωινές ώρες, οι χαμηλότερες τιμές της παραμέτρου P παρατηρούνται στα φύλλα ανατολικής και στη συνέχεια νοτιοανατολικής έκθεσης στο ηλιακό φως (εικόνες 14Α-Γ και 15Α-Γ). Τις επόμενες χρονικές περιόδους, οι χαμηλότερες τιμές παρατηρούνται στα φύλλα της νότιας και νοτιοδυτικής έκθεσης (εικόνες 14Δ-Ε και 15Δ-Ε). Όσο πλησιάζουμε την δύση του ηλίου οι διαφορές εξομαλύνονται ενώ παρατηρούνται και οι υψηλότερες τιμές (εικόνες 14Ζ-Η και 15Ζ-Η). Η μεταβολή της παραμέτρου P ακολουθεί ηλιοτροπικό μοτίβο (εικόνα 14). Τις κατώτερες τιμές της παραμέτρου P στις περισσότερες χρονικές περιόδους έχουν τα φύλλα νότιας έκθεσης (εικόνα 15) δηλαδή τα φύλλα που δέχονται υψηλότερες τιμές ηλιακής ακτινοβολία κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου.



Εικόνα 14. Πολικά διάγραμμα της παραμέτρου P κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (A: 8³⁰, B: 10³⁰, Γ: 11³⁰, Δ: 12³⁰, E: 13³⁰, Z: 15¹⁵, Η: 16³⁰,) για το φυτό *Ficus carica*. Το σημείο 0° αντιστοιχεί στο βορά.

