

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ

Εργαστηριακές Ασκήσεις
Φυσιολογίας Φυτών

2^{ου} Εξαμήνου ΑΦΠ&ΓΜ και 6^{ου} εξαμήνου ΑΟΑ

2020

Περιεχόμενα

| | |
|--|-------------------------------------|
| Περιεχόμενα | 3 |
| Κανονισμός Εργαστηρίου | Error! Bookmark not defined. |
| Οδηγίες Σύνταξης της Εργαστηριακής Έκθεσης.... | Error! Bookmark not defined. |
| 1 ^η Άσκηση | 6 |
| Παραγωγή αμύλου κατά τη φωτοσύνθεση..... | 6 |
| 2 ^η Άσκηση | 9 |
| Μελέτη της υδρόλυσης του αμύλου από τα υδρολυτικά του ένζυμα in vitro..... | 9 |
| 3 ^η Άσκηση | 16 |
| Η υδατική κατάσταση του φυτικού κυττάρου: σπαργή - πλασμόλυση..... | 16 |
| 4 ^η Άσκηση | 22 |
| Προσδιορισμός της υδατικής κατάστασης του φυτικού ιστού: Το δυναμικό του νερού | 22 |
| 5 ^η Άσκηση | 25 |
| Διαπνοή και λειτουργία του βλαστού | 25 |
| 6 ^η Άσκηση | 28 |
| Η βλαστικότητα των σπερμάτων και οι μετρήσεις της. Η σκοτομορφογένεση και η φωτομορφογένεση. | 28 |

1^η Άσκηση

Παραγωγή αμύλου κατά την φωτοσύνθεση

Αντικείμενο της άσκησης

Στην άσκηση αυτή θα χρησιμοποιηθεί η ιδιότητα του αμύλου να αντιδρά με το ιώδιο παράγοντας ένα έγχρωμο σύμπλοκο, για να διαπιστωθεί η σύνθεσή του στα φύλλα κατά τη φωτοσύνθεση και η εξάρτησή της από την παρουσία φωτός και χλωροφύλλης.

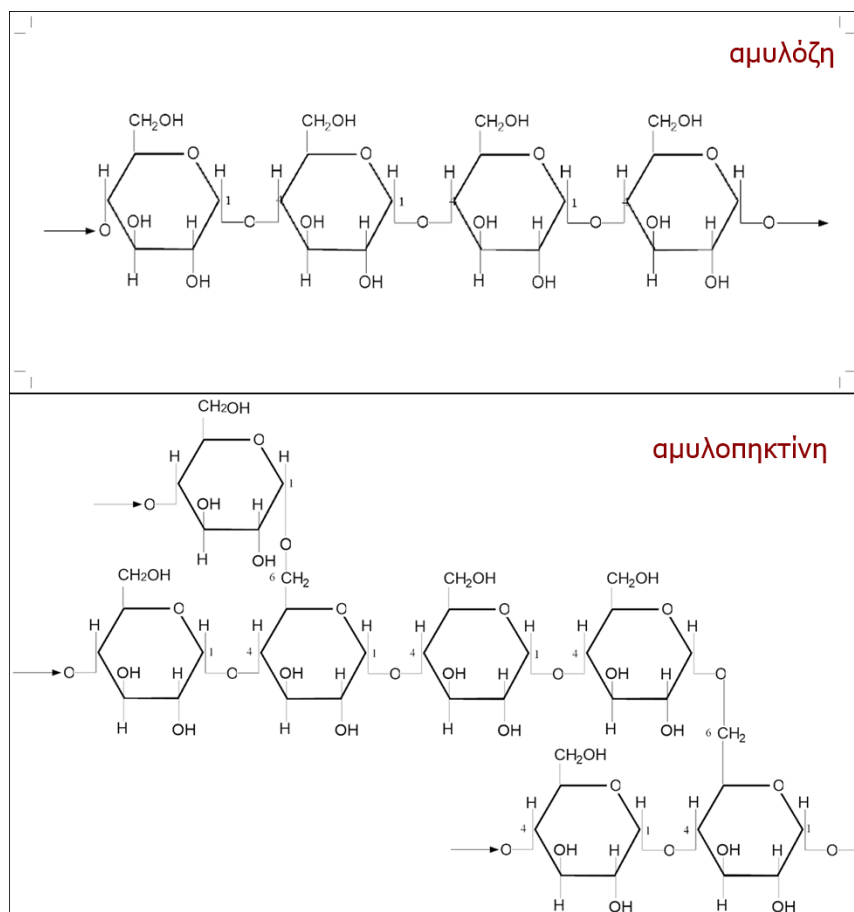
Προαπαιτούμενη γνώση

Δομή και λειτουργία των χλωροπλαστών – φωτοσύνθεση – συσσώρευση και καταμερισμός των φωτοσυνθετικών προϊόντων.

Εισαγωγή

Το NADPH₂ και το ATP που παράγονται κατά τις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης χρησιμοποιούνται για την αναγωγή του CO₂ μέχρι το επίπεδο του υδατάνθρακα.

Αν και υπάρχουν ορισμένες διαφορές μεταξύ C₃ και C₄ φυτών στη δέσμευση του CO₂, το τελικό αποτέλεσμα είναι η σύνθεση γλυκόζης. Προκειμένου να μεταφερθεί μέσω του ηθμού στα υπόλοιπα ετερότροφα όργανα, η γλυκόζη μετατρέπεται σε σακχαρόζη. Προκειμένου να αποθηκευτεί, βραχυπρόθεσμα ή μακροπρόθεσμα η γλυκόζη πολυμερίζεται παράγοντας άμυλο. Το άμυλο μπορεί να υδρολυθεί, όταν παραστεί ανάγκη, οπότε παράγεται εκ νέου γλυκόζη. Το άμυλο αποτελείται από δύο πολυσακχαρίτες. Την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη, που με υδρόλυση δίνουν α-D-γλυκόζη (**Σχήμα 1.1**).



Σχήμα 1.1 Χημική δομή της αμυλόζης και της αμυλοπηκτίνης

Η αμυλόζη είναι ευθεία αλυσίδα με α (1 → 4) γλυκοσιδικούς δεσμούς, ενώ η αμυλοπηκτίνη έχει εκτός από τους α (1 → 4) δεσμούς και α (1 → 6) και είναι ένας διακλαδιζόμενος πολυσακχαρίτης. Το άμυλο ανιχνεύεται από την αντίδραση του με το ιώδιο και δίνει ένα χρώμα μαύρο-μπλε, που οφείλεται στην αμυλόζη, και κόκκινο-ιώδες, που οφείλεται στην αμυλοπηκτίνη.

Πειραματικό μέρος

Για την ανίχνευση του αμύλου θα χρησιμοποιηθούν, φύλλα από φυτά που βρίσκονται στο φώς, φύλλα από το ίδιο είδος φυτού που έχει παραμείνει στο σκοτάδι για 2 ημέρες και φύλλα από φυτά που στερούνται χλωροφύλλης.

Υλικά και εξοπλισμός που απαιτούνται

φύλλα από φυτά που φωτίζονται και φυτά που έχουν παραμείνει στο σκοτάδι,
 φύλλα που στερούνται χλωροφύλλης,
 απιονισμένο νερό,
 αιθανόλη 95%,

διάλυμα J₂ –KJ,
ποτήρια ζέσεως,
θερμαντική εστία,
λαβίδα,
τροβλία.

Πειραματική διαδικασία

Το φωτιζόμενο φύλλο έχει ήδη παραμείνει σε έντονο φως επί μερικές ώρες.
Εξάγουμε δίσκους των φύλλων που θα μελετήσουμε με τη βοήθεια φελλοτροπιητήρα
Εμβαπτίζουμε τον δίσκο για 1 min σε ζεστό νερό (~ 90°C) .
Στη συνέχεια εμβαπτίζουμε τον δίσκο για μερικά λεπτά σε ζέουσα αλκοόλη 95%,
έως ότου όλη η χλωροφύλλη διαλυθεί στην αλκοόλη.
Ξεπλένουμε τον δίσκο για μερικά δευτερόλεπτα σε ζεστό νερό.
Βυθίζουμε τον δίσκο για μερικά λεπτά σε διάλυμα J₂ –KJ.
Επαναλαμβάνουμε την ίδια διαδικασία με τα υπόλοιπα δείγματα.

