

Όνομα φοιτητή: Ιωάννα Φραγκούδη

Αριθμός φοιτητικής ταυτότητας: 2010007484

Αριθμός ταυτότητας: 975439

Επιβλέπων: Δρ. Βασίλειος Φωτόπουλος, Επίκουρος Καθηγητής

Συνεπιβλέπουσα: Χρυστάλλα Αντωνίου

**Τίτλος πτυχιακής εργασίας: “Μελέτη της νιτρο-οξειδωτικής απόκρισης φυτών μηδικής (*Medicago truncatula* L.) στην προσβολή από το άκαρι *Tetranychus urticae* κάτω από συνθήκες ξηρασίας”**

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Τα φυτά αναπτύσσονται σε ένα δυναμικό περιβάλλον, το οποίο τα αναγκάζει να βελτιστοποιήσουν τους μηχανισμούς άμυνάς τους, εναντίον διαφόρων δυσμενών περιβαλλοντικών συνθηκών που προκαλούνται από αβιοτικούς ή/και βιοτικούς παράγοντες. Οι ενεργές μορφές οξυγόνου και αζώτου (Reactive oxygen and nitrogen species; RONS) είναι γνωστό ότι παράγονται κάτω από συνθήκες καταπόνησης και παίζουν καθοριστικό ρόλο στην απόκριση του φυτού. Σκοπός τη παρούσας μελέτης είναι η εξακρίβωση του ρόλου των RONS τόσο των επιμέρους όσο και των συνδιαστικών επιδράσεων δύο σημαντικών παραγόντων καταπόνησης, της ξηρασίας και της προσβολής από το μυζητικό άκαρι *Tetranychus urticae* σε φυτά μηδικής (*Medicago truncatula*) σε τοπικό και διασυστηματικό επίπεδο. Για την υλοποίηση του πιο πάνω στόχου αρχικά πραγματοποιήθηκαν φασματοφωτομετρικές αναλύσεις που συμπεριλαμβάνουν: τον προσδιορισμό της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (περιεκτικότητα MDA), του υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και της προλίνης, και ακολούθως μοριακές αναλύσεις. Ιδιαίτερα ενδιαφέρον φάνηκε το γεγονός ότι η παρουσία του ακάρεος οδήγησε σε μικρή αύξηση της κυτταρικής ζημιάς, ενώ τα υψηλότερα επίπεδα MDA παρατηρήθηκαν σε φυτά κάτω από ξηρασία και σε φυτά κάτω από συνθήκες ξηρασίας παρουσία ακάρεος. Τα επίπεδα του  $H_2O_2$  ήταν υψηλότερα στην περίπτωση του συνδιασμού ξηρασίας και ακάρεος σε τοπικό επίπεδο. Τα επίπεδα προλίνης ήταν πολύ υψηλότερα στα φυτά κάτω από ξηρασία σε σχέση με τα αντίστοιχα αρδευόμενα, με υψηλότερα επίπεδα να καταγράφονται στα φυτά που ήταν κάτω από το συνδιασμό των καταπονήσεων. Η ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης που έγινε με τη χρήση qRT-PCR για τα γονίδια που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των RONS (ποιιά-*SOD*, *PAO*, *DAO*, *NR*, *AOX*), έδειξε ότι ο συνδιασμός της αβιοτικής και βιοτικής καταπόνησης, αλλά και η επίδραση της κάθε μιας ξεχωριστά, οδήγησε σε διαφορετική γονιδιακή ρύθμιση. Όσον αφορά την έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με τη βιοσύνθεση της προλίνης, παρατηρήθηκε επαγωγή στα φυτά κάτω από ξηρασία, ενώ η παρουσία του ακάρεος φαίνεται να επηρεάζει τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων αυτών σε τοπικό και διασυστηματικό επίπεδο. Από την παρούσα εργασία φαίνεται ότι οι RONS παίζουν σημαντικό ρόλο στην απόκριση του φυτού σε συνδιασμό καταπονήσεων.

**TITLE: “Nitro-oxidative response of *Medicago truncatula* plants to mite attack under drought conditions”**

## **ABSTRACT**

Plants grow under a dynamic environment, forcing them to develop and optimise defence mechanisms against adverse environmental conditions caused by either abiotic and/or biotic factors. It is well documented that plants respond under stress conditions by generating reactive oxygen and nitrogen species (RONS). The present study attempts to investigate the individual and combined effect of two major stress factors, drought stress and sucking mite (*Tetranychus urticae*) infestation, in *Medicago truncatula* plants. Experiments include the molecular analysis of the biosynthesis of key RONS representatives hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and nitric oxide (NO), as well as the measurement of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content, on the feeding leaf and the neighbouring leaves in order to investigate the local and systemic effect of these stress factors on the plant's nitro-oxidative response. Furthermore, cellular damage levels were estimated by determining lipid peroxidation (MDA content). Interestingly, mite infestation results a significant cellular damage to the plants compared with control samples, but not as high as that caused by drought, whereas MDA content reaches highest levels in drought-stressed plants and drought-stressed plants under mite attack. In addition, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels were significantly induced in plants grown under a combination of abiotic and biotic stress conditions, with highest levels being recorded on the feeding leaves (local response). Gene expression analysis using real-time RT-PCR of main genes implicated in RONS metabolism (*NR*, *PAO*, *DAO*, *AOX*, *Cu/ZnSOD*, *FeSOD*) indicated a widely differential regulation between the different abiotic/biotic stress treatments and combination of those. Proline content was much higher in plants under drought conditions compared with control samples. At the same time, the presence of the mite on drought plants led to a synergistic increase on a local and systemic level. In regard with genes implicated in proline biosynthesis (*P5CS*, *P5CR*), an induction was observed after 9 and 10 days of drought. Overall, this study proved the key role of RONS in plant response under a combination (abiotic and biotic) of stresses.