



ΕΛΛΗΝΙΚΗ
ΖΙΖΑΝΙΟΛΟΓΙΚΗ
ΕΤΑΙΡΙΑ

17^o

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ
ΣΥΝΕΔΡΙΟ

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



ΕΛΛΗΝΙΚΟ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ
ΣΥΝΕΔΡΙΟ
ΕΛΛΑΔΑΣ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΒΙΟΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ ΥΠΟ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΛΑΤΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟ ΑΛΛΟΧΘΟΝΟ ΔΕΝΔΡΩΔΕΣ ΖΙΖΑΝΙΟ *Ailanthus altissima*

Π. Φιλίππου¹, Π. Μπουχάγιερ², Ε. Σκώττη², Ε. Κατσαλήρου² και Β. Φωτόπουλος¹

¹ Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων, Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου, 3036, Λεμεσός, Κύπρος.

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

E-mail : vassilis.fotopoulos@cut.ac.cy

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα εργασία επιχειρεί να μελετήσει την ανοχή της βρωμοκαρυδιάς (*Ailanthus altissima*) σε συνθήκες υψηλής αλατότητας χρησιμοποιώντας αρτίβλαστα 40 ημερών. Η καταπόνηση των φυτών έγινε εφαρμόζοντας ριζοπότισμα με δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις διαλύματος άλατος NaCl (150 mM και 300 mM) και ακολούθησε ο χαρακτηρισμός της επίδρασης αβιοτικής καταπόνησης στο φυτό με αναλυτικές και βιοχημικές τεχνικές. Συγκεκριμένα, μετρήθηκε στα φυτικά κύτταρα η υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών ως δείκτης της κυτταρικής ζημιάς, η περιεκτικότητα σε ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (υπεροξειδίου του υδρογόνου) και του προστατευτικού μορίου της προλίνης, καθώς επίσης και η δραστικότητα του βιοσυνθετικού ενζύμου της προλίνης Δ¹-πυρρόλινο-5-καρβόξυλο-συνθετάση (P5CS). Η απόκριση στην καταπόνηση σε άλλα φυτικά είδη παρόμοιας ηλικίας (40 ημερών), σε σχέση με το αναπτυσσόμενο φυτό 40 ημερών *Ailanthus altissima*, βρέθηκε να είναι παρόμοια. Η βιολογική σημασία του αποτελέσματος αυτού έγκειται στην υψηλή ανοχή της βρωμοκαρυδιάς, καθώς από το πρώτο 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.

Λέξεις κλειδιά: Βρωμοκαρυδιά, αβιοτική καταπόνηση, ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, αλατότητα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Βρωμοκαρυδιά (*Ailanthus altissima*) είναι ένα ζιζάνιο με χαρακτηριστική δυσωδία και ανήκει στην οικογένεια των σιμαρουβιδίων (Simarubaceae). Το δένδρο είναι προσαρμοσμένο να ευδοκίμει σε διαταραγμένες περιοχές και σε πολλές και διαφορετικές αντίξοες συνθήκες, όπου άλλα είδη δε θα μπορούσαν να επιβιώσουν. Η επιθετική του συμπεριφορά ("Δέντρο του Διαβόλου"), μπορεί να αποδοθεί σε φυσιολογικές παραμέτρους, όπως κυτταροτοξικές ουσίες που εντοπίζονται στα φύλλα και τις ρίζες (De Feo κ.ά., 2003). Σήμερα, εξαιτίας των κλιματικών αλλαγών, τα φυτά έχουν να αντιμετωπίσουν διάφορα είδη αβιοτικών καταπονήσεων όπως αλατότητα (Cramer κ.ά., 2011), ξηρασία, επίδραση βαρέων μετάλλων κλπ. Στην παρούσα μελέτη, μελετάται ο μηχανισμός ανοχής του φυτού *A. altissima* κάτω από συνθήκες αυξημένης αλατότητας.