Παρουσίαση-σχολιασμός

Σημειώστε τα δείγματα όπου ανιχνεύτηκε άμυλο.
Εξηγείστε τις παρατηρούμενες διαφορές.
Εξηγείστε συνοπτικά ποιος είναι ο ρόλος του φωτός και της χλωροφύλλης στη σύνθεση του αμύλου.
Γιατί τοποθετούμε τα φύλλα σε έντονο φως 3-4 ώρες πριν την άσκηση;
Γιατί τα εμβαπτίζουμε σε ζεστό νερό;
Τι παρατηρήσατε στα φύλλα που είχαν μείνει στο σκοτάδι για 2 ημέρες; Εξηγείστε την παρατήρηση αυτή.

2^η Άσκηση

Μελέτη της υδρόλυσης του αμύλου από τα υδρολυτικά του ένζυμα *in vitro*

Σκοπός της άσκησης

Να ανιχνεύσουμε τη δράση των υδρολυτικών ενζύμων του αμύλου με τη βοήθεια χρωματικής αντίδρασης που βασίζεται στη δράση του ιωδίου με τα συστατικά του αμύλου, όσο και με τα προϊόντα της υδρόλυσης του αμύλου από τα σχετικά ένζυμα.

Εισαγωγή

Το άμυλο

Το άμυλο είναι αποθησαυριστική ένωση των φυτών και συναντάται σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε αποθηκευτικούς ιστούς όργανων (όπως οι κοτύλες και το ενδοσπέρμιο των σπερμάτων, οι κονδύλοι και τα ριζώματα), στο ξυλώδες και το φλοιώδες παρέγχυμα καθώς και στην εντεριώνη στο βλαστό. Τα μεγαλομόρια του αμύλου βιοσυντίθενται στα ίδια τα αποθησαυριστικά όργανα (από δομικές μονάδες σακχάρων που συνήθως προέρχονται από τα φύλλα) και συνήθως συναθροίζονται σε έγκλειστα που ονομάζονται **αμυλόκοκκοι**. Η ενέργεια και τα δομικά συστατικά του αμύλου είναι διαθέσιμα μόνο μετά από την διάσπαση των μόριων του αμύλου με ειδικά υδρολυτικά ένζυμα, τις αμυλάσες. Στο φυτό τα υδρολυτικά ένζυμα δρουν στα κύτταρα που είναι πλούσια σε άμυλο.

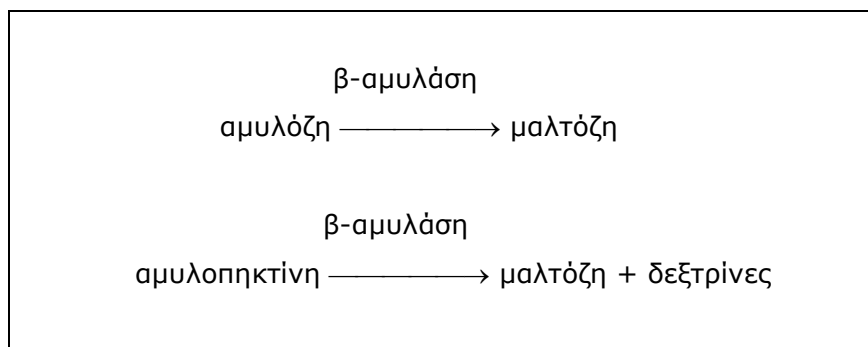
Τα συστατικά του αμύλου

Το άμυλο αποτελείται από την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη, δύο συστατικά τα οποία είναι πολυμερή της α-D-γλυκόζης. Η **αμυλόζη** είναι γραμμικό πολυμερές, οι δομικές μονάδες του οποίου ενώνονται με γλυκοζιδικούς δεσμούς τύπου 1-4 και σχηματίζουν μακρομόριο χωρίς διακλαδώσεις με βαθμό πολυμερισμού 100-2000. Η **αμυλοπηκτίνη** είναι διακλαδισμένο πολυμερές. Σχηματίζεται από γραμμικά πολυμερή με μικρό βαθμό πολυμερισμού (μέχρι 20), τα οποία αποτελούνται από μονάδες α-D-γλυκόζης ενωμένες με γλυκοζιδικούς δεσμούς τύπου 1-4. Τα μικρά αυτά γραμμικά πολυμερή ενώνονται με γλυκοζιδικούς δεσμούς τύπου 1-6 και έτσι το μόριο της αμυλοπηκτίνης αποτελείται από διακλαδισμένες αλυσίδες. Ο μεγαλύτερος αριθμός γλυκοζιδικών δεσμών είναι του τύπου 1-4 και μόνο ένας περιορισμένος αριθμός είναι του τύπου 1-6, στα σημεία των διακλαδώσεων και μόνο. Το μοριακό βάρος της αμυλοπηκτίνης κυμαίνεται από 50.000-1.000.000 με βαθμό πολυμερισμού 250-10.000.

Οι αμυλάσες

Τα συστατικά του αμύλου υδρολύονται από ειδικά ένζυμα, τις **αμυλάσες**. Τα ένζυμα αυτά κατατάσσονται στις υδρολάσες. Οι αμυλάσες διακρίνονται ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους στους δεσμούς των συστατικών του αμύλου σε α-αμυλάση, β-αμυλάση και ισοαμυλάση ή R-ένζυμο.

Η **β-αμυλάση** διασπά τους 1-4,α-γλυκοζιδικούς δεσμούς των πολυσακχαριτών της α-D-γλυκόζης προοδευτικά από το μη-αναγωγικό άκρο των αλυσίδων, με την απόσπαση διαδοχικών μορίων του δισακχαρίτη μαλτόζη μέχρι την πλήρη αποδόμηση των αλυσίδων. Η αμυλόζη με την δράση της β-αμυλάσης υδρολύεται σε ποσοστό 70% λόγω της παρουσίας αραιών διακλαδώσεων στο μόριό της. Η αμυλοπηκτίνη υδρολύεται μερικώς με την προοδευτική απόσπαση μορίων μαλτόζης από τις πλάγιες αλυσίδες μέχρι τις διακλαδώσεις. Στα σημεία διακλάδωσης υπάρχουν γλυκοζιδικοί δεσμοί τύπου 1-6, τους οποίους η β-αμυλάση αδυνατεί να διασπάσει. Κατά συνέπεια, τα προϊόντα που λαμβάνονται από τη δράση της β-αμυλάσης πάνω στα συστατικά του αμύλου είναι μαλτόζη και δεξτρίνες (Σχήμα 1).



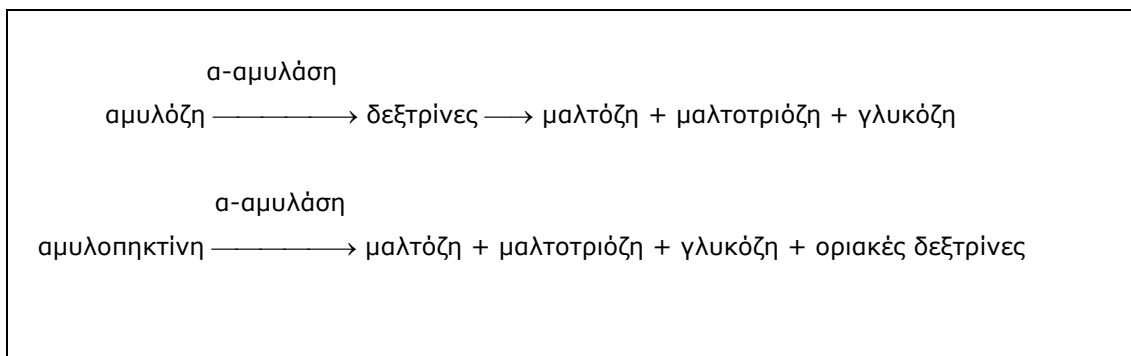
Σχήμα 2.1

Τα προϊόντα που λαμβάνονται από τη δράση της β-αμυλάσης πάνω στα συστατικά του αμύλου.

