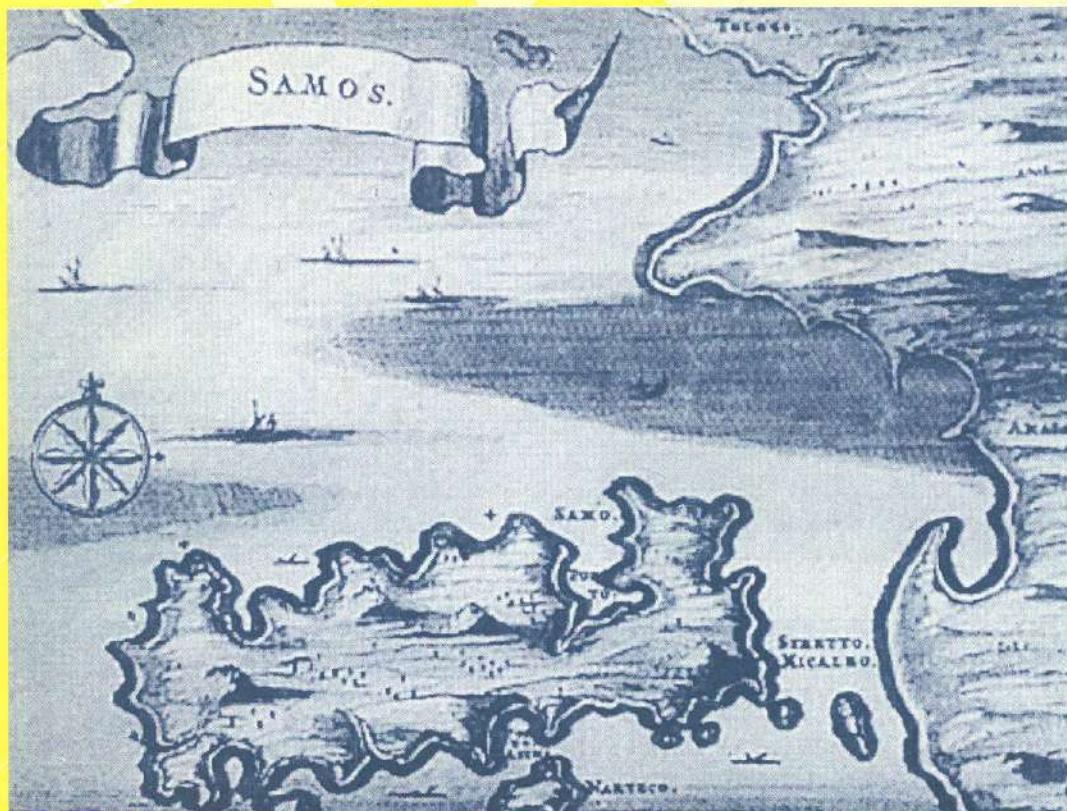


ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

20^ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
20th PANHELLENIC MEETING



ΠΡΑΚΤΙΚΑ
PROCEEDINGS

28-31 ΜΑΪΟΥ 1998 - ΣΑΜΟΣ

MAY 28th-31st, 1998 - SAMOS

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

20ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
20TH PANHELLENIC MEETING

ΠΡΑΚΤΙΚΑ
PROCEEDINGS

28-31 ΜΑΪΟΥ 1998 - MAY 28th-31st, 1998

ΣΑΜΟΣ - SAMOS

ISSN: 1109 - 4885

Χορηγοί - Sponsors

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Επιτροπή Ερευνών Α.Π.Θ.

Υπουργείο Αιγαίου

Υπουργείο Πολιτισμού

Δήμος Πυθαγορείου Σάμου

Νομαρχία Σάμου

Επιτροπή Ερευνών Πανεπιστημίου Πατρών

University Studio Press

Ιονική Τράπεζα

ΓΕΝΙΚΗ ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ &
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ (ΥΠ. ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ)

Διοικητικό Συμβούλιο ΕΕΒΕ / HSBS Board

Πρόεδρος : Κ. Χριστοδούλου

Αντιπρόεδρος Α' : Λ. Μαργαρίτης

Αντιπρόεδρος Β' : Β. Μαρμάρας

Γενικός Γραμματέας : Σ. Μανώλης

Ειδικός Γραμματέας : Σ. Κουσουλάκος

Ταμίας : Γ. Θωμόπουλος

Υπεύθυνη Ερευνητικών Κέντρων : Κ. Σέκερη

Οργανωτική Επιτροπή / Organizing Committee

Πρόεδρος : Β. Μαρμάρας

Αντιπρόεδρος Α' : Λ. Μαργαρίτης

Αντιπρόεδρος Β' : Γ. Θωμόπουλος

Γενικός Γραμματέας : Μ. Λαμπροπούλου

Ειδικός Γραμματέας : Δ. Χριστοδουλάκης

Ταμίας : Σ. Μανώλης

Μέλη : Σ. Μάρκου

Τοπικής Οργανωτικής Επιτροπής : Κ. Βακεντή

- Η Οργανωτική Επιτροπή δεν φέρει ευθύνη για το περιεχόμενο των περιλήψεων που δημοσιεύονται στον τόμο αυτό.
The organizing committee has no responsibility for the content of the abstracts published in this issue.
- Οι εργασίες έχουν ταξινομηθεί αλφαριθμητικά με βάση το όνομα του πρώτου συγγραφέως γραμμένο στην ελληνική γλώσσα.
Papers have been arranged alphabetically according to the greek-written name of the first author.

Επιμέλεια Έκδοσης Πρακτικών
Dr Γεώργιος Ν. Θωμόπουλος
ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΠΡΟΣΦΩΝΗΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΕΔΡΟΥ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ
ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ κ. ΚΩΝ/ΝΟΥ ΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ**

Αγαπητοί Συνάδελφοι,

Φέτος είναι η 20η χρονιά που οργανώνεται το Συνέδριο της Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών. Σ' αυτό το χρονικό διάστημα, σχεδόν μια γενιά, έχει καθιερωθεί στη συνείδηση των Βιολόγων, ότι είναι ένα βήμα για την παρονούσαση των αποτελεσμάτων της έρευνητικής τους δραστηριότητας αλλά και μια ευκαιρία για τους φοιτητές και νέους ερευνητές να προβληθούν αλλά και να γνωρίσουν τους παλαιότερους συναδέλφους τους. Το Συνέδριο είναι ένα Forum ανταλλαγής ιδεών, δημιουργίας βάσεων για μελλοντικές συνεργασίες, συνάψεως φιλίας αλλά και η εικόνα της Βιολογικής Έρευνας στην Ελλάδα.

Φέτος επίσης συμπληρώνονται 25 χρόνια από το θάνατο του αείμνηστου Καθηγητή Γεωργίου Πανταξή, του Νέστορα της Βιολογίας στην Ελλάδα. Η μνήμη μας στρέφεται στον Οραματιστή Δάσκαλο που ευτύχησε να κάνει το όραμά του πραγματικότητα με την ίδρυση Βιολογικών Τμημάτων στα Ελληνικά Πανεπιστήμια.

Η οργάνωση του Συνεδρίου στη Σάμο, στο νησί του Πυθαγόρα, δίνει την ευκαιρία σε όλους να συνδυάσουν την ποιότητα των εργασιών με τις φυσικές ομορφιές της Σάμου αλλά και τη φιλικότητα των Σαμίων.

Καθηγητής Κων. Χριστοδούλου

**ΠΡΟΣΦΩΝΗΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΕΔΡΟΥ
ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ
ΤΟΥ 20ου ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ κ. ΒΑΣΙΛΗ ΜΑΡΜΑΡΑ**

Αγαπητοί Συνάδελφοι,

Το 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών, διοργανώνεται σ' ένα ακριτικό νησί της Ελλάδας, τη Σάμο, από τις 28 Μαΐου και τις 31 Μαΐου 1998. Η επιλογή της Σάμου ήταν μια δύσκολη απόφαση, γιατί διέθετε αρκετά θετικά στοιχεία, αλλά και σημαντικά αρνητικά. Το κυριότερο θετικό στοιχείο ήταν η δεδηλωμένη επιθυμία της εταιρίας να διοργανώνει τα συνέδρια της στην παραμεθόριο. Υπήρχε όμως ο φόβος ότι είναι μακριά από τις πόλεις που εδρεύουν Πανεπιστήμια και συνεπώς δεν θα μπορούσαν να συμμετάσχουν αρκετοί συνάδελφοι και ιδιαίτερα οι φοιτητές, που τα τελευταία χρόνια η συμμετοχή τους έχει γίνει καθοστώσ. Η οργανωτική επιτροπή εξεπλάγη όταν διαπίστωσε ότι φέτος, στη Σάμο, θα συμμετάσχουν 340 σύνεδροι από τους οποίους τουλάχιστον οι μισοί είναι φοιτητές. Το συνέδριο διαχωρίζεται ως συνήθως σε δυο ενότητες, που θα περιλαμβάνουν προφορικές ομιλίες και posters. Ακόμη, θα υπάρχουν τέσσερις κεντρικές ομιλίες και ένα στρογγυλό τραπέζι με κεντρικό θέμα τη Θάλασσα. Για το σκοπό αυτό θα καταπλεύσει στο Πυθαγόρειο και το πλοίο "Φιλία" των ερευνητικού κέντρου της Κορίτης. Η οργανωτική επιτροπή του 20ου Συνεδρίου θέλει να ευχαριστήσει τους τοπικούς παράγοντες για την πολλαπλή βοήθειά τους στην οργάνωση του Συνεδρίου, να καλωσορίσει τους συνέδρους και να τους ευχηθεί καλή επιτυχία και ευχάριστη διάμονή.

*Για την Οργανωτική Επιτροπή¹
Καθηγητής Βασίλης Μαρμάρας*

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΠΑΝΤΑΖΗΣ 25 ΧΡΟΝΙΑ ΑΠΟ ΤΟ ΘΑΝΑΤΟ ΤΟΥ



Ο Γεώργιος Πανταζής γεννήθηκε στη Μυτιλήνη το 1906 όπου και τελείωσε το Γυμνάσιο. Σε ηλικία 16 χρόνων ενεγράφη στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου της Λειψίας και ολοκλήρωσε τις σπουδές του στο Πανεπιστήμιο Αθηνών, όπου έλαβε το πτυχίο του μόλις 21 χρόνων, ενώ παράλληλα ήταν άμισθος βοηθός στο Εργαστήριο Υγιεινής και Μικροβιολογίας. Στη συνέχεια, μεταβαίνει με υποτροφία στο Μόναχο, όπου αναγορεύεται διδάκτωρ σε θέμα ανάλυσης των εγκεφαλικών γαγγλίων στα έντομα. Για την άριστη επίδοσή του, του χορη-

γείται υποτροφία της Βαυαρικής Ακαδημίας Επιστημών για ερευνητική εργασία στο Ζωολογικό Σταθμό στη Νεάπολη της Ιταλίας. Επανέρχεται στην Ελλάδα όπου εκλέγεται Καθηγητής Ιατρικής Ζωολογίας στην Υγειονομική Σχολή Αθηνών. Το 1933, δηλαδή 27 ετών, εκλέγεται αρχικά έκτακτος Καθηγητής και μετά 4 χρόνια τακτικός Καθηγητής στην έδρα της Ζωολογίας, που μαζί με το Ζωολογικό Μουσείο στεγαζόταν στο κεντρικό αττήριο του Πανεπιστημίου. Η περίοδος αυτή ήταν ιδιαίτερα δύσκολη για τον νεαρό Πανεπιστημιακό Καθηγητή, που έπρεπε να αντιμετωπίσει πολλές αντίξεις συνθήκες. Κατάφερε, όμως, να οργανώσει το Εργαστήριο και το Μουσείο Ζωολογίας, να τα εξοπλίσει και να εκδώσει ειδικό επιστημονικό περιοδικό. Διαβάζουμε σε έγγραφό του της 1ης Νοεμβρίου 1939 ότι “το Ζωολογικό Εργαστήριο για να διευκολύνει την παρακολούθηση των τελευταίων προσδόδων της Βιολογίας, εγκαινιάζει επιστημονικές συγκεντρώσεις κάθε Πέμπτη.....”. Επρόκειτο για ανοιχτή πρόσκληση προς όλους τους ενδιαφερόμενους για θέματα βιολογίας. Η Γερμανική κατοχή έπαιξε ανασταλτικό ρόλο στην όλη εξέλιξη του Εργαστηρίου Ζωολογίας, αφού καταστράφηκε εξοπλισμός αλλά και ο ίδιος ο Γεώργιος Πανταζής συνελήφθη και κρατήθηκε στο Χαϊδάρι για αρκετούς μήνες, το 1944. Μετά την απελευθέρωση συνέχισε απτότος την αναδιογάνωση του Εργαστηρίου Ζωολογίας. Πολλά στελέχη του τότε Εργαστηρίου Ζωολογίας εξελίχθησαν με ακαδημαϊκή καριέρα.

Από την έδρα της Ζωολογίας, ο Γεώργιος Πανταζής εξελέγη τακτικός καθηγητής στην κενωθείσα έδρα της Βιολογίας το 1958. Νέα περίοδος απ' αρχής οργάνωσης εργαστηρίων και υλικοτεχνικής υποδομής για άσκηση και έρευνα σε χώρους που κάθε άλλο παρά κατάλληλοι ήταν, στα υπόγεια της Νομικής Σχολής. Και εδώ, όμως, ο Πανταζής με τη βοήθεια άξιων συνεργατών, μεγαλούργησε. Σε σύντομο χρόνο, έγινε βιβλιοθήκη ανοιχτή σε όλους, οργανώθηκαν πρότυπα βιοχημικά εργαστήρια και αγοράστηκε μικροσκοπικός, κυρίως, εξοπλισμός υψηλής ποιότητας με αποκορύφωμα την αγορά του 3ου στην Ελλάδα Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου που λειτουργεί άψογα μέχρι και σήμερα στο Τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών. Παράλληλα, κατά την περίοδο εκείνη (1955-1970) ενημέρωνε την ελληνική επιστημονική κοινότητα με άρθρα του σε ελληνικά περιοδικά για τις νέες τάσεις της Βιολογίας (Μοριακή Βιολογία, Ιατρική, Γενετική κ.α.), ενώ ταυτόχρονα δημιούργησε στο Κ.Π.Ε. “Δημόκριτος” τα πρώτα μαθήματα “Ραδιοβιολογία”.

Διετέλεσε δύο φορές Κοσμήτωρ, Συγκλητικός, Αντιπρύτανης και Πρύτανης. Αποχώρισε από το Πανεπιστήμιο Αθηνών το 1971, μετά από 37 χρονη συνεχή προσφορά.

Εξίσου πλούσια ήταν όμως και η εξωπανεπιστημιακή δράση του Γ. Πανταζή, όπως η συμμετοχή του κατά τη δεκαετία 1954-1964 στη λειτουργία και οργάνωση του Κ.Π.Ε. “Δημόκριτος”, η ίδρυση της Ελληνικής Βιολογικής Εταιρείας, η συμμετοχή του ως αντιπρόσωπος και ως μέλος Δ.Σ. στο Κέντρο Κοινωνικών Επιστημών, στην Εθνική Επιτροπή για την Unesco, στην Εταιρεία Προστασίας της Φύσεως, στην Ελληνική Εταιρεία Ευγονικής, στη Διεθνή Επιτροπή Διερεύνησης της Μεσογείου, στο Ελληνικό Υδροβιολογικό Ινστιτούτο και στο Γνωμοδοτικό Συμβούλιο Αλιείας.

Καταλήγοντας, θα πρέπει να τονισθεί ότι ο Γεώργιος Πανταζής συνδύαζε:

- άριστες οργανωτικές ικανότητες
- ανεξάντλητο χιούμορ
- οξυδέρκεια, καλωσύνη
- ευρύτητα γνώσεων
- γλωσσομάθεια
- εκπληκτική διδακτική ικανότητα, όπως καθομολογείται από τις στρατιές μαθητών του, κυρίως Φυσιογνωστών, Ιατρών, Φυσικών, Χημικών, Φαρμακοποιών
- μεγάλη κοινωνικότητα, όπως διαπιστώνεται από τη συνεχή διοργάνωση εκδρομών, συμμετοχή σε συνέδρια και άλλων εκδηλώσεων, ενώ έμεινε στις ε-

πάλξεις της ακαδημαϊκής ζωής του τόπου μέχρι τέλους, αφού την παραμονή του θλιβερού γεγονότος, συμμετείχε ενεργά στις εργασίες επιστημονικού Συνεδρίου.

Για όλες τις υπηρεσίες του στην επιστημονική ζωή της Βιολογίας στην Ελλάδα, η Ακαδημία Αθηνών τον τίμησε με την εκλογή της το 1970. Κατά τον Δρ. Ελευθέριο Σιδέρη, που έχει συγγράψει σύντομο βιογραφικό σημείωμα για τον Γ. Πανταζή σε εκπαιδευτική Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια, “δεν είναι υπερβολή να λεχθεί ότι η Βιολογία στην Ελλάδα διακρίνεται σε δύο περιόδους: την προ του Πανταζή με υποτυπώδη έρευνα και διδασκαλία σε ατελή εργαστήρια και την μετά την εμφάνιση Πανταζή περίοδο, με εξάπλωση της έρευνας και της διδασκαλίας σε πλήρη σύγχρονα εργαστήρια Πανεπιστημίων και Ερευνητικών Κέντρων”.

**ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ
ABSTRACTS**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΣΩΜΙΚΗΣ-ΙΣΟΤΥΠΙΚΗΣ
ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΠΟΝΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΜΥΚΟΠΛΑΣΜΑ
ΑΓΑΛΑΞΙΑΣ. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΕΝΙΣΧΥΤΙΚΩΝ
ΚΑΤΑ ΤΙΣ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ
ΕΜΒΟΛΙΟΥ**

Αβραμίδης, Ν., Κ. Βασιλειάδου, Μ. Γιάγκου
και Λ. Χατζηπέτρου

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

Η νόσος της αγαλαξίας οφείλεται στο Μυκόπλασμα (*M. agalactiae* εκ του εργαστηρίου Μικροβιολογίας, Κτηνιατρικής) που προκαλεί μαστίτιδα, αρθρίτιδα, κερατίτιδα και βέβαια μη παραγωγή γάλακτος. Ο τελικός σκοπός της μελέτης αυτής είναι να βρεθεί το είδος της απόκρισης με την οποία ο ξενιστής καταπολεμά τα μυκοπλάσματα, η ενίσχυση της απόκρισης αυτής με κατάλληλα ανοσοενισχυτικά και τέλος η κατασκευή αποτελεσματικού εμβολίου για προφύλαξη από τη νόσο. Με τη μέθοδο της ELISASpot βρήκαμε τον ισότυπο των αντισωμάτων που παράγονται από τα σπληνοκύτταρα ποντικών Balb/c μετά από ανοσοποιήσεις με Μυκοπλάσματα παρουσία ή όχι των ανοσοενισχυτικών FCA, LPS, PolyI:C και PolyA:U που καλύπτουν σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες μας όλο το φάσμα των επαγόμενων ισότυπων των αντισωμάτων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η καλύτερη δόση είναι 5×10^6 κύτταρα μυκοπλασμάτων όπου την 7η ημέρα μετά την ανοσοποίηση παρατηρείται η μέγιστη απόκριση. Η I.P. χορήγηση μόνο του αντιγόνου, ευνοεί την επαγωγή κυττάρων που παράγουν αντισώματα των υποτάξεων IgG2a και IgG3. Με την προσθήκη των ανοσοενισχυτικών FCA ή LPS ή PolyI:C ή PolyA:U αυξάνεται ο αριθμός των κυττάρων που παράγουν αντισώματα, κυρίως των υποτάξεων IgGI ή IgG3 ή IgG2a ή IgG2b και IgG3 αντίστοιχα. Κατά τις ανοσοποιήσεις με ή χωρίς ανοσοενισχυτικά επίσης επάγονται κύτταρα που παράγουν αντισώματα των τάξεων IgM και IgA σε ποσοστό περίπου 20% του συνόλου. Συμπερασματικά, για την κατασκευή προφυλακτικού εμβολίου θα πρέπει να ενισχυθεί ο μηχανισμός της φυσικής ανοσοαπόκρισης - αντίστασης των ζώων στα μυκοπλάσματα αγαλαξίας και για το σκοπό αυτό φαίνεται ότι μίγμα των ανοσοενισχυτικών LPS και PolyI:C υπερέχει των άλλων ανοσοενισχυτικών που μελετήσαμε.

IMMUNE RESPONCES OF MICE TO MYCOPLASMA AGALACTIAE. EFFECT OF ADJUVANTS DURING IMMUNISATIONS FOR THE PRODUCTION OF A VACCINE

**Avramidis, N., K. Vasiliadou, M. Yiagou
and L. Hadjipetrou**

**Aristotle University, Faculty of Biology, Department of
Genetics, Development and Molecular Biology, Thessaloniki,
Greece**

Contagious agalactiae is a disease of sheep and goats widely spread in Greece that causes serious economic problems. The causative agent is *M. agalactiae* and the disease is characterised by mastitis, arthritis and keratitis. Antibiotics and other treatment are insufficient and only one vaccine has recently appeared. The purpose of this study is to find out the type of immune response with which the host may eradicate Mycoplasmas, to increase the immune response with proper adjuvants and finally to produce an effective vaccine for prophylaxis. Mice were immunised with various numbers of mycoplasma cells and the immune response of splenocytes was followed for 9 days. The number of cells secreting antibodies and their isotype was determined by the method of ELISPOT with or without the adjuvants, FCA, LPS, PolyI:C and PolyI:U which, according to our previous studies, cover all types of the isotypes of antibodies produced. Our results showed that 5×10^6 cells of mycoplasmas gave maximum responses at 7 days post immunisation. The i.p. injection of antigen-mycoplasmas alone induce the splenocytes to produce antibodies of IgG2 α and IgG3 isotype. The addition of adjuvants FCA or LPS or PolyI:C or PolyI:U cause an increase of total cells producing antibodies of the main isotype IgG1 or IgG3 or IgG2 α or IgG2b and IgG3 respectively. During immunisations with or without adjuvants are also produced antibodies of IgM and IgA isotype to about 20% of total antibodies. In conclusion, our study showed that for prophylaxis from *M. agalactiae* we should increase the natural type of immune response (IgG2 α and IgG3) of animals and for this reason a mixture of adjuvants like LPS and Poly I:C should be used in a vaccine. The *M. agalactiae* was kindly provided from the Microbiology Laboratory of Veterinary Department of our university.

**ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ
ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ
ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΑΓΓΟΥΡΙΑΣ ΑΠΟ ΤΟ
ΜΥΚΗΤΑ *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht.:Fr) Poll.**

Αγγελόπουλος, Κώστας
Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα

Μελετήθηκαν οι μεταβολές του φθορισμού της χλωροφύλλης *a in vivo* σε φύλλα αγγουριάς (*Cucumis sativus* L., υβρίδιο palmera) που προκαλούνται λόγω προσβολής των φύλλων από το μύκητα *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht.:Fr) Poll. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε φύλλα που διατηρήθηκαν χωρίς μόλυνση και σε φύλλα που μολύνθηκαν με σπόρια του μύκητα. Επτά ημέρες μετά την μόλυνση των φύλλων οι πρώτες αποικίες εμφανίστηκαν στις προσβεβλημένες περιοχές και οι δείκτες φθορισμού μέγιστος (Fp) και μεταβλητός φθορισμός (Fv) άρχισαν να μειώνονται σταδιακά. Αντίθετα ο βασικός φθορισμός (Fo) και ο λόγος Fv/Fm ως ένα μέτρο της κβαντικής απόδοσης του φωτοσυνθετικού συστήματος ΙΙ, παρέμειναν σχετικά αμετάβλητοι για το διάστημα των 12 ημερών μετά την μόλυνση των φύλλων. Επίσης διαπιστώθηκε ότι στα προσβεβλημένα μέρη του φύλλου αλλάζουν οι φασματικές ιδιότητες του φύλλου. Διαπιστώθηκε ότι η απορρόφηση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας σε προσβεβλημένα μέρη του φύλλου σε μήκος κύματος γύρω στα 650 nm ήταν μικρότερη από εκείνη των μη προσβεβλημένων φύλλων. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η μείωση των τιμών των δεικτών Fp και Fv είναι αποτέλεσμα της μείωσης του ποσοστού της απορροφούμενης ακτινοβολίας και όχι αλλαγών στο φωτοσυνθετικό σύστημα ΙΙ.

CHLOROPHYLL FLUORESCENCE CHANGES DURING INFECTION OF CUCUMBER LEAVES BY FUNGUS *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht.:Fr) Poll.

Angelopoulos, Kostas

**Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology,
University of Patras, Patras, Greece**

Chlorophyll a fluorescence changes in cucumber leaves (*Cucumis sativus* L., hybrid palmera) caused by infection of biotrophic fungus *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht.:Fr) Poll. were studied. Measurements were carried out in infected and non infected leaves. Seven days after the infection the first fungus colonies appeared and both maximum (Fm) and variable (Fv) fluorescence begun to diminish. In contrast both the ground fluorescence (Fo) and the ratio Fv/Fm as measure of quantum efficiency of photosynthetic system II remained stable twelve days after infection. It was also found that during the growth of mecelium on the upper leaf surface the spectral characteristics of infected areas were changed. Light absorption at around 650 nm by infected areas of leaves was lower in relation to uninfected leaves. So the decline of fluorescence indices Fm and Fv was caused by the lower light absorption percentage and not by changes in the photosynthetic system II.

ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΙ ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Αδαμόπουλος, Α., Ε. Γεωργόπουλος και Σ. Λυκοθανάσης

**Πανεπιστήμιο Πατρών, Πολυτεχνική Σχολή,
Τμήμα Μηχανικών Ηλεκτρονικών Υπολογιστών και
Πληροφορικής, 265 00, Πάτρα**

Μια σχετικά νέα ερευνητική κατεύθυνση στο χώρο της Επιστήμης Υπολογιστών σχετίζεται με την ανάπτυξη μιας ειδικής κατηγορίας αλγορίθμων που αναφέρονται σαν Γενετικοί Αλγόριθμοι (GA - Genetic Algorithms). Όπως φανερώνει και η ονομασία τους στους ΓΑ έχουν ενσωματωθεί ιδιότητες καὶ λειτουργίες που εμφανίζονται στην εξέλιξη των βιολογικών ειδών του φυσικού κόσμου. Οι ΓΑ χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση δισεπίλυτων προβλημάτων με τεράστιο αριθμό λύσεων (βελτιστοποίηση πολυπαραμετρικών συναρτήσεων, χάραξη βέλτιστης στρατηγικής, κ.α.). Συνοπτικά, ένας ΓΑ αποτελείται από ένα πληθυσμό (population) «ατόμων», όπου κάθε «άτομο» αποτελεί και μια πιθανή λύση του συγκεκριμένου προβλήματος που ο ΓΑ καλείται να επιλύσει. Επίσης ο ΓΑ περιλαμβάνει ειδικούς γενετικούς τελεστές (genetic operators) όπως η διασταύρωση (crossover), η μετάλλαξη (mutation) και μια διαδικασία επιλογής (selection procedure). Η καταλληλότητα κάθε «ατόμου» του πληθυσμού ελέγχεται από μια συνάρτηση προσαρμοστικότητας προς το περιβάλλον (fitness function) ανάλογη με το προς επίλυση πρόβλημα. Ο ΓΑ ξεκινά με μια αρχική γενεά (generation) του πληθυσμού. Κάθε «άτομο» του αρχικού πληθυσμού αξιολογείται σύμφωνα με την συνάρτηση προσαρμοστικότητας (εκτιμάται δηλαδή πόσο καλή λύση προσφέρει στο προς επίλυση πρόβλημα). Στη συνέχεια με χρήση της διαδικασίας επιλογής και των γενετικών τελεστών δημιουργείται η επόμενη γενεά στην οποία αναμένεται ότι θα υπάρχουν «άτομα» καλύτερα προσαρμοσμένα («άτομα» που αποτελούν ακόμη καλύτερες λύσεις). Με την εξέλιξη του πληθυσμού για έναν αριθμό γενεών ο ΓΑ συγκλίνει τελικά σε μια βέλτιστη ή υπο-βέλτιστη λύση τον προβλήματος. Για την καλύτερη κατανόηση της λειτουργίας ενός ΓΑ παρουσιάζονται διάφορα φυσικά και βιολογικά προβλήματα που επιλύονται με χρήση ΓΑ.

GENETIC ALGORITHMS FOUNDATIONS AND APPLICATIONS

Adamopoulos, A., E. Georgopoulos and S. Likothanassis
University of Patras School of Engineering Department of
Computer Engineering & Informatics, 26500 Patra, Greece

A novel research field in Computer Science is the development and study of Genetic Algorithms (GA). Apparently, a GA incorporates attributes, characteristics and function that are inspired from biological evolution. GA are utilized for the investigation of difficult problems (multi-objective function optimization, optimal strategy search, etc.) usually with numerous possible solutions. In brief, a GA consists of a population of individuals. Each one individual is a possible solution to the problem the GA is about to solve. Additionally, the GA incorporates some genetic operators (of crossover and mutation type) and a selection procedure. The fitness of each individual is estimated using an appropriate fitness function, related to the problem. The GA starts with an initial population of individuals and the fitness of each individual is calculated. Then, with the use of the selection procedure and the genetic operators a new generation (offspring) is produced. It is expected that some individuals of the new generation fit better to the specified problem, providing a better solution. Thus, evolving the GA for a number of generations it will converge to the optimal or near-optimal solution of the given problem. For deeper understanding, the GA approach to a number of physical and biological problems is discussed.

ΧΡΗΣΗ ΕΝΟΣ ΦΩΤΟΔΡΑΣΤΙΚΟΥ ΠΟΛΥΑΜΙΝΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΟΥ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ *E. COLI* -ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΠΟΛΥΑΜΙΝΩΝ

Αμάραντος, Ι. και Δ. Λ. Καλπαξής
Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα

Προσφάτως διερευνήσαμε την ανασταλτική και διεγερτική δράση της σπερμίνης (SPM) κατά την σύνθεση του πεπτιδικού δεσμού, υπολογίζοντας τις κινητικές παραμέτρους της ριβοσωματικής πεπτιδυλοτρανσφεράσης [Drainas, D. & Kalpaxis, D. L. (1993). *Biochim. Biophys. Acta*, 1208 55-64]. Περαιτέρω, *N¹*-αζιδο-βενζοϋλο-σπερμίνη (*N¹*-ANBSPM) συνετέθη και μελετήθηκε η δράση της στην σύνθεση του πεπτιδικού δεσμού. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι η *N¹*-ANBSPM δρα παρομοίως προς την μητρική ένωση, όμως εμφανίζει ασθενέστερη δράση επειδή η εισαγωγή της ANB-ομάδος αφαιρεί ένα από τα φορτία του μορίου. Έτσι, προσπαθήσαμε να συνθέσουμε άλλα πολυαμινικά φωτοδραστικά παράγωγα, εκμεταλλευόμενοι τις ιδιότητες της αζιδοβενζαμιδο-ομάδος. *N¹*-αζιδοβενζαμιδο-σπερμίνη (*N¹*-ABASPM) συνετέθη και διερευνήθη η δράση της κατά το σχηματισμό του πεπτιδικού δεσμού σε *in vitro* σύστημα από *E. coli*. Προς αποφυγή ομοιοπολικής δέσμευσης του παραγώγου στα ριβοσώματα, η αζιδο-ομάδα ανήχθη με DDT σε άμινο-ομάδα (προϊόν: γ*N¹*-ABASPM). Διεπιστώθη, ότι το ανηγμένο παράγωγο συμπεριφέρεται ποιοτικά όπως η *N¹*-ABASPM. Παρουσία 6 mM Mg²⁺, η γ*N¹*-ABASPM επηρεάζει τόσο το τελικό σημείο, όσο και την κινητική φάση της αντίδρασης σχηματισμού του πεπτιδικού δεσμού. Η έκταση της αντίδρασης αυξάνεται παραλλήλως με τη συγκέντρωση του αναλόγου, μέχρι 100 μM. Στην κινητική φάση, ο τρόπος δράσης του αναλόγου εξαρτάται από το εάν το εναρκτήριο ριβοσωματικό σύμπλοκο σχηματίζεται απούσια (μερική μη συναγωνιστική αναστολή) ή παρουσία ριβοσωματικών παραγόντων (αλλοστερική πλειοτροπική δράση: ενεργοποίηση-μερική μη συναγωνιστική αναστολή). Η διεγερτική δράση της γ*N¹*-ABASPM επί της ριβοσωματικής πεπτιδυλοτρανσφεράσης είναι περίπου 2-φορές ισχυρότερη εκείνης της γ*N¹*-ANBSPM. Συνεπώς, τα ABA-ανάλογα αναμένεται να χρησιμεύσουν ως καλύτερα εργαλεία στη ανίχνευση των θέσεων δεσμεύσεως των πολυαμινών στο ριβόσωμα.

Ευχαριστήρια αναφορά. Η εργασία αυτή εκπονήθηκε στα πλαίσια προγράμματος, που έχει χρηματοδοτηθεί από την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας του Υπουργείου Ανάπτυξης.

STUDIES ON THE INTERACTION OF *E. COLI* RIBOSOMES WITH POLYAMINES USING A NEW POLYAMINE PHOTOPROBE

Amarantos, J. and D. L. Kalpaxis
Laboratory of Biochemistry, School of Medicine,
University of Patras, GR-26500 Patras, Greece

Recently, we approached the inhibitory and stimulatory effect of spermine (SPM) on peptide-bond formation, by evaluating the kinetic parameters of peptidyltransferase [Drainas, P. & Kalpaxis, D. L. (1993) *Biochim. Biophys. Acta*, **1208**, 55-64]. Furthermore, N^1 -azidonitrobenzoyl-spermine (N^1 -ANBSPM) was also synthesized and tested as effective reagent in peptide-bond formation. Our results showed that the N^1 -ANBSPM action reminds the effect of the parent compound, however, it acts as a weaker modulator of peptidyltransferase activity, since the ANB derivatization of SPM removes one of the charges. In recognition of these problems, we have attempted to develop other polyamine photo-affinity reagents based on azidobenzamido (ABA) derivatization. N^1 -azidobenzamido-spermine (N^1 -ABASPM) was synthesized and its effect on peptide-bond formation was studied. In order to avoid a non-physiological covalent binding of this compound to ribosomes, the azido group of N^1 -ABASPM was reduced to an amino group (product: r N^1 -ABASPM) with DDT. r N^1 -ABASPM was found to behave qualitatively similarly to N^1 -ABASPM. At 6 mM Mg²⁺, r N^1 -ABASPM affects both the end-point and the kinetic phase of peptide-bond formation in a cell-free system from *E. coli*. The extent of the reaction increases up to 100 μM of analogue, further additions of r N^1 -ABASPM causing a progressive reduction in the extent value. At the kinetic phase of peptide-bond formation, the effect of analogue depends on whether the initiator ribosomal complex is formed in the absence (partial noncompetitive inhibition) or the presence of FWR-fraction (allosteric bimodal action; nonessential activation-partial noncompetitive inhibition). The stimulatory effect of r N^1 -ABASPM on peptidyl-transferase activity is 2-fold stronger, compared with r N^1 -ANBSPM. Thus, ABA compounds may be better models than ANB compounds to study polyamine localization on ribosomes.

Acknowledgements. This work was supported in part by a grant from the General Secretariat of Research and Technology, Ministry of Development of Greece.

ΕΠΑΓΩΓΗ ΚΥΤΤΟΚΙΝΩΝ ΣΤΙΣ ΜΗ ΕΙΔΙΚΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΕΣ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΑ ΦΛΟΓΙΣΤΙΚΑ. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΜΕΛΑΝΙΝΗΣ ΤΟΥ ΤΣΑΓΙΟΥ

**Αναγνώστου, Ν., Ε. Διαμάντας, Ν. Αβραμίδης,
Α. Κουρουνάκη, Μ. Γιάγκου και Λ. Χατζηπέτρου
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη**

Μελετήθηκε η επαγωγή των κυττοκινών και άλλων παραγόντων κατά τη διάρκεια μη ειδικής φλεγμονής, που προκαλείται με τα φλογιστικά καραγεννίνη και FCA, που ενίονται στον αεροθύλακα στη ράχη αρουραίων. Μελετήθηκε επίσης η αντιφλεγμονώδης και ανοσοτροποποιητική δράση της μελανίνης του τσαγιού. Στο περιεχόμενο του αεροθύλακα (1,3,6,24 ώρες) μετρήθηκε ο αριθμός των κυττάρων, η ολική πρωτεΐνη και στο εξιδρωματικό υγρό (ορό) προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών NO' καθώς και οι κυττοκίνες IL-6, TNF-α και IL-2 με βιο-προσδιορισμούς. Μελετήσαμε επίσης την κινητική εμφάνισης κυττάρων στο εξίδρωμα που παράγουν τις κυττοκίνες IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, ING-γ και TNF-α με ανοσοκυτταρικές μεθόδους. Τέλος, μελετήσαμε τις ίδιες παραμέτρους και αφού πρώτα χορηγήσαμε I.P. μελανίνη. Ο ολικός αριθμός κυττάρων, η ποσότητα ολικής πρωτεΐνης και οι ελευθερες ρίζες NO' αυξάνονται με την πάροδο του χρόνου και στα δύο φλογιστικά, ενώ μειώνονται με τη χορήγηση μελανίνης. Το μεγαλύτερο ποσοστό κυττάρων που παράγουν τις συγκεκριμένες κυττοκίνες εμφανίζεται την πρώτη ώρα. Η IL-2 στο εξίδρωμα είναι σχετικά μικρή, με εξαίρεση το τελικό στάδιο. Η παρουσία του TNF-α είναι σημαντική σε όλες τις περιπτώσεις ενώ ο τρόπος μεταβολής της IL-6 εξαρτάται από το φλογιστικό. Το ποσοστό των κυττάρων που παράγουν κυττοκίνες αυξάνεται με τη χορήγηση μελανίνης σε σχέση με το αντίστοιχο απουσία της, με εξαίρεση αυτού της παραγωγής IL6, που εμφανίζει μείωση. Η IL-6 μειώνεται στον ορό, όπως και ο TNFα, αλλά με τον τρόπο που σχετίζεται με το φλογιστικό. Η IL-2 παρουσιάζει μεταβολές ανάλογα με το χρόνο και ανάλογα με το φλογιστικό. Συμπερασματικά, οι ειδικοί μηχανισμοί ανοσίας φαίνεται να συμμετέχουν και στις μη ειδικές φλεγμονές και πως η μελανίνη του τσαγιού φαίνεται να παρουσιάζει αντιφλεγμονώδεις και ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες.

CYTOKINE INDUCTION IN NON SPECIFIC INFLAMMATION INDUCED BY VARIOUS PHLOGISTICS; EFFECT OF TEA MELANIN

**Anagnostou, N., E. Diamadas, N. Avramidis, A. Kourounaki,
M. Yiagou and L. Hadjipetrou**

**Aristotle University, Faculty of Biology, Division of Genetics,
Development and Molecular Biology, Thessaloniki, Greece**

Phlogistic agents cause a non specific inflammatory response where histamin, bradykinin, serotonin, prostaglandins and leucotrienes are the major products. We investigated the production of inflammatory cytokines as well as cytokines which determine the type of the immune response, in the air-pouch model in rats after the administration of various phlogistic agents, carragenan, and Freunds complete adjuvant (FCA) with or without the previous injection of tea melanin. We measured, at periods of 1,3,6 and 24 hours, the total cell number, total protein, NO' and the cytokines IL-6 TNF- α , and IL-2 in the exudate of the air-pouch by use of corresponding bioassays, as well as the number of cells producing IFN- γ or IL-4 or IL-5 or IL-10 or IL-6 or TNF- α by immunocytochemical methods. We found that for both phlogistics the number of cells, total protein and NO' increased with time in the air-pouch exudate in contrast to their reduction by melanin administration. TNF- α and IL-6 are also reduced in the exudate by melanin in contrast to IL-2. The cells producing cytokines appear early in the exudate and their number is increased significantly by melanin administration. In conclusion, components of the specific immune response play a role in the non specific inflammations which melanin modulates.

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΕΠΙ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΣΗΣ ΤΩΝ
ΠΙΣΩ ΑΚΡΩΝ ΑΝΟΥΡΩΝ ΑΜΦΙΒΙΩΝ ΥΣΤΕΡΑ ΑΠΟ
ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Α, ΚΑΙ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΗ ΚΑΤΑ
180° ΜΟΙΡΕΣ**

**Αναστασόπουλος, Σ., Π. Κωσταρίδης και Σ. Κουσουλάκος
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και
Βιοφυσικής, Αθήνα**

Οι γνώσεις μας για τους μηχανισμούς που διέπουν τη μορφογένεση των οργάνων είναι περιορισμένες. Οι περισσότερες από αυτές προέρχονται κυρίως από πειράματα που είχαν ως αντικείμενο το αναπτυσσόμενο και το αναγεννώμενο άκρο εντόμων, αμφιβίων και πτηνών. Ιδιαίτερα διδακτικές ήταν οι περιστροφές αναγεννητικών βλαστημάτων επάνω στα κολοβώματα. Απεδείχθη ότι επαφή μεταξύ κυττάρων που είναι εφοδιασμένα με σημαντικά διαφορετικές τοπικές πληροφορίες έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία υπεράριθμων άκρων. Πριν από λίγα χρόνια αποκαλύφθηκε ότι η βιταμίνη Α και τα παράγωγά της (ρετινοειδή) έχουν την ικανότητα να μεταβάλλουν την τοπική πληροφορία των κυττάρων, και ως εκ τούτου να επάγουν το σχηματισμό μη αναμενομένων εξαρτημάτων. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της ταυτόχρονης επίδρασης των δύο παραπάνω παραγόντων (περιστροφή, βιταμίνη Α) στη μορφογένεση του άκρου των ανούρων αμφιβίων. Για το σκοπό αυτό το αριστερό, πίσω άκρο του γυρίνου του *Bufo bufo* (στάδια 52 και 53) απεκόπη στο μέσον. Το κομμένο τμήμα περιστρέφεται κατά 180° και επανατοποθετείται επί του κολοβώματος. Στη συνέχεια οι γυρίνοι τοποθετούνται μέσα σε διάλυμα retinol palmitate. Η δοσολογία και τα αποτελέσματα αποδίδονται στον πίνακα.

Χωρίς Περιστροφή	Φυσιολογικά	Υπεράριθμα
χωρίς βιταμίνη Α	76%	0
με 5IU Vit A/ml	79%	0
10 «	67%	33%
20 «	0	69%

Με Περιστροφή	Φυσιολογικά	Υπεράριθμα
χωρίς βιταμίνη Α	27%	60%
με 5IU Vit A/ml	45%	45%
10 «	30%	50%
20 «	0	86%

OBSERVATIONS ON THE MORPHOGENESIS OF ANURAN HINDLIMBS AS A RESULT OF RETINOIC ACID ADMINISTRATION, AND 180° ROTATION

Anastassopoulos, S., P. Kostaridis and S. Koussoulakos
University of Athens, Section of Cellular Biology and
Biophysics, Athens, Greece

Students of developmental biology frequently make use of tissue transplantation and drug administration in order to gain insight into morphogenetic mechanisms. Rotation of a regeneration blastema over its stump so as to confront disparate positional values results frequently in the production of supernumerary structures. Vitamin A and its derivatives (retinoids) may induce formation of supernumerary structures, and this feature has been attributed to its ability to change positional information.

Purpose of the present investigation was to study the simultaneous influence of both morphogenetic procedures. To this end the left hindlimb of the tadpole of *Bufo bufo* was transected at the middle of the extremity. The amputate was transplanted back to the stump either with its normal axial orientation, or after 180° rotation, in the presence or absence of a water-missible form of vitamin A palmitate. Some of the results are shown in the table.

<u>Without rotation</u>	<u>Normal</u>	<u>Supernumerary</u>
without vitamin A	76%	0
with 5IU Vit A/ml	79%	0
10 «	67%	33%
20 «	0	69%
<u>180° Rotated</u>	<u>Normal</u>	<u>Supernumerary</u>
with vitamin A	27%	60%
with 5IU Vit A/ml	45%	45%
10 «	30%	50%
20 «	0	86%

**ΠΑΘΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ
ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΥΓΓΕΝΩΝ
ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΩΝ ΝΟΣΩΝ ΚΑΙ
ΔΥΣΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ**

**Αντωνέλου, Μ.Χ., Ι.Σ. Παπασιδέρη και Λ.Χ. Μαργαρίτης
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας
Κυττάρου & Βιοφυσικής, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15701**

Ανεπάρκειες, δομικές ανωμαλίες και δυσλειτουργίες των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης και του συστήματος του υπομεμβρανικού σκελετού, προκαλούν παραμορφώσεις στα κύτταρα οι οποίες μπορούν να καταλήξουν στην καταστροφή τους. Οι ερυθροκυτταρικές μεμβράνες ατόμων με ανεπαρκή ερυθροποίηση είναι επίσης ασταθείς και εύθραυστες. Μελετήθηκαν μεμβράνες φορέων κληρονομικής σφαιροκυττάρωσης, κληρονομικής ελλειπτοκυττάρωσης και μιας άτυπης μορφής συγγενούς δυσερυθροποιητικής αναιμίας για τους οποίους υπάρχει κλινική διάγνωση, καθώς και ορισμένες αδιευκρίνιστες περιπτώσεις στις οποίες οι αιματολογικοί δείκτες και τα δεδομένα μοριακής ανάλυσης των αιμοσφαιρινών, δεν δικαιολογούν την εμφανιζόμενη κλινική εικόνα. Ο μορφολογικός έλεγχος των κυττάρων του περιφερικού αίματος παρέχει βασικές μεν, αλλά γενικής φύσεως πληροφορίες. Περισσότερο εξειδικευμένη είναι η βιοχημική ανάλυση, που περιλαμβάνει απομόνωση και λειτουργικές δοκιμασίες των μεμβρανών και των πρωτεϊνών τους κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες. Ποσοτικά δεδομένα για τις διάφορες ανεπάρκειες προέκυψαν από επεξεργασία των ηλεκτροφορητικών προτύπων με λογισμικά πυκνομέτρησης. Στους φορείς αιμολυτικών αναιμιών που εξετάστηκαν, ο βιοχημικός φαινότυπος ήταν ποικίλης έκτασης ανεπάρκειες στις κύριες περιφερικές πρωτείνες, με δευτερογενή επίδραση στην πρωτείνη παλλιδίνη στις σφαιροκυτταρικές μεμβράνες. Στην περίπτωση της άτυπης δυσερυθροποιητικής αναιμίας ανιχνεύτηκαν έκτοπες ζώνες που βρίσκονται ή συνδέονται στενά με τη λιπιδική διπλοστοιβάδα, έντονη ανεπάρκεια στο διαμεμβρανικό ανιοντο-ανταλλάκτη (ζώνη-3), μικρή ελάττωση και ελλιπής ικανότητα αυτοσυγκρότησης της σπεκτρίνης (ζώνες 1 και 2). Προσπαθούμε να καθορίσουμε αν η νόσος συνυπάρχει με κάποιο κληρονομούμενο χαρακτήρα ελλειπτοκυττάρωσης ή αν συμβάλουν άλλοι παράγοντες στην έκδηλη παραμόρφωση και θραύση της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης.

PATHOBIOLOGY OF THE ERYTHROCYTE MEMBRANE IN CASES OF CONGENITAL HEMOLYTIC AND DYSERYTHROPOIETIC ANEMIAS

Antonelou, M.H., I.S. Papassideri and L.H. Margaritis

**University of Athens, Department of Biology, Division of Cell
Biology & Biophysics, Panepistimiopolis, Athens 15701, Greece**

Deficiencies, structural and functional defects of the transmembrane and submembrane skeletal proteins, cause deformations sometimes fatal for the cells. The erythrocyte membranes from subjects who suffer from disordered erythropoiesis are also unstable and fragile. We have studied membranes from clinically diagnosed carriers of some traits of hereditary spherocytosis, hereditary elliptocytosis and an atypical form of congenital dyserythropoietic anemia, as well as from undiagnosed cases, the hematological examination of which and the data derived from the molecular analysis of hemoglobins, are not compatible with their clinical data. The cytological examination of the blood smear provides basic but general information. The biochemical analysis which involves the isolation of the membrane and its proteins and functional assays under well-controlled conditions, is much more specialized and enlightening. The percentage of the various deficiencies encountered, was estimated from the electrophoretic profiles, by the use of densitometric software. The biochemical phenotype of the examined carriers of some traits of hemolytic anemias, was deficiencies -of various extent- in the major skeletal proteins which cause, in the cases of spherocytosis, a subsequent deficiency in the peripheral protein pallidin. In the case of the dyserythropoietic anemia, abnormal proteins are detected, which are located in or strongly associated with the lipid bilayer, in addition with an apparent decrease in the transmembrane anion-exchanger and a milder decrease in spectrin. This protein also showed a defective self-association process. We are studying whether the disease is accompanied by an elliptocytic trait or there are some other factors, which aggravate the membrane with such deleterious transformations.

This project was financed by the Greek GSRT (program YPER).

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ
ΤΟΥ *BACILLUS SPHAERICUS*
ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ ΧΩΡΟ**

**Απτόσογλου, Σ. και Σ. I. Κολιάης
Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη**

Το σποριογόνο βακτήριο του εδάφους *Bacillus sphaericus* είναι μεγάλης οικονομικής σημασίας, γιατί ορισμένα στελέχη του εμφανίζουν τοξική δράση στα κουνούπια, τα οποία πλήττουν ιδιαίτερα τις Μεσογειακές χώρες. Έτσι, η απομόνωση και ταυτοποίηση τέτοιων τοξικών στελεχών μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία βιολογικών εντομοκτόνων βασισμένων στο βακτήριο αυτό. 45 δείγματα του *B. sphaericus* απομονώθηκαν από περιοχές του Ελλαδικού χώρου, οι οποίες αποτελούν συνήθεις βιότοπους κουνουπιών. Η ταυτοποίησή τους έγινε με βάση 4 χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν το είδος *sphaericus* από άλλα είδη του γένους *Bacillus*: το σφαιρικό σχήμα του σπορίου τους, τη δυνατότητα ανάπτυξής τους σε θρεπτικό ζωμό με τιμή pH 6,8, την ικανότητά τους να υδρολύσουν τη ζελατίνη, και την αδυναμία τους να καταβολίζουν τη γλυκόζη. Τα παραπάνω δείγματα χαρακτηρίστηκαν και διαχωρίστηκαν σε στελέχη με βάση τη μέθοδο ηλεκτροφόρησης των πολυπεπτιδών των βλαστικών κυττάρων τους σε πηκτή SDS-πολυακρυλαμίδης. Η ανάπτυξη των βακτηρίων έγινε σε βασικό θρεπτικό ζωμό (nutrient broth), που συνδύασε τη γρηγορότερη ανάπτυξη και τη μεγαλύτερης διάρκειας παραμονή των βακτηριακών κυττάρων στη βλαστική τους μορφή. Τα πολυπεπτιδικά πρότυπα όλων των δειγμάτων εκχυλίστηκαν από καλλιέργειες *B. sphaericus* που βρίσκονταν στο φάσμα τιμών της οπτικής απορρόφησης στα 600 nm μεταξύ 0,3 και 1,0, στις οποίες το πολυπεπτιδικό πρότυπο διατηρείται σταθερό. Από τη σύγκριση των πολυπεπτιδικών προτύπων των 45 δειγμάτων προέκυψαν 21 διαφορετικά πρότυπα (ηλεκτροφορέτυποι), τα οποία θεωρούμε ότι αντιπροσωπεύουν 21 διαφορετικά στελέχη του *B. sphaericus*. Οι εντονότερες διαφορές ανάμεσα στα πρότυπα χαρακτηρίζονται από την εμφάνιση έντονης ζώνης σε διαφορετικά μοριακά μεγέθη ανάμεσα στα 100-200 kDa. Οι έντονες ζώνες μοριακού μεγέθους περίπου 30 και 100 kDa σε ορισμένα στελέχη πιθανόν να αντιστοιχούν, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, σε τοξικές πρωτεΐνες ενάντια στα κουνούπια.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF GREEK *BACILLUS SPHAERICUS* SAMPLES

Aptosoglou, S. and S. I. Koliais

Laboratory of General Microbiology, Department of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece

The spore-forming, soil bacterium *Bacillus sphaericus* is of great economic importance, because several strains are toxic to mosquitoes, which are a major nuisance in the Mediterranean region. Therefore, the isolation and identification of such toxic strains may facilitate the production of biological pesticides based on this bacterium. 45 *B. sphaericus* samples were isolated from regions of Greece which are believed to constitute niches of mosquitoes. The identification of the samples was based on 4 characteristics, which differentiate the species *sphaericus* from other species of the genus *Bacillus*: the spherical shape of their spore, their ability to grow in nutrient broth of pH 6.8, their ability to hydrolyze gelatin, and their inability to ferment glucose. The above samples were characterized and differentiated into strains by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of their vegetative cell polypeptides. The bacteria were grown in nutrient broth, which gave a fast growth and a long maintenance of the bacterial cells at their vegetative phase. The polypeptide profiles of all the samples were extracted from *B. sphaericus* cultures of an optical density at 600 nm in the range of 0.3 και 1.0, in which the polypeptide profile remained stable. The comparison of the polypeptide profiles of the 45 samples gave rise to 21 different polypeptide profiles (electrophoretotypes), which we consider that they represent 21 different strains of *B. sphaericus*. The most important difference among the profiles is the appearance of intense bands in different molecular sizes of 100-200 kDa. The intense bands of molecular sizes of about 30 and 100 kDa in some strains possibly correspond to toxic proteins against mosquitoes, according to the literature.

**ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ
ΧΛΩΡΙΔΑΣ: ΧΛΩΡΙΔΑ ΚΑΙ ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΤΗΣ ΝΗΣΟΥ
ΛΗΜΝΟΥ (Β. ΑΙΓΑΙΟ)**

Αραμπατζής¹, Θ., Μ. Πανίτσα², Β. Snogerup³,
S. Snogerup³ και Δ. Τζανουδάκης²

¹Τμήμα Δασοπονίας, Τ.Ε.Ι. Καβάλας, Προάστιο, 66100 Δράμα,

²Τομέας Βιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Πατρών, 26500 Πάτρα, ³Botanical Museum, O.Vallgatan 18,
S-22361 Lund, Sweden

Η νήσος Λήμνος διοικητικά ανήκει στο Νομό Λέσβου και βιογεωγραφικά στην υποδιαίρεση Βόρειο Αιγαίο. Ως νησί χαρακτηρίζεται από έντονο οριζόντιο διαμελισμό αλλά, σε σύγκριση με άλλα νησιά του Βόρειου Αιγαίου, από χαμηλά υψόμετρα (μέγιστο 355m), ήπιες κλίσεις, απουσία ασβεστολιθικών γκρεμών και έντονες ανθρωπογενείς επιδράσεις (γεωργία, κτηνοτροφία) σε όλη την έκταση. Στα πλαίσια μίας χλωριδικής μελέτης της περιοχής έχουν καταγραφεί περίπου 600 φυτικά ταχα ανάμεσα στα οποία κυριαρχούν τα μεσογειακά χωρολογικά στοιχεία και τα μονοετή θερόφυτα γεγονός που αντανακλά στο μεσογειακό χαρακτήρα της χλωρίδας του νησιού. Παρά τη φτωχή, σχετικά, χλωρίδα της η Λήμνος φαίνεται να διατηρεί μία υψηλού επιπέδου οικολογική αξία εξ' αιτίας της παρουσίας πολλών και διαφορετικών τύπων βλάστησης και ενδιαιτημάτων όπως: Υγροτόπους στις θέσεις Αλυκή, Χορταρολίμνη και Διαπόρι, αμμοθίνες στις θέσεις Αγ. Ιωάννης, Αγ. Σώζων, Εβραιόκαστρο κ.λ.π., υπολείμματα δάσους βελανιδιάς (*Quercus macrolepis* subsp. *iithaburensis*) στο κέντρο σχεδόν του νησιού και φρυγανικοί σχηματισμοί σε όλη την έκταση του νησιού. Σε γενικές γραμμές τα φυσικά οικοσυστήματα (υγρότοποι, αμμοθίνες, δάσος βελανιδιάς κ.λ.π.) εμφανίζουν φαινόμενα έντονης υποβάθμισης από ανθρωπογενείς επιδράσεις (τεχνικά έργα, εντατική καλλιέργεια, υπερβόσκηση, τουριστικές εγκαταστάσεις κ.λ.π.) και η λήψη διαχειριστικών μέτρων κρίνεται απαραίτητη για τη διατήρηση της οικολογικής ισορροπίας και αξίας της περιοχής.

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE GREEK FLORA: FLORA AND VEGETATION OF THE ISLAND OF LEMNOS (N. AEGEAN AREA)

Arabatzis¹, Th., M. Panitsa², B. Snogerup³, S. Snogerup³,
and D. Tzanoudakis²

¹Department of Forestry, Technological Education Institute of Kavala, Proastio, 66100 Drama, Greece, ²Division of Plant Biology, Department of Biology, University of Patras, GR-26500 Patras, Greece, ³Botanical Museum, O. Vallgatan 18, S-22361 Lund, Sweden

The island of Lemnos belongs to the Prefecture of Lesvos and from the biogeographical point of view to the North Aegean area. As an island it is characterized by intense horizontal relief. In comparison with other islands of the North Aegean area, it is characterized by low land formations (highest point 355m), medium inclination, absence of limestone cliffs and intense human interference (agriculture, stock farming) almost on the entire island. In the framework of a floristic study of the area about 600 plant taxa have been registered. The dominance of the mediterranean elements and the annual therophytes reflect the Mediterranean character of the flora. Although its flora is rather poor, Lemnos conserve a high level ecological value based on the existence of many different vegetation formations and habitat types such as: Wetlands at Aliki, Chortarolimni, Diapori etc., sand dunes at Ag. Ioannis, Ag. Sozon, Evraiokastro etc., remnants of Quercus macrolepis subsp. *ithaburensis* forest at the central part of the island, d) extended phryganic formations all over the island. The natural ecosystems (wetlands, sand dunes, etc.) have been degraded because of the intense human activities (extended agriculture, over-grazing, tourist facilities etc.) and for this reason the adaptation of management measures is necessary for the conservation of the ecological value of the area.

ΑΝΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ DL-ΙΣΟΜΠΟΡΝΕΟΛΗΣ ΕΝΑΝΤΙΑ ΣΤΟΝ ΕΡΠΗ ΑΠΛΟ ΙΟ 1 (HSV1)

Αρμακά, Μ., Ε. Παπανικολάου, Α. Σιβροπούλου
και Μ. Αρσενάκης

Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τομέας Γενετικής,
Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη 54006

Η DL-ισομπορνεόλη, συστατικό του αιθερίου ελαίου της *Salvia fruticosa* (ελληνικό φασκόμηλο), εμφανίζει κυτταροτοξική δράση σε κύτταρα Vero (African Green Monkey kidney cells), το μέγεθος της οποίας εξαρτάται από τη συγκέντρωσή της. Η συγκέντρωση της DL-ισομπορνεόλης που αναστέλλει κατά 50% την ανάπτυξη των κυττάρων Vero (ID₅₀) είναι 0.07% (o/o). Η DL-ισομπορνεόλη ασκεί αντική δράση ενάντια στον ιό έρπη απλό 1 (HSV1) σε δύο επίπεδα. Πρώτον, ο ιός μετά από έκθεση 30 λεπτών στην DL-ισομπορνεόλη αδρανοποιείται και παρατηρείται μείωση του τίτλου του κατά 4 log₁₀ περίπου, ενώ δεν επηρεάζεται η προσρόφησή του στις κυτταρικές μεμβράνες. Δεύτερον, η προσθήκη της DL-ισομπορνεόλης αμέσως μετά την προσρόφηση του ιού αναστέλλει πλήρως τον πολλαπλασιασμό του. Μελέτες σχετικά με τον μηχανισμό δράσης της DL-ισομπορνεόλης έδειξαν ότι όταν ο ιός αναπτύσσεται στην παρουσία της ανιχνεύονται μόνο οι πρόδρομες μερικώς γλυκοσυλιωμένες μορφές των ικών γλυκοπρωτεινών B και D ενώ δεν ανιχνεύονται οι ώριμες πλήρως γλυκοσυλιωμένες μορφές τους (gB και gD). Αντίθετα το πρότυπο γλυκοσυλίωσης των κυτταρικών πολυπεπτιδίων παραμένει αμετάβλητο στην παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων της DL-ισομπορνεόλης. Παρεμπόδιση της γλυκοσυλίωσης των ικών γλυκοπρωτεινών δεν παρατηρήθηκε με άλλα μονοτερπένια, ούτε με την L-(-)μπορνεόλη, διαστερεοϊσομερές της DL-ισομπορνεόλης.

ANTIVIRAL ACTION OF DL-ISOBORNEOL AGAINST HERPES SIMPLEX VIRUS 1.

**Armaka, M., E. Papanikolaou, A. Sivropoulou
and M. Arsenakis**

**Laboratory of General Microbiology, Department of Genetics,
Development & Molecular biology, School of Biology, Aristotle
University of Thessaloniki, Thessaloniki 54006, Greece**

DL-isoborneol a component of *Salvia fruticosa* essential oil caused a dose dependent cytotoxicity against Vero cells (African Green Monkey kidney cells). The 50% inhibitory dose (ID_{50}) was 0.07% (v/v). DL-isoborneol exhibited antiviral activity against herpes simplex virus 1 on two levels. First, exposure of virus to DL-isoborneol reduced infectivity by 4 \log_{10} values within 30 min without affecting adsorption to cell membranes. Second, DL-isoborneol added immediately after virus adsorption caused total inhibition of virus replication. Studies relating to DL-isoborneol's mode of action showed that it inhibits the production of the mature fully glycosylated forms of the viral glycoproteins B (gB) and D (gD). In contrast the glycosylation patterns of the cellular proteins were unaffected by the presence of DL-isoborneol. Finally, inhibition of viral protein glycosylation was not observed in cells treated with other monoterpenes or with L-(-)-borneol, a trans-stereoisomer of DL-isoborneol.

ΜΕΛΕΤΗ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΧΕΡΙΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΟΓΕΝΕΤΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ

**Βαξεβανέλλης, Σ., Β. Βαρβαρήγος και Α. Πέντζου - Δαπόντε
Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής
Βιολογίας, 54 006 Θεσσαλονίκη**

Εξετάζεται η μορφή της ράχης του χεριού και των δακτύλων, με ιδιαίτερη έμφαση στην τελευταία φάλαγγα των δακτύλων / μορφή της ονυχοφόρου πλάκας. Ακόμα, αντικείμενο της μελέτης είναι η αναλογία των δακτύλων σχετικά με τον δείκτη και παράμεσο δάκτυλο της άκρας χειρός.

Α. Ως προς τη μορφή της, η ράχη του χεριού διακρίνεται στις ακόλουθες περιπτώσεις:

1. κωνική (σχήμα τραπεζίου με τη μικρή βάση στην πλευρά των δακτύλων).
2. σπαθοειδής (σχήμα τραπεζίου με τη μεγάλη βάση στην πλευρά των δακτύλων και 3. τετραγωνική.

Στους Μεσογειακούς πληθυσμούς εμφανίζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό η σπαθοειδής μορφή.

Β. Τα άκρα των δακτύλων μπορεί να είναι κωνικά, σπαθοειδή, τετράγωνα ή σε ορισμένες περιπτώσεις πληκτροειδή. Ο χαρακτήρας πληκτροειδή δάκτυλα (όταν δεν οφείλεται σε καρδιακές παθήσεις) φαίνεται ότι μεταβιβάζεται ως ένα υπερέχον γνώρισμα.

Γ. Όσον αφορά την αναλογία των δακτύλων, συγκρίνουμε το μήκος του δείκτη με αυτό του παράμεσου. Όταν τοποθετήσουμε την παλάμη μας έτσι ώστε ο παράμεσος να αγγίζει μια οριζόντια γραμμή, τότε ο δείκτης άλλοτε την ξεπερνά και άλλοτε δεν την φτάνει. Το γνώρισμα κοντότερος δείκτης σε σχέση με τον παράμεσο, είναι φυλοεπηρεαζόμενο. Στους άντρες κληρονομείται ως υπερέχον γνώρισμα και στις γυναίκες ως υποτελές.

Δ. Το σχήμα της ονυχοφόρου πλάκας (νυχιών) είναι δυνατόν να είναι ποικιλόμορφο. Η βασική μορφή των νυχιών μπορεί να είναι α: ορθογώνια, β: στρογγυλή και γ: ριπιδοειδής (ενδιάμεση της ορθογώνιας και της στρογγυλής). Επιπλέον, η ονυχοφόρος πλάκα μπορεί να είναι επίπεδη, κυρτή ή ωρολογοειδής, φαρδιά ή στενή, με εγκάρσιες ή επιψήκτες ραβδώσεις.

STYDY ON THE CHARACTERISTICS OF THE HAND OF GREEK POPULATIONS OF AN ANTHROPOGENETIC BASIS

Vaxevanellis, S., V. Varvarigos and A. Pentzou - Daponde
Aristotle University School of Sciences, Department of Biology,
Section of Genetics, Development and Molecular Biology,
540 06, Thessaloniki, Greece

The form of the back of the hand and of the fingers is examined with particular stress on the last phalanx of the fingers, form of the nail-bearing plate. In addition, the size ratio of the fingers in relevance to the forefinger and the paramedian of the hand, is studied.

A. As far as its form is concerned, the following cases can be seen for the back of the hand:

1. Conical (trapezoidal shape, with the small basis on the side of the fingers), 2. Sword-shaped (trapezoidal shape, with the large basis on the side of the fingers) 3. Square.

In the Mediterranean populations the sword-shaped form appears at a higher percentage.

B. The tips of the fingers may be conical, sword-shaped, square or in certain cases the fingers may be clubbed. The characteristic of clubbed fingers (when it is not due to cardiac diseases) appears to be inherited as a dominant characteristic.

C. As far as the size ratio of the fingers is concerned, we compare the length of the forefinger with the length of the paramedian. When we place the palm in a way that the paramedian touches a horizontal line, then the forefinger may at times cross this line and at other times it may not even reach it. The characteristic «Shorter forefinger» in relation to the paramedian, is sex-influenced, in men it is inherited as a dominant characteristic and in women as a recessive one.

D. The shape of the nail-bearing plate (nails) may be variable. The basic form of the nails may be a: oblong, b: round and c: flabellate (intermediate between the oblong and the round form).

Moreover, the nail-bearing plate may be flat, curved or clock-shaped, wide or narrow, with transverse or longitudinal situations.

**ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΑΓΟΠΥΡΗΝΩΝ ΑΠΟ
ΑΝΑΣΥΝΔΙΑΣΜΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΗ *Zymomonas mobilis*
CP4 ΚΑΙ NCIB 11163 ΜΕ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ *inaZ*
*TOY Pseudomonas syringae***

Βαρσάκη, Α., Α. Σ. Αφένδρα, Γ. Βαρθολομάτος, Γ. Τέγος
και Κ. Δραΐνας

Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Οι βακτηριακοί παγοπυρήνες έχουν χρησιμοποιηθεί για παραγωγή τεχνητού χιονισμού λόγω της αποτελεσματικότητάς τους σε σχέση με τους ανόργανους παγοπυρήνες. Θα μπορούσαν όμως να χρησιμοποιηθούν και σε διάφορες βιομηχανίες, όπως π.χ. βιομηχανίες κατεψυγμένων τροφίμων.

Σε ορισμένες εφαρμογές, η μεταφορά και έκφραση του *inaZ* σε μη-παθογόνους ξενιστές, όπως π.χ. το βακτήριο *Zymomonas mobilis*, είναι απαραίτητη για οικολογικούς λόγους. Το γονίδιο *inaZ* του βακτηρίου *Pseudomonas syringae* μεταφέρθηκε και εκφράστηκε στο *Z. mobilis* CP4, υποκλωνοποιημένο στο pDS3154 υπό τον έλεγχο του προαγωγού *P_{bla}*. Το πλασμίδιο αυτό, αν και ήταν δομικά σταθερό, έδωσε χαμηλές τιμές log (ice nuclei/cell) και ήταν αδύνατο να μεταφερθεί σε άλλα στελέχη *Z. mobilis*. Στα πλαίσια της προσπάθειας αύξησης της έκφρασης του *inaZ* στο *Z. mobilis* κατασκευάστηκε ένα καινούργιο πλασμίδιο, το pBZIP1, χρησιμοποιώντας το ρεπλικόνιο του φυσικού πλασμιδίου pZMO3 του *Z. mobilis*, την *Tc^r* και την *mob* περιοχή του pBR325 και το *inaZ* υπό τον έλεγχο του ισχυρού προαγωγού *P_{pdc}*. Το νέο πλασμίδιο μεταφέρθηκε μέσω επιβοηθούμενης βακτηριακής σύζευξης από κύτταρα *E. coli* στα *Z. mobilis* CP4 και NCIB 11163. Τα μετασυζευγμένα κύτταρα διατήρησαν το pBZIP1 δομικά σταθερό και έδωσαν ικανοποιητικές τιμές παγοπυρήνωσης συγκριτικά με όλα τα άλλα *ice⁺* βακτήρια που έχουν περιγραφεί μέχρι στιγμής. Αυτά τα χαρακτηριστικά κάνουν τα κύτταρα *Z. mobilis*/pBZIP1 μια πολύ χρήσιμη πηγή παγοπυρήνων.

**PRODUCTION OF ICE NUCLEI FROM
RECOMBINANT *Zymomonas mobilis* STRAINS CP4 AND
NCIB 11163 EMPLOYING THE *inaZ* GENE OF
*Pseudomonas syringae***

**Varsaki, A., A. S. Afendra, G. Vartholomatos, G. Tegos
and C. Drainas**

**Laboratory of Biochemistry, Department of Chemistry,
University of Ioannina, Ioannina, Greece**

Bacterial ice nuclei are used to some extend for artificial snow making and cloud seeding due to their effectiveness compared with inorganic ice nuclei. Apart of that, bacterial ice nuclei may have various biotechnological applications in frozen food and other industries.

For some applications, the transfer and expression of the *inaZ* gene in non-pathogenic hosts, is very important for environmental reasons. An attractive candidate host organism is the bacterium *Zymomonas mobilis*. The *inaZ* gene of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* was transferred and expressed in *Z. mobilis* CP4, under the control of P_{bla} promoter on plasmid pDS3154. This construct, although genetically stable, showed low values of ice nucleation and was incapable to be transferred to other *Z. mobilis* strains. In order to increase the host range and the heterologous expression of the *inaZ* gene in *Z. mobilis*, a new vector, named pBZIP1, was constructed using the replicon of the native plasmid of *Z. mobilis* pZMO3, the Tc^r marker and mobilisation region of the vector of *E. coli*, pBR325 and the *inaZ* gene under the control of P_{pdc} promoter. The new construct was conjugally transferred from *E. coli* to *Z. mobilis* CP4 and NCIB 11163 assisted by pRK2013. Trasconjugants retained the plasmid genetically stable, expressed high levels of ice nucleation activity and the nucleation threshold temperature was satisfactory, compared to all heterologous ice+ bacteria described so far. These advantageous features make *Z. mobilis*/pBZIP1 cells a useful and improved source of ice nuclei.

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ α1-ΟΞΙΝΗΣ
ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΣΕ ΑΡΘΡΙΤΙΚΟΥΣ
ΑΡΟΥΡΑΙΟΥΣ**

Βασιλειάδου, Κ., Ε. Κουζιώρτη, Α. Κουρουνάκη,
Λ. Χατζηπέτρου και Μ. Γιάγκου

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

Σε προηγούμενα πειράματά μας δείξαμε την πιθανή συμμετοχή της αλόξινης γλυκοπρωτεΐνης (AGP) στο μηχανισμό επαγωγής της πειραματικής αρθρίτιδας σε αρουραίους. Η χορήγηση σε αρθριτικούς αρουραίους καθαρής AGP είχε ως αποτέλεσμα τη επιδείνωση της αυτοανοσονόσου ενώ η χορήγηση αντι-AGP αντισωμάτων στους ίδιους αρουραίους είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της σοβαρότητάς της. Προκειμένου να μελετήσουμε εαν η συμμετοχή της AGP στο μηχανισμό επαγωγής αρθρίτιδας οφείλεται σε γενικευμένη ή τοπική της δράση στις αρθρώσεις προσδιορίσαμε τα επίπεδα της AGP τόσο στο αρθρικό υγρό όσο και σε κύτταρα που βρίσκονται στον αρθρικό υμένα των αρουραίων. Ανάλυση κατά Western, έδειξε ότι στο αρθρικό υγρό των αρθριτικών αρουραίων (7 ημέρες μετά τη χορήγηση του FCA για επαγωγή αρθρίτιδας) υπάρχουν αυξημένα επίπεδα της AGP. Η χορήγηση δηλητηρίου της μέλισσας, που προκαλεί καταστολή της αρθρίτιδας, σε αρθριτικούς αρουραίους προκαλεί ελάττωση των επιπέδων της AGP στο αρθρικό υγρό. Η AGP που βρίσκεται στο αρθρικό υγρό πιθανά να παράγεται από μονοκύτταρα που βρίσκονται στον αρθρικό ιστό, αφού με ανοσοκυτταροχημική μέθοδο, ανιχνεύσαμε στον αρθρικό ιστό των αρθριτικών αρουραίων αυξημένο αριθμό κυττάρων που παράγουν AGP. Σε αεροθύλακες που δημιουργούνται στην πλάτη αρθριτικών αρουραίων και αποτελούν σύστημα προσομοίωσης του αρθρικού ιστού παρατηρήθηκαν επίσης αυξημένα επίπεδα της AGP. Τα κύτταρα που συσσωρεύονται στον αεροθύλακα 24 ώρες μετά τη χορήγηση FCA είναι ικανά να προκαλούν παθητική μεταφορά της αρθρίτιδας σε φυσιολογικούς δέκτες. Τέλος, τα αποτελέσματά μας ενισχύουν προηγούμενες μελέτες μας που δείχνουν συμμετοχή της AGP στο μηχανισμό επαγωγής αρθρίτιδας και επίσης δείχνουν ότι το μοντέλο των αεροθυλάκων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο για τη μελέτη των γεγονότων που διαδραματίζονται στον αρθρικό ιστό και είναι υπεύθυνοι για την επαγωγή αρθρίτιδας.

EXPRESSION OF α 1-ACID GLYCOPROTEIN GENE IN ARTHRITIC RATS

**Vasiliadou, K., E. Kouziorti, A. Kourounakis, L. Hadjipetrou
and M. Yiangou**

**Division of Genetics, Development and Molecular Biology,
Biology Department, Aristotle University, Thessaloniki, Greece**

In previous studies we have shown that AGP may be involved in the pathogenesis of adjuvant arthritis (AA) in rats since administration of AGP in AA rats results in acceleration in the onset of arthritis, severity and duration of disease. In addition, injection of anti-AGP antibodies in AA rats results in significant remission of arthritis. To examine the systemic or local action of AGP in AA development the AGP levels in synovium tissue were determined. Western analysis revealed increased AGP levels in synovium fluids isolated from AA rats 7 days post FCA injection. Furthermore, honey bee venom that suppresses AA development, decreases the AGP levels in synovium fluids. Monocytes infiltrated the synovium may be the source of AGP since by immunocytochemical method we detected increased number of AGP positive cells. In AA rat air pouches model that simulates synovium AGP levels are also increased. In addition, AA is passively transferred to normal recipients with cells isolated from AA rat FCA injected air pouches. The above data support our previous observations showing that AGP may be involved in the pathogenesis of AA in rats and furthermore suggest that the air pouches model is useful to study the mechanisms occurred in synovium and participate in AA development.

**ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΚΑΙ ΕΓΚΛΙΜΑΤΙΣΜΟΥ
ΤΗΣ ΑΘΕΡΙΝΑΣ (ATHERINA BOYERI RISSO, 1810)
ΣΤΗ ΦΡΑΓΜΑΛΙΜΝΗ ΤΑΥΡΩΠΟΥ.
ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

**Βασιλείου, Α., Ε. Μιχαλούδη, Δ. Μπόμπορη
και Π. Σ. Οικονομίδης
Α.Π.Θ., Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας,
Τ.Θ. 134, 54006 Θεσσαλονίκη**

Από διαχειριστική άποψη είναι επιθυμητή η εισαγωγή και ο εγκλιματισμός στην επιφανειακή ζώνη μιας νέας φραγμαλίμνης ευρυφάγων ειδών με γνωστές οικολογικές ιδιότητες και κατά προτίμηση, με καλή εμπορική αξία. Η παρούσα έρευνα έχει ως στόχο τη μεταφορά της αθερίνας από τη λίμνη Τριχωνίδα και τον εγκλιματισμό της στη φραγμαλίμνη του Ταυρωπού, με σκοπό την ανάπτυξη πληθυσμού που θα συμβάλλει στην κατανάλωση της διαθέσιμης πελαγικής βιομάζας και θα αποτελέσει νέο τροφικό ορίζοντα για τα σαρκοφάγα ψάρια, αλλά και ένα εμπορικά πολύ αξιόλογο είδος για την περιοχή. Κατά το πρώτο έτος της έρευνας (1997) και με βάση τον κύκλο αναπαραγωγής του είδους, επιχειρήθηκε η μεταφορά αβγών, γόνου και ώριμων ατόμων με ανοιχτά (δεξαμενές) και κλειστά (πλαστικοί σάκοι) συστήματα. Παράλληλα εξετάστηκε η επίδραση κατά τη μεταφορά διαφόρων παραγόντων όπως η θερμοκρασία του νερού, το pH, το φως, το διαλυμένο οξυγόνο, η αμμωνία και η πυκνότητα των ατόμων. Επίσης, πριν από τη μεταφορά, ερευνήθηκε η επίδραση του αρχικού εγκλιματισμού των ψαριών σε ελεγχόμενες συνθήκες. Για τον περιορισμό της ενεργητικότητας των ψαριών και τη δέσμευση της εικλυόμενης αμμωνίας δοκιμάστηκε η προσθήκη αναισθητικού και ζεόλιθου αντιστοίχως. Η μέση επιβίωση γόνου αθερίνας κατά τις πρώτες έξι ώρες μεταφοράς ήταν 9%. Στα κλειστά συστήματα η μέση επιβίωση των ώριμων ατόμων το Μάιο ήταν 22% ενώ τον Οκτώβριο 52%. Η μεταφορά με ανοιχτά συστήματα που επιχειρήθηκε τον Αύγουστο αποδείχθηκε ανεπιτυχής, καθώς δεν επιβιώσει κανένα άτομο μετά από ταξίδι μιας ώρας. Αντίθετα, η χρήση ζεόλιθου σε συνδυασμό με τον εγκλιματισμό των ψαριών πριν τη μεταφορά, έδωσε τον Οκτώβριο πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Από τα προκαταρκτικά αποτελέσματα προκύπτει ότι παρά την αρχική υψηλή θνησιμοτητα, τα άτομα που επιβιώνουν ύστερα από προσαρμογή σε σκοτεινό περιβάλλον εγκλισμού για ένα τουλάχιστο 24ωρο, παρουσιάζουν ικανοποιητική αντοχή κατά τη μεταφορά. Η συνέχιση της έρευνας το δεύτερο έτος πιστεύεται ότι θα επιτρέψει την εξαγωγή συμπερασμάτων για τον καταλληλότερο τρόπο μεταφοράς.

TRANSPORTATION AND ACCLIMATION OF SAND SMELT (*ATHERINA BOYERI* RISSO, 1810) IN THE TAUROPOS DAM-LAKE. PRELIMINARY RESULTS

Vassiliou, A., E. Michaloudi, D. Bobori and P.S. Economidis
Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology,
Laboratory of Ichthyology, P.O. Box 134, GR-54006,
Thessaloniki, Greece

The importance of the introduction and acclimation, in the pelagic zone of a recently established dam-lake, of omnivorous fish species, with known ecology and high commercial value, is recognized for management purposes. The present study aims to the transportation of sand smelt from lake Trichonis and its acclimation in the Tauropos dam-lake, in order to establish a new population, which will consume the available pelagic biomass and will constitute a new trophic horizon for carnivorous fish, as well as an important income for the local fishery. During the first year of the study (1997), transportation was made using open (tanks) and closed (plastic bags) systems. Attempts were made with eggs, larvae and mature individuals, taking into account the reproductive period of the species. The effects, during transport, of several factors such as temperature, pH, light, dissolved oxygen, ammonia and fish density were examined. Moreover, the effect of an initial acclimation of the individuals under controlled conditions prior to transportation was investigated. In order to minimize metabolic rates of fish as well as for ammonia removal, the addition of anaesthetic and clinoptile was tested, respectively. Mean survival of the larvae during the first six hours of transportation was 9%. In the closed systems mean survival of adults was 22% in May and 52% in October. The transportation with open systems that was tried in August was unsuccessful since no individuals survived after one hour. Contrary, the use of clinoptile in combination with the initial acclimation of fish prior to transportation, provided better results in October. The preliminary results indicate that despite the initial high mortality, the individuals that survive after an acclimation in darkness for at least 24 h are tolerant during transportation. The continuation of the study during the second year will provide the necessary results for the best way of transportation.

**ΔΙΑΔΟΧΗ ΤΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΥΡΚΑΓΙΑ:
Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΔΑΣΩΝ ΧΑΛΕΠΙΟΥ ΠΕΥΚΗΣ
(*PINUS HALEPENSIS* MILLER, 1768) ΤΗΣ ΒΟΡΕΙΑΣ
ΑΧΑΪΑΣ**

Βέρροιος, Γ. και Θ. Γεωργιάδης
Εργαστήριο Βοτανικής - Οικολογία Φυτών, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, 265 00 Πάτρα

Τα δάση τα οποία μελετήθηκαν βρίσκονταν στην περιφέρεια των κοινοτήτων Πλατανιού και Ζήρειας και κάηκαν κατά τη διάρκεια μεγάλων πυρκαγιών το 1989 και 1995 αντίστοιχα. Στα καμένα δάση Πλατανιού και Ζήρειας καθώς και σε άκαυτες συστάδες πάρθηκαν συνολικά 30 αντιρροσωπευτικές και ομοιογενείς δειγματοληπτικές επιφάνειες των 100 m² κατά τη διετία 1995 - 1997.

Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν υπέστησαν γραφική κατάταξη με τη μέθοδο DCA και αριθμητική ταξινόμηση με τη μέθοδο TWINSPAN. Για την παραγωγή βιοφασμάτων τα φυτικά είδη εντάχθηκαν στις κατηγορίες βιομορφών του Raunkiaer. Επίσης τα δεδομένα αναλύθηκαν με τη βοήθεια του δείκτη ποικιλότητας του Shannon καθώς και με την κατασκευή καμπύλων κυριαρχίας - ποικιλότητας.

Η αριθμητική επεξεργασία των δεδομένων έδειξε τη μεγάλη χλωριδική ομοιότητα των δειγματοληψιών ένα και δύο χρόνια μετά την πυρκαγιά στη Ζήρεια. Τα φυτά που χαρακτηρίζουν αυτές τις δειγματοληψίες είναι ετήσιοι πόες κυρίως των οικογενειών *Leguminosae* και *Compositae*. Η ποικιλότητα είναι ελάχιστη τον πρώτο χρόνο μετά τη φωτιά ενώ αυξάνεται προοδευτικά τα επόμενα χρόνια για να μειωθεί ξανά στο άκαυτο δάσος. Η βλάστηση του άκαυτου δάσους χαρακτηρίζεται από την κυριαρχία ξυλωδών πολυνετών ειδών που δημιουργούν έναν πυκνό και αδιαπέραστο υπόροφο κάτω από τα δέντρα της χαλεπίου πεύκης.

Όλα τα φυτικά είδη του άκαυτου δάσους είναι παρόντα ήδη από τα πρώτα χρόνια μετά τη φωτιά. Η παρατηρούμενη διαδοχή δεν είναι τίποτα περισσότερο από την εξάλειψη των μικρών βραχύβιων φυτών από μεγάλου μεγέθους που ζουν πολλά χρόνια. Το πρότυπο αυτό της διαδοχής, ταιριάζει στο μοντέλο της «αρχικής χλωριδικής σύνθεσης».

POST - FIRE VEGETATION SUCCESSION: THE ALEPPO PINE (*PINUS HALEPENSIS* MILLER, 1768) FORESTS OF NORTHERN ACHAIA PREFECTURE (GREECE) CASE

Verroios, G. and Th. Georgiadis

**Botanical Institute - Plant Ecology Laboratory, Department of
Biology, University of Patras, GR-265 00, Greece**

The studied forests lie in the district of Platani and Ziria villages and were burned during the great wildfires of 1989 and 1995 respectively. Thirty representative and homogeneous relevels of 100 m² were taken in the burned forests of Platani, Ziria and also in unburned stands, during a two year period (1995 - 1997).

The collected data were treated by using the ordination method DCA and the numerical classification method TWINSPAN. In order to produce life - form spectra, plant species were classified according to Raunkiaer's life - form categories. The data were also analyzed by using Shannon's diversity index and dominance - diversity curves.

The data process showed the great floristic similarity between the relevels of one and two years after the wildfire at Ziria. The characteristic plants of these relevels are annual herbs that belong mostly to the *Leguminosae* and *Compositae* families. Plant diversity is found to be minimum one year after fire but it increases during the following years and drops again in the unburned forest. The vegetation of the mature forest is characterized by the dominance of woody perennial species that create a dense understorey, beneath the *Pinus halepensis* trees.

All plant species of the unburned forest are already present during the early post - fire years. The observed succession is nothing more than the replacement of small, short - lived plants by large, long - lived ones. This succession pattern matches the «initial floristic composition» model.

**ΕΚΘΕΣΗ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ *Rana ridibunda* ΣΤΟ
ΜΟΛΥΒΔΟ. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ
ΜΟΛΥΒΔΟΥ ΣΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ
δ-ΑΜΙΝΟΛΕΒΟΥΝΙΚΗΣ ΔΕΥΔΡΑΣΗΣ**

Βογιατζής, Άγγελος, Κ. και Νικόλαος Λουμπουρδής
**Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη**

Τα τελευταία χρόνια έχουν καταγραφεί περιπτώσεις μειώσεων ή ακόμα και εξαφανίσεων αμφιβίων ειδών που σχετίζονται με ανθρωπογενείς επιδράσεις στο φυσικό περιβάλλον των ατόμων. Εντούτοις, πολύ λίγα γνωρίζουμε για την επίδραση του μολύβδου (Pb) στους πληθυσμούς των αμφιβίων παρόλο που ο Pb θεωρείται μία από τις βασικές πηγές μόλυνσης τόσο χερσαίων όσο και υδάτινων οικοσυστημάτων. Για το σκοπό αυτό μελετήσαμε την επίδραση του Pb σε ενήλικα άτομα του βατράχου *Rana ridibunda*. Μελετήθηκε η συσσώρευση του Pb στο ήπαρ καθώς και η επίδραση της συσσώρευσης του τελευταίου στη δραστικότητα της ηπατικής δ-αμινολεβουλινικής δεϋδρατάσης (δ-ALA-D). Το ένζυμο αυτό συμμετέχει στη βιοσύνθεση της αιμοσφαιρίνης καταλύνοντας την συμπύκνωση 2 μορίων δ-αμινολεβουλινικού οξέος προς πορφοχολινογόνο (πρόδρομη ένωση της αιμοσφαιρίνης). Η μελέτη της επίδρασης του Pb στη δραστικότητα του συγκεκριμένου ενζύμου χρησιμοποιείται ευρεία στις μελέτες βιοδεικτών για τη μόλυνση οργανισμών από το Pb. Οι βάτραχοι τοποθετήθηκαν για 4, 10 και 30 ημέρες σε νερό που περιείχε 14 mg/l (ppm) Pb [ο Pb ήταν με τη μορφή άλατος Pb(NO₃)₂]. Η συγκέντρωση που επιλέχθηκε αντιστοιχεί στο 1/10 της τιμής του 96-h LD₅₀ για το Pb (138,18 ppm). Το ήπαρ συσσώρευσε σημαντικά ποσά Pb σε σχέση με τους μάρτυρες της μελέτης. Μετά τη δέκατη ημέρα παραμονής των ζώων στο Pb η αύξηση της συγκεντρώσεως του μετάλλου στο ήπαρ έπαψε να είναι στατιστικά σημαντική υποδεικνύοντας πιθανή απομάκρυνση του από το όργανο. Η συγκέντρωση του μετάλλου στο ήπαρ έδειξε θετική συσχέτιση με το χρόνο έκθεσης των ατόμων στο Pb. Η δραστικότητα του ενζύμου παρουσίασε σταθερή πτώση κατά τη διάρκεια του πειράματος με αποτέλεσμα τη τριακοστή ημέρα της έκθεσης η δραστικότητα του να πέσει κατά 90% συγκρινόμενη με τη αντίστοιχη τιμή των μαρτύρων. Η τιμή της δραστικότητας της ηπατικής δ-ALA-D παρουσίασε αρνητική συσχέτιση τόσο με το χρόνο έκθεσης των ατόμων στο Pb όσο και με τη συγκέντρωση του μετάλλου στο ήπαρ. Η παρούσα μελέτη μας δείχνει ότι η δραστικότητα της ηπατικής δ-ALA-D στο βάτραχο *Rana ridibunda* μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης μόλυνσης των ζώων από το Pb.

EXPOSURE OF *Rana ridibunda* TO LEAD. STUDY OF THE IMPACT OF LEAD IN THE ACTIVITY OF HEPATIC δ-AMINOLEVULINIC DEHYDRATASE

Vogiatzis, Angelos K. and Nikolaos S. Loumbourdis

**Laboratory of Zoology, Department of Biology, School of
Sciences, Aristotle University, 540 06 Thessaloniki, Greece**

There are few data at present on the impact of lead (Pb) on amphibians, although declines of amphibian populations due to man-made changes in the environment have been recorded in recent years. Furthermore, we have very limited information on the effects of Pb in amphibian populations. The impact of Pb in adult frogs, *Rana ridibunda*, was therefore examined. We measured the Pb content of the liver and the activity of the hepatic δ-aminolevulinic acid dehydratase (δ-ALA-D). δ-ALA-D is one of the two enzymes participating in heme synthesis. This catalyzes the condensation of two molecules of δ-aminolevulinic acid, yielding one molecule of porphobilinogen, a hemoglobin precursor, and two molecules of H₂O. The study of the δ-ALA-D activity is a well-established biomarker in studies of Pb intoxication. Animals were exposed to 14 mg/l (ppm) aqueous Pb [as Pb(NO₃)₂] for 4, 10, and 30 days. The chosen Pb concentration corresponded to the 1/10 of the 96-h LC₅₀ value for Pb (138.18 ppm). The accumulation of Pb in the liver was positively correlated with the time of exposure. There was no statistically significant increase of the liver Pb content after day 10, suggesting excretion of Pb from this organ. The activity of hepatic δ-ALA-D decreased by 90% on day 30 compared to control values. The decrease of hepatic δ-ALA-D activity was negatively correlated with the concentration of Pb in liver and the time of exposure. This study suggests that the hepatic δ-ALA-D activity can be used as a biomarker of Pb intoxication for this species.

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΤΕΡΟΛΟΓΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ
ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΗΣ ΦΩΣΦΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ
P0 ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Ceratitis capitata* ΣΤΟ
ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΑ *Saccharomyces cerevisiae***

Γάγκου, Μ. Ε. και Σ. Κουγιανού- Κουτσούκου

**Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και
Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 157 01**

Τα ευκαρυωτικά ριβοσώματα περιέχουν μία ομάδα όξινων φωσφοπρωτεΐνών P1 και P2, οι οποίες σχηματίζουν τον μίσχο της μεγάλης υπομονάδας μαζί με την φωσφοπρωτεΐνη P0. Ο μίσχος συμμετέχει στην αλληλεπίδραση των παραγόντων επιμήκυνσης με το ριβόσωμα και στην υδρόλυση του GTP κατά την πρωτεΐνοσύνθεση. Στην παρούσα εργασία αναφέρουμε την απομόνωση του γονιδίου της ριβοσωμικής φωσφοπρωτεΐνης P0 της μεσογειακής μύγας *Ceratitis capitata* από μια γονιδιακή βιβλιοθήκη, με ανιχνευτή ένα τμήμα του γονιδίου P0 της *Drosophila melanogaster*. Το γονίδιο CcP0 περιέχει ένα εσώνιο μήκους 233bp και κωδικοποιεί ένα πολυπεπτίδιο μήκους 317 αμινοξέων. Στοίχιση της προβλεπόμενης αμινοξικής αλληλουχίας του με την γνωστή αμινοξική αλληλουχία της P0 πρωτεΐνης του ζυμομύκητα *S.cerevisiae* έδειξε αξιοσημείωτη ομολογία, περίπου 77.6%. Το cDNA του γονιδίου CcP0 απομονώθηκε από μία cDNA βιβλιοθήκη της *C. capitata*. Για την ετερόλογη έκφραση του γονιδίου CcP0 στο ζυμομύκητα η κωδική περιοχή του και τα γειτονικά 5' και 3' άκρα του γονιδίου P0 του ζυμομύκητα (ScP0) εισήχθησαν στο κεντρομερικό πλασμίδιο pFL38-His, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τον μετασχηματισμό των κατά συνθήκη μεταλλαγμένων ως προς το γονίδιο P0 στελεχών του ζυμομύκητα W303dGP0 and D67dP0. Το στέλεχος D67dP0 δεν περιέχει επί πλέον και τα γονίδια των όξινων ριβοσωμικών πρωτεΐνών YP1α και YP1β του ζυμομύκητα. Και στα δύο στελέχη, η πρωτεΐνη CcP0 ήταν λειτουργικά ισοδύναμη με την πρωτεΐνη ScP0. Ο μεταβολισμός του στελεχούς W303dGP0 +pFLCcP0 δεν επηρεάζόταν σημαντικά από την έκφραση της πρωτεΐνης CcP0, σε αντίθεση με τη χαμηλή ανάπτυξη του στελεχούς D67dP0 +pFLCcP0.

ISOLATION AND HETEROLOGOUS EXPRESSION OF *Ceratitis capitata* RIBOSOMAL P0 GENE IN THE YEAST *Saccharomyces cerevisiae*

Gagou, Mary-Elisabeth and Sophia Kouyanou-Koutsoukou

University of Athens, Department of Biology, Division of
Genetics and Biotechnology, Athens 157 01, Greece

The eucaryotic ribosomes contain a set of acidic phosphoproteins, P1 and P2 which form the lateral stalk of the large subunit with the ribosomal phosphoprotein P0. The stalk contributes in the interaction of supernatant factors with the ribosome and in the hydrolysis of GTP during protein synthesis. We report here the isolation of the gene encoding the ribosomal phosphoprotein P0 of the medfly *Ceratitis capitata* from a genomic library, using as probe a fragment of the P0 gene of *Drosophila melanogaster*. The *Ceratitis capitata* P0 gene (CcP0) is interrupted by an intron of 233 bp and encodes for a polypeptide of 317 aminoacids. Alignment of the deduced amino acid sequence of CcP0 gene with the known sequence of *Saccharomyces cerevisiae* P0 protein (ScP0) showed 77.6% homology. The CcP0 cDNA was isolated from a cDNA library of *C. capitata*. For the heterologous expression of CcP0 gene in yeast, its coding region and the 5' and 3' flanking regions of ScP0 gene were inserted in the centro-meric plasmid pFL38-His, that was used for the transformation of the *S.cerevisiae* conditional null mutants for the P0 gene, W303dGP0 and D67dP0. The strain D67dP0 lacks also the genes of the yeast acidic ribosomal proteins YP1a and YP1b. The CcP0 protein was found functionally equivalent to the yeast ScP0 protein in both transformed W303dGP0 +pFLCcP0 and D67dP0+pFLCcP0 strains. The yeast acidic proteins YP1 and YP2 were strongly bound to the heterologous CcP0 protein, but in less quantity, compared to the wild type. The metabolism of the W303dGP0 +pFLCcP0 strain was not dramatically affected by the expression of the CcP0 protein, in contrast to the D67dGP0 +pFLCcP0 strain, in which the growth rate was very low.

**ΜΕΤΣΟΒΙΤΕΣ ΕΚΤΕΘΕΙΜΕΝΟΙ ΣΕ ΑΜΙΑΝΤΟ ΑΠΟ
ΜΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ, ΑΠΟΚΑΛΥΠΤΟΥΝ
ΕΠΠΛΕΟΝ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΣΤΟ ΥΓΡΟ ΒΚΕ ΜΟΝΟ
ΟΤΑΝ ΕΙΝΑΙ ΠΑΡΟΥΣΕΣ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΕΣ ΥΠΕΖΩΚΟ-
ΤΙΚΕΣ ΑΠΟΤΙΤΑΝΩΣΕΙΣ. ΜΙΑ ΆΛΛΗ ΕΝΔΕΙΞΗ
ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΑΣ ;**

Γαλάνη*, Β., Γ. Δαλαβάγκα*, Μ. Φράγκου-Λαζαρίδου**,
Κ. Μαντά, Ο. Κωτούλας* και Σ.Η. Κωνσταντόπουλος
Πνευμονολογική Κλινική, Εργαστήριο *Ανατομίας και
** Βιοχημείας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων,
Ιωάννινα

Έχουμε προηγούμενα αναφέρει ότι οι Μετσοβίτες έχουν εκτεθεί από παιδική ηλικία χρησιμοποιώντας λούτο (ίνες αμιάντου, τρεμολίτη) για ασβέστωμα των σπιτιών τους. Το αποτέλεσμα αυτής της χρήσης έδειξε αυξημένη επίπτωση σε κακόήθες μεσοθηλίωμα του υπεζωκότα (300x) και πολύ συχνή παρουσία αποτιτανώσεων (47% του ενήλικου πληθυσμού). Επίσης έχουμε αναφέρει ότι Μετσοβίτες με αποτιτανώσεις έχουν μικρότερη επίπτωση σε μεσοθηλίωμα και εμφανίζουν λεμφοκυτταρική κυψελιδίτιδα ($>15\%$). Εμείς προτείνουμε ότι η κυψελιδίτιδα μπορεί να είναι ένας «προστατευτικός» μηχανισμός έναντι της νεοπλασίας. Στην παρούσα φάση αναλύσαμε τις πρωτεΐνες από υγρό βρογχοκυψελιδικής έκπλυσης (BKE) Μετσοβίτων με SDS Page και δύο διαστάσεων ηλεκτροφόρηση. Συγκρίναμε το ηλεκτροφορητικό πρότυπο σε άτομα με υπεζωκοτικές αποτιτανώσεις, κακοήθεια και κυψελιδίτιδα. Μελετήσαμε 43 Μετσοβίτες: 13 με εκτεταμένες αποτιτανώσεις, 30 χωρίς ή ελάχιστες αποτιτανώσεις. Από τους 30 Μετσοβίτες οι 5 είχαμε μεσοθηλίωμα και οι 4 βρ. Ca. Χρησιμοποιήσαμε σαν μάρτυρες: 5 ασθενείς με σ. Sjogren και 4 όχι Μετσοβίτες αλλά με εκτεταμένες αποτιτανώσεις. Η SDS Page έδειξε όχι διαφορές στις πρωτεΐνες από υγρό BKE ανάμεσα στους Μετσοβίτες και στους μάρτυρες. Αντίθετα οι δύο διαστάσεων ηλεκτροφόρηση απεκάλυψε μια διαφορετική εικόνα. Και στους 13 Μετσοβίτες με εκτεταμένες υπεζωκοτικές αποτιτανώσεις ανεκαλύφθησαν επιπλέον πρωτεΐνες συγκεκριμένα: 3 σημεία περίπου στα 40 και 35 KDs. Εμείς προτείνουμε ότι η παρουσία αυτών των πρωτεϊνών στο υγρό BKE μόνο στους Μετσοβίτες με αποτιτανώσεις και όχι στους Μετσοβίτες με κακοήθεια μπορεί να είναι μία άλλη ένδειξη προστατευτικού μηχανισμού έναντι της νεοπλασίας.

**INHABITANTS OF METSOVO (GREECE),
ENVIRON-MENTALLY EXPOSED TO ASBESTOS,
REVEAL ADDITIONAL PROTEINS IN BAL FLUID
ONLY WHEN PLEURAL CALCIFICATIONS ARE
PRESENT; ANOTHER EVIDENCE OF PROTECTION
AGAINST NEOPLASIA ?**

Galani, V., Y. Dalavanga*, M. Frangou-Lazaridou,**

C. Manda-Stachouli, O. Kotoulas* and S.H. Constantopoulos

Department of Pneumonology, *Department of Anatomy and **

Department of Biochemistry, Medical School, University of

Ioannina, Ioannina 45110, Greece

We have previously reported that inhabitants of Metsovo have been exposed to asbestos since childhood from use of a whitewash containing tremolite. The result of this have been increased (300x unexposed population) incidence of malignant pleural mesothelioma (MPM) and very frequent presence of pleural calcifications (PC's) (47% of adult population). We reported that Metsovites with PC's have smaller incidence of MPM and at the same time a lymphocytic alveolitis. We suggested that this alveolitis may be a «protective» mechanism against neoplasia. In the present study we analyzed the electrophoretic pattern of the BAL fluid of Metsovites with SDS PAGE and two dimensioned electrophoresis. Then we correlated this electrophoretic pattern with presence of PC's, malignancy and alveolitis. Thirteen Metsovites had extensive PC's and 30 had no PC's in chest X-Ray. All Metsovites with PC's had additional proteins in BAL fluid which were absent in Metsovites without PC's. No Metsovites with malignancy had these proteins in BAL fluid. The presence of «high intensity» alveolitis (lymph >15%) had weaker correlation with these additional proteins since they were present in only Metsovites with high intensity alveolitis. Retrospective study of other patients with high intensity alveolitis (Sjogren's s.) failed to identify such proteins. The identification of these additional proteins is underway. We could suggest however that their presence only in Metsovites with PC's and never in Metsovites with malignancy may be another evidence of a protective mechanism against neoplasia.

Η ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ SOUTHWESTERN ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΔΥΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ ΣΕ ΚΑΘΑΡΕΣ ΣΕΙΡΕΣ ΚΑΙ ΥΒΡΙΔΙΑ ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΥ

**Γαλάνη, Ε., Ε. Χασιώτου και Αθ. Τσαυτάρης
Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών,
Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη**

Η μελέτη των παραγόντων μεταγραφής αποτελεί σημαντικό βήμα στον τρόπο ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης αφού η μεταγραφή αποτελεί το βασικό σημείο στο οποίο γίνεται η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Στην παρούσα εργασία έγινε μελέτη του τρόπου ρύθμισης της έκφρασης των γονιδίων στο επίπεδο της μεταγραφής. Μελετήθηκε η έκφραση των παραγόντων μεταγραφής O2 και P-rr στις καθαρές σειρές 60M, 2D, 102A, 22M, A27, Δ17, Γ22, Γ33 και στα αντίστοιχα 4 υβρίδια τους (60M X 2D, 102A X 22M, A27 X Δ17 και Γ22 X Γ33). Για τον σκοπό αυτό διεξήχθη μια σειρά πειραμάτων που περιελάμβανε, απομόνωση πρωτεϊνών από περικάρπια 23 ημερών μετά την γονιμοποίηση, ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών σε πηκτή πολυακριλαμίδιον παρουσία αποδιατακτικού δωδεκαθεικού νατρίου, μεταφορά πρωτεϊνών σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης και υβριδισμός με τμήμα της αλληλουχίας του υποκινητή στον οποίο δεσμεύεται ο συγκεκριμένος παράγοντας και είναι ένα συνθετικό 28μερές ολιγονουκλεοτίδιο διπλής έλικας επισημασμένο με διγοξυγενίνη. Για τον παράγοντα O2 επιπλέον έγινε απομόνωση πρωτεϊνών και από ενδοσπέρμια 23 ημερών και ακολούθησαν όλοι οι άλλοι έλεγχοι που προαναφέρθηκαν. Βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στην έκφραση και στους δύο παράγοντες μεταγραφής. Τα συγκεκριμένα γονίδια εκφράζονται στα ετερωτικά υβρίδια σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι στους γονείς τους, ενώ στα μη ετερωτικά υβρίδια εκφράζονται στον ίδιο σχεδόν βαθμό όπως και στις αντίστοιχες καθαρές σειρές από τις οποίες προέρχονται. Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η πιθανή πολυμερής δομή των συγκεκριμένων παραγόντων μεταγραφής εμπλέκεται στον μεγάλο αριθμό των ειδικών αντιδράσεων του υποκινητή που μπορεί να διεξάγεται για να επιτευχθεί η ρύθμιση και η διαφοροποίηση της γονιδιακής έκφρασης και η εκδήλωση σημαντικών φαινομένων, όπως το φαινόμενο της ετέρωσης στα φυτά.

SOUTHWESTERN BLOT ANALYSIS OF TWO TRANSCRIPTION FACTORS IN INBRED LINES AND THEIR HYBRIDS IN MAIZE

Galani E., E. Hassiotou and Ath. Tsafaris

Department of Genetics and Plant Breeding,

School of Agriculture, A.U.Th., Thessaloniki, Greece

The study of transcription factors is a critical aspect of gene regulation since the process of transcription is the major point at which gene expression is regulated. The activity of O₂ and P-rr transcription factors was studied in hybrids of maize and their parents, inbred lines. Significant differences were found between hybrids and inbreds. The transcription factors studied in this experiment were found to be expressed in heterotic hybrids more than their parents whereas in non heterotic hybrids no apparent expression was detected.

