



ΕΛΛΗΝΙΚΗ  
ΖΙΖΑΝΙΟΛΟΓΙΚΗ  
ΕΤΑΙΡΙΑ

17<sup>ο</sup> ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ  
ΣΥΝΕΔΡΙΟ

[www.eze.org.gr](http://www.eze.org.gr)

# ΖΙΖΑΝΙΟΛΟΓΙΑ ΓΕΩΡΓΙΑ ΑΣΤΙΚΟ ΠΡΑΣΙΝΟ

## ΠΡΑΚΤΙΚΑ



22-24 ΝΟΕΜΒΡΙΟΥ 2012  
ΑΘΗΝΑ

ΣΥΝΔΙΟΡΓΑΝΩΤΕΣ



Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων  
ministry of rural development and food



ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ  
ΣΥΝΕΔΡΙΟ  
ΕΛΛΑΔΑΣ

του βιοσυνθετικού της ενζύμου P5CS, παρόμοια με αυτή που παρατηρήθηκε με άλλα φυτά παρόμοιας ηλικίας αλλά πιο προχωρημένου αναπτυξιακού σταδίου (φυτά *M. truncatula* 40 ημερών, 200 mM NaCl) (Filippou κ.ά., μη δημοσιευμένα αποτελέσματα). Η βιολογική σημασία του αποτελέσματος αυτού έγκειται στην υψηλή ανοχή της βρωμοκαρυδιάς, καθώς από το πρώιμο στάδιο ανάπτυξης στο οποίο βρίσκεται (αρτίβλαστα), καθίσταται εξίσου ανθεκτική στην αλατότητα με άλλα φυτικά είδη παρόμοιας ηλικίας, τα οποία χαρακτηρίζονται ως ώριμα φυτά λόγω του μικρού κύκλου ζωής. Σε ακραίες τιμές συγκέντρωσης άλατος (300 mM) οι παραπάνω οξειδωτικοί και δείκτες καταπόνησης παρουσιάστηκαν ιδιαίτερα αυξημένοι, όπως ήταν αναμενόμενο.

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της πράξης «Ανάδειξη του Τεχνολογικού Ιδρύματος Ιονίων Νήσων ως Διεθνούς Πόλου Εκπαίδευσης και Καινοτομίας». Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΚΤ) και από Εθνικούς Πόρους.

#### 4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

De Feo, V., L. De Martino, E. Quaranta and C. Pizza. 2003. Isolation of Phytotoxic Compounds from Tree-of-Heaven (*Ailanthus altissima* Swingle). J. Agric. Food Chem. 51: 1177-1180.

Cramer, G.R., K. Urano, S. Delrot, M. Pezzotti and K. Shinozaki. 2011. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. BMC Plant Biology 11:163.

Wang, W-G., R. Li, B. Liu, L. Li, S-H. Wang, and F. Chen. 2011. Effects of low nitrogen and drought stresses on proline synthesis of *Jatropha curcas* seedling. Acta Physiol Plant. 33: 1591-1595.

Kishor, K.P.B., S. Sangam, R.N. Amrutha, S.P. Laxmi, K.R. Naidu, K.R.S. Rao, S. Rao, K.J. Reddy, P. Theriappan, and N. Sreenivasulu. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Curr. Sci. 88: 424-438.

Filippou, P., C. Antoniou and V. Fotopoulos. 2011. Effect of drought and rewatering on the antioxidant response of *Medicago truncatula* plants. Plant Signal. Behav. 6: 270-277.



### ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΤΗΣ ΒΡΩΜΟΚΑΡΥΔΙΑΣ (*AILANTHUS ALTISSIMA*) ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΞΗΡΑΣΙΑΣ

Π. Φιλίππου<sup>1</sup>, Π. Μπουχάγιερ<sup>2</sup>, Ε. Σκώπτη<sup>2</sup>, Ε. Κατσαλήρου<sup>2</sup> και Β. Φωτόπουλος<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων, Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου, 3036, Λεμεσός, Κύπρος

<sup>2</sup> ΤΕΙ Ιονίων Νήσων, Τμήμα Τεχνολογίας Βιολογικής Γεωργίας και Τροφίμων, Τέρμα Λεωφόρου Βεργωτή, 281 00, Αργοστόλι, Κεφαλονιά

Email: [vassilis.fotopoulos@cut.ac.cy](mailto:vassilis.fotopoulos@cut.ac.cy)

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η βρωμοκαρυδιά ή αείλανθος ο υψηλότατος (*Ailanthus altissima*) είναι δενδρώδες φυλλοβόλο είδος με ευρεία προσαρμοστικότητα ακόμη και υπό αντίξοες συνθήκες. Η ανοχή του σε διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες έδωσε το έναυσμα να μελέτης της επίδρασης της ξηρασίας σε αρτίβλαστα *A. altissima* 40 ημερών. Η καταπόνηση έγινε μέσω της μη εφαρμογής άρδευσης στα φυτά για 14 ημέρες με ακολούθησε ο έλεγχος της καταπόνησης με αναλυτικές και βιοχημικές τεχνικές. Οι μετρήσεις στα καταπονημένα από έλλειψη νερού (συνθήκες ξηρασίας) φυτά, έδειξαν αυξημένα επίπεδα ενεργών μορφών οξυγόνου (μορίων υπεροξειδίου του υδρογόνου, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) και της υπεροξειδωσης λιπιδίων των μεμβρανών ως δείκτες της κυτταρικής ζημιάς. Η αυξημένη παραγωγή μορίων υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) συνοδεύτηκε από αύξηση της συγκέντρωσης ενεργών ριζών αζώτου (μονοξειδίου του αζώτου, NO) στα καταπονημένα από ξηρασία φυτά. Επιπρόσθετα, η μελέτη του ενζύμου που συμμετέχει στην παραγωγή NO, της νιτρικής αναγωγής

(NR), έδειξε μείωση της ενζυμικής ενεργότητας (καταλυτικής δράσης) στα καταπονημένα από ξηρασία φυτά σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες. Σύγκριση των αποτελεσμάτων της αντοχής του *A. altissima* στην καταπόνηση, σε σχέση με άλλα φυτικά είδη παρόμοιας ηλικίας (40 ημερών) έδειξε ότι το είδος αυτό (*A. altissima*), ως αρτίβλαστο, παρουσιάζει μειωμένα επίπεδα ζημιάς ως συνέπεια της ξηρασίας, γεγονός που επιβεβαιώνεται από μακροσκοπικές παρατηρήσεις αλλά και από μετρήσεις σε μοριακό/βιοχημικό επίπεδο.

**Λέξεις κλειδιά:** *Ailanthus altissima*, βρωμοκαρυδιά, αβιοτική καταπόνηση, ενεργές μορφές οξυγόνου, ξηρασία

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η βρωμοκαρυδιά (*A. altissima*) είναι δενδρώδης φυλλοβόλο είδος που ανήκει στην οικογένεια Simaroubaceae. Έχει την τάση να αναπτύσσεται και να επιβιώνει σε αντίξοο περιβάλλον εξαιτίας της ιδιαίτερης φυσιολογίας του και των φυτοτοξικών (αλληλοπαθητικών) ουσιών που παράγει στα φύλλα και στις ρίζες του (Tsao *et al.*, 2002). Στη σημερινή εποχή, μια από τις ισχυρότερες αβιοτικές καταπονήσεις είναι η ξηρασία (Jaleel *et al.*, 2009), η οποία μειώνει τη διαθεσιμότητα νερού στα φυτικά κύτταρα με αποτέλεσμα την καταστροφή τους και την τελική νέκρωση του φυτού. Η παρούσα εργασία έγινε με σκοπό τη μελέτη των μηχανισμών αντοχής (tolerance) του *A. altissima* στην ξηρασία μέσω της χρήσης μοριακών τεχνικών.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### **Συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης**

Φυτά *A. altissima* 40 ημερών αναπτύχθηκαν υπό ελεγχόμενες συνθήκες σε ειδικό θάλαμο ανάπτυξης. Τα φυτά αυτά υποβλήθηκαν στη συνέχεια σε συνθήκες έλλειψης νερού (ξηρασίας) μέχρι την 14<sup>η</sup> μέρα και τα φύλλα τους συλλέχθηκαν και τοποθετήθηκαν στους -80 °C μέχρι περαιτέρω χρήσης. Τα δείγματα-μάρτυρες αρδεύονταν κανονικά με νερό κατά τη διάρκεια του πειράματος.