Η δραστηριότητα της β-αμυλάσης φαίνεται από το ρυθμό της μεταβολής του σκούρου-μπλε χρώματος που δίνει η αμυλόζη με διάλυμα ιωδίου. Το χρώμα εξασθενεί αργά (σε αντίθεση προς την α-αμυλάση) γιατί το ένζυμο αποδομεί προοδευτικά το μόριο της αμυλόζης.

Η **α-αμυλάση** διασπά τους γλυκοζιδικούς δεσμούς πολυμερών της α-D-γλυκόζης σε θέσεις 1-4 όπως και η β-αμυλάση, με τη διαφορά ότι δρα τυχαία. Με τη δράση της α-αμυλάσης η αμυλόζη διασπάται γρήγορα σε μόρια μικροτέρου μεγέθους, τις δεξτρίνες. Από την παραπέρα δράση του ενζύμου πάνω στα μόρια αυτά λαμβάνονται ως προϊόντα κυρίως η μαλτόζη και η μαλτοτριόζη και δευτερευόντως

η γλυκόζη. Το ένζυμο αυτό δεν δρα πάνω σε δεσμούς 1-6. Κατά συνέπεια η α-αμυλάση με την αμυλοπηκτίνη παράγει οριακές δεξτρίνες και τα προϊόντα αποδόμησης της αμυλόζης. Οι οριακές δεξτρίνες είναι μικρά πολυμερή, τα οποία διαθέτουν τουλάχιστον ένα γλυκοζιδικό δεσμό τύπου 1-6.



Σχήμα 2.2

Τα προϊόντα που λαμβάνονται από τη δράση της α-αμυλάσης πάνω στα συστατικά του αμύλου.

Απομένει όμως ανέπαφος ο κεντρικός κορμός του μορίου της αμυλοπηκτίνης με διακλαδώσεις 1-6. Η α-αμυλάση προκαλεί γρήγορη μετατροπή του μπλέ χρώματος που δίνει το ιώδιο με την αμυλόζη (σε αντίθεση προς την β-αμυλάση), οπότε λαμβάνεται το ερυθρό χρώμα της αντίδρασης των δεξτρινών με το ιώδιο, ενώ στη συνέχεια δεν παρατηρείται αντίδραση.

Από τα προηγούμενα προκύπτει ότι κανένα από τα ένζυμα α-αμυλάση και β-αμυλάση δεν μπορεί να προσβάλλει τους δεσμούς 1-6 των διακλαδώσεων του μορίου της αμυλοπηκτίνης. Οι δεσμοί αυτοί διασπώνται επιλεκτικά από ένα άλλο ένζυμο το οποίο καλείται **ισοαμυλάση**. Με συνδυασμό του ενζύμου αυτού και της α-αμυλάσης ή και της β-αμυλάσης επιτυγχάνεται η πλήρης αποδόμηση και του κεντρικού κορμού του μορίου της αμυλοπηκτίνης, που περιλαμβάνει τις περιοχές με διακλαδώσεις. Χαρακτηριστικό της δράσης της ισοαμυλάσης πάνω στο μόριο της αμυλοπηκτίνης είναι ότι το ερυθρό χρώμα της αμυλοπηκτίνης μετατρέπεται με την δράση αυτού του ενζύμου σε μπλε. Αυτό οφείλεται στο ότι το διακλαδισμένο μόριο της αμυλοπηκτίνης διασπάται σε μικρότερου μεγέθους αλυσίδες χωρίς διακλαδώσεις (αμυλόζη).

Εργαστηριακό μέρος

Η παραλαβή ενζυμικού παρασκευάσματος των αμυλάσων

Τις αμυλάσες τις παραλάβαμε με λειοτρίβιση και ομογενοποίηση σπερμάτων σιταριού που τοποθετήθηκαν για βλάστηση σε κατάλληλο περιβάλλον επί 7-10 ημέρες. Ο πολτός διηθήθηκε και διατηρήθηκε στο ψυγείο. Είναι εκχύλισμα που εκτός από τις αμυλάσες περιέχει και πολλά άλλα κυτταρικά συστατικά.

Το άμυλο προέρχεται επίσης από καρπούς αγρωστώδους (καλαμπόκι) έχει όμως καθαριστεί προηγουμένως έτσι ώστε να είναι εύκολη η διαπίστωση της αντίδρασης του ιωδίου.



Εικόνα 2.1

Βλαστημένο σιτάρι με νεαρά φυτάρια ηλικίας 10 ημερών. Η βλάστηση των σπερμάτων αποτελεί ιδιαίτερης σημασίας φυσιολογική διεργασία, με την οποία καθίσταται δυνατή η ανάπτυξη του προϋπάρχοντος εμβρύου σε νέο φυτικό οργανισμό. Στο σύστημα αυτό υπάρχουν και οι δύο παράγοντες που απαιτούνται για την πραγματοποίηση της υδρόλυσης του αμύλου *in vivo*, δηλαδή το υπόστρωμα (άμυλο) στο αμυλοφόρο στρώμα του καρπού και το ένζυμο (αμυλάσες). Οι αμυλάσες αρχίζουν να βιοσυντίθενται καθώς ενυδατώνεται ο καρπός και το έμβρυο (στην περιοχή του πρωτεϊνικού στρώματος του καρπού και από εκεί μεταφέρονται στην περιοχή του αμύλου).

Ανίχνευση της δραστηριότητας των αμυλασών

Απαιτούμενα υλικά

Στην κάθε εργαστηριακή θέση πρέπει να υπάρχουν τα επόμενα για να πραγματοποιηθεί η άσκηση:

- 4 δοκιμαστικοί σωλήνες (σωλήνας α, β, γ, δ)
- 3 ύαλοι ωρολογίου
- διάλυμα αμύλου 1%
- απεσταγμένο νερό
- ενζυμικό παρασκεύασμα
- διάλυμα ιωδίου
- πιπέτα του 1 mL, με την οποία θα προσθέσουμε το διάλυμα του αμύλου στους δοκιμαστικούς σωλήνες
- πιπέτα των 2 mL, με την οποία θα προσθέσουμε απεσταγμένο νερό στους σωλήνες
- πιπέτα των 2 mL, με την οποία θα προσθέσουμε ενζυμικό παρασκεύασμα στους σωλήνες
- λευκό χαρτί

Διαδικασία

1. Στον **δοκιμαστικό σωλήνα α** προσθέτουμε 1 mL **διαλύματος αμύλου** (με την πιπέτα του διαλύματος αμύλου) και 1,5 mL απεσταγμένου νερού (με την πιπέτα του απεσταγμένου νερού. **Προσοχή να μη μπερδέψουμε τις πιπέτες γιατί θα αποτύχει το πείραμα**). Ανακινούμε ελαφρά το σωλήνα για να ομοιογενοποιηθεί το περιεχόμενό του.
2. Μεταγγίζουμε ελάχιστη ποσότητα του περιεχομένου του σωλήνα α σε μία ύαλο ωρολογίου. Προσθέτουμε 1-2 σταγόνες από το **διάλυμα ιωδίου** στην ύαλο ωρολογίου, ανακινούμε την ύαλο περιστροφικά και προσεκτικά για να μη χυθεί το περιεχόμενο της απέξω, τοποθετούμε την ύαλο πάνω σε λευκό χαρτί και παρατηρούμε το χρώμα που παίρνει το διάλυμα. Αυτή η ύαλος ωρολογίου που αντιστοιχεί στο σωλήνα α διατηρείται για μάρτυρας. Υπόψη ότι ο σωλήνας α δεν περιέχει ένζυμο.
3. Στο **δοκιμαστικό σωλήνα δ**, προσθέτουμε 1 mL **διαλύματος αμύλου** (με την πιπέτα του διαλύματος αμύλου) και 1,5 mL **ενζυμικού παρασκευάσματος** (με την πιπέτα του ενζυμικού παρασκευάσματος) και με αυτή τη σειρά. Προσοχή να

μη μπερδέσουμε τις πιπέτες. Σημειώνουμε **ΑΜΕΣΩΣ το χρόνο μηδέν** και ανακινούμε ελαφρά το σωλήνα για να ομοιογενοποιηθεί το περιεχόμενό του.