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΤΩΝ ΣΑΥΡΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Podarcis* (SAURIA: LACERTIDAE) ΣΤΟ ΑΙΓΑΙΟ

Γερμανού, Α., Π. Παφίλης, Χ. Αδαμοπούλου και Ε. Δ. Βαλάκος
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας
Ζώων & Ανθρώπου, 157 84 Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα

Στα νησιά του Αιγαίου εξαπλώνονται 3 είδη του γένους *Podarcis*. Η *Podarcis milensis* που είναι ενδημικό είδος και εξαπλώνεται στο συγκρότημα της Μηλου, η *Podarcis gaigeae* ενδημικό είδος επίσης, που εξαπλώνεται στο συγκρότημα της Σκύρου και στο Πιπέρι (Β. Σποράδες) και τέλος η *Podarcis erhardii* που εξαπλώνεται και διαφοροποιείται στα νησιά του Κεντρικού και Νοτίου Αιγαίου. Οι μέχρι τώρα μελέτες έχουν δείξει ότι τα δύο ενδημικά είδη συνδέονται φυλογενετικά περισσότερο μεταξύ τους από ότι με την *P. erhardii*. Σ' αυτή τη μελέτη εξετάζονται τα αναπαραγωγικά χαρκτηριστικά των τριών ειδών και η σχέση τους με ιστορικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Επειδή τα παραπάνω είδη προστατεύονται από διεθνείς συμβάσεις και την Ελληνική νομοθεσία όλα τα εξεταζόμενα άτομα προέρχονται από την ερπετολογική συλλογή του Μουσείου Ζωολογίας «A. Koenig» της Βόννης. Και τα τρία είδη παρουσιάζουν εποχιακή αναπαραγωγική περίοδο από τις αρχές της ανοιξης έως το τέλος του καλοκαιριού. Και τα τρία είδη έχουν παραπάνω από μια γέννα την περίοδο. Στη *Podarcis milensis* η αναπαραγωγική περίοδος φαίνεται να αρχίζει από τον Ιανουάριο και διαρκεί μέχρι το τέλος του καλοκαιριού. Τα θηλυκά δεν φαίνεται να γεννούν παραπάνω από 3 αυγά τη φορά. Τέλος, η *Podarcis erhardii* έχει παρόμοια σε διάρκεια αναπαραγωγική περίοδο με την *Podarcis gaigeae* αλλά έχει μεγαλύτερες γέννες (μέχρι 5 αυγά). Ο αριθμός των αυγών σχετίζεται με το μέγεθος του ζώου στην *P. erhardii*. Τα αρσενικά και στα τρία είδη δείχνουν να έχουν το ίδιο σχεδόν πρότυπο αναπαραγωγής. Η αναπαραγωγική στρατηγική των τριών ειδών φαίνεται να επηρεάζεται από παράγοντες όπως η ιστορία του taxon και η περιβαλλοντική πίεση.

REPRODUCTION STRATEGY OF THE LIZARDS OF THE GENUS *Podarcis* (SAURIA: LACERTIDAE) IN THE AEGEAN ARCHIPELAGO

Germanou, A., P. Pafilis, X. Adamopoulou and E.D. Valakos
University of Athens, Department of Biology, Section of Animal
& Human Physiology, 157 84 Athens, Greece

Three lizard species of the genus *Podarcis* are distributed in the Aegean archipelago. *Podarcis milensis* is an endemic species which is distributed in Milos island group, *Podarcis gaigeae* is an endemic species of Skyros island archipelago and Piperi islet (North Sporades) and *Podarcis erhardii* which is distributed and differentiated in the islands of Central and South Aegean. Studies on the phylogeny of the three species show that *P. milensis* and *P. gaigeae* are more closely species in relation to *P. erhardii*. In this study the reproductive traits of the above mentioned species and their relations with environmental and historical factors are given. This species are protected by international conventions and by Greek law so all the examined specimens were from the herpetological collection of Zoological Museum « A. Koening» (Bonn). The examined species have seasonal reproduction period and they produced more than one clutch per season. The reproductive period of *P. milensis* starts in January and lasts until the end of the summer. The range of the clutch was between one to three eggs. *P. gaigeae* lies 1-3 eggs per clutch but it has shorter reproductive period than *P. milensis*. Finally *P. erhardii* lies one to five eggs per clutch and its reproductive period is the same with *P. gaigeae*. In *P. erhardii* there is a positive correlation between body length and clutch size. In all species the males seem to have the same reproductive pattern. The reproduction strategy of the three examined species is affected by various factors like the history of taxon and the environmental pressure.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΧΑΜΗΛΩΝ ΔΟΣΕΩΝ ΙΟΝΙΖΟΥΣΑΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΙΣ ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ DNA ΑΠΟ ΘΥΜΟ ΑΔΕΝΑ ΜΟΣΧΟΥ

**Γεωργακίλας¹, Α.Γ., Κ.Σ. Χαβελές¹, Λ.Χ. Μαργαρίτης²,
Λ. Σακελλίου³, Ε.Γ. Σιδέρης¹ και Β. Σοφιανοπούλου¹**

1Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ», Αθήνα 153 10,

2Βιολογικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 73, **2**Τομέας
Πυρηνικής Φυσικής και Στοιχειωδών Σωματιδίων, Αθήνα 106 80

Η έκθεση υδατικού διαλύματος DNA σε ιονίζουσα ακτινοβολία δημιουργεί στη διπλή έλικα θραύσεις των κλώνων και αλλοιώσεις των νουκλεοτιδίων (βάσεις ή/και σάκχαρα). Ιδιαίτερα, σε υψηλές δόσεις ιονίζουσας ακτινοβολίας στημαντικές στερεοδιαταξικές αλλαγές και αποσταθεροποίηση της διπλής έλικος του DNA προκαλούνται λόγω της διατάραξης των δυνάμεων επιστοίβαξης αλλά και της διάσπασης των υδρογονικών δεσμών στην έλικα. Αντίθετα, σε σχετικά χαμηλές δόσεις, πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι η δομική ακεραιότητα των DNA μορίων διατηρείται ενώ συγκεκριμένες φυσικές τους ιδιότητες (όπως η θερμική σταθερότητα και η ηλεκτροφορητική κινητικότητα) αλλάζουν στημαντικά. Σε μια προσπάθεια διενρεύνησης της προαναφερθείσας συμπεριφοράς, μελετήσαμε τη θερμική αποδιάταξη-επαναδιάταξη, την ηλεκτροφορητική κινητικότητα καθώς και τη διηλεκτρική συμπεριφορά DNA μορίων που είχαν εκτεθεί σε α- και γ-ακτινοβολία. Οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η Φασματοφωτομετρία Θερμικής Μεταπτώσεως (TTS), η Ηλεκτροφόρηση Πηκτώματος Αγαρόζης Παλμικού Πεδίου (PFGE) και η Διηλεκτρική Φασματοσκοπία Εναλλασσομένου Πεδίου (ac DRS). Αυξημένη θερμική σταθερότητα της διπλής έλικος, μεγαλύτερο μέσο φαίνομενικό μοριακό μήκος και διαφορετική διηλεκτρική συμπεριφορά βρέθηκε για τα DNA μόρια που είχαν εκτεθεί, υπό αναερόβιες συνθήκες, σε χαμηλές δόσεις σωματίων α (0-12 Gy) και ακτίνων γ (0-4 Gy) αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι ο αυξημένος αριθμός δια- και ενδομοριακών DNA αλληλεπιδράσεων ομοιοπόλικού χαρακτήρα οδηγεί στη δημιουργία μεγαλύτερων DNA μορίων που φέρουν τις παραπάνω ιδιότητες.

EFFECTS OF LOW DOSES OF IONIZING RADIATION ON THE PHYSICAL PROPERTIES OF CALF THYMUS DNA

Georgakilas¹, A.G., K. S. Haveles¹, L. H. Margaritis²,
L. Sakelliou³, E. G. Sideris¹ and V. Sophianopoulou¹

¹Institute of Biology, NCSR 'DEMOKRITOS', Athens 153 10,
Greece, ²Department of Biology, University of Athens, Athens
157 73, Greece, ³Nuclear Physics and Elementary Particles
Section, Athens 106 80, Greece

When DNA aqueous solutions are exposed to ionizing radiations, strand breaks and modifications of nucleotides (base and/or sugar) are induced in the DNA double helix. At high doses, these radiation induced alterations on the double helix cause severe conformational changes and destabilization through the disruption of base stacking and hydrogen bonding. At relatively low doses, however, recent studies suggest that the structural integrity of the DNA molecules is maintained intact while some of their physical properties (e.g. thermal stability, electrophoretic mobility and dielectric behavior) change significantly. In an attempt to explain this unexpected behavior, we have studied the thermal denaturation-renaturation and agarose gel mobility of calf thymus DNA molecules exposed to α - and γ -irradiation. The techniques applied were UV-Thermal Transition Spectrophotometry (TTS), Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) and ac-Dielectric Relaxation Spectroscopy (DRS). Enhanced double helix thermal stability, higher average apparent molecular size and different dielectric behavior were observed when DNA molecules were exposed, under anaerobic conditions, to low doses of α -particles (0-12 Gy) and γ -rays (0-4 Gy) respectively. These results suggest that increased number of radiation-induced inter- and intramolecular DNA interactions of covalent character lead to the formation of larger DNA molecules with the above properties.

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ α1-ΟΞΙΝΗΣ
ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΣΕ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ ΕΝΗΛΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΓΕΡΙΚΩΝ ΑΡΟΥΡΑΙΩΝ ΩΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΟΝ
LPS**

Γιάγκου, Μ., Χ. Λιγούδιστιανού, Κ. Βασιλειάδου,
Κ. Παπαδοπούλου, Α. Κουρουνάκη και Λ. Χατζηπέτρου
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

Μέλη της οικογένειας των πρωτεΐνων οξείας φάσης (APR) οι οποίες επάγονται από το βακτηριακό λιποπολυσακχαρίτη (LPS) όπως το αμυλοειδές A του ορού (SAA) και η α1-αντιρυψίνη (AT) παράγονται τόσο από ηπατοκύτταρα όσο και από μονοκύτταρα. Η επαγωγή της APR α1-όξινης γλυκοπρωτεΐνης (AGP) από το LPS έχει μελετηθεί μόνο στα ηπατοκύτταρα. Μελετήθηκε η πιθανή επαγωγή της AGP από το LPS σε μονοκύτταρα που συσσωρεύονται σε αεροθύλακα που δημιουργείται στη πλάτη αρουραίων. Ανάλυση κατά Western, σε δείγματα εξιδρωμάτων από τους αεροθύλακες ένήλικων αρουραίων έδειξαν μία διφασική αύξηση στα επίπεδα της AGP 1-3 ώρες και 24 ώρες μετά τη χορήγηση του LPS. Το πρότυπο αυτό δεν παρατηρείται στον ορό αίματος από τα ίδια πειραματόζωα αφού παρατηρείται μια σταδιακή αύξηση των επιπέδων της AGP μέ μέγιστο τις 24 ώρες. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι η αύξηση των επιπέδων της AGP στο αεροθυλάκιο δεν θα πρέπει να προέρχεται από τον ορό. Στον αεροθύλακα μετά τη χορήγηση του LPS γίνεται συσσώρευση κυττάρων όπου, με ανοσοκυτταροχημική μέθοδο, δείξαμε αυξημένο αριθμό κυττάρων με υψηλά ενδοκυτταρικά επίπεδα AGP. Επιπλέον, το συνθετικό γλουκοκορτικοειδές δεξαμεθαζόνη (ισχυρός επαγωγέας της AGP στο ήπαρ) όταν χορηγηθεί στο αεροθύλακα (α) αύξανε τα επίπεδα της AGP τόσο στα κύτταρα όσο και στα εξιδρώματα και (β) μειώνει σημαντικά τον αριθμό των κυττάρων που εισέρχονται στον αεροθύλακα. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η AGP παράγεται και από μονοκύτταρα. Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρούνται και στα γέρικα πειραματόζωα με τη διαφορά ότι η επαγωγή της AGP στα μονοκύτταρα από τον LPS είναι πολύ μικρότερη, επιβεβαιώνοντας προηγούμενα αποτελέσματα τα οποία δείχνουν γενικά χαμηλότερες αποκρίσεις των γέρικων πειραματοζώων στον LPS.

EXPRESSION OF AGP GENE IN MONOCYTES FROM ADULT AND AGED RATS IN RESPONSE TO LPS

Yiangou, M., C. Ligoudistianou, K. Vasiliadou,

K. Papadopoulou, A. Kourounakis and L. Hadjipetrou

**Division of Genetics, Development and Molecular Biology,
Biology Department, Aristotle University, Thessaloniki, Greece**

Members of the APR family of genes such as serum myloid A and α 1-anitrypsin are induced by LPS in either hepatocytes and monocytes. The induction of the APR AGP gene by LPS it has been studied only in hepatocytes. We studied whether monocytes accumulated in air pouches created in the back of rats produce AGP in response to LPS. Western analysis of air pouches fluids revealed an increased AGP levels by 1-3 and 24 hours post LPS injection. We were not able to observe this biphasic increase of AGP in serum isolated from the LPS-injected rats since AGP levels reached maximum by 24 hours. The above data indicate that serum is not the source for the increased AGP levels early post LPS injection. Immunocytochemistry of cells accumulated in LPS-injected air pouches revealed increased number of AGP positive cells suggesting that monocytes may produce AGP. Furthermore, the administration of the synthetic glucocorticoid dexamethasone (strong AGP inducer in the liver) in air pouches results (a) in increase of the AGP levels in fluids and the number of AGP positive cells in air pouches and (b) in inhibition of cell infiltration in air pouche. The above data indicate that AGP is produced by monocytes. The same data were also seen in LPS-injected air pouches created in aged rats. However, this response is significantly lower confirming previous observations showing reduced responses of aged rats to LPS.

ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΘΕΡΜΟΪΓΡΑΣΙΑΚΗΣ ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗΣ ΣΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ: ΒΑΚΤΗΡΙΑ-ΜΥΚΗΤΕΣ-ΚΥΚΛΟΣ ΑΖΩΤΟΥ ΣΤΟ ΕΔΑΦΟΣ

**Γιαννοτάκη, Α., Ε. Παπαθεοδώρου και Γ. Π. Στάμου
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη**

Σε λιβαδικά συστήματα έξι Ευρωπαϊκών χωρών (Ελλάδα, Ουγγαρία, Γερμανία, Ολλανδία, Βρετανία και Σουηδία) προσομοιώθηκαν οι κλιματικές αλλαγές, που αναμένεται να συμβούν μακροπρόθεσμα, λόγω του φαινομένου του θερμοκηπίου, με τη δημιουργία έξι θερμοϊγρασιακών συμπλόκων. Μελετήθηκαν οι επιπτώσεις της θερμοϊγρασιακής διαβάθμισης στις σχέσεις μεταξύ των βακτηριακών και των μυκητιακών πληθυσμών του εδάφους, καθώς και στη συμμετοχή των πληθυσμών αυτών στην ανοργανοποίηση του N, σε τοπικό και γεωγραφικό επίπεδο. Οι παράγοντες που μελετήθηκαν ήταν η βιομάζα και η δραστηριότητα βακτηρίων και μυκήτων, καθώς και το μικροβιακό, οργανικό και ανόργανο N. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων με την SEPATH ανάλυση, οδήγησε στην κατασκευή, για κάθε χώρα, δομικών μοντέλων τα οποία περιγράφουν τις γραμμικές αιτιακές σχέσεις που εκδηλώνονται ανάμεσα στους μικροβιακούς πληθυσμούς και τις διάφορες μορφές N. Στα μοντέλα των χωρών που βρίσκονται στα άκρα του γεωγραφικού διαβαθμιτή το δίκτυο των βιοτικών σχέσεων εμφανίζεται απλούστερο, δηλώνοντας πιθανά ότι οι διαδικασίες ανοργανοποίησης στις χώρες αυτές ελέγχονται κυρίως από τα αβιοτικά στοιχεία του περιβάλλοντος και όχι από τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στους μικροβιακούς πληθυσμούς. Αντίθετα στο μέσο του διαβαθμιτή εμφανίζονται έντονες βιοτικές σχέσεις και άρα το δίκτυο των σχέσεων είναι πολυπλοκότερο. Στο νότιο άκρο καθώς και στο μέσο του διαβαθμιτή παρατηρήθηκε ισχυρή συσχέτιση των βακτηριακών και των μυκητιακών πληθυσμών με τις ανόργανες μορφές N, ενώ βορειότερα (Σουηδία και Βρετανία) εμφανίζεται συσχέτιση και με το οργανικό N. Σε όλες τι χώρες η διαθεσιμότητα του N φαίνεται να ελέγχεται από τη μυκητιακή βιομάζα, ενώ η ακινητοποίησή του οφείλεται κυρίως στην βακτηριακή βιομάζα.

THE EFFECTS OF TEMPERATURE-HUMIDITY GRADIENT ON SOIL BACTERIA-FUNGI-NITROGEN COMPLEX

Giannotaki, A., E. Papatheodorou and G.P. Stamou

**Department of Ecology, School of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece**

In the framework of greenhouse theories, climatic changes were simulated in grassland ecosystems of six European countries (Greece, Hungary, Germany, Netherlands, UK and Sweden), by the establishment of a soil temperature-humidity gradient. The effects of this gradient on the relationships between bacterial and fungal soil populations were examined in local and european scale. It was also examined the impact of these populations on soil N mineralisation. The study was focused on bacterial (Cba90, BD-MEAN) and fungal (Ergosterol, CO₂-Fu) biomass and activity and on the microbial, organic and inorganic soil N. The results were analysed using SEPATH analysis. Structural models describing linear causal relations among soil microbial populations and different forms of N, were built. In sites towards the end point of the geographical gradient, the model appears simpler. In these sites it's possible that the N mineralisation was mainly controlled by the environmental parameters (humidity-temperature), while the effect of biotic interrelationships were not important. On the contrary, in sites from the middle part of the gradient the model was more complicated with important bilateral interrelatios. In all countries the N availability seems to be affected by the fungal biomass, while the N immobilisation was mainly controlled by the bacterial biomass. In northern sites (UK, Sweden) microbial populations were correlated with organic and inorganic N, while in all the other countries correlations were detected only with inorganic N.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΑΘΕΤΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ ΤΗΣ ΣΑΡΔΕΛΑΣ (*SARDINA PILCHARDUS* W.)

Γιαννουλάκη¹, Μ., Α. Μαχιάς², Α. Καπανταγάκης²,
Λ. Μανουσάκης² και Ν. Τσιμενίδης^{1,2}

¹ Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Τ.Θ.1470,
Τ.Κ.71110, ² Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης,
Τ.Θ.2214, Τ.Κ.71003, Ηράκλειο

Η κάθετη μετακίνηση της σαρδέλας (*Sardina pilchardus*) σε συνάρτηση με το φως μελετήθηκε με τη χρήση ηχοβολιστικών μέσων. Τα δεδομένα συλλέχθησαν με ηχοβολιστικό διττής δέσμης (120 kHz), κατά τη διάρκεια δύο ερευνητικών ταξιδιών στο Βόρειο Αιγαίο, τον Ιούνιο 1995 και 1996. Μετρήσεις φωτεινότητας (σε mc) λαμβάνονταν ανά ώρα με CTD.

Εκτιμήθηκε ανά μία ώρα το σταθμισμένο μέσο βάθος της σαρδέλας (WMD σε m). Η κάθετη μετακίνησή της μελετήθηκε με ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης του WMD σε σχέση με την επιφανειακή φωτεινότητα (LI10) (φωτεινότητα στα πρώτα 10m της στήλης του νερού) και το βάθος του βυθού. Εφαρμόστηκε ανάλυση διαγώνιας συσχέτισης μεταξύ WMD και LI10. Επίσης, εκτιμήθηκαν: α) οι μέσες ωριαίες τιμές του WMD και της φωτεινότητας στο μέσο βάθος μετακίνησης των ψαριών (LIMD) στο Θρακικό πέλαγος (όπου η επίδραση του βυθού ήταν μικρή) β) η μέση ωριαία μεταβολή της LIMD. γ) εφαρμόστηκε ανάλυση συνημιτονοειδούς ρυθμομετρίας ώστε να καθοριστεί η τροχιά μετακίνησης της σαρδέλας.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μετακίνηση της σαρδέλας ανταποκρινόταν στην μεταβολή του φωτός με υστέρηση μιας ώρας. Η ανάλυση συνημιτονοειδούς ρυθμομετρίας έδειξε ότι η υστέρηση στην αντίδραση της σαρδέλας πρέπει να είναι μικρότερη (35-45 min). Η σαρδέλα τείνει να ρυθμίσει τη θέση της με βάση το φως όταν δεν περιορίζεται από τον βυθό. Με βάση την συνημιτονοειδή ανάλυση η σαρδέλα βρίσκεται στο μέγιστο βάθος της, 12:37 - 12:45 μμ. Τα αποτελέσματα δείχγουν ότι η φωτεινότητα του υποβάθρου είναι η σημαντικότερη παράμετρος για την ρύθμιση της θέσης της σαρδέλας. Συγκεκριμένα, τα ψάρια ρυθμίζουν τη θέση τους έτσι, ώστε να ελαχιστοποιείται η αντίθεση μεταξύ ψαριού και υποβάθρου και επομένως να είναι κατά το δυνατόν δυσδιάκριτα.

THE VERTICAL MIGRATION OF SARDINE (*SARDINA PILCHARDUS W.*)

Giannoulaki¹, M., A. Machias², A. Kapandagakis²,
L. Manousakis² and N. Tsimenides^{1,2}

¹ University of Crete, Department of Biology, P.O.Box1470,
71110, Iraklion, ² Institute of Marine Biology of Crete, P.O.Box
2214, 71003, Iraklion, Greece

The vertical migration of *Sardina pilchardus* was investigated as a dynamic movement in wild conditions. Data were collected during two hydroacoustic surveys in North Aegean sea during June 1995 and 1996. The acoustic system used was a dual beam echo-sounder and the luminance profile of the water column was hourly measured.

The hourly position of the centre of sardine density (WMD) was estimated. The pattern of sardine diurnal movements was examined in relation to surface luminance (LI10 as the luminance at the first 10m of the water column) bottom depth (B in m) and light intensity at the mean depth of sardine (LIMD). A cross-correlation analysis was used to determine the periodicity and phase differences of variations in WMD and LI10. In addition a) the means WMD and LIMD were hourly averaged in Thracian sea for both sampling periods, b) the mean hourly change in the LIMD was estimated, c) a cosine model was fitted to the available data in order to trace the diel movement of sardine.

Sardine tended to regulate its depth with light intensity when there is not a bottom depth restriction. According to the cross-correlation analysis between WMD and LI10 a lag of 1 h was estimated. According cosine analysis the lag between WMD and LI10 seems to be 37 -45 min. Furthermore, cosine analysis revealed that sardine was found in the maximum depth at 12:37 - 12:45 h.

It seems that the background intensity was more important than the LIMD for the vertical migrations of sardine. At sunrise there was a sudden increase in light over the dark background of the sea. This stimulus activates a negative phototaxis and the fish dived. Afterwards the light becomes diffuse, the background light and the sardine remain in different light intensities. The reverse effect activates a positive phototaxis at dusk. The sampling unit determined the accuracy of our estimations.

**ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΘΕΙΟΓΛΥΚΟΛΙΚΟΥ
ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΘΕΙΟΓΛΥΚΟΛΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ ΣΤΗ
ΜΥΚΗΛΙΑΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΣΤΗ ΒΙΟΓΕΝΕΣΗ
ΣΚΛΗΡΩΤΙΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *SCLEROTIUM ROLFSII***

**Γιόκαρη, Β., Κ. Καλόσακα και Χ. Χριστιάς
Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας
Κυττάρου και Ανάπτυξης, Ρίο 26500 Πάτρα**

Το *Sclerotium rolfsii* είναι ένας φυτοπαθογόνος μύκητας που προσβάλλει ένα μεγάλο αριθμό φυτών μεγάλης οικονομικής σημασίας (πατάτες, ντομάτες κ.ά.). Ιδιαίτερο πρόβλημα δημιουργούν τα σκληρώτια του μύκητα, που είναι ανθεκτικές δομές ικανές να επιβιώνουν σε δυσμενείς συνθήκες και δύσκολα καταπολεμούνται. Για το λόγο αυτό η μελέτη της βιογένεσης των σκληρωτίων είναι πρωταρχικής σημασίας. Στη παρούσα εργασία μελετήσαμε τη δράση του θειογλυκολικού οξέος και του θειογλυκολικού νατρίου τόσο στη μυκηλιακή ανάπτυξη όσο και στο σχηματισμό σκληρωτίων. Οι δύο αυτές θειόλες σε δάλυμα διαφέρουν στο κατιόν (H^+ , Na^+), ενώ φέρουν το ίδιο ανιόν ($HS-CH_2COO^-$). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, το θειογλυκολικό οξύ επιβραδύνει τη μυκηλιακή ανάπτυξη και ότι η αναστολή είναι ανάλογη της συγκέντρωσης. Επίσης σε συγκεντρώσεις >3 mM μειώνει σημαντικά και το σχηματισμό σκληρωτίων. Όσον αφορά το θειογλυκολικό νάτριο, δεν επηρεάζει καθόλου τη μυκηλιακή ανάπτυξη ενώ μειώνει σημαντικά τον αριθμό των σκληρωτίων. Η διαφορική επίδραση των δύο θειολών μελετήθηκε σε σύγκριση με τη δράση του οξικού οξέος. Το οξικό οξύ έχει παραπλήσιο pH με το θειογλυκολικό οξύ όμως δεν περιέχει την σουλφυδριλική ομάδα (-SH) των θειολών. Το οξικό οξύ προκαλεί επιβράδυνση της μυκηλιακής ανάπτυξης αλλά σε καμία συγκέντρωση (2-10 mM) δεν προκαλεί αναστολή της βιογένεσης σκληρωτίων. Μελέτη της μεταβολής του pH στο θρεπτικό μέσο καλλιέργειας, έδειξε ότι το θειογλυκολικό όπως και το οξικό οξύ μειώνουν το αρχικό pH και το διατηρούν σταθερό για 3-4 ημέρες. Αντίθετα το άλας του θειογλυκολικού δεν το επηρεάζει. Από τα αποτελέσματα αυτά φαίνεται πώς το κατιόν -H ευθύνεται για την καθυστέρηση της μυκηλιακής ανάπτυξης ενώ η -SH ομάδα για την παρεμπόδιση της βιογένεσης σκληρωτίων.

DIFFERENTIAL EFFECT OF THIOGLYCOLIC ACID AND SODIUM THIOGLYCOLATE ON THE MYCELIAL DEVELOPMENT AND SCLEROTIAL BIOGENESIS IN THE FUNGUS *SCLEROTIUM ROLFSII*

Yiokaris, V., K. Kalosaka and C. Christias

**University of Patras, Department of Biology, Section of Cell
Biology and Development, Rion 26500 Patra, Greece**

Sclerotium rolfsii is a phytopathogenic fungus that infects a large number of plants of great economical value (potatoes, tomatoes e.t.c.). The fungal sclerotia are structures highly resistant to adverse environmental conditions and therefore it is difficult to control them. For this reason the study of sclerotia is of major importance. In the present study we have examined the action of thioglycolic acid and of its sodium salt on the mycelial growth and , the formation of sclerotia. These soluble thiols dissociate to different cations (H^+ , Na^+) but to the same anion ($HS - CH_2 - COO^-$). The results indicated that thioglycolic acid retarded mycelial development and that the retardation was analogous to the concentration. Also at concentration $>3mM$ it inhibited the formation of sclerotia. Sodium thioglycolate did not affect the development of the mycelium but it decreased the number of sclerotia formed. The differential effect of these two thiols was studied in comparison to the action of acetic acid. Acetic acid has pK close to that of thioglycolic acid, but it does not have a sulphydrylic group (-SH). Acetic acid caused retardation of the mycelium growth without affecting biogenesis of sclerotia at concentrations of 2 - 10 mM. A study of the pH changes in the growth medium showed that thioglycolic acid as well as acetic acid decreased the original pH and maintained it for 3 - 4 days. On the contrary, sodium thioglycolate did not effect the pH. From these results it seems that the cation $-H^+$ is responsible for the retardation of the mycelium development and that the sulphydrylic group -SH is responsible for the inhibition of the biogenesis of sclerotia.

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΙΚΕΣ ΑΠΟΨΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ

Γκρίτζαλης*, Κ. Χ. και Π. Γ. Πινιώτη**,
*Ε. Κ. Θ. Ε., Αγ. Κοσμάς, 166 04 Ελληνικόν,
**Δ. Π. Θ., Ιατρική Σχολή, Αλεξανδρούπολις

Αντικείμενο της εργασίας αυτής είναι η προσέγγιση των απόψεων του Αριστοτέλους (384-322 π.Χ.) σχετικά με την κληρονομικότητα. Τα φαινόμενα της ζωής καὶ ειδικά η αντίληψη η οποία κάλυπτε αυτά σε όλο το εύρος τους αναπτύχθηκαν από πάρα πολύ νωρίς στον αρχαίο Ελληνικό φιλοσοφικό χώρο. Το βιολογικό πνεύμα είναι ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά του Αριστοτέλους, γεγονός αδιαμφισβήτητο όπως προκύπτει και από πολλά σημεία μέσα από το συγγραφικό του έργο. {«...ζωὴν λέγομεν τὴν δι᾽ αὐτούν τροφήν τε καὶ αὔξησιν καὶ φθίσιν...», «...οὐδὲν γαρ ὡς φαμέν η φύσις μάτην ποιεῖ..» κ.ά.}. Ο Mendel σχολιάζοντας τα αποτελέσματα από τα πειράματά του με τα μπιζέλια (*Pisum sativum*) διεπίστωσε ότι πρέπει να υπάρχουν υλικοί φορείς (γονίδια), θέτωντας έτσι με αυτό τον τρόπο τις σύγχρονες βάσεις για την κληρονομικότητα. Εχει όμως προηγηθεί ο Ιπποκράτης (460-377 π.Χ.), προγενέστερος του Αριστοτέλους κάνοντας χρήση όρων όπως «γόνος» στο έργο του. Η αντίληψη της έννοιας της κληρονομικότητας γιά αρκετούς στο Ιπποκρατικό Corpus είναι μία μεταφορά στοιχείων από γενιά σε γενιά. Ο Αριστοτέλης όμως, την απάντηση στο «φυσικό γίγνεσθαι», την προσεγγίζει από δύο πλευρές: α) μέσω της τελολογικής θεωρίας και β) μέσω της μηχανικής θεωρίας-αναγκαιότητας, με αποτέλεσμα τον υπερκερασμό της Ιπποκρατικής άποψης (ποσοτικός παράγων). Η Αριστοτελική θέση όμως σ' αυτό το σημείο είναι ότι υπάρχουν «κινησιακές δυνάμεις» {«...από τῶν δυνάμεων υπάρχουσιν αἱ κινῆσεις εν τοῖς σπέρμασι..»} αποδίδοντας έτσι με αυτόν τον τρόπο την κληρονομικότητα σαν την συνεχή ύπαρξη της κίνησης στον βιολογικό κύκλο (During). Λαμβάνει επίσης υπ' όψη, αφού παρατηρεί και συμβουλεύεται, παράγοντες και χαρακτήρες σχετιζόμενους με την κληρονομικότητα. Αναφέρεται στην θεωρία της δημιουργίας, στο περιβάλλον, στην ποικιλομορφία αλλά και στην εξέλιξη όπου λέγει «...φύσις λέγεται η πρώτη εκάστω υποκειμένη ύλῃ τῶν εχόντων εν αὐτοῖς αρχήν κινήσεως καὶ μεταβολής...», ενώ κάνει και μνεία στην φυσιολογία του γήρατος, στην γενετήσια λειτουργία και στην φυσιολογία της, και γενικά υποστηρίζει ότι υπάρχει μεταφορά μορφής από γενιά σε γενιά. Επιφέρει την επίλυση στο ερώτημα της κληρονομικότητας των ιδιοτήτων προγενεστέρων γενεών, ενώ και σε άλλα ζητήματα οι απόψεις και παρατηρήσεις του χαρακτηρίζονται ορθές, ενώ σε μερικές περιπτώσεις οι εξηγήσεις του θεωρούνται ασθενείς και δεν ισχύουν.

ARISTOTLE ON HEREDITY

Gritzalis, K. C.* and P. G. Pinioti**

*N.C.M.R., Ag. Kosmas, GR-166 04 Hellinikon, Hellas

**D.U.T., Medical School, Alexandroupolis, Hellas

This study focuses on the views of Aristotle (384-322 BC) on heredity. The perception of and research on the phenomena of life were developed since the early stages of the ancient Greek philosophy. The concept of biology is one of the principal ingredients of Aristotle' views, a fact proven by many quotes out of his numerous works, {«...life is defined as the shelf-sufficient nutrition, growth and decay...», «...behind every natural phenomenon there is a purpose...»}. Mendel based on the results of his research on peas, (*Pisum sativum*) derived the conclusion, that, certain carriers of matter (*genes*) should exist, thus founding the modern theories of heredity. In actual fact, Hippocrates (460-377 BC) has preceded him, using terms such as «γόνος (ghonos)» in his work. According to many researchers, the concept of heredity in the Corpus Hippocraticum is actually perceived as a transmission of elements from one generation to the other. Aristotle, on the other hand, offers two different approaches to the interpretation of «natural processes»: a) Teleology, and b) mechanism, thus bypassing the Hippocratic view (*quantitative factor*). Aristotle believes in the existence of «forces of motion» {«...there are dynamic powers within the sperms...»}, therefore introducing heredity as the incessant motion within the biological cycle (During). He also takes into account, aided by observation and consulting, various factors and characters relating to heredity. He makes reference to the theory of creation, to the environment, to the variegation, as well as to the evolution where he states, that, «...nature is defined as the primeval matter, subject to every principle, motion, and alteration...». He also mentions geriatric physiology, the function of reproduction and its physiology, and he maintains that, there is a carry of form from one generation to the other. Finally, he offers an answer to the query about the hereditary character of the properties of prior generations. His views on many matters are generally accepted by contemporary science, whereas, in other cases, his interpretations are considered poor and inadequate.

ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΑΡΟΧΘΙΩΝ ΣΗΜΕΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΠΟΤΑΜΟΥΣ ΑΛΙΑΚΜΟΝΑ, ΑΞΙΟ ΚΑΙ ΣΤΡΥΜΩΝΑ

**Γκρίτζαλης, Κ.Χ., Ν. Σκουλικίδης,
Η. Μπερταχάς, Ι. Ζαχαρίας και Θ. Κουσουρής
Ε. Κ. Θ. Ε. - Ι. Ε.Υ., - Αγ. Κοσμάς, 166 04, Ελληνικόν**

Κατά τη διάρκεια δύο περιόδων (Ιούνιος και Σεπτέμβριος) πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες βιολογικών και φυσικοχημικών παραμέτρων σε τρείς ποταμούς της Βορείου Ελλάδος και συγκεκριμένα στους ποταμούς Αλιάκμονα, Αξιό και Στρυμώνα. Οι δειγματοληψίες αφορούσαν δύο παρόχθια σημεία στον κάθε ποταμό, όπου η απόσταση μεταξύ τους εκυμαίνετο λίγες δεκάδες μέτρα. Τα ενδιαιτήματα στα σημεία των δειγματοληψιών στον κάθε ποταμό ήταν παρόμοια μεταξύ των (βλάτηση, ίζημα και ροή). Οι σταθμοί των συλλογής δειγμάτων και μετρήσεων ευρίσκοντο σχετικά κοντά στα εκβολικά συστήματα, ενώ για τους ποταμούς Αλιάκμονα και Στρυμώνα οι σταθμοί ήσαν κατάντη των φραγμάτων τους. Για την ανάλυση και μέτρηση των φυσικοχημικών παραμέτρων χρησιμοποιήθηκαν φορητά όργανα Horiba Water Checker, CTD Water Profiler (για τις επιτόπιες μετρήσεις), ενώ για τις αναλύσεις στο εργαστήριο χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές του APHA Standard Methods (1989). Η συλλογή των οργανισμών της ασπόνδυλης πανίδας έγινε με την μέθοδο του «kicknet» και με την χρήση δειγματοληπτικού δικτυού διαμέτρου 500 μμ. Η συντήρησή τους έγινε με την χρήση ειδικών διαλυμάτων, ενώ η ταυτοποίησή τους έγινε με διχοτομικές κλείδες. Για την οικολογική εκτίμηση των προαναφερθέντων σημείων έγινε χρήση δεικτών αφθονίας (δείκτης Margalef και Menkinick), δεικτών ποικιλότητος (δείκτης Simpson, Pielou Shannon, Hill (1) και Hill(2)), δεικτών ισοδιανομής (δείκτης ισοδιανομής, Sheldon, Heip και Hill), καθώς και εφαρμογή του δείκτη κυριαρχίας (%). Επίσης έγινε και ποσοτικοποίηση των δεικτών TBI και ETBI, ενώ εφαρμόσθηκαν και άλλοι βιολογικοί δείκτες όπως οι ισπανικοί t-BMWQ index και a-ABWQ index, οι αγγλικοί BMWP index και ASPT index καθώς και ο βελγικός BBI. Η εφαρμογή των ανωτέρω δεικτών, ο συσχετισμός τους με τις φυσικοχημικές παραμέτρους, τις περιόδους δειγματοληψιών, καθώς και με το ενδιαιτήμα του κάθε σταθμού δειγματοληψίας, εμφανίζει ποικίλα αποτελέσματα και συμπεράσματα, δηλαδή σε κάποιες περιπτώσεις ταύτιση οικολογικών παραμέτρων, ενώ σε κάποιες άλλες εμφάνισαν διαφοροποιήσεις για κάθε δειγματοληπτικό σταθμό.

ECOLOGICAL ESTIMATION OF RIPARIAN LOCATIONS ON THE RIVERS ALIAKMON, AXIOS, AND STRYMON

**Gritzalis, K.C., N. Skoulikidis, I. Bertahas,
I. Zacharias and T. Koussouris
N.C.M.R. - I. I. W., - Ag. Kosmas, 166 04 Hellinikon, Hellas**

Sampling of biological and physicochemical parameters took place on three rivers of Northern Greece, Aliakmon, Axios, and Strymon, during two different time periods (June and September). The sampling process involved two riparian locations on each river with a distance between them that was shorter than a few dozens of meters. The habitats on the sampling stations on each river were similar in terms of flora, sediment and water flow. The sampling stations were located near the estuaries of the rivers, in all case. In addition, the ones on river Aliakmon and river Strymon were selected to be downstream the dams. Portable instruments (Horiba Water Checker, CTD Water Profiler) were employed for the measurement and analysis of the physicochemical parameters on the spot. Techniques from ALPHA Standard Methods (1989) were employed to facilitate the laboratory analysis. The «kicknet» method and a sampling net with a diameter of 500 µm were used for the collection of the invertebrate fauna organisms. Special solutions facilitated the preservation of the latter, while their identification was carried out by means of dichotomous keys. The ecological estimation of the above-mentioned locations was made by means of abundance indices (Margalef index, Menkinick index), variation indices (Simpson index, Pielou Shannon index, Hill (1) and Hill (2) indices), evenness indices (Sheldon, Heip, and Hill indices), and the dominance index (8%). Apart from the above, quantification of TBI and ETBI indices was applied, along with other indices such as the Spanish t-BMWQ and a-ABWQ indices, the English BMWP and ASPT indices, and the Belgian BBI index. The application of the above indices and their correlation with the physicochemical parameters, with the sampling periods, and with the habitat of each one of the sampling stations, produce various results and conclusions (i.e., coincidence of the ecological parameters of the three rivers only in certain cases).

ΔΟΜΙΚΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΟΛΗΣ CYC8- TUP1

Conlan, S. R., N. Γουναλάκη, T. Copf και Δ. Τζαμαρίας
Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα
Τεχνολογίας και Έρευνας, Βασιλικά Βουτών,
711 10 Ηράκλειο, Κρήτη

Στον ευκαρυωτικό μονοκύτταρο οργανισμό *Saccharomyces cerevisiae*, πολλές ομάδες γονιδίων εκφράζονται μόνο κάτω από ορισμένες συνθήκες, ενώ συνήθως η μεταγραφή τους καταστέλλεται υπό την επίδραση του συμπλόκου Cyc8-Tup1. Το πρωτεϊνικό σύμπλοκο Cyc8-Tup1 προσεγγίζει τους διάφορους υποκινητές αλληλεπιδρώντας με ειδικές πρωτεΐνες, οι οποίες έχουν ήδη συνδεθεί στο DNA. Γι' αυτές τις αλληλεπιδράσεις ευθύνεται η πρωτεΐνη Cyc8, ενώ η μεταγραφική καταστολή συντελείται μέσω της πρωτεΐνης Tup1. Πρόσφατα αξιοποιήσαμε την τεχνική του διπλού υβριδίου με στόχο την απομόνωση νέων πρωτεϊνικών παραγόντων που αλληλεπιδρούν με τις πρωτεΐνες Cyc8 και Tup1. Με αυτή τη τακτική απομονώθηκαν τέσσερα διαφορετικά γονίδια, τα οποία ονομάσθηκαν *CTI1-CTI4* με βάση τα αρχικά του όρου «Cyc8-Tup1-Interacting». Τα γονίδια *CTI1* και *CTI2* κωδικοποιούν για ήδη γνωστές πρωτεΐνες οι οποίες μάλιστα προσδένονται στο DNA, πρόκειται για τις πρωτεΐνες *Sfl1* και *Rtg3*, αντίστοιχα. Η πρώτη ελέγχει την έκφραση γονιδίων θερμοπληξίας, ενώ η δεύτερη ελέγχει την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν περοξεισωμικά ένζυμα, όπως η συνθετάση του κιτρικού οξέος που συμμετέχει στον κύκλο του γλυοξαλικού οξέος. Ακόμη μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα γονίδια *CTI3* και *CTI4*. Μεταλλαγές έλλειψης που περιλαμβάνουν τους χρωμοσωμικούς τόπους *CTI3* και *CTI4* προκαλούν πλημελή μεταγραφική καταστολή όλων των γονιδίων που ελέγχονται από το πρωτεϊνικό σύμπλοκο Cyc8-Tup1. Παρουσιάζουμε πειραματικά δεδομένα που υποδεικνύουν ότι η πρωτεΐνη *Cti3* συνδέεται με την RNA πολυμεράση II και συμμετέχει στο σύμπλοκο μεταγραφικής έναρξης, ενώ η πρωτεΐνη *Cti4* ενδέχεται να επηρεάζει την δομή της χρωματίνης.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF THE GENERAL CO-REPRESSOR COMPLEX CYC8-TUP1

Conlan, S. R., N. Gounalaki, T. Copf and D. Tzamarias

**Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Foundation of
Research and Technology, Vassiloka Vouton, 711 10 Heraklion,
Crete, Greece**

A novel global transcriptional co-repressor, the Cyc8-Tup1 protein complex, represses transcription of many unrelated yeast genes in response to various conditions, such as carbon source and oxygen availability, cell-type, DNA damage and meiosis. We had previously demonstrated that Cyc8-Tup1 is recruited to various target promoters by interacting with pathway-specific DNA-binding proteins, and a specific domain of Tup1 represses transcription. Using the two-hybrid method we cloned several genes encoding proteins that interact with the Cyc8-Tup1 co-repressor complex. These proteins, named Cti1 to Cti4 for Cyc8-Tup1-Interacting, fall in to two groups: Two of them, Cti1 and Cti2, are DNA-binding proteins, while Cti3 and Cti4 do not contain any known DNA-binding motif. Cti1 is identical to Sfl1, a heat shock-like transcriptional repressor and Cti2 is identical to Rtg3, a basic helix loop helix-leucin zipper protein, which activates transcription of genes encoding peroxisomal enzymes, under conditions of mitochondrial dysfunction. As expected, these DNA-binding factors associate predominantly with Cyc8, Tup1 being dispensable, and preliminary data suggest that specific regions of the Cyc8 TPR domain are involved in those interactions. In contrast the second group of Cyc8-Tup1-interacting proteins (Cti3, Cti4) associates predominantly with Tup1 in a *in vivo* two-hybrid interaction assay. Interestingly, *cti3* and *cti4* mutant strains derepress all known Cyc8-Tup1 regulated genes. Cti3 associates with the RNA polymerase II holoenzyme, while Cti4 contains a novel Cysteine rich motif, the PHD-finger motif, which is remarkably conserved in several chromatin modifying proteins.

ΧΛΩΡΙΔΙΚΗ ΚΑΙ ΦΥΤΟΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΟΡΟΥΣ ΤΥΜΦΡΗΣΤΟΥ (ΒΔ. ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ)

Δημητρέλλος, Γ. και Δ. Χριστοδούλακης
Εργαστήριο Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Πατρών, 26500 Πάτρα

Η οροσειρά του Τυμφρηστού βρίσκεται στη Στερεά Ελλάδα, καταλαμβάνει έκταση 3.070 ha και έχει κατεύθυνση ΒΔ. προς ΝΑ. Αυτή σχηματίζει ένα φυσικό όριο ανάμεσα στη Β. και Ν. Ελλάδα, καθώς επίσης και ανάμεσα στη Δ. και Α. Στερεά Ελλάδα. Ο Τυμφρηστός λόγω αυτής της γεωγραφικής του θέσης και της γεωλογικής του δομής (κυρίως από ασβεστόλιθο και φλύσχη) παρουσιάζει ιδιαίτερο βοτανικό ενδιαφέρον. Η αγγειώδης χλωρίδα του αποτελείται από 1156 taxa, 428 (37 %) από τα οποία αποτελούν νέες καταγραφές. Η χλωρίδα του περιλαμβάνει 85 ελληνικά ενδημικά και μάλιστα δύο από αυτά, τα *Centaurea princeps* και *Thymus rechingeri* subsp. *macrocalyx*, είναι αποκλειστικά ενδημικά του Τυμφρηστού. 14 taxa του Τυμφρηστού χαρακτηρίζονται ως σπάνια και 1 ως ευάλωτο. Στο βιολογικό φάσμα τη μεγαλύτερη αναλογία παρουσιάζουν τα ημικρυπτόφυτα (48,3 %) λόγω των κλιματικών συνθηκών της περιοχής (μικρή ξηρή περίοδος). Η πλειοψηφία των taxa της χλωρίδας του Τυμφρηστού είναι ευρέως εξαπλούμενα στη Μεσόγειο ή σε ακόμη μεγαλύτερες γεωγραφικές περιοχές. 22 % (255 taxa) της χλωρίδας περιορίζεται στην Ιταλία, τη βαλκανική χερσόνησο και την Ανατολία. Από τη μελέτη των ειδών αυτής της κατηγορίας προέκυψαν τα πιο κάτω: Ο Τυμφρηστός επιδεικνύει στενή χλωριδική συγγένεια τόσο με τη Νότια Πίνδο όσο και με την Πελοπόννησο. Η συγγένεια αυτή είναι σχεδόν ίσης σπουδαιότητας, πράγμα που τεκμηριώνει την άποψη ότι αυτός κατέχει φυτογεωγραφικά μια ενδιάμεση θέση ανάμεσα στη Β. και Ν. ηπειρωτική Ελλάδα. Εντός της Στερεάς Ελλάδας τους στενότερους δεσμούς εμφανίζει με το όρος Γκιώνα. Χλωριδικές συνδέσεις με την Ανατολία υφίστανται κυρίως διαμέσου της ΒΑ. Ελλάδας (Θράκη) και δευτερευόντως διαμέσου του Ν. αιγαιακού νησιωτικού τόξου. Τέλος, η επίδραση των βαλκανικών ειδών στη σύνθεση της παρούσας χλωρίδας του Τυμφρηστού είναι μεγαλύτερης σημασίας απ' ότι τα είδη άλλων περιοχών.

FLORISTIC AND PHYTOGEOGRAPHICAL ANALYSIS OF MOUNT TIMFRISTOS (NW STEREA ELLAS)

Dimitrellos, G. and D. Christodoulakis
Botanical Institute, Department of Biology, University
of Patras, GR-26500 Patras, Greece

The Timfristos mountain range (3070 ha) is situated in Sterea Ellas (S Greece) with a NW to SE orientation. It forms a natural border between northern and southern Greece, as well as between western and eastern Sterea Ellas. Due to its above - mentioned geographical position and its geological structure (mainly limestone and flysch), Timfristos is of particular botanical interest. Its vascular flora consists of 1156 taxa, 428 (37%) of which are new records. 85 taxa are Greek endemics, of which *Centaurea princeps* and *Thymus rechingeri* subsp. *macrocalyx*, are endemic to Timfristos. Fourteen taxa are characterized as rare and one as vulnerable. In the life-form spectrum, hemicryptophytes form the highest proportion (48.3%), due to the climatic conditions of the area (short dry period). The majority of taxa of the flora of Timfristos are widespread in the Mediterranean or in even broader geographical areas. The distribution of 22% (255 taxa) of taxa is limited to Italy, the Balkan Peninsula and Anatolia. From the study of those species the following have arisen: Timfristos shows strong floristic affinity with both southern Pindos and Peloponnisos. The affinity with both areas is of almost equal importance, which supports the view that Timfristos occupies a phytogeographically intermediate position between northern and southern mainland Greece. Within Sterea Ellas, the closest links are with Mount Giona. Floristic connections with Anatolia exist primarily through NE Greece (Thraki), and secondarily via the southern Aegean island arc. Finally, the influence of Balkan species on the composition of the present flora of Timfristos is of greater importance than that of species from other areas.

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΚΑΙ
ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΣΠΠΟΥΡΑΣ (*Sparus aurata*)
ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ
ΙΧΘΥΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΤΑΘΜΟΥ, ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗ
ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΛΕΠΙΩΝ**

Δημητρίου, Ε., Γ. Κατσέλης*, Α. Αθανασόπουλος
και Π. Κασπίρης***

****Τμήμα Αλιείας, Νομαρχιακή Αυτοδ/ση Αιτωλ/ίας, 30200,
Μεσολόγγι, * Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα**

Η απώλεια λεπιών για διάφορους λόγους οδηγεί στην αναγέννηση νέων, των οποίων η δομή είναι διαφορετική από εκείνη των κανονικών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η δομή των λεπιών της τσιπούρας από άγριο πληθυσμό της λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου-Αιτωλικού και από πληθυσμό εμπλουτισμού σε λιμνοθάλασσα προερχόμενο από ιχθυογεννητικό σταθμό. Τα μελετηθέντα λέπια, 6-10 ανά ψάρι, ελαμβάνοντο από τη ραχιαία περιοχή του σώματος των ψαριών. Ο πληθυσμός εμπλουτισμού προήρχετο από τη λιμνοθάλασσα Παλαιοποτάμου, που τοποθετήθηκε κατά τα έτη 1994-96. Εξετάστηκαν 243 άτομα άγριου πληθυσμού και 82 άτομα εμπλουτισμού. Διαπιστώθηκε ότι στον άγριο πληθυσμό το 69% των ατόμων έφεραν κανονικά λέπια, το 14% έφερε 75% αναγεννημένα, ένα ποσοστό 10% έφερε 25-45% αναγεννημένα και ένα 1% έφερε 45-95% αναγεννημένα. Στον πληθυσμό εμπλουτισμού τα αναγεννημένα λέπια ήταν 89%, ένα ποσοστό 4% έφεραν 75-95% αναγεννημένα και άλλο ένα 4% έφερε κανονικά λέπια. Μια εξήγηση του φαινομένου μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι τα άτομα των ιχθυογεννητικών σταθμών βρίσκονται σε μεγάλες ιχθυοφορτίσεις και από τις τριβές προκαλούνται απώλειες των λεπιών. Από τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνεται ότι η δομή των λεπιών μπορεί να αποτελέσει διαγνωστικό μέσο για την προέλευση των πληθυσμών. Τα αποτελέσματα της παραπάνω μεθόδου επιβεβαιώθηκαν και από δείγματα εμπλουτισμού που προήρχοντο από τη λιμνοθάλασσα Αράξου, όπου το 97% των ατόμων έφερε 95% αναγεννημένα λέπια.

**DETERMINATION OF WILD POPULATIONS AND
POPULATIONS OF SEA BREAM (*Sparus aurata*) OF
ENRICHMENT ORIGINATED FROM FISH
HATCHERY, ACCORDING TO THE STRUCTURE OF
THE SCALES**

Dimitriou**, E., G. Katselis*, A. Athanassopoulos
and P. Kaspiris*

**Department of Fisheries, Prefecture of Etoloakarnania,
30200, Messologhi, *Zoological Laboratory, Department of
Biology, University of Patras, 26500, Patras, Greece

Loss of scales for different reasons cause the substitution of them which the structure is different from the normal ones. In the present work is studied the structure of scales of sea bream from wild population originated from lagoon of Messolonghi-Etolico and from population of enrichment in lagoon originated from hatcheries. The scales studied, 6-10 from each specimen, were removed from the dorsal region of the body of the fish. The population of enrichment is coming from lagoon of Paleopotamos which is set up during the years 1994-96. There were studied 243 and 82 individuals of wild and enrichment respectively. In wild population we noted that 69% of fish had normal scales, 14% of fish had the 75% of scales reborn, 10% had the 25-45% also reborn. In the population of enrichment, the reborn scales are the 89%, a proportion of 4% had 75-95% reborn and another 4% had normal scales. An explanation of this phenomenon can attribute in the fact that the specimens in the hatcheries was in large densities and the rub caused loss of scales. From the above results is shown that the structure of scales can constitute diagnostic instrument of the populations. The results of the above method are also verified from specimens of enrichment population from the Araxos lagoon where the 97% of fishes had the 95% of scales reborn.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ
ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΓΛΥΚΟΓΟΝΟΥ ΣΕ ΣΙΑΛΟΓΟΝΟΥΣ
ΑΔΕΝΕΣ ΚΑΤΑ ΤΟ ΤΕΛΟΣ ΤΟΥ ΤΡΙΤΟΥ
ΠΡΟΝΥΜΦΙΚΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ
ΥΠΟΟΜΑΔΕΣ *DROSOPHILA***

Δημοπούλου, Α., Α. Κώστα, Β. Δρόσου, Α. Παραθυρά
και Γ.Ν. Θωμόπουλος

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Σχολή Θετικών Επιστημών,
Τμήμα Βιολογίας, 54006 Θεσσαλονίκη

Κατά τη διάρκεια μελέτης της κατανομής του γλυκογόνου σε κύτταρα σιαλογόνων αδένων δύο ειδών *Drosophila* παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην κατανομή του γλυκογόνου κατά το 3^ο προνυμφικό στάδιο. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η κατανομή του γλυκογόνου κατά το 3^ο προνυμφικό στάδιο σε είδη διαφόρων υποομάδων *Drosophila* για να διερευνηθούν οι ομοιότητες και οι διαφορές που υπάρχουν στα είδη μιας συγκεκριμένης υποομάδας καθώς επίσης και στα είδη διαφορετικών υποομάδων. Η μελέτη έγινε σε σιαλογόνους αδένες που βρίσκονταν στο τέλος του 3^{ου} προνυμφικού σταδίου ειδών των υποομάδων *montium* (*D. auraria*, *D. serratta*, *D. seguyi*), *ananassae* (*D. varians*), και *melanogaster* (*D. mauritiana*, *D. melanogaster*, *D. simulans*), χρησιμοποιώντας την τεχνική OsFeCN, στο επίπεδο της λεπτής δομής. Τα πρώτα αποτελέσματα δείχνουν ότι στην υποομάδα *melanogaster* τα σωματίδια γλυκογόνου που εμφανίζονταν σε μεγάλες ποσότητες (διάσπαρτα ή σε συσσωματώματα) μέχρι το μέσο του 3^{ου} προνυμφικού σταδίου, εξαφανίζονται στο τέλος του 3^{ου} προνυμφικού σταδίου. Στα είδη των υποομάδων *montium* και *ananassae* τα συσσωματώματα γλυκογόνου εξακολουθούν να υπάρχουν και στο τέλος του 3^{ου} προνυμφικού σταδίου, αλλά σε διαφορετικές ποσότητες. Στην υποομάδα *ananassae* τα σωματίδια γλυκογόνου είναι πολύ λίγα, ενώ στην υποομάδα *montium* παρατηρούνται μεγάλα συσσωματώματα γλυκογόνου τα οποία βρίσκονται σχεδόν πάντα κοντά σε λιπίδια. Τα αρχικά αυτά αποτελέσματα δείχνουν ότι τα είδη κάθε υποομάδας παρουσιάζουν παρόμοια κατανομή γλυκογόνου η οποία όμως είναι διαφορετική από την κατανομή του γλυκογόνου στα είδη των άλλων υποομάδων. Έτσι, μπορεί να υποστηριχθεί ότι το γλυκογόνο, το οποίο αποτελεί σημαντική πηγή ενέργειας κατά την ανάπτυξη των σιαλογόνων αδένων και τη δημιουργία των εκκριτικών κοκκίων, χρησιμοποιείται με διαφορετικό τρόπο από κάθε είδος *Drosophila*, και μπορεί να αποτελέσει ένα ακόμη στοιχείο διάκρισης των διαφορετικών υποομάδων.

