

### ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ ΥΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΞΗΡΑΣΙΑΣ

Α. Πατάκας

Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Σχολή Διαχείρισης Φυσικών Πόρων & Επιχειρήσεων, Εργαστήριο Φυτικής Παραγωγής,  
Γ. Σεφέρη 2, 30100 Αγρίνιο

#### Περίληψη

Η απόκριση των φυτών στην έλλειψη νερού περιλαμβάνει μια σειρά από μεταβολές σε φυσιολογικό, μορφολογικό και βιοχημικό επίπεδο, η αποτελεσματικότητα των οποίων καθορίζει την ικανότητα προσαρμογής και τελικά την επιβίωση των φυτών υπό τις συγκεκριμένες δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Σε πρώτο στάδιο το υδατικό έλλειψη στο ριζικό σύστημα των φυτών τα οποία μεταγόμενα δια του αγωγού ιστού καθορίζουν την λειτουργία της στοματικής συσκευής. Ανάμεσα στους μεταβολίτες που δρούν ως αγγελιοφόροι μηνυμάτων υδατικής καταπόνησης από την ρίζα στα φύλλα περιλαμβάνεται το ABA (αμπισισικό οξύ). Ωστόσο μεταξύ των ποικιλιών της αμπέλου παρατηρείται στοματική διαφοροποίηση όσον αφορά την συσχέτιση τιμών στοματικής αγωγιμότητας με την συγκέντρωση του ABA στον φυλλικό ιστό. Πέραν όμως του ABA και άλλοι φυσιολογικοί μηχανισμοί (φωτοαναπτυντήρι, λειτουργία των φωτοσυστημάτων) και χημικοί μεταβολίτες (αντιοξειδωτικά ένζυμα κα) αποδεικνύεται ότι αποτελούν μέρος του σύνθετου και πολύπλοκου μηχανισμού αντίληψης και προσαρμογής της αμπέλου στην ξηρασία. Η μελέτη των τελευταίων αναμένεται να συνεισφέρει στοματικά στην καλύτερη κατανόηση αλλά και ερμηνεία της διαφορετικής αντοχής γενοτύπων της αμπέλου στην ξηρασία.

**Λέξεις κλειδιά:** αντιοξειδωτικά ένζυμα, υδατική καταπόνηση, φωτοαναστολή, *Vitis vinifera*

#### Εισαγωγή

Στη Μεσογειακή ζώνη οι καλλιεργούμενες ποικιλίες της αμπέλου, συχνά και ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια του θέρους, εκτίθενται σε συνθήκες έλλειψης νερού εξαιτίας των υψηλών θερμοκρασιών, του υψηλού ρυθμού διαπνοής και της ανεπάρκειας νερού στο έδαφος. Η ένταση καθώς και η συχνότητα εμφάνισης τέτοιων συνθηκών αναμένεται να αυξηθεί τα επόμενα έτη λόγω της αύξησης της μέσης ετήσιας θερμοκρασίας –απόρροια της κλιματικής αλλαγής- - και της αναμενόμενης μείωσης των ποσοτήτων νερού που θα είναι διαθέσιμες για γεωργική χρήση.

Η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας αποτελεί μια από τις πρώτες φυσιολογικές αποκρίσεις των φυτών της αμπέλου στην έλλειψη νερού στο έδαφος (Beis and Patakas, 2010). Η λειτουργία της στοματικής συσκευής υπό συνθήκες υδατικής καταπόνησης ρυθμίζεται από μεγάλο αριθμό σημάτων τα οποία μπορεί να είναι χημικής είτε υδραυλικής φύσεως. Γενικά είναι αποδεκτό ότι η φυτορμόνη αμπισισικό οξύ (ABA) είναι ένας από τους στοματικότερους παράγοντες που συμμετέχουν στον έλεγχο της στοματικής αγωγιμότητας καθώς μειώνεται η διαθέσιμη ποσότητα νερού στο έδαφος (Wilkinson & Davies, 2002). Ωστόσο, προηγούμενες μελέτες που έγιναν σε φυτά αμπέλου που υποβλήθηκαν σε διαφορετική υδατική δίαιτα έδειξαν στοματική παραλακτικότητα των αποτελεσμάτων όσον αφορά τη σχέση της στοματικής αγωγιμότητας και της συγκέντρωσης του ABA (Beis & Patakas, 2010). Πιστεύεται ότι η φύση των εκάστοτε χρησιμοποιούμενων σημάτων συνδέεται με την γενοτυπική διαφοροποίηση των ποικιλιών της αμπέλου ως προς την αντοχή της στην ξηρασία.