4. Μεταγγίζουμε ελάχιστη ποσότητα του περιεχομένου του σωλήνα δ σε μία ύαλο ωρολογίου. Προσθέτουμε 1-2 σταγόνες από το **διάλυμα ιωδίου** στην ύαλο ωρολογίου και εργαζόμαστε όπως στο βήμα 2. Παρατηρούμε το χρώμα που παίρνει το διάλυμα.
5. Κάθε 0.5 min επαναλαμβάνουμε το βήμα 4. Όταν διαπιστώσουμε αλλαγή του χρωματισμού καταγράφουμε το χρόνο που πέρασε από το χρόνο μηδέν και επαναλαμβάνουμε το βήμα 4 μέχρι να μην παρατηρούμε παραπέρα αλλαγή του χρωματισμού. Ο χρόνος εμφάνισης του σταθερού χρωματισμού καταγράφεται ως πειραματικός χρόνος στον Πίνακα 1. Η ύαλος ωρολογίου που αντιστοιχεί στο σωλήνα δ με το τελικό χρώμα διατηρείται επίσης για μάρτυρας. Υπόψη ότι ο σωλήνας δ περιέχει την περισσότερη ποσότητα ενζύμου.
6. Πάμε τώρα στο **δοκιμαστικό σωλήνα β**, όπου προσθέτουμε 1 mL **διαλύματος αμύλου**, 1 mL νερού και 0,5 mL **ενζυμικού παρασκευάσματος** (με την κατάλληλη πιπέτα σε κάθε περίπτωση και με αυτή τη σειρά). Σημειώνουμε **ΑΜΕΣΩΣ το χρόνο μηδέν**, ανακινούμε ελαφρά το σωλήνα για να ομοιογενοποιηθεί το περιεχόμενό του και μεταγγίζουμε ελάχιστη ποσότητα του περιεχομένου του σωλήνα β σε μία ύαλο ωρολογίου. Προσθέτουμε 1-2 σταγόνες από το **διάλυμα ιωδίου** στην ύαλο ωρολογίου και εργαζόμαστε όπως στο βήμα 2. Παρατηρούμε το χρώμα που παίρνει το διάλυμα. Εργαζόμαστε όπως στο βήμα 5 και καταγράφουμε τον πειραματικό χρόνο στον Πίνακα 1.
7. Επαναλαμβάνουμε το βήμα 6, προσθέτοντας στον **δοκιμαστικό σωλήνα γ** 1 mL **διαλύματος αμύλου**, 0,5 mL νερού και 1 mL **ενζυμικού παρασκευάσματος**. Καταγράφουμε το χρόνο στον Πίνακα 1.
8. Μετά το πέρας της μέτρησης και των τεσσάρων σωλήνων ενδέχεται ο διδάσκων να ζητήσει την αντιγραφή των μετρήσεων όλων των εργαστηριακών ομάδων στον πίνακα της αίθουσας. Στην περίπτωση αυτή η συγγραφή της εργασίας θα γίνει με όλες τις μετρήσεις ώστε να γίνει και στατιστική επεξεργασία.

Πίνακας 2.1

Ανίχνευση της δραστηριότητας των αμυλασών

| Σωλήνας | άμυλο | νερό | ένζυμο | τελικός όγκος | Χρόνος υδρόλυσης (s) |
|---------|-------|------|--------|---------------|----------------------|
| | mL | mL | mL | mL | |
| A | 1 | 1,5 | - | 2,5 | - |
| B | 1 | 1 | 0,5 | 2,5 | 600 |
| Γ | 1 | 0,5 | 1 | 2,5 | 350 |
| Δ | 1 | - | 1,5 | 2,5 | 270 |

3η Άσκηση

Η υδατική κατάσταση του φυτικού κυττάρου: σπαργή - πλασμόλυση

Σκοπός της άσκησης

Να προσδιορίσουμε την υδατική κατάσταση φυτικών κυττάρων χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της σπαργής - πλασμόλυσης.

Εισαγωγή

Η σημασία του νερού για τα φυτά

Η ιδιαίτερη σημασία του νερού για τα φυτά δεν απορρέει μόνο από το γεγονός ότι συμμετέχει με το μεγαλύτερο ποσοστό στη σύνθεση των κυττάρων αλλά και διότι:

1. αποτελεί άριστο διαλύτη ηλεκτρολυτών και μη συστατικών των κυττάρων
2. αμβλύνει την αρνητική επίδραση ακραίων θερμοκρασιών και θερμοκρασιακών μεταβολών του περιβάλλοντος και εξασφαλίζει ήπιο θερμοκρασιακό περιβάλλον για τις βιοχημικές αντιδράσεις που πραγματοποιούνται στα κύτταρα
3. καθορίζει αποφασιστικά τη λειτουργία της φωτοσύνθεσης μέσω της επίδρασης στο άνοιγμα-κλείσιμο των στομάτων.
4. επηρεάζει την απορρόφηση ιόντων από το εδαφικό διάλυμα μέσω του ρεύματος της διαπνοής
5. συμμετέχει άμεσα ως αντιδρόν ή προϊόν σε πάρα πολλές αντιδράσεις των κυττάρων

είναι καθοριστικός παράγοντας για τη λειτουργία των φυτικών κυττάρων και ιστών ως ωσμωτικών συστημάτων και για την υπόστασή τους ως πολυκύτταρων οργανισμών. Η τελευταία αυτή ιδιότητα έχει καθοριστική σημασία για την εύρυθμη λειτουργία των κυττάρων αλλά και την εξασφάλιση της ύπαρξης του συμπλάσματος. Είναι ιδιότητα η οποία επηρεάζεται αμεσότητα από το περιβάλλον. Σε αντιδιαστολή με άλλες λειτουργίες του φυτού επηρεάζεται με τη σειρά της ζωτικά και άμεσα την ίδια την υπόσταση και ύπαρξη του φυτικού οργανισμού. Με άλλα λόγια το φυτό μπορεί και αντεπεξέρχεται ευκολότερα σε συνθήκες τροφопενίας, ή μειωμένης φωτοσυνθετικής δραστηριότητας, ενώ κινδυνεύει άμεσα να μαραθεί και στη συνέχεια να νεκρωθεί μετά από σχετικά βραχυχρόνια δυσμενή υδατική κατάσταση των κυττάρων του.

Το δυναμικό του νερού

Σύστημα αναφοράς για την μελέτη οποιουδήποτε υδατικού διαλύματος θεωρείται το καθαρό νερό, το οποίο από ενεργειακή άποψη είναι και το ανώτερο σύστημα. Απόρροια του γεγονότος αυτού είναι η κίνηση των μορίων του νερού από τον καθαρό διαλύτη προς κάποιο διάλυμα και γενικά από τη μεγαλύτερη προς τη μικρότερη συγκέντρωση των μορίων του. Το δυναμικό νερού αποδίδει την ενεργειακή κατάσταση ενός διαλύματος σε σχέση με το καθαρό νερό. Η εξίσωση έκφρασης του δυναμικού του νερού (1) αποτελεί έκφραση της ενεργειακής κατάστασης κάθε συγκεκριμένου διαλύματος σε σχέση προς το καθαρό νερό και είναι αποτέλεσμα της ύπαρξης των μορίων του διαλυμένου σώματος.

$$\Psi = - cRT \quad (1)$$

όπου Ψ : το δυναμικό νερού, εκφρασμένο σε μονάδες πίεσης συνήθως σε MPa (MegaPascal) ή σε atm (10 atm = 1.013 MPa)
 c : η συγκέντρωση του διαλυμένου σώματος σε (mol L^{-1})
 R : η παγκόσμια σταθερή των αερίων ($0,082 \text{ L} \cdot \text{atm} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{T}^{-1}$)
 T : η απόλυτη θερμοκρασία ($273 + \text{θερμοκρασία σε } ^\circ\text{C}$)

(Για καθαρό νερό η τιμή του c είναι μηδενική, άρα η τιμή του Ψ είναι μηδέν. Για διαλύματα με οποιαδήποτε συγκέντρωση διαλύτη η τιμή του Ψ παίρνει αρνητικές τιμές. Για τιμές συγκέντρωσης $c=1 \text{ mol L}^{-1}$ μη ηλεκτρολύτη και για θερμοκρασία 27°C η εξίσωση (1) δίνει $\Psi=-2,27 \text{ MPa}$ ή $22,4 \text{ atm}$; Για $c=0,5 \text{ mol L}^{-1}$ δίνει $\Psi=-1,14 \text{ MPa}$ ή $11,2 \text{ atm}$ κ.ο.κ).