### **Προσδιορισμός της υπεροξειδωσής των λιπιδίων [αντίδραση μαλονικής διαλδεϋδης ή μηλονοδιαλδεϋδης (malondialdehyde, MDA)] και του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Η υπεροξειδωση των λιπιδίων προσδιορίστηκε με φασματοφωτομέτρηση του παραγώγου MDA-TBA [θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA, thiobarbituric acid)], ενώ το υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ποσοτικοποιήθηκε με τη μέθοδο KI (Filippou *et al.*, 2011).

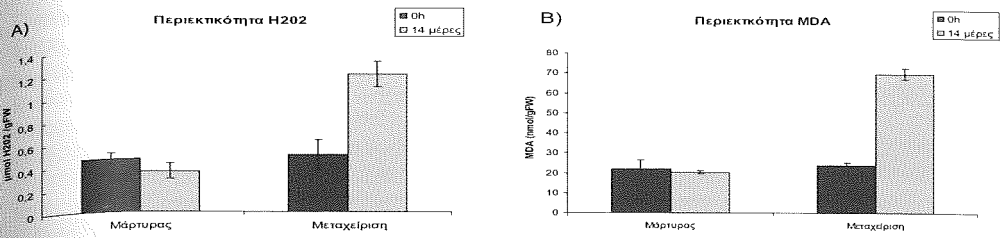
### **Ποσοτικοποίηση του μονοξειδίου του αζώτου (NO) και ενζυμικός προσδιορισμός της νιτρικής αναγωγής (NR)**

Το NO προσδιορίστηκε με το αντιδραστήριο Griess σε ομογενοποιημένα με κρύο διάλυμα ρυθμιστικού διαλύματος οξικού νατρίου (pH 3.6), ενώ ο ενζυμικός προσδιορισμός της NR έγινε σύμφωνα με τους Filippou *et al.* (2012).

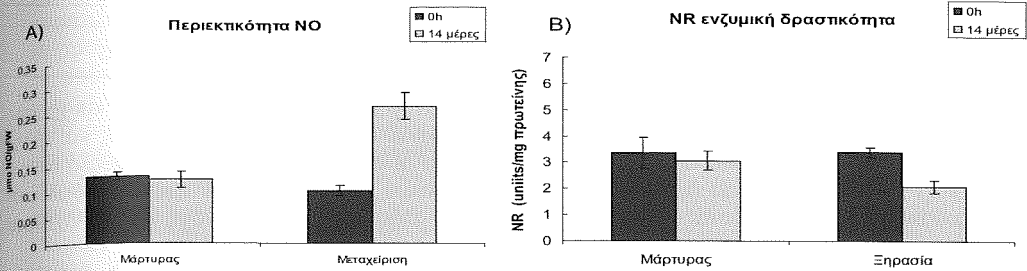
## 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στα καταπονημένα φυτά από συνθήκες ξηρασίας (14 ημέρες) παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Σχήμα 1A), κάτι που οδήγησε σε περαιτέρω αύξηση των επιπέδων της κυτταρικής ζημιάς (αύξηση της συγκέντρωσης της MDA) (Σχήμα 1B).