Από την άλλη μεριά η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας σε συνθήκες ξηρασίας έχει επίσης σαν επακόλουθο την μείωση του μεσοκυττάριου  $\text{CO}_2$ , αυξάνοντας έτσι τον κίνδυνο πρόκλησης φωτοαναστολής. Για να προστατευθούν, τα φυτά έχουν αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς με κυριότερο την θερμική απόσβεση της περίσσειας φωτεινής ενέργειας. Η φωτοαναπτυντήρια αποτελεί επίσης ένα στοματικό μηχανισμό προστασίας της φωτοσυνθετικής μη-

χανής υπό συνθήκες έλλειψης νερού. Έχοντας σαν δεδομένο ότι η περίσσεια φωτεινής ενέργειας έχει ως επακόλουθο την παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS), θα αναμένετο η αντοχή των διαφορετικών γενοτύπων στην ξηρασία να συνδέεται με τη ικανότητα ενεργοποίησης αντιοξειδωτικών ενζύμων.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να διερευνηθούν οι διαφορές ως προς τους φωτοπροστατευτικούς μηχανισμούς μεταξύ δύο ποικιλιών της αμπέλου διαφοροποιημένης αντοχής στην ξηρασία και να διαπιστωθεί αν και κατά πόσον οι μηχανισμοί αυτοί σχετίζονται με την γενοτυπική διαφοροποίηση των ποικιλιών ως προς την προσαρμογή τους στην ξηρασία.