Τα φυτικά κύτταρα ως ωσμωτικά συστήματα

Υπάρχουν ιδιαιτερότητες που διαφοροποιούν καθοριστικά τα φυτικά κύτταρα από τα συνήθη διαλύματα. Οι σημαντικότερες είναι: (1) η παρουσία του κυτταρικού τοιχώματος και (2) η πολυπλοκότητα του πρωτοπλάστη, λόγω της παρουσίας μεγαλομορίων πληθώρας μεμβρανών κ.ά.

Στην κατάσταση της σπαργής λόγω της επαφής του ζωντανού περιεχομένου του κυττάρου με το κυτταρικό τοίχωμα ασκούνται δύο ίσες και αντίθετες πιέσεις: μία από το ζωντανό περιεχόμενο προς το κυτταρικό τοίχωμα η **πίεση σπαργής** (ψ_p : δυναμικό πίεσης) και μια αντίθετη της από το κυτταρικό τοίχωμα προς το ζωντανό περιεχόμενο του κυττάρου η **πίεση τοιχωμάτων** (σαν αντίδραση στην πίεση σπαργής). Ισχύει δηλαδή:

$$\text{πίεση σπαργής} = - \text{πίεση τοιχωμάτων} \quad (2)$$

Το δυναμικό του νερού του κυττάρου είναι η συνισταμένη του δυναμικού του νερού του κυττάρου, λόγω της υπόστασής του σαν ωσμωτικό σύστημα (αρνητικές τιμές) αυξημένη κατά την τιμή που οφείλεται στην πίεση τοιχωμάτων (θετικές τιμές).

$$\Psi_{w, \text{κυτ}} = \Psi_s + \Psi_p \quad (3)$$

Όπου $\Psi_{w, \text{κυτ}}$: δυναμικό νερού του κυττάρου
 Ψ_s : ωσμωτικό δυναμικό κυττάρου
 Ψ_p : δυναμικό πίεσης

Μέθοδοι προσδιορισμού της υδατικής κατάστασης των φυτών

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της υδατικής κατάστασης των φυτών συνήθως στηρίζεται σε προσδιορισμό διαφόρων παραμέτρων όπως:

Δυναμικό νερού (Ψ_w)

Ωσμωτικό δυναμικό (Ψ_s)

Πίεση σπαργής (Ψ_p) (πλασμολυτική μέθοδος)

Αγωγιμότητα στοματίων κ.ά.

Εργαστηριακό μέρος

Απαιτούμενα υλικά

1. Διαλύματα σακχαρόζης κλιμακούμενου δυναμικού νερού (από 0,0 έως -1,4 MPa)
2. Σιφώνια των 10 mL για τη διανομή των διαλυμάτων σακχαρόζης στα τριβλία κάθε θέσης

Προσδιορισμός του ωσμωτικού δυναμικού του νερού των κυττάρων με τη μέθοδο σπαργής-πλασμόλυσης

Απαιτούμενα υλικά

1. Έγχρωμες επιδερμίδες χιτώνων κρεμμυδιού
2. Μικροσκόπιο
3. 8 σημειωμένα τριβλία για τα διαλύματα σακχαρόζης δυναμικών νερού 0,0 έως -1,4 MPa (T0, T2, T4, T6, T8, T10, T12, T14)
4. Ξυραφάκι
5. Ανατομική βελόνα

6. Αντικειμενοφόροι πλάκες
7. Καλυπτρίδες
8. Απορροφητικό χαρτί

Διαδικασία

1. 5 mL από κάθε διάλυμα σακχαρόζης μεταφέρονται στο αντίστοιχο σημειωμένο τριβλίο T0, T2, T4, T6, T8, T10, T12, T14.
2. Με τη βοήθεια της ανατομικής βελόνας και του ξυραφιού αφαιρούνται τεμάχια από την κάτω επιδερμίδα του δείγματος και τοποθετούνται 2 παρασκευάσματα επιδερμίδας ανά τριβλίο αντίστοιχα στη σειρά τριβλίων με τα διαλύματα σακχαρόζης δυναμικού νερού 0,0 / -0,2 / -0,4 / -0,6 / -0,8 / -1,0 / -1,2 και -1,4 Mpa.
3. Οι ιστοί παραμένουν για εξισορρόπηση στο αντίστοιχο διάλυμα για 10 min περίπου.
4. Σε αντικειμενοφόρο πλάκα τοποθετείται σταγόνα διαλύματος από το πρώτο τριβλίο. Ο αντίστοιχος ιστός επιδερμίδας μεταφέρεται στην αντικειμενοφόρο και καλύπτεται με καλυπτρίδα.
5. Στη συνέχεια γίνεται μικροσκοπική παρατήρηση και από τη μορφή του έγχρωμου χυμοτοπίου διαπιστώνεται αν τα κύτταρα της επιδερμίδας βρίσκονται σε σπαργή ή σε πλασμόλυση.
6. Η κατάσταση των κυττάρων καταγράφεται στην αντίστοιχη θέση του Πίνακα 3.1.
7. Η διαδικασία της μικροσκοπικής παρατήρησης επαναλαμβάνεται για όλα τα παρασκευάσματα και συμπληρώνεται ο αντίστοιχος πίνακας.

Σχόλια: Μετά την εξισορρόπηση το δυναμικό νερού των κυττάρων είναι ίσο με το δυναμικό νερού του αντίστοιχου εξωτερικού διαλύματος σακχαρόζης και ισχύει:

$$\Psi_{w, \text{κυτ επιδερμίδας}} = \Psi_s + \Psi_p = \Psi_{w, \text{διαλ}} \quad (5)$$

Για να προκύψει η εξισορρόπηση τα κύτταρα ή θα πάρουν νερό από το εξωτερικό διάλυμα (που σημαίνει ότι έχουν αρνητικότερο δυναμικό νερού συγκριτικά με το αντίστοιχο διάλυμα σακχαρόζης) και η μικροσκοπική εικόνα θα αποκαλύπτει κατάσταση σπαργής, ή θα χάσουν νερό (που σημαίνει πως το αντίστοιχο εξωτερικό διάλυμα σακχαρόζης έχει αρνητικότερο δυναμικό νερού από το δυναμικό νερού του κυττάρου) και η μικροσκοπική εικόνα θα αποκαλύπτει κατάσταση πλασμόλυσης. Με τη διαδικασία αυτή μπορούμε να ορίσουμε τα ελάχιστα όρια στα οποία:

$$\Psi_{w, \text{διαλ } n+1} < \Psi_{w, \text{κυτ επιδ}} < \Psi_{w, \text{διαλ } n} \quad (6)$$

Είναι ενδεχόμενο η μικροσκοπική παρατήρηση να μας αποκαλύψει κατάσταση αρχόμενης πλασμόλυσης, κατά την οποία το 50% των κυττάρων του ιστού βρίσκεται σε πλασμόλυση (δηλαδή το χυμοτόπιο αρχίζει να ξεκολλάει στις γωνίες από το κυτταρικό τοίχωμα) και το υπόλοιπο σε σπαργή. Στην αρχόμενη πλασμόλυση η πίεση σπαργής είναι ίση με το μηδέν, οπότε από τον τύπο (5) προκύπτει:

$$\Psi_{w, \text{κυτ}} = \Psi_s + 0 = \Psi_{w, \text{διαλ}} \quad (7)$$

$$\Psi_s = -\Psi_{\text{διαλ}} \quad (8)$$

Άρα, στην αρχόμενη πλασμόλυση προσδιορίζουμε ποιό ακριβώς είναι το ωσμωτικό δυναμικό των κυττάρων που εξετάζουμε. Αν δεν προκύψει κατάσταση αρχόμενης πλασμόλυσης για μεγαλύτερη ακρίβεια μπορούν να παρασκευαστούν και διαλύματα με δυναμικά νερού της περιοχής μετάβασης από τη σπαργή στην πλασμόλυση και με μικρότερη κλιμάκωση.