PRELIMINARY RESULTS ON GLYCOGEN DISTRIBUTION ON LATE THIRD INSTAR LARVAL SALIVARY GLANDS IN *DROSOPHILA* SUBGROUPS

**Dimopoulou, A., A. Kosta, B. Drosou, A. Parathira
and G.N. Thomopoulos**

**Aristotle University, School of Sciences,
Department of Biology, 54006 Thessaloniki, Greece**

Examination of glycogen distribution during development in the salivary gland cells of two *Drosophila* species (Costa et al, 1997, Proceedings of the 19th Panhellenic meeting of H.S.B.S. p.215-216) revealed a significant difference in glycogen distribution during late third instar. We studied glycogen distribution during the late 3rd instar in *Drosophila* species in order to examine differences and similarities among species from the same subgroup as well as among species from different subgroups. The study was carried out using the following subgroups: *montium* (*D. auraria*, *D. serratta*, *D. seguyi*), *ananassae* (*D. varians*), and *melanogaster* (*D. mauritiana*, *D. melanogaster*, *D. simulans*). The OsFeCN technique, at the ultrastructural level, was applied to the late 3rd instar salivary glands. In the *melanogaster* subgroup glycogen particles were found as scattered particles or big clumps until middle third instar; in late third instar glycogen was completely abolished. In the *montium* and *ananassae* subgroups glycogen particles persisted during late third instar but in different amounts. In *ananassae*, glycogen was seen in very small amounts (glycogen particles are scarce), whereas in the *montium* subgroup, big clumps of glycogen were found, almost always in contact with lipids. These preliminary results indicated that the species of a particular subgroup show a similar glycogen distribution, which however differed among different subgroups. It can be supported that glycogen, an important source of energy during the development of the salivary glands and the formation of the secretory granules, was utilized in a different way by each subgroup and a different metabolic pathway was followed. These results may give additional characteristics for distinguishing different *Drosophila* subgroups.

ΕΠΑΓΩΓΗ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ ΣΤΙΣ ΜΗ ΕΙΔΙΚΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΕΣ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΑ ΦΛΟΓΙΣΤΙΚΑ

**Διαμάντας, Ε., Ν. Αναγνώστου, Ν. Αβραμίδης, Α. Κουρουνάκη,
Μ. Γιάγκου και Λ. Χατζηπέτρου
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη**

Μελετήθηκε η επαγωγή των κυτοκινών και άλλων παραγόντων κατά τη διάρκεια της φλεγμονής που προκαλείται με διάφορα φλογιστικά όπως ο βακτηριακός πολυσακχαρίτης (LPS), η κονκαναβαλίνη Α (Con-A) και η μυκοστατίνη (νυστατίνη). Το φλογιστικό χρονγήθηκε σε αεροθύλακα που δημιουργείται στην ράχη αρουραίων και 1,3,6 και 24 ώρες μετά μετρήθηκαν ο αριθμός των κυττάρων, η ολική πρωτεΐνη και στο εξιδρωματικό υγρό (օρό) η συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών NO⁻ και τα επίπεδα των κυτοκινών IL-2, IL-6 και TNF-α με βιοπροσδιορισμούς. Μελετήθηκε επίσης η κινητική εμφάνισης των κυττάρων στο εξιδρωμα που παράγουν τις κυτοκίνες IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFN-γ και TNF-α με ανοσοκυτταροχημεία. Ο αριθμός των κυττάρων στον αεροθύλακα αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου, με μέγιστο τις 6 ώρες σε όλα τα φλογιστικά. Η ολική πρωτεΐνη παρουσιάζει μέγιστο στις 3 ώρες σε όλα τα φλογιστικά και μειώνεται στις 24 ώρες. Η συγκέντρωση των NO⁻ αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου και σταθεροποιείται στις 24 ώρες. Στους βιοπροσδιορισμούς οι κυτοκινών IL-2, IL-6 και TNF-α αυξάνονται σημαντικά σε σχέση με τους μάρτυρες. Ο αριθμός των κυττάρων που παράγουν IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFN-γ και TNF-α είναι σημαντικά μεγαλύτερος σε σχέση με τους μάρτυρες. Γενικά ακολουθούν παρόμοια κινητική με μέγιστη στις 3-6 ώρες και στη συνέχεια ελαττώνονται. Συμπερασματικά, παρατηρούμε ότι οι ειδικοί μηχανισμοί ανοσίας φαίνεται να συμμετέχουν και στις μη ειδικές φλεγμονές.

CYTOKINE INDUCTION IN INFLAMMATION BY VARIOUS FLOGISIC AGENTS

Diamandas, E., N. Anagnostou, N. Avramidis, A. Kourounaki ,

M. Yiagou and L. Hadjipetrou

Aristotle University, Faculty of Biology, Department of

Genetics, Developments and Molecular Biology,

Thessaloniki, Greece

Phlogistic agents cause a non specific inflammatory response where histamin, bradykinin, serotonin, prostagladins and leucotrienes are the major products. We investigated the production of inflammatory cytokines (IL-2, IL-6 and TNF- α) as well as cytokines that determine the type of the immune response IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFN- γ and TNF- α , in the air pouch model in rats after administration of various flogistic agents such as bacterial lipopolysaccharides (LPS), concanavaline-A (Con-A) and mycostatin. We measured at periods of 1,3,6 and 24 hours the total cell number, total protein, NO⁻ and the cytokines IL-2, IL-6 and TNF- α in the exudate of the air pouch by use of corresponding bioassays, as well as the number of cells producing IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFN- γ and TNF- α by immunocytochemical methods. We found that the number of cells increased by time in the air pouch exudate for all flogistic agents we used, presenting a maximum at 6 hours. Total protein presents a maximum at 3 hours for all flogistic agents, and then decreases to a value slightly less than the initial value at 3 hours. The NO concentrations increased by time and finally stabilises at 24 hours, IL-2, IL-6 and TNF- α increase greatly compared to controls. Cells producing IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFN- γ and TNF- α are at extremely high levels in comparison to controls. They follow similar kinetics, presenting a maximum at 3 or 6 hours and then reduce to a value similar to that of 1 hour. Our findings show that components of specific immune responses may also be involved in non specific inflammations.

ΑΥΤΟΜΕΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΤΟΥΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΝ

**Δομουχτσίδου, Γ. και Β.Κ. Δημητριάδης
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54006 Θεσ/νίκη**

Τα μύδια χρησιμοποιούνται ως βιολογικοί δείκτες λόγω της ικανότητάς τους να συγκεντρώνουν στους ιστούς τους βαρέα μέταλλα και άλλους ρυπογόνους παράγοντες [4]. Λίγες είναι οι πληροφορίες για τον ενδοκυτταρικό εντοπισμό βαρέων μετάλλων στα μύδια στο επίπεδο της λεπτής δομής, ενώ όσον αφορά τη μέθοδο της αυτομεταλλογραφίας υπάρχουν επίσης λίγες πληροφορίες στο επίπεδο του οπτικού μικροσκοπίου [2]. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο ιστολογικός και ενδοκυτταρικός εντοπισμός πέντε βαρέων μετάλλων (Cu, Zn, Ag, Hg, Pb) στα βράγχια και τον πεπτικό αδένα του κοινού εδώδιμου μυδιού *Mytilus galloprovincialis* με τη μέθοδο της αυτομεταλλογραφίας. Για το σκοπό αυτό χορηγήθηκαν 0.1 ppm του κάθε μετάλλου χωριστά, στο νερό, σε 25 άτομα για 60 και 100 ημέρες, ενώ 25 άτομα που παρέμειναν σε καθαρό θαλασσινό νερό για το ίδιο χρονικό διάστημα, χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε η τεχνική [1] σε χοντρές και υπέρλεπτες τομές ρητίνης. Με την τεχνική, βαρέα μέταλλα και σουλφίδια ή σεληνίδια μετάλλων γίνονται ορατά στο οπτικό και το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ως μαύρες αποθέσεις αργύρου. Οι παρατηρήσεις έδειξαν ότι στα βράγχια ο Hg συγκεντρώνεται σε κοκκία που εντοπίζονται σε όλο το επιθήλιο κυρίως όμως στη βασική περιοχή του βραγχιακού επιθηλίου (για περιγραφή των βραγχίων βλέπε [5]). Ο Ag εντοπίζεται επίσης σε όλο το επιθήλιο κυρίως όμως στην κορυφαία περιοχή. Ο Pb εντοπίζεται σχεδόν αποκλειστικά στην κορυφαία περιοχή του βραγχιακού επιθηλίου. Ο Zn βρίσκεται σε όλο το επιθήλιο, ενώ ο Cu σε πολύ μικρά ποσά στην κορυφή και στη βάση του βραγχιακού επιθηλίου. Οι παρατηρήσεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξαν ότι τα βαρέα μέταλλα συγκεντρώνονται στα λυσοσώματα των βραγχίων. Στον πεπτικό αδένα οι παρατηρήσεις με το οπτικό μικροσκόπιο έδειξαν συσσώρευση μετάλλων στα υπολειπόμενα σωμάτια των πεπτικών κυττάρων μυδιών που δέχτηκαν την επίδραση Ag. Οι παρατηρήσεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο επιβεβαιώνουν τον εντοπισμό των μετάλλων στα λυσοσώματα. Τα παραπάνω αποτελέσματα ενισχύουν τη δυνατότητα χρήσης της τεχνικής για την εκτίμηση της ρύπανσης του περιβάλλοντος από βαρέα μέταλλα [3].

AUTOMETALLOGRAPHICAL LOCALIZATION OF HEAVY METALS IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* AFTER EXPERIMENTAL EXPOSURE

Domouhtsidou, G. and V.K. Dimitriadis

Department of Genetics, Development and Molecular Biology,
School of Biology, Aristotle University,
54006 Thessaloniki, Greece

Mussels have been used as biological indicators of pollution due to the fact that they accumulate heavy metals and other contaminants in their tissues [4]. There is only few information on the ultrastructural localization of heavy metals in mussel tissues, whereas for autometallographical localization the only available information is at the light microscopical level [2]. In this study the histological and ultrastructural localization of five heavy metals (Cu, Zn, Ag, Hg, Pb) in the gills and digestive gland of *Mytilus galloprovincialis* is evaluated using the method of autometallography. Heavy metals were supplied separately in a concentration of 0.1ppm in the water, for 60 and 100 days. Control mussels were maintained in clean sea water for 100 days. The technique of autometallography [1] has been applied in thick and semithin resin sections. The observations have shown that in the gills of Hg treated animals, this metal is localized in granules throughout the epithelium of the filament [5], particularly in the basal region. Ag is found throughout the epithelium of the filament, particularly in the frontal region. Pb is localized in the frontal region of the gill epithelium. Zn is found throughout the epithelium and Cu is visualised in minor amounts in the frontal and basal region of the gill filament. Ultrastructural observations of the gills have shown a metal accumulation in lysosomes. In the digestive gland of Ag treated mussels light microscopical studies revealed a metal deposition on the residual bodies of the digestive cells. Ultrastructural observations confirm the localization of metals in the residual bodies. The observations of the present study support the use of this technique as stress indice in biomonitoring studies [3].

REFERENCES

1. Dancher G. (1994). *Histochemistry* 81, 331-335
2. Soto M., Cajaraville MP., Marigomez I. (1996b). *Tiss Cell* 28, 557-568
3. Soto M. & Marigomez I. (1997). *Mar.Ecol.Progr.Series*, 156, 141-150
4. Viarengo A. & Canesi L. (1991). *Aquaculture*, 94, 225-243
5. Wright SH., Secomb TW. & Bradley TJ. (1987). *J.Exp.Biol* 129, 205-230

**ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΟΣ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ
ΠΟΥ ΑΠΟΚΑΘΙΣΤΑ ΤΟ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟ ΕΝΟΣ
ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ ΤΟΥ ΒΑΚΤΗΡΙΟΥ
ZYMO MONAS MOBILIS ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΥ ΣΕ ΥΨΗΛΕΣ
ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ**

**Δούκα, Ε., Σ. Φριλίγγος, Γ. Βαρθολομάτος, Α.Ε. Κούκκου
και Κ. Δραΐνας**

**Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα**

Πρόσφατα έχει απομονωθεί ένα μεταλλαγμένο στέλεχος *Zymomonas mobilis* (CU1Rif2), το οποίο είναι ευαίσθητο σε υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης. Η πρόσληψη της γλυκόζης καθώς και η δραστικότητα του ενζύμου γλυκοκινάση εμφανίζονται μειωμένες όταν το CU1Rif2 αναπτύσσεται σε αυξημένες συγκεντρώσεις γλυκόζης. Χρησιμοποιώντας μία γονιδιακή βιβλιοθήκη του φυσικού στελέχους, απομονώθηκε ένα τμήμα DNA μεγέθους 4.5 kb, που αποκαθιστά την ευαίσθησία στη γλυκόζη καθώς και τις βιοχημικές ιδιότητες του CU1Rif2. Ανάλυση της αλληλουχίας των βάσεων του τμήματος αυτού έδειξε την ύπαρξη ενός συμπλέγματος γονιδίων που αποτελείται από 4 κωδικεύουσες περιοχές (orf), μήκους 167, 167, 145 και 219 αμινοξέων αντίστοιχα, όπου φαίνονται να χρησιμοποιούνται τα τυπικά κωδικόνια του *Z. mobilis* καθώς και συναντικές περιοχές Shine-Dalgarno. Περίπου 100 bp ανοδικά του κωδικονίου έναρξης του πρώτου orf, βρίσκονται συναντικά στοιχεία προαγωγού -35 και -10 αλληλουχιών. Σύγκριση της προβλεπόμενης αλληλουχίας αμινοξέων με γνωστές αλληλουχίες πρωτεϊνών (EMBL-Heidelberg) δεν έδειξε καμία ισχυρή ομολογία. Το θεωρητικό γονιδιακό σύμπλεγμα είναι δυνατόν να κωδικεύει ένα εναλλακτικό σύστημα πρόσληψης της γλυκόζης ή μια σειρά ρυθμιστικών πρωτεϊνών αγνώστων μέχρι σήμερα. Μελέτη της ετερόλογης έκφρασης του στο βακτήριο *E. coli*, μπορεί να διευκολύνει τη διευκρίνιση αυτού του προβλήματος.

IDENTIFICATION OF A GENE CLUSTER THAT RESTORES THE PHENOTYPE OF THE GLUCOSE-SENSITIVE *ZYMO MONAS MOBILIS* STRAIN CU1Rif2

**Douka, E., S. Frillingos, G. Bartholomatos, A.I. Koukkou
and C. Drainas**

**Laboratory of Biochemistry, Department of Chemistry,
University of Ioannina, Ioannina, Greece**

We have previously isolated and recently characterized biochemically an ATCC10988 *Z. mobilis* mutant that is sensitive to high glucose concentrations. The mutant strain, Cu1Rif2, grows normally on liquid medium containing 2% glucose but shows a lag period of more than 20 h when glucose concentration is increased to 10% (w/v). In addition, glucose uptake and glucokinase activity are impaired when Cu1Rif2 grows on elevated glucose concentrations. By using a *Z. mobilis* genomic library prepared from the parental strain, a DNA fragment of 4.5 kb was isolated which restores the glucose-defective phenotype of CU1Rif2. Glucokinase activity and glucose uptake are also restored. Sequencing of the isolated DNA fragment from both strands revealed the presence of a gene cluster consisting of four putative coding regions, 167, 167, 145 and 219 amino acid-long, respectively, with typical *Z. mobilis* codon usage, and individual Shine-Dalgarno consensus sites. The cluster is preceded by *Z. mobilis* consensus -35 and -10 promoter elements, about 100 bp upstream of the start codon of the first coding region. However, no strong sequence homologies were detected on a BlastP (EMBL-Heidelberg) computer search with known protein sequences. The putative gene cluster may encode an alternative, as yet unknown pathway for uptake of glucose or a set of regulatory proteins. Heterologous expression studies of this cluster on *E. coli* mutants defective in glucose uptake are believed to resolve the above issue.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΟΓΚΟΥ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΙΟΥ *RANA BALCANICA*

Δουκάκης, Γιάννης και Μάρθα Καλογιάννη
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 540 06 Θεσσαλονίκη

Διέγερση ερυθροκυττάρων με κατεχολαμίνες επάγει την αύξηση στη συγκέντρωση του cAMP, και ενεργοποίηση μηχανισμών προσαρμογής στην υποξία, έτσι ώστε, τελικά να αυξηθεί η συγγένεια της αιμοσφαιρίνης (Hb) με το O₂. Η κυτταρική διόγκωση που προκαλείται κατά την υποξία, από την αδρεναλίνη επάγεται από το cAMP με ενεργοποίηση της αντλίας Na⁺/H⁺, η οποία προκαλεί την είσοδο ιόντων Na⁺, έξοδο ιόντων H⁺, και ενδοκυτταρική αλκάλωση. Η λειτουργία του παραπάνω μηχανισμού ενεργοποιεί την αντλία Cl⁻/HCO₃⁻, καθώς και τη καρβονική ανυδράση. Η ταυτόχρονη ενεργοποίηση των παραπάνω ρυθμιστικών συστημάτων προκαλούν την αύξηση της συγκέντρωσης των ιόντων Na⁺ και Cl⁻ στο κύτταρο και ωσμωτική είσοδο H₂O. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι παραπάνω ρυθμιστικοί μηχανισμοί είναι αυστηρά εξαρτώμενοι από το pH. Συγκεκριμένα στη παρούσα μελέτη δείξαμε ότι επώαση των ερυθροκυττάρων σε εξωκυτταρικό μέσο με pH 8.0 παρουσία αδρεναλίνης σε συνθήκες υποξίας προκάλεσε μία σημαντική αναστολή στη διόγκωση (27%) σε σχέση με το pH 7.3, που σχετίζεται με την μη φυσιολογική ροή των ιόντων Na⁺ από την αντλία Na⁺/H⁺. Αναστολή της αντλίας Cl⁻/HCO₃⁻ (με DIDS) στο pH 7.3 προκάλεσε επίσης σημαντική μείωση της διόγκωσης λόγω της αναστολής της εισόδου ιόντων Cl⁻. Σε pH 8.0 δεν παρατηρήθηκε αναστολή του κυτταρικού όγκου, διότι στις συνθήκες αυτές η αντλία Cl⁻/HCO₃⁻ δεν είναι μάλλον λειτουργική. Αναστολή της δράσης της καρβονικής ανυδράσης με ethoxysomalide στο pH 7.3 είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση της κυτταρικής διόγκωσης, πιθανά λόγω άρσης της ρυθμιστικής λειτουργίας της αντίδρασης που καταλύει το ένζυμο. Στο pH 8.0 δεν παρατηρήθηκε μεταβολή, λόγω της ήδη αναστολής των συστημάτων Na⁺/H⁺ και Cl⁻/HCO₃⁻ από το εξωκυτταρικό pH. Τέλος μελετήθηκε η επίδραση ενός ανάλογου του cAMP (Dibutyryl cAMP) στη διόγκωση των ερυθροκυττάρων, προκειμένου να διερευνηθεί η δράση του ως ενδοερυθροκυτταρικό μηνύτορα. Και στα δύο pH παρατηρήθηκε αύξηση του κυτταρικού όγκου, όχι όμως στα ίδια επίπεδα μ' αυτά που προκαλεί η αδρενεργική διέγερση. Αυτό ίσως αντανακλά την πιθανή συμμετοχή του cAMP και σε άλλες λειτουργίες του κυττάρου.

CONTROL OF CELL VOLUME BY ADRENALINE OF *RANA BALCANICA* ERYTHROCYTES

/ **Doukakis, Giannis and Martha Kaloyianni**
Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology,
School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University,
540 06 Thessaloniki, Greece

The cellular swelling induced by catecholamines at hypoxia is mediated by cAMP and is induced by Na^+/H^+ exchange activation which results in influx of Na^+ in exchange with H^+ and intracellular alkalosis. The latter causes an activation of $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ transporter as well as of carbonic anhydrase both of which function as regulatory mechanisms of intracellular pH control. The concomitant activation of the above mechanisms results in increase of Na^+ and Cl^- and osmotically entrance of H_2O . Studies have shown that the latter regulatory mechanisms are pH dependent. In the present study we showed that incubation of the erythrocytes at pH 8.0 in the presence of adrenaline at hypoxia, caused a significant decrease of cellular volume (27%) in relation to pH 7.3. In addition, the inhibition of $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ transporter at pH 7.3 showed a significant reduction of the swelling, while at pH 8.0 no decrease of the cellular volume was observed. Similar responses of the cell volume was also observed after inhibition of carbonic anhydrase by ethoxzolamide. The effect of cAMP analog, dibutyryl cAMP, on the cell volume was also tested in order to investigate cAMP role as an intracellular messenger. Dibutyryl cAMP induced an increase of cell volume at both pH; the increase however was less than that caused by adrenaline. The observed changes of the cell volume as well as the intracellular alkalosis induced by adrenaline are regulatory responses of the erythrocyte to increase the affinity of hemoglobin with oxygen at stress conditions.

ΑΞΙΟΠΣΤΙΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΥΠΑΡΞΗΣ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΣΤΟ ΘΑΛΑΣΣΙΝΟ ΝΕΡΟ

Ευστρατίου*, Μ.Α., Α . Μαυρίδου**
και S.C. Richardson***

*Υπουργείο Γεωργίας, **Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας,
***Πάντειο Πανεπιστήμιο, Αθήνα

Κολύμβηση σε θαλασσινό νερό μολυσμένο από λύματα μπορεί να οδηγήσει στην πρόκληση μολυσματικών ασθενειών. Απ' ευθείας αναζήτηση παθογόνων σε δείγματα νερού, ώστε να εκτιμηθούν οι κίνδυνοι για την υγεία, είναι έργο που υπερβαίνει της δυνατότητες του εργαστηρίου ρουτίνας. Ως εκ τούτου στον καθημερινό έλεγχο ορισμένα βακτηρίδια χρησιμοποιούνται σαν δείκτες κοπρανώδους ρύπανσης των νερών κολύμβησης. Οι κλασσικοί δείκτες είναι τα ολικά κολοβακτηριοειδή, τα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή και οι κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι. Στην εργασία αυτή μελετήσαμε την αξιοπιστία των τριών αυτών δεικτών στην πρόγνωση ύπαρξης παθογόνων μικροοργανισμών που προέρχονται από λύματα και έχουν ενοχοποιηθεί για δημιουργία προβλημάτων υγείας σε κολυμβητές. Της *Salmonella* spp, του *Staphylococcus aureus* και της *Candida albicans*. Εξετάσθηκαν 303 δείγματα από 21 σταθμούς των βορείων παραλίων του Σαρωνικού κόλπου, στην Αττική. Για τον συσχετισμό των δεικτών με τα παθογόνα, ώστε να εκτιμηθεί ποιός δείκτης προβλέπει καλύτερα την ύπαρξη κάθε ενός από τους παθογόνους μικροοργανισμούς, χρησιμοποιήθηκαν οι στατιστικές μέθοδοι της πολυπαραγοντικής ανάλυσης. Στις περιοχές μέτριας μόλυνσης την καλύτερη πρόγνωση παρουσίας σαλμονελλών και *S.aureus* στο νερό της θάλασσας δίνουν τα ολικά κολοβακτηριοειδή, ενώ της *C.albicans* τα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή. Στις περιοχές υψηλής μόλυνσης καλύτερη πρόγνωση παρουσίας σαλμονελλών και *C.albicans* δίνουν οι κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι. Στις 'καθαρές' περιοχές καλύτερη πρόγνωση για την *C.albicans* έδωσαν τα ολικά κολοβακτηριοειδή. Το συμπέρασμα της μελέτης είναι ότι τα ολικά κολοβακτηριοειδή είναι ο καταλληλότερος δείκτης πρόβλεψης της ύπαρξης *Salmonella* spp και *S.aureus* σε θαλάσσιο νερό περιοχών αναψυχής. Καταμέτρηση των ολικών κολοβακτηριοειδών μόνο αρκεί για να προβλεφθεί η ύπαρξη κάθε ενός από τους δύο αυτούς παθογόνους μικροοργανισμούς. Την καλύτερη πρόγνωση ύπαρξης *C.albicans* δίνουν τα ολικά και τα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή.

RELIABILITY OF MICROBIAL INDICATORS IN PREDICTING THE PRESENCE OF PATHOGENS IN SEA WATER

Efstratiou*, M.A., A. Mavridou
and S. C. Richardson*****

***Ministry of Agriculture, **The National School of Public
Health, ***Panteion University of Social and Political Sciences,
Athens, Greece**

Swimming in sewage polluted beach water could result in transmission of infectious diseases. The bacterial, viral, fungal and parasitic pathogens have the potential to cause illness in bathers. The direct search for pathogenic microorganisms from water samples in order to evaluate the health risks is a task that cannot be undertaken by the routine laboratory. Consequently in daily routine certain bacteria are used as indicators of bathing water quality. The classical indicators of faecal pollution, commonly and widely used, are total coliforms, faecal coliforms and faecal streptococci. This research project studies the reliability of these three indicators in detecting the presence of pathogens, originating in sewage polluted sea water, which have been incriminated as causes of health problems to bathers. These pathogens are *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. 303 samples from 21 stations along the northern coast of the Saronicos gulf, in Greece, were examined. Regression analysis was employed to correlate indicators with pathogens and determine the indicator that best predicts the presence of each of the pathogens. In areas of moderate pollution total coliforms were the best predictors of the presence of salmonellae and *S. aureus*, whereas faecal coliforms were the best predictors of *C. albicans*. In highly polluted waters the best predictors of salmonellae and *C. albicans* were faecal streptococci. In the 'unpolluted' areas the best predictors of the presence of *C. albicans* were total coliforms. The conclusion is reached that total coliforms are better predictors of the presence of *Salmonella* spp and the numbers of *S. aureus* than faecal coliforms and faecal streptococci in sea water suitable for recreation. Enumeration of total coliforms alone is sufficient to predict the presence of each of these two pathogens. *C. albicans* is best predicted by total coliforms and faecal coliforms.

**Η ΠΑΝΙΔΑ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΟΥΡΩΝ ΒΑΔΙΣΤΙΚΩΝ
ΔΕΚΑΠΟΔΩΝ (CRUSTACEA) ΤΟΥ ΑΙΓΑΙΟΥ: ΝΕΕΣ
ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ, ΛΙΣΤΑ ΤΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΩΝ ΕΙΔΩΝ,
ΠΑΝΙΔΙΚΕΣ ΣΥΓΚΡΙΣΕΙΣ**

Ζαΐρη, Ε., Μ. Μαβίδης και Α. Κούκουρας
Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 540 06, Θεσσαλονίκη

Από εκτεταμένες δειγματοληψίες που έγιναν στο Αιγαίο, με έμφαση στο βόρειο τμήμα του, συγκεντρώθηκε ένας σημαντικός αριθμός δειγμάτων (περισσότερα από 738 άτομα) από 63 σταθμούς διασπαρμένους στην περιοχή αυτή. Η εξέταση του υλικού αυτού αποκάλυψε την παρουσία 18 ειδών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής, από το σύνολο των 33 γνωστών μεσογειακών ειδών Μακρόουρων Βαδιστικών Δεκαπόδων, 22 είναι τώρα γνωστά από το Αιγαίο.

Με βάση την ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας και τα δεδομένα της έρευνας αυτής, δίνεται η βαθυμετρική και η γεωγραφική διανομή των γνωστών μεσογειακών ειδών στις κύριες περιοχές της Μεσογείου και τη Μαύρη Θάλασσα. Η αντίστοιχη πανίδα του Αιγαίου συγκρίνεται με εκείνες των άλλων περιοχών και συζητιούνται τα αποτελέσματα της σύγκρισης αυτής. Τέλος, για κάθε ένα είδος από αυτά που μελετήθηκαν δίνονται και συζητιούνται πληροφορίες σχετικές με τη μορφολογία, τη βιολογία και την οικολογία τους.

**THE FAUNA OF MACRURA REPTANTIA
(DECAPODA, CRUSTACEA) IN THE AEGEAN SEA:
NEW INFORMATION, CHECK LIST OF THE
MEDITERRANEAN SPECIES, FAUNAL
COMPARISONS**

Zairi, E., M. Mavidis and A. Koukouras

School of Biology, Department of Zoology, Aristoteleio
University of Thessaloniki, 540 06 Thessaloniki, Greece

Intensive sampling carried out in the Aegean Sea, and especially in its northern part, yielded a significant number of specimens (more than 738 individuals) collected from about 63 stations. The examination of this material revealed the presence of 18 species of Macrura Reptantia. According to the results of this study, 22 of the 33 species known up to date from the Mediterranean have been found in the Aegean Sea.

Based on review of the relevant literature and the data of the present research, the vertical and geographical distribution of the Mediterranean species in the main areas of the Mediterranean and the Black Sea is given. The fauna of the Aegean is compared with the corresponding fauna of the other Mediterranean areas and the results are discussed. Finally, for all the examined species, information concerning their morphology, biology and ecology is given and discussed.

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΜΙΚΡΟΠΥΡΗΝΩΝ ΣΕ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΑΤΟΜΩΝ ΠΟΥ ΕΚΤΙΘΕΝΤΑΙ ΣΕ ΟΡΓΑΝΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ

Ζαράνη, Φ.Ε., Π. Παπαζαφείρη, S. Lalchev* και **Α. Κάππας**

Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»,

Αγ. Παρασκευή Αττικής, Ελλάς, *University Hospital «Queen Giovanna», Sofia, Bulgaria

Μικροπυρήνες είναι θραύσματα χρωμοσωμάτων ή ολόκληρα χρωμοσώματα που «καθυστερούν» κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης και εμφανίζονται στο κυτταρόπλασμα μεσοφασικών κυττάρων σαν μικροί, επιπρόσθετοι πυρήνες. Οι μικροπυρήνες χρησιμοποιούνται σαν βιοδείκτες που σχετίζονται με τον βαθμό επικινδυνότητας διαφόρων γενοτοξικών περιβαλλοντικών χημικών ουσιών, όπως οι οργανικοί διαλύτες βενζόλιο, τολουόλιο και ακετόνη που μελετώνται στην παρούσα εργασία. *In vivo* κυτταρογενετική μελέτη πραγματοποιήθηκε σε δυο ομάδες γυναικών, μιας που εργάζονταν σε εργοστάσιο κατασκευής υποδημάτων στη Σόφια και άλλης που περιελάμβανε εργαζόμενες στο εργαστήριο χημείας ενός πετροχημικού εργοστασίου, με μέσο χρόνο έκθεσης 10 έτη. Οι κύριοι διαλύτες που εντοπίστηκαν ήταν τολουόλιο και ακετόνη, για την πρώτη ομάδα, 2-4 φορές πάνω από το επιτρεπτό όριο και μίγμα τολουολίου, ξυλόλης και βενζολίου για την δεύτερη ομάδα, σε συγκεντρώσεις μικρότερες του ανώτατου επιτρεπτού ορίου. Η μελέτη έγινε σε λεμφοκύτταρα περιφερεικού αίματος των ατόμων αυτών και έδειξε αύξηση της συχνότητας των μικροπυρήνων 2 έως 3 φορές περισσότερο του φυσιολογικού (control). Αντίθετα, *in vitro* μελέτη καλλιεργειών ολικού αίματος υγειών ατόμων, μη καπνιζόντων, δεν έδειξε ιδιαίτερη αύξηση των μικροπυρήνων μετά από επώαση 48 ωρών με τολουόλιο, ακετόνη, βενζόλιο και μίγμα των διαλυτών αυτών σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 1 έως 5 μM. Ενζυμική ενεργοποίηση των καλλιεργειών με εκχύλισμα από συκώτι αρουραίου (S9 πίχ, 10%, για 2 ώρες), δεν έδειξε επαγωγή μικροπυρήνων στα λεμφοκύτταρα των ατόμων αυτών. Τα αποτελέσματα αυτά δεν δείχνουν απ' ευθείας γενοτοξική δράση του τολουολίου, ακετόνης και βενζολίου, τουλάχιστο στις συγκεντρώσεις που υπάρχουν στα συνήθη εργασιακά περιβάλλοντα. Η ανίχνευση μικροπυρήνων σε λεμφοκύτταρα που λήφθηκαν από τους εργαζομένους μπορούν να εξηγηθούν από την χρόνια επίδραση αυτών των διαλυτών και επίσης από την συνεργιστική δράση άλλων χημικών που υπάρχουν σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

IDENTIFICATION OF MICRONUCLEI IN LYMPOCYTES OF INDIVIDUALS EXPOSED TO ORGANIC SOLVENTS

Zarani, F.E., P. Papazafiri, S. Lalchev* and A. Kappas

**Institute of Biology, National Research Center «Demokritos»,
Athens,*University Hospital «Queen Giovanna» Sofia, Bulgaria**

Micronuclei are acentric chromosome fragments or whole chromosomes that are left behind during mitotic cellular division and appear in the cytoplasm of interphase cells as small additional nuclei. Micronuclei are widely used as biomarkers related to the risk assessment of genotoxic environmental chemicals such as the organic solvents benzene, toluene and acetone that we used in the present work. *In vivo* cytogenetic study was performed in two groups of women; workers in a shoemaking factory in Sofia and technicians from a chemical laboratory of a petrochemical plant. The mean exposure time for both groups was over 10 years. The main pollutants of the working area for the first group were toluene and acetone in concentrations 2-4 times above the threshold limits. The group of technicians was exposed to under limit concentrations of toluene, xylene and benzene. The study was performed in whole blood lymphocytes taken from these individuals. The frequency of micronuclei that analysed was 2-3 times higher than controls. On the contrary, *in vitro* study of whole blood cultures of healthy, non smoking individuals did not show a significant increase of micronuclei after 48h treatment with toluene, acetone, benzene and mixtures of these solvents for concentrations 1-5mM. Enzymatic activation of the cultures with a rat liver microsomal suspension (10% S9 mix for 2h) did not show induction of micronuclei in the lymphocytes of these individuals. These results suggest that there is no direct genotoxic activity of toluene, acetone, and benzene, at least for the concentrations usually found in the working environments. The identification of micronuclei in lymphocytes taken by the workers could be explained by the chronic effect of these solvents and the synergistic effect of other chemicals that exist in low concentrations.

ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΣΤΟΥΣ ΙΧΘΕΙΣ

Ζαρκάδης¹, I.K., J.O. Sunyer² και Ι.Δ. Λάμπρης²

¹Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Πατρών, 261 10 Πάτρα, Ελλάς, ²Laboratory of Protein
Chemistry, School of Medicine, University of PENN,
Philadelphia, PA, USA

Το τρίτο συστατικό του Συμπληρώματος C3 αλληλεπιδρά με έναν μεγάλο αριθμό ξένων πρωτεΐνων, ορών, κυτταρικών επιφανειών και στις τρείς οδούς ενεργοποίησης του Συμπληρώματος. Μέχρι πρόσφατα η λειτουργικά ενεργή πρωτεΐνη C3 πιστεύετο ότι ήταν προϊόν ενός μοναδικού γονιδίου. Όμως έχει δειχθεί τελευταία ότι ιχθείς κατέχουν πολλαπλές μορφές ενεργών C3, σαν προϊόντα διαφορετικών γονιδίων. Ειδικώτερα η πέστροφα, τετραπλοειδές υπό διπλοειδοποίηση, έχει 3 ισομορφές του C3, 2 ισομορφές υπάρχουν στον κυπρίνο (carp), ενώ απαντούν 5 ισομορφές στον σπάρο (sea bream). Αυτή η εξέλιξη του C3 σε τρείς διαφορετικές οικογένειες ιχθύων, εξελικτικά σε απόσταση, δείχνει ότι ανεξάρτητα του μηχανισμού δημιουργίας των C3 ισομορφών και παρά τις μεγάλες διαφορές στην αμινοξική αλληλουχία, τα γονίδια αυτά σταθεροποιήθηκαν στο γονιδίωμα των οργανισμών αυτών και το σημαντικότερο, τα προϊόντα τους παραμένουν λειτουργικά. Μελέτες μας έχουν δείξει στους ιχθείς ότι τα μόρια C3 προσδένονται με διαφορετική ικανότητα σε διάφορες επιφάνειες που ενεργοποιούν την δράση του Συμπληρώματος. Οι C3 πρωτεΐνες δεν παράγονται μόνο από διαφορετικά γονίδια στην πέστροφα, αλλά εμφανίζουν επίσης υψηλό πολυμορφισμό. Ανάλογη κατάσταση εμφανίζουν τα μόρια C4, τα οποία ανήκουν στην περιοχή της MHC τάξης III στα θηλαστικά και σχετίζονται εξελικτικά με μόρια C3. Ισως οι ιχθείς παρουσιάζουν το αναπτυξιακό βήμα στο οποίο το C3 ήταν ακόμη μέρος της περιοχής του MHC τάξης III και ως εκ τούτου σημαντικά εναίσθητο σε πολυμορφισμούς. Υποθέτουμε, λοιπόν, ότι η δημιουργία μίας δομικής και λειτουργική ποικιλομορφίας C3 μορίων διαμορφώθηκε στους ιχθείς σαν μία στρατηγική επέκτασης της φυσικής ανοσίας και εξισορόπησης της περιορισμένης προσαρμοστικής ανοσοαπόκρισης.

COMPLEMENT DIVERSITY IN FISH

Zarkadis¹, I.K., J.O. Sunyer² and J.D. Lambris²

¹Laboratory of Biology, School of Medicine, University of Patras, 26110 Patras, Greece, ²Laboratory of Protein Chemistry, School of Medicine, University of PENN, Philadelphia, PA, USA

C3 is the best characterized and also the most versatile of all complement protein interacting with numerous serum, cell surface and foreign origin proteins. Until recently, the functionally active form of C3 was thought to exist in all species as the product of a single gene. However, it has recently been demonstrated that teleost fish possess multiple forms of functionally active C3 that are the products of several genes. More specifically, rainbow trout, a quasi-tetraploid species, contains three C3 isoforms, two isoforms there are in carp and gilthead seabream contains five isoforms of C3 molecule. This exceptional C3 diversity observed in three different fish families, very distant from one another in evolutionary time, suggests that regardless of the mechanisms that have generated these C3 isoforms and despite the great amino acid differences among them, the genes encoding these isoforms have become fixed into the genome of these animals and most importantly, their gene product have remained functional. Not only does C3 exist as the product of several genes, but it appears that some of these genes are quite polymorphic. This situation may be analogous to that of C4 which is also highly polymorphic. C4 resides within the MHC class III region and is evolutionary related to C3. Fish could represent the evolutionary stage at which C3 was still part of the MHC class III region and, therefore, highly susceptible to polymorphism. We hypothesize that the generation of structural and functional C3 diversity has evolved in teleost fish as a strategy for expanding their innate response and counteract the limitations of their adaptive immune response. The generation of diversity in C3 and Ig molecules has proceeded in opposite directions in fish and mammals.

ΙΣΤΙΚΗ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΙΑ: Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΑΥΞΗΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΜΗΤΡΑΣ

**Ζερβολέα, Ε., Δ. Κλέτσας, Χ. Πρατσίνης και Δ. Σταθάκος
Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, 153 10 Αθήνα**

Οι αυξητικοί παράγοντες θεωρούνται πρωταρχικής σημασίας στην ιστική ομοιοστασία, καθώς ρυθμίζουν τόσο την επούλωση της πληγής, όσο και την φυσιολογική αναπλήρωση του ιστού. Στην επούλωση της πληγής, η ομοιοστασία ρυθμίζεται κυρίως από τους παράγοντες που εκκρίνονται από τα αιμοπετάλια και άλλα ανοσοκύτταρα - πιο σημαντικοί των οποίων είναι ο Αυξητικός Παράγων εξ Αιμοπεταλίων (Platelet-Derived Growth Factor - PDGF), και ο Μετασχηματίζων Αυξητικός Παράγων-β (Transforming Growth Factor-beta - TGF-β). Ο μηχανισμός επούλωσης στο έμβρυο διαφέρει σημαντικά από αυτόν του ώριμου οργανισμού και στο κυτταρικό επίπεδο όπως έδειξε η μελέτη της δράσης των αυξητικών παραγόντων σε πλήρεις καλλιέργειες ανθρώπινων εμβρυϊκών ινοβλαστών, όπου ο TGF-β αναστέλλει την σύνθεση του DNA καθώς και τη μιτογόνο δράση του PDGF, ενώ σε κύτταρα από ώριμο δότη ο TGF-β είναι διεγερτικός. Όταν ινοβλάστες από ώριμο δότη καλλιεργήθηκαν σε τριδιάστατα πήγματα κολλαγόνου, ο TGF-β ανέστειλε τη σύνθεση του DNA, υποδεικνύοντας ότι η αλληλεπίδραση αυξητικών παραγόντων, κυττάρων και εξωκυττάριας μήτρας είναι αυτή που ρυθμίζει την ιστική επούλωση. Όπως επίσης διαπιστώσαμε, το εθισμένο μέσο καλλιέργειας ανθρώπινων ινοβλαστών (Conditioned Medium - CM) ρυθμίζει την σύνθεση του DNA κατά τρόπο αντίστοιχο αυτού του TGF-β. Παρ' ότι η σύνθετη φύση του CM απαιτεί περαιτέρω έρευνα, αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν πως οι ανθρώπινοι ινοβλάστες κατέχουν ένα αυτοκρινή ρυθμιστικό μηχανισμό που συνεισφέρει στην διατήρηση της ιστικής ομοιοστασίας. Τέλος, είναι ιδιαίτερα σημαντικό το γεγονός ότι εξωγενείς αλλά και αυτοκρινείς αυξητικοί παράγοντες ρυθμίζουν την ιστική επούλωση και στο επίπεδο της παραγωγής της εξωκυττάριας μήτρας, δεδομένου ότι επάγουν την παραγωγή των πρωτεΐνων της και συγχρόνως αναστέλλουν την έκφραση των μεταλλοπρωτεασών που την αποικοδομούν.

TISSUE HOMEOSTASIS: THE INTERPLAY OF GROWTH FACTORS AND THE EXTRACELLULAR MATRIX

Zervolea, Ir., D. Kletsas, H. Pratsinis and D. Stathakos

Institute of Biology, NCSR «Demokritos»,

153 10 Athens, Greece

Growth factors are considered of primary importance for tissue homeostasis, as they are involved both in wound repair, as well as in the normal tissue turnover. In the case of wound repair, homeostasis is regulated mainly by growth factors released by platelets and other inflammatory cells – most prominent being Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) and Transforming Growth Factor-beta (TGF- β). As the repair process in the fetus, characterized mainly by the absence of the collagenous scar formation, and hence fundamentally different from adult healing, we have studied the effect of growth factors in the regulation of cell proliferation at these two developmental stages. Interestingly, we have observed a striking difference between fetuses and adults also at the cellular level, as in confluent cultures of human fetal fibroblasts TGF- β inhibits DNA synthesis and the mitogenic effect of PDGF, while it is stimulatory for adult cells. However, when adult fibroblasts were cultured in 3-D collagen gels – which simulate the late granulation tissue - TGF- β was found to inhibit DNA synthesis, indicating that it is the interplay of growth factors, cells and extracellular matrix (ECM) that regulates the repair process in the adult tissue. Furthermore, culture medium conditioned by human fibroblasts (CM) regulates their DNA synthesis in a manner similar to that of TGF- β . Although the complex nature of CM requires further investigation, these data indicate that human fibroblasts dispose of an autocrine growth regulatory potential which provides them with a certain degree of autonomy in the maintenance of tissue homeostasis. Interestingly, exogenous, as well as autocrine growth factors were found to regulate tissue regeneration also at the level of ECM formation, as they induce the production of ECM proteins and at the same time inhibit the metalloproteases that degrade them.

**ΤΟΞΙΚΕΣ ΕΠΑΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ,
As, Cd & Hg, ΣΤΗΝ ΠΕΣΤΡΟΦΑ
*ONCORYNCHUS MYKISS***

**Ηλιοπούλου-Γεωργουδάκη, Ι. και Ν. Κότσανης
Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων,
Πανεπιστήμιο Πατρών 26 500 Πάτρα**

Σκοπός της εργασίας είναι η διερεύνηση του ρόλου των βαρέων μετάλλων As, Cd, & Hg στην καρκινογένεση των χθύνων με τη μέθοδο της μικροένεσης. Οι πέστροφες στην αρχή του πειράματος ευρίσκοντο στο στάδιο του λεκιθικού σάκου. Τα ψάρια χωρίστηκαν σε έξι ομάδες. Οι τρεις πρώτες ομάδες εκτέθηκαν μία μόνο φορά ξεχωριστά σε κάθε μέταλλο και με συγκεντρώσεις του ενέσιμου διαλύματος 0,2 mg As/kg, 0,5 mg Cd/kg & 0,5 mg Hg/kg αντίστοιχα μέσα στο λεκιθικό σάκο του μετεμβρύου. Στην τέταρτη ομάδα τα άτομα εκτέθηκαν σε 0,5 μl/ιχθύνδιο απιονισμένου νερού ενώ η πέμπτη ομάδα ήταν ομάδα ελέγχου και τα άτομα της δεν εκτέθηκαν σε καμία επεξεργασία. Τέλος, στην έκτη ομάδα τα άτομα απλά τρυπήθηκαν με τη βελόνα για να ελεγχθεί το ποσοστό της θνητιμότητας που οφείλεται στη διαδικασία της μικροένεσης. Κατά τη βιοψία παρατηρήθηκαν, μακροσκοπικά και μικροσκοπικά, λευκές αλλοιώσεις στις ομάδες του αρσενικού και του καδμίου, ενώ στην ομάδα του υδραργύρου παρατηρήθηκαν κάποιες εστίες κυτταρικών αλλοιώσεων μόνον μικροσκοπικά. Η ιστοπαθολογική ανάλυση έδειξε ότι οι αλλοιώσεις στο ήπαρ στη μεν ομάδα του As ήταν υπερπλαστικά ογκίδια στη δε ομάδα του Cd ήταν κοκκιώματα. Οι αλλοιώσεις στο νεφρό της ομάδας του As ήταν ινώματα αλλά βρέθηκαν και κοκκιώματα καθώς και σημεία νέκρωσης. Οι αλλοιώσεις στην ομάδα του Hg περιορίζοντο σε εκτεταμένες νεκρώσεις. Η αιματολογική ανάλυση, για συσχέτιση πιθανών διαταραχών των αιματολογικών παραμέτρων και της εμφάνισης των αλλοιώσεων, έδειξε ότι ο ολικός αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων και ο αριθμός των λεμφοκυττάρων ήταν αυξημένος στα άτομα που έφεραν τις αλλοιώσεις και διέφεραν στατιστικώς σημαντικά από τα κλινικά υγιή άτομα. Επίσης βρέθηκαν άτομα με άτυπα λεμφοκύτταρα, κυρίως στην ομάδα του As και του Cd. Η υπερπλασία θεωρείται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της καρκινογένεσης, συνεπώς μπορούμε να υποθέσουμε ότι οι υπερπλασίες που παρατηρήθηκαν θα μπορούσαν να εξελιχθούν σε καρκινώματα ή να συμβάλλουν στη διαδικασία της καρκινογένεσης. Τέλος το πειραματικό μοντέλο της πέστροφας με τη διαδικασία της μικροένεσης παρουσιάσθηκε πολύ ευαίσθητο ιδιαίτερα για το As και το Cd και λιγότερο για τον Hg, γεγονός που αποδεικνύει ότι οι χθύνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες της τοξικοπαθολογικής δραστηριότητας των βαρέων μετάλλων.

TOXIC EFFECTS OF ARSENIC, CADMIUM AND MERCURY AT EARLY STAGES OF THE RAINBOW TROUT, *ONCORYNCHUS MYKISS*

Iliopoulou-Georgudaki, J. and N. Kotsanis

Department of Biology, Section of Animal Biology,

University of Patras, Patras 26 500 Greece

A short term bioassay was conducted according to the rainbow trout carcinogenecity model, in order to investigate the role of three heavy metals (As, Cd, Hg) in fish carcinogenesis, using the trout microinjection technique. The specimens were separated in six groups. The three groups were treated separately by a single microinjection of the metallic solution directly into the sac-fry of the rainbow trout, at concentrations 0,2 mg As/kg, 0,5 mg Cd/kg and 0,5 mg Hg/kg respectively. The forth group was treated only with deionized water at a concentration of 0.5 μ l/sac-fry, while the fifth group was a control group without any treatment. In addition a sixth sham-injected group was created in order to observe the mortalities provoked by the needle itself. At the necropsy, white lesions were observed grossly and histologically on the liver and the kidney of the AsCl_3 +water and the CdCl_2 +water groups, while in the HgCl_2 +water group only cytolethalic lesions were observed. The histological examination revealed that the liver lesions observed in the arsenic group were hyperplastic nodules, while in the cadmium group they were interpreted as granulomas. The kidney lesions were large areas of fibrosis. Must be noted that granulomas and extensive necrosis were observed in the kidney and rarely in the liver of some specimens by arsenic treated group. In addition, an hematological analysis was conducted in order to be investigated the blood responses to the lesion induction. The total number of leucocytes and the number of lymphocytes were increased in the lesion-bearing fish. Furthermore, atypical lymphocytes were appeared in specimens of As and Cd group. Cell proliferation plays a key role in carcinogenesis, thus, it could be argued that the liver hyperplastic nodules which were observed could become neoplastic at some later stage or even could contribute to the carcinogenesis. Finally, the rainbow trout microinjection bioassay showed to be very sensitive to heavy metals in this six months test period, while our findings enforce the role of fish as indicators in metal toxicopathology.

**ΔΑΣΙΚΕΣ ΠΥΡΚΑΓΙΕΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ.
Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΗΣ ΜΕΓΑΛΗΣ ΠΥΡΚΑΓΙΑΣ ΤΟΥ
1983 ΣΤΗ ΣΑΜΟ**

**Θάνος, Κώστας, Α. και Στέλιος Μάρκου
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 15784**

Η μεγάλη πυρκαγιά της 7-9 Αυγούστου 1983, στη Σάμο, έκαψε μία συνολική έκταση περίπου 2000 ha πυκνού και ομήλικου (ca. 40 ετών) πευκοδάσους τραχείας πεύκης (*Pinus brutia*). Η φυσική μεταπυρική αναγέννηση των δασικών οικοσυστημάτων μελετάται κατά διαστήματα που καλύπτουν χρονικά το σύνολο της 15ετίας και θεματικά διάφορες πλευρές χλωριδικού, οικοφυσιολογικού, πληθυσμιακού και οικολογικού ενδιαφέροντος. Το κύριο πάντως βάρος της μελέτης δίδεται στην περιγραφή και διερεύνηση των προσαρμογών και οικοφυσιολογικών μηχανισμών που συμβάλλουν στην μεταπυρική επανάκαμψη του οικοσυστήματος. Ευνόητο είναι ότι στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος αυτού βρίσκεται η τραχεία πεύκη και οι οικοφυσιολογικοί της χαρακτήρες που μπορεί να συνοψισθούν ως εξής: /α/ φαινόμενο βραδυχωρίας και σχηματισμός επίγειας τράπεζας σπερμάτων, /β/ προστασία των σπερμάτων μέσα στους κώνους και μεταπυρική διασπορά, /γ/ ικανότητα μαζικής φύτρωσης σε θερμοκρασίες που επικρατούν κατά τη βροχερή περίοδο και προώθηση από το φως, /δ/ μαζική εμφάνιση αρτιβλάστων σε ένα κύριο κύμα νωρίς την άνοιξη (δευτερεύον κύμα στο τέλος του φθινοπώρου), /ε/ στρατολόγηση αρτιβλάστων μόνο κατά το πρώτο μεταπυρικό έτος με σημαντικό πλεονέκτημα επιτυχούς εγκατάστασης, /στ/ σημαντική επιβίωση του πληθυσμού των φυταρίων (ύστερα από 2-3 σημαντικές εξάρσεις θνητισμότητας σε συγκεκριμένες περιόδους) σε επίπεδο περίπου 40% του αρχικού (αρτιβλάστων) ή πυκνότητα περίπου 0.1 ανά m^2 (1000 κορμοί ανά ha), /ζ/ βραδεία και ευθύγραμμη κινητική της αύξησης για τα πρώτα 10 τουλάχιστον έτη με επακόλουθη επιτάχυνση και /η/ ταχεία μετάβαση του μεταπυρικού πληθυσμού στην αναπαραγωγική φάση (που προβλέπεται ότι συντελείται σε ηλικία 20 περίπου ετών).