Αποτελέσματα

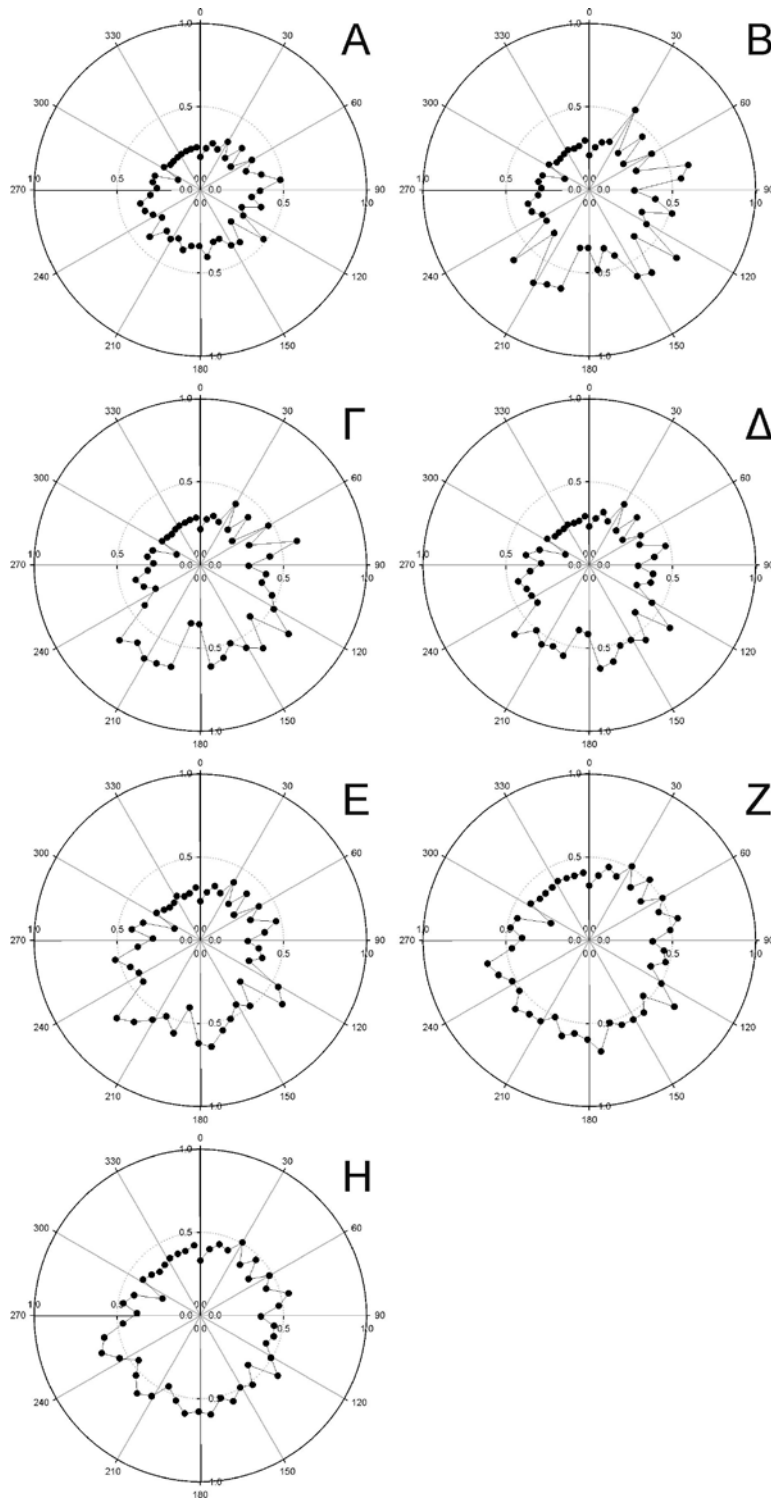


Εικόνα 15. Οι τιμές της παραμέτρου P για όλα τα φύλλα (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου) κάθε προσανατολισμού (N, E, S και W) κατά τη διάρκεια της φωτοπερίοδου (A: 8³⁰, B: 10³⁰, Γ: 11³⁰, Δ: 12³⁰, Ε: 13³⁰, Ζ: 15¹⁵, Η: 16³⁰) για το φυτό *Ficus carica*.

IV.2.2.2. Κλάσμα της ενέργειας που απορροφάται από τα φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα του PSII το οποίο αποσβένεται μέσω θερμικών απωλειών (πάρμετρος D)

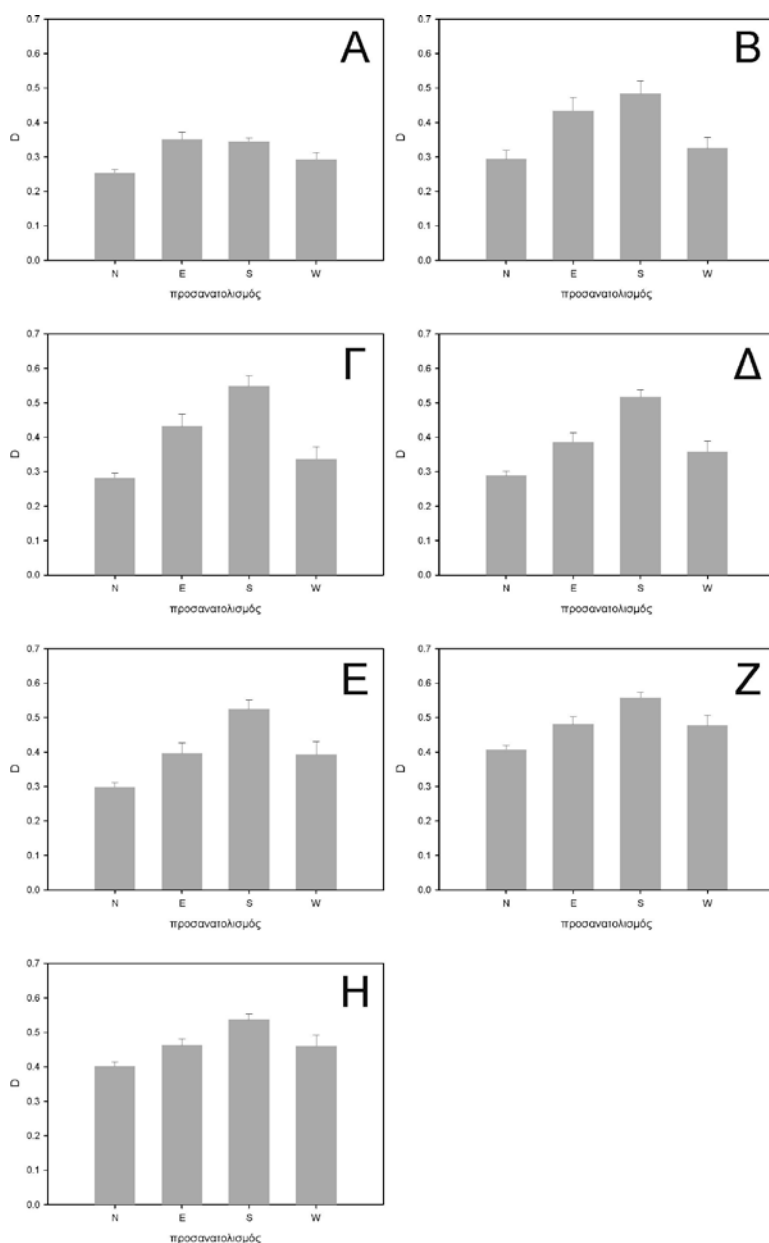
Στην εικόνα 16 παρουσιάζονται οι μεταβολές της παραμέτρου D για κάθε χρονική στιγμή της φωτοπερίοδου. Παρατηρείται ότι οι τιμές μεγιστοποιούνται κατά τις μεσημβρινές ώρες (11:30-13:30, εικόνες 16Γ-E και 17Γ-E) ενώ βάσει του προσανατολισμού των φύλλων οι μεταβολές ακολουθούν ηλιοτροπικό πρότυπο (εικόνα 16). Ωστόσο, παρατηρείται ότι οι τιμές είναι ιδιαίτερα υψηλές επίσης κατά τις πρωινές ώρες (8:30-10:30, εικόνες 16Α-B και 17Α-B) καθώς και κατά τις απογευματινές ώρες (15:15-16:30, εικόνες 16Ζ-H και 17Ζ-H) παρά το