Πίνακας 3.1

Η κατάσταση των κυττάρων της επιδερμίδας μετά την εξισορρόπηση τους με τα διαλύματα γνωστής ωσμωτικής πίεσης

| α/α | $\Psi_{\text{διαλ}}$ (MPa) | Κατάστ. κυττ. | $\Psi_{\text{κυττ, τελ}}$ (MPa) | $\Psi_s, \text{ τελ}$ (MPa) | $\Psi_p, \text{ τελ}$ (MPa) |
|-----|-------------------------------|------------------|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 0,0 | σπαργή | 0,0 | | |
| 2 | -0,2 | | -0,2 | | |
| 3 | -0,4 | | -0,4 | | |
| 4 | -0,6 | | -0,6 | | |
| 5 | -0,8 | | -0,8 | | |
| 6 | -1,0 | αρχ. πλασμόλυση | -1,0 | | |
| 7 | -1,2 | | -1,2 | | |
| 8 | -1,4 | πλασμόλυση | -1,4 | | |

Βιβλιογραφία

1. Kirkham, M.B. (1985). Techniques for water-use measurements of crop plants. Hortscience 20(6);993-1001
2. Taiz, L., Zeiger, E. (2002). Plant Physiology. 3nd ed. Sinauer Associates Inc. Publishers. Sunderland. ISBN 0-87893-831-1 pp 61-80

4^η Άσκηση

Προσδιορισμός της υδατικής κατάστασης του φυτικού ιστού: Το δυναμικό του νερού

Σκοπός της άσκησης

Να προσδιορίσουμε την υδατική κατάσταση φυτικών οργάνων χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της μεταβολής του βάρους των φυτικών ιστών.

Εισαγωγή

Βλ. Άσκηση 3

Εργαστηριακό μέρος

Απαιτούμενα υλικά

1. Διαλύματα σακχαρόζης κλιμακούμενου δυναμικού νερού (από 0.0 έως $-1,4$ MPa)
2. Σιφώνια των 10 mL για τη διανομή των διαλυμάτων σακχαρόζης τους δοκιμαστικούς σωλήνες κάθε θέσης

Προσδιορισμός του δυναμικού του νερού των φυτικών οργάνων με τη μέθοδο της παρακολούθησης των μεταβολών του βάρους τους

Η μέθοδος αυτή έχει εφαρμογή σε ογκώδη όργανα, από τα οποία είναι δυνατό να ληφθούν με φελλοτρυπητήρα κύλινδροι ιστών.

Απαιτούμενα υλικά

1. Κόνδυλοι πατάτας διαστάσεων 10x8x8 cm περίπου Στατό
2. 8 σημειωμένοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 20 mL για τα διαλύματα σακχαρόζης ωσμωτικών πιέσεων 0,0 έως $-1,4$ MPa (Σ0, Σ2, Σ4, Σ6, Σ8, Σ10, Σ12, Σ14)
3. Φελλοτρυπητήρας
4. Ξυραφάκι
5. Ζυγός
6. Πλακίδια για την κοπή και μέτρηση των κυλίνδρων πατάτας

Διαδικασία

1. 10 mL κάθε διαλύματος σακχαρόζης μεταφέρονται σε αντίστοιχους σημειωμένους σωλήνες (Σ0, Σ2, Σ4, Σ6, Σ8, Σ10, Σ12, Σ14).

2. Με τη βοήθεια του φελλοτρυπητήρα δημιουργούμε 8 κυλίνδρους από τον κόνδυλο της πατάτας συνολικού μήκους 6-8 cm. Προσέχουμε ώστε οι κύλινδροι που δημιουργούμε να μη περιλαμβάνουν επιδερμικούς ιστούς. Για να αποφύγουμε αλλοίωση του βάρους των ιστών λόγω απώλειας νερού, τους ακουμπούμε στο πλακίδιο και όχι σε χαρτί.
3. Ανανεώνουμε τις δύο εγκάρσιες πλευρές των κυλίνδρων, ώστε να είναι κάθετες στο μεγάλο άξονα, και τους μεταφέρουμε σε τρυβλίο.
4. Μετράμε το αρχικό βάρος κάθε κυλίνδρου πατάτας και το σημειώνουμε στην αντίστοιχη θέση του Πίνακα 4.1.
5. Τοποθετούμε από ένα κύλινδρο σε καθένα από τους 8 δοκιμαστικούς σωλήνες με τα διαλύματα σακχαρόζης.
6. Αφήνουμε τους ιστούς για εξισορρόπηση για 1 ώρα περίπου.
7. Αδειάζουμε το διάλυμα σακχαρόζης από κάθε δοκιμαστικό σωλήνα.
8. Μετράμε το τελικό βάρος κάθε κυλίνδρου αφού απομακρύνουμε το επιπλέον διάλυμα από την επιφάνεια του κονδύλου και το σημειώνουμε στην αντίστοιχη στήλη του Πίνακα 4.1

Σχόλια: Μετά την εξισορρόπηση το δυναμικό νερού των κυττάρων του κυλίνδρου $\Psi_{w, \text{κυτ}}$ είναι ίσο με το δυναμικό νερού του αντίστοιχου διαλύματος σακχαρόζης:

$$\Psi_{w, \text{κυτ κυλίνδρου}} = \Psi_{w, \text{διαλ}} \quad (9)$$

Για να προκύψει η εξισορρόπηση τα κύτταρα του ιστού ή θα πάρουν νερό από το εξωτερικό διάλυμα σακχαρόζης (που σημαίνει ότι έχουν αρνητικότερο δυναμικό νερού των κυττάρων του κυλίνδρου συγκριτικά με το διάλυμα) και η τελική εικόνα θα αποκαλύπτει αύξηση του μήκους του αντίστοιχου κυλίνδρου, ή θα χάσουν νερό (που σημαίνει πως το εξωτερικό διάλυμα έχει αρνητικότερο δυναμικό νερού από το δυναμικό νερού του κυττάρου) και η τελική εικόνα θα αποκαλύπτει μείωση του μήκους του αντίστοιχου κυλίνδρου. Με τη διαδικασία αυτή μπορούμε να ορίσουμε τα ελάχιστα όρια στα οποία:

$$\Psi_{w, \text{διαλ } n+1} < \Psi_{w, \text{κυτ κυλίνδρου}} < \Psi_{w, \text{διαλ } n} \quad (10)$$

Πίνακας 4.1

Η μεταβολή του μήκους των κυλίνδρων πατάτας μετά την εξισορρόπηση των ιστών τους με τα διαλύματα γνωστής δυναμικού νερού

| α/α | δυναμικό του νερού διαλύματος σακχαρόζης (MPa) | αρχικό βάρος κυλίνδρου (g) | τελικό βάρος κυλίνδρου (g) | +/- διαφορά (g) |
|-----|--|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------|
| 1 | 0,0 | | | |
| 2 | -0,2 | | | |
| 3 | -0,4 | | | |
| 4 | -0,6 | | | |
| 5 | -0,8 | | | |
| 6 | -1,0 | | | |
| 7 | -1,2 | | | |
| 8 | -1,4 | | | |

Στην περίπτωση που το τελικό βάρος του κυλίνδρου μείνει αμετάβλητο, η ταχύτητα εισόδου-εξόδου νερού θα είναι ίδια. Αυτή η περίπτωση μας δίνει και τη δυνατότητα ακριβούς προσδιορισμού του $\Psi_{w, \text{κυτ}}$. Αν δεν προκύψει τέτοια περίπτωση ή για μεγαλύτερη ακρίβεια μπορούν να παρασκευαστούν και διαλύματα σακχαρόζης ενδιαμέσων δυναμικών νερού για ακριβέστερο προσδιορισμό του δυναμικού νερού των κυττάρων του ιστού.