FOREST WILDFIRES AND NATURAL REGENERATION. A STUDY CASE OF THE 1983 WILDFIRE IN SAMOS ISLAND

Thanos, Costas, A. and Stelios Marcou

Department of Botany, Faculty of Biology,

University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15784, Greece

The great wildfire of 7-9 August 1983 burned a total of 2000 ha of dense, 40-year-old, pine (*Pinus brutia*) forests in Samos island. Postfire, natural regeneration of the forest ecosystems has been investigated throughout the past, 15-year-long period; several issues have been covered: floristics, ecophysiological traits, population dynamics, ecosystem resilience. Nevertheless, particular emphasis has been given to the description and investigation of the various adaptations and ecophysiological mechanisms which contribute significantly to the postfire regeneration of the ecosystems. In these forests the key species is obviously *Pinus brutia*; therefore it is the ecophysiological traits of this species which are placed in the focus of the present study, and particularly those traits that are related to natural regeneration. These mechanisms and adaptations can be summarised: /a/ pine cone bradychory (serotiny) and development of a canopy seed bank, /b/ protection of seeds inside the cones and postfire dispersal, /c/ massive germinability at temperatures prevailing during the wet season and promotion by light, /d/ massive seedling appearance in a major wave early in spring (a secondary wave late in autumn), /e/ seedling recruitment exclusively during the first postfire year with a concomitant advantage for higher establishment success, /f/ considerable survival of the seedling and sapling population (after 2-3 important incidents of mortality at particular seasons) to a level around 40% of the initial seedling cohort (a density of 0.1 seedlings per m² or 1000 stems per ha), /g/ slow and linear kinetics of seedling/sapling growth during the initial 10 year period followed by an accelerated growth rate and /h/ rapid shift of the postfire sapling population to the reproductive stage (a gradual phase which is predictably completed 20 years after fire).

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ : Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ α_1 - ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΕ ΕΜΠΟΤΙΣΜΕΝΗ ΚΑΡΔΙΑ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ

Καθαρού, Ι., Σ. Σερασκέρης, Ε. Βασάρα και Α. Λάζου
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη

Η ισχαιμική προετοιμασία συνίσταται στην έκθεση του καρδιακού μυ σε μικρής διάρκειας ισχαιμία και επανεμποτισμό, γεγονός που καθιστά το μυοκάρδιο ικανό να αντιμετωπίσει ένα επικείμενο επεισόδιο παρατεταμένης ισχαιμίας με λιγότερες απώλειες. Στην παρούσα εργασία, επιλέχθηκε η φαινυλεφρίνη (α_1 -αγωνιστής) και εφαρμόστηκε ένα πειραματικό πρωτόκολλο αντίστοιχο της ισχαιμικής προετοιμασίας, προκειμένου να διαπιστωθεί αν η ουσία μιμείται το φαινόμενο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά από 30 λεπτά επανεμποτισμού που ακολούθησαν ίσης διάρκειας περίοδο ισχαιμίας, οι καρδιές που "προετοιμάστηκαν" με φαινυλεφρίνη (50μM) ανέπτυξαν πίεση αριστερής κοιλίας (LVDP) $74,0 \pm 2,0$ mmHg και παραγόμενο έργο ρυθμού-πίεσης (LVDPxHR) 16.416 ± 1.506 . Οι αντίστοιχες τιμές στους μάρτυρες ήταν $43,2 \pm 7,7$ και 12.975 ± 1.275 . Τα παραπάνω, σε συνδυασμό με τη βελτίωση του καρδιακού ρυθμού (HR) και την αποκατάσταση της στεφανιαίας κυκλοφορίας, συνηγορούν υπέρ της άποψης ότι η φαινυλεφρίνη μπορεί να προστατεύσει το μυοκάρδιο. Η προστασία αυτή χάθηκε όταν στο διάλυμα εμποτισμού προστέθηκε πραζοσίνη (100nM), ουσία-ανταγωνιστής των α_1 -υποδοχέων. Στη συνέχεια, έγινε προσπάθεια να διευκρινιστεί ο συγκεκριμένος υποτύπος των α_1 -αδρενεργικών υποδοχέων (α_{1A} , α_{1B}) μέσω του οποίου η φαινυλεφρίνη άσκησε τη δράση της. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν εξειδικευμένοι ανταγωνιστές, όπως 5-methyl-urapidil (MU, α_{1A} -ανταγωνιστής) και chloroethylclonidine-2HCl (CEC, μη αντιστρεπτός α_{1B} -ανταγωνιστής). Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι, το MU (100 nM), αντίθετα από το CEC (100μM), δεν ανέστειλε την προστατευτική δράση της ισχαιμικής προετοιμασίας, όταν χορηγήθηκε για 5 λεπτά πριν την παροδική ισχαιμία και τον επανεμποτισμό. Επιπρόσθετα, όταν το MU χορηγήθηκε σε προετοιμασμένη με φαινυλεφρίνη καρδιά, δεν παρεμπόδισε τη λειτουργική ανάκτηση της καρδιάς, όπως προέκυψε από την LVDP μετά από 30 λεπτά επανεμποτισμού ($67,0 \pm 2,5$ mmHg), σε αντίθεση με το CEC ($32,7 \pm 3,8$ mmHg). Συμπερασματικά, αν και η φαινυλεφρίνη φάνηκε να δρα μέσω των α_{1B} -υποδοχέων απομένει να διευκρινιστεί αν κατά την ισχαιμική προετοιμασία ενεργοποιούνται οι ίδιοι μηχανισμοί.

MECHANISMS OF ISCHEMIC PRECONDITIONING : THE ROLE OF α_1 -ADRENERGIC RECEPTORS IN PERFUSED RAT HEART

Katharou I, S. Seraskeris, E. Vasara and A. Lazou
Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology,
School of Biology, Aristotle University,
Thessaloniki 54006, Greece

Ischemic preconditioning is the exposure of the cardiac muscle in a low-duration ischemia and reperfusion, making myocardium capable of facing a subsequent insult of sustained ischemia. In the present study, we used phenylephrine (α_1 -agonist) and apply an experimental procedure, relative to ischemic preconditioning, in order to determine if the substance mimics the phenomenon. Results showed that, after 30 min of reperfusion following the same period of ischemia, hearts preconditioned with phenylephrine (50 μ M), developed left ventricular pressure (LVDP) $74,0 \pm 2,0$ mmHg and rate-pressure product (HR \times LVDP) 16.416 ± 1.275 . Values of controls were $43,2 \pm 7,7$ and 12.975 ± 1.275 , respectively. The above results taken together with the improvement of the heart rate (HR) and the recovery of the coronary flow, suggest that phenylephrine treatment may protect the myocardium. This protection was lost when prazosin (an α_1 -antagonist) was added in the perfusion buffer. In an attempt to discriminate between the α_1 -adrenergic receptors (α_{1A} -, α_{1B} -) subtypes on the basis of their involvement in the protective mechanism of preconditioning, specific antagonists, 5-methyl-urapidil (MU, α_{1A} -antagonist) and chloroethylclonidine-2HCl (CEC, non reversible α_{1B} -antagonist) were used. The results showed that, MU (100nM) did not inhibit the protection of ischemic preconditioning, in contrast to CEC, when provided for 5 min before transient ischemia and reperfusion. In addition, MU failed to prevent the functional heart recovery when added in phenylephrine preconditioned hearts, as assessed from LVDP values after 30 min of reperfusion ($67,0 \pm 2,5$ mmHg), in contrast to CEC (LVDP $32,7 \pm 3,8$ mmHg). In conclusion, although the protective effect of phenylephrine seems to be mediated through α_{1B} -adrenergic receptors, it has to be determined if the same pathways are activated during ischemic preconditioning.

**ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ
ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΕΝΑΝΤΙΑ ΣΤΙΣ ΒΛΑΒΕΣ ΑΠΟ
ΤΗΝ ΙΣΧΑΙΜΙΑ, ΣΕ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ
ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΡΔΙΑΣ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ**

Καθαρού, Ιωάννα, Αναστασία Νικολαΐδου,
Μαρία Παναγιωτίδου και Αντιγόνη Λάζου

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη

Στόχος της εργασίας ήταν η ανάπτυξη ενός μοντέλου ισχαιμικής προετοιμασίας σε απομονωμένα μυοκύτταρα καρδιάς, με σκοπό να μελετηθούν οι προστατευτικοί μηχανισμοί σε ομοιογενή πληθυσμό κυττάρων. Μετά την απομόνωση τους, τα κύτταρα υποβλήθηκαν σε μικρής διάρκειας ισχαιμία (10 λεπτά) πριν την έναρξη της παρατεταμένης ισχαιμικής περιόδου που διαρκούσε 10, 20 και 30 λεπτά. Προσδιορισμός της βιωσιμότητας των κυττάρων έδειξε ότι, μετά από 30 λεπτά ισχαιμία, το $84,79\% \pm 5,92$ των ισχαιμικά προετοιμασμένων κυττάρων παρέμειναν ζωντανά ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στα κύτταρα που δεν υποβλήθηκαν σε ισχαιμική προετοιμασία (μάρτυρες) ήταν $68,18\% \pm 3,27$. Διέγερση των αι-αδρενεργικών υποδοχέων μπορεί να "μιμηθεῖ" αποτελεσματικά το φαινόμενο της ισχαιμικής προετοιμασίας σε εμποτισμένη καρδιά. Προκειμένου να διευκρινιστεί αν οι παραπάνω υποδοχέις δρουν με τον ίδιο τρόπο και στα απομονωμένα κύτταρα, χρησιμοποιήθηκε νοραδρεναλίνη (NA) και φαινυλεφρίνη (PE) αντί της 10λεπτης ισχαιμικής προετοιμασίας. Διαπιστώθηκε ότι η βιωσιμότητα των κυττάρων (%) επιμήκη κύτταρα) ήταν $76,41\% \pm 3,18$ και $74,84\% \pm 5,78$ για τις παραπάνω ουσίες αντίστοιχα. Μετρήσεις του ενδοκυτταρικού pH έδειξαν ότι, τόσο η ισχαιμική προετοιμασία, όσο και η επίδραση NA διατήρησαν σε φυσιολογικά επίπεδα το pH μετά από 30 λεπτά ισχαιμίας, δίνοντας τιμές pH ίσες με $7,14 \pm 0,04$ και $7,09 \pm 0,05$, αντιστοίχως, σε αντίθεση με τους μάρτυρες ($6,86 \pm 0,03$). Απομένει να αποσαφηνιστεί ο τρόπος με τον οποίο επιτυγχάνεται η προστασία του κυττάρου από την οξεώση, μέσω των παραπάνω μηχανισμών.

PROTECTIVE EFFECT OF ISCHEMIC PRECONDITIONING AGAINST ISCHEMIC INJURIES, IN ISOLATED RAT HEART MYOCYTES

**Katharou, Ioanna, Anastasia Nikolaidou,
Maria Panagiotidou and Antigone Lazou**

**Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology,
School of Biology, Aristotle University,
Thessaloniki 540 06, Greece**

Ischemic preconditioning induced by a short period (2-5 min) of ischemia, followed by reperfusion (5-10 min), may confer myocardial protection against the progressive injuries during a following sustained period of ischemia. The purpose of the present study was the development of a model of ischemic preconditioning in isolated myocytes, in order to study the protective mechanisms in an homogeneous population of myocytes. After isolation, myocytes were subjected to a 10 min ischemia before a longer ischemic period of 30 min. Determination of the viability of the cells showed that, after 30 min of ischemia, $84,79\% \pm 5,92$ of ischemic preconditioned cells remained viable, while the same percentage in the untreated cells (controls) was $68,18\% \pm 3,27$. Stimulation of α_1 -adrenergic receptors can effectively mimic ischemic preconditioning in perfused hearts. In order to determine whether the above mentioned receptors function in the same way in isolated myocytes, we used noradrenaline (NA) and phenylephrine (PE) to precondition the cells instead of 10 min ischemia. The viability of myocytes preconditioned with NA and PE was $76,41\% \pm 3,18$ and $74,84\% \pm 5,78$ respectively. Determination of intracellular pH showed that in both ischemic and NA preconditioned myocytes, intracellular pH was maintained at a higher level ($pH 7,14 \pm 0,04$ and $7,09 \pm 0,05$ respectively at 30 min of ischemia) compared to non-preconditioned cells ($pH 6,86 \pm 0,03$). The molecular mechanisms responsible for the protection against acidosis remain to be determined.

ΗΛΙΟΤΡΟΠΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ *MALVA SYLVESTRIS* (MALVACEAE)

Καλαντζή, Σ., Π. Δρύλιας, Α. Κυπαρίσσης και Ι. Μανέτας
Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα

Το φυτό *Malva sylvestris* παρουσιάζει το φαινόμενο του ηλιοτροπισμού· τα ελάσματα των φύλλων του αλλάζουν προσανατολισμό κατά τη διάρκεια της ημέρας, ώστε να ακολουθούν την πορεία του ήλιου. Για την καταγραφή του προτύπου του ηλιοτροπισμού παρακολουθήσαμε το αζιμούθιο και την κλίση των φύλλων σε συνδυασμό με το αζιμούθιο και τη γωνία του ήλιου. Παράλληλα, μετρήθηκαν σε ημερήσια βάση: η ταχύτητα φωτοσύνθεσης, η ταχύτητα διαπνοής, η φωτοσυνθετική απόδοση του φωτοσυστήματος II, η θερμοκρασία φύλλου και αέρα και έγινε χρωματογραφική ανάλυση των καροτενοειδών του κύκλου των ξανθοφυλλών. Σκοπός αυτής της εργασίας ήταν η απόδοση κάποιας προσαρμοστικής αξίας στο φαινόμενο του ηλιοτροπισμού για το συγκεκριμένο είδος.

SOLAR TRACKING IN THE PLANT SPECIES *MALVA SYLVESTRIS* (MALVACEAE)

Kalantzi, S., P. Drilias, A. Kyparissis and Y. Manetas

**Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, University
of Patras, 26500 Patras, Greece**

Malva sylvestris is a diaheliotropic solar tracking plant; its leaves change their orientation following the movement of the sun through the day, maximizing the incident radiation. In order to follow the solar tracking pattern, we have made diurnal measurements of the leaf azimuth and angle in parallel with solar azimuth and elevation. Additionally, photosynthesis, transpiration, leaf and air temperatures, photosynthetic efficiency of photosystem II and the concentration of the xanthophyll cycle carotenoids were followed in a daily basis. The aim of this study was to reveal the possible adaptive significance of solar tracking in *Malva sylvestris*.

**ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΤΩΝ ΟΚΤΩ ΕΙΔΩΝ ΤΗΣ
ΥΠΟΟΜΑΔΟΣ *MELANOGASTER* ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ
DROSOPHILA (SOPHOPHORA), ΒΑΣΕΙ ΤΗΣ
ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΕΤΙΚΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ
ΚΥΡΙΩΝ ΧΟΡΙΟΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΛΕΠΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΟΥ ΚΕΛΥΦΟΥΣ ΤΟΥ
ΩΟΘΥΛΑΚΙΟΥ**

**Καλαντζή-Μακρή¹, Μ.Κ., Ι.Π. Τρουγκάκος¹, Ι. Σούρδης²
και Λ.Χ. Μαργαρίτης¹**

**¹Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας
Κυττάρου & Βιοφυσικής, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15701**

**²Γεωργικό Πανεπιστήμιο, Τμήμα Βιολογίας & Βιοτεχνολογίας,
Ιερά Οδός 75, Αθήνα 11855**

Οι φυλογενετικές σχέσεις των οκτώ ειδών της υποομάδας *melanogaster* του γένους *Drosophila* μελετήθηκαν βάσει, α. της ηλεκτροφορετικής κινητικότητας των έξι κύριων χοριονικών πρωτεΐνών και β. μετρήσεων της λεπτής δομής του κελύφους των γεννημένων ωθυλακίων. Τα φυλογενετικά σχήματα που προέκυψαν χρησιμοποιώντας ως κριτήριο την κινητικότητα των κύριων χοριονικών πρωτεΐνών έδειξαν δύο κύριες ομαδοποιήσεις, όπου ομαδοποιούνται τα είδη των συμπλεγμάτων *melanogaster* και *yakuba*. Οι ομαδοποιήσεις αυτές αλλά και οι ομαδοποιήσεις που παρατηρήθηκαν εντός κάθε συμπλέγματος είναι σε απόλυτη συμφωνία με τη ισχύουσα φυλογένεια των ειδών της υποομάδας όπως αυτή προέκυψε βάσει άλλων κριτηρίων όπως της ακολουθίας μιτοχονδριακού ή γενομικού DNA, αλλοενζύμων κτλ. Αντίθετα τα φυλογενετικά σχήματα που προέκυψαν από τις μετρήσεις της λεπτής δομής του κελύφους του ωθυλακίου των ειδών, δείχνουν μικρό βαθμό ομολογίας με φυλογενετικά σχήματα βάσει άλλων κριτηρίων. Συμπερασματικά μπορούμε να αναφέρουμε, ότι η ηλεκτροφορετική κινητικότητα των κύριων χοριονικών πρωτεΐνών (παρά το γεγονός ότι χρησιμοποιήθηκαν μόνο έξι πρωτεΐνες) μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν αξιόπιστος δείκτης για τη μελέτη των φυλογενετικών σχέσεων ειδών του γένους *Drosophila*, ενώ η λεπτή δομή του κελύφους του ωθυλακίου αντανακλά σε μικρό βαθμό τις φυλογενετικές σχέσεις των ειδών και σχετίζεται κύρια με την οικολογία των ειδών και το υπόστρωμα απόθεσης των γεννημένων ωθυλακίων.

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF THE EIGHT SPECIES IN THE *MELANOGASTER* SUBGROUP OF THE GENUS *DROSOPHILA* (*SOPHOPHORA*), BASED ON ELECTROPHORETIC DATA OF THE MAJOR CHORION PROTEINS AND THE EGGSHELL STRUCTURE

**Kalantzi-Makri¹, M. C., I.P. Trougakos¹, J. Sourdis²
and L.H. Margaritis¹**

¹University of Athens, Department of Biology, Division of Cell Biology & Biophysics, Panepistimiopolis, Athens 15701, Greece

²Agricultural University of Athens, Department of Biology & Biotechnology, Iera Odos 75, Athens 11855, Greece

We are studying the phylogenetic relationships of the eight species that belong to the *melanogaster* subgroup of the *melanogaster* species group (*Drosophilidae*) using as criteria; a. the electrophoretic mobility of the six major chorion proteins following in vitro labeling with H³-Pro and SDS-PAGE fluorography and b. measurements of the eggshell structure (obtained by Transmission and Scanning Electron Microscopy) at the laid eggs. The phylogenetic trees obtained utilizing the electrophoretic mobility of the major chorion proteins show two major clusters, where the species of the *melanogaster* and the *yakuba* complexes are grouped. This clustering, as well as, the species phylogenetic relationships in each complex are in agreement to the generally accepted phylogeny of the subgroup based on other criteria such as mitochondrial or genomic DNA sequences, alloenzymes, etc. In contrast the phylogenetic trees based on measurements of the eggshell structure, show limited degree of homology (although some major relationships still exist) with the phylogeny obtained from our biochemical data, as well as, with phylogenies based on the other criteria. We conclude thus, that the electrophoretic mobility of the major chorion proteins (despite the fact that only six proteins are used) can be considered as a faithful phylogenetic probe for studying the phylogenetic relationships of *Drosophilidae*, whereas the eggshell structure apart from the phylogenetic relationships of the species mainly reflects the ecological adaptations of the species to the niche that the eggs are laid.

ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ *APHIS NERII* ΑΠΟ ΤΟ ΜΥΚΗΤΑ *ULOCLADIUM BOTRYTIS*

Καλόσακα, Κ. και Χ. Χριστιάς

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας
Κυττάρου και Ανάπτυξης, Ρίο 26500, Πάτρα

Ο βιολογικός έλεγχος εντόμων που προκαλούν ασθένειες στα φυτά, αποτελεί μια σημαντική διέξοδο στην αλόγιστη χρήση των εντομο-κτόνων που επιβαρύνουν το περιβάλλον. Πολλοί μύκητες είναι γνω-στοί ως εντομοπαθογόνοι, δηλαδή έχουν την ικανότητα να προσβάλ-λουν και τελικά να θανατώνουν επιβλαβή έντομα οπότε και χρησιμο-ποιούνται για τη βιολογική καταπολέμησή τους. Το *Ulocladium botrytis* απομονώθηκε στο εργαστήριο μας και αποδείχθηκε ότι είναι ισχυρό παθογόνο των αφίδων (μελίγκρα). Η παρούσα εργασία αφορά τη μελέτη της πορείας της παθογένεσης που προκαλεί το *U. botrytis* στις αφίδες με τη χρήση οπτικού, και ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM). Αφίδες του είδους *Aphis nerii* διατηρήθηκαν στο εργαστήριο καθ'όλη τη διάρκεια του έτους σε νεαρά φυτά πικροδάφ-νης μέσα σε ειδικούς κλωβούς σε θερμοκρασία 25-28 °C, 16 ώρες φωτοπερίοδο και σχετική υγρασία περίπου 40 %. Το *U. botrytis* αναπτύχθηκε σε τρυβλία με φτωχό θρεπτικό υλικό από εκχύλισμα πατάτας που επάγει το σχηματισμό σπορίων σε θερμοκρασία επίσης 25-28 °C και φυσικό φωτισμό. Τα πειράματα μόλυνσης έγιναν σε σταθερές συνθήκες φωτός (16 ώρες φωτοπεριόδος), 100 % σχετική υγρασία και 25 °C. Η διαδικασία μόλυνσης περιλαμβάνει με τη σειρά τα ακόλουθα στάδια: Εναπόθεση 5-10 σπορίων στη επιφάνεια του εξωσκελετού της αφίδας και στη συνέχεια επώαση για 12- 72 ώρες. Μέσα σ' αυτό το χρονικό διάστημα τα σπόρια βλαστάνουν, δημιουργείται το μυκήλιο που σε ορισμένες θέσεις πάνω στη επιφάνεια του εντόμου διαφοροποιείται και σχηματίζει τη πλάκα σύνδεσης (απρεσ-σόριο), μετά μέσω της υφής διάτρησης εισέρχεται στο εσωτερικό του εντόμου όπου και αναπτύσσεται στους ιστούς του ξενιστή. Είναι εντυπωσιακή η λείανση της επιφάνειας της αφίδας, στο σημείο σχηματισμού της πλάκας συγκράτησης που υποδεικνύει τη δράση ενζύμων που διευκολύνουν τη διείσδυση του μύκητα στο ξενιστή του. Πειράματα προσδιορισμού χιτινασών που εμπλέκονται στη πιο πάνω διαδικασία βρίσκονται σε εξέλιξη. Η τελική νέκρωση της αφίδας μετά από τη προσβολή του *U. botrytis*, επιβεβαιώνει τη δυνατότητα χρησι-μοποίησης του μύκητα αυτού για τον βιολογικό έλεγχο των αφίδων.

PARASITISM OF APHIS NERII BY THE FUNGUS ULOCLOADIUM BOTRYTIS

Kalosaka, K. and C. Christias

**University of Patras, Department of Biology, Section of Cell
Biology and Development, Rio 26500, Patras, Greece**

Biological control of insect pests provides an alternative to the excessive use of insecticides which causes serious environmental pollution problems. Many fungi are known to be entomopathogenic, i.e. they have the ability to attack and eventually kill harmful insects. Thus, they can be used to control insects biologically. The fungus *Ulocladium botrytis*, was isolated in our laboratory and has been proved to be highly pathogenic to aphids. The present work is concerned with the study of the progress of pathogenesis caused by *U. botrytis* to aphids with the use of light and scanning electron microscopy (SEM). *Aphis nerii* were kept in the laboratory throughout the year, on young oleander plants in specific cages, at 25-28 °C, 16 hours photoperiod and relevant humidity approximately 45 %. The fungus *U. botrytis* was also grown at 25- 28 °C under natural light, in Petri dishes on a poor growth medium from potato extract which induces the formation of spores. The infection experiments were carried out under constant conditions of light (16 hours photoperiod), relative humidity (100 %) and temperature (25 °C). The infection process consists of the following stages: Inoculation with 5-10 spores on the cuticle surface of the aphid and incubation for 12-72 hours. During this period of time the spores were germinated, the mycelium was formed and at certain places of the aphid's cuticle the mycelium was differentiated to form appressoria. Then penetration occurred through the infection peg into the insect where it grew on the tissues of the host. The smoothing of the cuticle surface, on the places where the appressoria were formed is characteristic and indicates an enzymatic action which facilitates the penetration of the fungus into its host. Experiments to identify chitinases that participate in the above process are in progress. The inevitable death of the aphids was followed by profuse mycelial growth and sporulation which covered the entire insect. The results hetherto obtained suggest that *U. botrytis* may be a good candidate for the biological control of aphids.

ΚΟΙΝΩΝΙΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΛΗΨΕΙΣ ΠΕΡΙ ΗΟΙΚΗΣ: ΚΡΙΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

Καμπούρογλου, Β., Κ. Κορφιάτης και Γ. Π. Στάμον
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη

Τα τελευταία χρόνια επιχειρείται στο χώρο της φιλοσοφίας της βιολογίας, η εφαρμογή της νεοδαρβινικής θεωρίας της εξέλιξης στην κατανόηση των ηθικών κανόνων. Η προσπάθεια αυτή συνδέεται με την αναβίωση στη δεκαετία του '90 των κοινωνιοβιολογικών αντιλήψεων που παρουσιάστηκαν για πρώτη φορά κατά τη δεκαετία του '70. Για κάποιους κοινωνιοβιολόγους οι οργανισμοί δεν είναι παρά μηχανές επιβίωσης των γονιδίων τους, τα οποία ενεργούν με μοναδικό κριτήριο την αύξηση των πιθανοτήτων επιβίωσης τους, ενώ κάποιοι άλλοι προσπαθούν να αιτιολογήσουν την ύπαρξη γενετικής βάσης της ανθρώπινης ηθικής στηριζόμενοι στη κοινή βιολογία των οργανισμών και στην οικουμενικότητα κάποιων χαρακτηριστικών συμπεριφορών και αντίστοιχων ηθικών κανόνων, που εξυπηρετούν τη μεγιστοποίηση της Δαρβινικής προσαρμοστικότητας του ανθρώπου. Από την άλλη πλευρά, υπάρχει η άποψη ότι ο άνθρωπος δεν είναι αμετάκλητα καθορισμένος από το γένωμά του. Πειραματικές μελέτες αλλά και μελέτες εκτός εργαστηρίου αποκλείουν τον ισχυρισμό ότι το DNA καθορίζει την κοινωνική δομή. Αντίθετα, είναι δυνατό να τεκμηριώσουμε την ύπαρξη πολιτισμικής επιρροής που συντελλεί στη μορφή που θα έχουν οι ηθικοί κώδικες του κάθε πληθυσμού. Επιπλέον, από πολιτισμική άποψη δεν μπορεί να θεωρηθεί η αναπαραγωγική επιτυχία ως ο μόνος σκοπός της ανθρώπινης ηθικής. Η θέση που θα υποστηριχθεί σε αυτή την ανακοίνωση είναι ότι οι κοινωνιοβιολόγοι δεν παρέχουν επαρκείς αποδείξεις για την ύπαρξη γονιδίων που καθορίζουν ένα συγκεκριμένο πεδίο συμπεριφορών. Αντιθέτως, υπάρχει πληθώρα στοιχείων που αναδεικνύουν την σπουδαιότητα της κοινωνικής συνιστώσας της ανθρώπινης υπόστασης στη διαμόρφωση της συμπεριφοράς των ανθρώπων και εξηγούν την ποικιλότητα της.

SOCIOBIOLOGICAL ARGUMENTS ABOUT MORALITY: A CRITICAL APPROACH

Kambouroglou, V., K. I. Korfiatis and G. P. Stamou

**Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University,
Thessaloniki, Greece**

The last few years attempts have been made, in the area of philosophy of biology, for the application of neo-Darwinian theory of evolution at the comprehension and interpretation of ethical rules. This effort is relevant with the revival, in the decade of 90's, of the sociobiological beliefs which were initially appeared in 70's. For some sociobiologists all human and non-human beings are nothing but machine-carriers of their genes, whose unique purpose is the increasing of their possibilities for survival. Some other sociobiologists, try to justify their arguments for the genetic basis of human ethics based on the common biology of organisms and on the universality of particular behaviours and relevant ethical laws which, according to their argumentation, serve for the maximization of Darwinian adaptability of humans. On the other hand, an alternative view suggests that humans aren't determined by their genome. Experimental evidence as well as sociological researches reject the claim that DNA determines the social structure. On the contrary, it is possible to document that is the cultural influence which contributes to the formation of the ethical codes of human populations. Moreover, from the cultural point of view, reproductive success cannot be regarded as the unique purpose of human ethics. The argument which will be supported at this presentation is that sociobiologists do not provide sufficient evidence for the existence of genes determining a specific spectrum of behaviour. Instead, there is plentiful evidence which establish the importance of social component of human nature for the development of human behaviour, as well as for the explanation of the diversity of ethical rules.

ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΕ ΜΕΣΣΗΝΙΑΚΑ ΚΡΑΝΙΑ ΤΗΣ ΜΥΚΗΝΑΪΚΗΣ ΠΕΡΙΟΔΟΥ (1350-1150 Π.Χ.)

**Καπετανάκη, Μ. Γ., Χ-Κ. Δ. Τσαπαρδώνης και Σ. Κ. Μανώλης
Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84 Αθήνα**

Επιπρόσθετα με τις μετρήσεις που επικεντρώνονται στο μέγεθος ή στο σχήμα των οστών του κρανίου, κάθε οστό μπορεί να εμφανίσει ποικιλομορφίες είτε στις ραφές είτε στην επιφάνειά του, οι οποίες είναι γνωστές ως επιγενετικά μη-μετρήσιμα χαρακτηριστικά. Το είδος της ποικιλομορφίας μπορεί να ερμηνευθεί ως φαινοτυπική ή ατομική ποικιλομορφία λόγω διαφορών στην οστεοποίηση, στο σχηματισμό των κέντρων οστεοποίησης ή στη δίοδο νεύρων ή φλεβών. Κανονικά, τέτοιοι χαρακτήρες μπορούν να καταγραφούν είτε ως παρόντες είτε ως απόντες αν και όταν είναι παρόντες για μερικά γνωρίσματα είναι δυνατόν να παρατηρούνται διαβαθμιζόμενες μορφές. Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι αυτό το είδος της ποικιλομορφίας στο ανθρώπινο κρανίο είναι σε μεγάλο βαθμό γενετικά καθοριζόμενο, αν και επίσημα αυτό έχει επιδειχθεί σε μερικές μόνο περιπτώσεις στον άνθρωπο. Τα παραπάνω είναι χρήσιμα για την περιγραφή της ποικιλομορφίας στον ανθρώπινο πληθυσμό. Στην παρούσα δημοσίευση παρουσιάζεται η κατανομή μερικών μη-μετρήσιμων χαρακτηριστικών ενός προϊστορικού πληθυσμού της Μεσσηνίας (Πύλος). Εξετάσθηκαν 119 ανθρώπινα κρανία που ανήκουν και στα δύο φύλα. Από τα επιγενετικά χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν, παρατηρήθηκαν σε μεγάλα ποσοστά (και στα δύο φύλα) το ρινικό, υπερκογχικό και ζυγωματικό - προσωπικό τρήμα. Σε μικρότερα ποσοστά παρατηρήθηκαν το βρεγματικό οδοντωτό τόξο, το οστάριο στο αστέριο και στο λάμδα. Ωστόσο γνωρίσματα που εμφανίζονται με διακυμάνσεις σε άλλους πληθυσμούς και δεν απαντώνται στο συγκεκριμένο δείγμα είναι το ινιακό - μαστοειδές, λεπιδοειδές - βρεγματικό και στεφανιαίο οστάριο, το βρεγματικό και επιπτερικό οστό, το os japonicum, η διπλή κονδυλική γλήνη, το βοηθητικό υποκογχικό τρήμα και η μετωποκροταφική άρθρωση. Αξιοσημείωτο ωστόσο είναι το γεγονός ότι γνωρίσματα όπως ο μετωπισμός έδωσαν ποσοστά παρόμοια με αυτά που υπάρχουν για όλους τους πληθυσμούς παγκοσμίως.

NON METRIC TRAITS IN MESSENIAN SKULLS OF THE MYCENEAN AGE (1350-1150 B.C.)

Kapetanaki, M.G., C.-K. D. Tsapardonis and S.K. Manolis

Division of Animal & Human Physiology, Department of

Biology, Athens University, Panepistimiopolis,

157 84 Athens, Greece

In addition to measurements regarding size or shape of the cranial bones, each bone may exhibit variations along its borders or on the bony surface, which are known as epigenetic (non-metric) traits. This kind of variation may be explained as phenotypical or individual variation due to differences in ossification, formation of ossification centres, or in the passage of nerves or vessels. Normally, such characters can only be recorded as either present or absent, though when present, for some traits a graded expression may be observed. There are no indications that much of this kind of variation in the human skull is genetically determined, though formally this has been demonstrated in only a few cases in humans. These are useful for describing the human variability. In this paper we present the distribution of some non-metric traits in a prehistoric population of Messenia (Pylos). We examined 119 human skulls of both sexes. From the epigenetic traits that have been studied the nasal, supra-orbital and zygomatic-facial foramen were observed in high rates (in both sexes), while the parietal notch bone, the ossicle at asterion and on the ossicle at lambda were observed in decreased rates. Nevertheless, traits that are present in other populations in a graded expression and are absent in this specific sample, are the occipito-mastoid, squamons parietal and coronal ossicle, the bregmatic and epipteritic bone, the os japonicum and the fronto-temporal articulation. The fact that traits such as metopism, present percentages quite similar to those existing for all the populations globally is remarkable.

**ΔΙΑΔΟΧΗ ΤΗΣ ΒΕΝΘΙΚΗΣ ΒΙΟΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΣΕ
ΞΥΛΙΝΑ ΔΟΚΙΜΙΑ ΕΜΠΟΤΙΣΜΕΝΑ ΜΕ
ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΟ ΞΥΛΟΥ CCA**

**Καραγιάννη, Ήρα, Κωνσταντίνος Αρ. Κορμάς
και Άρτεμις Νικολαΐδου**

**Τομέας Ζωολογίας - Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84 Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα**

Για να αποφευχθεί η διάβρωση από βακτήρια, μύκητες και διαπερώντες μακροβενθικούς οργανισμούς, ξύλινες κατασκευές βυθισμένες στη θάλασσα εμποτίζονται με συντηρητικά, το πιο κοινό από τα οποία είναι το CCA (χαλκός, χρώμιο, αρσενικό). Εξετάζεται η επίδραση του CCA στην εγκατάσταση και εξέλιξη επιβενθικών βιοκοινωνιών. 96 ξύλινα δοκίμια διαστάσεων $20 \times 10 \times 2,5$ cm εμποτισμένα με CCA σε συγκεντρώσεις 12, 24, και 48 Kg m⁻³ καθώς και μάρτυρες εγκαταστάθηκαν σε βάθος 1 m στο Παλαιό Φάληρο τον Ιούλιο 1995. Ανά μία εβδομάδα στους 10 πρώτους μήνες και ανά 15 ημέρες αργότερα τα δοκίμια ανασύρονταν και γινόταν καταμέτρηση των ευμεγέθων μονήρων οργανισμών και εκτίμηση του ποσοστού κάλυψης από τα αποικιακά είδη. Μετά από 12 μήνες αφαιρέθηκαν 24 δοκίμια και αναλύθηκαν στο εργαστήριο. Προσδιορίστηκαν συνολικά 26 τάξα με επικρατέστερους τους Πολύχαιτους της οικογένειας *Serpulidae*. Οι μάρτυρες παρουσίασαν το μεγαλύτερο αριθμό ειδών (17) αλλά το μικρότερο αριθμό ατόμων. Στις συγκεντρώσεις 12 και 24 Kg m⁻³ ανευρέθησαν αντίστοιχα 14 και 16 είδη ενώ στην υψηλότερη συγκέντρωση 48 Kg m⁻³ μόνο 9 είδη. Μόνο οι μάρτυρες προσβλήθηκαν από το Δίθυρο *Teredo* και άρχισαν να θρυμματίζοντα μόλις τρεις μήνες μετά την εγκατάσταση των δοκιμών. Ανάλυση των Κυρίων Συνιστώσων έδειξε το ίδιο πρότυπο μεταβολής της βιοκοινωνίας -κυρίως εποχιακό- και στις τρεις συγκεντρώσεις στους 18 μήνες του πειράματος, με ποσοτικές κυρίως διαφορές: δοκίμια με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση συντηρητικού έδειξαν τη μικρότερη εποχιακή διακύμανση.

SUCCESSION OF A BENTHIC COMMUNITY ON WOODEN PANELS IMPREGNATED WITH CCA WOOD PRESERVATIVE

**Karagianni, Ira, Konstantinos Ar. Kormas
and Artemis Nicolaïdou**

**Division of Zoology - Marine Biology, Department of Biology,
University of Athens, 157 84 Panepistimiopoli, Athens, Hellas**

To avoid deterioration by bacteria, fungi and benthic borers, wooden constructions submerged into the sea are treated with wood preservatives, the most widely used being CCA (Chromated copper arsenate). The effect of CCA on the colonisation and succession of an epibenthic community is studied. 96 wooden panels, 20x10x2.5 cm, impregnated with CCA at concentrations of 0, 12, 24 and 48 Kg m⁻³ were submerged at Palaeo Faliro, in July 1995. The panels were examined weekly in the first 10 months and twice a week for the rest of the experimental period. The larger solitary animals were counted while for the rest the percentage cover of the panel was estimated. Twelve months after submersion 24 panels were removed and examined in the laboratory. A total of 26 taxa were identified among which polychaetes of the family *Serpulidae* dominated. The controls showed the larger number of species (17) but the lowest number of individuals. On panels with CCA concentrations 12 and 24 Kg m⁻³ 14 and 16 species were observed respectively, while at 48 Kg m⁻³ only 9 species were found. Only the controls were affected by the boring bivalve *Teredo* and started to break up only three months after submersion. Principal Components Analysis showed the same pattern of community change in the three CCA concentrations with quantitative differences only: panels with the highest CCA concentration showed the smallest seasonal variation in the 18 months of the experiment.

**ΕΠΙΤΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΒΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΤΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΗ
ΑΜΥΝΑ ΤΟΥ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟΥ ΑΕΙΦΥΛΛΟΥ
ΣΚΛΗΡΟΦΥΛΛΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *CERATONIA SILIQUA*
(ΟΙΚ. *CEASALPINIACEAE*)**

**Καραγκούνη, Ξ., Μ. Κούκη και Ι. Μανέτας
Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα**

Η χαμηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά, η έντονη σκληροποίηση και η υψηλή επένδυση σε δευτερογενείς μεταβολίτες θεωρούνται τυπικά αμυντικά γνωρίσματα για τα αείφυλλα σκληρόφυλλα. Οι κυριότερες σύγχρονες απόψεις για την επένδυση των φυτών σε αμυντικούς δευτερογενείς μεταβολίτες προβλέπουν μεταβολές στην ποιότητα και ποσότητα της χημικής άμυνας των φυτών σε σχέση με τη στρατηγική ζωής τους (βραδυαυξή, ταχυαυξή, μακρόβια, βραχύβια), τη διαθεσιμότητα των φυσικών πόρων (θρεπτικά, φως, νερό) και τις εκάστοτε εξωγενείς πιέσεις ανταγωνιστών ή / και καταναλωτών. Η μελέτη δύμως της διαθεσιμότητας των περιβαλλοντικών πόρων (φωτός, νερού και θρεπτικών) σε σχέση με την επένδυση σε χημική (ολικά φαινολικά, ταννίνες) και μηχανική (ειδική μάζα φύλλων - SLM, σκληρότητα - toughness) άμυνα και ταυτόχρονα σε σχέση με αυξητικά χαρακτηριστικά, δεν έχει ακόμα πραγματοποιηθεί σε μεσογειακά αείφυλλα σκληρόφυλλα είδη. Επιλέξαμε λοιπόν το είδος *Ceratonia siliqua* ως τυπικό αντιπρόσωπο των μεσογειακών αειφύλλων σκληροφύλλων, για τη μελέτη των επιπτώσεων της λίπανσης, της σκίασης και της υδατικής καταπόνησης σε αυξητικές και αμυντικές παραμέτρους του.

**EFFECTS OF ENVIRONMENTAL ABIOTIC FACTORS
ON CHEMICAL AND MECHANICAL DEFENSIVE
CHARACTERISTICS OF THE MEDITERRANEAN
EVERGREEN SCLEROPHYLL SPECIES *CERATONIA*
SILIQUA (CEASALPINIACEAE)**

Karagouni, X., M. Kouki and Y. Manetas

**Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology,
University of Patras, Patras, Greece**

Low nutritional value, sclerification and high concentrations of secondary metabolites are considered as typical defensive characteristics for the evergreen sclerophylls. The quality and quantity of plants defensive characteristic is strongly related to their life strategy (fast or slow growing plants, long or short lived), the availability of the environmental resources (nutrients, light and water) and the pressure of competitors or consumers. The effects of resource availability (light, nutrients and water) in relation to the investment in chemical (total phenolics and tannins) and mechanical (Specific Leaf Mass and toughness) defense has not yet been well studied in mediterranean evergreen sclerophyll species. *Ceratonia siliqua* was selected as a representative species for the evaluation of the effects of nutrition, light and water stress, on growth and defensive parametres.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ 2-4 ΔΙΝΙΤΡΟΦΑΙΝΟΛΗΣ ΣΤΗ ΜΥΚΗΛΙΑΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΤΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΣΚΛΗΡΩΤΙΩΝ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *SCLEROTIUM ROLFSII*

**Καρακατσάνης, Ι., Κ. Καλόσακα και Χ. Χριστιάς
Πάνεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας
Κυττάρου και Ανάπτυξης, Ρίο 26500, Πάτρα**

Ο μύκητας *S. rolfsii* είναι φυτοπαθογόνος και παρασιτεί τουλάχιστον 100 οικογένειες φυτών μεταξύ των οποίων καλλιεργήσιμα είδη όπως η πατάτα (*Solanum tuberosum*), το καρότο (*Daucus carota*) κ.ά. Η παρασιτική του δράση προκαλεί οικονομική καταστροφή. Η 2-4 δινιτροφαινόλη (2-4 D), είναι γνωστός αποσυζευκτής της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, έχει χρησιμοποιηθεί ως ζιζανιοκτόνο και επίσης έχει βρεθεί ότι επηρεάζει το σχηματισμό σκληρωτίων σε στελέχη μη σκληρωτιογόνα της *Rhizoctonia solani*. Στη παρούσα εργασία μελετήθηκε η δράση της 2-4 D στα στελέχη R και A του σκληρωτιογόνου μύκητα *S. rolfsii* και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η 2-4 D α) επιβράδυνε τη μυκηλιακή ανάπτυξη και στα δύο στελέχη και η επιβράδυνση αυτή ήταν ανάλογη με τη συγκέντρωση της ουσίας. Επιπλέον στο στέλεχος R, παρεμπόδισε τη μυκηλιακή ανάπτυξη σε συγκέντρωση 5×10^{-5} M. β) μείωσε τον αριθμό των σκληρωτίων, μέχρι το 27 % και το 28 % του μάρτυρα στο στέλεχος R και A αντίστοιχα, γ) μείωσε το ολικό ξηρό σκληρωτιακό βάρος μέχρι το 50 % και το 55 % της τιμής του μάρτυρα αντίστοιχα για το στέλεχος R και A. Από τη μελέτη του ED₅₀ και για τα δύο στελέχη βρέθηκε ότι η 2-4 D είχε διττή δράση στην ανάπτυξη του μύκητα. Το γεγονός αυτό συσχετίσθηκε με τη μεταβολή του pH στο θρεπτικό μέσο, που συμβαίνει με την ανάπτυξη του μυκηλίου και επηρέασε τη συγκέντρωση της ανιονικής και πρωτοιομένης μορφής της 2-4 D, (pK 4.0). Από πειράματα ανάπτυξης του μύκητα σε σταθερό pH, φαίνεται ότι η ανιονική μορφή αναστέλλει τη μυκηλιακή ανάπτυξη και μειώνει τον αριθμό των σκληρωτίων ενώ η πρωτοιομένη μορφή επάγει τον σχηματισμό τους και δεν επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη του μυκηλίου.

EFFECT OF 2 - 4 DINITROPHENOL ON THE MYCELIAL GROWTH AND SCLEROTIUM FORMATION IN THE FUNGUS *SCLEROTIUM ROLFSII*

Karakatsanis, I., K. Kalosaka and C. Christias

**University of Patras, Department of Biology, Section of Cell
Biology and Development, Rio 26500, Patras, Greece**

The phytopathogenic fungus, *Sclerotium rolfsii* parasitizes at least 100 families of plants some of which are cultivated species such as potatoes, carrots and more. Its parasitic behavior causes great economical damage. 2-4 dinitrophenol (2 - 4 D), a well known uncoupler of oxidative phosphorylation, has also been used as a herbicide and was found to affect the development of sclerotia on non- sclerotiogenic strains of *Rhizoctonia solani*. In the present study the action of 2 - 4 D has been examined on the strains R and A of the sclerotiogenic fungus *Sclerotium rolfsii* and the results have shown that: a) it retarded the mycelial growth on both strains. The retardation was analogous to the concentration of 2 - 4 D. In addition, at a concentration of 5×10^{-5} M, 2 - 4 D inhibited the mycelial growth of strain R only. b) it decreased the number of sclerotia up to 27 % and 28 % of the control for the strains R and A respectively. c) it decreased the dry sclerotial net weight to 50% and 55% of the control for strains R and A respectively. From the ED₅₀ studies of both strains it was found that 2 - 4 D had a differential effect on the development of the fungus. This result was correlated with the pH changes in the growth medium that occurred during the mycelium development which affected the concentrations of the anionic and the protonated form of 2 - 4 D (pK 4.0). From growth experiments of the fungus at constant pH it appeared that the anionic form inhibited the mycelial development and reduced the number of sclerotia while the protonated form was induced their formation and did not significantly affect the mycelium growth.

**ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΣΧΕΣΕΙΣ
ΑΡΙΘΜΟΥ ΕΙΔΩΝ - ΑΦΘΟΝΙΑΣ:
ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΣΥΛΛΗΨΕΩΝ ΑΦΙΔΩΝ**

**Καρανδεινός, Ν., Ν. Κατής, Ι. Τσιτσιπής και Κ. Σαϊτάνης
Εργαστήριο Οικολογίας και Προστασίας του Περιβάλλοντος
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα, 11855**

Η ποικιλότητα ειδών και γενικότερα η βιοποικιλότητα θεωρείται βασική ιδιότητα κάθε βιοκοινότητας η ομάδας ειδών. Διάφοροι δείκτες βιοποικιλότητας έχουν προταθεί τις τελευταίες δεκαετίες. Οι οικολόγοι διερευνούν επίσης την σχέση μεταξύ αριθμού ειδών και αφθονίας στην προσπάθεια τους να κατανοήσουν - σε κάποιο βαθμό - τους μηχανισμούς, με τους οποίους συμπατρικά είδη «διαμοιράζονται» τους πόρους του περιβάλλοντος.

Στην παρούσα εργασία αναλύθηκαν οι συλλήψεις αφίδων (εκατοντάδες είδη) σε δύο αναρροφητικές παγίδες (Τύπου Rothamsted) που λειτουργούσαν στο Αγρόκτημα του Παν/μίου Θεσσαλονίκης και στο Βελεστίνο Μαγνησίας επί σειρά ετών. Οι κυριότεροι δείκτες ποικιλότητας και η ισομέρεια εκτιμήθηκαν. Διερευνήθηκαν επίσης τα κάτωθι πρότυπα αριθμού ειδών αφθονίας: Λογαριθμοκανονικής κατανομής, Γεωμετρικής σειράς, Λογαριθμικής σειράς και το πρότυπο της «Τεμαχισμένης Ράβδου» (Broken Stick Model). Η λογαριθμοκανονική κατανομή φαίνεται να είναι η καταλληλότερη για τα δεδομένα. Εκτιμήθηκε επίσης ο βαθμός εποχικής επικάλυψης στις πτήσεις των πλέον άφθονων ειδών.

SPECIES DIVERSITY AND SPECIES-ABUNDANCE RELATIONSHIPS: APHIDS CATCH DATA

Karandinos, M., N. Katis, J. Tsitsipis and C. Saitanis

Laboratory of Ecology and Environmental Sciences

Agricultural University of Athens,

Iera Odos 75, Athens, 11855, Greece

Species diversity and, in general, biodiversity is considered a fundamental property of every biocommunity or of every group of species. Several indices of biodiversity have been proposed during the last decades. The Species-Abundance Relationships are also investigated by ecologists in their efforts to understand - to some degree - the mechanisms by which the environmental resources are «subdivided» by the sympatric species.

In the present study the aphid catches (hundreds of species) in two suction traps (Rothamsted type), functioning in the Experimental Farm of the University of Thessaloniki and in Velestino for several years, are analyzed. The major diversity indices and the evenness were estimated. The following models of species - abundance were explored: Lognormal Distribution, Geometric Series, Logarithmic Series and the Broken-Stick model. The Lognormal distribution seems to be the most appropriate for the data. The seasonal overlapping of flying activities was estimated for the most abundant species.

**ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Verticillium*,
ΒΑΣΙΖΟΜΕΝΗ ΣΤΗ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ
ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΙΣΤΟΝΗΣ H4.1 ΠΟΥ ΕΜΠΕΡΙΕΧΕΙ ΕΝΑ
ΕΣΩΝΙΟ**

Καραπαπά, Β.Κ. και Μ.Α. Τύπας
**Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15701, Αθήνα**

Χρωμοσωμικό DNA από 10 διαφορετικά είδη του γένους *Verticillium* (*V. dahliae*, *V. longisporum*, *V. albo-atrum*, *V. nigrescens*, *V. tricorpus*, *V. lecanii*, *V. chlamydosporium*, *V. lamellicola*, *V. psalliotae*, and *V. catenulatum*), χρησιμοποιήθηκε ως μήτρα για τον εμπλουτισμό μορίων με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). Ως εκκινητικά μόρια χρησιμοποιήθηκαν ολιγονουκλεοτίδια τα οποία σχεδιάστηκαν με βάση την περιοχή του γονιδίου της ιστόνης H4.1 του ασκομύκητα *Neurospora crassa*, που εμπεριέχει το εσώνιο 2. Προϊόντα PCR με όμοια και διαφορετικά μοριακά μεγέθη, απομονώθηκαν και αναλύθηκε η αλληλουχία του DNA τους προκειμένου να καθοριστεί ο βαθμός και η έκταση γενετικού πολυμορφισμού. Από τα 5 φυτοπαθογόνα είδη του γένους *Verticillium*, απομονώθηκε ένα προϊόν περίπου 250 bp, ενώ από τα υπόλοιπα 5 μη φυτοπαθογόνα είδη το αντίστοιχο προϊόν ήταν 200 bp, σε θερμοκρασίες συγκόλλησης 63°C. Ανάλυση της αλληλουχίας του DNA των προϊόντων εμπλουτισμού των 250 και 200 bp, έδειξε την ύπαρξη εσωνίων στα μεγαλύτερα προϊόντα εμπλουτισμού. Τα εσώνια βρίσκονται σε συντηρητική περιοχή η οποία απέχει 49 και 142 bp από τους δύο εκκινητές, και οριοθετείται με τις αλληλουχίες GTAAG και YAG στα 5' και 3' άκρα αντίστοιχα. Συγκριτική μελέτη της αλληλουχίας του DNA των εσωνίων έδειξε υψηλό βαθμό πολυμορφισμού, πολύ μεγαλύτερο από αυτό εντός της κωδικής περιοχής, διαφοροποιώντας εύκολα τα είδη του γένους *Verticillium* τα οποία εξετάστηκαν. Αυστηρότερες συνθήκες εμπλουτισμού έδειξαν τη συνύπαρξη γονιδίων της H4.1, με και χωρίς εσώνια στο ίδιο γονιδίωμα. Η παρουσία έντονου πολυμορφισμού στα εσώνια κάνει δυνατή τη χρήση τους ως εξειδικευμένων ιχνηθετών για τη γενετική ταυτοποίηση του κάθε είδους ξεχωριστά.