#### Υλικά και Μέθοδοι

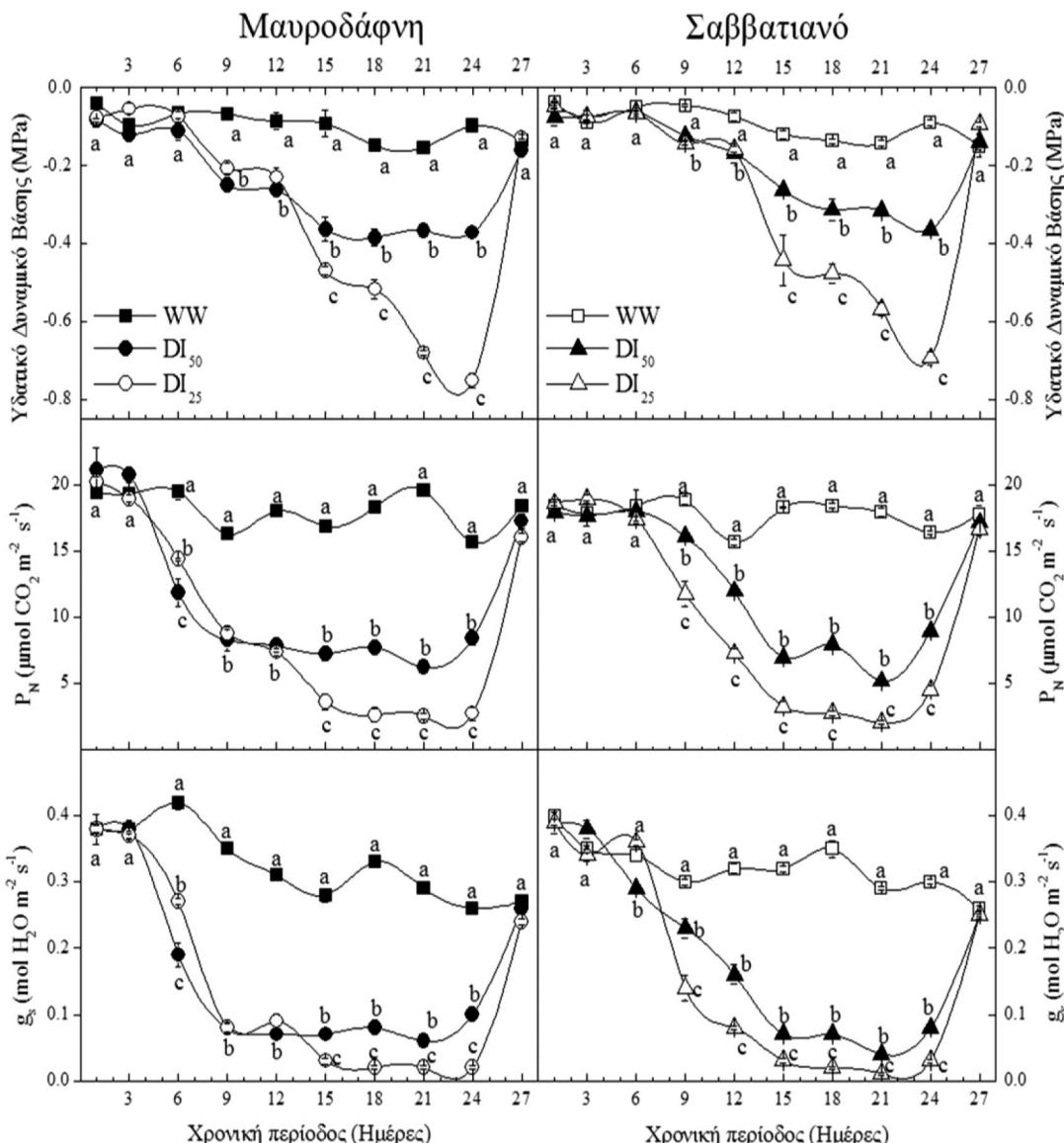
Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στον πειραματικό αγρό του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων στο Αγρίνιο. Χρησιμοποιήθηκαν αυτόριζα φυτά αμπέλου (*Vitis vinifera* L.), των ποικιλιών Μαυροδάφνη και Σαββατιανό φυτεμένα σε γλάστρες χωρητικότητας 25 L. οι οποίες περιείχαν μίγμα εδάφους άμμου-τύρφης και βερμικουλίτη σε αναλογία 3/1/3. Εφαρμόστηκαν οι κάτωθι χειρισμοί υδατικής δίαιτας: άρδευση στην υδατοϊκανότητα (Μάρτυρας, WW), άρδευση με την μισή ποσότητα από αυτήν του μάρτυρα (DI50), και άρδευση με το 25% της ποσότητας νερού του μάρτυρα (DI25). Σε όλους τους χειρισμούς προσδιορίστηκαν το υδατικό δυναμικό βάσης στα φύλλα (ΨPD) με την χρήση θαλάμου πίεσης, η μέγιστη στοματική αγωγιμότητα (gs) και ο μέγιστος φωτοσυνθετικός ρυθμός (P<sub>N</sub>) με την χρήση ανοικτού συτήματος ανταλλαγής αερίων. Οι φθορομετρικές παράμετροι μετρήθηκαν με την χρήση φθορομέτρου (Beis and Patakas, 2012). Η φωτοχημική απόδοση του PSII (ΦPSII) των φύλλων υπολογίστηκε το μεσημέρι σύμφωνα με την εξίσωση  $\Phi_{PSII} = (\text{Fm}' - \text{Fs})/\text{Fm}'$  (Genty et al., 1989). Ο ρυθμός μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR) υπολογίστηκε σύμφωνα με τους Kral and Edwards, (1992) από την εξίσωση:  $ETR = \Phi_{PSII} \times PPFD \times 0.5 \times 0.84$ , όπου PPFD είναι η φωτοσυνθετικά ενεργή ακτινοβολία που προστίπτει στο φύλλο, και