Βιβλιογραφία

1. Kirkham, M.B. (1985). Techniques for water-use measurements of crop plants. Hortscience 20(6);993-1001
2. Taiz, L., Zeiger, E. (2002). Plant Physiology. 3rd ed. Sinauer Associates Inc. Publishers. Sunderland. ISBN 0-87893-831-1 pp 61-80

5η Άσκηση

Μεταφορά του νερού μέσω του βλαστού και διαπνοή

Ο βλαστός αποτελεί τον φυσικό σύνδεσμο των υπέργειων και υπόγειων οργάνων του φυτού καθώς και αυτών που θα προκύψουν στο μέλλον. Είναι το όργανο του φυτού που παρεμβάλλεται μεταξύ διαφορετικών οργάνων τα οποία δεν έρχονται σε επαφή όπως η ρίζα και το φύλλο, δύο φύλλα ή το φύλλο και ο καρπός.

Οι βλαστοί και οι λειτουργίες τους

Ο βλαστός αποτελείται από διάφορους ιστούς διευθετημένους σε γόνατα και μεσογονάτια διαστήματα. Τα γόνατα είναι περιοχές όπου τα φύλλα συνδέονται με τους βλαστούς, και τα μεσογονάτια διαστήματα είναι τα μέρη των βλαστών μεταξύ δυο γονάτων. Οι σημαντικότερες λειτουργίες του βλαστού συνοψίζονται ως εξής:

- **Οι βλαστοί υποστηρίζουν τα φύλλα, τα άνθη και τους καρπούς.**
- **Οι βλαστοί παράγουν νέους ιστούς και όργανα διότι φέρουν τα μεριστώματα.**
- **Οι βλαστοί αναπνέουν. Εκτός αυτού οι βλαστοί ορισμένων φυτικών ειδών φωτοσυνθέτουν.**
- **Οι βλαστοί αποθηκεύουν υλικά.**
- **Οι βλαστοί διακινούν το νερό και τα θρεπτικά συστατικά από τη ρίζα προς τα υπέργεια όργανα και φωτοσυνθετικά προϊόντα από τα φύλλα προς τα υπόλοιπα όργανα.**
- **Οι βλαστοί αποτελούν τους διαύλους επικοινωνίας μεταξύ υπέργειων και υπόγειων οργάνων. Μέσω αυτών μεταφέρονται χημικά σήματα που ρυθμίζουν την ανάπτυξη των φυτών και την απόκρισή τους στα ερεθίσματα του περιβάλλοντος.**
- **Οι βλαστοί αμύνονται μέσω μηχανικών χαρακτηριστικών και χημικών ουσιών.**

Η μετακίνηση συστατικών μέσα στο βλαστό.

Οι τραχειΐδες και τα αγγεία του ξύλου είναι υπεύθυνα για τη μεταφορά νερού και ανόργανων αλάτων διαλυμένων σε αυτό από τις ρίζες προς όλα τα εναέρια μέρη του φυτού. Η μετακίνηση είναι μονόδρομη (ανοδική).

Οι ηθμοσωλήνες είναι υπεύθυνοι για τη διακίνηση φωτοσυνθετικών προϊόντων (υδατάνθρακες) και άλλων προϊόντων μεταβολισμού. Ο χυμός που μεταφέρεται μέσω του ηθμού αποτελείται από ένα πυκνό σχετικά οργανικών ουσιών αλλά και

ορισμένων ιόντων όπως του K^+ . Από τις οργανικές ενώσεις που μεταφέρονται το 90% περίπου είναι υδατάνθρακες, κυρίως σακχαρόζη. Η μετακίνηση μέσα στον ηθμό συνήθως είναι καθοδική, μπορεί ωστόσο να είναι αμφίδρομη. Φωτοσυνθετικά προϊόντα μεταφέρονται από τα φύλλα προς τις ρίζες ή άλλα αναπτυσσόμενα μέρη του φυτού, ενώ κατά την άνοιξη, αποθηκευμένα στις ρίζες προϊόντα μεταφέρονται στα μεριστώματα από όπου αναπτύσσεται το φυτό.

Πειραματικό μέρος

Χρειαζόμαστε:

1. δυο βλαστούς με φύλλα του φυτού *Ligustrum* sp. ή *Photinia* sp. μήκους περίπου 25-30 cm,
2. ένα δοχείο ζέσεως που να περιέχει αραιό διάλυμα (περίπου 0.1%) της χρωστικής κυανού του μεθυλενίου σε ύψος περίπου 2cm
3. ένα ξυραφάκι,
4. αντικειμενοφόρο πλάκα
5. καλυπτρίδα

Προετοιμασία

- Ο ένας βλαστός αποφυλλώνεται, ενώ ο δεύτερος παραμένει άθικτος.
- Τοποθετούμε τους δυο βλαστούς στο δοχείο ζέσεως.
- Οι άκρες των βλαστών δεν πρέπει να παραμείνουν καθόλου έξω από το νερό. Όταν πρόκειται να τους τοποθετήσουμε στη χρωστική κόβουμε το τελευταίο 1 cm μέσα στο νερό και **αμέσως** βυθίζουμε το βλαστό στη χρωστική.
- Οι βλαστοί παραμένουν σε κατάλληλο περιβάλλον ώστε να πραγματοποιηθεί η ανοδική κίνηση του διαλύματος της χρωστικής στα αγγεία του βλαστού.
- Ύστερα από περίπου 30 min αφαιρούμε με το νύχι μας την εξωτερική μαλακή φλούδα του βλαστού (φλοιώδες παρέγχυμα και ηθμό) σε διαφορετικά ύψη και βλέπουμε μέχρι που έχει φτάσει η χρωστική.

Κόβουμε εγκάρσιες τομές από ύψος περίπου 1-2 cm από το κάτω μέρος του βλαστού, τις τοποθετούμε σε αντικειμενοφόρο σε μια σταγόνα νερό και παρατηρούμε στο μικροσκόπιο και σχεδιάζουμε τους πιο κάτω ιστούς σημειώνοντας ποιοι έχουν χρωματιστεί και τι χρώμα.

1. Ξύλο
2. Εντεριώνη, βοθρία.

Ανέβηκε και στους δύο βλαστούς η χρωστική; Μπορείτε να εξηγήσετε τη διαφορά;

6η Άσκηση

Η βλαστικότητα των σπερμάτων και οι μετρήσεις της. Η σκοτομορφογένεση και η φωτομορφογένεση.

A. Η βλάστηση των σπερμάτων

Βλάστηση των σπερμάτων ονομάζουμε την ανάπτυξη των εμβρυακών ριζών που ακολουθείται από την ανάπτυξη ολόκληρου του εμβρύου σε νεαρό φυτό. Η βλάστηση λοιπόν γίνεται ορατή με την **επιμήκυνση του ριζιδίου του εμβρύου**. Η όλη διαδικασία όμως αρχίζει πολύ πιο νωρίς.

Τα σπέρματα των περισσότερων φυτών κατά την ωρίμανσή τους αφυδατώνονται σταδιακά, με αποτέλεσμα η υγρασία του ώριμου σπέρματος να μην ξεπερνά συνήθως το 15%. Πριν λοιπόν από τη βλάστηση των σπερμάτων προηγείται η **επανενυδάτωση** τους. Το στάδιο αυτό είναι καθαρά φυσικοχημικό και δεν εξαρτάται από τη βλαστικότητα των σπερμάτων. Τα σπέρματα δηλαδή σε αυτό το στάδιο απορροφούν νερό και «φουσκώνουν» ανεξάρτητα από το αν στη συνέχεια θα βλαστήσουν ή όχι.

Παράλληλα με την ενυδάτωση, αν το έμβρυο είναι ζωντανό, αρχίζει μια έντονη βιοσυνθετική δραστηριότητα. Παράγονται πρώτα τα ένζυμα που υδρολύουν τα θρεπτικά υποστρώματα και οι απαραίτητες ορμόνες που καθορίζουν σε ποιές περιοχές του εμβρύου θα αρχίσουν πρώτα οι κυτταροδιαιρέσεις. Ακολουθεί στη συνέχεια η διαδικασία των κυτταροδιαιρέσεων και η οικοδόμηση του φυτικού σώματος. Όπως είναι φυσικό, όλες οι διεργασίες που συνεπάγονται οι κυτταροδιαιρέσεις απαιτούν μεγάλα ποσά ενέργειας που προέρχονται από την αποδόμηση των αποθησαυριστικών ουσιών. Επί πλέον επειδή κατά την αποδόμηση αυτή η ενέργεια παράγεται μέσω της έντονης αναπνευστικής δραστηριότητας, η βλάστηση των σπερμάτων απαιτεί πολύ οξυγόνο.