DIFFERENTIATION OF *VERTICILLIUM* SPECIES BASED ON INTRON REGION OF HISTONE H4.1 SEQUENCES

Karapapa, V. K. and M. A. Typas

**Division of Genetics and Biotechnology, Department of Biology,
University of Athens, Panepistemiopolis, Kouponia 157 01,
Athens, Greece**

PCR amplification products of H4-1 DNA segments of genomic DNA of ten different species of *Verticillium*, *V. dahliae*, *V. longisporum*, *V. albo-atrum*, *V. nigrescens*, *V. tricorpus*, *V. lecanii*, *V. chlamydosporium*, *V. lamellicola*, *V. psalliotae* and *V. catenulatum*, using one set of primers designed to amplified a region of DNA that spans the intron 2 in H4-1 gene of *Neurospora crassa*, were sequenced in order to determine intraspecific diversity within the genus *Verticillium*. A distinct similar size PCR product of approximately 250 bps was produced from the first five phytopathogenic species, whereas the other 5 non-phytopathogenic species produced a PCR product of approximately 200 bp at the annealing temperature of 63 °C. Analysis of the sequences of the amplified 250 bp and 200 bp products revealed intron-containing genes and intronless genes respectively, at a conserved position 49bp from the H4-1a primer and 142bp from H4-1b primer with GTAAG and YAG 5' and 3' intron boundaries. Heterology was higher in the intron sequences than the coding regions and comparative sequence analysis of the introns revealed a high degree of divergence and distinguished *Verticillium* species. When strict amplification conditions were applied the co-existance of intron-bearing and intronless H4-1 genes per genome was shown. The use of the above introns as specific probes is discussed.

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΠΟΛΥΑΜΙΝΩΝ : Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΗΛΕΚΤΡΟΣΤΑΤΙΚΩΝ ΔΥΝΑΜΕΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΔΕΣΜΩΝ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ

Καραχάλιος, Π., Π. Μάμος και Δ. Λ. Καλπαξής
Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα

Με σκοπό τη διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων ριβοσώματος-πολυαμινών, η επίδραση τεσσάρων αλκυλο-αναλόγων της σπερμίνης (SPM) [N^1 -αιθυλοσπερμίνη (N^1 -MESPM), N^1,N^{12} -διαιθυλο-σπερμίνη (N^1,N^{12} -BESPM), N^4,N^9 -διαιθυλοσπερμίνη (N^4,N^9 -BESPM), N^4,N^9 -διβενζυλοσπερμίνη (N^4,N^9 -DBzSPM)] στη σύνθεση του πεπτιδικού δεσμού μελετήθηκε σ' ένα σύστημα ελεύθερο-κυττάρων από *E.coli*. Μέσω της αλκυλιώσεως επηρεάζεται η υδροφοβικότητα και η κατανομή των φορτίων κατά μήκος της ανθρακικής αλυσίδας. Μεταξύ των αναλόγων, η N^4,N^9 -DBzSPM διεγείρει την δέσμευση AcPhe-tRNA σε poly(U)-ριβοσώματα, δρώντας ως ισχυρότερος τροποποιητής, απ' ότι η μητρική ένωση. Όμως, η αρίστη διεγερτική συγκέντρωση της N^4,N^9 -DBzSPM, είναι 2-φορές μεγαλύτερη εκείνης της SPM. Τα υπόλοιπα ανάλογα διεγείρουν επίσης τη δέσμευση του AcPhe-tRNA, αλλά ασθενέστερα απ' ότι η SPM. Κινητικές μελέτες επί της δραστικότητας της πεπτιδυλοτρανσφεράσης (PTase) έδειξαν ότι προσθήκη αναλόγων σε χαμηλή συγκέντρωση προκαλεί αύξηση της δραστικότητας της PTase, μέχρι και 85%. Η τάξη δραστικότητας είναι: N^4,N^9 -DBzSPM > N^4,N^9 -BESPM > N^1 -MESPM > N^1,N^{12} -BESPM. Τα ανάλογα σε υψηλότερες συγκεντρώσεις δρουν ανασταλτικά. Τα αποτελέσματα εισηγούνται ότι υπάρχουν δύο θέσεις δεσμεύσεως των πολυαμινών στο εναρκτήριο ριβοσωματικό σύμπλοκο, μία θέση ενεργοποίησης και μία θέση αναστολής. Σε σύγκριση με τη SPM, η βενζυλίωση των δευτεροταγών αμινομάδων βελτιώνει τη διεγερτική δράση. Οι βενζυλομάδες φαίνεται ότι παρεμποδίζουν την ταχεία περιστροφή του δεσμού C-N και προάγουν το σχηματισμό σταθερών N-H...X υδρογονικών δεσμών. Επειδή οι αιθυλομάδες είναι λιγότερο ογκώδεις, τα αιθυλο-αναλόγα της SPM εμφανίζουν ασθενέστερη δράση. Η αιθυλίωση των πρωτοταγών αμινομάδων ελαττώνει σημαντικά το φαινόμενο διεγέρσεως του σχηματισμού του πεπτιδικού δεσμού. Συνεπώς, οι στερεοχημικές ιδιότητες των τελικών αμινομάδων παίζουν σημαντικό ρόλο στη βιολογική δράση της SPM.

INTERACTIONS BETWEEN RIBOSOME AND POLY-AMINES: THE SIGNIFICANCE OF ELECTROSTATIC FORCES AND HYDROGEN BONDING

Karahalios, P., P. Mamos and D. L. Kalpaxis

Laboratory of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, GR-26500 Patras, Greece

To explore the nature of the polyamine-ribosome interactions, the ability of four spermine (SPM) alkyl-analogues [N^1 -ethylspermine (N^1 -MESPM); N^1,N^{12} -bis(ethyl)spermine (N^1,N^{12} -BESPM); N^4,N^9 -bis(ethyl)spermine (N^4,N^9 -BESPM); N^4,N^9 -dibenzylspermine (N^4 , N^9 -DBzSPM)] to affect peptide-bond formation was assessed in an *E.coli* cell-free system. Alkylation is a suitable reaction for changing the hydrophobicity and the distribution of charges along the hydrocarbon chain of these compounds. Among the analogues, N^4,N^9 -DBzSPM stimulates the binding of AcPhe-tRNA to poly(U)-programmed ribosomes, behaving as stronger effector than the parent compound. However, the N^4,N^9 -DBzSPM concentration necessary for the optimal stimulation is 2-fold higher than that of SPM. The other analogues also stimulate the AcPhe-tRNA binding, but to a lesser degree than SPM. Kinetic studies on peptidyltransferase (Ptase) activity showed that the effect of the above analogues is biphasic. Addition of analogues at low concentration increases the Ptase activity up to 85%, in the order : N^4,N^9 -DBzSPM > N^4,N^9 -BESPM > N^1 -MESPM > N^1,N^{12} -BESPM. Higher concentrations are inhibitory. These results suggest that there are two binding sites for polyamines or their analogues on initiator ribosomal complex; one activator and one inhibitor site. In comparison to SPM, it seems that derivatization of secondary amines by benzyl groups improves the stimulation of Ptase activity. Probably, this effect is due to the intervention of benzyl groups, which hinder the fast diffusive rotations around the C-N axis and promote the formation of stable N-H...X hydrogen bridges. Since ethyl groups are less bulky substituents than benzyl groups, the ethyl analogues of SPM appear to be weaker enhancers of Ptase activity. Ethylation of the primary amines markedly reduces the stimulation of peptide-bond formation. This suggests that the stereochemistry of terminal amines plays an important role in the biological properties of SPM.

Acknowledgements. This work was supported in part by a grant from Greek Ministry of Health and Welfare.

ΑΛΙΕΥΤΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΛΙΜΝΟΘΑΛΑΣΣΑΣ ΑΡΑΞΟΥ (ΑΧΑΪΑ)

Κασπίρης, Παναγιώτης

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26 500 Πάτρα

Την τελευταία διετία καταγράφηκαν η ποιοτική και ποσοτική αλιευτική παραγωγή της λιμνοθάλασσας Αράξου που αποτελούν τη μοναδική ίσως αξιόπιστη πληροφόρηση ως προς την παραγωγή για τα λιμνοθαλάσσια οικοσυστήματα. Τα χρησιμοποιούμενα μέσα αλιείας είναι σύγχρονες ιχθυοσυλληπτικές εγκαταστάσεις και δίχτυα. Από τα ψάρια τα κεφαλοειδή αποτελούν το σπουδαιότερο αλίευμα (55-69%) με δεύτερο τα χέλια (12-22%), ενώ από τα ασπόνδυλα το είδος αχιβάδας *Ruditapes decussatus* (3.30 κιλ./στρεμ.). Τα εμπορικά είδη ψαριών είναι, τυπικά των υφάλμυρων περιβαλλόντων όπως: *Mugil cephalus*, *Liza saliens*, *Liza ramada*, *Liza aurata*, *Chelon labrosus*, *Lithognathus mormyrus*, *Diplodus puntazzo*, *Diplodus sargus*, *Sarpa salpa*, *Sparus aurata*, *Solea sp.*, *Dicentrarchus labrax* και *Anguilla anguilla*. Η παρουσία μερικών άλλων περιορίζεται στα κανάλια επικοινωνίας όχι σε μόνιμη βάση. Μεταξύ αυτών τα κυριότερα είναι: *Engraulis encrasicholus*, *Serranus hepatus*, *Sardina pilchardus*, *Licha amia*, *Lipophrys pavo*, *Parablennius sanguinolentus*, *Gobius cobitis*, *Gobius niger*. Οι αλιευόμενες ποσότητες ψαριών εμφανίζουν αύξηση κατά την τελευταία διετία με την εφαρμογή σύγχρονων ιχθυοσυλληπτικών εγκαταστάσεων, όμως η σημειωθείσα δυστροφική κρίση του Αυγούστου 1996 έχει αναστείλει την προοδευτική αύξηση της παραγωγής. Η κατά διαστήματα σημειούμενη δυστροφική κρίση αποτελεί το σπουδαιότερο πρόβλημα της λιμνοθάλασσας επειδή προκαλεί μαζικό θάνατο της πανίδας και η οποία οφείλεται στον ευφτροφισμό και την κακή κυκλοφορία των νερών. Η λιμνοθάλασσα Αράξου βρίσκεται δυτικά της Πάτρας σε απόσταση 40 χιλιόμετρα, εκτάσεως 4.500 στρεμμάτων. Αυτή επικοινωνεί με τη θάλασσα δια μέσου 3 καναλιών, το μήκος των οποίων είναι μικρότερο των 100 μέτρων, πλάτους 25 μέτρων και βάθους 1,5 μέτρα. Στα δύο από τα 3 κανάλια έχουν τοποθετηθεί σύγχρονες ιχθυοσυλληπτικές εγκαταστάσεις και το ένα απ' αυτά συνοδεύεται και από περιοχή διαχείμασης.

FISH PRODUCTION OF ARAXOS LAGOON (ACHAIA)

Kaspiris, Panayotis

Department of Biology, University of Patras,
26 500 Patras, Greece

The qualitative and quantitative fish production of Araxos lagoon was recorded during the years 1995-1996. Perhaps this record is the only reliable information about the production in lagoon ecosystems. The fishing gears which were used, were fishing-trap-barrier and nets. Among the fish living in the lagoon mugilids are the most important fish produces (55-69%) and eels (12-22%) are of secondary importance. Among the invertebrates of the lagoon the grooved carpet shell *Ruditapes decussatus* is the most important product (3.30 kg/strem). The commercial fish species are the typical of brackish water environment such as: *Mugil cephalus*, *Liza saliens*, *Liza ramada*, *Liza aurata*, *Chelon labrosus*, *Lithognathus mormyrus*, *Diplodus puntazzo*, *Diplodus sargus*, *Sarpa salpa*, *Sparus aurata*, *Solea* sp., *Dicentrarchus labrax* and *Anguilla anguilla*. The presence of some others is restricted to the communication canals not in permanent base. Among them the principal ones are: *Engraulis encrasicolus*, *Serranus hepatus*, *Sardina pilchardus*, *Licha amia*, *Lipophrys pavo*, *Parablennius sanguinolentus*, *Gobius cobitis*, *Gobius niger*. The quantities of fish which were caught increased during the years 1995-1996 when fishing-traps-barrier had been sited but the dystrophic crisis in August 1996 inhibited the progressive increase of fish production. The dystrophic crisis which occurs at times, is the most serious problem of the lagoon because it causes serious mass mortality. The eutrophism and the insufficient water circulation are the reasons for this crisis. The Araxos lagoon is west of Patras, 40 km in distance and 450 ha in area. It communicates with the sea via 3 canals the length of which is shorter than 100 m, their width is 25 m and their depth is 1,5 m. Fishing-trap-barrier were sited in two of the three canals and one of them has also a wintering area.

**ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ
ΓΕΝΟΥΣ ΔΡΟΣΟΦΙΛΑ (*Drosophila sp.*), ΜΕ ΑΝΑΛΥΣΗ
ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA**

**Καστάνης, Π., Κ. Αρχοντάκη, Σ. Τσάκας, Η. Ηλιόπουλος
και Μ. Λουκάς**

**Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωργικής Βιολογίας &
Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα 118 55**

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει τα τελευταία χρόνια η μελέτη φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ στενά συγγένων ειδών μέσω της χρησιμοποίησης μοριακών δεδομένων, όπως αυτά προκύπτουν από την ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών τα οποία παρουσιάζει (μικρό σχετικά μέγεθος, μητρική κληρονομικότητα, έλλειψη ανασυνδυασμού, σταθερότητα ως προς τη σύνθεση και τη σειρά των γονιδίων από τα οποία συγκροτείται κ.ά.). Στην εργασία αυτή προσδιορίστηκαν οι νουκλεοτιδικές αλληλουχίες τμήματος μιτοχονδριακού DNA 2000 βάσεων από 10 είδη Δροσόφιλας (*Drosophila sp.*) τα οποία ανήκουν στα subgroup: α) *melanogaster* (*D.orena*, *D.teissieri*, *D.erecta*, *D.simulans*, *D.mauritiana*), β) *montium* (*D.kikkawai*, *D.tsacasi*, *D.serrata*) και γ) *ananassae* (*D.ananassae*, *D.malerkotliana*) του group *melanogaster*, καθώς και η ομόλογη αλληλουχία του εντόμου του Δάκου της ελιάς (*Bactrocera oleae*). Το μιτοχονδριακό τμήμα των 2000 βάσεων περιλαμβάνει το γενετικό τόπο της NADH-1 αφυδρογονάσης, των tRNA της λευκίνης και της σερίνης καθώς και ενός τμήματος της 16S υπομονάδας του ριβοσώματος. Στις συγκρίσεις επίσης συμπεριλαμβάνονται οι ομόλογες αλληλουχίες των ειδών *D.melanogaster* και *D.yakuba*, οι οποίες είναι ήδη γνωστές. Τα αποτελέσματα της ευθυγράμμισης των ανωτέρω νουκλεοτιδικών αλληλουχιών έχουν επεξεργαστεί με ειδικό λογισμικό ανάπτυξης φυλογενετικών δέντρων, μέσω των οποίων προκύπτει ένας σαφής διαχωρισμός των ειδών στα αντίστοιχα subgroup στα οποία έχουν ήδη ταξινομηθεί με βάση τη μελέτη μορφολογικών χαρακτήρων και πειραμάτων υβριδισμού του DNA. Όπως ήταν αναμενόμενο, παρατηρείται ένα υψηλότερο ποσοστό πολυμορφισμού στο γενετικό τόπο που εκφράζει τη NADH-1 αφυδρογονάση σε σχέση με την περιοχή που εδράζεται η 16S υπομονάδα του ριβοσώματος. Το υψηλό αυτό ποσοστό πολυμορφισμού δεν επηρεάζει σημαντικά την αμινοξική αλληλουχία της αντίστοιχης πρωτεΐνης, δεδομένου ότι αφορά κυρίως συνώνυμες υποκαταστάσεις.

MOLECULAR PHYLOGENY OF DROSOPHILA SPECIES INFERRED FROM MITOCHONDRIAL DNA SEQUENCES

**Kastanis, P., K. Arhontaki , S. Tsakas , E. Eliopoulos
and M. Loukas**

**Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biology &
Biotechnology, Agricultural University of Athens,
Iera Odos 75, Athens 118 55, Greece**

The phylogeny and taxonomy among animal taxa have been the subject of extensive investigations for several years. The development of molecular techniques and the understanding of the processes governing the evolution and inheritance of DNA, make the molecular data appropriate tools for genetic studies. The small size, maternal inheritance, the lack of recombination and the general conservation of gene order and composition make the mtDNA suitable for examining evolution among closely related taxa. In this study, the nucleotide sequences of a segment of the mitochondrial DNA from 10 species of *Drosophila* as well as another dipteran species (*Bactrocera olea*) has been determined. The DNA segment is 2kb and encompasses subunit 1 of the NADH dehydrogenase, two tRNA genes (tRNA Ser, tRNA Leu) and a portion of 16S large ribosomal subunit. The *Drosophila* species which were studied belong to the following subgroup of *melanogaster* group: (a) *melanogaster* subgroup (*D.orena*, *D.teissieri*, *D.erecta*, *D.simulans*, *D.mauritiana*) (b) *montium* subgroup (*D.kikkawai*, *D.tsacasi*, *D.serrata*) and (c) *ananassae* subgroup (*D.ananassae*, *D.malerkotliana*). Comparisons also involve already known homologous sequences for the species *D.melanogaster* and *D.yakuba*. In order to perform the phylogenetic analyses, all the available sequence data were aligned and a phylogenetic tree constructed with the use of appropriate computer software. The produced phylogenetic tree has the same order with those formed by techniques based on morphological characters and DNA hybridization. As was expected, the percentage of polymorphic sites for NADH-1 dehydrogenase gene was higher than the percentage observed for the 16S ribosomal gene. The majority of polymorphic sites for NADH-1 protein corresponds to synonymous substitutions, which have no effect on the protein's amino acid composition.

ΕΞΟΜΟΙΩΣΗ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΒΟΗΘΕΙΑ Η/Υ

Κατσαλούλης, Π. και Σ. Σγαρδέλης
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας
Σχολή Θετικών Επιστημών,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη

Η μελέτη της ταχείας φάσης της κινητικής του φθορισμού της χλωροφύλλης παρέχει πληροφορίες για τη λειτουργία του φωτοσυστήματος ΙΙ (PS ΙΙ), των φωτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης. Για τη μελέτη του φαινομένου, έχουν αναπτυχθεί μαθηματικά μοντέλα που βασίζονται στις αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στο PS ΙΙ.

Στην εργασία αυτή επιχειρούμε μια διαφορετική προσέγγιση για την εξομοίωση της κινητικής του φθορισμού. Χρησιμοποιούμε επάλληλα πλέγματα κυψελίδων για να εξομοιώσουμε τις διεργασίες που περιγράφουν την κινητική του φθορισμού. Με αυτόν τον τρόπο το σύστημα εξομοίωσης παρακολουθεί αναλυτικά τα φωτόνια που απορροφούνται από το μόριο της χλωροφύλλης και την πορεία των ηλεκτρονίων κατά μήκος του πλέγματος. Κατά την εξομοίωση ορίζεται ένα τεχνητό περιβάλλον αντίστοιχο του PS ΙΙ, μέσα στο οποίο γίνονται διεργασίες όπως και στο πραγματικό σύστημα.

Αναπτύξαμε ένα πρόγραμμα στον υπολογιστή που ορίζει τη φυσική κατάσταση και τις ιδιότητες του φωτοσυστήματος (μέγεθος των υποδοχέων των φωτονίων και ικανότητα δέσμευσής τους, μέγεθος της δεξαμενής ηλεκτρονίων, ικανότητα μεταφοράς ηλεκτρονίων), καθώς και τις παραμέτρους του υποθετικού περιβάλλοντος του μοντέλου, (ένταση προσπίπτουσας ακτινοβολίας, μέθοδος φωτισμού). Το μοντέλο δίνει αποτελέσματα αντίστοιχα με αυτά που καταγράφονται κατά την επαγωγή του φθορισμού. Παρουσιάζει γραφικά τις χρονικές μεταβολές έντασης του φθορισμού της χλωροφύλλης και υπολογίζει τη ροή των ηλεκτρονίων, τις τιμές των παραμέτρων του φθορισμού F_0 , F_{max} , $t_{1/2}$ και την ένταση του φθορισμού στην κατάσταση ισορροπίας.

CHLOROPHYLL FLUORESCENCE EMULATION WITH A PERSONAL COMPUTER

Katsoulis, P. and S. Sgardelis

**Department of Ecology, School of Biology,
Faculty of Sciences,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece**

Chlorophyll fluorescence is a phenomenon that has been given considerable attention by plant physiologists aiming to understand the details of photosystem II (PS II) function. For understanding the mechanics of chlorophyll fluorescence, a number of mathematical models have been developed based on the reactions describing the function of PS II.

In this presentation we try a different modeling approach. We use a system of lattices in series in order to simulate the process. In fact the system is following the fate of the photons being absorbed by the chlorophyll molecule and the individual electrons that move across the series of lattices.

For this purpose we developed a computer program that sets the physical state and the essential properties of PS II (size of photon receptors and bound capability, electron pools, electron transport rates) as well as the virtual environment of the system (light intensity, illumination patterns). The program produces a graphical presentation of temporal variations of chlorophyll fluorescence and calculates the electron flow and a number of relevant parameters (F_0 , F_{max} , $t_{1/2}$ and steady level fluorescence).

ΕΤΗΣΙΟΙ ΔΑΚΤΥΛΙΟΙ ΣΤΟΥΣ ΩΤΟΛΙΘΟΥΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΛΕΠΙΑ ΤΟΥ *Liza saliens* (Mugilidae) ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ

Κατσέλης*, Γ., Γ. Μίνος*, Ε. Δημητρίου** και Π. Κασπίρης*

*Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο

Πατρών, 26500, Πάτρα, ** Τμήμα Αλιείας, Νομαρχιακή

Αυτοδιοίκηση Αιτωλοακαρνανίας, Μεσολόγγι

Στην εργασία αυτή έγινε ανάγνωση δακτυλίων αύξησης στα λέπια και στους ωτόλιθους και αξιολόγηση της μεθόδου για την εκτίμηση της ηλικίας του *Liza saliens*, γάστρος, της λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου-Αιτωλικού. Η μελέτη έγινε σε 121 άτομα του είδους τα οποία αλιεύθηκαν την περίοδο Μάιος-Αύγουστος των ετών 1993 και 1994. Αξιόπιστες αναγνωρίσεις και από τις δύο κατασκευές έγιναν σε 99 άτομα. Στους ωτόλιθους αναγνωρίσθηκαν μέχρι επτά (7) δακτύλιοι αύξησης (ζεύγος αργής-έντονης ζώνη αύξησης), οι ακτίνες των οποίων παρουσίασαν στατιστική σταθερότητα ($P>0.05$) ως προς την μέση τιμή τους. Στα λέπια αναγνωρίσθηκαν μέχρι οκτώ (8) δακτύλιοι αύξησης των οποίων οι ακτίνες, εκτός του δεύτερου, έδειξαν στατιστική σταθερότητα ($P>0.01$). Τόσο ο πρώτος δακτύλιος στους ωτόλιθους όσο και ο πρώτος και δεύτερος στα λέπια, αποτυπώνονται σε μήκη σώματος 42-70 mm, μέγεθος όπου λαμβάνει χώρα αλλαγή της διατροφής του ψαριού. Οι αποτυπώσεις των δακτυλίων στους ωτόλιθους σε ποσοστό 85-100% συνοδεύονται με τις αντίστοιχες αποτυπώσεις στα λέπια. Αντίθετα οι αποτυπώσεις του πρώτου και δεύτερου δακτυλίου στα λέπια συνοδεύονται με την αντίστοιχη αποτύπωση του πρώτου δακτυλίου στους ωτόλιθους σε ποσοστό 46 και 38% αντίστοιχα. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και με τους τελευταίους δακτυλίους των οποίων τα ποσοστά κυμαίνονται από 40-71% σε αντίστοιχες αποτυπώσεις στους ωτόλιθους. Οι υπόλοιποι δακτύλιοι παρουσίασαν αμφίδρομα υψηλό ποσοστό αποτύπωσης και στα δύο σκελετικά στοιχεία. Τα δύο σκελετικά στοιχεία έδωσαν στο 79 % των ατόμων τα ίδια αποτελέσματα ηλικίας. Οι διαφορές που παρατηρούνται οφείλονται στο φαινόμενο συγκέντρωσης δακτυλίων στην περιφέρεια του λεπιού (στα μεγάλα άτομα), στη διαφορετική ευαισθησία των δύο σκελετικών στοιχείων στην αποτύπωση των διατροφικών σοκ, λόγω της καμπυλότητας και τη συσσώρευσης υλικού με αποτέλεσμα την απόκρυψη των δακτυλίων. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η ανάγνωση των ωτολίθων μπορεί να δώσει ακριβέστερα αποτελέσματα για την εκτίμηση της ηλικίας.

ANNUAL RINGS ON OTOLITHS AND SCALES OF *Liza saliens* (Mugilidae) AND VALIDATION OF THE METHOD USED FOR THE AGE DETERMINATION

Katselis*, G., G. Minos*, V. Dimitriou and P. Kaspiris***

***Zoological Laboratory, Department of Biology, University of Patras, 26500, Patras, Greece, **Department of Fisheries,**

Prefecture of Etoloakarnania, Messologhi, Greece

In present paper were identified growth rings both in scales and otoliths and was made a validation of the method used for age determination of *Liza saliens* stock in Messologhi-Etoliko lagoon. This study was made in 121 individuals, sampled from May 1993 to August 1994. Reliable reading on both structures was performed on a total 99 individuals. From the otoliths were identified seven (7) growth rings (pair of slow and fast growth bands) the radius of them appeared no statistical difference ($P>0.05$). In scales identified eight (8) growth rings, the radius appeared no statistical difference ($P>0.05$) except of the second radius (R_2) ($P<0.05$). The first growth ring in otoliths and first and second growth rings in scales are interpreted in body length of 42-70 mm, where the fish becomes from carnivorous to herbivorous. The interpretations of growth rings in both otoliths and scales is from 85-100 %. In contrast, the interpretations of the first and second growth ring in scales is followed with the interpretation of the first growth ring in otoliths in percentage 46 and 38 % respectively. The same phenomenon appears with the last growth rings 40-71 % in interpretations on otoliths. The other rings appear high percentage of interpretation on both structures. Both scales and otoliths gave, in 79% of individuals, the same results on age. These differences is a result of the differential sensitivity of the two structures on the interpretation of the feeding shock, the phenomenon of ring accumulation on the edge of the scale which occurs in older fish and the difficulty of counting rings in the centre and edge (in older individuals) of the otolith, because of accumulation of material and the curvature of the otoliths shape. Summarising our finding, we can conclude that between the methods used, otolith age readings can provide the most satisfactory results.

BACTROCERA OLEAE: ΕΣΤΕΡΑΣΕΣ ΚΑΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

**Κατσαρές, Β., Α. Ζαμπετάκη και Π. Μαυραγάνη-Τσιπίδου
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη**

Το έντομο *Bactrocera oleae* (*Dacus oleae*), θεωρείται ένα από τα πλέον βλαβερά έντομα, προκαλώντας τεράστιες καταστροφές στην ελαιοπαραγωγή. Παρά το γεγονός ότι έχουν γίνει κατά καιρούς πολλές προσπάθειες για την κατάπολέμηση του εντόμου με εναλλακτικά «οικολογικά» εντομοκτόνα, η χρήση χημικών εντομοκτόνων και κυρίως του οργανοφωσφορικού *dimethoate* φαίνεται να αποτελεί την επικρατέστερη μέθοδο για τον έλεγχο του εντόμου αυτού. Το *dimethoate* σκοτώνει το έντομο, αναστέλλοντας τη σύνθεση απαραίτητων χολινεστερασών. Η ανθεκτικότητα ορισμένων οργανισμών στα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα σχετίζεται άμεσα με την αύξηση των εστερασών, ενώ φαίνεται ότι με τη χρήση του *dimethoate* επιλέγονται ορισμένα ισοένζυμα εστερασών. Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε το εργαστηριακό στέλεχος του *B. oleae*. Σε προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου μας, η ηλεκτροφορητική ανάλυση 100 ενηλίκων ατόμων του εργαστηριακού αυτού στελέχους, σε πηκτή αμύλου, έδειξε την ύπαρξη 11 αλληλομόρφων του γενετικού τόπου της εστεράσης A (EstA) και 4 της εστεράσης B (EstB) και καταγράφηκαν οι σχετικές συχνότητες. Επιτέλον, για τη δημιουργία ανθεκτικού στελέχους *B. oleae* ως προς τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα βρέθηκε η συγκέντρωση του *dimethoate* που προκαλεί θάνατο στο 50% των ατόμων δάκου (LD_{50}). Στην παρούσα μελέτη δημιουργήθηκε «ανθεκτικό» στέλεχος *B. oleae* από άτομα που επιβίωσαν μετά από επίδραση με *dimethoate* σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του LD_{50} (οι επιδράσεις έγιναν σε προνύμφες 120 ± 4 ωρών). Στη συνέχεια, ηλεκτροφορήθηκαν 100 άτομα, αντίστοιχα, της F_1 και F_6 γενεάς του «ανθεκτικού» στελέχους και βρέθηκαν οι σχετικές συχνότητες των αλληλομόρφων EstA και EstB. Παράλληλα, ηλεκτροφορήθηκαν 100 άτομα άγριου πληθυσμού από περιοχή της Χαλκιδικής και βρέθηκαν οι συχνότητες των αλληλομόρφων EstA και EstB. Τέλος, συγκρίθηκαν οι συχνότητες των αλληλομόρφων EstA και EstB στον αρχικό εργαστηριακό πληθυσμό, στον άγριο πληθυσμό και στις F_1 και F_6 γενεές του «ανθεκτικού» στελέχους.

BACTROCERA OLEAE: ESTERASES AND RESISTANCE

Katsares, V., A. Zambetaki and P. Mavragani-Tsipidou

**Department of Genetics, Development
and Molecular Biology,**

**School of Biology, Faculty of Sciences,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece**

The economic impact of *Bactrocera oleae* (*Dacus oleae*), a major pest of the olive fruit crop, has led to considerable efforts directed towards its control. These efforts were based mainly on chemical insecticides, and especially on the organophosphate insecticide dimethoate. In some species, resistance to organophosphate insecticides is found to be related to an increase of esterases. In previous studies of our laboratory the electrophoretic pattern, on starch gel, of 100 individuals of a standard laboratory population of *Bactrocera oleae* (from the Nuclear Research Centre «Demokritos») revealed the presence of 11 alleles for esterase A (EstA) and 4 alleles for esterase B (EstB). In the present study, a resistant population of *Bactrocera oleae* was constructed by selecting the flies survived up to LD₆₀ and the frequencies of the alleles EstA and EstB of 100 individuals, respectively, of the F₁ and F₆ generations of the resistant population were found. Moreover, 100 individuals of a wild population, selected from Halkidiki, were also electrophorized. The electrophoretic patterns of the laboratory, the resistant (F₁ and F₆ generation) and the wild populations were compared.

**ΤΟ ΤΡΟΧΟΖΩΟ *BRACHIONUS PLICATILIS* ΩΣ ΜΕΣΟ
ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΟΞΟΛΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΣΤΙΣ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ**

Κάτσαρης, Ν., Μ. Τουράκη και Κ. Καστρίτσης
Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης
και Μοριακής Βιολογίας, Α.Π.Θ., 54006 Θεσσαλονίκη

Το Τροχόζωο *Brachionus plicatilis* χρησιμοποιείται εκτεταμένα στις υδατοκαλλιέργειες ως τροφή για τα πρώτα προνυμφικά στάδια διαφόρων ειδών ψαριών και καρκινοειδών. Είναι μη επιλεκτικός διηθηματοφάγος οργανισμός και μπορεί να προσλαμβάνει μικρών διαστάσεων ουσίες, ανεξάρτητα από τη φύση τους. Στην ιδιότητα αυτή στηρίζεται ο εμπλουτισμός του με τη χορήγηση διαφόρων σκευασμάτων σε μορφή γαλακτώματος, που περιέχουν θρεπτικές και θεραπευτικές ουσίες, με στόχο τη βελτίωση της δίαιτας και την αντιμετώπιση ασθενειών που συχνά προσβάλλουν τους καλλιεργούμενους οργανισμούς για τους οποίους το συγκεκριμένο Τροχόζωο αποτελεί λεία. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε με HPLC η βιοενσωμάτωση του Οξολινικού Οξέος (4-κινολόνη), που χορηγήθηκε στο *Brachionus plicatilis*, αφού ενσωματώθηκε στο γαλάκτωμα Super Selco. Ελέγχθηκε η επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων γαλακτώματος, συνδυασμού γαλακτώματος-φαρμάκου και διαφορετικών πρωτοκόλλων εμπλουτισμού στη βιωσιμότητα των Τροχοζώων, προκειμένου να βρεθούν οι κατάλληλες συνθήκες χορήγησής τους. Στη συνέχεια, προσδιορίστηκε το ποσό του Οξολινικού Οξέος που προσλαμβάνουν τα ζώα σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση του φαρμάκου και το χρόνο εμπλουτισμού. Η μεγαλύτερη βιοενσωμάτωση παρατηρήθηκε μετά από 12 ώρες εμπλουτισμού με γαλάκτωμα που περιείχε 20% Οξολινικό Οξύ (w/w). Μικρό ποσοστό του φαρμάκου βρέθηκε ότι δεσμεύεται στην εξωτερική επιφάνεια των ζώων.

**THE ROTIFER *BRACHIONUS PLICATILIS* AS A
MEANS OF ADMINISTRATION OF OXOLINIC ACID
FOR THE TREATMENT OF BACTERIAL DISEASES IN
AQUACULTURE**

Katsaris, N., M. Touraki and K. Kastritsis

**Laboratory of General Biology, Department of Genetics,
Development & Molecular Biology, School of Biology, A.U.Th.,
54006 Thessaloniki, Greece**

The rotifer *Brachionus plicatilis* has been used extensively in aquaculture as a food for the early larval stages of various fish and crustacean species. It is a non-selective filter-feeding organism and takes up substances of small dimensions, irrespective of their nature. This particular characteristic comprises the basis for the bioencapsulation of emulsified formulations containing nutritional and therapeutic substances, aiming at the amelioration of the diet and the confrontation of diseases that often occur in the cultured organisms that feed on it. In the present study, the encapsulation of oxolinic acid (4-quinolone), that was administered to *Brachionus plicatilis* following its incorporation in the Super Selco emulsion, was examined by HPLC. The effect of variable concentrations of either the emulsion, or of the combination emulsion-drug, or of various enrichment protocols, on the rotifers survival was studied, in order to determine the optimal conditions of its administration. Following, the amount of oxolinic acid taken up by the animals, was examined as a function of the concentration of the drug and the duration of the enrichment period. The highest bioencapsulation was observed after 12 hrs of enrichment using the emulsion containing 20% oxolinic acid (w/w). A minor percentage of the drug was found to be bound on the external surface of the animals.

Η ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗ ΤΩΝ ΩΘΥΛΑΚΙΩΝ ΣΤΑ ΔΙΠΤΕΡΑ: ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Κεραμάρης, Κ. Ε. και Λ.Χ. Μαργαρίτης
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Στα πλαίσια της διερεύνησης των βασικών κυτταροβιολογικών φαινομένων κατά την χοριογένεση εντάσσεται και η μελέτη των υπεροξειδάσων στα ωοθυλάκια των Διπτέρων^(1,2), όπου τα τελευταία πειραματικά δεδομένα, που προκύπτουν από ουδέτερες και SDS ηλεκτροφορήσεις, αλλά και με ανοσοστύπωμα με την χρησιμοποίηση αντισωμάτων έναντι της θυρεοϋπεροξειδάσης και της μυελοϋπεροξειδάσης, καθώς και με ιστοχημικές μεθόδους, μας οδηγούν στα εξής συμπεράσματα: 1) στη Δροσόφιλα εντοπίζονται δύο πρωτεΐνες με μοριακά βάρη 34 KD και 45KD, στο Δάκο δύο πρωτεΐνες με μοριακά βάρη 27 KD και 56 KD και στη μύγα της Μεσογείου δύο πρωτεΐνες με μοριακά βάρη 30 KD και 50 KD, που δείχνουν ενζυμική ενεργότητα, είτε έντονη διασταυρούμενη αντίδραση με τα αντισώματα, 2) στα ωοθυλάκια όλων των εντόμων εντοπίζεται μια πρωτεΐνη υψηλού μοριακού βάρους 170 KD, 3) το H₂O₂⁽³⁾, εκτός από την κορυφαία μεμβράνη των θυλακοκυττάρων, εντοπίζεται στην μεμβράνη του ωοκυττάρου, όπου πιθανόν ενεργοποιεί υπεροξειδική αντίδραση στην βιτελλινική μεμβράνη, και 4) η φλωρογλουκινόλη⁽⁴⁾, ένας υπεροξειδικός αναστολέας, αλλά και σπασμολυτικό φάρμακο στον άνθρωπο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την βιοχημική καταπολέμηση του Δάκου και της μύγας της Μεγογείου. Η περαιτέρω μελέτη των υπεροξειδασών σε βιοχημικό και μοριακό επίπεδο αποτελεί τους μελλοντικούς στόχους μας, καθώς επίσης και η διερεύνηση του ρόλου του H₂O₂ στα θυλακοκύτταρα και στο ωοκύτταρο των εντόμων. Επιπλέον η εφαρμογή στο πεδίο της φλωρογλουκινόλης για την καταπολέμηση των επιβλαβών εντόμων είναι μια βασική ερευνητική κατεύθυνση για το μέλλον.

THE PEROXIDASES OF THE FOLLICLES IN DIPTERA: ESTIMATION OF THE TOTAL RESULTS AND PERSPECTIVES

Keramaris, K.E. and L.H. Margaritis

**University of Athens, Division of Cell Biology & Biophysics,
Panepistimiopolis, Athens 15701, Greece**

The study of the insect's choriogenesis at the last years is focused on the characterization of the follicle peroxidases of Diptera^(1,2), *Drosophila melanogaster*, *Dacus oleae* and *Ceratitis capitata*. The results from native, SDS electrophoresis, immunoblotting with the use anti-thyreoperoxidase and anti-myeloperoxidase, and histochemical methods, lead us to the following conclusions: 1) two protein bands, with molecular weights 34 KD and 45 KD, 27 KD and 56 KD, 30 KD and 50 KD can be detected in *D. melanogaster*, in *D. oleae* and *C. capitata*, respectively. These proteins indicate enzyme peroxidase activity or strong crossreaction with the antibodies, 2) the high molecular weight (170 KD) protein band appears in the eggshell and oocyte samples to crossreact with anti-TPO and anti-MPO, 3) the H₂O₂⁽³⁾, except of the apical membrane of the follicle cell, is localized histochemically between the vitelline membrane and oocyte and probably activates the peroxidase reaction in the vitelline membrane, 4) the phloroglucinol⁽⁴⁾, a peroxidase inhibitor and a spasmolytic drug, can be used with success for the biological pest control of *Dacus oleae* and *Ceratitis capitata*.

The biochemical and molecular study of the eggshell and oocyte peroxidases is in our plans for the near future. Also, the investigation of the hydrogen peroxide role in the follicle cells and the oocyte and the apply of the phloroglucinol in the field for the biological pest control are the basic scientific directions in our laboratory.

References: 1) Margaritis L.H. et. al. *Tissue & Cell*, 17, 553-559, 1985a, 2) Margaritis L.H., *Can. J.Zool.*, 63, 2194-2206, 1985b, 3) Keramaris K.E., et.al., *Cell Biol. Int. Rep.*, 15, 151-159, 1991, 4) Keramaris K.E., et. al., *Bull. Entom. Res.*, 86, 369-375, 1996.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΚΟΝΗΣ ΛΑΤΟΜΕΙΟΥ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΤΟΥ *QUERCUS COCCIFERA*

Κετσετζόγλου¹, Σ.Ν., Θ. Λαναράς² και Ι. Δ. Παντής¹

¹ Τομέας Οικολογίας, ² Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας,
Α.Π.Θ., 540 06 Θεσσαλονίκη

Η απόθεση σκόνης στα φυτά, λόγω των ανθρωπίνων δραστηριοτήτων (κυκλοφορία οχημάτων, εξορυκτικές δραστηριότητες κ.λ.π.) έχει αφ' ενός άμεσες συνέπειες στη φυσιολογία των φυτών και αφ' ετέρου έμμεσες λόγω των αλλαγών που επιφέρει στις φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους.

Στόχος της ερευνητικής αυτής προσπάθειας είναι η διερεύνηση των επιπτώσεων που επιφέρει η σκόνη που επικάθεται στα φυτά από τις δραστηριότητες των λατομείων, στις υδατικές σχέσεις αείφυλλων σκληρόφυλλων θάμνων *Q. coccifera*. Γι' αυτό το σκοπό επιλέχτηκαν πέντε σταθμοί δειγματοληψίας (1^{ος} έως 5^{ος}) σε αποστάσεις 0, 500, 1000, 2000 και 3000 m αντίστοιχα από το κέντρο ενός λατομείου της περιοχής Ασβεστοχωρίου Θεσσαλονίκης. Μετρήθηκε το υδατικό δυναμικό, το ωσμωτικό δυναμικό και το δυναμικό σπαργής φύλλων *Q. coccifera*, καθώς επίσης και το υδατικό δυναμικό του εδάφους τη χρονική περίοδο 20 έως 30 Μαΐου 1997. Προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις του ασβεστίου στο έδαφος και στα φύλλα και η ποσότητα του ασβεστίου στην επιφάνεια των φύλλων. Από τα δεδομένα προκύπτει ότι το υδατικό δυναμικό και το δυναμικό σπαργής των φύλλων βρίσκονται σε χαμηλότερα επίπεδα στους δύο πρώτους σταθμούς, ενώ το ωσμωτικό δυναμικό των φύλλων και το υδατικό δυναμικό του εδάφους είναι σχεδόν τα ίδια σ' όλους τους σταθμούς δειγματοληψίας. Η συγκέντρωση του ασβεστίου στο έδαφος είναι κατά πολύ μεγαλύτερη στο κέντρο του λατομείου, ενώ στους υπόλοιπους σταθμούς είναι χαμηλότερη. Η συγκέντρωση του ασβεστίου στα φύλλα και η ποσότητα του ασβεστίου στην επιφάνεια των φύλλων ήταν υψηλότερες στους δύο πρώτους σταθμούς, σε σχέση με τους υπόλοιπους.

Συμπερασματικά, στις συστάδες του *Q. coccifera* στους δύο πρώτους σταθμούς δειγματοληψίας (0, 500 m) εμφανίζεται υδατική καταπόνηση. Η υδατική αυτή καταπόνηση συνοδεύεται με τη διατήρηση της τιμής του ωσμωτικού δυναμικού σε σταθερά επίπεδα (ωσμωρύθμιση). Η ωσμωρύθμιση στην περίπτωση που μελετήσαμε, φαίνεται να επιτυγχάνεται με την αυξημένη συγκέντρωση του ασβεστίου στα φύλλα.

THE EFFECT OF LIMESTONE DUST ON WATER RELATIONS OF *QUERCUS COCCIFERA*

Ketsetzoglou¹, S.N., T. Lanaras² and J. D. Pantis¹

¹ Department of Ecology, ² Department of Botany,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece

The deposition of dust on plants due to human activities (road traffic, mining activities etc.) may have direct effects on plant physiology and/or indirect effects on soil chemistry.

The aim of this study was to investigate the effect of limestone dust deposition on the water relations of the evergreen sclerophyllous shrub *Q. coccifera*. For this purpose 5 sampling sites were chosen at distances of 0, 500, 1000, 2000, 3000 m from a limestone quarry, which is located 15 km NE of the city of Thessaloniki. The water potential, osmotic potential and turgor potential of the leaves of *Q. coccifera* and soil water potential were determined from 20 to 30 May 1997. The concentration of calcium in the soil and leaves of *Q. coccifera* and the amount of dust on the leaf surface were also determined.

The water and turgor potential of leaves were found to be lower at the two sampling sites closer to the quarry, while the osmotic potential of the leaves and soil water potential was similar at all sampling sites. The soil calcium concentration in the sampling site closest to the quarry was very high, while in the other sampling sites was low. The calcium concentration of leaves and the amount of calcium on the leaf surface were higher at the two sites closest to the quarry.

In conclusion, *Q. coccifera* shrubs from the two sampling sites (0, 500 m) closest to the quarry exhibit water stress. Plants respond to this stress maintaining stable osmotic potential (osmoregulation). The osmoregulation in this study seems to be accomplished by the high calcium concentration in the leaves.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΩΝ ΧΑΙΤΟΓΝΑΘΩΝ ΣΤΑ ΠΕΛΑΓΙΚΑ ΝΕΡΑ ΤΗΣ ΑΝΑΤΟΛΙΚΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ

Κεχαγιάς, Γ., Ν. Φραγκοπούλου και Ι. Λυκάκης
Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο
Ζωολογίας, 26500 Πάτρα

Τα χαιτόγναθα αποτελούν τους κυριώτερους δευτερογενείς καταναλωτές στις θαλάσσιες τροφικές αλυσίδες. Παρόλη τη μεγάλη σημασία τους όμως, υπάρχουν ελάχιστες μελέτες για τη διατροφή τους ιδιαίτερα για την περιοχή της Ανατολικής Μεσογείου. Στα πλαίσια του ερευνητικού προγράμματος POEM II, το φθινόπωρο του 1991, έγιναν δειγματοληψίες ζωοπλαγκτού από είκοσι σταθμούς οι οποίοι τοποθετούνται γεωγραφικά σε τέσσερις πελαγικές περιοχές της Α. Μεσογείου: σταθμοί 1-6 στο Ιόνιο, 7-10 στο Κρητικό Πέλαγος, 11-15 στη ΒΔ Λεβαντίνη Θάλασσα και 16-20 στη Θάλασσα της Ρόδου. Πραγματοποιήθηκαν κατακόρυφες σύρσεις σε διαστήματα βάθους 0-50, 50-100, 100-200 και 200-300m με κλειόμενο πλαγκτονικό δίχτυ WP-3 με μάτι γάζας 200μμ. Αναγνωρίστηκαν 7 είδη χαιτογνάθων και εξετάστηκε το στομαχικό τους περιεχόμενο. Συνολικά μελετήθηκαν περίπου 5000 χαιτόγναθα και βρέθηκαν 240 (4.8%) άτομα με τροφή στον πεπτικό τους σωλήνα. Υπολογίστηκε ο δείκτης FCR (η αναλογία ατόμων με τροφή στον πεπτικό τους σωλήνα / σύνολο των ατόμων που μελετήθηκαν) για κάθε είδος ξεχωριστά σε όλους τους σταθμούς και τα βάθη. Μεταξύ των τεσσάρων περιοχών μελέτης, οι υψηλότερες τιμές FCR βρέθηκαν στους πληθυσμούς της Θάλασσας της Ρόδου, όπου παρατηρήθηκαν και οι υψηλότερες πυκνότητες κωπηπόδων, τα οποία αποτέλεσαν τη βασικότερη πηγή τροφής. Μεταξύ των 4 στρωμάτων νερού, οι υψηλότερες τιμές FCR βρέθηκαν στο επιφανειακό στρώμα 0-50m, όπου η διαθεσιμότητα της τροφής ήταν μεγαλύτερη. Κάθε είδος έδειξε να τρέφεται καλύτερα στο βάθος που εμφάνιζε τη μέγιστη αφθονία του. Έτσι, τα επιπλαγικά *Sagitta bipunctata*, *Sagitta enflata* και *Sagitta serratodentata* εμφάνισαν τις μεγαλύτερες τιμές FCR στο στρώμα 0-50m, ενώ τα μεσοπλαγικά *Sagitta lyra*, *Sagitta decipiens* και *Krohnitta subtilis* βαθύτερα των 100m. Το είδος *Sagitta minima*, ενώ ήταν ιδιαίτερα άφθονο στα δείγματά μας, εμφάνισε τις μικρότερες τιμές FCR γεγονός που μπορεί να σχετίζεται με το είδος της τροφής που κατανάλωνε ή/και με το χρόνο πέψης της.

ASPECTS ON FEEDING OF CHAETOGNATH SPECIES IN THE EASTERN MEDITERRANEAN PELAGIC WATERS

Kehayias, G., N. Fragopoulou and J. Lykakis

University of Patras, Department of Biology,

Animal Biology Section, 26500 Patra, Greece

Chaetognaths are considered as the most important zooplankton predators at the secondary consumer level in the Mediterranean Sea. They are generally believed to have considerable influence on their prey populations, especially under conditions of low environmental productivity. Few data on chaetognaths feeding in Mediterranean waters are available, while there is no information concerning the eastern part of the basin. Zooplankton sampling was conducted in a broad pelagic area of the Eastern Mediterranean in autumn 1991 during POEM - BC programme. Twenty sampling stations situated in four pelagic areas were selected: stations 1-6 in Ionian Sea, 7-10 in Cretan Sea, 11-15 in NW Levantine Sea and 16-20 in Rhodes Sea. In each station vertical hauls were performed with a WP-3 closing net (200 μ m mesh size) in four discrete depth layers 0-50, 50-100, 100-200 and 200-300m. Seven species were identified and the stomach content of 5000 individuals was examined. Only 240 (4.8%) specimens contained food in their guts. Food containing ratio (FCR) was estimated for each species, in every station and sampling depth. FCR is expressed as the ratio of chaetognaths containing food / total chaetognaths examined. Chaetognath populations showed the highest mean FCR values in Rhodes Sea, where copepods which were their main food, were most abundant. Among the four depth intervals sampled, maximum mean FCR values were recorded at the surface layer 0-50m, where food availability was greatest.. Each population showed preference in feeding at the depth layer of its maximum abundance. Thus, the epipelagic species *Sagitta bipunctata*, *Sagitta enflata* and *Sagitta serratodentata* showed the highest mean FCR values at the 0-50m depth interval, while the mesopelagic *Sagitta lyra*, *Sagitta decipiens* and *Krohnitta subtilis* below 100m. Among the seven species found, the lowest FCR values were recorded for *Sagitta minima*, although its abundance was high. This was probably due to the kind of food consumed by this species or/and to the digestion rate.

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ, ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΝΕΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ
Saccharomyces cerevisiae, ΑΠΟ ΤΗΝ ΟΡΕΙΝΗ ΑΧΑΪΑ,
ΚΑΤΑΛΛΗΛΩΝ ΓΙΑ ΕΙΔΙΚΕΣ ΖΥΜΩΣΕΙΣ**

**Κολοκυθάς, Ε., Σ. Μάρκος, Γ. Χρυσάνθης και Α. Καλιάφας
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα**

Η παραγωγή και η διάθεση στο εμπόριο συγκεκριμένων στελεχών ζυμών που παρατηρείται πρόσφατα δικαιολογεί το αυξημένο ενδιαφέρον για τις Συλλογές Καλλιεργειών μικροοργανισμών. Στα πλαίσια διεύρυνσης της συλλογής του το εργαστήριο Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας διενήργησε δειγματοληψία στην ορεινή Αχαΐα (800-1200 m υψόμετρο) από αμπελώνες απομονωμένους και παράγοντες υψηλόβαθμα γλεύκη. Με ζυμωτικές και μικροβιολογικές μεθόδους, απομονώθηκαν στο εργαστήριο 11 στελέχη, τα οποία ταυτοποιήθηκαν με το σύστημα API 20 C AUX για ζύμες και ανήκουν στο είδος *S. cerevisiae* με πιστότητα >90%. Δύο από τα στελέχη, το No:7(AXNE-7) και το No:4(AXMY-4), επελέγησαν με κριτήριο την πλήρη ζυμωση της πηγής λήψης τους, για περαιτέρω έρευνα. Σε δοκιμασία αντοχής στη θερμοκρασία, το στέλεχος 7 αλλά και το 4 εμφανίστηκαν θερμοανθεκτικότερα της ζύμης ελέγχου (baker's yeast). Έκθεση σε UV ακτινοβολία ($253,7\text{mm}$, 4.10^4 W.cm^{-2}) έδειξε το στέλεχος 7 ως το πλέον ευαίσθητο σε χρόνους μεγαλύτερους των 2'. Μελετήθηκε η αντοχή των εξεταζόμενων στελεχών σε αντιμικητιακούς παράγοντες. Η ηλεκτροφορητική εικόνα των πρωτεϊνών των 2 στελεχών εμφανίζει διαφορές τόσο μεταξύ τους όσο και με εκείνη της ζύμης ελέγχου. Σε ζυμώσεις μικρής (7°Be) και μέσης ($11,5^\circ\text{Be}$) πυκνότητας πρότυπων διαλυμάτων σακχάρων, το στέλεχος 7 υπερτερεί σε ταχύτητα ζυμωσης των άλλων σε ποσοστό έως και 25%. Η παρουσία οργανικού υλικού ως επαγωγέα σε ζυμώσεις 7°Be ως $11,5^\circ\text{Be}$ ήταν καταλυτική, καθώς μειώθηκε εντυπωσιακά ο χρόνος ζυμωσης έως και 60%. Σε πυκνά διαλύματα σακχάρου (ως 17°Be), ο επαγωγέας αυξάνει τη δραστικότητά του μειώνοντας το χρόνο ζυμωσης έως και 55%. Μεγαλύτερη παραγωγή αιθανόλης σε μεσαία και πυκνά σακχαρούχα διαλύματα, εμφάνισε το στέλεχος 7 ειδικά παρουσία του επαγωγέα. Ηλεκτρονιογραφίες σε SEM έδειξαν μονοκύτταρη επικάλυψη-ακινητοποίηση της ζύμης στην επιφάνεια του επαγωγέα γεγονός που συσχετίζεται με τη βελτίωση τόσο του ρυθμού ζυμωσης όσο και της παραγωγικότητας σε αλκοόλη των εξεταζόμενων στελεχών.