γεγονός ότι, λόγω κλίσης του ήλιου, η ένταση του προσπίπτοντος ηλιακού φωτός είναι σημαντικά μειωμένη.



Εικόνα 16. Πολικά διάγραμμα της παραμέτρου D κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (A: 8³⁰, B: 10³⁰, Γ: 11³⁰, Δ: 12³⁰, Ε: 13³⁰, Ζ: 15¹⁵, Η: 16³⁰,) για το φυτό *Ficus carica*. Το σημείο 0° αντιστοιχεί στο βορρά.

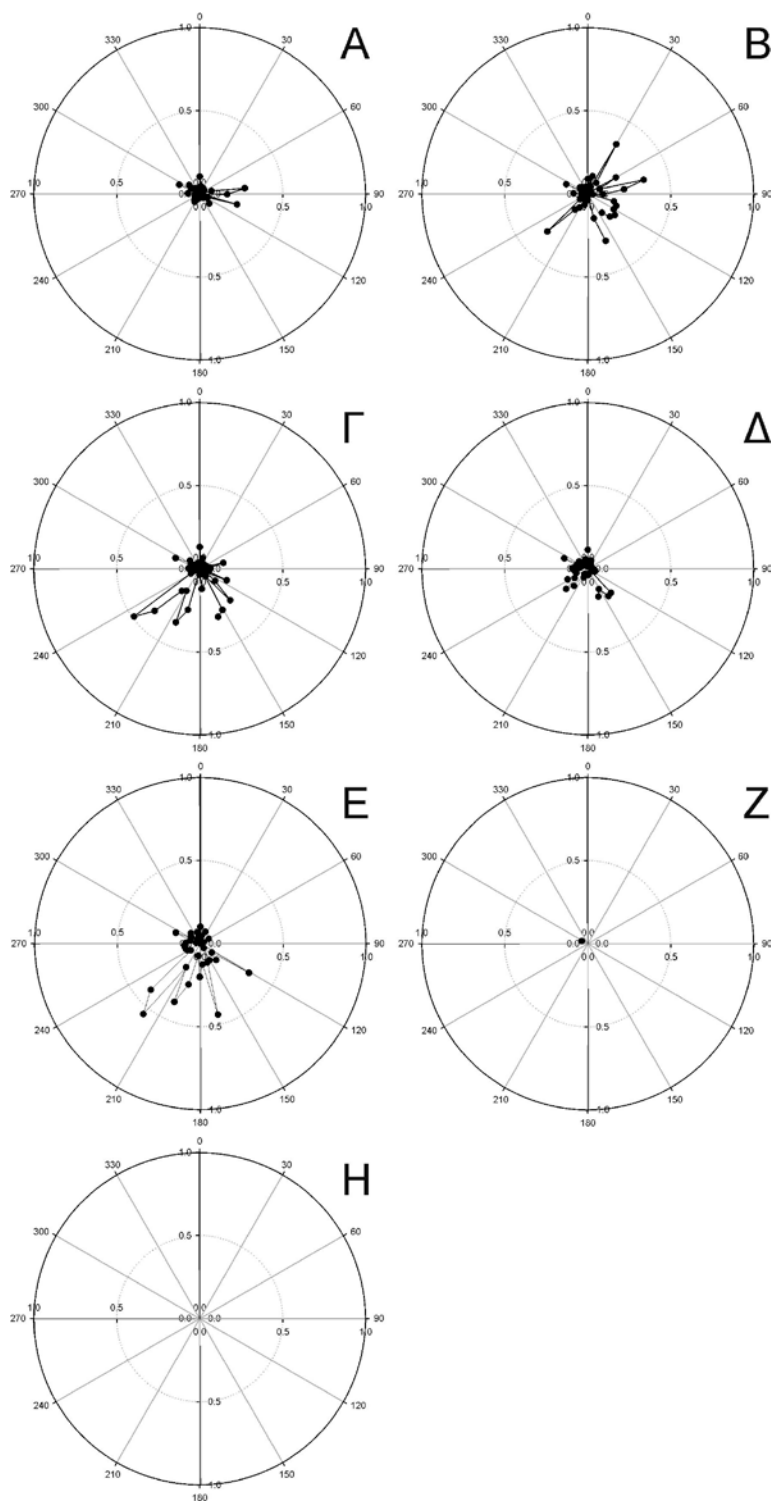
Αποτελέσματα



Εικόνα 17. Οι τιμές της παραμέτρου D για όλα τα φύλλα (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου) κάθε προσανατολισμού (N, E, S και W) κατά τη διάρκεια της φωτοπερίοδου (A: 8³⁰, B: 10³⁰, Γ: 11³⁰, Δ: 12³⁰, E: 13³⁰, Z: 15¹⁵, H: 16³⁰) για το φυτό *Ficus carica*.

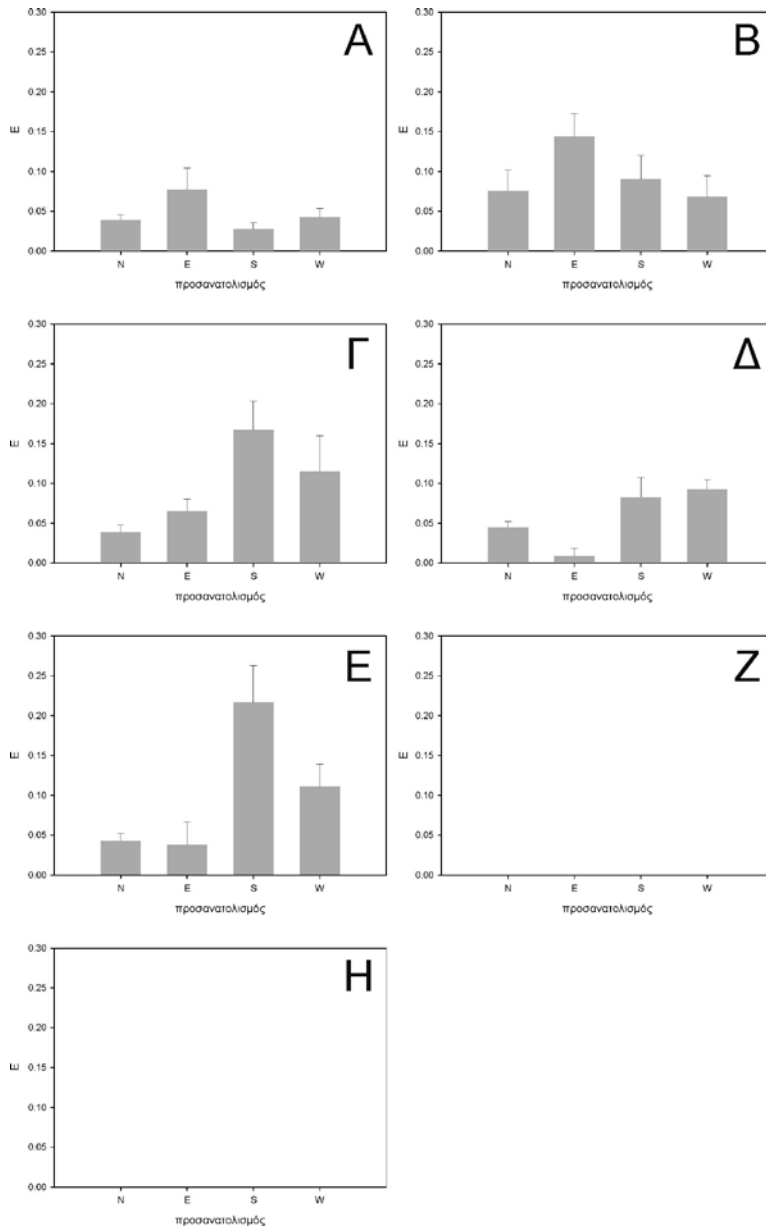
IV.2.2.3. Κλάσμα της ενέργειας το οποίοι πλεονάζει (πaráμετρος E)