Σε συσχέτιση με την αύξηση των ενεργών μορίων υπεροξειδίου οξυγόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Σχήμα 1A) παρατηρήθηκε περαιτέρω αύξηση των ενεργών ριζών μονοξειδίου του αζώτου (NO) των καταπονημένων φυτών σε σχέση με τα φυτά-μάρτυρες (Σχήμα 2A), σε συμφωνία με πρόσφατες μελέτες που δείχνουν συντονισμένη επαγωγή μορίων υπεροξειδίου του υδρογόνου και ριζών αζώτου υπό συνθήκες καταπόνησης (Molassiotis & Fotopoulos, 2011). Ιδιαίτερα ενδιαφέροντα ωστόσο είναι η παρατήρηση ότι τα φυτά αυτά δεν έδειξαν αύξηση της δραστηριότητας της νιτρικής αναγωγής αλλά αντίθετα μείωσή της (Σχήμα 2B) σε σχέση με τα κύτταρα-μάρτυρες, γεγονός που πιθανώς οφείλεται στην αναστολή της NR από το ίδιο το υπόστρωμά της σε αυξημένες ποσότητες.



**Σχήμα 1.** Περικεκτικότητα υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (A) και MDA (B) στα φύλλα σε φυτά *A. altissima* καταπονημένα από ξηρασία 14 ημερών (n=3).



**Σχήμα 2.** Περικεκτικότητα σε μονοξειδίου του αζώτου (NO) (A) και προσδιορισμός της ειδικής ενζυμικής δραστηριότητας της NR (B) στα φύλλα σε φυτά *A. altissima* καταπονημένα από ξηρασία 14 ημερών (n=3).

Γενικότερα, με βάση τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα, η βρωμοκαρυδιά δείχνει να συμπεριφέρεται με διαφορετικό μηχανισμό αντοχής υπό συνθήκες ξηρασίας, συγκριτικά με άλλα φυτικά είδη παρόμοιας ηλικίας. Η έλλειψη του νερού από το φυτό έδειξε καθυστερημένα επίπεδα κυτταρικής καταστροφής στο *A. altissima* συγκριτικά με τα φυτά *M. truncatula* και *A. thaliana* (14 μέρες στο *A. altissima* για παρόμοια επίπεδα ζημιάς σε φυτά-πρότυπα μετά από 7-9 ημέρες ξηρασίας) και μείωση της κυτταρικής ζημιάς (επίπεδα MDA) καθώς επίσης και των ενεργών μορίων οξυγόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) και ριζών αζώτου (NO) (Filippou *et al.*, 2011 μη δημοσιευμένα αποτελέσματα). Παρόμοια ευρήματα έδειξαν αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητας της NR κάτω από παρόμοιες συνθήκες ξηρασίας (Rosales *et al.*, 2011). Συνοψίζοντας, σύγκριση των αποτελεσμάτων συνθηκών καταπόνησης στο *A. altissima* με άλλα φυτά-πρότυπα, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα αρτίβλαστα βρωμοκαρυδιάς παρουσιάζουν ιδιαίτερη αντοχή σε συνθήκες ξηρασίας, η οποία δεν αποτελεί κυρίαρχο είδος αβιοτικής καταπόνησης για το φυτό *A. altissima*.

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της Πράξης «Ανάδειξη του Τεχνολογικού Ιδρύματος Ιονίων Νήσων ως Διεθνούς Πόλου Εκπαίδευσης και Καινοτομίας». Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρηματικού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΚΤ) και από Εθνικούς Πόρους.

#### 4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Jaleel, C.A., P. Manivannan, A. Wahid, M. Farooq, R. Somasundaram and R. Panneerselvam. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol.* 11: 100-105
- Tsao, R., F.E. Romanchuk, C.J. Peterson and J.R. Coats. 2002. Plant growth regulatory effect and insecticidal activity of the extracts of the Tree of Heaven (*Ailanthus altissima* L.). *BMC Ecology* 2:1 doi:10.1186/1472-6785-2-1
- Filippou, P., C. Antoniou and V. Fotopoulos. 2011. Effect of drought and rewatering on the antioxidant response of *Medicago truncatula* plants. *Plant Signal. Behav.* 6: 270-277.
- Filippou, P., C. Antoniou, S. Yelamanchili and V. Fotopoulos. 2012. NO loading: Efficiency assessment of five commonly used application methods of sodium nitroprusside in *Medicago truncatula* plants. *Plant Physiol. Biochem.* 60: 115-118.