Μετά την επιμήκυνση του ριζιδίου ακολουθεί η ανάδυση των φυταρίων από το έδαφος. Προυπόθεση για την ανάδυση των φυταρίων είναι το σπέρμα να έχει σπαρεί σε βάθος τέτοιο ώστε τα θρεπτικά του αποθέματα να επαρκούν για το χρόνο που απαιτείται για να αναδυθεί από το έδαφος. Πρακτικά, το βάθος αυτό είναι 2-2.5 φορές το μέγεθος του σπέρματος. Εκτός αυτού πρέπει η επιφάνεια του εδάφους να μην προβάλλει εμπόδια στην ανάδυση των νεαρών φυταρίων, γιαυτό χρησιμοποιούμε εδάφη με χαλαρή δομή και κρατούμε την επιφάνεια του εδάφους υγρή.

B. Η βλαστικότητα

Βλαστικότητα των σπερμάτων ονομάζουμε την ικανότητα βλάστησης των σπερμάτων όταν βρεθούν στις συνθήκες κάτω από τις οποίες συνήθως

βλαστώνουν. Η βλαστικότητα μετράται ως **ποσοστό των σπερμάτων που βλάστησαν επί του συνόλου που σπάρθηκαν**. Η μέτρηση της βλαστικότητας γίνεται κάτω από καθορισμένες για κάθε είδος ή ποικιλία συνθήκες. **Η μέτρηση της βλαστικότητας είναι πολύ βασική γιατί μπορούμε να ελέγξουμε την ποιότητα του σπόρου και να προσδιορίσουμε το ποσό του σπόρου που απαιτείται για την σπορά.**

Η βλαστικότητα των σπερμάτων εξαρτάται από ορισμένους παράγοντες όπως:

1. Η φυσιολογική κατάσταση των σπερμάτων (π.χ. επαρκή αποθέματα).
2. Η διάρκεια και οι συνθήκες αποθήκευσης.
3. Η αρτιότητα και η φυσιολογική ωρίμανση του εμβρύου.

Η βλάστηση των σπερμάτων εξαρτάται και από τις συνθήκες των σπορειών ή του αγρού. Έτσι λ.χ. αν και η βλαστικότητα των σπερμάτων μπορεί να είναι μεγάλη η βλάστηση των φυτών στο σπορείο ή τον αγρό μπορεί να είναι μικρή επειδή:

1. Η θερμοκρασία κατά την περίοδο της βλάστησης είναι δυσμενής.
2. Η υγρασία είναι ανεπαρκής.
3. Ο αερισμός του εδάφους δεν είναι ικανοποιητικός.

Γ. Η σκοτομορφογένεση και η φωτομορφογένεση.

Ο βιολογικός κύκλος των σπερματοφύτων ξεκινά με τη βλάστηση του σπέρματος. Η ενεργοποίηση του εμβρύου κατά τη βλάστηση του σπέρματος έχει σαν αποτέλεσμα την υλοποίηση ενός συγκεκριμένου αναπτυξιακού προγράμματος, η υλοποίηση του οποίου εξαρτάται από την ύπαρξη φωτισμού.

Εάν η βλάστηση πραγματοποιηθεί σε απόλυτο σκοτάδι, το αναπτυξιακό πρόγραμμα ακολουθεί την πορεία της **σκοτομορφογένεσης** και τα αρτίβλαστα αποκτούν χαρακτηριστικά **ωχρωτικά** συμπτώματα: οι βλαστοί είναι ψηλοί και λεπτοί, τα φύλλα (ή οι κοτυληδόνες) δεν εκπτύσσονται κανονικά, το άγκιστρο παραμένει κλειστό, ενώ οι ιστοί είναι λευκοί ή κιτρινωποί αφού δεν συντίθεται χλωροφύλλη. Τα ωχρωτικά αρτίβλαστα ζουν ετερότροφα, καταναλώνοντας τα θρεπτικά αποθέματα του σπέρματος: Όταν τα αποθέματα εξαντληθούν, τα αρτίβλαστα νεκρώνονται.

Εάν η βλάστηση του σπέρματος πραγματοποιηθεί παρουσία φωτισμού τότε το αναπτυξιακό πρόγραμμα ακολουθεί την πορεία της **φωτομορφογένεσης**: Η φωτεινή ακτινοβολία ασκεί συνεχή έλεγχο στην πορεία ανάπτυξης και διαφοροποίησης του αρτίβλαστου, μέχρι και τη συμπλήρωση του βιολογικού του κύκλου. Ο έλεγχος αυτός ασκείται κυρίως μέσω του φωτεινού καθεστώτος (ποιότητα και ένταση φωτεινής ακτινοβολίας) που επικρατεί κατά τη διάρκεια της

ανάπτυξης. Η αντίληψη των φωτεινών ερεθισμάτων πραγματοποιείται μέσω ενός εξειδικευμένου φωτοδέκτη που ονομάζεται **φυτόχρωμα**.

Η παρούσα άσκηση έχει δύο στόχους:

A. Μέτρηση της βλαστικότητας των σπερμάτων μαρουλιού στο φως και στο σκοτάδι.

Η διαδικασία της σποράς και της μέτρησης της βλαστικότητας των σπερμάτων του μαρουλιού είναι η εξής:

1. Πλένουμε δύο τριβλία με απορρυπαντικό και τα ξεπλένουμε με νερό βρύσης.
2. Πλένουμε τα τριβλία με λευκό οινόπνευμα και τα ξεπλένουμε καλά με νερό βρύσης. (Αυτό το κάνουμε για να αποφύγουμε όσο είναι δυνατόν τις μολύνσεις από μικροοργανισμούς που επηρεάζουν την βλάστηση των σπερμάτων).
3. Κόβουμε τρία φύλλα χαρτιού κουζίνας στο σχήμα της βάσης κάθε τριβλίου.
4. Το ένα το τοποθετούμε στο καπάκι κάθε τριβλίου και το διαβρέχουμε. Απομακρύνουμε την περίσσεια του νερού.
5. Τοποθετούμε στη βάση κάθε τριβλίου τους άλλους δύο δίσκους του χαρτιού και τους διαβρέχουμε.
6. Κόβουμε ένα μικρό κομμάτι βαμβάκι και το ξεπλένουμε καλά , το ενυδατώνουμε έτσι ώστε να στάζει λίγο και το τοποθετούμε στην περιφέρεια του τριβλίου.
7. Διασπείρουμε ικανό αριθμό σπερμάτων μαρουλιού (περισσότερους από 80) στη βάση κάθε τριβλίου και το κλείνουμε με το καπάκι.
8. Το ένα εκ των δύο τριβλίων το καλύπτουμε με διπλή στρώση αλουμινόχαρτου, ενώ το άλλο παραμένει ακάλυπτο. Μεταφέρουμε και τα δύο τριβλία σε άπλετο φωτισμό και παραμένουν στις συνθήκες αυτές μέχρι να μεγιστοποιηθεί ο αριθμός των βλαστημένων σπερμάτων στο ακάλυπτο τριβλίο. Το άλλο τριβλίο παραμένει συνεχώς καλυμμένο με αλουμινόχαρτο.
9. Μετράμε πόσα σπέρματα βλάστησαν σε κάθε περίπτωση και συμπληρώνουμε τον παρακάτω πίνακα.

| Χειρισμός | Χρόνος από τη σπορά (ημέρες) | Αριθμός σπερμάτων για βλάστηση | Αριθμός σπερμάτων που βλάστησαν | Βλαστικότητα | μήκος βλαστού |
|-----------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------|---------------|
| φως | | | | | |
| σκοτάδι | | | | | |

B. Σύγκριση των χαρακτηριστικών των νεαρών αρτιβλάστων που ακολουθούν το αναπτυξιακό πρόγραμμα της σκοτομορφογένεσης ή της φωτομορφογένεσης

1. Κάνουμε ένα σκαρίφημα των φωτισμένων και ωχρωτικών αρτίβλαστων
2. Μετράμε το μήκος του βλαστού σε κάθε περίπτωση