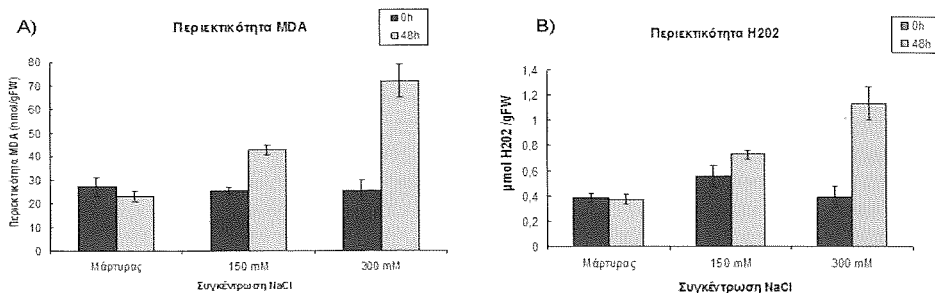
2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

Φυτικό υλικό και συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης. Φυτά *Ailanthus altissima* 40 ημερών αναπτύχθηκαν υπό βέλτιστες συνθήκες σε θάλαμο ανάπτυξης και χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Οι συνθήκες υψηλής αλατότητας υποβλήθηκαν με ριζοπότισμα των φυτών με 2 διαφορετικές συγκεντρώσεις NaCl (150 mM και 300 mM) για 48h. Τα δείγματα-μάρτυρες υποβλήθηκαν σε ριζοπότισμα με νερό. **Προσδιορισμός της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (MDA) και υπεροξειδίου του υδρογόνου.** Η υπεροξειδωση των λιπιδίων καθορίστηκε φασματοφωτομετρικά με μέτρηση της περιεκτικότητας του παραγώγου της μαλονδιαλδεύδης (MDA) με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA). Το υπεροξειδίου του υδρογόνου ποσοτικοποιήθηκε με τη μέθοδο KI (Filippou κ.ά., 2011).

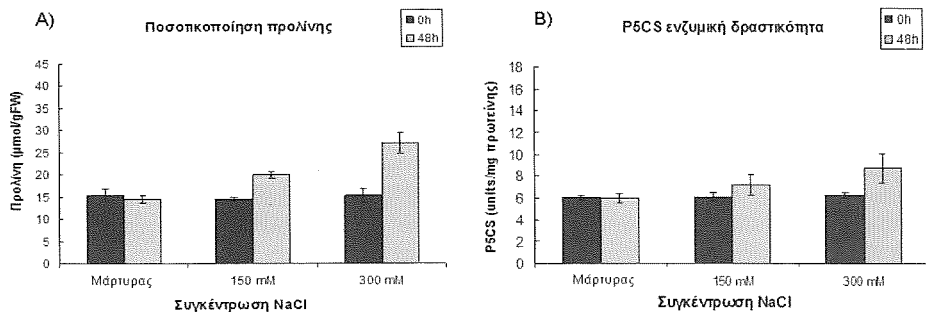
Προσδιορισμός της προλίνης και ενζυμική δραστικότητα της P5CS. Τα επίπεδα της ελεύθερης προλίνης στα δείγματα καθορίστηκαν με τη μέθοδο της αντίδρασης με νινυδρίνη (Filippou κ.ά., 2011), ενώ η ενζυμική δραστικότητα του βιοσυνθετικού ενζύμου της προλίνης P5CS, έγινε σύμφωνα με τους Wang κ.ά. (2011).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αβιοτικές καταπονήσεις, όπως η αλατότητα, οδηγούν σε αυξημένα επίπεδα ενεργών ριζών οξυγόνου (H_2O_2) που οδηγούν σε αυξημένη κυτταρική καταπόνηση. Αυξημένα επίπεδα κυτταρικής ζημιάς (περιεκτικότητα MDA) και υπεροξειδίου του υδρογόνου (Σχήμα 1B) παρατηρήθηκαν κάτω από ακραίες συνθήκες αλατότητας (300 mM NaCl) σε σχέση με τα κύτταρα μάρτυρες, ενώ η αύξηση ήταν μικρότερη σε πιο ήπιες συνθήκες αλατότητας (150 mM NaCl). Επιπρόσθετα, μετρήθηκαν τα επίπεδα της ελεύθερης προλίνης, ενός ωσμολύτη-δείκτη αβιοτικών καταπονήσεων, σε φυτά-μάρτυρες και σε καταπονημένα *A. altissima* φυτά. Κάτω από συνθήκες αλατότητας, τα επίπεδα της προλίνης αυξήθηκαν (150 mM NaCl), με μέγιστη περιεκτικότητα προλίνης σε φυτά καταπονημένα με 300 mM NaCl (Σχήμα 2A). Το αποτέλεσμα της αύξησης της προλίνης στα καταπονημένα φυτά συνοδεύτηκε από μια αντίστοιχη αύξηση της δραστηριότητας του ενζύμου-κλειδί της βιοσύνθεσης της προλίνης, Δ^1 -πυρρόλινο-5-καρβοξυλικής συνθετάσης (P5CS) (σχήμα 2B).



