

An.

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ - ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ - ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΖΩΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΚΟΥΡΕΤΑΣ**

ΠΑΝΕΠ. ΕΤΟΣ 2003-2004

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΗΡΩΝ ΤΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ
ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ *Malus commixis* (ΜΗΛΑ), *Fragaria vesca*
(ΦΡΑΟΥΛΕΣ) ΚΑΙ *Citrus paradisi* (ΓΚΡΕΪΠ- ΦΡΟΥΤ) ΣΤΟ
ΡΥΘΜΟ ΦΩΤΟΑΠΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΥ-
ΑΚΑΡΕΟΚΤΟΝΟΥ CHLORPYRIFOS- METHYL ΚΑΙ ΤΟΥ
ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΟΥ PROCYMIDONE**

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ Γ. ΕΥΘΥΜΙΑΔΗ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

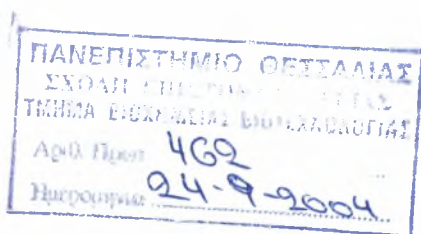
ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ - ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2004



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 3979/1
Ημερ. Εισ.: 09-03-2005
Δωρεά:
Ταξινόμησης Κωδικός: ΠΤ - ΒΒ
2004
ΕΥΘ



**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΗΡΩΝ ΤΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ
Malus commixis (ΜΗΛΑ), *Fragaria vesca* (ΦΡΑΟΥΛΕΣ) ΚΑΙ *Citrus paradisi*
(ΓΚΡΕΪΠ- ΦΡΟΥΤ) ΣΤΟ ΡΥΘΜΟ ΦΩΤΟΑΠΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ
ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΥ- ΑΚΑΡΕΟΚΤΟΝΟΥ CHLORPYRIFOS- METHYL ΚΑΙ
ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΟΥ PROCYMIDONE**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκαν στο μικροσκόπιο κατόπιν διαφόρων κατεργασιών και άνευ κατεργασίας οι επιδερμικοί κηροί των φρούτων από τρία διαφορετικά φυτικά είδη, μήλα (*Malus commixis*) ποικιλίας Golden, φράουλες (*Fragaria vesca*) και γκρέϊπ- φρουτ (*Citrus paradisi*). Εξετάστηκε συγκριτικά η μορφολογία τους, καθώς κι οι επιδράσεις που είχε πάνω τους η εκάστοτε κατεργασία. Εκτιμήθηκε η αποτελεσματικότητα των διαφόρων μεθόδων εξαγωγής κηρών. Εν συνεχεία, μελετήθηκε η επίδραση των επιδερμικών κηρών του κάθε φρούτου, στο ρυθμό φωτοαποδόμησης του δικαρβοξυμιδικού μυκητοκτόνου procymidone και του οργανοφωσφορικού εντομοκτόνου- ακαρεοκτόνου chlorpyrifos- methyl. Οι κηροί κι απ' τα τρία είδη φρούτων παρουσίασαν αρνητική επίδραση στους ρυθμούς φωτοαποδόμησης και των δύο παρασιτοκτόνων, αυξάνοντας το χρόνο ημιζωής τους. Τέλος, έλαβε χώρα σύγκριση των αποτελεσμάτων ανάμεσα στα διαφορετικά φρούτα και τα παρασιτοκτόα που χρησιμοποιήθηκαν. Οι διαφορές που παρουσιάστηκαν συσχετίστηκαν με την ποιότητα και τη δομή κι όχι με την ποσότητα των κηρών του κάθε φρούτου.

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φυτική επιδερμίδα αποτελείται από μια μη κυτταρική, λιποειδική μεμβράνη (Bukovac et al., 1981)- η οποία απαρτίζεται κατά ένα μεγάλο ποσοστό από κηρούς- κι από ένα επιδερμικό πολυμερές κουτίνης (Martin and Juniper, 1970; Jeffree, 1996; Kolattukudy, 1980,2001; Halloway, 1982; Bargel et al., 2003). Κατόπιν της εφαρμογής τους τα παρασιτοκτόνα εξαπλώνονται στους επιδερμικούς κηρούς που υπάρχουν στα φρούτα (Riederer & Schreiber, 1995). Οι φυτικοί κηροί αποτελούν ένα μίγμα μη πολικών συμπλόκων μακρών αλυσίδων (υδρογονανθράκων, αλδεύδων, κετονών, αλκοολών, ελεύθερων κι εστεροποιημένων λιπαρών οξέων κ.α.) (Bianchi, 1995). Η σύσταση κι η ποσότητα των κηρών ποικίλουν σε διαφορετικά φυτικά είδη (πίνακας 1), ενώ στο ίδιο είδος μπορεί να ποικίλουν ανάλογα με τη διατροφή, το

στάδιο ανάπτυξης στο οποίο βρίσκεται το φυτό, τις καιρικές και τις περιβαλλοντικές συνθήκες.

Έχει αποδειχτεί πως οι επιδερμικοί κηροί μπορούν να επηρεάσουν το ρυθμό

Σχετικές αναλογίες (μάζα %) των συνηθέστερων συστατικών κηρών σε κάποια φυτικά είδη

	φύλλο σταφυλιού	Φύλλο ελαιοκράμβης	καρπός μήλου	άνθος τριαντάφυλλου	φύλλο μπιζελιού	κλαδί σακχαροκαλάμου
Υδρογονάνθρακες	2	33	20	58	40-50	2-8
Εστέρες	6	16	18	11	5-10	6
Αλδεϋδες	6	3	2	-	5	50
Κετόνες	-	20	3		-	-
Δευτεροταγείς αλκοόλες	-	8	20	9	7	-
Πρωτοταγείς αλκοόλες	60	12	6	4	20	5-25
Οξέα	8	8	20	5	6	3-8

Πίνακας 1. Συστατικά κηρών κάποιων φυτικών ειδών. Από Hamilton RJ (Editor) *Waxes: Chemistry, molecular biology and functions* (The Oily Press, Dundee 1995)

της φωτοαποδόμησης των παρασιτοκτόνων, καθώς και τα προϊόντα που παράγονται κατά τη διάρκεια αυτής (Cabras et al., 1997; Pirisi et al., 1998; Pirisi et al., 2001; Angioni et al., 2004). Η επίδραση των κηρών έγκειται στην αύξηση ή τη μείωση των ρυθμών αποδόμησης των παρασιτοκτόνων, ενώ είναι δυνατό ακόμα και να μην υπάρχει καμία επίδραση, καθώς σε πολλές περιπτώσεις ο ρυθμός αποδόμησης παραμένει σταθερός.

Είναι ενδεικτικό πως σε μελέτη σχετικά με την επίδραση των επιδερμικών κηρών στην αποδόμηση του παρασιτοκτόνου ροτενόνη, τα αποτελέσματα ήταν διαφορετικά ανάλογα με το είδος φρούτου απ' όπου προέρχονταν οι κηροί. Ειδικότερα, οι κηροί από μήλα και αχλάδια αύξησαν το ρυθμό αποδόμησης του παρασιτοκτόνου, ενώ οι κηροί από ντομάτες, νεκταρίνια και δαμάσκηνα προκάλεσαν τη μείωση του ρυθμού αποδόμησης (Angioni et al., 2004). Εξίσου σημαντικά είναι τα αποτελέσματα της μελέτης της επίδρασης των κηρών των ελιών, των πορτοκαλιών και των νεκταρινιών στη φωτοαποδόμηση του fenthion. Στην περίπτωση αυτή οι κηροί των πορτοκαλιών και των νεκταρινιών αυξάνουν την αποδόμηση του εν λόγω παρασιτοκτόνου, ενώ οι κηροί των ελιών την μειώνουν (Cabras et al., 1997).

Στην παρούσα διπλωματική διατριβή έλαβαν χώρα τρεις κύριες ομάδες πειραμάτων με τρεις βασικούς στόχους. Η πρώτη ομάδα είχε ως στόχο την παρατήρηση σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο της φυτικής επιδερμίδας των μήλων, των φραουλών και των γκρέιπ- φρουτ και τη μετέπειτα εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με τη μορφολογία των κηρών σε κάθε είδος. Κατά τη δεύτερη πειραματική ομάδα συγκρίθηκε η αποτελεσματικότητα των διαφόρων μεθόδων εξαγωγής κηρών που χρησιμοποιήθηκαν. Στην τρίτη πειραματική ομάδα συμπεριλήφθησαν πειραματικές διαδικασίες μέσω των οποίων εκτιμήθηκε η επίδραση των κηρών από κάθε είδος στα δύο παρασιτοκτόνα procymidone και chlorpyrifos- methyl.

Η επιλογή των συγκεκριμένων ειδών φρούτων και των συγκεκριμένων παρασιτοκτόνων που χρησιμοποιήθηκαν έγινε διότι αφενός τα εν λόγω φρούτα είναι από τα πλέον δημοφιλή προς κατανάλωση κι αφετέρου γιατί κατάλοιπα των συγκεκριμένων παρασιτοκτόνων εντοπίστηκαν σε σημαντικά ποσοστά όχι μόνο στα μήλα, τις φράουλες και τα γκρέιπ- φρουτ, αλλά και σε πολλά άλλα λαχανικά και φρούτα (European Commission, Monitoring of Pesticides Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway, Iceland and Liechtenstein 2001 Report; Ministero Italiano Della Salute, Controllo Ufficiale Sui Residui Di Prodotti Fitosanitari Negli Alimenti Di Origine Vegetale, risultati in Italia per l' anno 2002, 2003) και κατά συνέπεια η μελέτη της φωτοαποικοδόμησής τους καθίσταται ιδιαίτερος σημαντική.

Ακολουθεί μια εκτενής αναφορά στις φυσικοχημικές ιδιότητες των δύο παρασιτοκτόνων που μελετήθηκαν, καθώς και μια περιεκτική περιγραφή των ως τώρα καταγεγραμμένων φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των φυτικών κηρών.

1.1. CHLORPYRIFOS- METHYL

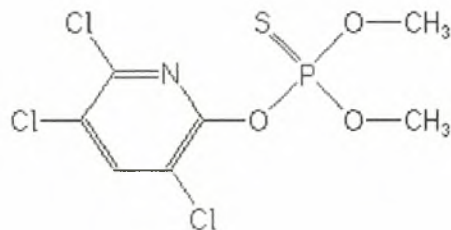
1.1.1. ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

M.B.: 322,5

ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ: C₇H₇Cl₃NO₃PS

ΔΟΜΗ: Άχρωμοι κρύσταλλοι με μια αμυδρή οσμή μερκαπτάνης.

ΣΗΜΕΙΟ ΤΗΞΗΣ: 45,5-46,5°C



Συντακτικός τύπος chlorpyrifos- methyl

1.1.2. ΕΦΑΡΜΟΓΗ

ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ-ΧΡΗΣΕΙΣ

Μη συστηματικό οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο που δρα ως αναστολέας της ακέτυλο-χολινεστεράσης. Εφαρμόζεται ευρέως για τον έλεγχο κολεόπτρων, ομόπτρων και λεπιδόπτρων που αναπτύσσονται στα δημητριακά, καθώς και παρασίτων πολλών φυλλωδών καλλιεργειών, όπως χυμωδών φρούτων, φρούτων με σκληρό κουκούτσι, ζαχαροκάλαμων, κίτρων, αμπελιών, φασολιών, φραουλών, λαχανικών, ντοματών, τσαγιού, ρυζιού, βαμβακιού κι άλλων. Οι βιομηχανικές εφαρμογές κι οι εφαρμογές στα πλαίσια της δημόσιας υγείας περιλαμβάνουν χρήση του παρασιτοκτόνου ενόψει ελέγχου ανάπτυξης δίπτερων της οικογένειας *Muscidae* και ερπόντων εντόμων. Το κύριο εμπορικό σκεύασμα έχει την επωνυμία “Reldan” (DowElanco).

1.1.3. ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ

ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Πρόκειται για μη φυτοτοξικό εντομοκτόνο στα περισσότερα είδη φυτών όταν εφαρμόζεται στις προτεινόμενες δόσεις και μορφές

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΘΗΛΑΣΤΙΚΑ

Οξεία *per os* LD₅₀: για τους αρουραίους >3000, για τα ποντίκια 1100-2250, για τα ινδικά χοιρίδια 2250 και για τους λαγούς 2000mg/kg. Οξεία δερματική LD₅₀: για τους λαγούς >2000, για τους αρουραίους >3700mg/kg. Δεν ερεθίζει το δέρμα και τα μάτια. Αναπνευστική LC₅₀: (4 ώρες) για τους αρουραίους >0,67mg/l.

ΟΙΚΟΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ

Πτηνά: Οξεία *per os* LD₅₀ για τα κοτόπουλα >7950mg/kg (χορήγηση υπό μορφή κάψουλων). LC₅₀ κατόπιν διαίτας οκτώ ημερών για τις αγριόπαπιες 2500-5000mg/kg.

Ψάρια: LC₅₀ (96 ώρες) για τις πέστροφες 0,3mg/l.

Μέλισσες: Πολύ τοξικό στις μέλισσες. LD₅₀ (επαφή) 0,38μg/μέλισσα.

Οστρακόδερμα του γένους *Daphnia*: EC₅₀ (24 ώρες) 0,016-0,025ppm. Γενικά τοξικό στα οστρακόδερμα. LC₅₀ (36 ώρες) για αστακοειδή οστρακόδερμα 0,004mg/l.

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

Στα ζώα: Στους αρουραίους και σε άλλα θηλαστικά, κατόπιν στοματικής χορήγησης, μεταβολίζεται ταχέως και κύριος μεταβολίτης είναι η 3,5,6-τριχλωρο-2-πυριδινόλη. Η απέκκριση επιτελείται κυρίως μέσω των ούρων.

Στο έδαφος και στο νερό: Υφίσταται μικροβιακή αποδόμηση σε 3,5,6-τριχλωροπυριδίν-2-όλη, η οποία εν συνεχεία μεταβολίζεται σε οργανοχλωρικά σύμπλοκα και διοξείδιο του άνθρακα. Η DT₅₀ στο έδαφος ποικίλει από 1,5 ως 33 μέρες ανάλογα με το είδος του εδάφους και τη μικροβιακή δραστηριότητα.

Τα μη συστηματικά παρασιτοκτόνα αφού συσσωρευτούν στα φρούτα, αποικοδομούνται κυρίως με εξάτμιση, αποδόμηση μέσω θερμότητας, co-distillation και φωτοαποδόμηση (μέσω του ηλιακού φωτός). Ειδικά η φωτοαποδόμηση αποτελεί μια από τις βασικότερες διεργασίες διάσπασης του συγκεκριμένου εντομοκτόνου (Angioni et al., 2004).

1.2. PROCYMIDONE

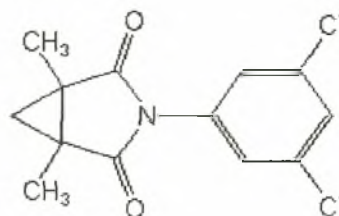
1.2.1. ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

M.B.: 284,1

ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ: C₁₃H₁₁Cl₂NO₂

ΔΟΜΗ: Άχρωμοι κρύσταλλοι

ΣΗΜΕΙΟ ΤΗΞΗΣ: 166-166,5°C



Συντακτικός τύπος procymidone

1.2.2. ΕΦΑΡΜΟΓΗ

ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ-ΧΡΗΣΕΙΣ

Συστηματικό δικαρβαμίδικο μυκητοκτόνο με προστατευτική και θεραπευτική δράση. Απορροφάται από τις ρίζες και μετακινείται στα φύλλα και στα άνθη. Λειτουργεί αναστέλλοντας τη σύνθεση τριγλυκεριδίων στους μύκητες. Εφαρμόζεται ευρέως για τον έλεγχο της ανάπτυξης των ειδών *Botrytis*, *Sclerotinia*, *Monilia* και *Helminthosporium spp* σε φρούτα όπως οι φράουλες και τα βατόμουρα, σε αμπέλια, σε λαχανικά όπως ντομάτες, φασόλια και μπιζέλια, σε καλλωπιστικά φυτά, σε δημητριακά, σε ηλιοτρόπια, σε καλλιέργειες ελαιοκράμβης και σόγιας, σε καλλιέργειες καπνών, φιστικιών κ.α. Το procymidone δρα ως μυκητοκτόνο επαφής κι έχει μερική διασυστηματική δράση. Κυρίως παραμένει στην επιφάνεια του φυτού και διεισδύει ελαφρώς στα στρώματα της φυτικής επιδερμίδας, γεγονός που το καθιστά ιδιαίτερος εκτεθειμένο στο φως του ήλιου (Perkow, 1983/1988).

1.2.3. ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ

ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Μη φυτοτοξικό μυκητοκτόνο όταν χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης. Η χρήση του δεν ενδείκνυται σε κυκλάμινα κατόπιν του σταδίου ανθοφορίας. Τα συχνότερα εμπορικά σκευάσματα φέρουν τις επωνυμίες “Sumisclex” (Sumitomo) και “Sumilex” (Sumitomo).

ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΘΗΛΑΣΤΙΚΑ

Οξεία per os LD₅₀: για τους αρσενικούς αρουραίους 6800, για τους θηλυκούς αρουραίους 7700, για τα ποντίκια 7800-9100mg/kg. Οξεία δερματική LD₅₀: για τα αρσενικά ποντίκια 7800, για τα θηλυκά ποντίκια 9100, για τους αρουραίους >2500mg/kg. Δεν ερεθίζει το δέρμα και τα μάτια (λαγοί). Αναπνευστική LC₅₀: (4 ώρες) για τους αρουραίους >1500mg/m³.

ΟΙΚΟΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ

Ψάρια: LC₅₀ (96 ώρες) για τις πέρκες 22,9, για τις πέστροφες 3,6mg/l, για τους κυπρίνους (48 ώρες) >10mg/l.

Μέλισσες: Μη τοξικό στις μέλισσες.

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

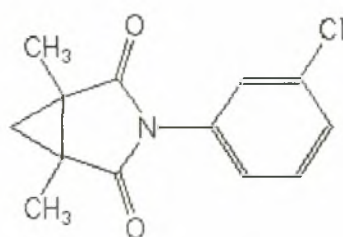
Στα ζώα: Αποικοδομείται ταχέως κι απεκκρίνεται μέσω των ούρων και των κοπράνων.

Στο έδαφος και στο νερό: Παραμένει στο έδαφος για 4 ως 12 βδομάδες, ανάλογα με το οργανικό υλικό αποσάθρωσης των φυτών (Tomlin Clive (editor), 1994; The Pesticide Manual, 10th edition).

Στη φύση το procymidone αποικοδομείται σε νερά ποταμών και θαλασσών κυρίως μέσω υδρόλυσης, ενώ το ηλιακό φως φαίνεται να έχει μικρή επίδραση στη φωτοαποικοδόμησή του (Mikami et al., 1984).

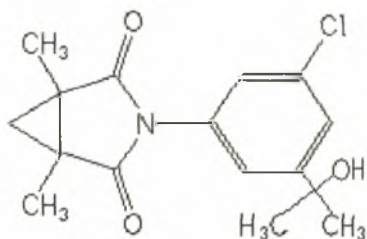
Παρ’ όλ’ αυτά, έχει προταθεί πως το ολεϊκό οξύ έχει θετική επίδραση στη φωτοαποδόμηση του

procymidone (Nurahara & Muray, 1984). Σε διάλυμα ισοπροπανόλης η φωτοαποδόμηση του επιτελείται μέσω απαλογόνωσης και το κύριο προϊόν που



Εικόνα 1. Προϊόν 1

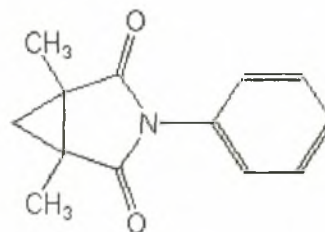
παράγεται είναι ένα διχλωρο- παράγωγο (Schwack et al., 1989). Επιπλέον, η φωτοαποδόμηση του procymidone ευνοείται σε διάλυμα ισοπροπανόλης σε σχέση με άλλα διαλύματα. Ειδικότερα, με χρήση ακτινοβολίας UV ($\lambda > 280\text{nm}$) έχει



Εικόνα 2. Προϊόν 2

παρατηρηθεί αυξημένη φωτοαποδόμηση του procymidone σε διάλυμα ισοπροπανόλης (σε 5 ώρες παρατηρήθηκε αποδόμηση της τάξης του 61%), ενώ σε διαλύματα κυκλοεξανίου και κυκλοεξενίου η φωτοαποδόμηση ήταν της τάξης του 10% και 6% αντίστοιχα. Στα διαλύματα ισοπροπανόλης και κυκλοεξανίου η φωτοαποδόμηση λαμβάνει χώρα

πρωτίστως μέσω απαλογονώσεων και κατά δεύτερο λόγο μέσω αντικαταστάσεων, εν αντιθέσει με τα διαλύματα κυκλοεξενίου όπου κυριαρχούν οι αντικαταστάσεις φαινυλιομένων Cl του μυκητοκτόνου και εν τέλει τα ποσοστά του μονοαπαλογονωμένου procymidone είναι πολύ μικρά. Στις εικόνες απεικονίζονται τα τρία κύρια προϊόντα



Εικόνα 3. Προϊόν 3

φωτοαποδόμησης του procymidone σε διάλυμα ισοπροπανόλης. Το προϊόν 1 (Εικόνα 1), εντοπίζεται κατόπιν 5 ωρών σε ποσοστό 72%, ενώ τα προϊόντα 2 (Εικόνα 2) και 3 (Εικόνα 3) σε ποσοστά 12% και 6% αντίστοιχα (Schwack et al., 1995).

Οι Hustert και Moza (1997) μελέτησαν τη φωτοχημική αποδόμηση του procymidone χρησιμοποιώντας μια λάμπα υδραργύρου υπό την παρουσία εδαφικών συστατικών σε νερό. Ο ρυθμός φωτοαποδόμησης παρουσιάστηκε αυξημένος όταν υπήρχαν χουμικά και φουλβικά οξέα, τα οποία απομακρύνονταν με προσθήκη Fe_2O_3 και TiO_2 . Η ισομερίωση και η αποχλωρίωση αποτελούσαν τα κύρια μονοπάτια φωτοαποδόμησης του procymidone (Burrows et al., 2002).