Οι χρονικές στιγμές όπου καταγράφονται οι υψηλότερες τιμές της παραμέτρου είναι από το πρωί (στις 10:30, εικόνες 18B και 19B) έως πριν το μεσημέρι (στις 11:30, εικόνες 18Γ και 19Γ) καθώς και λίγο μετά το μεσημέρι (στις 13:30, εικόνες 18E και 19E). Είναι αξιοσημείωτο πως στις 12:30 (εικόνες 18Δ και 19Δ) καταγράφονται συγκριτικά χαμηλές τιμές της παραμέτρου E. Στις χρονικές περιόδους λίγο πριν την δύση του ηλίου το κλάσμα της ενέργειας που πλεονάζει μηδενίζεται.



Εικόνα 18. Πολικά διάγραμμα της παραμέτρου E κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (A: 8³⁰, B: 10³⁰, Γ: 11³⁰, Δ: 12³⁰, E: 13³⁰, Z: 15¹⁵, H: 16³⁰,) για το φυτό *Ficus carica*. Το σημείο 0° αντιστοιχεί στο βορά.

Αποτελέσματα



Εικόνα 19. Οι τιμές της παραμέτρου E για όλα τα φύλλα (\pm τυπικό σφάλμα του μέσου) κάθε προσανατολισμού (N, E, S και W) κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου (A: 8³⁰, B: 10³⁰, Γ: 11³⁰, Δ: 12³⁰, E: 13³⁰, Z: 15¹⁵, H: 16³⁰) για το φυτό *Ficus carica*.