0.84 είναι ο συντελεστής απορρόφησης του φύλλου για τα C3 φυτά (Bjorkman and Demmig 1987). Η μη-φωτοχημική θερμική απόσβεση (NPQ) υπολογίστηκε σύμφωνα με την εξίσωση:  $NPQ = (Fm/Fm') - 1$ . Ο ρυθμός φωτοαναπονής υπολογίστηκε με τη μέθοδο των Valentini et al. (1995). Οι μετρήσεις περιεκτικότητας σε ABA, υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και η ενεργότητα των ενζύμων καταλάσης (CAT), της υπεροξειδάσης του γλουταθείου (GPX), της ασκορβικής υπεροξειδάσης (APX) και της υπεροξειδικής δισμούτασης (SOD), πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με την μεθοδολογία που αναλυτικά περιγράφεται από τους Beis & Patakas, 2010. Ο προσδιορισμός της μαλονοδιαλεύδης (MDA) έγινε με τη μέθοδο του θειοβαριτουρικού οξεούς (MDA) έγινε με τη μέθοδο του θειοβαριτουρικού οξεούς

(TBA) (Heath & Packer, 1968).

## Αποτελέσματα–Συζήτηση

Το υδατικό δυναμικό βάσης του φύλλου ( $\Psi_{PD}$ ), μειώθηκε στα φυτά υπό ελλειμματική άρδευση και στις δύο ποικιλίες καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου (Σχήμα 1). Ωστόσο τα φυτά της Μαυροδάφνης, παρουσίασαν γρηγορότερη μείωση στις τιμές του  $\Psi_{PD}$  σε σύγκριση με τα φυτά του Σαββατιανού, ειδικότερα στο χειρισμό όπου εφαρμόστηκε λιγότερο νερό άρδευσης ( $DI_{25}$ ). Επι περαιτέρω, τα φυτά της Μαυροδάφνης εμφάνισαν γρηγορότερη και πιο απότομη μείωση των τιμών της



**Σχήμα 1.** Μεταβολές του υδατικού δυναμικού βάσης του φύλλου ( $\Psi_{PD}$ ), του φωτοσυνθετικού ρυθμού ( $P_N$ ) και της στοματικής αγωγιμότητας ( $g_s$ ) σε πλήρως άρδευσόμενα φυτά (WW) και σε φυτά που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειμματικής άρδευσης ( $DI_{50}$  και  $DI_{25}$ ) στις δύο ποικιλίες αμπέλου, κατά τη διάρκεια 24 ημερών περιόδου υδατικής έλλειψης. Διαφορετικά γράμματα δείχνουν σταθμαντικές διαφορές σε επίπεδο σταθμαντικότητας  $P<0.05$ .

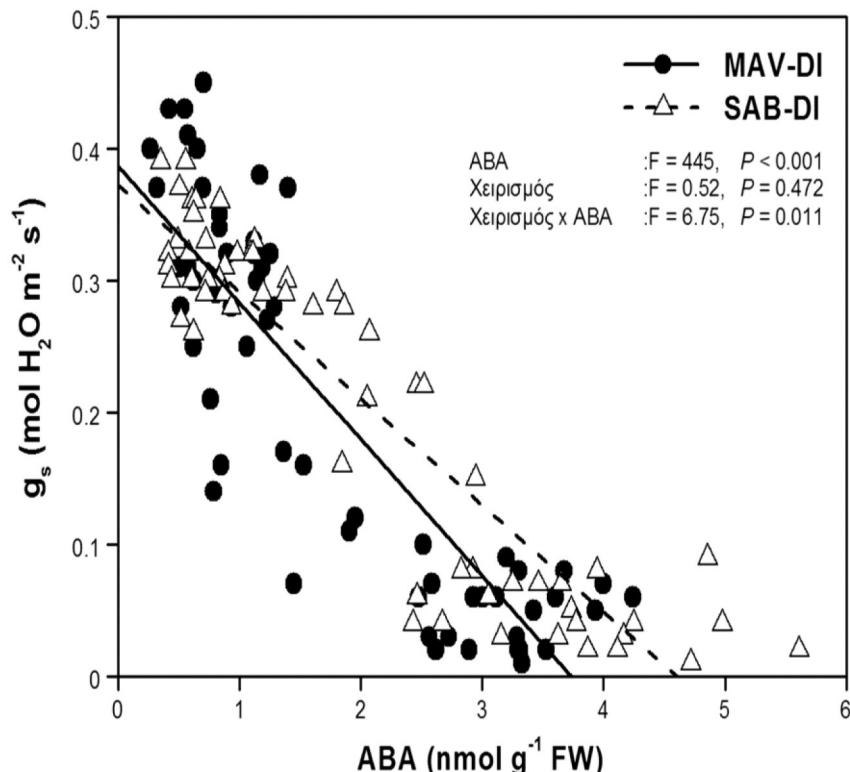
στοματικής αγωγιμότητας  $g_s$  και της  $P_N$  σε σχέση με τα αντίστοιχα του Σαββατιανού. Η ταχύτερη μείωση της στοματικής αγωγιμότητας στην ποικιλία Μαυροδάφνη θα μπορούσε να οφείλεται στη γρηγορότερη αύξηση της περιεκτικότητας των φύλλων σε ABA στην ποικιλία αυτή. Αντίθετα όμως με ότι προφανώς θα αναμένονταν, η συγ-