1.3. ΦΥΤΙΚΟΙ ΚΗΡΟΙ

1.3.1. ΚΗΡΟΙ

Ο όρος «φυτικός κηρός» αποτελεί συλλογικό όρο που χρησιμοποιείται για να περιγράψει γενικά λιπιδιακά συστατικά της επιδερμίδας που βρίσκονται στην εξωτερική επιφάνεια των φυτικών ιστών. Επιπλέον, οι κηροί συνδέονται και με το φελλώδη ιστό σε υπόγειους και σε τραυματισμένους ιστούς (von Wettstein- Knowles P, 1995), όπως και με λιπίδια που βρίσκονται στη γύρη και στη φλούδα του σπόρου

(Bianchi et al. 1990; Preuss et al. 1993; Liu et al 1996; Isbell et al, 1996; Reiter et al., 1990).

Οι κηροί μπορούν να διακριθούν σε άμορφους, ενδοεπιδερμικούς κηρούς που εδράζονται επί του πολυμερούς της επιδερμίδας και σε επιδερμικούς κηρούς κρυσταλλικής δομής που καλύπτουν την εξωτερική φυτική επιφάνεια και φέρουν χαρακτηριστικό ανάγλυφο (Kunst et al. 2003). Παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλότητα στη χημική δομή τους κι αποτελούν τα πιο άφθονα λιπίδια στη φύση. Οι μεταβολές των περιβαλλοντικών συνθηκών κι ειδικά αυτών που επηρεάζουν την υγρασία και την ένταση του φωτός είναι δυνατό να οδηγήσουν σε διαφοροποιήσεις στη μορφολογία, αλλά και στη σύσταση των κηρών (Shepherd et al., 1995).

1.3.2. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΗΡΩΝ

Ο ρόλος των κηρών είναι δομικός, καθώς πρόκειται για βασικά συστατικά της φυτικής επιδερμίδας, αλλά και λειτουργικός, καθώς αποτελούν βιομόρια μεγάλης οικολογικής σημασίας, συμμετέχοντας στις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα φυτά και στο περιβάλλον. Οι επιφάνειες που σχηματίζουν οι φυτικοί κηροί είναι μικροκρυσταλλικές σε δομή και αποτελούν το τελευταίο προστατευτικό όριο της επιδερμικής μεμβράνης (Riederer & Schreiber, 1995; Kirkwood, 1999). Ουσιαστικά είναι το μέσο επικοινωνίας των εναέριων τμημάτων των φυτών με την ατμόσφαιρα. Γι' αυτό και διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση ανάμεσα στην ατμόσφαιρα και το φυτό κι αποτελούν βιομόρια μεγάλης οικολογικής σημασίας. Ειδικότερα, οι κηροί περιορίζουν τη μη στοματική απώλεια νερού (Schonherr, 1976, 1982; Riederer & Schreiber, 1995), ιόντων και διαλυτών ουσιών μέσω παρεμπόδισης της διάχυσης κι ελέγχουν την απελευθέρωση πτητικών ουσιών. Επιπλέον, προσδίδουν στα φυτά ανθεκτικότητα στην ξηρασία (Christie, W.W., *Lipid Analysis* (3rd Edition); Oily Press, Bridgewater 2003), αλλά και στην υπεριώδη ακτινοβολία (Reicosky et al., 1978; Barnes et al., 1996). Σε κάποιες περιπτώσεις οι κηροί αυξάνουν την αντανάκλαση της εισερχόμενης ηλιακής ακτινοβολίας (Barnes & Cardoso- Vilhena, 1996; Pilon et al., 1999; Holmes & Keiller, 2002).

Συν τοις άλλοις, οι κηροί μειώνουν την κατακράτηση νερού στη φυτική επιφάνεια και κατά συνέπεια περιορίζουν τη συσσώρευση σκόνης, γύρης και αέριων ρύπων (Kerstiens et al 1996; Barthlott et al 1998). Παράλληλα, ενισχύουν την άμυνα του φυτού ενόψει της αντιμετώπισης βακτηριακών και μυκητιακών παθογόνων (Carver et al., 1990; Podila et al., 1993; Jenks et al., 1994; Flaishman et al., 1995) και

συμμετέχουν σ' ένα ευρύ φάσμα αλληλεπιδράσεων μεταξύ φυτών κι εντόμων (Stadler, 1986; van Loon et al., 1992; Eigenbrode & Espelie 1995).

Οι μεταφορικές ιδιότητες της φυτικής επιδερμίδας καθορίζονται από χαρακτηριστικά συμπαγή, μερικώς κρυσταλλικά, συσσωματώματα κηρών που βρίσκονται στα εξωτερικά τμήματα του επιδερμικού πολυμερούς. Τα συσσωματώματα αυτά σχηματίζουν ένα είδος μηχανικά σταθερής μήτρας πολυμερούς, η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά ουσιών από και προς το φυτό (Riederer & Schreiber, 1995; Schreiber, 2001).

Ιδιαίτερος έχει μελετηθεί η επίδραση των επιδερμικών κηρών στην ανάπτυξη εξωτερικών συμπτωμάτων παγετού στα γκρέιπ- φρουτ (McDonald et al., 1993). Η μορφολογία κι η σύσταση των κηρών του γκρέιπ- φρουτ πιθανώς επηρεάζουν τη δημιουργία παγετού μέσω του περιορισμού ανταλλαγής αερίων μεταξύ φυτού και περιβάλλοντος (Nordby & McDonald, 1990, 1991; McDonald et al., 1993).

Λαμβάνοντας υπόψη τη σπουδαιότητα του πολλαπλού λειτουργικού ρόλου των κηρών, είναι πολύ σημαντικό να τονιστεί πως έχει αποδειχτεί ότι οι επιδερμικοί κηροί έχουν την ικανότητα να αναγεννιούνται συνεχώς μέσω μιας άκρως δυναμικής διαδικασίας (Koch et al., 2003) διατηρώντας έτσι τις προστατευτικές τους ιδιότητες προς το φυτό.

1.3.3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΗΡΩΝ

Οι κηροί που βρίσκονται στις επιφάνειες των φρούτων και των φύλλων των φυτών συγκέντρωναν το ενδιαφέρον των βοτανολόγων- φυσιολόγων φυτών για παραπάνω από έναν αιώνα. Χαρακτηριστικές είναι πολύ πρώιμες αναφορές στα μακροσκοπικά ορατά χαρακτηριστικά των φυτικών επιδερμίδων και των κηρών, όπως για παράδειγμα η αντανάκλαση του φωτός κι η διαβρεξιμότητα (Sprengel, 1873; Darwin, 1886; Kerner von Marilaum, 1913), αλλά και πιο όψιμες αναφορές που επικεντρώθηκαν σε μια πλέον λεπτομερή περιγραφή της δομής της επιδερμίδας (Lee & Priestley, 1924; Frey, 1926; Jurasky, 1934; Fritz, 1935).

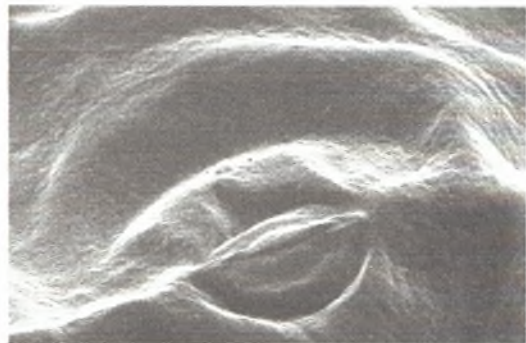
Η δομή των φυτικών κηρών πλέον μελετάται ευρέως, ιδίως κατόπιν της εισαγωγής της χρήσης του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου κι η σχετική βιβλιογραφία είναι πολύ πλούσια. Παρ' όλ' αυτά, υπάρχει έλλειψη βιβλιογραφίας όσον αφορά στην

ακριβή ορολογία και ταξινόμηση των κηρών, γεγονός που περιπλέκει τη δυνατότητα σύγκρισης ευρημάτων σχετικών με τη δομή των κηρών.¹

Η μορφολογική ποικιλότητα που παρουσιάζουν οι επιδερμικοί κηροί είναι πολύ μεγάλη και κατά συνέπεια οι διάφορες δομικές μορφές κατατάσσονται σ' ένα πολύ ευρύ φάσμα ταξινόμησης. Ένας αρχικός διαχωρισμός μπορεί να γίνει ανάμεσα σε **μεμβράνες, στρώματα και κρούστες, κρυσταλλοειδή** (Σχήμα 1). Οι μεμβράνες αποτελούν την πιο ευρέως διαδεδομένη μορφή κηρών, ενώ τα στρώματα κι οι κρούστες αποτελούν πιο σπάνιες μορφές. Τα κρυσταλλοειδή είναι χαρακτηριστικές μορφές κρυσταλλικών τοπικών προβολών κηρών, οι οποίες πιθανά προκύπτουν από συναθροισμένα μόρια κηρών. Οι συναθροισμένοι κρυσταλλικοί κηροί σχηματίζουν λεπτεπίλεπτες μικροδομές που προεξέχουν από τις υποκείμενες μεμβράνες κηρών (Koch et al., 2003).

1.3.3.1. MEMBRANES

Οι **μεμβράνες** αποτελούν το τελευταίο στρώμα της φυτικής επιδερμίδας. Πρόκειται για πολύ λεπτά καλύμματα, πάχους μόλις μερικών nm, τα οποία είναι πολύ δύσκολα ορατά με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Εικόνα 4). Αποτελούνται πιθανώς από λίγα στρώματα μορίων και κατά την ξήρανση των φρούτων παραμένουν ακέραια και δεν



Εικόνα 4 (από Barthlott et al., 1998). Μεμβράνη από *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Ariaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 10μm.

¹ Η πρώτη προσπάθεια ταξινόμησης έγινε το 1871 (de Bary), όπου μελετήθηκαν 60 είδη, οι επιδερμικοί κηροί των οποίων ταξινομήθηκαν σε τέσσερις κατηγορίες δομών: στρώματα και κρούστες, ράβδοι, κόκκοι και σωροί καλυμμάτων. Με την εισαγωγή του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, η μελέτη της δομής των κηρών ευνοήθηκε και το 1967 οι Amelunxen, Moigenoth και Picksak βασίζόμενοι στα νέα ευρήματα, αλλά και στην ταξινόμηση του de Bary πρότειναν ένα ανανεωμένο σύστημα ταξινόμησης, το οποίο υιοθετήθηκε αργότερα από αρκετούς ερευνητές (Holloway, 1970; Napp-Zinn, 1973; Wilkinson, 1979). Στο συγκεκριμένο σύστημα ταξινόμησης αναγνωρίζονταν έξι τύποι επιδερμικών δομών κηρών με 19 παραλλαγές συνολικά: τρεις διαφορετικές παραλλαγές κόκκων, πέντε ράβδων, τέσσερις στρωμάτων και κρούστων, τρεις διαφορετικοί σωροί καλυμμάτων, δύο διαφορετικά ρευστά ή άμορφα στρώματα, καθώς και πετάλια και σκάλες. Το 1986 προτάθηκε ένα ακόμα περιεκτικό σύστημα ταξινόμησης (Jeffree) το οποίο συνόψιζε τα στοιχεία των προηγούμενων εμπλουτίζοντάς τα με στοιχεία από εκ νέου παρατηρήσεις. Το σύστημα αυτό πρότεινε 14 μορφολογικούς τύπους δομών επιδερμικών κηρών, κατόπιν μελέτης 480 τάξεων φυτών. Το 1997 προτάθηκε (Barthlott et al.) ένα ακόμα περιεκτικότερο και πληρέστερο σύστημα, το οποίο και λαμβάνεται υπόψη στην παρούσα πτυχακή διατριβή. Βασικό χαρακτηριστικό του συστήματος αυτού είναι ότι κατατάσσει τα κρυσταλλοειδή ως διαφορετική δομή κηρών και αποδίδει ιδιαίτερη βαρύτητα στην προέλευσή τους, ενώ αναγνωρίζει συνολικά 11 δομικές μορφές κηρών.

Σχήμα 1. Γενική κατάταξη των επιδερμικών κηρών σύμφωνα με τη μορφολογία τους.

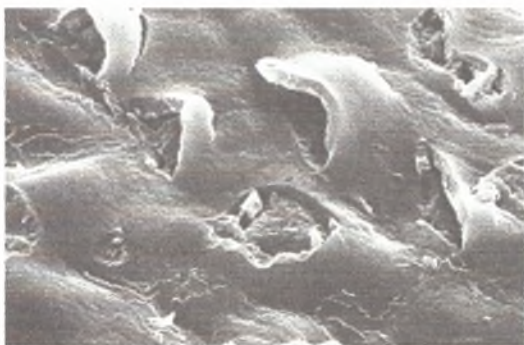


υφίστανται τεμαχισμό (Barthlott et al., 1998).

1.3.3.2. ΚΡΟΥΣΤΕΣ ΚΑΙ ΣΤΡΩΜΑΤΑ

Ως κρούστες και στρώματα κατατάσσονται κηροί που αποτελούν συνεχή καλύμματα αξιοσημείωτου πάχους, από 0,5 ως 10μm. Πρόκειται για δομές κηρών που συνήθως αναγνωρίζονται κατόπιν σχηματισμού ραγισμάτων επί της φυτικής επιδερμίδας. Οι κρούστες παρουσιάζουν ανάγλυφη επιφάνεια, ενώ τα στρώματα είτε δεν παρουσιάζουν επιφανειακό ανάγλυφο, οπότε και χαρακτηρίζονται ως επίπεδα στρώματα ή θρυμματίζονται σε ξεχωριστά τμήματα, οπότε και χαρακτηρίζονται ως ραγισμένα στρώματα.

Τα επίπεδα στρώματα έχουν συνήθως πάχος μικρότερο του 1μm και δεν



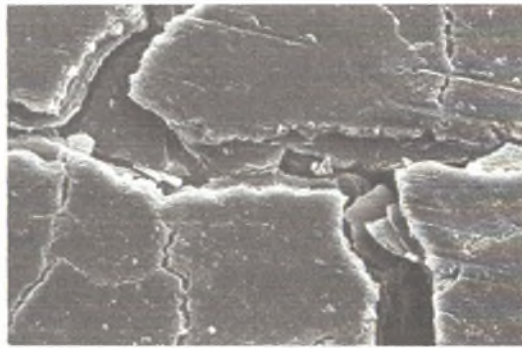
Εικόνα 5 (από Barthlott et al., 1998). Επίπεδο στρώμα από *Terminalia cf. seyrigii* (H. Peltier) Carmon (Combretaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 10μm.

παρασιάζουν ανάγλυφη επιφάνεια (Εικόνα 5). Λόγω του τεμαχισμού που υφίστανται κατόπιν κατεργασίας είναι ορατά στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και μπορούν να διακριθούν από τις μεμβράνες οι οποίες δεν παρουσιάζουν

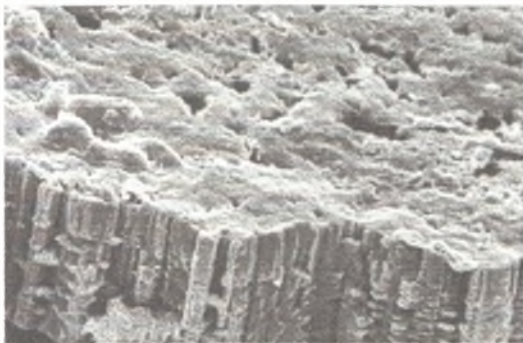
τον αντίστοιχο τεμαχισμό. Δομές κηρών που αναφέρονται στη βιβλιογραφία ως «ρητινώδη στρώματα» και «μαλακοί

κηροί» (Amelunxen et al., 1967; Jeffree, 1986) θα μπορούσαν να ταξινομηθούν ως επίπεδα στρώματα.

Τα **ραγισμένα (τεμαχισμένα) στρώματα** αποτελούν παχιές συνήθως δομές κηρών που έχουν αποσπαστεί από φυσικό τεμαχισμό, οι οποίες συχνά εμφανίζουν υπερυψωμένες ανάγλυφες επιφάνειες (Εικόνα 6). Η χαρακτηριστική τεθλασμένη μορφή αυτή προκύπτει από το σπάσιμο των στρωμάτων καθώς επεκτείνεται ο επιδερμικός ιστός κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του φυτού κι ενώσω ο ρυθμός παραγωγής κηρών ποικίλει.



Εικόνα 6 (από Barthlott et al., 1998). Ραγισμένο στρώμα από *Frerea indica* Dalzell (Asclepiadaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 20μm.



Εικόνα 7 (από Barthlott et al., 1998). Κρούστες από *Copernicia cowellii* Britton & Wilson (Arecaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 10μm.

Οι **κρούστες** είναι συνεχή κηρώδη καλύμματα αξιοσημείωτου πάχους (συνήθως περισσότερο από 1μm) και χαρακτηριστικής ανάγλυφης επιφάνειας (Εικόνα 7). Πρόκειται για δομές κηρών που καταλαμβάνουν μεγάλη επιφάνεια (π.χ. 10mm στο *Copernicia cowellii*) κι είναι παρούσες σε μεγάλο βαθμό σε χυμώδη φυτά. Αρκετές κρούστες αποτελούν προϊόντα

διάβρωσης κρυσταλλοειδών. Συχνά μολυσμένα επίπεδα στρώματα είναι δυνατό να φαίνονται στο μικροσκόπιο ως κρούστες (Barthlott et al., 1998).

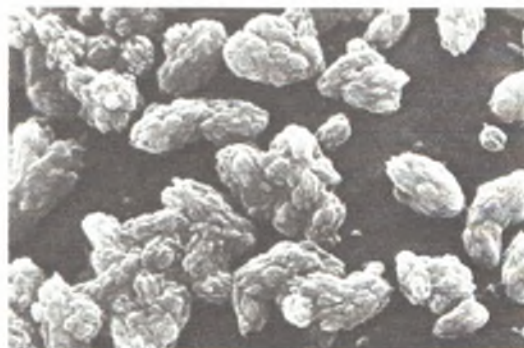
1.3.3.3. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΕΙΔΗ

Τα **κρυσταλλοειδή** αποτελούν ευδιάκριτες προβολές κηρών συνήθως με χαρακτηριστικό Σχήμα, μέγεθος προσανατολισμό προς την επιδερμίδα, οι οποίες προεξέχουν από τις μεμβράνες που καλύπτουν ευρέως την επιδερμίδα. Τα κρυσταλλοειδή κάθε τάξης φυτών φέρουν σχετικά σταθερό σχήμα. Στα περισσότερα είδη είναι εύκολο να διακριθούν, αλλά μερικές φορές σχηματίζουν πυκνά συμπλέγματα που τα καθιστούν παρόμοια σε εμφάνιση με τις κρούστες. Γενικά, τα κρυσταλλοειδή παρουσιάζουν ακανόνιστη κατανομή στη φυτική επιδερμίδα. Παρ' όλ' αυτά, σε συγκεκριμένα είδη συναθροίζονται σε μοτίβα με χαρακτηριστικό

προσανατολισμό και μορφή. Τα κρυσταλλοειδή διακρίνονται σε κόκκους, πετάλια, δισκοειδείς πλάκες, ράβδους, νήματα, σωληνίσκους και ενδιάμεσες κρυσταλλικές μορφές.

Συχνά διαφορετικά κρυσταλλοειδή εμφανίζονται στο ίδιο ή σε γειτονικά κύτταρα μιας επιδερμικής επιφάνειας, φαινόμενο γνωστό ως **συντοπισμός**. Στις περισσότερες περιπτώσεις συντοπισμού, πετάλια συνδυάζονται με κρυσταλλοειδή άλλων μορφών. Η μελέτη της σύστασης των κρυσταλλοειδών παρουσιάζει ως τώρα σημαντικές ελλείψεις κι έτσι δεν είναι ακόμα σαφές αν τα κρυσταλλοειδή που διαφέρουν σε μορφή διαφέρουν και σε χημική σύσταση. Είναι, όμως, σημαντικό το γεγονός ότι η τελική μορφή των κρυσταλλοειδών εξαρτάται από τις ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν κατά την κρυσταλλοποίηση (Jetter & Riederer, 1994), φαινόμενο που αποκαλείται **πολυμορφισμός** κρυσταλλοειδών. Ο συντοπισμός κι ο πολυμορφισμός συναντώνται πολύ συχνά στα διάφορα είδη φυτών.

Οι **κόκκοι** είναι συνήθως ισοδιαμετρικά, ανώμαλα, στρογγυλεμένα κρυσταλλοειδή, τα οποία μερικές φορές είναι κοίλα (Εικόνα 8). Οι κόκκοι σπανίως θεωρούνταν ως τώρα τυπικές μορφές κρυσταλλοειδών και παραμένει αμφίβολο το κατά πόσο αποτελούν κρυστάλλους. Είναι πολύ πιθανό διάφοροι μολυσματικοί



Εικόνα 8 (από Barthlott et al., 1998). Κόκκοι από *Aegiceras corniculatum* (L.) Blanco (Aegicerataceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 5μm.



Εικόνα 9 (από Barthlott et al., 1998). Πλήρη πετάλια από *Habropetalum dawei* (Hutch. & Dalziel) Lily Shaw (Dioncophyllaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στο 1μm.

παράγοντες να παρερμηνεύονται ως κόκκοι, αλλά και το αντίστροφο.

Τα **πετάλια** αποτελούν επίπεδα κρυσταλλοειδή που συνδέονται με τη φυτική επιφάνεια μέσω της στενής τους πλευράς. Πρόκειται για τα πιο συνήθη

κρυσταλλοειδή, που υπάρχουν σε όλες τις μεγάλες κατηγορίες φυτών (φτέρες, αγγειόσπερμα, γυμνόσπερμα). Βρίσκονται

προσδεμένα στη φυτική επιφάνεια υπό διαφορετικές γωνίες και το ύψος και το πλάτος τους ποικίλει σημαντικά. Τα πετάλια χωρίς ευδιάκριτες άκρες που συνδέονται

στη φυτική επιφάνεια με τη μία άκρη κι έχουν κάθετο προσανατολισμό μπορούν να διαφοροποιηθούν ανάλογα με τα όρια που παρουσιάζουν σε πλήρη πετάλια και μη πλήρη πετάλια.