Σχήμα 1: Κυτταρική ζημιά που υποδεικνύεται από την περιεκτικότητα σε MDA στα φύλλα (A) και τα επίπεδα ελευθέρων ριζών οξυγόνου (επίπεδα H_2O_2) (B) σε φυτά *A. altissima* καταπονημένα από αλατότητα ($n=3$)



Σχήμα 2: Περιεκτικότητα προλίνης (A) και προσδιορισμός της ενζυμικής δραστηριότητας της Δ^1 -πυρρόλινο-5-καρβοξυλο-συνθετάσης P5CS σε φύλλα *A. altissima*, έπειτα από μεταχείριση με νερό (μάρτυρες), 150 και 300 mM NaCl σε φυτά *A. altissima* 40 ημερών ($n=3$).

Εν κατακλείδι, στην παρούσα μελέτη δείχθηκε πως τα καταπονημένα από αλατότητα φυτά έπαιξαν από εφαρμογή με τη χαμηλότερη συγκέντρωση άλατος (150 mM NaCl), έδειξαν χαμηλά επίπεδα κυτταρικής καταπόνησης και παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου σε σύγκριση με τα φυτά-μάρτυρες, ενώ η συμπεριφορά που παρατηρήθηκε ήταν παρόμοια με την οξειδωτική καταπόνηση άλλων φυτών-μοντέλων όπως η Μηδική (*Medicago truncatula*) και η Αραβίδοψη (*Arabidopsis thaliana*) που μεταχειρίστηκαν με παρόμοια συγκέντρωση άλατος (200 mM) και τα οποία ήταν παρόμοιας ηλικίας (40 ημερών) αλλά χαρακτηρίζονται ως ώριμα φυτά λόγω του μικρού κύκλου ζωής (Filippou κ.ά., μη δημοσιευμένα αποτελέσματα). Τα καταπονημένα φυτά (150 mM NaCl) έδειξαν επίσης ενδοκυττάρια αύξηση προλίνης, ενός ωσμολύτη που σχετίζεται με συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης στα φυτά (Kishor κ.ά., 2005), καθώς επίσης και αντίστοιχη αύξηση της δραστηριότητας

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. Φιλίππου¹, Π. Μπουχάγιερ², Ε. Σκώπτη², Ε. Κατσαλήρου² και Β. Φωτόπουλος¹

¹ Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων, Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου, 3036, Λεμεσός, Κύπρος

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

Email: 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 αντοχή 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 και 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, H₂O₂) και της υπεροξειδωσής λιπιδίων των μεμβρανών ως δείκτες της κυτταρικής ζημιάς. Η αυξημένη παραγωγή μορίων υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) 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