κέντρωση του ABA στην ποικιλία Σαββατιανό ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με την αντίστοιχη της ποικιλίας Μαυροδάφνης, ενώ δεν προέκυψε σημαντική διαφοροποίηση όσον αφορά την συγκέντρωση του ABA στον ανερχόμενο χυμό μεταξύ των δύο ποικιλιών (Πίνακας 1).

**Πίνακας 1.** Συγκέντρωση του ABA στον ανερχόμενο χυμό και στο φύλλο στις δύο ποικιλίες υπό συνθήκες επάρκειας νερού και ξηρασίας. Οι διαφορές μεταξύ των χειρισμών οι οποίες είναι στατιστικώς σημαντικές σε  $P \leq 0.05$  υποδεικνύεται με διαφορετικά γράμματα.

Χειρισμοί	Ανερχόμενος χυμός (nM)		ABA φύλλου (nM) <sup>*</sup>	
	Μαυροδάφνη	Σαββατιανό	Μαυροδάφνη	Σαββατιανό
Καλώς αρδευόμενα	256 ± 17.57 <sup>a</sup>	226 ± 11.77 <sup>a</sup>	665 ± 87.28 <sup>b</sup>	991 ± 37.85 <sup>c</sup>
Μη αρδευόμενα	1097 ± 40.54 <sup>c</sup>	1030 ± 48.79 <sup>c</sup>	4447 ± 262.7 <sup>d</sup>	5889 ± 128.8 <sup>e</sup>