Τα **πλήρη πετάλια** είναι επίπεδα κρυσταλλοειδή με πλήρη όρια που προεξέχουν συνήθως κάθετα από τη φυτική επιφάνεια κι έχουν ύψος 1-3μm συνήθως. Τα πλήρη πετάλια συχνά είναι ημικυκλικά και σχηματίζουν συσσωματώματα που οργανώνονται σε χαρακτηριστικά μοτίβα προσανατολισμού (Εικόνα 9).

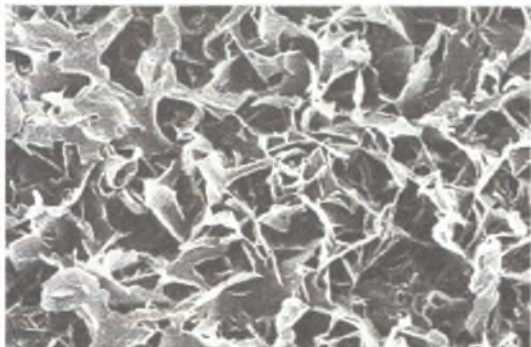


Εικόνα 10 (από Barthlott et al., 1998). Μη πλήρη πετάλια από *Odosicyos* spec. (Cucurbitaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 2μm.

Τα **μη πλήρη πετάλια** είναι κι αυτά επίπεδα κρυσταλλοειδή με ανώμαλα όρια, 1-10μm ύψους, τα οποία επίσης προεξέχουν κάθετα από την επιφάνεια (Εικόνα 10). Μπορούν να διαφοροποιηθούν ανάλογα με τη μορφή των ορίων τους σε διαβρωμένα, οδοντωτά, υπερυψωμένα και δαντελωτά.

Ο λόγος πλάτους/ ύψους παρουσιάζει πολύ μεγάλη ποικιλότητα στα μη πλήρη πετάλια. Όπως τα πλήρη έτσι και τα μη πλήρη συχνά οργανώνονται σε

συσσωματώματα χαρακτηριστικού προσανατολισμού.



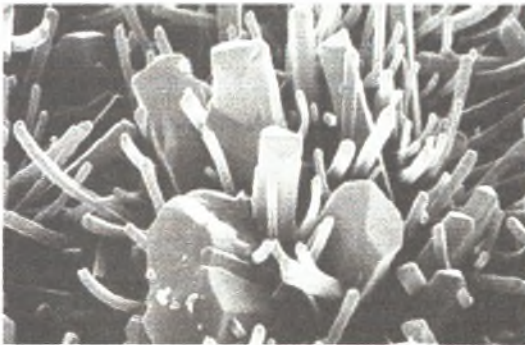
Εικόνα 11 (από Barthlott et al., 1998). Μεμβρανοειδή πετάλια από *Tilia miqeliana* Maxim. (Tiliaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 10μm.



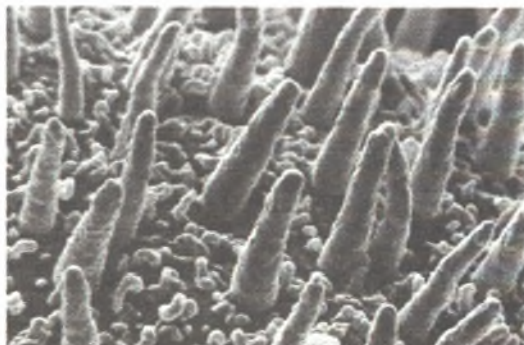
Εικόνα 12 (από Barthlott et al., 1998). Δισκοειδείς πλάκες από *Lecythis chartacea* Berg (Lecythidaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 5μm.

Τα **μεμβρανοειδή πετάλια** είναι επίπεδα, μεμβρανοειδή, συνήθως αλληλοσυνδεόμενα κρυσταλλοειδή που προεξέχουν από τις επιφάνειες σε οξεία γωνία και συχνά φέρουν νηματοειδείς προεκτάσεις (Εικόνα 11). Εντοπίζονται μαζί με άλλα κρυσταλλοειδή και ποτέ δεν παρουσιάζουν συγκεκριμένο προσανατολισμό.

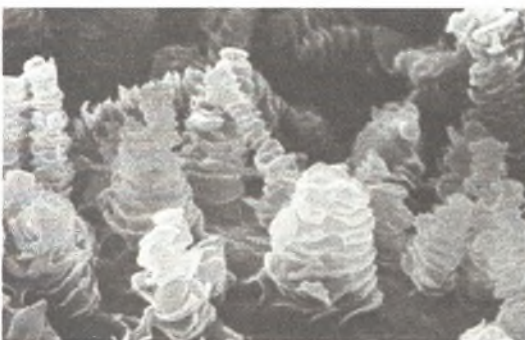
Οι **δισκοειδείς πλάκες** αποτελούν επίπεδα κρυσταλλοειδή που –όπως και τα πετάλια- συνδέονται με τη φυτική επιφάνεια με τη στενή πλευρά τους. Συνήθως είναι πολυγωνικά με ευδιάκριτες άκρες και παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλότητα στο μέγεθος και στις γωνίες που σχηματίζουν με την επιφάνεια (Εικόνα 12). Αρκετές φορές επικαλύπτονται μεταξύ τους σχηματίζοντας χαρακτηριστικές μορφές που μοιάζουν με στέγη από κεραμίδια. Πρόκειται για κηρούς που βρίσκονται κυρίως στα αγγεία και στους βλαστούς των φυτών και σπάνια προσανατολίζονται με συγκεκριμένο τρόπο.



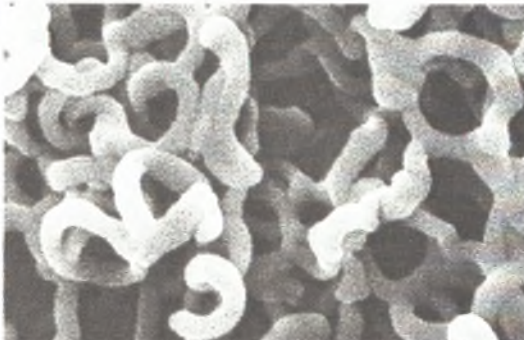
Εικόνα 13 (από Barthlott et al., 1998). Πολυγωνικές ράβδοι από *Acsmithia densiflora* (Brongn. & Gris) Hoogland. Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 10μm.



Εικόνα 14 (από Barthlott et al., 1998). Κυλινδρικές ράβδοι από *Sceletium compactum* L. Boiss. (Aizoaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 10μm.



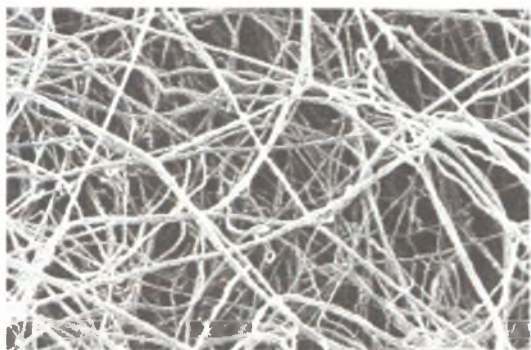
Εικόνα 15 (από Barthlott et al., 1998). Κάθετα ανυψωμένες ράβδοι από *Williamodendron quadrilocellatum* (van der WerV) Kubitzki & H.G.Richt. (Lauraceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 5μm



Εικόνα 16 (από Barthlott et al., 1998). Σπειροειδείς ράβδοι από *Buxus sempervirens* L. (Buxaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στο 1μm.

Οι **ράβδοι** αποτελούν συμπαγείς, πολυγωνικής ή κυλινδρικής διατομής ανάγλυφες προεξοχές με ευδιάκριτο επιμήκη άξονα και με λόγο μήκος/ πλάτος μικρότερο από 50:1. Μπορούν να διακριθούν μεταξύ τους βάσει της διατομής τους, η οποία μπορεί να είναι κυκλική, οπότε οι ράβδοι αποκαλούνται **κυλινδρικές ράβδοι** (Εικόνα 14) και τριγωνική ή πολυγωνική, οπότε οι ράβδοι αποκαλούνται **πολυγωνικές ράβδοι** (Εικόνα 13). Επιπλέον, η διάμετρος τους είναι δυνατό να ποικίλει κατά μήκος του άξονά τους, και σ' αυτή την περίπτωση ονομάζονται **κάθετα**.

ανυψωμένες ράβδοι (Εικόνα 15). Όταν διαθέτουν μικρή διάμετρο, σχηματίζουν στενές στροφές κι η διατομή τους έχει νεφροειδές σχήμα χαρακτηρίζονται ως **σπειροειδείς ράβδοι** (Εικόνα 16).

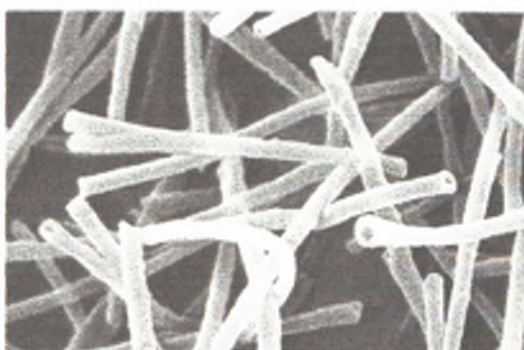


Εικόνα 17 (από Barthlott et al., 1998). Νήματα από *Drosera burmanni* Vahl (Droseraceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στα 2μm.

ομοιάζει τσόχινο. Είναι δυνατό να είναι επιτεδοποιημένα ή και διακλαδωμένα. Πολλά από τα νήματα παράγονται από αδένες (Barthlott et al., 1998)

Οι **σωληνίσκοι** είναι κυλινδρικά, κοίλα κρυσταλλοειδή που φέρουν χαρακτηριστικό άνοιγμα στην άκρη τους

(Εικόνα 18). Μπορούν να χωριστούν σε δύο διαφορετικούς τύπους ανάλογα με τη χημική τους σύσταση, σ' αυτά που χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη νονακοζαν-10-όλης και σ' αυτά που αποτελούνται από β-δικετόνες. Οι δύο τύποι σωληνίσκων φέρουν μεγάλη ομοιότητα, γεγονός που καθιστά τη διαφοροποίησή τους μέσω



Εικόνα 18 (από Barthlott et al., 1998). Σωληνίσκοι από *Columellia oblonga* Ruiz & Pav. ssp. *sericea* (Kunth) Brizicki (Columelliaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στο 1μm.

ηλεκτρονικού μικροσκοπίου αρκετά δύσκολη.

Οι **ενδιάμεσες κρυσταλλοειδείς μορφές** περιλαμβάνουν κρυσταλλοειδή που παρουσιάζουν χαρακτηριστικά τουλάχιστον δύο διαφορετικών τύπων

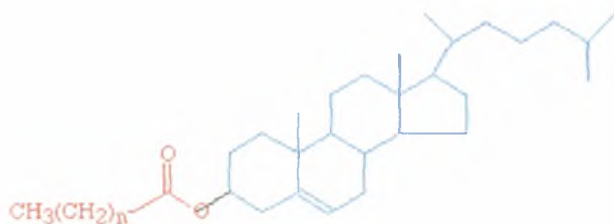


Εικόνα 19 (από Barthlott et al., 1998). Ενδιάμεσες μορφές σπειροειδών ράβδων από *Buxus sempervirens* L. (Buxaceae). Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στο 1μm.

κρυσταλλοειδών και γι' αυτό το λόγο δεν είναι δυνατή η κατάταξη τους σε κάποια από τις προαναφερθείσες μορφές

κρυσταλλοειδών. Τέτοια κρυσταλλοειδή εμφανίζονται σε περιπτώσεις πεταλίων που ομοιάζουν με σωληνίσκους ή σπειροειδείς ράβδους (Εικόνα 19, από Barthlott et al., 1998).

1.3.4. ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΔΟΜΗ ΚΗΡΩΝ



Εικόνα 20. Χαρακτηριστική αλυσίδα τριτερπενοειδικού εστέρα κηρού.

Οι κηροί κυρίως αποτελούνται από λιπίδια με πολύ μακρές αλειφατικές αλυσίδες, από τριτερπενοειδή, αλλά κι από δευτερεύοντες μεταβολίτες (εικόνες 20, 21), όπως στερόλες και φλαβονοειδή

(Kunst et al. 2003), υδροξυ-βήτα-

δικετόνες, όξο- βήτα-

δικετόνες, αλκένια,

διακλαδισμένα

αλκένια, οξέα, οξικά

και βενζοϊκά

παράγωγα λιπαρών



Εικόνα 21. Χαρακτηριστική αλειφατική αλυσίδα κηρού.

αλκοολών,

Κύριο Συστατικό Κηρού	Δομή – Μήκος αλυσίδας	
n- αλκάνια	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$	C21 με C35
Αλκυλο- εστέρες	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COO}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$	C34 με C62
λιπαρά οξέα	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$	C16 με C32
πρωτοταγείς λιπαρές αλκοόλες	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_m\text{CH}_2\text{OH}$	C22 με C32
Λιπαρές αλδεΐδες	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_m\text{CHO}$	C22 με C32
Κετόνες	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$	C23 με C33
δευτεροταγείς λιπαρές αλκοόλες	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CHOH}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$	C23 με C33
β- δικετόνες	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COCH}_2\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$	C27 με C33
τριτερπενοειδή	στερόλες, α- αμυρίνη, β- αμυρίνη, ουβαόλη, λουπεόλη, ερυθροδιόλη	
οξέα τριτερπενοειδών	ουρσολικό οξύ, ολεανολικό οξύ	

Πίνακας 2, από Kolattukudy PE (Editor) (Chemistry and Biochemistry of natural waxes, Elsevier, Amsterdam 1976)

μεθυλικούς, φαινυλαιθυλικούς και τριτερπενοειδικούς εστέρες. Η ποσότητα κι η σύσταση κάθε συστατικού του κηρού ποικίλουν ανάλογα με το είδος φυτού και το μέρος όπου εντοπίζεται ο κηρός (στα φύλλα, στα άνθη, στους καρπούς κ.α.) (Christie, W.W., *Lipid Analysis* (3rd Edition); Oily Press, Bridgewater 2003). Το μήκος της αλυσίδας, η ποσότητα ακόρεστων λιπαρών, αλλά κι η διακλάδωση των αλειφατικών συστατικών επίσης ποικίλει ανάλογα με την προέλευση του κηρού (πίνακας 2).

Η δομή κι η σύσταση των κηρών στο είδος *Citrus*, όπου περιλαμβάνονται και τα γκρέιπ- φρουτ έχει μελετηθεί εκτεταμένα (Baker & Procopiou, 1975; Baker et al., 1975; El- Otmani & Coggins, 1985; Freeman et al., 1979) κι ως κύρια συστατικά των εν λόγω κηρών έχουν αναγνωριστεί αλδεύδες, υδρογονάνθρακες, πρωτοταγείς αλκοόλες και κυρίως λιπαρά οξέα με πιο άφθονα το δεκαεξανοϊκό οξύ και δεκαοκτανοϊκό οξύ (Baker & Procopiou, 1975). Στο είδος *Citrus* οι επιδερμικοί κηροί των φύλλων παρουσιάζουν σταθερότητα σε ποσότητα κατά το πέρασ των εποχών- με εξαίρεση τα πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του φυτού- σε αντίθεση με τους επιδερμικούς κηρούς των φρούτων που παρουσιάζουν χαρακτηριστική μείωση της ποσότητάς τους κατά τη διάρκεια συγκεκριμένων μηνών (π.χ. στα λεμόνια μείωση των επιδερμικών κηρών των φρούτων της τάξης του 58% παρουσιάζεται από τον Ιούλιο ως τον Οκτώβριο) (Baker et al., 1975).

Κατά παρόμοιο τρόπο, μεταβολές στη σύσταση των κηρών έχουν παρατηρηθεί και στα μήλα κατά την αποθήκευσή τους (Veraverbeke et al., 2001), ενώ ακόμα πιο δυναμικές μεταβολές στη δομή των κηρών έχει παρατηρηθεί στα φύλλα του είδους *Prunus laurocerasus*, όπου τα σχετικά ποσοστά των επιμέρους συστατικών αλλάζουν ραγδαία και εντός λίγων μόλις ημερών (Jetter & Schaffer, 2001).

1.3.4.1. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΥΡΙΩΝ ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΕΙΔΩΝ

Η ακριβής σύσταση έκαστης μορφής κρυσταλλοειδών δεν έχει μελετηθεί αναλυτικά και λίγα είναι γνωστά για τη σύσταση αυτών των φυτικών κηρών. Το φαινόμενο του πολυμορφισμού πιθανώς διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη μελέτη της σύστασης των κρυσταλλοειδών, καθώς ενδεχομένως διαφορετικά σε μορφή κρυσταλλοειδή αποτελούνται από τα ίδια οργανικά σύμπλοκα.

Στα πετάλια κυριαρχούν οι πρωτοταγείς αλκοόλες (Hallam & Chambers, 1970; Jeffree, 1986), ενώ συνυπάρχουν συχνά τριτερπενοειδή (Stevens, 1995).

Οι πολυγωνικές ράβδοι έχουν συνδυαστεί με την ύπαρξη ειδικών τριτερπενοειδών, ενώ οι κυλινδρικές ράβδοι παρουσιάζουν έντονη ποικιλότητα στη χημική σύσταση. Ειδικότερα, στα μέλη της τάξης Zingiberidae κυριαρχούν οι εστέρες κηρών (43-92%) (Meusel et al., 1994; Baker, 1982; Freeman & Turner, 1985; Vandenburg & Wilder, 1970). Επίσης έχουν αναφερθεί σε μελέτες στην ίδια τάξη τα αλκάνια ως κυρίαρχα συστατικά (Freeman & Turner, 1985). Συν τοις άλλοις, σε πρώιμες μελέτες στο ζαχαροκάλαμο οι πρωτοταγείς αλκοόλες αναφέρθηκαν ως κύρια συστατικά (Kreger, 1948), ενώ πιο σύγχρονες έρευνες ανέφεραν υψηλές ποσότητες πολυμερών αλδεύδων (Hegenauer, 1963).

Οι σπειροειδείς ράβδοι είναι παρόμοιες σε σύσταση με τους σωληνίσκους. Αρκετοί συγγραφείς βρήκαν ποικίλες β-δικετόνες στους επιδερμικούς κηρούς διαφόρων ειδών (Dierickx, 1973; Haas, 1989).

Οι κάθετα υπερυψωμένες ράβδοι φαίνεται να ποικίλουν στη σύστασή τους. Κάποιοι συγγραφείς συνδέουν τη σύνθεση των κρυσταλλοειδών αυτών με την ύπαρξη μεγάλων ποσοτήτων κετονών (Hall et al., 1965; Baker, 1982; Hunt et al., 1976; Jeffree, 1986). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρουσία μιας κετόνης, της εντριακονταν-16-όνης, αποκαλούμενης συχνά και παλμιτόνης. Στους επιδερμικούς κηρούς η παλμιτόνη έχει αναφερθεί σπάνια και για πρώτη φορά αναγνωρίστηκε στους κηρούς του είδους *Santalum album* (Chibnall et al., 1937). Η παρουσία της παλμιτόνης στους επιδερμικούς κηρούς κυρίως εντοπίζεται σε μέλη της Magnolidae και της Paeoniaceae (Mackie & Ghatge, 1958; Komate & Hayashi, 1971; Gulz et al., 1992; Henning et al., 1994).

Οι σωληνίσκοι είναι τα πιο καλά μελετημένα κρυσταλλοειδή όσο αφορά τη σύστασή τους. Αρχικά, ξεχωρίζουν αυτοί που αποτελούνται από ένα σημαντικό ποσοστό της δευτεροταγούς αλκοόλης νονακοζαν-10-όλης (Holloway, Jeffree & Baker, 1976) σε συνδυασμό με άλλες διόλες (Jetter & Riederer, 1995). Μερικές φορές οι διόλες κυριαρχούν στη σύνθεση του κηρού (Barthlott et al., 1996). Παράλληλα, ξεχωρίζουν οι σωληνίσκοι β-δικετονών, οι οποίοι περιέχουν ποικίλες β-δικετόνες (Wettstein-Knowles, 1974; Jeffree, 1986).

Τα νήματα ως προϊόντα αδένων αποτελούνται κυρίως από φλαβονοειδή (Wollenweber, 1984). Εκτός των φλαβονοειδών, αρκετές φορές συναντώνται κι άλλα μόρια, όπως τσαλκόνες ή διυδροτσαλκόνες (Wollenweber, 1977) και τριτερπενοειδή (Arriaga-Giner, Rumbero & Wollenweber, 1992).

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΗΡΩΝ

2.1.1. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ- ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΗΡΩΝ

Ενόψει μικροσκοπικής παρατήρησης της επιδερμίδας των γκρέιπ- φρουτ, των μήλων και των φραουλών, με χρήση ξυραφιού έγιναν 8 τετραγωνικές τομές $1\text{cm}^2 \times 1\text{cm}^2$ στη φλούδα ενός φρούτου από το κάθε είδος. Τα τεμάχια υπέστησαν τις κάτωθι κατεργασίες με στόχο την απομάκρυνση των κηρών: 2 τεμάχια χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες και τοποθετήθηκαν απευθείας σε φιαλίδια με αποσταγμένο H_2O , 2 τεμάχια εμβαπτίστηκαν σε 25mL χλωροφορμίου (CHCl_3) για 2 λεπτά κι έπειτα τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια με αποσταγμένο H_2O , 2 τεμάχια εμβαπτίστηκαν σε CHCl_3 για 2 λεπτά, εν συνεχεία τοποθετήθηκαν στους υπερήχους για 1 λεπτό κι έπειτα τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια με αποσταγμένο H_2O και 2 τεμάχια εμβαπτίστηκαν σε CHCl_3 θερμοκρασίας 45°C για 2 λεπτά κι έπειτα τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια με αποσταγμένο H_2O .

Τα φρούτα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν μήλα (*Malus commixis*) ποικιλίας Golden, φράουλες (*Fragaria vesca*) και γκρέιπ- φρουτ (*Citrus paradisi*) εμπορίου. Χρησιμοποιήθηκε αναλυτικό πρότυπο CHCl_3 99% καθαρότητας (ISO- για ανάλυση σταθεροποιημένο με αιθυλική αλκοόλη) της Carlo Erba.