V. Συζήτηση

Η παρούσα εργασία αποτελεί καταγραφή των βασικών παραμέτρων της φωτοσυνθετικής λειτουργίας, πριν, κατά τη διάρκεια και αμέσως μετά το τέλος της φυσικής φωτοπεριόδου, σε φύλλα όλων των προσανατολισμών. Το τελευταίο αυτό χαρακτηριστικό παρέχει πληροφορίες για τις επιμέρους διαφορές λόγω διαφορετικού προσανατολισμού των φύλλων. Τέτοιου είδους διαφορές είναι γνωστές ήδη από προηγούμενες μελέτες και σχετίζονται προφανώς με το επίπεδο εντάσεων της ηλιακής ακτινοβολίας που δέχονται τα φύλλα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής τους αλλά και κατά τη διάρκεια της παραγωγικής τους ζωής. Οι δειγματοληψίες φύλλων και μετρήσεις φωτοσύνθεσης και συναφών παραμέτρων λαμβάνουν υπόψη τους τις διαφορές στη φυσιολογία και λειτουργική ανατομία των φύλλων λόγω του διαφορετικού προσανατολισμού και για το λόγο αυτό περιορίζονται συνήθως στα φύλλα νότιας έκθεσης (για τις περιοχές του βορείου ημισφαιρίου). Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η απεικόνιση των διαφορών στη λειτουργία του φωτοσυστήματος II φύλλων όλων των προσανατολισμών κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου μέσω της τεχνικής της φθορισμομετρίας χλωροφύλλης. Η παραπάνω μελέτη πραγματοποιείται για πρώτη φορά καθώς σχετικές μελέτες στη βιβλιογραφία δεν εντοπίζονται. Η καταγραφή παραμέτρων της φωτοχημείας του φωτοσυστήματος II παρέχει πληροφορίες για τη φωτονιακή απόδοση και το επίπεδο καταπόνησης της φωτοσυνθετικής συσκευής καθώς και για το βαθμό φωτοπροστασίας των χλωροπλαστών στο επίπεδο της φωτοσυλλογής. Τα δύο είδη τα οποία εξετάστηκαν επιλέχθηκαν βάσει δύο χαρακτηριστικών: α) να διαθέτουν μορφή κόμης (δηλαδή να ανήκουν σε θαμνώδη ή δένδρως είδη) με ικανό αριθμό φύλλων ώστε να είναι δυνατή η απόκτηση ολοκληρωμένης εικόνας και β) να είναι όσο το δυνατόν περισσότερο εκτεθειμένα στο ηλιακό φως καθόλη τη διάρκεια της φωτοπεριόδου χωρίς την παρεμβολή εμποδίων όπως άλλα φυτά, κτίρια, κ.λπ.

Ένας καθιερωμένος δείκτης εκτίμησης της καταπόνησης της φωτοσυνθετικής συσκευής από κάθε είδους αβιοτικούς παράγοντες του περιβάλλοντος (όπως υδατική καταπόνηση, αλατότητα, ακραίες θερμοκρασίες, ρύποι, κ.λπ.) είναι η μέγιστη φωτοχημική ικανότητα του φωτοσυστήματος II. Η παράμετρος αυτή είναι ανεξάρτητη από την ένταση της ακτινοβολίας (μιας και μετράται σε δείγματα προσαρμοσμένα στο σκοτάδι) και μπορεί να διακρίνει μεταξύ πρόσκαιρων και μόνιμων βλαβών στη φωτοσυνθετική συσκευή μέσω σύγκρισης της τιμής προ της ανατολής του ήλιου και της τιμής μετά τη δύση του. Επιπλέον, η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε στην ανάλυση των φθορισμομετρικών δεδομένων (Demmig-Adams et al., 1996) επιτρέπει τον υπολογισμό του κλάσματος της ενέργειας που απορροφάται από τις φωτοσυνθετικές χρωστικές και αποσβένεται φωτοχημικά (P), του κλάσματος της ενέργειας που αποσβένεται μη-φωτοχημικά (D) καθώς και το κλάσμα της ενέργειας που πλεονάζει (E). Όλες οι παραπάνω παράμετροι υπολογίζονται μέσω μιας μόνο μέτρησης εντός της φωτοπεριόδου. Μέσω των τριών αυτών συμπληρωματικών παραμέτρων εξάγονται συμπεράσματα για το κλάσμα της ενέργειας που αξιοποιείται από τη φωτοσυνθετική συσκευή,

Συζήτηση

την ικανότητα φωτοπροστασίας και την τυχόν πλεονάζουσα ενέργεια η οποία μπορεί εν δυνάμει να οδηγήσει σε φωτοπαρεμπόδιση και φωτοοξειδώσεις.