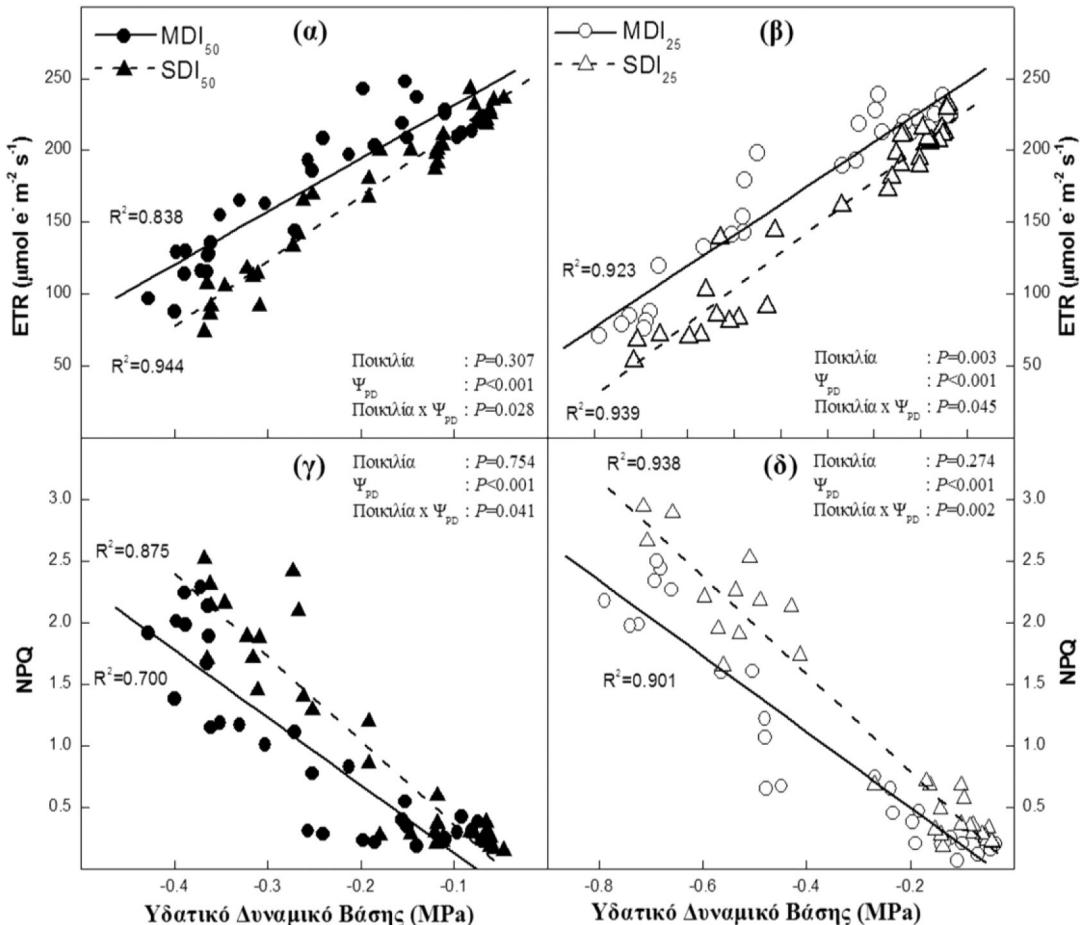
\* Στο εκχύλισμα του του φύλλου, η συγκέντρωση εκφράζεται σε μονάδες  $\text{nmol ml}^{-1}$  νερού που υπάρχει στο φύλλο. Ο λόγος χλωρό βάρος: ξηρό βάρος για την Μαυροδάφνη και το Σαββατιανό ήταν περίπου 3.4:1 και 3.2:1 αντίστοιχα.



**Σχήμα 2.** Συμμεταβολή της συγκέντρωσης του ABA στο φύλλο και της στοματικής αγωγιμότητας ( $g_s$ ) στις δύο ποικιλίες αμπέλου που υποβλήθηκαν σε συνθήκες ελλειψματικής άρδευσης.

Τα δεδομένα αυτά εισηγούνται διαφορετική ευαισθησία της στοματικής συσκευής στην συγκέντρωση ABA μεταξύ των δύο ποικιλιών. Πράγματι η ποικιλία Μαυροδάφνη εμφανίσει υψηλότερη ευαισθησία της στοματικής συσκευής στη συγκέντρωση του ABA (Σχήμα 2). Η διαφοροποιημένη αυτή συμπεριφορά των δύο ποικιλιών μπορεί να αποδοθεί σε διαφορές τιμής του αποτλαστικού pH (δεδομένα δεν παρουσιάζονται) η τιμή του οποίου, ρυθμίζοντας την διαμερισματοποίηση του ABA στον φυλλικό ιστό, μεταβάλλει την ενεργότητά του.

Από την άλλη μεριά η μείωση της στοματικής αγωγιμότητας ενέχει τον κίνδυνο εμφάνισης φωτοναστολής. Η σημαντικά υψηλότερη τιμές θερμικής απόσβεσης στην ποικιλία Σαββατιανό (Σχήμα 3) συνηγορούν υπέρ του σημαντικού του ρόλου του μηχανισμού αυτού φωτοπροστασίας στην ποικιλία αυτή. Αντίθετα στην ποικιλία Μαυροδάφνη ο συγκριτικά μικρότερος ρυθμός αύξησης της θερμικής απόσβεσης εισηγείται την ύπαρξη ενός άλλου μηχανισμού φωτοπροστασίας, πιθανώς μέσω αύξησης της φωτοαναπνοής.