2.1.2. ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε διάλυμα σταθεροποίησης. Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα K_2PO_4 με $\text{pH}=7,2$ κι ως fixing agent χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα γλουτεραλδεΐδης 25% που κατόπιν αραιώσης με το διαλύτη είχε περιεκτικότητα 3%. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια εντός του διαλύματος σταθεροποίησης και φυλάχτηκαν στο ψυγείο για 2 περίπου ώρες.

Με το πέρας των 2 ωρών έλαβαν χώρα 2 πλύσεις των δειγμάτων με K_2PO_4 και 2 πλύσεις με H_2O . Τέλος, τα δείγματα επανατοποθετήθηκαν στα φιαλίδια με αποσταγμένο H_2O . Χρησιμοποιήθηκε αναλυτικό πρότυπο γλουτεραλδεΐδης 25% της Merck.

2.1.3. ΑΦΥΔΑΤΩΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Τα δείγματα υπέστησαν αφυδάτωση με αιθανόλη σταδιακά αυξανόμενης συγκέντρωσης. Ειδικότερα, ανά 20' τα δείγματα τοποθετούνταν σε διαλύματα

αιθανόλης υψηλότερης συγκέντρωσης. Αρχικά, τοποθετήθηκαν σε διάλυμα 20%, έπειτα σε διάλυμα 50%, ακολούθως σε διάλυμα 70%, εν συνεχεία σε διάλυμα 80%, ύστερα σε διάλυμα 95% και τελικά σε διάλυμα 100% εις διπλούν. Εν τέλει τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια.

Τα δείγματα που παρασκευάστηκαν κατόπιν σταθεροποίησης και αφυδάτωσης παρατηρήθηκαν σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο τύπου PHILIPS XL30 ESEM. Προ της παρατήρησης τα δείγματα υπέστησαν περαιτέρω αποξήρανση σ' έναν critical point dryer BALTEC CPD 030 κι επιχρυσώθηκαν μ' έναν PABISH TOP Autocoater SC-20. Χρησιμοποιήθηκαν αναλυτικά πρότυπα αιθανόλης 96% και αιθανόλης 100% (ACS- for analysis) της Carlo Erba.

2.2. ΔΙΑΔΙΚΑΣΤΙΑ ΕΞΑΓΩΓΗΣ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΗΡΩΝ

Η εξαγωγή των επιδερμικών κηρών πραγματοποιήθηκε με την εφαρμογή μιας παραλλαγής της μεθόδου του χλωροφορμίου, όπως περιγράφεται από τους McDonald et al. (1993). Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η ίδια και για τα τρία είδη φρούτων που χρησιμοποιήθηκαν (γκρέιπ- φρουτ, μήλα, φράουλες). Έκαστο δείγμα ζυγίστηκε κι έπειτα εμβαπτίστηκε σε CHCl_3 όγκου ίσου σε απόλυτη τιμή με την απόλυτη τιμή της υπολογιζόμενης μάζας. Τα φρούτα παρέμειναν στο CHCl_3 για 2 λεπτά κι έπειτα τοποθετήθηκαν για 1 λεπτό στους υπερήχους. Εν συνεχεία, το CHCl_3 που περιείχε τους εξαγόμενους κηρούς συλλέχθηκε και τοποθετήθηκε σε φιάλη. Στην περίπτωση των φραουλών, επειδή το μέγεθος των δειγμάτων ήταν μικρό, η εξαγωγή δεν έγινε κατά μόνας, αλλά χρησιμοποιούνταν αρκετά φρούτα ανά φορά. Ενόψει της εύρεσης της ποσότητας των κηρών στην επιφάνεια ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) των φρούτων τοποθετήθηκαν από 10mL CHCl_3 με τους εξαγόμενους κηρούς σε 5 ποτήρια ζέσεως και αφέθηκαν να εξατμιστούν. Η υπολογιζόμενη μάζα των ποτηριών ζέσεως μετά την εξάτμιση αφαιρέθηκε από την υπολογιζόμενη μάζα των ποτηριών ζέσεως όταν ήταν κενά και σε συνδυασμό με τα γεωμετρικά στοιχεία του δείγματος (ακτίνα, περιφέρεια, εμβαδόν φρούτου) υπολογίστηκε η ποσότητα κηρών ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$). Κατόπιν της εξαγωγής των κηρών το CHCl_3 τοποθετούνταν σε περιστροφικό συμπυκνωτή.

Χρησιμοποιήθηκε CHCl_3 99% καθαρότητας (ISO- για ανάλυση σταθεροποιημένο με αιθυλική αλκοόλη) της Carlo Erba. Για την εφαρμογή υπερήχων χρησιμοποιήθηκε μια συσκευή NEY ULTRASONIK 28x, με λειτουργία κάθε φορά στη μέγιστη δύναμη και στην ελάχιστη αφαίρεση αερίου (maximum power- minimum degas). Οι ακριβείς όγκοι που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται στους πίνακες 4, 5, 6.

2.3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΗΡΩΝ ΣΤΗΝ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΤΟΥ Chlorpyrifos-methyl ΚΑΙ ΤΟΥ Procymidone.

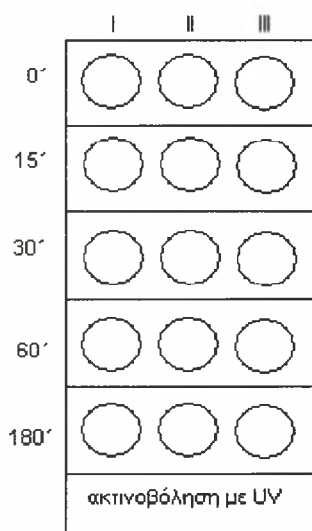
2.3.1. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΩΝ

Χρησιμοποιήθηκε αναλυτικό πρότυπο διάλυμα chlorpyrifos-methyl 99,4% (Labor Dr. Ehrenstorfer) ενόψει παρασκευής πρότυπου διαλύματος 5mg/L σε ακετόνη (CH₃COCH₃). Για τα πειράματα με το procymidone παρασκευάστηκε αρχικά πρότυπο διάλυμα procymidone (“Sumisclex”) 200mg/L κι εν συνεχεία χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή διαλύματος 5mg/L procymidone σε ακετόνη. Η ακετόνη ήταν αναλυτικό πρότυπο 99,8% καθαρότητας (ACS- for analysis) της Carlo Erba.

2.3.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΩΝ

Χρησιμοποιήθηκε μια παραλλαγή της μεθόδου των Angioni et al. (2004). Όγκος 0,5mL διαλύματος του παρασιτοκτόνου και διαφορετικός όγκος εξαγόμενων

ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΑ

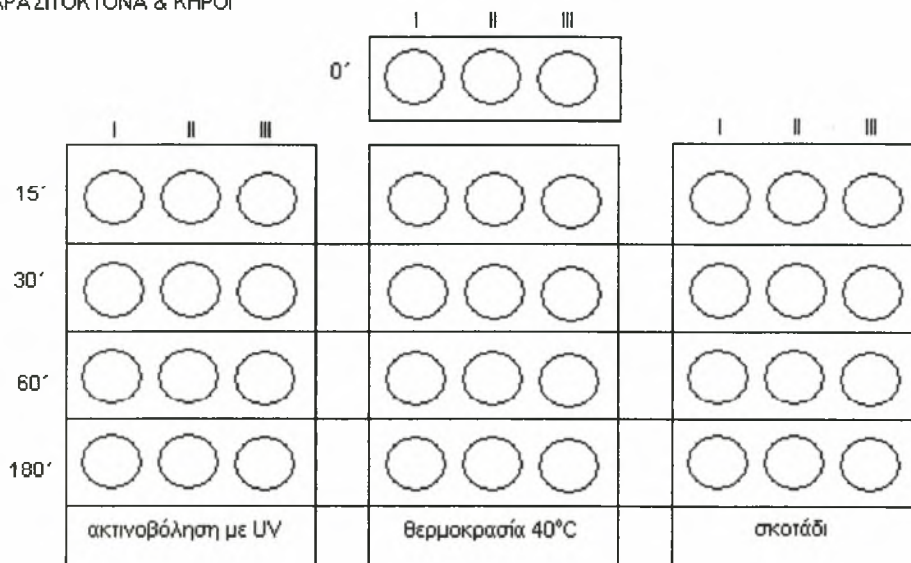


Σχήμα 2

κηρών φρούτων εντός CHCl₃ κάθε φορά (ο όγκος σε κάθε περίπτωση ήταν τέτοιος, ώστε να εξισώνεται η συγκέντρωση με αυτή στην επιφάνεια του εκάστοτε φρούτου) τοποθετούνταν σε τριβλία με ακτίνα 3cm και εμβαδόν 28,26cm². Τα τριβλία αφέθηκαν μέχρι εξατμίσεως των περιεχομένων υγρών κι εμφάνισης πολύ λεπτού επιχρίσματος στην επιφάνειά τους. Κατόπιν έλαβαν χώρα τρεις ομάδες πειραματικών διαδικασιών, στην πρώτη ομάδα τα τριβλία υπέστησαν ακτινοβολήση UV, στη δεύτερη αφέθηκαν στο σκοτάδι και στην τρίτη τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία 40°C. Τα τριβλία της δεύτερης και της τρίτης ομάδας λειτούργησαν ως μια δεύτερη ομάδα μαρτύρων, για να προσδοθεί μεγαλύτερη αξιοπιστία κι ακρίβεια στα πειραματικά αποτελέσματα όσον αφορά τη φωτοαποδόμηση. Για κάθε ομάδα πειράματος υπήρχαν τρία τριβλία που συλλέχθηκαν στα 15', τρία στα 30', τρία στα 60' και τρία στα 180'. Για το χρόνο 0' χρησιμοποιήθηκαν τρία κοινά τριβλία και για τις τρεις ομάδες

πειραμάτων. Επιπλέον, η πρώτη ομάδα πειράματος (ακτινοβολήση με UV) έλαβε χώρα και για τα δύο παρασιτοκτόνα, χωρίς προσθήκη CHCl_3 με κηρούς στα τριβλία - για να χρησιμοποιηθεί ως control- όπου και πάλι χρησιμοποιήθηκαν τρία τριβλία για κάθε χρόνο. Σχηματικά, το πείραμα απεικονίζεται στα Σχήματα 2, 3. Η άνωθεν διαδικασία έλαβε χώρα και για τα δύο παρασιτοκτόνα για κάθε είδος φρούτου από τα

ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΑ & ΚΗΡΟΙ



Σχήμα 3

τρία είδη που μελετήθηκαν.

Για την ακτινοβολήση με UV χρησιμοποιήθηκε μία ATLAS CPS+ photolysis unit με λάμπα ξένου που λειτουργούσε με $I = 400 \text{ W/m}^2$ και $T^a = 40^\circ\text{C}$. Για την ομάδα πειραμάτων που απαιτούσε θερμοκρασία 40°C χρησιμοποιήθηκε θερμαντήρας της Ghiaconi & C apparecchi scientifici.

2.3.3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ

Με το πέρας των καθορισμένων χρόνων συλλογής κάθε τριβλίου, τα τριβλία αφαιρούνταν από την ακτινοβολήση UV, τη θερμοκρασία 40°C και το σκοτάδι αντίστοιχα. Κατόπιν για κάθε τριβλίο ελάμβανε χώρα πλύση με 10mL ακετόνης κι έπειτα 1mL τοποθετούνταν σε κάθε περίπτωση σε σωλήνα φιαλίδιο (2mL) προς ανάλυση στην αέρια χρωματογραφία- φασματοσκοπία μάζας (GC-MS).

Χρησιμοποιήθηκε μια μονάδα Agilent 5973 Mass Selective Detector με Agilent 6890 series GC System και Agilent 7683 series injector. Η στήλη που χρησιμοποιούνταν ήταν μια ZEBRON ZB5

Ramp	°C /min	Next °C	Hold	Runtime
Initial		140	0,10	0,10
Ramp1	5	200	5	17,10
Ramp 2	15	280	7	29,43
Ramp 3	0	270		0
Ramp 4				0
Ramp 5				0
Ramp 6				0
Post		0	0	29,43

ανάλογη της DB5MS, με στοιχεία 30m x 0,25mm x

Πίνακας 3. Το πρόγραμμα θερμοκρασίας που ακολουθήθηκε στην αέρια χρωματογραφία- φασματοσκοπία μάζας.

0,25μm. Εφαρμοζόταν splitless injection 1μL, με αέριο He θερμοκρασίας 250°C, setpoint °C στους 140, actual °C στους 274, maximum °C στους 325 και equilibration min 0,50. Το πρόγραμμα θερμοκρασίας που ακολουθήθηκε φαίνεται στον πίνακα 3.

2.4. ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΗΣΗ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΗΡΩΝ

Τα διαλύματα με το CHCl₃ και τους εξαγόμενους κηρούς φωτομετρήθηκαν σ' ένα εύρος μήκους κύματος 200-800nm. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε εξάνιο κι η ποσότητα του διαλύματος με τους κηρούς του εκάστοτε φρούτου που τοποθετούνταν σε κάθε κυψελίδα ήταν 1mL που περιείχε την ανάλογη συγκέντρωση για 1cm² επιφάνειας για το κάθε φρούτο. Φωτομετρήθηκαν και τα δύο παρασιτοκτόνα σε διάλυμα εξανίου. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε ένα UV- Visible Recording Spectrophotometer UV-160 της Shimadzu. Χρησιμοποιήθηκαν κυψελίδες από γαλαζία κι αναλυτικό πρότυπο εξανίου της Carlo Erba.

Α. Γεωμετρικά χαρακτηριστικά φρούτων

δείγμα	m (g)	T (cm)	r (cm)	S (cm ²)	Σ(m)	Σ(S)	Σ(V) CHCl ₃
1	253,4	28,9	4,601910828	265,99045	2954,5g	2826,978cm ²	2955mL
2	305,6	29,2	4,649681529	271,5414			
3	285,6	29,5	4,697452229	277,14968			
4	299	29,7	4,729299363	280,92038			
5	292,9	29,6	4,713375796	279,03185			
6	324,3	30,1	4,792993631	288,53822			
7	286,6	30	4,777070064	286,6242			
8	305,7	30,5	4,856687898	296,25796			
9	307,2	30,3	4,824840764	292,38535			
10	294,2	30,1	4,792993631	288,53822			

Β. Ζύγιση μάζας εξαγόμενων κηρών

a/a	1	2	3	4	Σ(Δm)
Μάζα κενών ποτηριών ζέσεως (g)	51,6546	49,1993	49,209	75,3158	0,005
Μάζα ποτηριών ζέσεως κατόπιν εξατμίσεως CHCl ₃ (g)	51,6557	49,2006	49,2106	75,3168	
Δm	0,0011	0,0013	0,0016	0,001	

Γ. Υπολογισμοί απαιτούμενων ποσοτήτων κηρών για την επιέλεση της πειραματικής διαδικασίας

Μάζα κηρών στο συνολικό όγκο	0,369375g
Εμβαδόν τριβλίου	28,26cm ²
Μάζα κηρών που αντιστοιχεί σε 1mL	0,125mg
Μάζα κηρών που αντιστοιχεί στην επιφάνεια του φρούτου	0,1306607mg/cm ²
Μάζα κηρών ανάλογη της επιφάνειας του τριβλίου	3,6924725mg
Όγκος CHCl ₃ ανά τριβλίο	29,53978mL
Αρχικός όγκος CHCl ₃	2900mL
Όγκος CHCl ₃ κατόπιν συμπύκνωσης	61mL
FD (παράγοντας αραιώσης)	47,540984
Όγκος CHCl ₃ ανά τριβλίο	0,621354mL
Όγκος παρασιτοκτόνου	0,5mL

Πίνακας 4. Πειραματικοί όγκοι και υπολογισμοί κατά την εξαγωγή κηρών από γκρέιπ- φρουτ.

Α. Γεωμετρικά χαρακτηριστικά φρούτων								
δείγμα	m (g)	T (cm)	r (cm)	S (cm ²)	Σ(m)	Σ(S)	Σ(V) CHCl ₃	
1	244,83	27	4,299363057	232,16561	1884,79g	1738,863	1885mL	
2	253,11	27,5	4,378980892	240,84395				
3	231,36	26	4,140127389	215,28662				
4	201,87	24,8	3,949044586	195,87261				
5	236,35	25,8	4,108280255	211,98726				
6	221,43	25,7	4,092356688	210,34713				
7	242,84	25,6	4,076433121	208,71338				
8	253	26,5	4,219745223	223,6465				
Β. Ζύγιση μάζας εξαγόμενων κηρών								
a/a	1	2	3	4	5	Σ(Δm)		
Μάζα κενών ποτηριών ζέσεως (g)	76,0463	75,0899	85,243	49,2024	51,658	0,0238		
Μάζα ποτηριών ζέσεως κατόπιν εξατμίσεως CHCl ₃ (g)	76,0509	75,0949	85,2475	49,2072	51,6629			
Δm	0,0046	0,005	0,0045	0,0048	0,0049			
Γ. Υπολογισμοί απαιτούμενων ποσοτήτων κηρών για την επιτέλεση της πειραματικής διαδικασίας								
Μάζα κηρών στο συνολικό όγκο	0,89726g							
Εμβαδόν τριβλίου	28,26cm ²							
Μάζα κηρών που αντιστοιχεί σε 1mL	0,476mg							
Μάζα κηρών που αντιστοιχεί στην επιφάνεια του φρούτου	0,5160038mg/cm ²							
Μάζα κηρών ανάλογη της επιφάνειας του τριβλίου	14,582268mg							
Όγκος CHCl ₃ ανά τριβλίο	30,635017mL							
Αρχικός όγκος CHCl ₃	1835mL							
Όγκος CHCl ₃ κατόπιν συμπύκνωσης	230mL							
FD (παράγοντας αραιώσης)	8							
Όγκος CHCl ₃ ανά τριβλίο	3,8293772mL							
Όγκος παρασιποκτόνου	0,5mL							

Πίνακας 5. Πειραματικοί όγκοι και υπολογισμοί κατά την εξαγωγή κηρών από μήλα.

A. Γεωμετρικά χαρακτηριστικά φρούτων									$\Sigma(m)$	$\Sigma(S)$	$\Sigma(V) CHCl_3$
Μάζα φραουλών (g)									2860,204g	1598,5cm ²	1590mL
9,3	8,7	11	13,1	10,3	10,7	9,8	10,2	12			
9,2	9,6	9,7	10	10,4	9,8	10,9	12	11,9			
10	11,3	11,5	12,5	9,3	9,6	10,5	10,5	8,8			
10,2	10	12,3	8	9,2	10,5	9,5	10,2	10,7			
12	10,4	12,5	8,6	9	10,5	9,8	10,6	10,3			
9,5	9	10,5	9,8	9,7	10	9,7	9,8	9,5			
10	12	13,8	10,8	11,8	9,2	9,5	8,7	11			
12	11,9	10,8	11,8	10	9	9,2	9,6	9,7			
10,5	8,8	9	10,7	9,4	11	9,7	11,3	11,5			
10,2	10,7	8	9	9,8	11	9,3	10	12,3			
10,6	10,3	8,2	10	11	12	9,2	10,4				
9,8	9,5	10,6	10,5	10,2	9,1	10	9				
B. Ζύγιση μάζας εξαγόμενων κηρών											
a/a	1	2	3	4	5	$\Sigma(\Delta m)$					
Μάζα κενών ποτηριών ζέσεως (g)	31,9622	49,2095	19,8409	49,1996	54,3477	0,002					
Μάζα ποτηριών ζέσεως κατόπιν εξατμίσεως $CHCl_3$ (g)	31,9627	49,2099	19,8414	49,1997	54,3482						
Δm	0,0005	0,0004	0,0005	0,0001	0,0005						
Γ. Υπολογισμοί απαιτούμενων ποσοτήτων κηρών για την επίτευξη της πειραματικής διαδικασίας											
Μάζα κηρών στο συνολικό όγκο					0,06394g						
Εμβαδόν τριβλίου					28,26cm ²						
Μάζα κηρών που αντιστοιχεί σε 1mL					0,04mg						
Μάζα κηρών που αντιστοιχεί στην επιφάνεια του φρούτου					0,022355mg/cm ²						
Μάζα κηρών ανάλογη της επιφάνειας του τριβλίου					0,631754mg						
Όγκος $CHCl_3$ ανά τριβλίο					15,79384mL						
Αρχικός όγκος $CHCl_3$					1540mL						
Όγκος $CHCl_3$ κατόπιν συμπύκνωσης					347mL						
FD (παράγοντας αραίωσης)					4,43804						
Όγκος $CHCl_3$ ανά τριβλίο					3,558742mL						
Όγκος παρασιποκτόνου					0,5mL						

Πίνακας 6. Πειραματικοί όγκοι και υπολογισμοί κατά την εξαγωγή κηρών από φράουλες.