Και στα δύο είδη που εξετάστηκαν εντοπίστηκαν διαφορές στη μέγιστη φωτοχημική ικανότητα μεταξύ των τεσσάρων προσανατολισμών. Συγκεκριμένα, τα φύλλα της νότιας έκθεσης παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές της παραμέτρου σε σύγκριση με τα φύλλα της βόρειας ή ανατολικής έκθεσης. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει συσσωρευμένη φωτοπαρεμπόδιση καθώς οι διαφορές αναφέρονται στη στιγμή πριν την ανατολή του ήλιου. Περαιτέρω μικρή μείωση της παραμέτρου αμέσως μετά τη φωτοπερίοδο παρατηρήθηκε στο είδος *Ailanthus altissima* αλλά όχι και στο είδος *Ficus carica*. Όσον αφορά στην παράμετρο P, το πρώτο είδος εμφανίζει τις χαμηλότερες τιμές τις πρώτες πρωινές ώρες (έως τις 10:30) καθώς και τις απογευματινές ώρες (στις 15:30) ανεξαρτήτως ώρας της ημέρας και προσανατολισμού ενώ τις μεσημβρινές ώρες οι τιμές είναι αισθητά υψηλότερες ανεξαρτήτως προσανατολισμού (συμπεριλαμβανομένων των φύλλων της νότιας έκθεσης) παρόλο που στο χρονικό αυτό διάστημα σημειώνονται οι μέγιστες εντάσεις της ηλιακής ακτινοβολίας. Στο είδος *Ficus carica*, οι χαμηλότερες τιμές παρατηρούνται στα φύλλα της νότιας και νοτιοδυτικής έκθεσης κατά τις μεσημβρινές ώρες. Όσον αφορά στην παράμετρο D, στο είδος *Ailanthus altissima* παρατηρείται ισχυρή εξάρτηση των τιμών της παραμέτρου από την ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας ή αλλιώς από την ώρα της ημέρας καθώς και μια διατηρήσιμη εμπλοκή των φωτοπροστατευτικών μηχανισμών μετά τις μεσημβρινές κυρίως ώρες παρά το γεγονός ότι, λόγω κλίσης του ήλιου, το προσπίπτον ηλιακό φως έχει μειωθεί σημαντικά σε ένταση. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και στο είδος *Ficus carica* μόνο που σε αυτή την περίπτωση οι τιμές της παραμέτρου D είναι αισθητά υψηλότερες αυτών του πρώτου είδους καθόλη τη διάρκεια της φωτοπεριόδου, από τη μεσημβρία και έως τη δύση του ήλιου. Οι διαφορές στη διατηρήσιμη εμπλοκή των φωτοπροστατευτικών μηχανισμών μεταξύ των δύο ειδών είναι τόσο έντονες ώστε, λίγο πριν τη δύση του ήλιου, στο είδος *Ailanthus altissima* η μέγιστη μέση τιμή της D (στα φύλλα της νότιας έκθεσης) είναι περίπου 0,28 ενώ στο είδος *Ficus carica* (επίσης στα φύλλα της νότιας αλλά και σε αυτά της δυτικής έκθεσης) είναι περίπου διπλάσια. Αντίστοιχα, κατά την ανατολή του ήλιου, η μέγιστη μέση τιμή για το *Ailanthus altissima* είναι περίπου 0,37 (στα φύλλα της νότιας έκθεσης) ενώ η μέγιστη μέση τιμή για το *Ficus carica* (στα φύλλα της ανατολικής έκθεσης) είναι περίπου 0,35. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονιστεί ότι στην παράμετρο αυτή συμπεριλαμβάνεται κάθε μηχανισμός μέσω του οποίου γίνεται θερμική απόσβεση της ενέργειας των φωτοσυλλεκτικών συμπλόκων. Έτσι, συμπεριλαμβάνεται και το κλάσμα της ενέργειας το οποίο για οποιοδήποτε λόγο (πέραν της λειτουργίας του κύκλου των ξανθοφυλλών) δεν φθάνει από τα φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα στο κέντρο αντίδρασης και το οποίο κατ' ελάχιστο (για υγιή φύλλα προσαρμοσμένα στο σκοτάδι) είναι περίπου 0,13 (Björkman and Demmig, 1987). Από τα παραπάνω συνάγεται ότι και στα δύο είδη οι φωτοπροστατευτικοί μηχανισμοί εμπλέκονται νωρίς το πρωί με σκοπό την έγκαιρη προστασία της φωτοσυνθετικής συσκευής αλλά στο δεύτερο είδος διατηρούνται για

μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και μέχρι τη δύση του ήλιου. Το γεγονός αυτό μπορεί να σχετίζεται με το γεγονός ότι στο είδος αυτό δεν παρατηρείται περαιτέρω μείωση της μέγιστης φωτοχημικής ικανότητας στο τέλος της φωτοπεριόδου (εξαρτώμενη από το βαθμό της συσσωρευμένης ηλιακής ακτινοβολίας) όπως στο πρώτο είδος. Η διαφορά αυτή ενδεχομένως να αντικατοπτρίζει διαφορές στη στρατηγική αντιμετώπισης δυσμενών συνθηκών του περιβάλλοντος μεταξύ των δύο ειδών. Το πρώτο είδος είναι ένα κοσμοπολίτικο δενδρώδες ζιζάνιο της εύκρατης έως υποτροπικής ζώνης το οποίο στηρίζεται στον υψηλό ρυθμό ανάπτυξης ώστε να εποικίζει νέα περιβάλλοντα ενώ το δεύτερο είδος διαθέτει ξηροθερμικές προσαρμογές χάριν στις οποίες αναπτύσσεται σε ξηρές περιοχές της Μέσης Ανατολής και της Μεσογειακής λεκάνης. Ως αποτέλεσμα της ύπαρξης ισχυρότερης φωτοπροστασίας μέσω θερμικής απόσβεσης μέρους της ενέργειας που απορροφάται από τα φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα στο είδος *Ficus carica*, σημειώνονται μικρότερες τιμές πλεονάζουσας ενέργειας συγκριτικά με το είδος *Ailanthus altissima*. Το γεγονός αυτό μπορεί να σχετιστεί με μικρότερη πιθανότητα φωτοπαρεμπόδισης στο είδος συγκριτικά με το είδος *Ailanthus altissima* υπό δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες.

Συνοψίζοντας, στην η παρούσα εργασία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά μελέτη των χαρακτηριστικών της φωτοσυνθετικής συσκευής φύλλων διαφόρων προσανατολισμών κατά τη διάρκεια της φωτοπεριόδου μέσω φθορισμομετρίας χλωροφύλλης. Η ταχύτητα με την οποία λαμβάνονται οι μετρήσεις αυτές επιτρέπει τη διενέργεια μεγάλου όγκου μετρήσεων με σκοπό την απόκτηση ολοκληρωμένης εικόνας της φωτοσυνθετικής απόδοσης ενός φυτού σε επίπεδο κόμης.

VI. Βιβλιογραφία

Baker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 89-113.

Demmig-Adams ,B., Adams, W., Barker, D. H., Logan, B. A., Bowling , D. R. and Verhoeven, A. S., 1996. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum* 98: 253-264.

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148: 350-1000.

Lincoln Teiz and Eduardo Zeiger, 2008. *Plant Physiology* 4th edition, pp. 89-106.

Logan, B., Adams, W., Demmig-Adams, B., 2007. Avoiding common pitfalls of chlorophyll fluorescence analysis under field conditions. *Functional Plant Biology*, 34: 853-859.

Maxwell, K., Johnson, G., 2000. Chlorophyll Fluorescence-A practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51: 659-668.

Medlyn, B., Barrett, D., Landsberg, J., Sands, P., Clement, R. 2003. Conversion of canopy intercepted radiation to photosynthate: review of modelling approaches for regional scales. *Functional Plant Biology*, 30: 153-169.

Parkhill, J.P, Mallet, G., Cullen, J.J., 2001. Fluorescence-based maximum quantum yield for PSII as a diagnostic of nutrient stress. *Journal of Phycology*, 37: 517-529.

Sarlikioti, V., de Visser, P.H.B., Marcelis, L.F.M. 2011. Exploring the spatial distribution of light interception and photosynthesis of canopies by means of a functional–structural plant model. *Annals of Botany*, 107: 875-883.

Schreiber, U. 2004. Pulse-amplitude-modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: an overview. In *Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*, Papageorgiou G.C. and Govindjee R., eds (Dordrecht: Springer), pp. 279–319.

Zhu, X.-G., Song, Q., Ort, D.R. 2012. Elements of a dynamic systems model of canopy photosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 15: 237-244.

Αϊβαλάκης, Γ., Καραμπουρνιώτης, Γ., Φασσέας, Κ. 2005. Γενική Βοτανική: Η Μορφολογία, η Ανατομία και η Φυσιολογία των Ανώτερων Φυτών. Αθήνα: Εκδόσεις Έμβρυο.