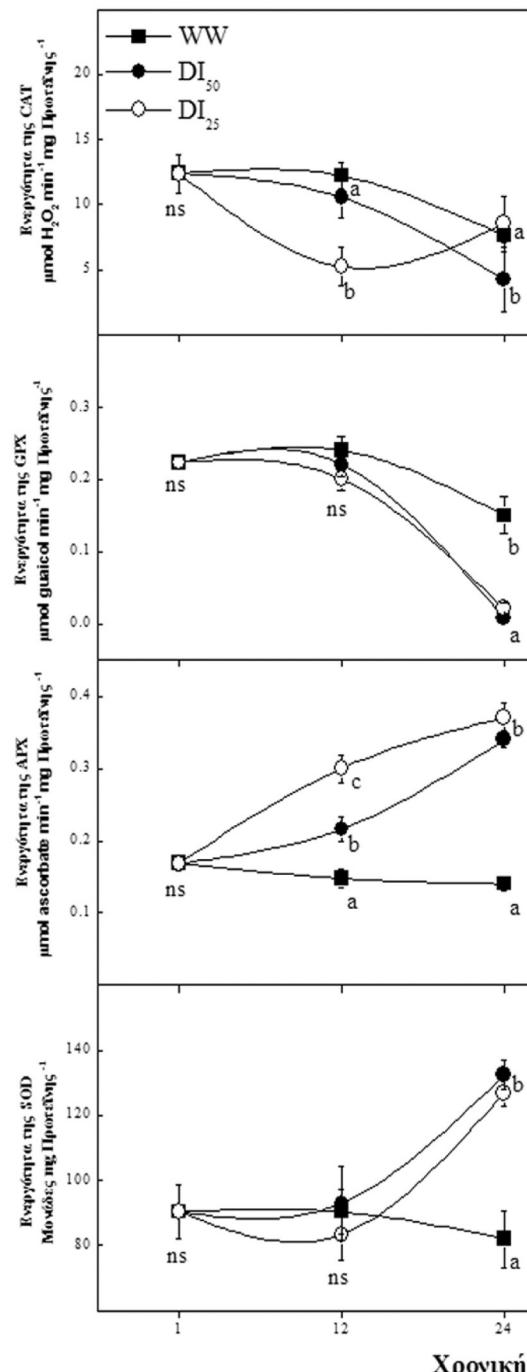


**Σχήμα 3.** Συμμεταβολή μεταξύ (α,β) του ρυθμού μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETR) και του υδατικού δυναμικού βάσης του φύλου ( $\Psi_{PD}$ ) και (γ,δ) της φωτονικής συγκομιδής του PSII (Φ<sub>PSII</sub>) και του  $\Psi_{PD}$  στις δύο ποικιλίες αμπέλου, Μαυροδάφνη (M) και Σαββατιανό (S) στους χειρισμούς Dl<sub>50</sub> και Dl<sub>25</sub>.