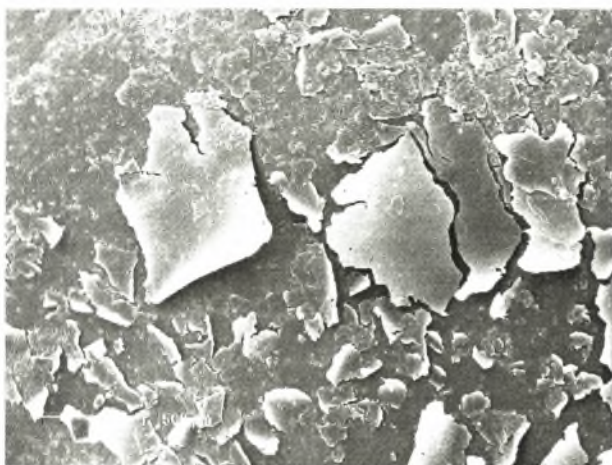
Στους πίνακες όπου $T = \eta$ περιφέρεια των φρούτων, $r = \eta$ ακτίνα των φρούτων, $S = \tau$ ο εμβαδό των φρούτων και με Σ τα αντίστοιχα αθροίσματα.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

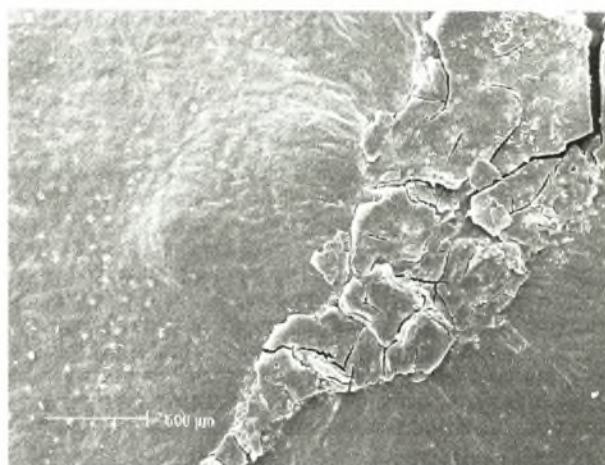
3.1. ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑΣ

Οι καρποί των φρούτων παρατηρήθηκαν στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο είτε άνευ ή κατόπιν κατεργασίας (τοποθέτηση σε CHCl_3 για 2 λεπτά, τοποθέτηση σε CHCl_3 για 2 λεπτά κι εν συνεχεία στους υπερήχους για 1 λεπτό και τοποθέτηση σε CHCl_3 θερμοκρασίας 45°C για 2 λεπτά). Οι φωτογραφίες που ελήφθησαν μέσω του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σε μεγεθύνσεις της τάξεως των $500\mu\text{m}$ αποκάλυψαν συγκριτικά την αποτελεσματικότητα που είχε η κάθε κατεργασία που χρησιμοποιήθηκε για κάθε φρούτο. Φωτογραφίες που ελήφθησαν σε μεγαλύτερες μεγεθύνσεις –της τάξης του ενός ή των μερικών μm - αποκάλυψαν με λεπτομέρεια εντυπωσιακές δομές κηρών.

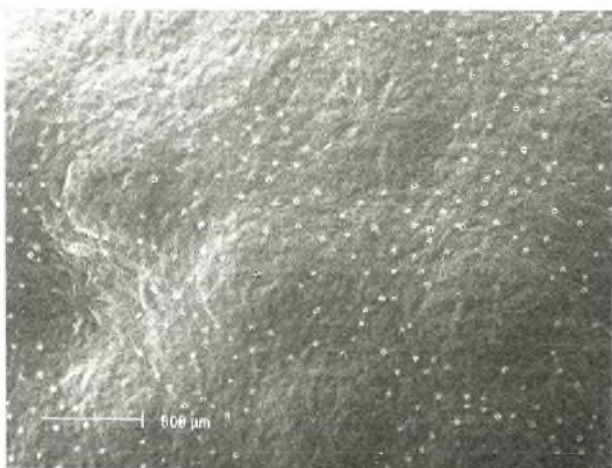
Η παραμονή των καρπών των γκρέιπ- φρουτ σε CHCl_3 για 2 λεπτά κι η



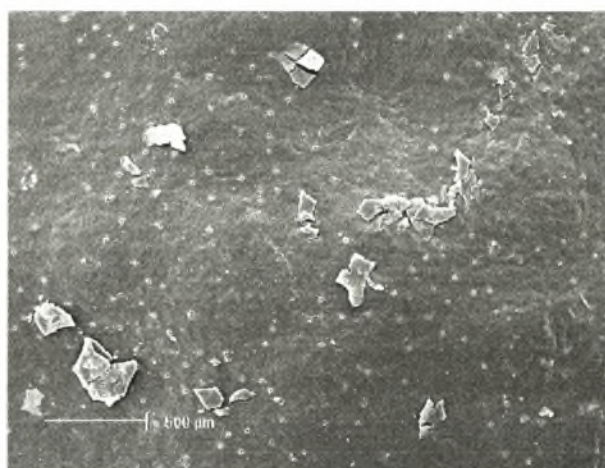
Εικόνα 22Α



Εικόνα 22Β



Εικόνα 22Γ



Εικόνα 22Δ

Εικόνα 22 Α) Επιδερμίδα καρπού γκρέιπ- φρουτ άνευ κατεργασίας. Είναι ορατές μεγάλο μεγέθους δομές κηρών που ομοιάζουν με ραγισμένα στρώματα. Β) Επιδερμίδα καρπού γκρέιπ- φρουτ κατόπιν παραμονής σε CHCl_3 για 2 λεπτά. Οι κηροί φαίνεται πως δεν έχουν απομακρυνθεί πλήρως. Γ) Επιδερμίδα καρπού γκρέιπ- φρουτ κατόπιν παραμονής σε CHCl_3 για 2 λεπτά και στους υπερήχους για 1 λεπτό. Οι κηροί έχουν εξαχθεί εξολοκλήρου. Δ) Επιδερμίδα καρπού γκρέιπ- φρουτ κατόπιν παραμονής σε θερμό CHCl_3 για 2 λεπτά. Διακρίνονται υπολείμματα κηρών. Φωτογραφίες από ηλ. μικροσκόπιο στα $500\mu\text{m}$.

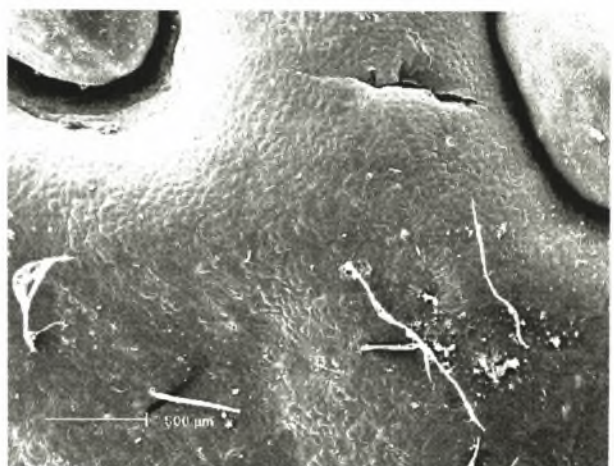
μετέπειτα τοποθέτησή τους για 1 λεπτό στους υπερήχους αποδείχτηκε ιδανική ως μέθοδος εξαγωγής κηρών, καθώς οδήγησε στον εξολοκλήρου καθαρισμό της επιφάνειας των καρπών από κηρούς.

Οι φωτογραφίες στα 500nm σε γκρέιπ- φρουτ που δεν έχουν υποστεί κατεργασία (Εικόνα 22) απεικονίζουν κηρούς μεγάλου μεγέθους που μπορούν να ταξινομηθούν ως πιθανά ραγισμένα στρώματα σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησης κηρών που περιγράφηκε αρχικά (Barthlott et al., 1998). Από τις φωτογραφίες αυτές γίνεται αντιληπτή κι η αποτελεσματικότητα της μεθόδου απομάκρυνσης κηρών που περιλαμβάνει παραμονή σε CHCl_3 και μετέπειτα χρήση υπερήχων (εικόνα)

Η κατεργασία με θερμό CHCl_3 για 2 λεπτά, αυτή με CHCl_3 και μετέπειτα τοποθέτηση στους υπερήχους για ένα λεπτό, όπως κι αυτή με CHCl_3 για 2 λεπτά



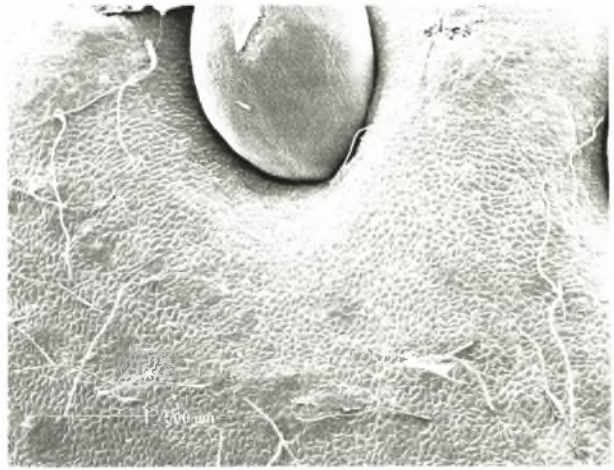
Εικόνα 23Α



Εικόνα 23Β



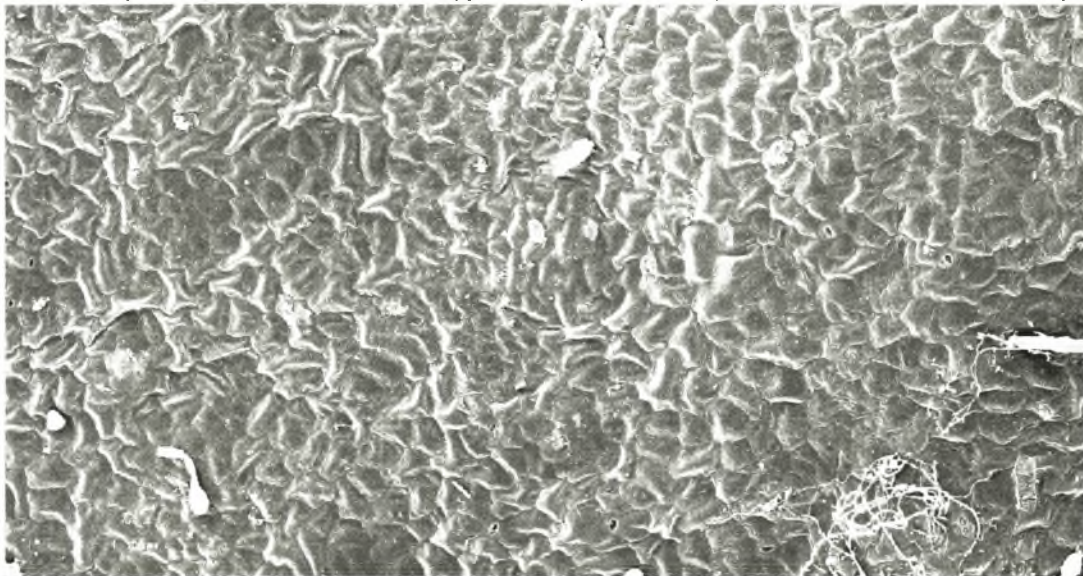
Εικόνα 23Γ



Εικόνα 23Δ

Εικόνα 23 Α) Επιδερμίδα καρπού φράουλας άνευ κατεργασίας. Πάνω δεξιά διακρίνεται φυμάτιο πιθανώς από μυκητιακή μόλυνση. Β) Επιδερμίδα καρπού φράουλας κατόπιν παραμονής σε CHCl_3 για 2 λεπτά. Γ) Επιδερμίδα καρπού φράουλας κατόπιν παραμονής σε CHCl_3 για 2 λεπτά και στους υπερήχους για 1 λεπτό. Δ) Επιδερμίδα καρπού φράουλας κατόπιν παραμονής σε θερμό CHCl_3 για 2 λεπτά. Φωτογραφίες από ηλ. μικροσκόπιο στα 500μm.

αποδείχτηκαν όλες πολύ «σκληρές» για την επιδερμίδα της φράουλας. Όλες οι άνωθεν κατεργασίες οδήγησαν όχι απλώς στην εξαγωγή κηρών, αλλά και στην αλλοίωση του φυτικού ιστού των φρούτων (Εικόνα 24). Είναι ενδεικτικό ότι ακόμα



Εικόνα 24. Απεικόνιση της αφυδατωμένης και καταπονημένης επιδερμίδας φράουλας κατόπιν κατεργασίας με δίλεπτη παραμονή σε CH_2Cl_2 . Φωτογραφία από ηλ. μικροσκόπιο στα 100μm.

και η παραμονή του φρούτου σε H_2O (φράουλες άνευ κατεργασίας) αποδείχτηκε καταστροφική για τη φυτική επιδερμίδα

Στις φωτογραφίες 23A, B, Γ και Δ είναι ορατές οι χαρακτηριστικές τριχοειδείς δομές που φέρουν οι φράουλες στην επιφάνειά τους. Οι δομές αυτές μπορούν να παρερμηνευθούν με νηματοειδείς ή ραβδοειδείς δομές κρυσταλλοειδών. Διακρίνονται επίσης ελάχιστες μορφές κηρών ως κουκίδες. Συν τοις άλλοις, η επιδερμίδα παρουσιάζεται αλλοιωμένη στις φράουλες που δεν υπέστησαν κατεργασία, ενώ η αφυδάτωση κι η αλλοίωση είναι ορατές στις περιπτώσεις των δειγμάτων που υπέστησαν κατεργασία.

Στην περίπτωση των μήλων και τα τρία είδη κατεργασιών που



Εικόνα 25A



Εικόνα 25B

χρησιμοποιήθηκαν (2 λεπτά σε CHCl_3 , 2 λεπτά σε CHCl_3 κι έπειτα 1 λεπτό στους υπερήχους και 2 λεπτά σε θερμό CHCl_3) δεν καθάρισαν αποτελεσματικά τις επιφάνειες των φρούτων από τους κηρούς. Συμπερασματικά, κι οι τρεις αποδείχτηκαν ανεπαρκείς ως μέθοδοι εξαγωγής των κηρών των μήλων.

Οι φωτογραφίες από το



Εικόνα 25Γ



Εικόνα 25Α

Εικόνα 25 Α) Επιδερμίδα καρπού μήλου άνευ κατεργασίας. Β) Επιδερμίδα καρπού μήλου κατόπιν παραμονής σε CHCl_3 για 2 λεπτά και στους υπερήχους για 1 λεπτό. Γ) Επιδερμίδα καρπού μήλου κατόπιν παραμονής σε θερμό CHCl_3 για 2 λεπτά. Φωτογραφίες από ηλ. μικροσκόπιο στα 500 μm . Δ) Επιδερμίδα καρπού μήλου κατόπιν παραμονής σε CHCl_3 για 2 λεπτά και στους υπερήχους για 1 λεπτό. Φωτογραφία από ηλ. μικροσκόπιο στα 50 μm .



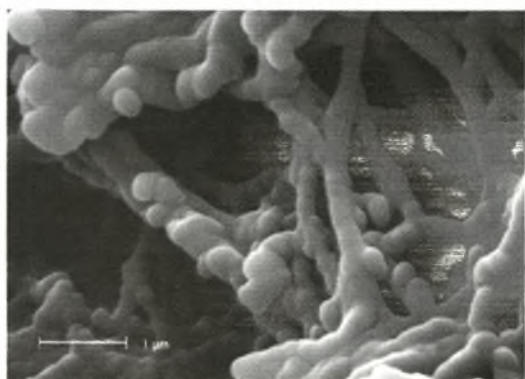
Εικόνα 26. Δομές κηρών επιδερμίδας καρπού μήλου άνευ κατεργασίας. Πιθανά πρόκειται για κρούστες. Φωτογραφία από ηλ. μικροσκόπιο στα 20 μm .

ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποκαλύπτουν την παραμονή ενός διακεκομμένου στρώματος κηρών που καταλαμβάνει μεγάλη επιφάνεια από την επιδερμίδα των μήλων (Εικόνα 25Α, Β, Γ). Η μεγέθυνση στα 50 μm (Εικόνα 25Δ) δείχνει πως οι εν λόγω κηροί ομοιάζουν

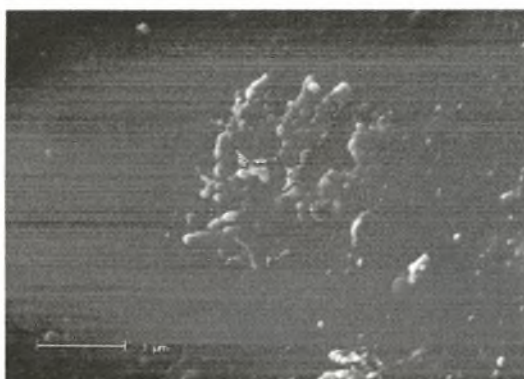
με ραγισμένα στρώματα, ενώ κατά τη μεγέθυνση 20 μm (Εικόνα 26) θα μπορούσαν να είναι και κρούστες

σύμφωνα με την ταξινόμηση των Barthlott et al. (1998).

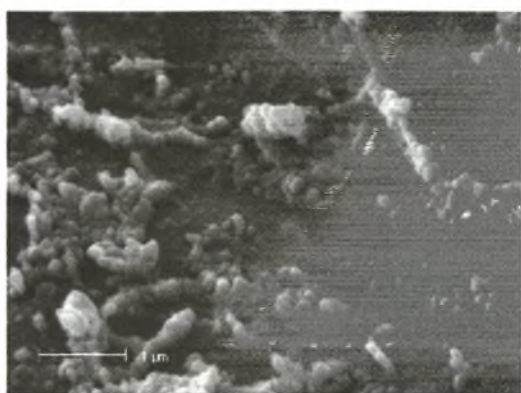
Οι δομές κηρών που αποκαλύφθηκαν στις μεγαλύτερες μεγεθύνσεις ήταν διαφορετικές για κάθε φρούτο. Σε μεγεθύνσεις του 1 μm οι κηροί εντοπίστηκαν οργανωμένοι σε συσσωματώματα. κι εντοπίστηκαν οργανωμένες σε συσσωματώματα (Εικόνα 27). Στη μεγέθυνση αυτή είναι πολύ δύσκολο να βγει κάποιο συμπέρασμα



Εικόνα Α. Κηροί μήλου



Εικόνα Β. Κηροί γκρέιπ- φρουτ



Εικόνα Γ. Κηροί φράουλας

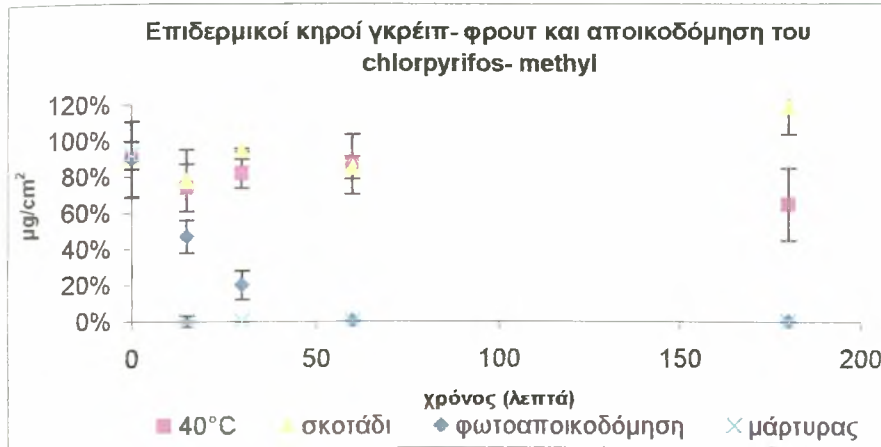
Εικόνα 27. Συγκριτικά οι δομές των κηρών και των τριών φρούτων στο 1μm.

για τα είδη των κηρών που βρέθηκαν σε κάθε φρούτο. Πιο αποκαλυπτικές αποδεικνύονται οι μεγεθύνσεις στα 5μm (Εικόνα 28) όπου φαίνονται συγκριτικά τα είδη κηρών των τριών φρούτων. Στα γκρέιπ- φρουτ οι δομές μοιάζουν με μεμβρανοειδή πετάλια, στις φράουλες με κόκκους και στα μήλα με ενδιάμεσες κρυσταλλοειδείς δομές κατά την ταξινόμηση των Barthlott et al. (1998).

3.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΗΡΩΝ ΣΤΟ ΡΥΘΜΟ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ Chlorpyrifos- methyl ΚΑΙ ΤΟΥ Procymidone.

Οι επιδερμικοί κηροί και των τριών ειδών φρούτων που χρησιμοποιήθηκαν είχαν αρνητική επίδραση στο ρυθμό φωτοαποδόμησης τόσο του chlorpyrifos- methyl όσο και του procymidone, προκαλώντας μείωση αυτού σε διαφορετικό βαθμό σε κάθε περίπτωση. Όπως ήταν αναμενόμενο, στα τριβλία που λειτούργησαν ως μάρτυρες χωρίς κηρούς παρατηρήθηκε στις περιπτώσεις όλων των φρούτων ταχεία φωτοαποδόμηση, με τα παρασιτοκτόνα να αποδομούνται πλήρως εντός 15 λεπτών. Κατ' αντιστοιχία, και πάλι στις περιπτώσεις και των τριών φρούτων, παρατηρήθηκε πολύ αργή ή αμελητέα αποδόμηση στις ομάδες των τριβλίων με τους κηρούς και τα παρασιτοκτόνα που τοποθετήθηκαν στο σκοτάδι και στους 40°C. Όσον αφορά τα

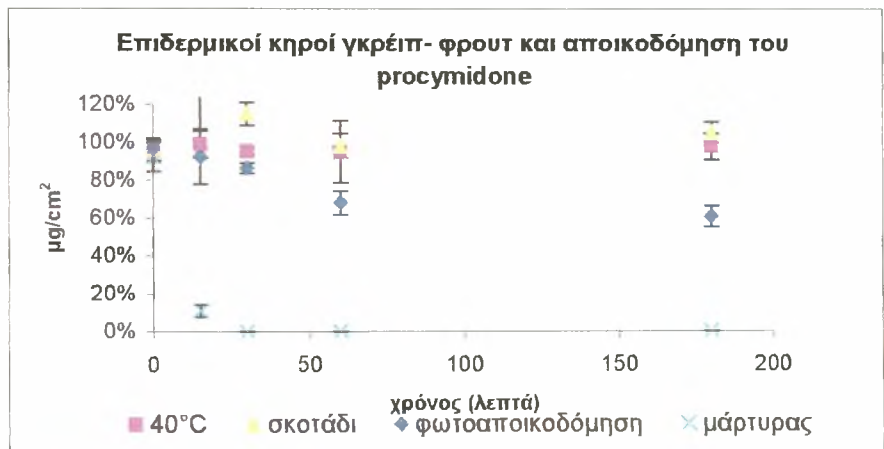
δείγματα μάρτυρες, παρατηρήθηκε πως η φωτοαποδόμηση του procymidone επιτελείται σαφώς πιο αργά από αυτή του chlorpyrifos- methyl.



Αρχικά με τη βοήθεια των πρότυπων καμπυλών για κάθε παρασιτοκτόνο τοποθετήθηκε σε διαγράμματα η μάζα του παρασιτοκτόνου ανά επιφάνεια φρούτου ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) συναρτήσει του

Γράφημα 1.

χρόνου (λεπτά) κι εν συνεχεία τα δεδομένα υπέστησαν στατιστική κανονικοποίηση και κατασκευάστηκαν διαγράμματα με την % σχετική συχνότητα του παρασιτοκτόνου επί της επιφάνειας του φρούτου συναρτήσει του χρόνου. Βάσει τυπικής απόκλισης για κάθε σημείο στα διαγράμματα κατασκευάστηκαν γραμμές σφάλματος για τις τιμές του άξονα των ψ (% $\mu\text{g}/\text{cm}^2$).



Γράφημα 2.

Οι επιδερμικοί κηροί από τους καρπούς των γκρέιπ- φρουτ (γραφήματα 1, 2) επιβράδυναν τη φωτοαποδόμηση και στην περίπτωση του chlorpyrifos- methyl, αλλά και σ' αυτήν του procymidone. Η επιβράδυνση της φωτοαποδόμησης του procymidone παρουσιάστηκε σαφώς μεγαλύτερη από αυτή του chlorpyrifos- methyl, με το τελευταίο παρασιτοκτόνο να παρουσιάζει μια απότομη πτώση στη συγκέντρωση λόγω φωτοαποδόμησης από τα 15 κιόλας λεπτά. Ενδεικτικό είναι το γεγονός πως έπειτα από μισή ώρα έχει φωτοαποικοδομηθεί το 80% του chlorpyrifos-

methyl, ενώ στον ίδιο χρόνο το αντίστοιχο ποσοστό αποδόμησης του procymidone ήταν 8%. Επιπλέον φαίνεται πως στα 60 λεπτά το chlorpyrifos- methyl έχει φωτοαποικοδομηθεί πλήρως, ενώ η φωτοαποδόμηση του procymidone μετά τα 60 λεπτά παρουσιάζει μια σαφή επιβράδυνση.

Οι επιδερμικοί κηροί από τις φράουλες είχαν επιβραδυντική επίδραση στο ρυθμό

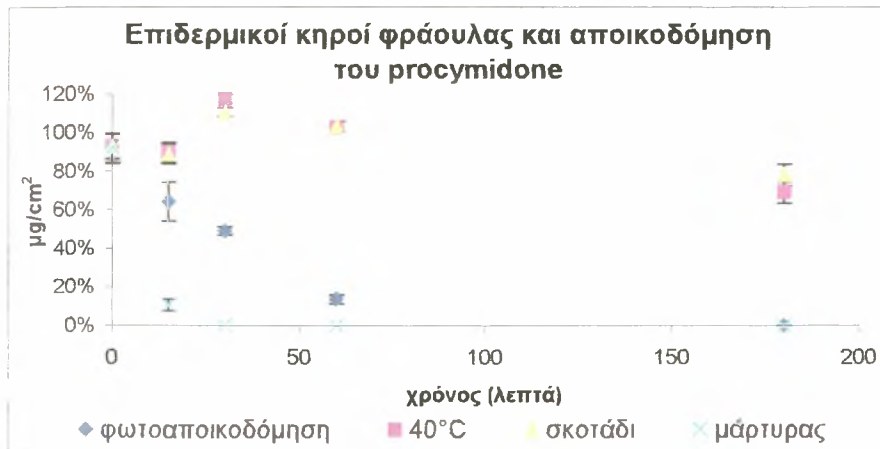
φωτοαποδόμησης του procymidone.

Μείωση παρατηρήθηκε και στη φωτοαποδόμηση του chlorpyrifos- methyl, αλλά σε τόσο μικρό βαθμό, ώστε να είναι δυνατό να ειπωθεί πως η επίδραση των κηρών

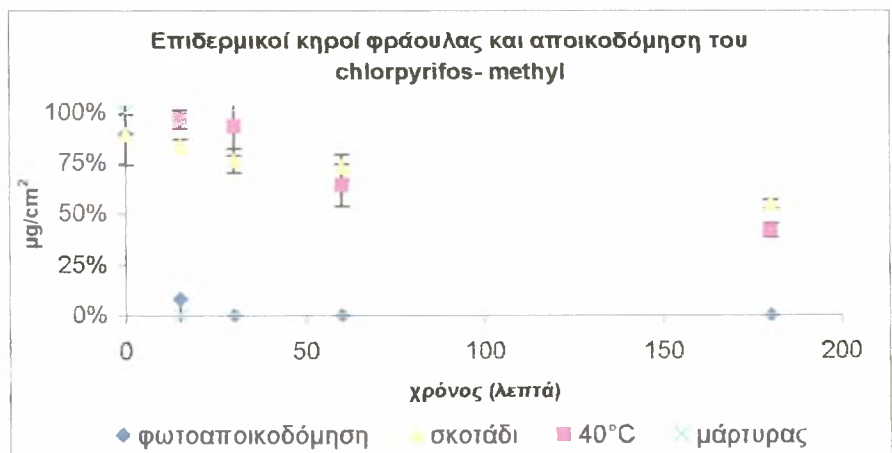
της φράουλας στην περίπτωση αυτή είναι σχεδόν αμελητέα, τουλάχιστον μετά το πέρας των 30 λεπτών (γραφήματα 3, 4).

Ειδικότερα, στα πρώτα 15 λεπτά το procymidone παρουσίασε συγκέντρωση ίση με το 64% της αρχικής, στα 30 λεπτά η συγκέντρωση έπεσε περίπου στο 49% και στα 60 λεπτά παρατηρήθηκε μια απότομη μείωση (συγκέντρωση ίση με 14%), για να εμφανιστεί πια μηδενική η

συγκέντρωση του παρασιτοκτόνου στα 180 λεπτά. Ο μάρτυρας παρουσίασε φωτοαποδόμηση της τάξης του 90% από τα πρώτα 15 λεπτά και πλήρη φωτοαποδόμηση στα 30 λεπτά. Η φωτοαποδόμηση του chlorpyrifos- methyl διέφερε

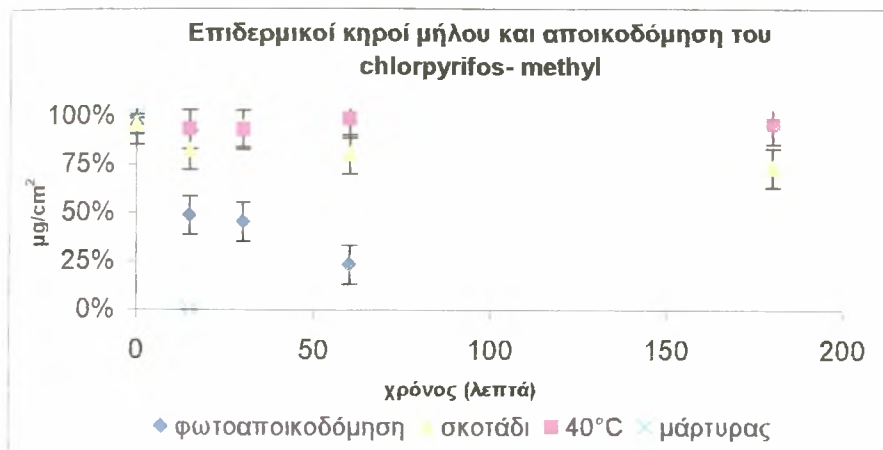


Γράφημα 3.



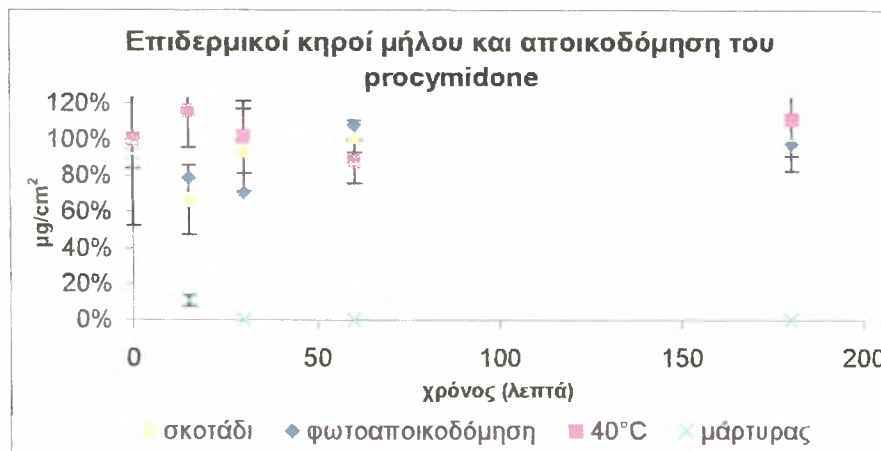
Γράφημα 4.

–σε πολύ μικρό βαθμό- από αυτή του μάρτυρα μόνο στο χρόνο των 15 λεπτών, καθώς έχει ολοκληρωθεί εντός 30 λεπτών.



Γράφημα 5.

ταχύτατη φάση αποδόμησης, κατά την οποία αποδομήθηκε το 48,78% εντός 15 λεπτών. Η αποδόμηση συνεχίστηκε με αργούς ρυθμούς με αποτέλεσμα εντός 30 λεπτών η συγκέντρωση του παρασιτοκτόνου να είναι ίση με 45,36%. Στα 60 λεπτά παρουσιάστηκε μια ακόμα απότομη μείωση που με τη συγκέντρωση να γίνεται 23,45%. Η συγκέντρωση του μάρτυρα είχε μηδενιστεί ήδη από το πρώτο τέταρτο.

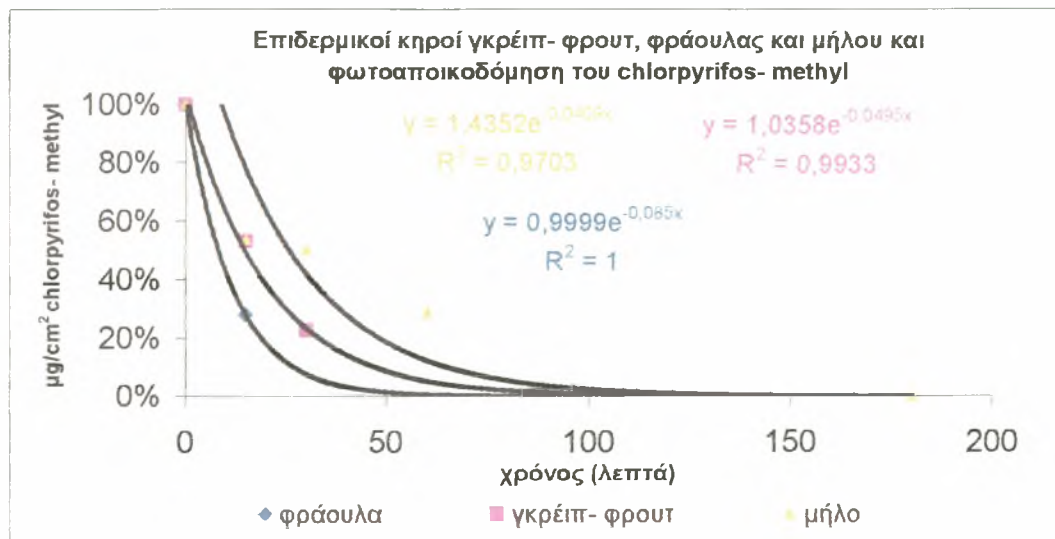


Γράφημα 6.

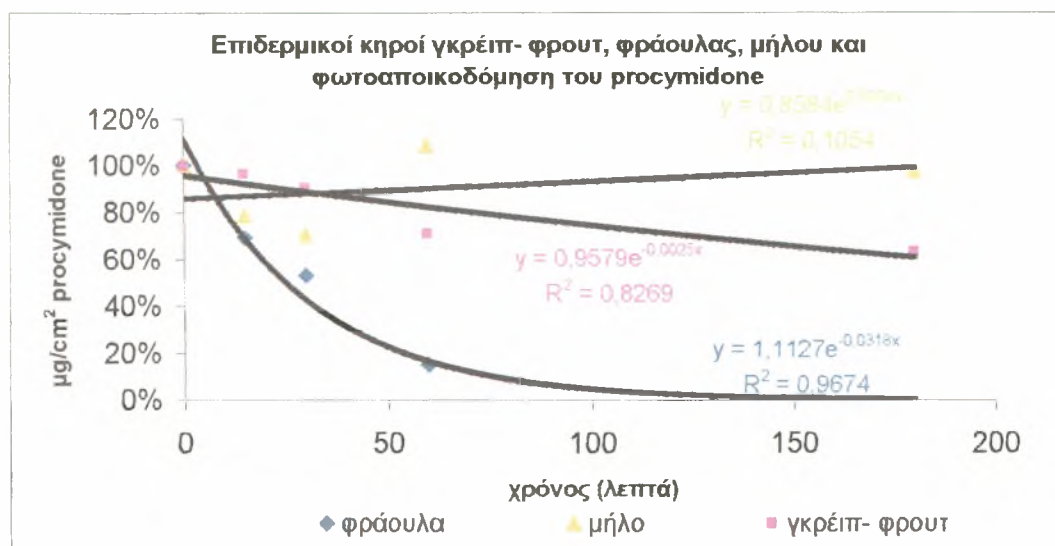
Σχετικά με την επίδραση των κηρών των μήλων στη φωτοαποδόμηση του procymidone, τα αποτελέσματα ήταν πολύ ενδιαφέροντα. Όπως φαίνεται κι από τα διαγράμματα, στην περίπτωση του μάρτυρα υπάρχει πλήρης φωτοαποδόμηση στα 30 λεπτά, με τη συγκέντρωση του παρασιτοκτόνου να είναι ίση με 11% ήδη από τα 15 λεπτά. Αντιθέτως, παρατηρείται πως οι κηροί του μήλου προκάλεσαν σημαντική επιβράδυνση της φωτοαποδόμησης, με αποτέλεσμα μετά την πάροδο 180 λεπτών η συγκέντρωση του παρασιτοκτόνου να

Εντυπωσιακή ήταν η επιβραδυντική επίδραση που είχαν οι επιδερμικοί κηροί των μήλων στη φωτοαποδόμηση των δύο παρασιτοκτόνων (γραφήματα 5, 6). Στην περίπτωση του chlorpyrifos-methyl παρουσιάστηκε μια

είναι ίση με τις αντίστοιχες των ομάδων που παρέμειναν στους 40°C και στο σκοτάδι, όπου η φωτοαποδόμηση ήταν αμελητέα.



Γράφημα 7



Γράφημα 8

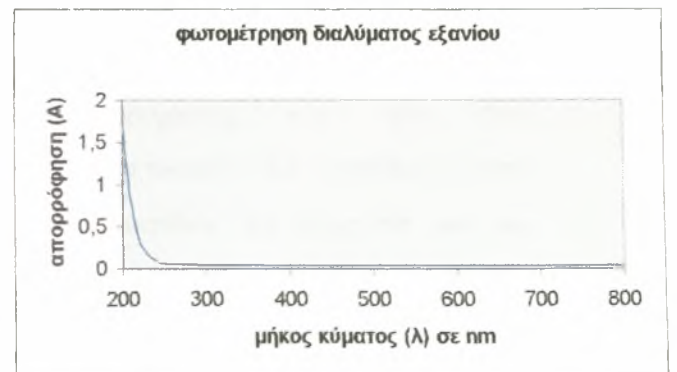
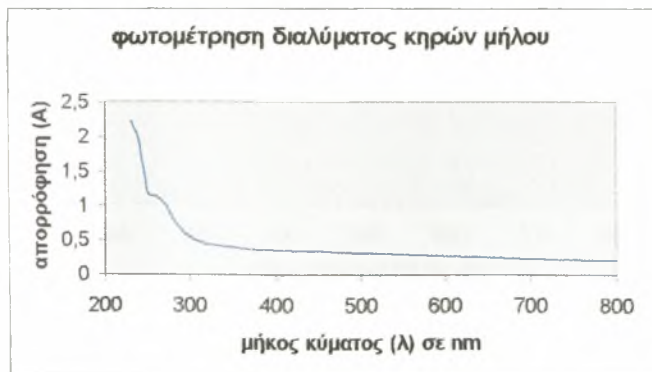
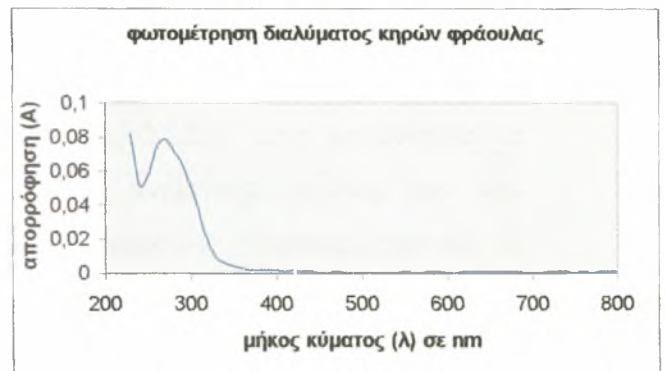
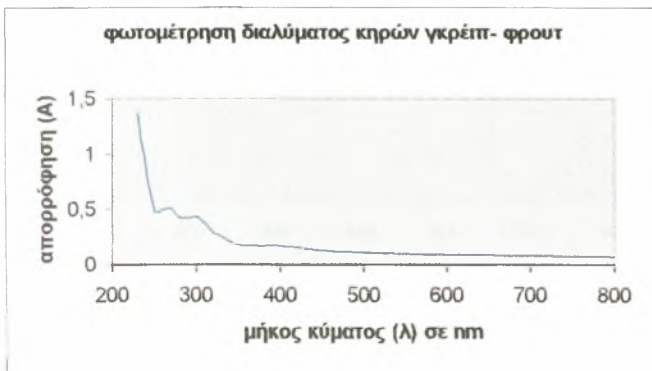
Συνοπτικά, στο συγκεντρωτικό διάγραμμα για το chlorpyrifos-methyl, οι εκθετικές συναρτήσεις της εναπομένουσας συγκέντρωσης chlorpyrifos-methyl σε συνάρτηση με το χρόνο απεικονίστηκαν ως υπερβολές και για τα τρία φρούτα (γράφημα 7). Στο πρώτο τέταρτο φαίνεται να έχει απομείνει περίπου 30% του παρασιτοκτόνου στα πειράματα με τους κηρούς των φραουλών και 50% σ' αυτά με τους κηρούς των γκρέιπ-φρουτ. Στους κηρούς των μήλων η φωτοαποδόμηση στον

ίδιο χρόνο έχει αγγίξει μόλις το 10%. Στη μισή ώρα η φωτοαποδόμηση αρχίζει να ολοκληρώνεται στους κηρούς των φραουλών, ενώ στα γκρέιπ-φρουτ έχει ολοκληρωθεί κατά 80% περίπου και μόλις κατά 50% στα μήλα. Στα μήλα παρατηρείται ότι ακόμα και στα 60 λεπτά έχει απομείνει περίπου 20% της αρχικής ποσότητας του παρασιτοκτόνου, έναντι μηδενός στις φράουλες και λιγότερου από 10% στα γκρέιπ-φρουτ.

Κατά τον ίδιο τρόπο, στο συγκεντρωτικό διάγραμμα του procymidone, οι γραμμές τάσεως των εκθετικών συναρτήσεων της εναπομένουσας συγκέντρωσης σε συνάρτηση με το χρόνο είχαν μορφή ευθείας στις περιπτώσεις των κηρών των γκρέιπ-φρουτ και των φραουλών και μορφή υπερβολής στην περίπτωση των κηρών των φραουλών (γράφημα 8). Στην περίπτωση των φραουλών τα ποσοστά του procymidone που απέμειναν ήταν 70%, 50%, 20% και 0% στα 15', 30', 60' και 180' αντίστοιχα. Το εντυπωσιακό ποσοστό 70% εναπομένουσας συγκέντρωσης παρουσίασε το procymidone στα 180 λεπτά στην περίπτωση των κηρών των γκρέιπ-φρουτ, ενώ όπως προλέχθηκε οι κηροί των μήλων επιβράδυναν σε ακόμα πιο εντυπωσιακό βαθμό τη φωτοαποδόμηση του παρασιτοκτόνου.

3.3. ΦΩΤΟΜΕΤΡΗΣΗ ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΗΡΩΝ, Chlorpyrifos- methyl ΚΑΙ Procymidone.

Οι επιδερμικοί κηροί των φρούτων, αλλά και τα δύο παρασιτοκτόνα



φωτομετρήθηκαν στο φάσμα του ορατού (200-800nm) κι ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε διάλυμα εξανίου και κατασκευάστηκαν οι αντίστοιχες καμπύλες απορρόφησης (Σχήμα 4, 5). Στα γκρέιπ-φρουτ παρουσιάστηκαν τρία τοπικά μέγιστα στα 230nm, 270nm και στα 300nm με τιμές $A_{230}=1,364$, $A_{270}=0,5$ και $A_{300}=0,425$. Κατά τη φωτομέτρηση των κηρών των φραουλών παρουσιάστηκαν δύο τοπικά μέγιστα στα 230nm και στα 270nm με τιμές $A_{230}=0,082$ και $A_{270}=0,079$, ενώ στην περίπτωση των κηρών των μήλων βρέθηκε ένα μέγιστο στα 230nm με $A_{230}=2,222$. Το chlorpyrifos-

methyl φωτομετρούμενο εντός εξανίου παρουσίασε δύο μέγιστα στα 230nm και στα 290nm με τιμές

$A_{230}=1,202$ και

$A_{290}=0,653$ και το

procymidone παρουσίασε

ένα μέγιστο στα 230nm

με $A_{230}=1,784$. Το εξάνιο

παρουσίασε μέγιστο στα

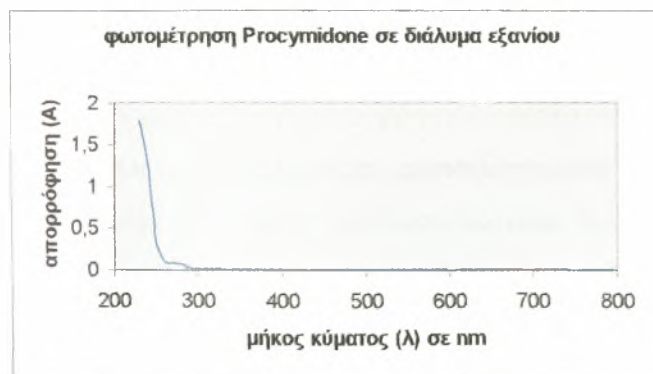
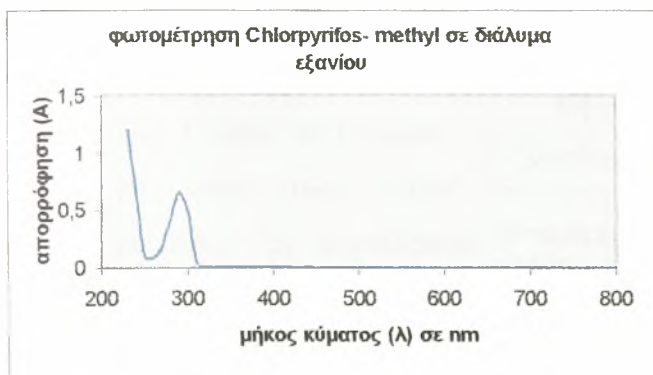
200nm με $A_{200}=1,694$.