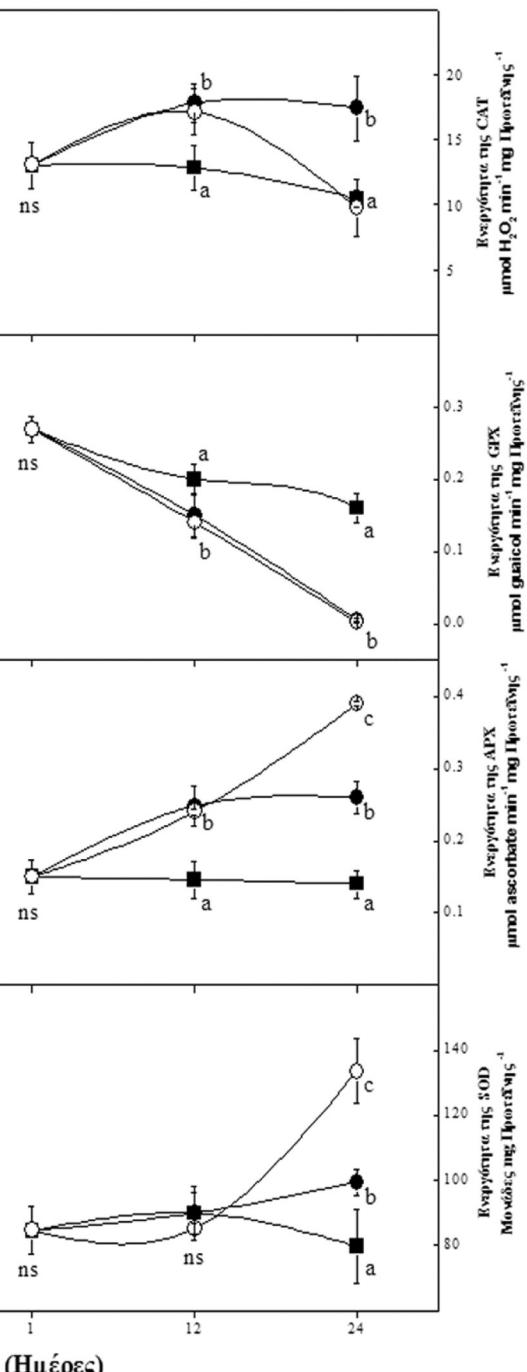
Όσον αφορά τις ενεργότητες των αντιοξειδωτικών ενζύμων, από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η έλλειψη νερού επάγει σημαντική αύξηση της ενεργότητας όλων σχεδόν αντιοξειδωτικών ενζύμων και στις δύο μελετώμενες ποικιλίες (Σχήμα 4). Εξαίρεση αποτελεί η υπεροξειδάση του γλουταθείου (GPX), η ενεργότητα του οποίου μειώθηκε υπό συνθήκες ξηρασίας, αποδεικνύοντας μει-

ωμένο ρόλο του συγκεκριμένου ενζύμου στην αντιοξειδωτική προστασία των φυτών της αμπέλου. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης και η διαφοροποιημένη μεταβολή της ενεργότητας της καταλάσης στις δύο ποικιλίες, γεγονός που πιθανόν σχετίζεται με την διαφορετική προσαρμοστική αποτελεσματικότητα των ποικιλιών αυτών στην ξηρασία (Beis & Patakas 2012).

## Μαυροδάφνη



## Σαββατιανό



**Σχήμα 4.** Επίδραση των χειρισμών υδατικής δίαιτας (WW, DI<sub>50</sub>, DI<sub>25</sub>) στην ενεργότητα της καταλάσης (CAT), της υπεροξειδάσης του γλουταθείου (GPX), της ασκορβικής υπεροξειδάσης (APX) και της υπεροξειδικής δισμούτασης (SOD) στις δύο ποικιλίες αμπέλου. Διαφορετικά γράμματα δείχνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των χειρισμών σε επίπεδο σημαντικότητας  $P \leq 0.05$ . ns, μη στατιστικά σημαντικό.

## Βιβλιογραφία

- Beis, A. and Patakas, A. 2010. Differences in stomatal responses and root:shoot signalling between two grapevine varieties subjected to drought. *Funct. Plant Biol.* 37:1-8.
- Beis, A. and Patakas, A. 2012. Relative contribution of photoprotection and anti-oxidative mechanisms to differential drought adaptation ability in grapevines. *Environ. Land Exp. Bot.* 78: 173–183.
- Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation is isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Krall, J.P. and Edwards, G.E. 1992. Realationship between photosystem II activity and CO<sub>2</sub> fixation in leaves. *Physiol. Plant.* 86: 180-187.
- Wilkinson, S. and Davies, W.J. 2002. ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell & Environ.* 25: 195-210.
- Valentini, R., Epron, D., de Angelis, P., Matteucci, G., Dreyer, E. 1995. In situ estimation of net CO<sub>2</sub> assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Quercus cerris* L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant, Cell & Environ.* 18: 631-640.