	A_{200}	A_{230}	A_{270}	A_{290}	A_{300}
κηροί γκρέιπ-φρουτ		1,364	0,5		0,425
κηροί φραουλών		0,082	0,079		
κηροί μήλων		2,222			
chlorpyrifos- methyl		1,202		0,653	
procymidone		1,784			
εξάνιο	1,694				

Πίνακας 7

Όπως φαίνεται στο συγκεντρωτικό πίνακα των μεγίστων (πίνακας 7) το κοινό μέγιστο για όλες τις ουσίες που φωτομετρήθηκαν, πλην του μάρτυρα βρίσκεται στα

230nm. Επιπλέον, τη μεγαλύτερη τιμή στο εν λόγω μέγιστο από τα τρία φρούτα την παρουσιάζουν οι κηροί των μήλων (με $A_{230}=2,222$), τιμή μεγαλύτερη κι από τα αντίστοιχα μέγιστα των δύο παρασιτοκτόνων. Υπενθυμίζεται πως οι επιδερμικοί κηροί των μήλων αποδείχτηκε πως ελαττώνουν περισσότερο από τις φράουλες και τα γκρέιπ-φρουτ το ρυθμό φωτοαποδόμησης και των δύο παρασιτοκτόνων. Το γεγονός αυτό μπορεί ακριβώς να εξηγείται από το σύμπλοκο-συστατικό των κηρών των



Σχήμα 5. Καμπύλες απορρόφησης των δύο παρασιτοκτόνων.

μήλων που παρουσιάζει τόσο μεγάλη απορρόφηση στα 230nm, καθώς στο συγκεκριμένο μέγιστο παρατηρείται ότι η σειρά μείωσης των τιμών του μεγίστου στα τρία φρούτα (μήλα>γκρέιπ- φρουτ>φράουλες) συμπίπτει με το βαθμό επίδρασης των φρούτων στο ρυθμό φωτοαποδόμησης των παρασιτοκτόνων.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι κηροί που εξήχθησαν από τα τρία είδη φρούτων μείωσαν το ρυθμό φωτοαποδόμησης του procymidone και του chlorpyrifos- methyl. Η επιβράδυνση της φωτοαποδόμησης του chlorpyrifos- methyl από τους κηρούς ήταν σε κάθε περίπτωση μικρότερη από αυτή του procymidone.

Όσον αφορά το chlorpyrifos- methyl, οι κηροί των φραουλών διπλασίασαν από 4 λεπτά σε 8 λεπτά το χρόνο ημιζωής ($t_{1/2}$) του, ενώ οι κηροί των γκρέιπ- φρουτ αύξησαν το χρόνο ημιζωής από 4 λεπτά σε 14 λεπτά.

Οι κηροί των μήλων επέφεραν τη μεγαλύτερη αύξηση στο χρόνο ημιζωής

του παρασιτοκτόνου μετατρέποντάς τον από 4 λεπτά σε 32 λεπτά (πίνακας 8).

Όσον αφορά το procymidone, και πάλι οι κηροί των φραουλών είχαν τη μικρότερη επίδραση αυξάνοντας το χρόνο ημιζωής από 5 λεπτά σε 22 λεπτά, με τους κηρούς των γκρέιπ- φρουτ να ακολουθούν με μια αύξηση του $t_{1/2}$ από 5 λεπτά σε 277. Οι κηροί των μήλων προκάλεσαν μια εντυπωσιακή αύξηση του $t_{1/2}$ από τα 5 λεπτά στα 866 λεπτά, έτσι ώστε να είναι δυνατό να ειπωθεί πως πρακτικά δεν επιτελείται φωτοαποδόμηση στην προκειμένη περίπτωση (πίνακας 8).

Οι επιδερμικοί κηροί που εξήχθησαν από τα γκρέιπ- φρουτ, τις φράουλες και τα μήλα ήταν $130\mu\text{g}/\text{cm}^2$, $22\mu\text{g}/\text{cm}^2$, $516\mu\text{g}/\text{cm}^2$ αντίστοιχα (πίνακας 8). Η ποσότητα

Procymidone			
φρούτο	εξαγόμενοι κηροί ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	$t_{1/2}$ (min)	R
γκρέιπ- φρουτ	130	277	-0.89
φράουλα	22	22	-0.98
μήλο	516	866	-0.32
μάρτυρας	0	5	-1
Chlorpyrifos- methyl			
φρούτο	εξαγόμενοι κηροί ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	$t_{1/2}$ (min)	R
γκρέιπ- φρουτ	130	14	-1
φράουλα	22	8	-1
μήλο	516	32	-0.96
μάρτυρας	0	4	-1

Πίνακας 8. Παρατίθενται η ποσότητα εξαγόμενων κηρών κάθε φρούτου, ο χρόνος ημιζωής των παρασιτοκτόνων κι η κλίση (R) κάθε γραφικής παράστασης.

κηρών που εξήχθη από τα μήλα παρουσιάζεται αρκετά υψηλή, αν και η μέθοδος CHCl_3 / υπερήχων ήταν ανεπαρκής στη συγκεκριμένη περίπτωση, όπως αποκάλυψαν τα ευρήματα του μικροσκοπίου. Κάτι τέτοιο σημαίνει πως η μεγάλη ποσότητα κηρών οφείλεται στην ύπαρξη αυτή καθαυτή μεγάλης ποσότητας κηρών στην επιφάνεια της επιδερμίδας του μήλου.

Καθίσταται σαφές πως ισχυρότερη επίδραση προς την κατεύθυνση μείωσης της φωτοαποδόμησης παρουσίασαν οι επιδερμικοί κηροί των μήλων, ακολουθούμενοι από αυτούς των γκρέιπ- φρουτ κι εν συνεχεία από αυτούς των φραουλών. Παρατηρείται πως η επίδραση στη φωτοαποδόμηση ακολουθεί τη σειρά της ποσότητας των εξαγόμενων κηρών. Ανάλογος συσχετισμός ποσότητας εξαγόμενων κηρών- επίδρασης κηρών στη φωτοαποδόμηση παρασιτοκτόνου έγινε στη μελέτη της επίδρασης των κηρών των ελιών, των πορτοκαλιών και των νεκταρινιών στη φωτοαποδόμηση του fenthion (Cabras et al., 1997), όπου αποδείχθηκε πως οι κηροί των πορτοκαλιών και των νεκταρινιών αυξάνουν την αποδόμηση του εν λόγω παρασιτοκτόνου, ενώ οι κηροί των ελιών την μειώνουν. Οι ελιές στη μελέτη αυτή έφεραν στην επιφάνειά τους πολύ μεγαλύτερη ποσότητα κηρών ($510\mu\text{g}/\text{cm}^2$) σε σχέση με τα πορτοκάλια ($41\mu\text{g}/\text{cm}^2$) και τα νεκταρίνια ($7\mu\text{g}/\text{cm}^2$) και επιπλέον, προκαλούσαν πολύ μεγάλη μεταβολή στο $t_{1/2}$. Περαιτέρω πειράματα με πολλαπλάσιες ποσότητες κηρών από νεκταρίνια και πορτοκάλια οδήγησαν στο συμπέρασμα πως η σύσταση κι όχι η ποσότητα των κηρών επηρεάζει τη φωτοαποδόμηση. Εν τέλει η αύξηση της φωτοαποδόμησης από τους κηρούς των πορτοκαλιών και των νεκταρινιών αποδόθηκε στην παρουσία καταλυτικών μορίων στα μόρια αυτά (Cabras et al., 1997).

Συμπερασματικά, είναι πολύ σημαντική η διαπίστωση πως η σύσταση των κηρών διαφορετικών φρούτων κι όχι η ποσότητα των κηρών, είναι αυτή που φαίνεται να επηρεάζει τη φωτοαποδόμηση- όπως και τη φύση των προϊόντων που προκύπτουν (Angioni et al., 2004)- κατευθύνοντάς την προς κάποιο συγκεκριμένο μονοπάτι. Σύμφωνα με τα άνωθεν, η επίδραση των κηρών μήλου μπορεί να αποδοθεί σε συγκεκριμένα δομικά σύμπλοκα των κηρών κι όχι στην πολύ μεγάλη ποσότητά τους.

Το συστατικό των κηρών του μήλου το οποίο απορροφώντας στα 230nm δίνει

ένα τοπικό
μέγιστο τιμής
A=2,222 μπορεί να
θεωρηθεί υπεύθυνο
για τη δυναμικότητα
επίδραση των κηρών
του μήλου στη
φωτοαποδόμηση και
των δύο

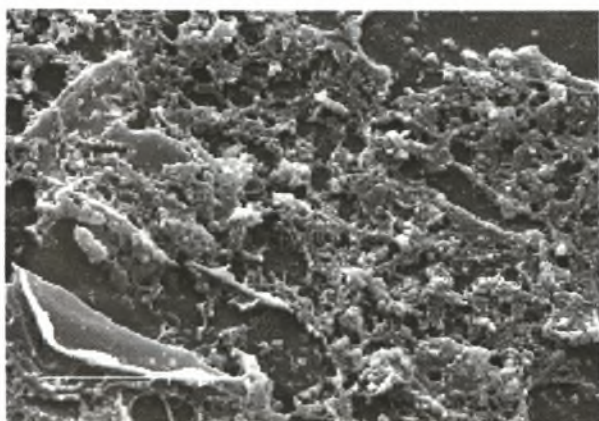
	A ₂₃₀	A ₂₇₀	A ₂₉₀	A ₃₀₀
κηροί γκρέιπ- φρουτ	1,364	0,5		0,425
κηροί φραουλών	0,082	0,079		
κηροί μήλων	2,222			
chlorpyrifos- methyl	1,202		0,653	
procymidone	1,784			

Πίνακας 9

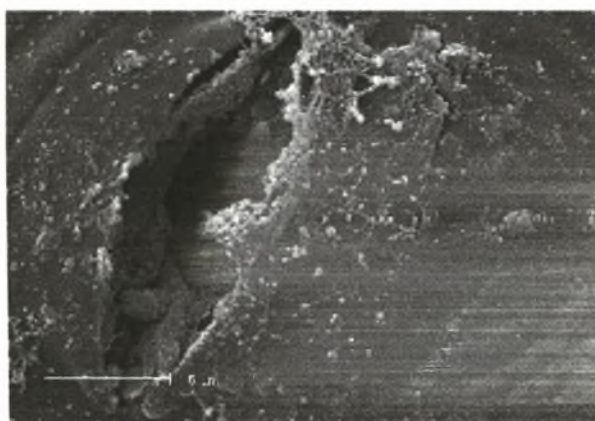
παρασιτοκτόνων. Είναι χαρακτηριστικό το γεγονός ότι στα 230nm παρουσιάζουν μέγιστα και τα δύο παρασιτοκτόνα, με το chlorpyrifos- methyl να έχει απορρόφηση A=1,202 και το procymidone A=1,784. Η μεγάλη τιμή του μέγιστου των κηρών των μήλων στα 230nm (A₂₃₀=2,222), αλλά κι οι κατά πολύ μικρότερες τιμές που έχουν τα μέγιστα στην περίπτωση των γκρέιπ- φρουτ (A₂₃₀=1,364) και των φραουλών (A₂₃₀=0,082) θα μπορούσαν να δικαιολογήσουν τη σειρά επίδρασης των φρούτων στη φωτοαποδόμηση (πίνακας 9). Η πολύ χαμηλή τιμή απορρόφησης μάλιστα της φράουλας στα 230nm δικαιολογεί και τη μικρή επίδραση που έχει κυρίως στη φωτοαποδόμηση του chlorpyrifos- methyl. Είναι επίσης σημαντικό να σημειωθεί πως ενώ τα γκρέιπ- φρουτ παρουσιάζουν τρία τοπικά μέγιστα, οι φράουλες παρουσιάζουν δύο και τα μήλα ένα. Είναι πιθανό τα σύμπλοκα των κηρών των γκρέιπ- φρουτ που απορροφούν στα 270nm (με A₂₇₀=0,5) και στα 300nm με A₃₀₀=0,425 να είναι υπεύθυνα για τη μειωμένη επίδραση των κηρών αυτών σε σχέση με τους κηρούς των μήλων.

Η σημασία του μέγιστου που παρουσιάζεται στα 230nm έγκειται ακριβώς στο ότι το παρουσιάζουν κατά τη φωτομέτρηση και τα παρασιτοκτόνα. Το μέγιστο στα 230nm σημαίνει για τα δύο παρασιτοκτόνα πως η ακτινοβολία ορατού φωτός με το συγκεκριμένο μήκος κύματος είναι κατά σημαντικό βαθμό υπεύθυνη για τη φωτοαποδόμηση. Τα συστατικά των κηρών των εξεταζόμενων φρούτων που απορροφούν στα 230nm δίνοντας τα προαναφερθέντα μέγιστα, απορροφούν κι αυτά στο ίδιο μήκος κύματος, απορροφώντας μ' αυτό τον τρόπο την ακτινοβολία που θα προκαλούσε τη φωτοαποδόμηση και κατά συνέπεια μειώνουν το ρυθμό φωτοαποδόμησης των παρασιτοκτόνων.

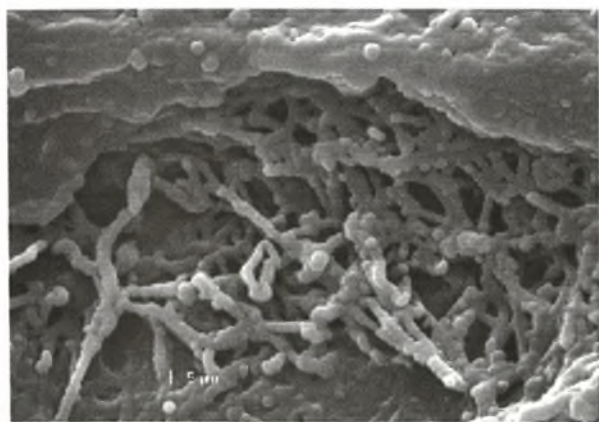
Δυστυχώς τα ευρήματα της μικροσκοπικής παρατήρησης δεν είναι αρκετά για τον προσδιορισμό κάποιου από τα συστατικά των κηρών που δίνουν τα μέγιστα κατά τη φωτομέτρηση και κυρίως αυτού που απορροφά στα 230nm. Στο σημείο αυτό, πρέπει να τονιστεί πως η μικροσκοπική παρατήρηση των κηρών βοήθησε κυρίως στο χαρακτηρισμό της αποδοτικότητας των μεθόδων εξαγωγής κηρών και λιγότερο στην εύρεση συγκεκριμένων δομών και ταξινόμησης αυτών. Παρ' όλ' αυτά, σε αρκετές περιπτώσεις εντοπίστηκαν δομές κηρών που είναι δυνατό να καταταχθούν στα υπάρχοντα συστήματα ταξινόμησης (Εικόνα 28). Η αναγέννηση των επιδερμικών κηρών (Jetter & Schaffer, 2001), η οποία μάλιστα μπορεί να συμβαίνει σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα (Koch et al., 2003) μπορεί να επηρεάσει τα ευρήματα στο μικροσκόπιο, καθώς είναι πιθανό να υπήρξε εκ νέου αναγέννηση κηρών στα δείγματα φλούδας που ελήφθησαν με τις διάφορες μεθόδους ενόψει μικροσκοπικής



A. Κηροί γκρέιπ- φρουτ.



B. Κηροί φράουλας.



Γ. Κηροί μήλου.

Οι μεγεθύνσεις στα 5μm αποκαλύπτουν διαφορετικές δομές κηρών για κάθε φρούτο. Έτσι, στην περίπτωση των γκρέιπ- φρουτ οι δομές μοιάζουν με μεμβρανοειδή πετάλια, στην περίπτωση των φραουλών με κόκκους και στην περίπτωση των μήλων με ενδιάμεσες κρυσταλλοειδείς δομές ανάμεσα σε νήματα και κυλινδρικές ράβδους. Η απόπειρα ταξινόμησης των κηρών αυτών γίνεται κατά Bathlott et al. (1997).

Εικόνα 28. Συγκριτικά οι δομές των κηρών και των τριών φρούτων στα 5μm. Φωτογραφίες από ηλ. μικροσκόπιο.

παρατήρησης. Παράλληλα, το φαινόμενο του πολυμορφισμού, σύμφωνα με το οποίο,

η τελική μορφή των κρυσταλλοειδών εξαρτάται από τις ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν κατά την κρυσταλλοποίηση (Jetter & Riederer, 1994), καθιστά ακόμα πιο δύσκολη τη σαφή ταξινόμηση και το σαφή δομικό χαρακτηρισμό των κηρών.

Ένα μοντέλο παρόμοιο μ' αυτό που περιγράφηκε προηγουμένως λειτουργεί και στη φύση. Οι υπεύθυνες για τη φωτοαποδόμηση των παρασιτοκτόνων ακτινοβολίες του ηλίου απορροφώνται από τους κηρούς των φρούτων των φυτών. Έτσι, η ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας μειώνεται και κατά συνέπεια μειώνεται κι η αποδόμηση του παρασιτοκτόνου. Οι παράγοντες βεβαίως στη φύση που επηρεάζουν τη φωτοαποδόμηση είναι πολυπληθείς και για το λόγο αυτό τα πειραματικά ευρήματα που παρατίθενται θα πρέπει να αντιμετωπιστούν ως ενδεικτικά κι όχι ως εξομοιωτικά για το τι γίνεται στη φύση. Οι ποικίλες καιρικές συνθήκες, η επίδραση εκτός των επιδερμικών κηρών των φρούτων και των κηρών των φύλλων κι άλλων τμημάτων των φυτών με τα παρασιτοκτόνα, η συνεχής αναγέννηση των κηρών, οι τεχνικές εφαρμογής των παρασιτοκτόνων, αλλά κι οι αλληλεπιδράσεις αυτών με άλλα μόρια (εξωγενή χημικά ή βιομόρια του φυτού) είναι λίγοι μόνο από τους παράγοντες που καθιστούν πολύπλοκη τη μελέτη και την περιγραφή της φωτοαποδόμησης στη φύση. Λαμβάνοντας υπόψη πόσο δημοφιλή προς κατανάλωση ανάμεσα στους κατοίκους της Ευρωπαϊκής Ένωσης είναι τα γκρέιπ- φρουτ, οι φράουλες και τα μήλα, αλλά και την εκτενή εφαρμογή του chlorpyrifos- methyl και του procymidone σ' αυτές κι όχι μόνο τις καλλιέργειες (European Commission, Monitoring of Pesticides Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway, Iceland and Liechtenstein 2001 Report) γίνεται κατανοητό πως είναι αναγκαία η ανάπτυξη παρόμοιων πειραματικών διαδικασιών in vivo, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται ο έλεγχος ύπαρξης καταλοίπων στα φρούτα αυτά που αποτελούν βασικό κομμάτι της ανθρώπινης διατροφής.

Η εμφανώς μεγαλύτερη μείωση του ρυθμού φωτοαποδόμησης του procymidone απ' ότι του chlorpyrifos- methyl ανεξαρτήτως φρούτου που χρησιμοποιήθηκε αποτελεί ένα πολύ ενδιαφέρον εύρημα. Το παραπάνω εύρημα, σε συνδυασμό με την εντυπωσιακή επιβραδυντική επίδραση που είχαν οι κηροί του μήλου στο procymidone, θα μπορούσε να αποδοθεί στις ιδιαίτερες ιδιότητες του παρασιτοκτόνου αυτού. Το procymidone παρουσιάζει ιδιαίτερη λιποφιλικότητα. Η λιποφιλικότητα του procymidone είναι δυνατό να προσδίδει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στην αλληλεπίδραση του μυκητοκτόνου με τους επιδερμικούς

κηρούς των φρούτων, γεγονός που συνεπάγεται ενδεχόμενη επιβράδυνση της φωτοαποδόμησης. Συν τοις άλλοις, η λιποφιλικότητα επηρεάζει ασφαλώς και την αλληλεπίδραση των κηρών με τα προϊόντα που προκύπτουν κατά τη διάρκεια της φωτοαποδόμησης επιβραδύνοντας πιθανά και με αυτό τον τρόπο περαιτέρω την φωτοαποδόμηση. Η υψηλή τιμή του χρόνου ημιζωής του procymidone εντός κηρών μήλων μπορεί επίσης να αιτιολογηθεί αν ληφθούν υπόψη τα προηγούμενα, σε συνδυασμό με την ύπαρξη του συστατικού που απορροφά στα 230nm και θεωρήθηκε σ' ένα μεγάλο βαθμό υπεύθυνο για τη φωτοαποδόμηση. Το εν λόγω λιπιδιακής σύστασης συστατικό των κηρών μπορεί να δημιουργεί κάποιο σύμπλοκο με το procymidone ή με κάποιο από τα προϊόντα φωτοαποδόμησης αυτού και να περιορίζει τη φωτοαποδόμηση.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μέθοδος εξαγωγής κηρών μέσω τοποθέτησης των φρούτων σε CHCl_3 κι έπειτα σε υπερήχους αποδεικνύεται αποτελεσματική ενόψει εξαγωγής επιδερμικών κηρών από γκρέιπ- φρουτ. Για την εξαγωγή επιδερμικών κηρών από μήλα κρίνεται απαραίτητη η ανάπτυξη μιας μεθόδου αποτελεσματικότερης, που πιθανά θα συμπεριλαμβάνει πιο ισχυρή κατεργασία του φρούτου. Αντίθετα, για την εξαγωγή επιδερμικών κηρών από φράουλες η μέθοδος αποδείχτηκε καταστροφική για την επιφάνεια των φρούτων και η χρήση μιας μεθόδου που εμπεριέχει ηπιότερη κατεργασία φαίνεται ιδανικότερη.

Οι κηροί των φρούτων που εξετάστηκαν είχαν όλοι επιβραδυντική επίδραση στους ρυθμούς φωτοαποδόμησης του chlorpyrifos- methyl και του procymidone. Ειδικότερα, οι κηροί των μήλων παρουσίασαν ισχυρότερη δράση, αυξάνοντας 8 φορές το χρόνο ημιζωής του chlorpyrifos- methyl και 173 περίπου του procymidone. Ακολούθησαν οι κηροί των γκρέιπ- φρουτ, που αύξησαν 3,5 φορές το χρόνο ημιζωής του chlorpyrifos- methyl και 55 περίπου φορές του procymidone και οι κηροί των φραουλών, οι οποίοι διπλασίασαν το χρόνο ημιζωής του chlorpyrifos- methyl και πολλαπλασίασαν κατά 4,5 περίπου φορές αυτόν του procymidone. Η επιβραδυντική επίδραση των κηρών των μήλων παρουσιάζεται ισχυρότερα πιθανότατα λόγω ύπαρξης κάποιου συγκεκριμένου λιπιδικού συστατικού στους κηρούς των εν λόγω φρούτων. Τα ιδιαίτερα λιποφιλικά χαρακτηριστικά του procymidone είναι ενδεχομένως υπεύθυνα για τη μεγαλύτερη επιβράδυνση της φωτοαποδόμησης, σε σχέση με το chlorpyrifos- methyl.

Τα πειραματικά ευρήματα αποτέλεσαν απλά *in vitro* ενδείξεις και παράλληλα θα μπορούσαν να αποτελέσουν τις βάσεις ενός πειραματικού μοντέλου με ευρεία *in vivo* εφαρμογή. Ένα τέτοιο μοντέλο μελέτης της φωτοαποδόμησης παρασιτοκτόνων σε επίπεδο πλέον καλλιεργειών προϋποθέτει την ταυτόχρονη παρατήρηση –κι αν είναι δυνατόν τον έλεγχο- δεκάδων συνθηκών και παραγόντων άμεσα συνυφασμένων με το περιβάλλον ανάπτυξης των φυτών και τις ιδιότητες των παρασιτοκτόνων που χρησιμοποιούνται, αλλά και με τις συνθήκες καλλιέργειάς τους. Η ανάγκη ανάπτυξης τέτοιων μοντέλων κρίνεται επιτακτική, καθώς η επιβράδυνση της φωτοαποδόμησης παρασιτοκτόνων με ευρεία εφαρμογή, όπως το chlorpyrifos- methyl και το procymidone, από τους κηρούς φρούτων ευρείας κατανάλωσης, όπως τα γκρέιπφρουτ, οι φράουλες και τα μήλα, μπορεί να έχει πολύ σοβαρές διατροφικές, αλλά και περιβαλλοντικές συνέπειες.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό του εργαστηρίου Φυτικής Χημείας του Γεωπονικού Τμήματος του Universita Cattolica Del Sacro Cuore, ειδικά τους καθηγητές Attilio Del Re, Ettore Capri, Marco Trevisan, τη διδακτορική φοιτήτρια Rossella Riccio του ίδιου τμήματος, τον αναπληρωτή καθηγητή του τμήματος Βιοχημείας- Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας Δημήτρη Κουρέτα και το Δημήτρη Καρπούζα του ίδιου τμήματος, η βοήθεια κι οι υποδείξεις των οποίων ήταν πολύ σημαντικές για την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής διατριβής.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. **Amelunxen F, Morgenroth K, Picksak T. 1967.** Untersuchungen an der Epidermis mit dem Stereoscan-Elektronenmikroskop. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* **57**: 79–95.
2. **Angioni A., Cabizza M., Cabras M., Melis M., Tuberoso C., Cabras P. 2004.** Effect of the epicuticular waxes of fruits and vegetables on the photodegradation of rotenone.
3. **Arriaga-Giner FJ, Rumbero A, Wollenweber E. 1992.** New triterpenes from the frond exudates of some *Notholaena* species. *Zeitschrift für Naturforschung* **47c**: 508–511.
4. **Baker EA., Procopiou J. 1975.** The cuticles of *Citrus* species. Composition of the intracuticular lipids of leaves and fruits. *J. Sci. Fd Agric.*; **26**: 1347-1352.

5. **Baker EA. 1982.** Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In: Cutler DF, Alvin KL, Price CE, eds. *The plant cuticle*. London: Academic Press, 139–166.
6. **Baker EA., Procopiou J., Hunt GM. 1975.** The cuticles of citrus species: composition of leaf and fruit waxes. *J. Sci. Fd Agric.*; **26**: 1093- 1101.
7. **Bargel H., Barthlott W., Koch K., Schreiber L., Neinhuis C. 2003.** Plant cuticles: multifunctional interfaces between plant and environment. In:Hemsley AR, Poole I., eds. *Evolutionary physiology at the sub-plant level*. London: Academic Press, 171- 187.
8. **Barnes JD., Cardoso- Vilhena J. 1996.** Interactions between electromagnetic radiation and the plant cuticle. In: Kerstiens G., editor. *Plant Cuticles and integrated functional approach*: Oxford: Bios Scientific Publishers, 157- 170.
9. **Barnes JD, Percy KE, Paul ND, Jones P, McLaughlin CK, Mullineaux PM, et al. 1996.** *J Exp Bot*; **47**: 99–109.
10. **Barthlott W, Neinhuis C, Jetter R, Bourauel T, Riederer M. 1996.** Waterlily, poppy, or sycamore: on the systematic position of *Nelumbo*. *Flora* **191**: 169–174.
11. **Barthlott W., Neinhuis C., Cutler D., Ditsch F., Meusel I., Theisen I., Wilhelmi H. 1998.** Classification and terminology of plant epicuticular waxes *Botanical Journal of the Linnean Society*; **126**: 237–260.
12. **Bianchi G, Murelli C, Ottaviano E. 1990.** *Phytochemistry*; **29**:739–44.
13. **Bianchi G. 1995.** Plant waxes. In: Hamilton RD, ed. *Waxes: Chemistry, molecular biology and functions*. Dundee: The Oily Press, 177–222.
14. **Bukovac MJ., Rasmussen HP., Shull VE. 1981.** The cuticle: Surface structure and function. *Scanning Electron Microsc.* Part III: 213-223.
15. **Burrows H.D. , M. Canle L , Santaballa J.A., Steenken S. 2002.** Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **67** 71–108.
16. **Cabras P., Angioni A., Garau VL., Melis M., Pirisi FM., Minelli EV. 1997.** Effect of epicuticular waxes of fruits on the photodegradation of fenthion. *J. Agric. Food Chem.*; **45**: 3681- 3683.
17. **Carver TLW., Thomas BJ., Ingersonmorris SM., Roderick HW. 1990.** The role of the abaxial leaf surface waxes of *Lolium* spp. in resistance to *Erysiphe graminis*. *Plant Pathol*; **39**: 573-583.
18. **Chibnall AC, Piper SH, Mangouri HAE, Williams EF, Iyengar AVV. 1937.** CCXLIV. The wax from the leaves of sandal (*Santalum album*). *Biochemical Journal* **31**: 1981–1986.
19. **Christie, W.W. (2003),** Lipid Analysis (3rd Edition); Oily Press, Bridgewater.
20. **Darwin F. 1886.** On the relation between the ‘bloom’ on leaves and the distribution of stomata. *Journal of the Linnean Society* **22**: 99–116.
21. **de Bary A. 1871.** Ueber die Wachsu“berzu“ge der Epidermis. *Botanische Zeitschrift* **29**: 128–139, 145–154, 161–176, 566–571, 573–585, 605–619.
22. **Dierickx PJ. 1973.** New b-diketones from *Buxus sempervirens*. *Phytochemistry* **12**: 1498–1499.
23. **Eigenbrode SD, Espelie KE. 1995.** *Annu Rev Entomol* ; **40**: 171–94.
24. **El- Otmani M., Coggins CW. Jr. 1985.** Fruit development and growth regulator effects on normal alkanes of “Washington” navel orange fruit epicuticular wax. *J. Agr. Food Chem.*; **33**: 565-663.

25. **European Commission. 2001.** Monitoring of Pesticides Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway, Iceland and Liechtenstein 2001 Report.
26. **Flaishman MA., Hwang C-S., Kolattukudy PE. 1995.** Involvement of protein phosphorylation in the induction of appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides* by its host surface wax and ethylene. *Physiol Mol Plant Pathol*; **47**: 103-117.
27. **Freeman B, Turner DW. 1985.** The epicuticular waxes on the organs of different varieties of banana (*Musa* spp.) differ in form, chemistry and concentration. *Australian Journal of Botany* **33**: 393-408.
28. **Freeman B., Albrigo LG., Biggs RH. 1979.** Ultrastructure and chemistry of cuticular waxes of developing *Citrus* leaves and fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*; **104**: 801-808.
29. **Frey A. 1926.** Die submikroskopische Struktur der Zellmembranen. *Jahrbu"cher fu"r wissenschaftliche Botanik* **65**: 195-223.
30. **Fritz F. 1935.** Uber die Kutikula von Aloe- und Gasteriaarten. *Jahrbu"cher fur wissenschaftliche Botanik* **81**: 718-746.
31. **Gulz PG, Muller E, Schmitz K, Marner F-J, Guth S. 1992.** Chemical composition and surface structures of epicuticular waxes of *Ginkgo biloba*, *Magnolia grandiflora* and *Liriodendron tulipifera*. *Zeitschrift fur Naturforschung* **47**: 516-526.
32. **Haas K. 1989.** Chemical composition and structure of epicuticular wax in box leaves. *Biologie und Chemie Hoppe-Seyler* **370**: 796.
33. **Hall DM, Matus AI, Lamberton JA, Barber HN. 1965.** Infra-specific variation in wax on leaf surfaces. *Australian Journal of Biological Sciences* **18**: 323-332.
34. **Hallam ND, Chambers TC. 1970.** The leaf waxes of the genus *Eucalyptus* L'Heritier. *Australian Journal of Botany* **18**: 335-386.
35. **Hamilton RJ. 1995.** (Editor) Waxes: Chemistry, molecular biology and functions (The Oily Press, Dundee)
36. **Hegenauer R. 1963.** *Chemotaxonomie der Pflanzen Band II Monocotyledoneae*. Basel: Birkhauser.
37. **Hennig S, Barthlott W, Meusel I, Theisen I. 1994.** Mikromorphologie der Epicuticularwachse und die Systematik der Magnoliidae, Ranunculidae und Hamamelididae. *Tropische und subtropische Pflanzenwelt* **90**: 5-60.
38. **Holloway PJ. 1982.** Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview. In: Cutler DF, Alvin KL, Preice CE, eds. *The Plant Cuticle, Linnean Society Symposium Series*, Vol. 10. Academic Press, London, 1-32.
39. **Holloway PJ, Jeffree CE, Baker EA. 1976.** Structural determination of secondary alcohols from plant epicuticular waxes. *Phytochemistry* **15**: 1768-1770.
40. **Holloway PJ. 1970.** Surface factors affecting the wetting of leaves. *Pesticide Science* **1**: 156-163.
41. **Holmes MG, Keiller DR. 2002.** Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in the ultraviolet and photosynthetic wavebands: a composition of a range of species. *Plant, Cell and Environment* **25**: 85-93.
42. **Hunt GM, Holloway PJ, Baker EA. 1976.** Ultrastructure and chemistry of *Clarkia elegans* leaf wax: a comparative study with *Brassica* leaf waxes. *Plant Science Letters* **6**: 353-360.

43. **Hustert K., Moza P.N. 1997.** Photochemical degradation of dicarboximide fungicides in the presence of soil constituents, *Chemosphere* **35**: 33–37.
44. **Isbell TA, Carlson KD, Abbott TP, Phillips BS, Erhan SM, Kleiman R. 1996.** *Ind Crop Prod*; **5**: 239–43.
45. **Jeffree CE, Baker EA, Holloway PJ. 1976.** Origins of the fine structure of plant epicuticular waxes. In: Dickinson CH, Preece TF, eds. *Microbiology of aerial plant surfaces*. London: Academic Press, 119–158.
46. **Jeffree CE. 1986.** The cuticle, epicuticular waxes and trichomes of plants, with reference to their structure, functions and evolution. In: Juniper BE, Southwood SR, eds. *Insects and the plant surface*. London: Edward Arnold, 23–63.
47. **Jenks MA, Joly RJ, Peters PJ, Rich PJ, Axtell JD, Ashworth EN. 1994.** *Plant Physiol* ;**105**: 1239–45.
48. **Jetter R, Riederer M. 1994.** Epicuticular crystals of nonacosan-10-ol: In-vitro reconstitution and factors influencing crystal habits. *Planta* **195**: 257–270.
49. **Jetter R, Riederer M. 1995.** In vitro reconstitution of epicuticular wax crystals: Formation of tubular aggregates by long chain secondary alkanediols. *Botanica Acta* **108**: 111–120.
50. **Jetter R, Schaffer S. 2001.** *Plant Physiol*; **126**: 1725–37.
51. **Jurasky KA. 1934.** Kutikular-Analyse. *Biologia Generalis* **10**: 383–402.
52. **Kerner von Marilaun A. 1913.** *Pflanzenleben*. Leipzig.
53. **Kerstiens G. 1996.** Signalling across the divide: a wider perspective of cuticular structure- function relationships. *Trends in Plant Science*; **1**: 125-129.
54. **Kirkwood RC. 1999.** Recent development in our understanding of the plant cuticle as a barrier to the foliar uptake of pesticides. *Pesticide Science* **55**, 69-77.
55. **Koch K., Neinhuis C, Ensikat H-J., Barthlott W. 2004.** Self assembly of epicuticular waxes on living plant surfaces imaged by atomic force microscopy (AFM). *J. Exp Bot*; **397**: 711-718.
56. **Kolattukudy PE. 1976.** Editor. *Chemistry and Biochemistry of natural waxes*. Elsevier, Amsterdam.
57. **Kolattukudy PE. 1980.** Cutin, suberin and waxes. In: Stumpf PK, ed. *Lipids: structure and function*. London, New York: Academic Press, 571-646.
58. **Kolattukudy PE. 2001.** Polyesters in higher Plants. In: Scheper T., ed. *Advances in biochemical engineering/ biotechnology*. Berlin: Springer Verlag, 4-49.
59. **Komate H., Hayashi N. 1971.** Palmiton and phytosterols from *Neolitsea sericea*. *Phytochemistry*; **10**: 1953-1954.
60. **Kreger DR. 1948.** An X-ray study of waxy coating from plants. *Recueil des Travaux Botaniques Neerlandais*; **42**: 606-736.
61. **Kunst L., Samuels A.L. 2003.** Review, Biosynthesis and secretion of plant cuticular *Progress in Lipid Research* **42**: 51–80.
62. **Lee B, Priestley JH. 1924.** The plant cuticle. *Annals of Botany* **38**: 525–545.
63. **Liu H, Przybylski R, Dawson K, Eskin NAM, Biliaderis CG. 1996.** *J Am Oil Chem Soc*; **73**: 493–8.
64. **Mackie A, Ghatge N. 1958.** Chemical investigation of the leaves of *Annona senegalensis*. II. – Carbohydrates, glycosides, proteins, amino-acids, sterols. *Journal of Science of Food and Agriculture* **9**: 88–92.

65. **Martin JT, Juniper BE. 1970.** *The Cuticles of Plants*. London: Edward Arnold.
66. **McDonald RE., Nordby HE., McCollum TG. 1993.** Epicuticular wax morphology and composition are related to grapefruit chilling injury. *Hortic. Sci.*; **28**: 311-312.
67. **Meusel I, Leistner E, Barthlott W. 1994.** Chemistry and micromorphology of compound epicuticular wax crystalloids (*Strelitzia* type). *Plant Systematics and Evolution* **193**: 115–123.
68. **Mikami N., Imanishi K., Yamada H., Miyamoto J. 1984.** *J. Pesticide Sci.*; **9**: 223-228.
69. **Ministero Italiano Della Salute. 2003.** Controllo Ufficiale Sui Residui Di Prodotti Fitosanitari Negli Alimenti Di Origine Vegetale, risultati in Italia per l' anno 2002, 2003,
70. **Napp-Zinn K. 1973.** Anatomie des Blattes II. Blattanatomie der Angiospermen. In: Zimmermann W, Carlquist S, Ozenda P, Wulff HD, eds. *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Berlin: Gebr. Borntraeger, 1–764.
71. **Nordby HE., McDonald RE. 1990.** Squalene in grapefruit wax as a possible natural protectant against chilling injury. *Lipids*; **25**: 807-810.
72. **Nordby HE., McDonald RE. 1991.** Relationship of epicuticular wax composition of grape- fruit to chilling injury. *J. Agr. Food Chem.*; **39**: 957-962.
73. **Nutahara M., Muray T. 1984.** *Nippon Noyako Gakkaishi*; **9**: 667-674.
74. **Perkow W. 1983/1988.** *Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schadlingsbekämpfungsmittel*, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg.
75. **Pilon JJ., Lambers H., Bass W., Tosserams M., Rozema J., Atkin OW., Atkin OK. 1999.** Leaf waxes of slow-growing alpine and fast-growing lowland *Poa* species: inherent differences and responses to UV-B radiation. *Phytochemistry*; **50**: 571-580.;
76. **Pirisi FM., Angioni A., Cabizza M., Cabras P., Maccioni E. 1998.** Influence of epicuticular waxes on the photolysis of pirimicarb in the solid phase. *J. Agric. Food Chem.*; **46**: 762- 765.
77. **Pirisi FM., Angioni A., Cabizza M., Cabras P., Falqui Cao C. 2001.** Photolysis of pesticides: influence of epicuticular waxes from *Persica laevis* DC on the photodegradation in the solid phase of aminocarb, methiocarb and fenthion. *Pest. Manag. Sci.*; **57**: 522- 526.
78. **Podila GK., Rogers LM., Kolattukudy PE. 1993.** Chemical signals from avocado surface wax trigger germination and appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides*, *Plant Physiol*; **103**: 267-272.
79. **Preuss D, Lemieux B, Yen G, Davis RW. 1993.** *Genes Dev*; **7**:974–85.
80. **Reicosky DA, Hanover JW. 1978.** *Plant Physiol* **62**:101–4.
81. **Reiderer M, Schreiber L. 1995.** Waxes- the transport barriers of plant cuticles. In: Hamilton RJ, editor. *Waxes: Chemistry, molecular biology and functions*. Dundee:Oily Press, 131–56.
82. **Reiter B, Lechner M, Lorbeer E, Aichholz R. 1990.** *J High Res Chromatogr*; **22**: 514–20.
83. **Schonherr J. 1976.** Water permeability of isolated cuticular membranes: the effect of cuticular waxes on diffusion of water. *Planta* **131**: 159-164.
84. **Schonherr J. 1982.** Resistance of plant surfaces to water loss: transport properties of cutin, suberin and associated lipids. In: Lange OL., Nobel PS.,

- Osmond CB., Ziegler H., eds. *Encyclopaedia of plant physiology*, New Series, Vol. 12B. Berlin: Springer, 153-179.
85. **Schreiber L. 2001.** Effect of temperature on cuticular transpiration of isolated cuticular membranes and leaf discs. *J. Exp. Bot.*; vol. 52, **362**: 1893-1900.
 86. **Schwack W., Bourgeois B., Lebensm Z. 1989.** *Unters. Forsch.*; **188**: 346-347.
 87. **Schwack W., Bourgeois B., Walker F. 1995.** Fungicides and photochemistry photodegradation of the dicarboximide fungicide procymidone, *Chemosphere* **31** 4033-4040.
 88. **Shepherd T, Robertson GW, Griffiths DW, Birch ANE, Duncan G. 1995.** Effects of environment on the composition of epicuticular wax from kale and swede. *Phytochemistry* **40**: 407-417.
 89. **Sprenkel CK. 1793.** *Das entdeckte Geheimnis der Natur*. Berlin: Friedrich Vieweg dem Aeltern.
 90. **Stadler E. 1986.** Oviposition and feeding stimuli in leaf surface waxes. In: Juniper BE., Southwood TRE., eds. *Insects and the plant surface*. Edward Arnold, London: 105-121.
 91. **Stevens JF. 1995.** The systematic and evolutionary significance of phytochemical variation in the eurasian Sedoideae and Sempervivoideae (Crassulaceae). Dissertation: University of Groningen.
 92. **Tomlin C. 1994.** (editor) *The Pesticide Manual*, 10th edition
 93. **van Loon JJA., Blakmeer A., Griepink FC., van Beek TA., Schoonhoven LM., de Groot A. 1992.** Leaf surface compound from *Brassica oleracea* (Cruciferae) induces oviposition by *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae). *Chemoecology*; **3**: 39-44.
 94. **Vandenburg LE, Wilder EA. 1970.** The structural constituents of carnauba wax. *Journal of the American Oil Chemistry Society* **47**: 514-518.
 95. **Veraverbeke EA., Lammertyn J., Saevels S., Nicolai BM. 2001.** Changes in chemical wax composition of three different apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars during storage. *Postharvest Biology and Technology*, vol. 23; **3**: 197-208.
 96. **Wettstein-Knowles P. von 1974.** Ultrastructure and origin of epicuticular wax tubes. *Journal of Ultrastructure Research* **46**: 483-498.
 97. **Wettstein-Knowles P. von. 1995** In: Hamilton RJ, editor. Waxes: chemistry, molecular biology and functions. Dundee: Oily Press; p. 91-129.
 98. **Wilkinson HP. 1979.** The plant surface. In: Metcalfe CR., Chalk L., eds. *Anatomy of the dicotyledons*. Oxford: Oxford University Press: 97-165.
 99. **Wollenweber E. 1977.** Chalkone und Dihydrochalkone als Mehlbestandteile bei Farnen (Gattungen *Cheilanthes* und *Notholaena*). *Zeitschrift für Naturforschung* **32c**: 1013-1014.
 100. **Wollenweber E. 1984.** The systematic implication of flavonoids secreted by plants. In: Rodriguez E, Healey PL, Mehta I, eds. *Biology and chemistry of plant trichomes*. New York: Plenum Press, 53-69.