**ISOLATION, CHARACTERIZATION AND
PHYSIOLOGICAL STUDIES OF NEW
Saccharomyces cerevisiae STRAINS, COLLECTED FROM
THE ACHAIA'S HIGHLAND VINEYARDS, USEFULL
FOR SPECIAL FERMENTATIONS**

**Kolokythas, E., S. Markos, G. Chrysanthis
and A. Kaliafas**

**Patras University, Department of Biology,
Patras 26 500, Greece**

The transformation of a natural sugar solution into a product with high alcohol content is a complex microbial reaction involving sequential development of several species or strains of yeasts. Commercially produced strains of yeasts are widely accepted in the wine and alcohol industry and many new strains find their way into the market. These strains are usually obtained from Culture Collections which maintain microbial strains and make them available for scientific studies and biotechnological applications. In our laboratory of Applied Microbiology a number of yeast strains were isolated from the Achaia's highland vineyards (800-1200 m altitude). Two of these strains, indicated as AXNE-7 and AXMY-4, were identified by using the API 20 C AUX yeast identification system: the last indicated that the strains are of the *S. cerevisiae* species with a credibility >90%. Strains AXNE-7 and AXMY-4 are more heat-tolerant than baker's yeast and AXNE-7 yields greater cell production than AXMY-4 and compressed yeast. Ultraviolet radiation (UV, 253,7nm, 4.10^{-4} W.cm⁻²) for 2' killed 99% of AXNE-7 cells only. Protein electrophoresis profiles showed some differences but the two strains and baker's yeast seemed to be genetically closely related. The fermentation rates of both strains are relatively fast, but AXNE-7 completes sugar fermentation faster compared to the AXNE-4. The fermentation time is dramatically improved only in the presence of the organic material (up to 55%) with increasing initial ³Be density from 11,5 to 17. The increased productivity obtained in the presence of this material (promotor) is probably due to the immobilization of the yeast free-cells on its surface.

ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΕ ΨΑΡΙΑ

**Κοναξή, Αντωνία και Παναγιώτης Κασπίρης
Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Πάτρα**

Η ραγδαία ανάπτυξη της εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας τα τελευταία 20 χρόνια έχει συνδεθεί με τα αυξανόμενα προβλήματα από βακτηριακές και παρασιτικές ασθένειες που οδηγούν στην ανάγκη χρήσης κτηνιατρικών φαρμάκων και χημικών για τον έλεγχο τους. Δύο είναι οι βασικοί τρόποι χορήγησης των φαρμάκων στις υδατοκαλλιέργειες: η από του στόματος και η δια του δέρματος (μπάνιο). Τα κτηνιατρικά φάρμακα, στα οποία έχει καθοριστεί χρόνος ημίσειας ζωής και χρόνος αναμονής είναι αυτά που χορηγούνται στα χερσαία ζώα και έχει αποδειχθεί ότι πολλά από αυτά είναι αναποτελεσματικά στα υδρόβια ζώα. Επίσης η φαρμακοδυναμική και η φαρμακοκινητική στα ψάρια έχει μελετηθεί ελάχιστα, με αποτέλεσμα την ύπαρξη καταλοίπων στα εσωτερικά όργανα και τη σάρκα των ψαριών. Οι πιθανοί κίνδυνοι από την ύπαρξη καταλοίπων είναι: τοξικολογικοί, μικροβιολογικοί - μεταφερόμενης δηλαδή ανθεκτικότητας στα βακτήρια- και ανοσολογικοί καθώς και η μόλυνση του περιβάλλοντος από τα ίδια τα φάρμακα ή τους ενεργούντες μεταβολίτες τους. Ο σκοπός της μελέτης που παρουσιάζουμε είναι χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των τεσσάρων τρυβλίων, να κάνουμε μία πρώτη προσέγγιση στο πρόβλημα των καταλοίπων φαρμάκων σε τσιπούρες ιχθυοτροφείων που διοχετεύονται στην αγορά των Πατρών. Το δείγμα περιελάμβανε 40 τσιπούρες μεγέθους 250-550 gr. και 10 τσιπούρες μικρότερες των 200 gr., που προέρχονταν από μονάδες της Στερεάς Ελλάδας, των νησιών του Ιονίου, της Εύβοιας και των Κυθήρων. Τα αποτελέσματα είναι συνοπτικά τα εξής:

α/ Τα κατάλοιπα αντιβιοτικών στα ψάρια είναι γεγονός, αφού μόνο το 25% των δειγμάτων εμφάνισε αρνητικά αποτελέσματα σε όλες τις δοκιμασίες.

β/ Στο μυϊκό ιστό, τα κατάλοιπα αντιβιοτικών είναι περιορισμένα, αφού το 80% των δειγμάτων έδωσε αρνητικά αποτελέσματα στις δοκιμασίες και όλα τα θετικά αποτελέσματα εμφανίστηκαν στα δείγματα βάρους μικρότερου των 200 gr.

γ/ Στο ήπαρ και το νεφρό, τα κατάλοιπα αντιβιοτικών εμφανίστηκαν σε υψηλότερα ποσοστά για λόγους που σχετίζονται με το μεταβολισμό.

DRUG RESIDUES IN FISH

**Konaxi, Antonia and Panagiotis Kaspiris
Patras University, Department of Biology, Patras, Greece**

The rapid development of intensive aquaculture over the last 20 years, or so, has been associated with increasing problems of parasitic and bacterial diseases which has led to the need for disease control with veterinary drugs and chemicals. The two main methods of drug administration in fish culture are: the bath treatment and the oral treatment. Withdrawal periods and half-life times have been established only for some drugs proper for land animals use, which often are not effective for aquatic species. Additionally, drug dynamics and kinetics in fish is poorly understood. According to the above mentioned, the use of veterinary drugs in aquaculture has the potential to leave residues in fish flesh or interior organs. The possible risks of these residues for the consumer are: toxicological, microbiological - bacterial resistance - and immunological. Finally, environmental impacts may occur from the drugs themselves or their metabolites.

The aim of this paper is to make an approach to the antibiotic residues problem in sea bream (*Sparus Aurata*). 40 fish having a weight from 250 gr. to 500 gr. and 10 fish of average weight less than 200 gr. were collected before their put in Patras market . These samples came from fish farms in Ionian Islands, Cythera, Euboea and Greek Mainland and the method used is the four-plate registered in E. C. for edible tissues residues control. The conclusions of this survey are the following:

a/ Drug residues in fish tissues is a fact. Only 25% of the samples gave negative results to the tests done.

b/ Drugs residues in fish flesh, were found in the 20% of the samples checked and strictly in fish of average weight less than 200 gr.

c/ Drugs residues in kidney and liver were found in higher percentages, due to metabolic reasons.

**ΟΙ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ hCSDA & DbpB:
ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΜΕ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΟΥ
ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ
α-ΣΦΑΙΡΙΝΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

**Κονταράκη, Ι. Ε., Α. Αργυροκαστρίτης, Γ. Τζημαγιώργης,
Μ. Μερίκα και Ν.Κ. Μοσχονάς**

**Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης & Ινστιτούτο
Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, ΙΤΕ, Ηράκλειο**

Προκειμένου να απομονωθούν πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με την αρνητική περιοχή ρύθμισης (-493 ώς -477, περιοχή G7) του υποκινητή της α-σφαιρίνης του ανθρώπου, χρησιμοποιήθηκε βιβλιοθήκη cDNA από κύτταρα K562 και απομονώθηκαν δύο κλώνοι που αντιστοιχούν στις πρωτεΐνες hCSDA (human Cold Shock Domain protein A) και DbpB (DNA binding protein B). Οι hCSDA και DbpB χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη μιάς συντηρημένης πρωτεϊνικής περιοχής, της Cold Shock Domain, με συγγένεια πρόσδεσης με δίκλωνα αλλά και μονόκλωνα νουκλεικά οξέα. Η εξειδίκευση πρόσδεσης στην περιοχή G7, δείχθηκε με πειράματα *in vitro* δέσμευσης χρησιμοποιώντας βακτηριακά εκχυλίσματα εμπλουτισμένα σε ανασυνδυασμένα πρωτεϊνικά μόρια. Η συγγένεια πρόσδεσης είναι 10 φορές μεγαλύτερη για μονόκλων ολιγονουκλεοτίδιο G7 (sense strand), αν και η εξειδίκευση αλληλουχίας βρέθηκε να είναι πιό αυστηρή για δίκλωνα μόρια. Τα αντίστοιχα γονίδια έχουν διαφορετικό μεταγραφικό πρότυπο σε μιά σειρά ιστών και κυτταρικών σειρών ανθρώπου και ποντικού, αλλά και τα δύο καταστέλλονται σε ερυθροειδείς ή μυελοειδείς κυτταρικές σειρές μετά από επαγωγή της διαφοροποίησης. Αντίστροφη συσχέτιση των επιπέδων αφθονίας των μεταγράφων της hCSDA και DbpB με τα αυξημένα επίπεδα εκείνων της α-σφαιρίνης σε διαφοροποιημένες ερυθροειδείς σειρές, υποδεικνύει πιθανή αρνητική ρύθμιση των γονιδίων της α-σφαιρίνης από τις πρωτεΐνες αυτές. Επιπλέον, πειράματα συνδιαμόλυνσης φορέων έκφρασης της hCSDA και/ή DbpB με διάφορες κατασκευές αναφοράς του υποκινητή της α-σφαιρίνης, σε ερυθροειδικές και μη, κυτταρικές σειρές, έδειξαν ότι οι δύο πρωτεΐνες δρούν αρνητικά στη μεταγραφική ενεργότητα του υποκινητή. Δείχτηκε επίσης, αλληλεπίδραση των hCSDA και DbpB με τον μεταγραφικό παράγοντα Spl. Θα παρουσιάσουμε πιθανούς μηχανισμούς μεταγραφικής δράσης των εν λόγω πρωτεϊνών.

THE TRANSCRIPTIONAL FACTORS hCSDA AND DbpB: INVOLVEMENT IN THE PROMOTER ACTIVITY OF THE HUMAN α -GLOBIN GENE

**Kontaraki, J.E., A. Argyrokastritis, G. Tzimagiorgis,
M. Merika and N.K. Moschonas**

**Department of Biology, University of Crete, and Institute of
Molecular Biology and Biotechnology, FORTH, Herakleion,
Greece**

Aiming to isolate transcription factors interacting with the negative regulatory region of the human α -globin gene promoter (-493 to -478; site G7), a K562 cDNA library has been screened, resulting to two clones corresponding to the proteins hCSDA (human Cold Shock Domain protein A) and DbpB (DNA binding protein B). hCSDA & DbpB belong to an ancient protein family characterized by a highly conserved structural motif, the Cold Shock Domain, which possesses binding affinity for a variety of double- and single stranded nucleotide sequences. Their binding specificity to the G7 α -globin promoter region was shown by *in vitro* binding experiments, using bacterial extracts enriched with recombinant protein molecules. The two proteins recognize a polypyrimidine stretch and bind with 10-fold higher affinity to the single stranded G7 oligonucleotide (sense strand), although their specificity was suggested to be more stringent to double stranded G7 molecules. The transcriptional activity of the respective genes appears varying in numerous human and murine tissues and cell lines, and it has been shown to be suppressed in erythroid or myeloid cell lines upon chemical induction towards differentiation. Inverse correlation of the abundance of hCSDA & DbpB transcripts with increased levels α -globin gene transcription detected in differentiated erythroid cell lines, may indicate a mechanism of negative regulation of α -globin gene transcription by these proteins. In accordance to this finding are the results of extensive co-transfection experiments using erythroid- and other cell lines. Mammalian expression vectors carrying hCSDA and/or DbpB were used in cotransfection experiments combined with several α -globin promoter reporter constructs. The negative regulatory effect of these proteins due to their binding to the G7 site was determined. Protein-protein interactions of hCSDA & DbpB with the transcriptional factor Sp1 has been also suggested. We will present possible mechanisms of the regulatory interplay of these proteins.

ΝΕΑ ΦΥΣΙΚΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΣΤΡΕΠΤΟΜΥΚΗΤΩΝ ΕΔΑΦΟΥΣ

Κοράκη, Δ., Ν. Αρβανίτης και Α. Δ. Καραγκούνη
Τομέας Βοτανικής, Βιολογικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
157 81 Αθήνα

Οι στρεπτομύκητες είναι πολύ σημαντικά νηματοειδή βακτήρια του εδάφους λόγω της ικανότητας τους να παράγουν ένα μεγάλο αριθμό αντιβιοτικών και άλλων δευτερογενών μεταβολιτών όπως ένζυμα, χρωστικές, ενζυμικούς αναστολείς. Ένας μεγάλος αριθμός πλασμιδίων έχει πρόσφατα απομονωθεί και μελετηθεί και ερευνάται ο ρόλος που αυτά διαδραματίζουν στην βακτηριακή κοινότητα. Η χρήση των πλασμιδίων αυτών ως φορείς κλωνοποίησης και το γεγονός ότι ξένα γονίδια έχουν εκφραστεί σε στελέχη στρεπτομυκήτων είναι οι κύριοι λόγοι για το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για τα γενετικά αυτά στοιχεία. Στην παρούσα εργασία αναφέρουμε μελέτες σχετικά με την παρουσία και την διασπορά πλασμιδίων σε ενδογενή στελέχη στρεπτομυκήτων εδάφους που έχουν απομονωθεί από δύο διαφορετικού τύπου Μεσογειακά οικοσυστήματα: μία αγροτική περιοχή και μία δασική απομονωμένη περιοχή. 108 ενδογενή στελέχη στρεπτομυκήτων που απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν ελέγχηθσαν για την παρουσία αυτόνομων κυκλικών υπερελικομένων πλασμιδίων. Βρέθηκαν 6 συνολικά στελέχη φορείς πλασμιδίων. Και τα 6 αυτά στελέχη προέρχονται από την αγροτική περιοχή. Με πειράματα υβριδισμού βρέθηκαν ομολογίες ανάμεσα στα 4 νέα πλασμίδια αλλά δεν παρατηρήθηκαν ομολογίες μεταξύ των νέων αυτών πλασμιδίων και γνωστών πλασμιδίων στρεπτομυκήτων όπως το rII101 και SCP2*. Τα 4 στελέχη ξενιστών που φέρουν τα ομόλογα πλασμίδια ανήκουν σε 3 διαφορετικά είδη στρεπτομυκήτων. Αυτό υπονοεί πιθανή συζευκτική μεταφορά των πλασμιδίων μέσα στον πληθυσμό. Τα στελέχη ξενιστές εξετάστηκαν κάτω από διαφορετικές φυσικοχημικές συνθήκες για να μελετηθεί η επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στην φυσιολογία των πλασμιδίων (αριθμός αντιγράφων, ενσωμάτωση στο χρωμόσωμα). Τμήματα των πλασμιδίων αυτών θα κλωνοποιηθούν στο φορέα κλωνοποίησης rII101 και σε φορέα θετικής επιλογής με σκοπό την μελέτη της *tra* και *rep* περιοχής.

NEW NATURALLY OCCURRING *STREPTOMYCES* PLASMIDS

Koraki, D., N. Arvanitis and A. Karagouni
Section of Botany, Department of Biology, University of Athens,
157 81 Athens, Greece

Streptomyces are very important filamentous soil bacteria due to their ability to produce a large number of antibiotics and other useful - in medicine and agriculture- secondary metabolites. Recently a large number of plasmids has been identified and their role in bacterial communities is investigated. The use of these plasmids as cloning vectors and the fact that foreign genes have been expressed in *Streptomyces* strains is the main reason of the increasing interest in these genetic elements. We report here studies on the occurrence and diversity of plasmids hosted in indigenous *Streptomyces* strains isolated from two different Mediterranean type soil ecosystems : an agricultural field and a protected forest area. The isolates were screened for the presence of ccc plasmids. Among the 108 isolates screened, 6 were found to contain plasmids. The strains containing these plasmids were all derived from the agricultural soil. Cross hybridization revealed very high homologies among 4 plasmids but no homologies were found between the new natural plasmids and well known *Streptomyces* plasmids as pIJ101 and SCP2*. The host strain of those homologous 4 plasmids belong to 3 different *Streptomyces* species. This implies a possible conjugative transfer of these plasmids within *Streptomyces* population. The host strains were examined under different physiological conditions to determine the effect of environmental factors on the state of plasmids (integration into the chromosome, state of free form, copy number). Their size was estimated by restriction analysis to approximately 70 kb. In order to locate the possible *tra* region and the *rep* region, fragments of these plasmids were subcloned in pIJ702 and in positive-selection vectors.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΡΩΤΙΜΗΣ ΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΑΘΑΡΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ ΣΕ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Κορκόβελος¹, Α., Ζ. Μαμούρης², Α. Αγοραστός² και Χ. Γούλας¹

¹Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας,

²Γενικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος

Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της συμπεριφοράς καθαρών σειρών καλαμποκιού σε ελεγχόμενες συνθήκες καταπόνησης χαμηλών και υψηλών θεμοκρασιών στα πρώτα στάδια βλαστικής ανάπτυξης και η δυνατότητα χρησιμοποίησης μοριακών τεχνικών ως κριτήριο επιλογής των επιθυμητών γενοτύπων. Αξιολογήθηκαν 34 καθαρές σειρές που υποβλήθηκαν σε εργαστηριακή αξιολόγηση βλαστικής ικανότητας σε θερμοκρασίες 10°C και 12°C. Επιλέχθηκαν οι τρεις καθαρές σειρές που βλάστησαν πρώτες στους 10°C και οι αντίστοιχες τρεις τελευταίες ως ανεκτικές (CTL) και ευαίσθητες (CSL) στις οριακές χαμηλές θερμοκρασίες. Με τον ίδιο τρόπο επιλέχθηκαν οι τρεις πρώτες και οι τρεις τελευταίες στη θερμοκρασία των 12°C ως ανεκτικές (HTL) και ευαίσθητες (HSL) στις υψηλές θερμοκρασίες αντίστοιχως. Οι επιλεγμένες καθαρές σειρές μεταφυτεύθηκαν σε γλάστρες και αναπτύχθηκαν μέχρι το στάδιο των οκτώ φύλλων σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών. Οι συνθήκες ήταν 16/8 ώρες ημέρα /νύκτα και θερμοκρασία 14°C για τις CTL και CSL σειρές και 35°C για τις HTL και HSL αντίστοιχως. Έγινε εξαγωγή DNA και αξιολόγηση με μοριακούς δείκτες RAPD. Χρησιμοποιήθηκε μεθοδολογία PCR με την βοήθεια 40 τυχαίων εκκινητών και διαχωρισμό των προϊόντων ενίσχυσης σε πηκτή αγαρόζης και ακρυλαμίδης. Σύμφωνα με τη βλαστική ικανότητα οι σειρές CTL και HTL ταυτίστηκαν και θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως ουδέτερες (STNL). Η μελέτη των προϊόντων ενίσχυσης έδειξε κατά κύριο λόγο διαφορετικά πρότυπα στις δύο πηκτές ενώ βρέθηκαν και εκκινητές που έδειξαν κοινό πρότυπο για όλους τους γενότυπους. Παρόλα αυτά τρεις τουλάχιστον εκκινητές OPA1, OPF5 και OPF20 διαφοροποιήσαν τις ομάδες των γενοτύπων. Οι τρεις HSL γενότυποι διαφοροποιήθηκαν από τους υπόλοιπους ως προς τον εκκινητή OPA1 με βάση την παρουσία δύο διακεκριμένων ζωνών των 360 και 1100 βάσεων αντίστοιχως και την απουσία μιας διακεκριμένης ζώνης των 210 βάσεων, καθώς και ως τον εκκινητή OPF5 με βάση την παρουσία δύο διακεκριμένων ζωνών των 330 και 300 βάσεων αντίστοιχως και την απουσία μιας ζώνης των 250 βάσεων. Επίσης, ο εκκινητής OPF20 φάνηκε να διαφοροποιεί τις ευαίσθητες (CSL και HSL) γενότυπους από τους ανεκτικούς (CTL και HSL) με βάση μια διακεκριμένη ζώνη των 450 βάσεων.

SCREENING MAIZE INBRED LINES FOR TOLERANT TO LOW/HIGH TEMPERATURE STRESSES DURING EARLY GROWTH USING RAPD MOLECULAR MARKERS

**Korkovelos¹, Athanasios E., Zissis Mamuris²,
Angelos G. Agorastos² and Christos K. Goulas¹**

**¹Plant Breeding and Genetics Laboratory,
School of Agriculture,
²General Department, University of Thessaly, 38334 Volos,
Greece**

The performance of maize inbred lines during early growth under low/high temperature stresses in controlled room conditions and the possibility to use molecular techniques for screening purposes were studied. 34 inbred lines were used in a cold (10°C) germination test. The three lines which first germinated were considered as cold tolerant (CTL) as compared to the three latest germinated which considered as cold sensitive (CSL) were selected. In the same manner in a suboptimal germination test (12°C) the three fastest and the three latest ones were selected as heat tolerant (HTL) and heat sensitive (HSL), correspondingly. The four groups were transplanted in pots and grown in controlled room conditions up to 8th leaf stage. CTL and CSL genotypes were grown under 14°C whereas the HTL and HSL ones under 35°C. During growth 16/8 h day/night conditions were kept under both temperature regimes. DNA was extracted and evaluated using a random primer PCR mediated DNA fingerprinting. A total of 40 random primers were used and their products were analysed on agarose and acrylamide gels. As expected the three CTL and HTL were selected in common and could be considered as neutral to temperature stresses (STNL). Data shown that banding patterns were mainly different in the two gels, whereas some primers expressed the same banding patterns for all groups of genotypes in spite of this three primers OPA1, OPF5 and OPF20 were able to differentiate the different groups. Thus the HSL had a distinctly different banding pattern as compared to the other groups based on primers OPA1 and OPF5. This pattern was expressed with the presence of two distinct bands (360 and 1100 base pairs) for primer OPA1 and two (300 and 330) for primer OPF5 combined with the absence of 210 and 250 base pairs band for primers OPA1 and OPF5, correspondingly. Primer OPF20 seemed to differentiate groups CTL and HTL from the corresponding CSL and HSL on a distinct base 450 base pairs.

ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΦΥΣΙΚΟΥ (ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ) ΚΟΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΚΑΙ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ, 1930-1960

**Κορφιάτης, Κ. Ι. και Γ. Π. Στάμου
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη**

Στην παρούσα ανακοίνωση παρουσιάζεται μέρος αποτελεσμάτων έρευνας που διεξάγεται στα πλαίσια προγράμματος ΠΕΝΕΔ, με τίτλο «Η ανάπτυξη της γνώσης για το περιβάλλον στο ελληνικό πανεπιστήμιο, 1930-1980».

Η περίοδος 1930-1960 είναι μια ομοιογενής περίοδος για τα πανεπιστημιακά πράγματα, παρά τη μεσολάβηση του Β' Παγκόσμιου πολέμου, τόσο όσο αφορά τα πρόσωπα και τις έδρες, όσο και τα βασικά ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά της έρευνας και της παρεχόμενης γνώσης. Οι ακαδημαϊκοί των επιστημών του φυσικού περιβάλλοντος είναι βοτανικοί ή ζωολόγοι, που έχουν σπουδάσει σε χώρες της κεντρικής και δυτικής Ευρώπης. Η έρευνα που πραγματοποιούν αφορά τη χλωρίδα και πανίδα της Ελλάδας και είναι κυρίως ταξινομικού-περιγραφικού χαρακτήρα. Οι κεντρο-ευρωπαϊκές χώρες, όπου απέκτησαν επιστημονική παραδοσία οι έλληνες βοτανικοί και ζωολόγοι, διέθεταν μεγάλη παράδοση στη συστηματική και την ταξινομική, όπου, πέρα από τα συσσωρευμένα δεδομένα, είναι εμφανής στο τρόπο αναπαράστασης και περιγραφής των ειδών της χλωρίδας και πανίδας η προσπάθεια έκφρασης άποψης για το φυσικό κόσμο. Οι έλληνες ερευνητές της αντίστοιχης περιόδου, δεν δείχνουν να παρακολουθούν τη πορεία των ιδεών της συστηματικής και της ταξινομικής. Η αναπαράσταση της φύσης μένει, με λίγες εξαιρέσεις, στο επίπεδο των "φύλλων εργασίας", χωρίς να ακολουθεί το κοσμοειδώλο των ευρωπαϊκών σχολών, αλλά και χωρίς να δημιουργεί κάποιο διαφορετικό. Αντίστοιχες παρατηρήσεις ισχύουν και όσο αφορά την πειραματική και ερευνητική μεθοδολογία.

REPRESENTATIONS OF THE NATURAL WORLD IN THE GREEK AND EUROPEAN BIOLOGICAL RESEARCH, 1930-1960

Korfiatis, K. and G. P. Stamou

**Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University,
540 06 Thessaloniki, Greece**

This presentation summarises part of the results of a project concerning the «Development of the knowledge for the natural environment in the greek universities, 1930-1980».

The period between 1930-1960 is a homogenous period for the Greek universities, concerning the persons involved, the disciplines of scientific research, as well as the qualitative and quantitative characteristics of scientific and educational activity. The academic personnel dealing with environmental research were botanists or zoologists. They undertook mainly taxonomic-descriptive type of research about the flora and fauna of Greece. These researchers were educated scientifically in countries of North and Central Europe. These countries had developed a great tradition on taxonomic and systematic research, in which someone can clearly distinguish an attempt to create an image of the natural world, through the representation and description of the species of flora and fauna. The Greek researchers of that period didn't seem to follow the 'adventures' of the ideas of the european taxonomy. Their research remained, with few exceptions, at a «spreadsheet» level, without attempts of creating a naive world-view or even following that of the european schools. Similar comments stand for the experimental and scientific methodology.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΤΟΥ
mtDNA ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ
*Verticillium lecanii***

Κουβέλης, Βασίλης Ν. και Μιλτιάδης Α. Τύπας
Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15701, Αθήνα

Ο δευτερομύκητας *Verticillium lecanii* ανήκει στους εντομοπαθογόνους μύκητες με μεγάλη οικονομική σημασία στη βιολογική καταπολέμηση. Το μιτοχονδριακό γονιδίωμα του μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο για τη μοριακή ταυτοποίησή του, καθώς και για φυλογενετικές μελέτες. MtDNA απομονώθηκε με υπερφυγοκέντρηση σε κλίση CsCl, και χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία δύο γονιδιακών τραπεζών mtDNA με *Bgl*ΙΙ και *Hind*ΙΙ τμήματα. Προκειμένου να αναγνωριστούν λειτουργικά τμήματα του μιτοχονδριακού γονιδιώματος, σχεδιάστηκαν εκκινητικά ολιγονουκλεοτίδια από συντηρητικές mtDNA περιοχές των ελαχίστων γνωστών αλληλουχιών υφομούκητων και ζυμών, που είχαν ήδη δημοσιευθεί. Τα γονίδια που χρησιμοποιήθηκαν για αντιδράσεις PCR ήταν: οι υπομονάδες της NADH αφυδρογονάσης 1 (ND1), 3 (ND3), 5 (ND5), της ATPάσης 6 (ATP6) και 8 (ATP8), και της κυτοχρωμικής οξειδάσης 3 (COIII). Παρομοίως, χρησιμοποιήθηκαν ήδη δημοσιευμένα συντηρητικά εκκινητικά ολιγονουκλεοτίδια για τη μικρή (NMS1/2) και μεγάλη (ML3/4 και 7/8) ριβοσωμική υπομονάδα του μιτοχονδριακού RNA γονιδιακού συμπλέγματος. Για να προσδιορισθεί η σειρά των γονιδίων στο mtDNA, εμπλουτίστηκαν οι παρακάτω περιοχές (σε Kb): ND1a-ND3b (9.0), ATPasebb-ATPase8 (1.1), ND3b-ND5a (3.6), NMS1-COIIIa (2.7), NMS2-ML7 (4.0), ML3-ML8 (1.7). Τα προϊόντα των αντιδράσεων εμπλουτισμού NMS, ML3/4, ML7/8, ND1, ND3, ND5, ATPaseb, σημάνθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν σε υβριδισμούς για τον εντοπισμό των αντίστοιχων γονιδίων στις μιτοχονδριακές τράπεζες. Ακολούθησε ανάλυση της αλληλουχίας DNA των προϊόντων εμπλουτισμού, καθώς και συγκεκριμένων περιοχών των κλωνοποιημένων τμημάτων, οπότε και σχεδιάστηκαν νέα ομόλογα εκκινητικά ολιγονουκλεοτίδια. Οι επακόλουθοι εμπλουτισμοί, σε συνδυασμό με τα προηγούμενα αποτελέσματα συμπληρώνουν το λειτουργικό χάρτη του mtDNA του *Verticillium lecanii* ο οποίος παρουσιάζεται στην εργασία αυτή.

GENE ORGANIZATION OF THE mtDNA FROM THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Verticillium lecanii*

Kouvelis, Vassilis N. and Milton A. Typas

Division of Genetics and Biotechnology, Department of Biology,
University of Athens, Panepistemiopolis 157 01, Athens, Greece

Verticillium lecanii is an asexual entomopathogenic fungus with great economical importance in biological control. The mtDNA of this fungus can be exploited as a tool for genetic fingerprinting and/or phylogenetic studies. Mitochondrial DNA (mtDNA) isolated by ultracentrifugation in CsCl gradient was used to construct two mtDNA gene banks with the *Bgl*II and *Hind*III fragments. To identify the functional regions of the mitochondrial genome, PCR primers were designed based on conserved mtDNA sequences following comparisons of all published data from mtDNA of hyphomycetes and yeasts. These included: NADH dehydrogenase subunits 1 (ND1), 2 (ND2), 3 (ND3), 5 (ND5), ATPase subunits 6 and 8 (ATP6), (ATP8), and cytochrome oxidase subunit 3 (COIII). Similarly, the conserved primers NMS1/2, ML3/4 and 7/8 for the mitochondrial small (SrRNA) and large (LrRNA) ribosomal rRNA genes respectively were also used. To reveal the order and relative positions of genes on mtDNA, the above primers were used in all possible combinations. Amplification products were obtained from the following primer combinations (in Kb) : ND1a-ND3b (9.0), ATPase6b-ATPase8 (1.1), ND3b-ND5a (3.6), NMS1 (srRNA)-COIIIa (2.7), NMS2-ML7 (4.0), ML3-ML8 (1.7). A screening of the mitochondrial gene banks was made with hybridisation experiments using the homologous probes from the PCR products of NMS, ML3/4, ML7/8, ND1, ND3, ND5, ATPase6. Sequencing of the PCR products and specific regions of the cloned fragments, helped in designing highly specific homologous primers. PCR amplification with these primers, in combination with the above results, provide the first functional map of the mtDNA of *Verticillium lecanii*.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA
ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ
SPHAEROMATIDAE (Crustacea, Isopoda)**

**Κουρτίδης¹, Α., Ν. Νικολαΐδης¹, Χ. Χιντήρογλου²
και Ζ.Γ. Σκούρας¹**

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,

²Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη

Στα πλαίσια ενός ερευνητικού προγράμματος που χρηματοδοτείται από τη Γ.Γ.Ε.Τ. άρχισε μία έρευνα για τη σύγκριση, τα πλαίσια ενός ερευνητικού προγράμματος που χρηματοδοτείται από τη Γ.Γ.Ε.Τ. άρχισε μία έρευνα για τη σύγκριση, σε μοριακό επίπεδο, ορισμένων βενθικών οργανισμών που ζουν στη λιμνοθάλασσα της Βουλιαγμένης και στο ανοικτό θαλάσσιο σύστημα. Η λιμνοθάλασσα της Βουλιαγμένης (ΝΑ Αθήνα) προκαλεί το ενδιαφέρον γεωλόγων και βιολόγων αφού από τη μια μεριά παρουσιάζει σχετικά σταθερούς αβιοτικούς παράγοντες σε ετήσια βάση (20-30°C, 17⁰/oo αλατότητα, σχετικά μεγάλο βάθος 13 μέτρα) και από την άλλη η ιστορία της είναι σχετικά μικρή (περίπου 2.000 χρόνια) και η επικοινωνία της με τη θάλασσα ακαθόριστη. Η έρευνα εστιάστηκε σε πληθυσμούς ισοπόδων που ανήκουν στην οικογένεια Sphaeromatidae, είδη της οποίας, όπως το *Shaeroma serratum*, *S. ghigii*, κ.ά., εμφανίζονται σε διάφορες θαλάσσιες συνευρέσεις. Αρχικά συλλέχθηκε ένας μεγάλος αριθμός ισοπόδων, έγιναν προσπάθειες απομόνωσης του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA), εφαρμόζοντας διάφορες μέθοδους, ώστε τελικά να οριστικοποιηθεί ένα πρωτόκολλο μεθοδολογίας. Το πρωτόκολλο αυτό απαιτεί αρχικό δείγμα ζώων βάρους 16 γραμμαρίων με μικρή σχετικά απόδοση καθαρού mtDNA (περίπου 100-200 ng). Το μέγεθος του mtDNA αυτού έχει μήκος περίπου 15.000 ζεύγη βάσεων. Η συγκριτική μελέτη προχωρά με τη χρησιμοποίηση διαφόρων ενδονουκλεασών περιορισμού με σκοπό τη χαρτογράφηση των μιτοχονδριακών γονιδιωμάτων και την ανάλυση, με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR), τμημάτων του mtDNA με τη χρήση «παγκόσμιων» ανιχνευτών (universal primers) καθώς και εύρεση της πρωτοδιάταξης των βάσεων.

ANALYSIS OF THE mtDNA OF THE SPHAEROMATIDAE FAMILY (Crustacea, Isopoda)

**Kourtidis¹, A., N. Nikolaidis¹, Ch. Chintiroglou²
and Z.G. Scouras¹**

¹Department of Genetics, Development and Molecular Biology,

**²Department of Zoology, School of Biology, Faculty of Science,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece**

In the frame of a research programme supported by G.S.R.T (ΠΓΕΤ) a comparison, at the molecular level, among certain benthic organisms living in Bouliagmeni lagoon and in open sea has started. Bouliagmeni lake lies South-East of Athens, and during the year exhibits a rather constant high temperature (20-30°C), 17% salinity and 13 m depth. This salt lake is rather new (2.000 years) and its connection with the sea is rather obscure. Our research has focused on isopod populations belonging to the Sphaeromatidae family, species of which, like *S. serratum*, *S. ghigii*, etc. can be found in both lake and open sea. A large number of organisms has collected and after application of several techniques a protocol has been established for the isolation of their mitochondrial DNA (mtDNA). The yield of this protocol is rather low, since 16 grs of animals give only 100-200 ng of pure mtDNA. The size of this molecule is near 15.000 kb. The comparison of mtDNA molecules from different populations is scheduled by using restriction endonucleases for mapping and PCR analysis and sequencing of certain mtDNA fragments.

ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΩΝ ΑΙΣΘΗΤΙΚΩΝ ΝΕΥΡΩΝΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΤΗΣ ΟΥΡΑΣ ΑΜΦΙΒΙΩΝ

Κουσουλάκος, Σταύρος
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και
Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Αθήνα

Κατά την οντογένεση ενός οργανισμού οι νευρώνες των ραχιαίων γαγγλίων προέρχονται από κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας. Τα κύτταρα αυτά θεωρούνται εμβρυϊκά και πιστεύεται ότι δεν υφίστανται στο ώριμο άτομο. Εάν από ένα ουροδελές αμφίβιο αποκοπεί τελικό τμήμα της ουράς, τότε στο κολόβωμα επάγεται επιμορφική αναγέννηση κατά την οποία, φυσικά, σχηματίζονται και νέα ραχιαία γάγγλια. Η εκ νέου δημιουργία ραχιαίων γαγγλίων, σε συνδυασμό με την απουσία νευρικής ακρολοφίας γεννούν το ερώτημα της προέλευσης των αισθητικών νευρώνων. Στόχος αυτής της εργασίας ήταν να προσεγγίσει την επίλυση αυτού του προβλήματος κάτω από κυτταρολογικό και ιστολογικό πρίσμα. Για την πραγμάτωση αυτού του στόχου αποκόπηκε και απομακρύνθηκε το τελικό 1/3 της ουράς τεσσάρων ενήλικων ατόμων του είδους *Pleurodeles waltl*. Υστερα από δύο εβδομάδες χορηγήθηκε στα ζώα κατάλληλη ποσότητα ραδιενέργου θυμιδίνης, τρεις ώρες δε αργότερα τα αναγεννήματα αφαιρέθηκαν, μονιμοποιήθηκαν σε Bouin, εγκλείστηκαν σε παραφίνη, και κόπηκαν σε τομές πάχουνς 7μμ. Σε διάφορες ομάδες ιστολογικών παρασκευασμάτων μελετήθηκε (ύστερα από χρώση Domagk και αυτοραδιογραφία) η οντογένεση των νέων ραχιαίων γαγγλίων, η τυχόντα μεταναστευτική διάταξη κυττάρων του νωτιαίου μυελού και η μιτωτική δραστηριότητα των επενδυμικών κυττάρων και των απογόνων τους. Από αυτές τις παρατηρήσεις προκύπτουν τα εξής: (α) Σε μερικά σημεία φαίνεται ως εάν κάποια κύτταρα μεταναστεύουν από το νωτιαίο μυελό προς τις θέσεις σχηματισμού των ραχιαίων γαγγλίων. Αυτό αποτελεί ένδειξη ότι κάποια κύτταρα που ευρίσκονται μέσα στον αναγεννώμενο νωτιαίο μυελό ίσως να είναι γεναρχικά κύτταρα των ραχιαίων γαγγλίων. (β) Ο μιτωτικός δείκτης και ο δείκτης επισήμανσης ραδιενέργου θυμιδίνης κατά μήκος του αναγεννώμενου νωτιαίου μυελού εμφανίζεται αυξημένος κατά διαστήματα. Θεωρώ πιθανόν, ότι σε περιοδικά διαστήματα του νωτιαίου μυελού επάγεται εντονότερος κυτταρικός πολλαπλασιασμός, ώστε τα «πλεονάζοντα» κύτταρα να μεταναστεύσουν προς τις θέσεις σχηματισμού των ραχιαίων γαγγλίων.

ORIGIN OF SENSORY NEURONS DURING TAIL REGENERATION IN URODELES

Koussoulakos, Stauros

**University of Athens, Department of Biology,
Section of Cellular Biology and Biophysics, Athens, Greece**

Early during urodele ontogenesis, neural crest cells migrate and form (among many other structures) the sensory ganglia. It is believed that neural crest cells do not exist in the adults. Urodele amphibia are endowed with the remarkable ability of regenerating a lot of lost appendages, the tail included. Regeneration of the lost tail involves the creation of new sensory ganglia. Since, embryonic neural crest cells are absent, a question raises concerning the origin of the new spinal neurons. Observations on serial sections of tail regenerates and counts of mitotic figures and blackened nuclei reveal that high mitotic and labeling indices are scored at regular distances of the regenerating spinal cord. Moreover, it was frequently observed that cells seemed to migrate away and laterally from the spinal cord.. The above results indicate that cells from the regenerating spinal cord might be the source of the spinal ganglia neurons.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΧΡΟΝΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ
ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ
MYTILUS GALLOPROVINCIALIS ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ
ΚΟΛΠΟ**

Κράββα*, Ν., Α. Στάϊκου και Κ. Τριανταφυλλίδης***

*Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας και

**Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο

Πανεπιστήμιο, 54006 Θεσσαλονίκη

Το μύδι *Mytilus galloprovincialis* συναντάται στις ακτές της Μεσογείου, Ατλαντικού Ωκεανού, Ευρώπης, Ν. Αμερικής και Αφρικής. Στην Ελλάδα είναι πολύ διαδεδομένο στο Βόρειο Αιγαίο και ειδικά στους ευτροφικούς κόλπους. Σ' αυτούς υπάρχουν πολλές καλλιέργειες μυδιών με μεγάλη οικονομική σημασία μια που το 80% της ελληνικής παραγωγής προέρχεται από αυτή την περιοχή. Το Μάρτιο του 1993 πάρθηκαν δείγματα από το φυσικό πληθυσμό του Καλοχωρίου και από καλλιεργούμενους πληθυσμούς της Χαλάστρας και του Μακρυγιάλου. Μελετήθηκαν 10 ενζυμικά συστήματα (AAT, ESD, EST, IDH, LAP, MDH, ODH, 6-PGDH, PGI, PGM) σε ένα δείγμα 210 ατόμων, που αντιστοιχούν σε 12 γονιδιακούς τόπους χρησιμοποιώντας ηλεκτροφορήσεις σε πηκτή αμύλου. Το Φεβρουάριο-Μάρτιο του 1995 τοποθετήσαμε στην περιοχή της Χαλάστρας και του Μακρυγιάλου ειδικούς συλλέκτες γόνου, τους οποίους χρησιμοποιήσαμε, τον Απρίλιο του 1995 για τη δημιουργία καλλιέργειών. Οι καλλιέργειες παρέμειναν μέχρι τον Απρίλιο του 1996 και σε αυτό το διάστημα πραγματοποιήθηκαν τρεις δειγματοληψίες για να μελετηθεί η διαχρονική διακύμανση στις συχνότητες 6 γονιδιακών τόπων (EST-2, IDH-1, LAP-1, PGD-1, PGI-1, PGM-1). Εξετάστηκαν τα αλληλόμορφα κάθε γονιδιακού τόπου, οι συχνότητές τους, ο μέσος αριθμός αλληλομόρφων για κάθε γονιδιακό τόπο, το ποσοστό πολυμορφικών γονιδιακών τόπων και ο μέσος βαθμός ετεροζυγωτίας. Έγινε έλεγχος της γενετικής διαφοροποίησης των πληθυσμών και της γονιδιακής ροής. Παρατηρήθηκε έλλειψη ετεροζυγωτίας σε αρκετούς γονιδιακούς τόπους η οποία μπορεί να οφείλεται στη φυσική επιλογή. Τέλος, στη συχνότητα των αλληλομόρφων των γονιδίων EST-2, PGM-1 και IDH-1 παρατηρήθηκε διαχρονική διακύμανση που ίσως είναι αποτέλεσμα της φυσικής επιλογής.

GENETIC COMPOSITION AND TEMPORAL VARIATION IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* POPULATIONS OF THE THERMAIKOS GULF (NORTHERN AEGEAN SEA)

Kravva*, N., A. Staikou and C. Triantaphyllidis***

***Department of Genetics, Development and Molecular Biology
and **Department of Zoology, School of Biology, Aristotle
University, GR-54006 Thessaloniki, Greece**

Mytilus galloprovincialis Lamarck, a Mediterranean mussel, is widespread on Mediterranean coasts; it also occurs on the Atlantic coasts of the West Europe and North America. In Greece, *M. galloprovincialis* predominates on the coasts of the Northern Aegean Sea, especially in eutrophic gulfs where food is readily available and mussel-cultivation has recently become increasingly important. The 80% of the total Greek mussel production comes from this region. In March 1993 samples were taken from a natural mussel population of a rocky dyke in the area of Kalohori and from two mussel cultivations at the Halastra and Makrygialos area. Ten enzymatic systems (AAT, ESD, EST, IDH, LAP, MDH, ODH, 6-PGDH, PGI, PGM) corresponding to twelve putative loci were investigated using starch gel electrophoresis in a sample of 210 individuals. Spats were collected in February-March 1995 at the Halastra and Makrygialos area using special ropes. Small mussels were put in culture frames in April 1995 and were maintained until February 1996. In this period three samplings were made and allozyme variation was investigated using six gene loci: EST-2, IDH-1, LAP-1, PGD-1, PGI-1, PGM-1. The alleles in each locus, their frequencies, the mean number of alleles per locus, the percentage of polymorphic loci, the observed and the expected heterozygosity has been investigated. Genetic diversity of the populations and gene flow has also estimated. Deficiencies of heterozygotes were observed in several enzyme loci. This could be the result of inbreeding or selection. The significant temporal differences of allele (EST-2, PGM-1, IDH-1) frequency observed could be caused by the possible involvement of selection.

ΙΣΟΕΝΖΥΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΜΠΑΡΜΠΟΥΝΙΟΥ (*Mullus surmuletus*) ΑΠΟ ΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟ

Κρικάς¹, N., Z. Μαμούρης¹ και K. Τριανταφυλλίδης²

¹Γενικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος, και ²Τομέας
Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, ΑΠΘ,
Θεσσαλονίκη

Στην εργασία αυτή συλλέχθηκαν 8 πληθυσμοί μπαρμπουνιού από 6 θαλάσσιες περιοχές, 3 του Αιγαίου (Καβάλα, Τρίκερι, Ρόδος), 2 του Ιονίου (Κέρκυρα, Πρέβεζα) και 1 της Γαλλίας. Σε ηλεκτροφόρηση αμύλου μελετήθηκαν 16 ενζυμικά συστήματα τα οποία αντιστοιχούν σε 20 υποθετικούς γονιδιακούς τόπους: *mAAT**, *sAAT-1**, *sAAT-2**, *CK-1**, *CK-2**, *PGI-1**, *PGI-2**, *PGI-3**, *MDH**, *LDH-A**, *LDH-B**, *SOD**, *PGM**, *XO**, *EST**, *XDH**, *IDH**, *PGD**, *aGPDH** και *ADH**. Από τους 20 γονιδιακούς τόπους που μελετήθηκαν, 9 βρέθηκαν μονομορφικοί (*CK-1**, *CK-2**, *PGI-1**, *PGI-2**, *PGI-3**, *LDH-A**, *LDH-B**, *SOD**, *PGM**), και οι υπόλοιποι 11 πολυμορφικοί. Το ποσοστό των πολυμορφικών γονιδιακών τόπων κυμαίνοταν από 45 έως 65% και ο βαθμός ετεροζυγωτίας από 0,173 έως 0,255. Αν και οι τιμές αυτές θεωρούνται αρκετά υψηλές, είναι αναμενόμενες για ένα θαλάσσιο είδος ψαριού και υποδηλώνουν ότι το συγκεκριμένο είδος παρουσιάζει μεγάλο μέγεθος πληθυσμού, χωρίς δραστική μείωση του πληθυσμιακού του μεγέθους καθώς και υψηλό βαθμό γονιδιακής ροής. Ο βαθμός της γενετικής απόστασης μεταξύ των πληθυσμών μπαρμουνιού ήταν πολύ μικρός και κυμαίνοταν από 0 έως 0,029. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται και από τα αποτελέσματα της στατιστικής F, όπου η τιμή *Fst* ήταν ίση με 0,037. Από την τιμή αυτή υπολογίστηκε ένας αρκετά υψηλός βαθμός γονιδιακής ροής μεταξύ των πληθυσμών ίσος με 6,5, ο οποίος και δικαιολογεί την πολύ μικρή γενετική διαφοροποίηση των συγκεκριμένων πληθυσμών. Τα αποτελέσματα τονίζουν την ανάγκη αναζήτησης διαφορετικών μοριακών δεικτών του πυρηνικού DNA για τη μελέτη της συγκεκριμένης κατηγορίας οργανισμών.

ALLOZYME ANALYSIS OF STRIPED RED MULLET (*Mullus surmuletus*) POPULATIONS FROM THE MEDITERRANEAN SEA

Krikas¹, N., Z. Mamuris¹ and C. Triantaphyllidis²

¹Department of Applied and Theoretical Sciences, University of Thessaly, Volos and ²Department of Genetics, Development and Molecular Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

In Greek sea waters striped red mullet ranks among the most commercially important demersal fish. Although different biological parameters of the species have been studied extensively, the study of its genetic structure remains limited. In the present work, a total of 342 striped red mullet specimens were collected using commercial trawlers from Aegean Sea (Kavala, Trikeri, Rhode), from Ionian Sea (Preveza, Corfu) and from France (Gulf of Lion). Two populations were collected from Trikeri and Preveza at different times of the year. Twenty putative loci (*mAAT**, *sAAT-1**, *sAAT-2**, *CK-1**, *CK-2**, *PGI-1**, *PGI-2**, *PGI-3**, *MDH**, *LDH-A**, *LDH-B**, *SOD**, *PGM**, *XO**, *EST**, *XDH**, *IDH**, *PGD**, *aGPDH** and *ADH**) coded by 16 enzymatic systems were analysed, using horizontal starch-gel electrophoresis. Of the 20 loci assayed, 9 were monomorphic (*CK-1**, *CK-2**, *PGI-1**, *PGI-2**, *PGI-3**, *LDH-A**, *LDH-B**, *SOD**, *PGM**) and the rest 11 loci were polymorphic. The percentage of polymorphic loci ranged from 45 to 65% and the degree of heterozygosity ranged from 0,173 to 0,255 among populations. These values are very high but expected for a marine fish species, indicating that striped red mullet has probably had a long, unbroken history in the Mediterranean Sea without population bottlenecks. The degree of genetic distance among populations was low and ranged from 0 to 0,029. This fact was confirmed by the results of F statistic, where the *F_{ST}* value was 0,037. From this value, a high degree of gene flow was calculated, equal to 6,5. These results support the usefulness of other molecular techniques in the study of these organisms.

**ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ
ΤΗΣ *DROSOPHILA MELANOGASTER*: Το DmPO γονίδιο
κωδικοποιεί και για την υπεροξειδάση του χορίου;**

Κωνσταντή, Ο.Α. και Λ.Χ. Μαργαρίτης
**Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας
Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα**

Το χόριο που περιβάλλει τα ωάρια της *D. melanogaster* δημιουργείται κατά τα τελευταία στάδια της ωογένεσης και αποτελείται από τις εξής στιβάδες: την βιτελλινική μεμβράνη (VM), το στρώμα κεριού (WL), την εσώτερη χοριονική ζώνη (ICL), το ενδοχόριο (EN) και το εξωχόριο (EX). Η σκλήρυνση της ICL και του ενδοχορίου οφείλεται σε δεσμούς δι- και τρι- τυροζίνης οι οποίοι σχηματίζονται με τη δράση της υπεροξειδάσης η οποία έχει ανιχνευθεί ιστοχημικά. Το ένζυμο εκκρίνεται από τα θυλακοκύτταρα μαζί με τα άλλα συστατικά του χορίου και παραμένει ανενεργό μέχρι το τέλος τις χοριογένεσης οπότε και ενεργοποιείται από ενδογενώς παραγόμενο υπεροξείδιο του υδρογόνου στις αρχές του σταδίου 14. Έχουν απομονωθεί από την *D. melanogaster* δύο γονίδια τα οποία κωδικοποιούν για υπεροξειδάσες; η υπεροξειδασίνη που κωδικοποιεί για μία πρωτεΐνη με εξωκυτταρική δράση και το DmPO γονίδιο από μία cDNA βιβλιοθήκη εμβρύου *D. melanogaster*. Με σκοπό να διαπιστωθεί εάν το DmPO γονίδιο κωδικοποιεί και για την υπεροξειδάση του χορίου πραγματοποιήθηκε Northern μεταφορά και υβριδισμός. Απομονώθηκε ολικό RNA από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης της *D. melanogaster*: ωθυλάκια, αυγά, εμβρυα και αρσενικά άτομα. Ως ανιχνευτής χρησιμοποιήθηκε ο cDmPO κλώνος της υπεροξειδάσης μήκους 2.6 Kb. Τα αποτελέσματα του υβρισμού εδειξαν ότι υπάρχει κάποια ομολογία μεταξύ του ανιχνευτή και του γονιδίου που κωδικοποιεί για την υπεροξειδάση του χορίου.

Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από την ΙΤΕΤ (πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ).

THE CHORION PEROXIDASE OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*: The DmPO gene codes also for chorion peroxidase?

Konstandi, O.A. and L.H. Margaritis

University of Athens, Department of Biology, Division of Cell Biology and Biophysics, Panepistimioupolis, Athens, Greece

The egg-shell of *D.melanogaster* is formed during the last stages of oogenesis and it consists of the following layers: vitelline membrane (VM), wax layer, innermost chorionic layer (ICL), endochorion complex and exochorion. The hardening of the ICL and the endochorion occurs by the formation of di-tyrosin and tri-tyrosin bonds through the action of a peroxidase which has been identified histochemically. The enzyme is secreted by the follicle cells along with the other egg-shell components but remains inactive until the end of choriogenesis and it is activated by endogenous hydrogen peroxide during early stage 14. Two peroxidase genes have been isolated from *D.melanogaster*: peroxidasin that codes for an enzyme-matrix protein and the putative peroxidase gene cDmPO from an embryo cDNA library. To see if the cDmPO clone is the one also coding for the chorion peroxidase we have performed Northern blotting. We have isolate total RNA from various stages of *D.melanogaster* development: follicles, late eggs, embryos and male *D.melanogaster*. As probe the cDmPO clone (2.6Kb) was used. The hybridization results show some homology between the probe and the chorion peroxidase.

This project is supported by grants from the Greek Office of Research and Technology.

**ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΩΣ ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΟΙ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΩΝ ΤΗΣ
ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ
ΕΛΙΑΣ [*Bactrocera oleae* (Gmel.)].**

Κωνσταντοπούλου, Μ., Δ. Ραπτόπουλος, Ν. Σταυράκης
και Β. Μαζωμένος

Χημική Οικολογία και Φυσικά Προϊόντα, Ινστιτούτο Βιολογίας,
ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή Αττικής

Σε φυσικούς πληθυσμούς του δάκου της ελιάς που αναπτύσσονται σε εργαστηριακές συνθήκες, η συχνότητα του αλληλόμορφου της αλκοολικής αφυδρογονάσης *Adh-I* αυξάνεται σημαντικά, του *Adh-F* δεν μεταβάλλεται, ενώ ο *Adh-S* αλληλόμορφος επιλέγεται αρνητικά. Η μελέτη της επίδρασης των διάφορων αντιβιοτικών και συντηρητικών προσθέτων στο τεχνητό υπόστρωμα έχει υποδείξει τη στενή τους συσχέτιση με το παρουσιαζόμενο φαινόμενο δεδομένου ότι ενέχονται σε ποικίλες μεταβολικές δραστηριότητες μικροοργανισμών. Εξετάσαμε τους δευτερογενείς μεταβολίτες από το προνυμφικό υπόστρωμα ανάπτυξης ομόζυγων στελεχών της *Adh* του δάκου, που σχετίζονται με μικροοργανισμούς, έχοντας υπόψη ότι διαφορετικά μικροβιακά *taxa* σχετίζονται με τα διαφορετικά ομόζυγα στελέχη. Μόνο στην περίπτωση που ομόζυγα *Adh-I* άτομα αναπτύσσονται απουσία του συντηρητικού (4-υδρόξυμεθυλεστέρας του βενζοϊκού οξέος) υπάρχουν διαφορές στους δευτερογενείς μεταβολίτες σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις τομα αναπτύσσονται απουσία του συντηρητικού (4-υδρόξυμεθυλεστέρας του βενζοϊκού οξέος) υπάρχουν διαφορές στους δευτερογενείς μεταβολίτες σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις που εξετάστηκαν. Οι ανιχνευόμενοι δευτερογενείς μεταβολίτες μικροβιακής προέλευσης, κυρίως κετόνες σε σημαντικές ποσότητες, με παράλληλη εξαφάνιση των αλειφατικών οξέων και των εστέρων της τροφής, υποδηλώνει ότι οι σχετιζόμενοι με το συγκεκριμένο στέλεχος μικροοργανισμοί ευθύνονται είτε άμεσα είτε έμμεσα για την ελαττωμένη βιωσιμότητά του. Η αύξηση της συχνότητας του *Adh-I* στην περίπτωση που εκτρέφεται σε πλήρες υπόστρωμα οφείλεται στη διαπιστωμένα καλύτερη εκμετάλλευση των θρεπτικών στοιχείων της τροφής από τις προνύμφες. Η παρουσία ή η απουσία του χρησιμοποιούμενου συντηρητικού αντανακλά στις συχνότητες των αλληλόμορφων της *Adh* μέσω της διαφορετικής επίδρασης που έχει στα διαφορετικά *taxa* μικρο-οργανισμών που σχετίζονται επιλεκτικά με τα συγκεκριμένα ομόζυγα στελέχη και που εν συνεχείᾳ ευθύνονται για τη διαφορική βιωσιμότητα των ομόζυγων ατόμων.

MICROORGANISMS AS SELECTING FACTORS FOR THE ALCOHOL DEHYDROGENASE ALLELES OF THE OLIVE FRUIT FLY [*Bactrocera oleae* (Gmel.)].

**Konstantopoulou, M., D. Raptopoulos, N. Stavrakis
and B. Mazomenos**

**Chemical Ecology and Natural Products, Institute of Biology,
NCSR «Demokritos», Aghia Paraskevi Attikis, Greece**

The *Adh-I* allele of the alcohol dehydrogenase increases its frequency dramatically, that of *Adh-F* remains the same while the *Adh-S* allele is negatively selected, when natural populations of the olive fruit fly are reared under laboratory conditions. The study of the effect of the various antibiotic and preservatives in the artificial rearing medium has suggested their close correlation to the observed phenomenon in view that they are involved in various metabolic activities of microorganisms. We examined the secondary metabolites of microorganisms closely related to the different homozygous strains of the alcohol dehydrogenase of the olive fruit fly through the chemical analysis of the larval diet, in conjunction with the fact that different microbial *taxa* are associated with the different homozygous alcohol dehydrogenase strains. Differences in the secondary metabolites could be observed, only in the case of *Adh-I* homozygous individuals developing in the absence of the used conserving agent (4-hydroxy benzoic acid methyl ester) in relation to the rest of the treatments examined. The detected secondary metabolites, of microbial origin, mainly ketones in remarkable quantities, coupled with the complete absence of aliphatic acids and esters originally present in the diet, suggests that the microorganisms related with the given strain are either directly or indirectly for its decreased viability. The increase of the *Adh-I* frequency when larva feeds on complete diet (including 4-hydroxy methyl ester benzoic acid) is due to the ascertained better utilization of the dietary nutrients by the larvae. The presence or absence of the given conserving agent reflects in the allele frequencies of the alcohol dehydrogenase through the different effect it exerts on the different microbial *taxa* associated selectively to the different homozygous strains that are in turn responsible for the observed differences in the viability of the homozygous individuals.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΠΛΕΓΜΕΝΩΝ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΩΝ
ΣΤΗΝ ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΤΟΥ
ΕΝΤΟΜΟΥ *TENEBRIO MOLITOR***

Κωσταρόπουλος, Ιάσων, Αθ. Μεταξάκης, Ευρ. Μπουκουβάλα
και Αθ. Ι. Παπαδόπουλος

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ., 54006 Θεσσαλονίκη

Η ενζυμική οικογένεια των τρανσφερασών της γλουταθειόνης (GSTs) ανήκει στη φάση II του συστήματος αποτοξίνωσης των οργανισμών συμμετέχοντας στη βιομεταμόρφωση ξενοβιοτικών ουσιών. Στα έντομα, η υψηλή δραστικότητα σε ορισμένα είδη έχει συσχετιστεί με την ανθεκτικότητά τους έναντι οργανοφωσφορικών και οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων. Στο *Tenebrio molitor*, ο προσδιορισμός της τιμής LD₅₀ ενός πυρεθροειδούς (decamethrin) και δύο οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων (methyl paraoxon, malaoxon) σε δύο αναπτυξιακά στάδια (προνύμφες, νύμφες) έδειξε ότι οι νύμφες είναι ανθεκτικότερες από τις προνύμφες όσον αφορά τα οργανοφωσφορικά, ενώ το αντίθετο ισχύει για το decamethrin. Η σημαντική μεταβολή που παρατηρήθηκε στην ειδική δραστικότητα των GSTs και τη συγκέντρωση της γλουταθειόνης σε προνύμφες και νύμφες, μετά από χορήγηση του κάθε εντομοκτόνου σε δόση ίση με την LD₅₀, υπέδειξε πιθανή συμμετοχή των GSTs στη μεταβολική άμυνα του οργανισμού έναντι των εντομοκτόνων. Με τη βοήθεια διαγραμμάτων τύπου Lineweaver-Burk διαπιστώθηκε ότι τα τρία παραπάνω εντομοκτόνα αποτελούν συναγωνιστικούς αναστολείς του ενζύμου δεσμευόμενα στο ενεργό του κέντρο. Η διαπίστωση αυτή που επιβεβαιώθηκε και με τη χρήση φωτομετρίας φθορισμού και του υποστρώματος ANS, υποδηλώνει ότι το ένζυμο συμμετέχει τουλάχιστον παθητικά στην αποτοξίνωση του εντόμου. Η χρήση της τεχνικής HPLC δείχνει και ενεργητική συμμετοχή του ενζύμου αφού διαπιστώθηκε δραστικότητα, αν και σχετικά χαμηλή, έναντι του methyl paraoxon και αρκετά μεγαλύτερη έναντι του methyl parathion.

ACTION OF SELECTED INSECTICIDES ON GLUTATHIONE S-TRANSFERASES FROM THE INSECT *TENEBRIOS MOLITOR*

**Kostaropoulos, I., A. Metaxakis, E. Boukouvala
and A. I. Papadopoulos**

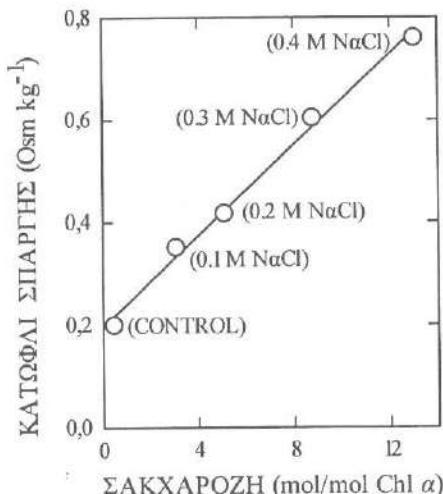
**Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology,
School of Biology, Aristotle University,
GR-54006 Thessaloniki, Greece**

The enzyme family of glutathione S-transferases (GSTs) belong to the phase II detoxification system of organisms, participating in biotransformation of xenobiotics. In insects, high activity of GSTs has been associated with resistance of certain species against organophosphate and organochlorine insecticides. In *Tenebrio molitor*, estimation of LD₅₀ values of a pyrethroid (decamethrin) and two organophosphate insecticides (methyl paraoxon, malaoxon) in two developmental stages (larvae, pupae) showed that pupae are more resistant to organophosphates than larvae; the reverse is true for decamethrin. Significant alteration in both specific activity of GSTs and glutathione concentration in larvae and pupae, treated with insecticide doses equal to LD₅₀ values, implied possible participation of GSTs in the metabolic defense of *Tenebrio* against insecticides. Use of Lineweaver-Burk plots revealed that all three studied insecticides competitively inhibited GST activity towards CDBN, leading to the conclusion that they bind to the active site of the enzyme. This conclusion, also verified by the combined use of fluorescence photometry and the substrate ANS, suggests that GSTs participate at least passively in detoxification mechanisms of the insect. GSTs participate actively, too, as shown by use of HPLC, since the enzyme presented activity, although relatively small, towards methyl paraoxon and a much higher activity against methyl parathion.

ΟΣΜΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΕ ΣΤΡΕΣ ΑΛΑΤΟΤΗΤΑΣ

Λαδάς, Νεκτάριος, Π. και Γεώργιος Χ. Παπαγεωργίου
ΕΚΕΦΕ 'Δημόκριτος', Ινστιτούτο Βιολογίας,
Αγία Παρασκευή 15310, Αθήνα

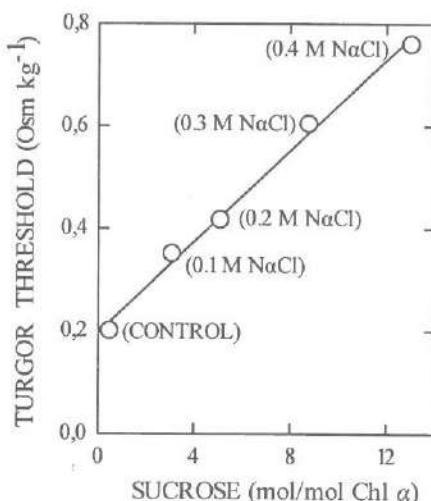
Τα φυτά, φύκη και μικροβιακά κύτταρα συσσωρεύουν συμβατές οργανικές ουσίες, μικρού μοριακού βάρους (οσμολύτες) για να επιβιώσουν σε περιβάλλοντα ελαττωμένου υδατικού δυναμικού. Το ανώτερο όριο ανοχής στην αλατότητα για το κυανοβακτήριο του γλυκού νερού *Synechococcus* sp. PCC 7942 είναι 0.4 M NaCl. Η σακχαρόζη είναι ο οργανικός οσμολύτης που χρησιμοποιεί ο *Synechococcus* για να ρυθμίζει την κυτταροπλασματική οσμωτική πίεση και να διατηρεί την κυτταρική σπαργή σε αυξημένη αλατότητα. Εφαρμόζοντας μία νέα φθορισμομετρική μέθοδο [1,2] προσδιορίσαμε το κατώφλι σπαργής σε κύτταρα που είχαν προσαρμοστεί σε διάφορα επίπεδα αλατότητας. Κύτταρα προσαρμοσμένα σε 0.4 M NaCl έχουν κατώφλι σπαργής σε 0.760 Osm kg⁻¹ και περιέχουν 13 mol σακχαρόζης/mol Chl α ενώ τα φυσιολογικά κύτταρα έχουν κατώφλι σπαργής σε 0.200 Osm kg⁻¹ και περιέχουν 0.5 mol σακχαρόζης/mol Chl α . Η τελευταία παρατήρηση δείχνει το υψηλό μεταβολικό κόστος για την προσαρμογή των κυττάρων στην αυξημένη αλατότητα. Με το συσχετισμό σπαργής και σακχαρόζης σε κύτταρα προσαρμοσμένα σε αλατότητα δείξαμε για πρώτη φορά τον άμεσο ρόλο της σακχαρόζης στην διατήρηση της σπαργής. Δείχνουμε επίσης ότι η σταδιακή προσαρμογή του *Synechococcus* sp. PCC 7942 σε αυξανόμενη αλατότητα, επιτρέπει επέκταση του ορίου ανεκτής αλατότητας από 0.4 M σε 0.5 M NaCl. [1] Papageorgiou GC and Alygizaki-Zorba A (1997) Biochim Biophys Acta 1335: 1-4. [2] Papageorgiou GC, Alygizaki-Zorba A, Ladas N and Murata N (1998) Physiol Plantarum (in press).



OSMOREGULATORY ADAPTATION OF BACTERIA TO SALINITY STRESS

Ladas, Nectarios P. and George C. Papageorgiou
NCSR Demokritos, Institute of Biology, Aghia Paraskevi
15310, Athens, Greece

Plants, algae and microbial cells accumulate compatible organic compounds of low molecular weight (osmolytes) in order to survive in environments of low water potential. The upper salt tolerance limit of the freshwater cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942 is 0.4 M NaCl. Sucrose, is the organic osmolyte that *Synechococcus* employs in order to tune its cytoplasmic osmolality and to maintain its turgor under increased salinity. We applied a new fluorometric method [1,2] to estimate the turgor threshold for cells adapted to increased salinities. Cells adapted to 0.4 M NaCl are characterized by a turgor threshold at 0.760 Osm kg⁻¹ and contain 13 mol sucrose/mol Chl *a* while control cells are characterized by a turgor threshold at 0.200 Osm kg⁻¹ and contain 0.5 mol sucrose/mol Chl *a*. These figures are indicative of the severe metabolic sacrifice the freshwater cyanobacterium makes in order to defend itself from external salinity. We correlate the turgor threshold value to sucrose content of cells adapted to graded salinity and demonstrate for the first time the direct contribution of sucrose to turgor restoration. We also show that gradual adaptation of *Synechococcus* sp. PCC 7942 cells to increasing salinity, allows the extension of their upper tolerance salinity limit from 0.4 M to 0.5 M NaCl. [1] Papageorgiou GC and Alygizaki-Zorba A (1997) Biochim Biophys Acta 1335: 1-4. [2] Papageorgiou GC, Alygizaki-Zorba A, Ladas N and Murata N (1998) Physiol Plantarum (in press).



**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ
ΤΩΝ ΡΕΟΝΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΣΕ ΡΕΜΑΤΑ ΤΩΝ
ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΣΚΟΥΡΙΩΝ ΚΑΙ ΟΛΥΜΠΙΑΔΑΣ
ΧΑΛΚΙΔΙΚΗΣ ΚΑΤΑ ΤΟ ΜΗΝΑ ΝΟΕΜΒΡΙΟ 1997**

**Λαζαρίδου-Δημητριάδου, Μ., Χ. Κουκουμίδης και Ε. Λέκκα
Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 54006 Θεσσαλονίκη**

Η χρήση βιολογικών δεικτών μέσω των βενθικών μακροασπνδύλων αποτελεί μία από τις πλέον ενδεδειγμένες μεθόδους, για την παρακολούθηση της οικολογικής ποιότητας των ρεόντων υδάτων. Στα πλαίσια προγράμματος χρηματοδοτούμενου από την εταιρεία TVX Hellas SA, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος αυτή, για να μελετηθεί η ποιότητα των υδάτων σε 16 σταθμούς δειγματοληψίας που επιλέχθηκαν από την TVX Hellas (7 στην Ολυμπιάδα και 9 στις Σκουριές) και να εκτιμηθεί η υπάρχουσα περιβαλλοντική κατάσταση στην περιοχή.

Τα μακροασπόνδυλα συλλέχθηκαν το Νοέμβριο 1997 με τη μέθοδο 3 min kick/sweep και προσδιορίστηκαν μέχρι το κατώτερο δυνατό ταξον. Επίσης μετρήθηκαν διάφορες φυσικοχημικές παραμετροί (θρεπτικά στοιχεία, βαρέα μεταλλα κλπ.) ενώ έγινε χρήση 5 βιολογικών δεικτών.

Οι βιοκοινωνίες στους περισσότερους σταθμούς παρουσίασαν εξαιρετική ποικιλότητα, με πολλά εναίσθητα σε ρύπανση ταχα. Οι βιολογικοί δείκτες απέδωσαν εξαιρετική ποιότητα υδάτων σε όλους τους σταθμούς, με ελαφρά διαφοροποίηση του σταθμού Καλύβια, κατάντι των τελικών απορροών του μεταλλείου της Ολυμπιάδας, παρόλο που η βενθοπανίδα στο σταθμό αυτό παρουσίαζε ποικιλότητα. Η στατιστική ανάλυση με CANOCO ομαδοποίησε τους σταθμούς σε 3 ομάδες, σε σχέση με διάφορες φυσικοχημικές παραμέτρους. Η 1^η ομάδα αποτελείται μόνο από το σταθμό Καλύβια. Η 2^η περιλαμβάνει τους περισσότερους σταθμούς της Ολυμπιάδας και 3 σταθμούς των Σκουριών που βρίσκονται κατάντι των συμβολών διαφόρων ρεμάτων. Η 3^η ομάδα αποτελείται από ένα σταθμό της Ολυμπιάδας και άλλους 3 σταθμούς των Σκουριών, που περιέχουν και τα περισσότερα υψηλόβαθμα ταχα. 2 σταθμοί των Σκουριών παρουσιάζουν αμφίβολη ομαδοποίηση. Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, που δεν είναι σε πλήρη συμφωνία με αυτά των βιολογικών δεικτών πιθανόν γιατί οι τελευταίοι δεν υπολογίζουν την αφθονία των ταχα σε κάθε σταθμό, δείχνουν ότι η βενθοπανίδα των σταθμών επηρεάζεται κυρίως από τις συγκεντρώσεις των διαφόρων βαρέων μετάλλων στο νερό και στο υπόστρωμα.

ECOLOGICAL WATER QUALITY ASSESSMENT IN STREAMS OF SKOURIES AND OLYMPIAS AREAS (CHALKIDIKI, HELLAS) DURING NOVEMBER 1997

Lazaridou-Dimitriadou, M., C. Koukoumides and E. Lekka
Laboratory of Zoology, Department of Biology, Aristotle
University, 54006 Thessaloniki, Hellas

The application of biotic scores based on the communities of benthic macroinvertebrates constitutes one of the most appropriate methods for monitoring the ecological quality of running waters. This method has been used, in the framework of a project financed by TVX Hellas SA, in order to evaluate the ecological quality of streams in Skouries and Olympias areas and assesses the existing environmental status in the wider area. 16 sampling stations (7 in Olympias and 9 in Skouries) have been selected by TVX Hellas at the major creeks of Skouries and Olympias areas. Benthic macroinvertebrates were collected during November 1997 with the 3 min kick/sweep method and were identified to the lowest possible taxonomical level. Several physicochemical parameters (nutrients, heavy metals etc.) were measured, while 5 biotic scores were applied. The communities at most of the stations were highly diverse with lots of high-scoring (pollution-sensitive) taxa. The application of the biotic scores showed an excellent water quality for all stations, with a slight differentiation in the station Kalivia (Olympias), located downstream the discharge point of the Olympias mine final effluents. However, the macroinvertebrate fauna in this site was quite diverse. Statistical analysis with CANOCO grouped the stations into 3 distinct clusters, according to various physicochemical parameters. The 1st group consisted of Kalivia by itself. The 2nd one included most stations of Olympias together with 3 stations of Skouries located downstream the confluence of other streams. The 3rd group consisted of station Upstream Kipouristra (Olympias) together with 3 more stations of Skouries, which presented a high number of high-scoring taxa. The other 2 stations of Skouries seemed to be more or less related to both clusters. The results of CANOCO analysis, which showed that the macroinvertebrate fauna was mainly influenced by the concentrations of various heavy metals in the water and in the sediment, were in accordance with the evaluation of the sites, although they were not in full accordance with the biotic scores. This was probably due to the fact that the biotic scores do not take into consideration the abundance of the taxa found in each site.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΤΗΝ ΩΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ENTOMOY CERATITIS CAPITATA

Λάζος, Γιώργος και Κλέα Λάμνισου
Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Στην παρούσα εργασία έγινε μελέτη του ρόλου της διατροφής στις δύο βασικές διαδικασίες της ωογένεσης (σύνθεση των κυρίων βιτελλογενινών, πρόσληψη τους από τα αναπτυσσόμενα ωοκύτταρα) στο Δίπτερο *Ceratitidis capitata*. Θηλυκά άτομα του είδους αντού διατηρήθηκαν από τη στιγμή της εκκόλαψης στις ακόλουθες συνθήκες : α) απόλυτη δίαιτα β) διατροφή με σουκρόζη γ) διατροφή με πλήρες θρεπτικό υλικό (πρωτεΐνες και σουκρόζη). Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι η διατροφή με σουκρόζη επιτρέπει την πλήρη ωρίμανση των ωοθυλακίων όπως συμβαίνει με τη πλήρη διατροφή. Αντίθετα, η πείνα εμποδίζει την ανάπτυξη των ωοθυλακίων στο μεγαλύτερο ποσοστό ατόμων που εξετάστηκαν. Ένα σημαντικό, αλλά μικρότερο ποσοστό, θηλυκών ατόμων τα οποία διατηρήθηκαν σε απόλυτη δίαιτα από την εκκόλαψη παρουσίασαν ωρίμανση ωοθυλακίων, οδηγώντας μας στο συμπέρασμα ότι τα γονίδια τα υπεύθυνα για τη σύνθεση των λεκιθοπρωτεϊνών στο *C. capitata* δε συμπεριφέρονται το ίδιο σε έλλειψη τροφής. Αυτό επιβεβαιώθηκε με ηλεκτροφορητικό έλεγχο των πρωτεϊνών της αιμολέμφου, όπου οι βιτελλογενίνες υπάρχουν σε ίχνη ή σε κανονικά επίπεδα ανάλογα με την κατηγορία των θηλυκών αυτών. Φαίνεται ότι η διατροφή επηρεάζει κάποιο παράγοντα ο οποίος δίνει την εντολή σύνθεσης στα γονίδια των βιτελλογενινών και ο παράγοντας αυτός δεν συμπεριφέρεται το ίδιο σε όλα τα θηλυκά άτομα. Τα αποτελέσματα μας δείχνουν επίσης ότι η πρόσληψη των βιτελλογενινών από τα ωοκύτταρα δεν επηρεάζεται από τη διατροφή άμεσα αλλά μόνο έμμεσα.

THE ROLE OF NUTRITION IN OOGENESIS OF *CERATITIS CAPITATA*

Lazos, George and Klea Lamnisou

**Department of Genetics & Biotechnology, University of Athens,
Athens, Greece**

Four genes of *Ceratitis capitata* located on chromosome 5 are encoding for the two vitellogenins and the transcription of these genes is regulated by the insect hormones. The present work shows that there is another level of control which is dependent upon feeding. Most of females that are starved from eclosion are unable to mature eggs and show trace amount of yolk in their hemolymph, indicating that nutrition affects somehow vitellogenin synthesis and hence ovary maturation. The effect of starvation can overcome by sucrose. Females sucrose fed from eclosion are able to develop eggs upon maturity. Moreover, our results show that the process of vitellogenin uptake by the developing oocyte is not affected from nutrition.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ ΣΕ
ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ
ΡΙΖΑΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *ZEA MAYS***

Λαλλάς, Γ., Α. Παπαϊωάννου και Α. Φουντούλη
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας
Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη

Οι ιστόνες είναι βασικές πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη διαμόρφωση των δομών της χρωματίνης. Η οικογένεια των ιστονών εμφανίζει ετερογένεια με την ύπαρξη ισομορφών για καθένα από τους πέντε κύριους τύπους ιστονών (H1, H2A, H2B, H3 και H4). Οι ισομορφές αυτές είναι προϊόντα διαφορετικών γονιδίων είτε προκύπτουν από μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις. Τα διαφορετικά διαφοροποιημένα κύτταρα εμφανίζουν χαρακτηριστικό πρότυπο ισομορφών για το συγκεκριμένο στάδιο.

Στην εργασία αυτή διαχωρίστηκαν και χαρακτηρίστηκαν οι ισομορφές των ιστονών των κυττάρων της μεριστωματικής ζώνης, της ζώνης επιμήκυνσης και της ζώνης διαφοροποίησης της ρίζας του φυτού *Zea mays* με τις τεχνικές της δισδιάστατης ηλεκτροφόρησης και της σάρωσης.

Βρέθηκαν 6 ισομορφές της ιστόνης H1, 6 ισομορφές της ιστόνης H2A, 3 ισομορφές της ιστόνης H2B, 6 ισομορφές της ιστόνης H3 και 3 ισομορφές της ιστόνης H4 και για τις τρεις ζώνες της ρίζας. Η παρουσία ή η απουσία συγκεκριμένων ισομορφών σε κάθε ζώνη μπορεί να συσχετίστει με την αναπτυξιακή κατάσταση στην οποία βρίσκονται τα κύτταρα της ζώνης. Είναι πιθανό η ύπαρξη διαφορετικών ισομορφών των ιστονών να καθορίζει το αναπτυξιακό πρότυπο μέσω αλλαγών της δομής της χρωματίνης.

ISOFORMS OF HISTONES IN ZEA MAYS IN DIFFERENT DIFFERENTIATED ROOT CELLS

Lallas, G., A. Papaioannou and A. Foudouli

**Department of Genetics, Development and Molecular Biology
School of Biology, Faculty of Science,
Aristotle University, 540 06 Thessaloniki, Greece**

Histones are basic proteins which take part in the formation of the chromatin structure. The group of histones is characterized by heterogeneity with the presence of isoforms for each main histone subgroup (H1, H2A, H2B, H3 και H4). These isoforms either are the products of different genes or are due to post-translational modifications. Different differentiated cells developmental stages exhibit a specific pattern of isoforms.

In this study isoforms of histones isolated from cells of the meristematic, elongation and differentiation zones of the *Zea mays* root were resolved and designated using two-dimensional electrophoresis and scanning techniques.

Six isoforms of H1 histone, 6 isoforms of H2A histone, 3 isoforms of H2B histone, 6 isoforms of H3 histone and 3 isoforms of H4 histone were detected. The presence or absence of certain isoforms in each zone can be related to the developmental state of the zone's cells. It's possible that the presence of different histone isoforms determines the developmental pattern by altering the chromatin structure.

ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΤΗΝ ΩΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *DROSOPHILA*

Λάμπιστον, Κλέα

Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Στην εργασία αυτή έγινε συγκριτική μελέτη του ρόλου της διατροφής στη διαδικασία της ωγένεσης σε τρία είδη του εντόμου *Drosophila*. Χρησιμοποιήθηκαν τα είδη *D. virilis* και *D. hydei* τα οποία είναι εξελικτικά νεώτερα είδη σε σχέση με το είδος *D. melanogaster* το οποίο χρησιμοποιήθηκε για πειράματα ελέγχου. Τα αποτελέσματα μας επιβεβαίωσαν προηγούμενά δεδομένα όσον αφορά το είδος *D. melanogaster* και επί πλέον έδειξαν ότι στα είδη *D. virilis* και *D. hydei* ο ρόλος της πρωτεϊνικής τροφής είναι καθοριστικός για την πορεία της βιτελλογένεσης. Διατροφή με σουκρόζη, αν και δεν επηρεάζει τη βιωσιμότητα των ατόμων εμποδίζει τη σύνθεση των κυρίων βιτελλογενινών (λεκιθοπρωτεΐνών) οι οποίες εμφανίζονται στην αιμολέμφο μόνο σε ίχνη. Αντίθετα, θηλυκά άτομα *D. melanogaster* ωριμάζουν μικρό αριθμό ωοθυλακίων όταν τρέφονται μόνο με σουκρόζη. Η διατήρηση θηλυκών από τα τρία είδη σε απόλυτη δίαιτα (άγαρ) περιορίζει σημαντικά τη βιωσιμότητα τους και επί πλέον στα είδη *D. virilis* και *D. hydei* φαίνεται ότι οι κύριες βιτελλογενίνες δε συντίθενται καθόλου ενώ σε θηλυκά άτομα *D. melanogaster* συντίθενται σε μειωμένες ποσότητες. Στα τελευταία παρατηρείται μερικές φορές ωρίμανση ωοθυλακίων. Επίσης τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής έδειξαν ότι η διατροφή δεν επηρεάζει άμεσα τη διαδικασία της πρόσληψης των βιτελλογενινών από τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια. Φαίνεται ότι η πρόσληψη πρωτεϊνικής τροφής παίζει καθοριστικό ρόλο στην επαγωγή της έναρξης αλλά και της συνέχισης της σύνθεσης των κυρίων βιτελλογενινών στα είδη *D. virilis* και *D. hydei*. Στο είδος *D. melanogaster* οι επιπτώσεις της πείνας ή της διαιτιτικής διατροφής δεν είναι τόσο απόλυτες. Επομένως, στο γένος *Drosophila* όσο προχωρούμε σε εξελικτικά νεώτερα είδη η ρύθμιση της βιτελλογένεσης από την πρόσληψη πρωτεϊνικής τροφής γίνεται απόλυτη.

EFFECT OF DIET IN OOGENESIS OF THE GENUS *DROSOPHILA*

Lamnissou, Klea

Department of Genetics & Biotechnology, School of Biology,
University of Athens, Athens, Greece

A comparative study of the intake response to feeding was made in females of three species of the genus Drosophila, belonging to different species groups. The results reported here indicate that starvation affects both fat body and ovarian yolk protein synthesis and hence ovary maturation in adult females of all the species examined. Females D. virilis and D. hydei show absolute dependence on yolk protein synthesis to feeding, while D. melanogaster females show yolk protein synthesis at low levels, under starvation. On the other hand, sucrose diet is well accepted from D. melanogaster but not from D. virilis and D. hydei. The results of this study suggest that the process of vitellogenesis, although conservative, show differences in species phylogenetically distant to D. melanogaster. Moreover, our results suggest that starvation do not affect directly the process of yolk protein uptake by the developing oocytes, but only indirectly by inhibition of yolk protein synthesis. Thus, feeding seems to be a main step in the regulation of the yolk protein synthesis in Drosophila.

ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΕ ΥΔΡΟΘΕΡΜΙΚΑ ΠΕΔΙΑ ΤΗΣ ΝΗΣΟΥ ΜΗΛΟΥ

Λούβρου, Ι., Μ. Ρουσσομουστακάκη, Δ. Δανιηλίδης
και Α. Οικονόμου - Αμίλλη

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας &
Ταξινομικής, Αθήνα

Σε αβαθείς περιοχές (<150 m) του κόλπου Παλαιοχωρίου (νήσος Μήλος) υπάρχουν εκτεταμένα υδροθερμικά πεδία, των οποίων οι βιογεωχημικοί κύκλοι και η μικροβιακή ποικιλότητα αποτελεί αντικείμενο διεξαγόμενου Ευρωπαϊκού Ερευνητικού Προγράμματος. Το νότιο Αιγαίο είναι ολιγότροφη περιοχή σε σχέση με άλλες περιοχές της Μεσογείου, οι δε διακυμάνσεις άνθρακα και θρεπτικών από υδροθερμικές περιοχές του ηφαιστειακού τόξου μπορεί να θεωρηθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγικότητά του. Η βιοποικιλότητα των οικοσυστημάτων αυτών είναι εξαιρετικά περιορισμένη. Ποικίλες αναπτύξεις κυανοβακτηρίων και διατόμων συλλέχθηκαν, καλλιεργήθηκαν και μελετήθηκαν από την παράλια περιοχή του κόλπου του Παλαιοχωρίου (σε βραχώδη υποστρώματα και τον πυθμένα της ακτής, σε υποθαλάσσιες σπηλιές, κυρίως δε γύρω από υποθαλάσσιες αναβλύσεις βάθους έως 7m όπου παρατηρείται χαρακτηριστική χρωματική ζώνωση-διαδοχή κίτρινης, λευκής, καστανής ζώνης από το κέντρο της ανάβλυσης προς την περιφέρεια). Διαπιστώθηκε ότι τα διάτομα αποτελούν την επικρατούσα ομάδα φυτικών μικροοργανισμών σχεδόν σ' όλες τις περιοχές και προσδιορίσθηκαν περισσότερα από 121 taxa ανήκοντα σε 32 διαφορετικά γένη. Σημαντική είναι η παρουσία τους στην κίτρινη και λευκή ζώνη των υποθαλάσσιων αναβλύσεων. Ο αριθμός των ειδών περιορίζεται στην καστανή ζώνη. Επικρατέστερα, με ποσοστό συμμετοχής >10% είναι είδη των γενών *Amphora*, *Nitzschia*, *Navicula*, *Campylopyxis* και *Fragilaria*. Αντίθετα, η συμμετοχή των κυανοφυκών (κυανοβακτηρίων) είναι περιορισμένη. Διαπιστώθηκαν 17 taxa που ανήκουν κυρίως στα Oscillariales και Chroococcales. Επικρατούν τα γένη *Synechococcus*, *Cyanothecace*, και νηματοειδείς μορφές με πολύ λεπτά τριχώματα που ανήκουν κυρίως στα Leptolyngbyace, Spirulina και Pseudanabaenace. Τα κυανοφύκη αναπτύσσονται κυρίως στις υποθαλάσσιες σπηλιές, ενώ γύρω από τις υποθαλάσσιες αναβλύσεις, βρέθηκαν μόνο στην λευκή και καστανή ζώνη. Η επιτευχθείσα απομόνωση θερμόφιλων κυανοβακτηρίων μπορεί να αποτελέσει πηγή θερμοανθεκτικών ενζύμων για τη βιοτεχνολογία. Η μελέτη αυτή συμβάλλει επίσης στην ποσοτικοποίηση της χωρικής και χρονικής ποικιλότητας των ανόργανων και των οργανικών διακυμάνσεων του άνθρακα στο Αιγαίο.

MICROFLORA AND PRIMARY PRODUCTION IN HYDROTHERMAL SITES OF MILOS ISLAND (AEGEAN SEA)

Louvrou, I., M. Roussomoustakaki, D. Danielidis
and A. Economou-Amilli

University of Athens, Department of Biology, Section of Ecology
& Systematics, Athens, Greece

In shallow waters (<150 m) of the Palaeochori Bay (Milos Island, Aegean Sea) there are extensive geothermal fields. The biogeochemical cycles and microbial diversity of these submarine vent systems are being investigated under a European Research Program (Hydrothermal Fluxes and Biological Production in the Aegean, MAST-III). The southern Aegean is considered to be an oligotrophic area in relation to other Mediterranean basins, and the carbon and nutrient fluxes from the volcanic arc hydrothermal areas may be considered to have an important impact upon its productivity. The biodiversity of such ecosystems is rather low. Mats of photosynthetic microbial communities were collected, cultured and studied from various habitats of the littoral zone of Palaeochori Bay, including rocky substrates and benthic communities, and submarine caves. Special attention was given to vents of 7 m depth with characteristic pattern of successive yellowish, whitish and brownish zones concentric to the vent outlet. Diatoms were abundant in almost all areas, and more than 121 taxa belonging to 32 different genera were identified. Their presence in both the yellowish and whitish zones of the submarine vents was prominent. In the brownish zone the species diversity was lowest. Dominant, with a >10% participation, were species of the genera *Amphora*, *Nitzschia*, *Navicula*, *Campylopyxis* and *Fragilaria*. Cyanophytes (Cyanobacteria) were also found, but their abundance around the vents was low. Seventeen (17) taxa were identified in total belonging mainly to Oscillatoriaceae and Chroococcales. Dominant forms included the genera *Synechococcus*, *Cyanothece* as well as filamentous species of *Leptolyngbya*, *Spirulina* and *Pseudanabaena* with very thin trichomes. Most of these were found in submarine caves, and in the whitish and brownish zones of the submarine vents. The isolated strains of thermophile cyanobacteria are a potential source of thermostable enzymes for biotechnological uses. The present study also contributes to the quantification of the spatial and temporal fluctuations of both inorganic and organic carbon fluxes in the Aegean Sea.

**ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΗΚΩΝ, ΣΧΕΣΗ ΜΗΚΟΥΣ - ΒΑΡΟΥΣ ΚΑΙ
ΓΟΝΑΔΟΣΩΜΑΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΟΥ ΓΑΥΡΟΥ**
(Engraulis encrasicolus, Linnaeus 1758)
ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ

Λουκμίδου, Σ. και Κ. Ι. Στεργίου
Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη 540 06

Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται: (α) οι σχέσεις που συνδέουν το ολικό (TL), το σταθερό (SL) και το μεσουραίο μήκος (FL), (β) η σχέση ανάμεσα στο ολικό μήκος και στο ολικό βάρος σώματος (W) και (γ) ο γοναδοσωματικός δείκτης του γαύρου (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) στο Θερμαϊκό κόλπο. Για τη μελέτη των παραπάνω παραμέτρων χρησιμοποιήθηκαν δείγματα που συλλέγονταν από επαγγελματικά σκάφη (γρι-γρι), στην Ιχθυόσκαλα της Νέας Μηχανιώνας, δύο φορές το μήνα, την περίοδο Ιουνίου - Νοεμβρίου 1997. Από κάθε δείγμα επιλέγονταν 50 άτομα στα οποία μετρήθηκαν τα μήκη με ακρίβεια mm, το ολικό βάρος σώματος με ακρίβεια 0,1 g, και το βάρος των γονάδων με ακρίβεια 0,01g. Οι εξισώσεις που συνδέουν τα TL, SL και FL είναι:

$$FL = -0,08 + 0,92 TL [r^2 = 0,97, n = 600] \text{ SE (b)} = 0,007,$$

$$SL = -0,62 + 0,88 TL [r^2 = 0,96, n = 600] \text{ SE (b)} = 0,007,$$

$$SL = -0,4 + 0,95 FL [r^2 = 0,97, n = 600] \text{ SE (b)} = 0,007.$$

Η σχέση μήκους-βάρους για το σύνολο των ατόμων είναι:

$W = 0,002 TL^{3,52} [r^2 = 0,92, n = 600, \text{ SE (b)} = 0,04]$. Ο γοναδοσωματικός δείκτης αυξήθηκε από 1.76 τον Ιούνιο σε ένα μέγιστο 2.65 τον Αύγουστο και στη συνέχεια μειώθηκε σταδιακά σε 0.23, γεγονός που δείχνει ότι την περίοδο της έρευνας ο γαύρος αναπαράγεται τους καλοκαιρινούς μήνες.

LENGTH-WEIGHT, LENGTH RELATIONSHIPS AND SPAWNING OF ANCHOVY (*Engraulis encrasiculus*, Linnaeus 1758) IN THE THERMAIKOS GULF

Loukmidou, S. and K. I. Stergiou

Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki 540 06, Greece

In this study we present the relationships between total (*TL*), standard (*SL*), and fork length (*FL*), the length-weight relationship and the gonadosomatic index (*GSI*) of the anchovy (*Engraulis encrasiculus*, Linnaeus 1758) in the Thermaikos Gulf. Our study is based on biweekly samples collected from commercial purse-seiners, from the wholesale market of Nea Michaniona, during June - November 1997. The following biological parameters were measured for a subsample of 50 individuals per sampling event: lengths to the nearest mm, body weight (*W*) to the nearest 0.1 g and gonad weight to the nearest 0.01 g. The following linear regressions were fitted between *TL*, *SL* and *FL*:

$$FL = -0.08 + 0.92 TL [r^2 = 0.97, n = 600, SE (b) = 0.007],$$

$$SL = -0.62 + 0.88 TL [r^2 = 0.96, n = 600, SE (b) = 0.007],$$

$$SL = -0.4 + 0.95 FL [r^2 = 0.97, n = 600] SE (b) = 0.007].$$

The length-weight relationship for all individuals combined was $W = 0.002 TL^{3.52}$ [$r^2 = 0.92$, $n = 600$, $SE (b) = 0.04$]. The gonadosomatic index increased from 1.76 in June to 2.65 in August and gradually declined to 0.23 in November, a fact indicating that anchovy is a summerspawner.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΑΥΞΗΣΗΣ
ΚΑΙ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΓΑΥΡΟΥ (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ**

Λουκμίδον, Σ. και Κ. Ι. Στεργίου

Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη 540 06

Στην εργασία αυτή γίνεται μια πρώτη προσπάθεια εκτίμησης της αύξησης και της θνησιμότητας του γαύρου (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) του Θερμαϊκού κόλπου. Τα δείγματα για τη μελέτη, συλλέγονταν δύο φορές το μήνα από επαγγελματικά σκάφη (γρι-γρι) στην Ιχθυόσκαλα της Νέας Μηχανιώνας την περίοδο Ιουνίου - Νοεμβρίου 1997. Συνολικά, μετρήθηκε το νωπό ολικό μήκος με ακρίβεια mm σε 12.382 άτομα. Στη συνέχεια αναλύθηκαν οι κατά μήκος συνθέσεις (βήμα κλάσης μήκους 10 mm) για κάθε δεκαπενθήμερο δειγματοληψίας χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα FiSAT. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των αναλύσεων, η αύξηση του γαύρου περιγράφεται πολύ ικανοποιητικά από την εποχική εξίσωση του von BERTALANFFY $L_t = L_\infty [1 - e^{(-K(t-t_0)-(CK/2\pi)\sin(2\pi(t-t_0)))}]$, όπου $K = 0,6$ έτη⁻¹, $L_\infty = 19$ cm, $C = 0,8$, $WP = 0,6$, και θεωρώντας ότι $t_0 = 0$. Η ολική στιγμιαία θνησιμότητα (Z), που εκτιμήθηκε από την καμπύλη παραγωγής του συνόλου των ατόμων και τις παραπάνω τιμές του K και του L_∞ , βρέθηκε ίση με 5,16 έτη⁻¹ (95% διάστημα εμπιστοσύνης της $Z = 3,86 - 6,46$ έτη⁻¹). Η φυσική στιγμιαία θνησιμότητα (M) υπολογίστηκε από την εμπειρική εξίσωση του PAULY και βρέθηκε ίση με 1,09 έτη⁻¹. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η αλιευτική στιγμιαία θνησιμότητα (F) είναι 4,07 έτη⁻¹ και ο ρυθμός εκμετάλλευσης (E) είναι 0,79. Η τελευταία τιμή είναι μεγαλύτερη από 0,5, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι ο γαύρος στην περιοχή έρευνας υπεραλιεύεται.

**PRELIMINARY GROWTH AND MORTALITY
ESTIMATES FOR ANCHOVY (*Engraulis encrasicolus*,
Linnaeus 1758) IN THE THERMAIKOS GULF**

Loukmidou, S. and K. I. Stergiou

**Laboratory of Ichthyology, Department of Zoology, School of
Biology, Aristotle University, Thessaloniki 540 06, Greece**

In this study, a preliminary estimation of growth and mortality rates of the Thermaikos Gulf anchovy (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) is attempted. Our estimations are based on biweekly samples collected from commercial purse-seiners, from the wholesale market of Nea Michaniona, during June-November 1997. Overall, total length was measured to the nearest mm for 12,382 individuals. Consequently, biweekly length frequencies were constructed and analyzed using FiSAT. The growth of anchovy is satisfactorily described by the seasonalised version of von BERTALANFFY's growth equation: $L_t = L_\infty [1 - e^{(-K(t-t_0)-(CK/2\pi)\sin(2\pi(t-ts)))}]$ and $K = 0.6 \text{ yr}^{-1}$, $L_\infty = 19 \text{ cm}$, $C = 0.8$ and $WP = 0.6$, considering that $t_0 = 0$. The total instantaneous mortality rate (Z), estimated from the length-converted catch curve of all individuals combined and the above mentioned K and L_∞ values, was found to be 5.16 yr^{-1} (95% confidence interval of $Z = 3.86 - 6.46 \text{ yr}^{-1}$). The natural instantaneous mortality rate (M), calculated from PAULY's empirical equation, was found to be 1.09 yr^{-1} . As a result, fishing instantaneous mortality rate (F) was 4.07 yr^{-1} and exploitation rate (E) 0.79 . The latter value is higher than 0.5 , a fact indicating that anchovy in the study area is most probably overexploited.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΔΜΙΟΥ (Cd) ΣΤΟΥΣ ΓΥΡΙΝΟΥΣ ΤΟΥ ΒΑΤΡΑΧΟΥ *RANA RIDIBUNDA*

Λουμπουρδής, Νικόλαος
Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη

Τα τελευταία χρόνια, παρατηρείται παγκοσμίως μια επιταχυνόμενη ελάττωση του αριθμού των αμφιβίων παγκοσμίως. Τα αίτια της ελάττωσης αυτής δεν είναι γνωστά, και, προς το παρόν, μόνον υποθέσεις γίνονται. Πολλοί ερευνητές έχουν καταλήξει σε κάποια συμπεράσματα, όχι όμως απόλυτα τεκμηριωμένα, ότι, εκτός από τους φυσικούς παράγοντες (πολύ υψηλές ή πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, έντονα καιρικά φαινόμενα, ακτινοβολίες κ.λ.π.) πολλοί ανθρωπογενείς παράγοντες παιζουν σημαντικό ρόλο στην ελάττωση αυτή των πληθυσμών. Ένας απ' αυτούς τους παράγοντες, θεωρείται ότι είναι τα βαρέα μέταλλα, τα οποία από διάφορες ανθρώπινες δραστηριότητες διαχέονται στο περιβάλλον. Για να επιβεβαιωθεί, όσο είναι δυνατόν, η άποψη αυτή, χρησιμοποιήσαμε το γυρίνο του βατράχου *Rana ridibunda* και, ως βαρύ μέταλλο, το κάδμιο. Μια παράμετρος που μελετήθηκε, είναι η συγκέντρωση εκείνη του καδμίου σε υδατικό διάλυμα, στην οποία θανατώνεται το 50% των ζώων (LD50) σε ορισμένο χρονικό διάστημα (24 ή 48 ώρες). Με την probit analysis βρέθηκε ότι για το συγκεκριμένο γυρίνο, η LD50 είναι 71.8ppm, σχετικά υψηλή σε σύγκριση με άλλες τιμές από άλλες μελέτες. Στο ίδιο ζώο μετρήθηκε και η συγκέντρωση καδμίου στο σώμα του, μετά από έκθεσή του σε υδατικά διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων καδμίου (12.5ppm, 25ppm, 50ppm και 100ppm) για 15 και 30 ημέρες. Βρέθηκε ότι, μετά από 15 ημέρες έκθεση, η συγκέντρωση καδμίου στο σώμα αυξάνεται με την αύξηση της εξωτερικής συγκέντρωσης. Στις 30 ημέρες, ενώ αναμενόταν επί πλέον αύξηση της συγκέντρωσης καδμίου στο σώμα, παρατηρήθηκε ελάττωση. Μια πιθανή αιτία είναι ότι, μετά τις 15 ημέρες, έχουν αναπτυχθεί μηχανισμοί αποτοξίνωσης, που επιφέρουν κάποια ισορροπία στο ζώο. Ένας τέτοιος μηχανισμός μπορεί να είναι οι μεταλλοθειονεΐνες, μικρού μοριακού βάρους πρωτεΐνες, που έχει βρεθεί ότι πράγματι, παιζουν σημαντικό ρόλο στην αποτοξίνωση ορισμένων βαρέων μετάλλων.

IMPACT OF CADMIUM (Cd) ON THE TADPOLES OF THE FROG *RANA RIDIBUNDA*

Loumbourdis, N.S.

**Department of Zoology, Aristotle University,
GR-54006 Thessaloniki, Greece**

Last years, an accelerating decline in the amphibian populations was observed. The reason of this decline is not well understood and, at the moment, no reasonable explanation can be given. Some researchers came to the conclusion that, besides natural factors (extreme temperatures, too heavy rains etc.), many anthropogenic factors may be responsible for this decline. Such a factor may be heavy metals, which, by various anthropogenic activities, disperse in the environment. For this view to be verified, the tadpole of the frog *Rana ridibunda* was used and as heavy metal, cadmium. One critical parameter measured was the LD₅₀, the cadmium concentration which kills 50% of animals in a fixed time (usually 24 or 48 hours). It was found by probit analysis that for this tadpole LD₅₀ was 71.8ppm, a value relatively high compared to values found in other amphibians. At the same time, the whole body cadmium concentration after exposure in various cadmium concentrations (12.5ppm, 25ppm, 50ppm and 100ppm) for 15 and 30 days was studied. It was found that, after a 15 days exposure, the body cadmium increased with increasing external cadmium concentration. After 30 days, contrary to the expectation, a decline in body cadmium concentration instead of increase, was observed. Most probably, after 15 days, detoxification mechanisms were developed. Such a mechanism could be metallothionein, a low molecular weight protein, which, as it is known, plays a crucial role in detoxification and homeostasis of some metals.

**ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΗΣ
ΑΠΟΑΚΕΤΥΛΑΣΗΣ ΤΗΣ ΧΙΤΙΝΗΣ (CDA) ΣΤΑ
ΖΑΧΑΡΟΤΕΥΤΛΑ (*Beta vulgaris* L.)**

Μαδέσης, Π., Αθ. Τσαυτάρης,

Α. Χριστοδούλιδον* και Ν. Πανόπουλος*

Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών,

Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ. και *Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας
και Βιοτεχνολογίας, Ηράκλειο Κρήτης

Το τεύτλο (*Beta vulgaris* L.) αποτελεί μια σημαντική καλλιέργεια στην Ελλάδα, καλλιέργεια όμως που αντιμετωπίζει διάφορα προβλήματα. Ένα από αυτά είναι η ασθένεια της κερκόσπορας που οφείλεται στο μύκητα *Cercospora beticola*. Ο μύκητας αυτός προσβάλλει το φύλλωμα του ζαχαρότευτλου με αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής. Μια από τις στρατηγικές που ακολουθείται προκειμένου να αντιμετωπιστεί η ασθένεια της κερκόσπορας είναι η προσθήκη και ενσωμάτωση στο γένωμα του ζαχαρότευτλου γονιδίων από άλλους οργανισμούς μέσω της γενετικής μηχανικής. Στην κατεύθυνση αυτή γίνεται προσπάθεια να εισαχθεί το γονίδιο της αποακετυλάσης της χιτίνης στα τεύτλα. Η αποακετυλάση της χιτίνης είναι το ένζυμο που καταλύει την αντίδραση μετατροπής της χιτίνης σε χιτοσάνη μέσω της υδρόλυσης των ακέτυλο- ομάδων της N-ακέτυλο-D-γλυκοζαμίνης της χιτίνης. Πιστεύεται ότι η αποακετυλάση της χιτίνης είναι δυνατόν να δίνει στο τεύτλο ανθεκτικότητα στην κερκόσπορα. Τα μόρια της χιτοσάνης που απελευθερώνονται καθώς και η πολυκατιονική επιφάνεια που δημιουργείται δρουν ως σήματα προειδοποίησης και επάγουν τους αμυντικούς μηχανισμούς του φυτού, όπως σύνθεση φυτοαλεξινών και λιγνίνης, απόθεση καλλόζης κ.α. Επίσης θεωρείται ότι το ένζυμο αυτό μπορεί να προσφέρει και μια γενικότερη ανθεκτικότητα στο φυτό απέναντι σε μικροοργανισμούς που έχουν χιτίνη στο περίβλημά τους. Σκοπός της παρούσης εργασίας είναι αρχικά η μεταμόρφωση φυτών τεύτλου με το γονίδιο της αποακετυλάσης της χιτίνης (CDA) με τη συμβατική προσβολή τμημάτων μίσχων με το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens* που περιέχει ένα δυαδικό φορέα ο οποίος φέρει το γονίδιο του ενζύμου της αποακετυλάσης της χιτίνης στην T-DNA περιοχή του πλασμιδίου. Χρησιμοποιήθηκαν δύο γονίδια, ένα από το μύκητα *Mucor rouxii* και ένα από το ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae*. Η πιστοποίηση των πιθανώς μεταμορφωμένων φυτών έγινε με την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης καθώς και με υβριδισμούς κατά Southern.

CHITIN DEACETYLASE CLONING IN SUGARBEET

Madesis, P., Ath. Tsafaris,

A. Christodoulidou* and N. Panopoulos*

Department of Genetics and Plant Breeding, School of Agriculture, A.U.TH. Thessaloniki, and *Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Heraklion, Crete, Greece

Sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) is one of the most important crops in Greece. However, its culture has a number of problems that must be solved in order to increase sugar yield. Major part in this effort has the conventional plant breeding with the help of genetic engineering. A major disease problem of sugarbeet culture is cercospora which is caused by the fungus *Cercospora beticola* L. Cercospora infects plant leaves and as a result causes yield reduction and a significant increase in culture cost. One of the strategies followed in our laboratory for cercospora control is the alien gene transfer in sugarbeets and in this case the transfer and incorporation of chitin deacetylase gene in sugarbeet. Chitin deacetylase is the enzyme that catalyses the formation of chitosan from chitin by hydrolyzing the N-acetamido groups of N-acetyl-D-glucosamine residues in chitin. We predict that this enzyme might give resistance to cercospora. Moreover, chitosan induces plant defence reactions such as the formation of phytoalexins and lignin or the deposition of callose. It is also considered that this enzyme adds general resistance against organisms containing chitin in their outer membranes. The aim of this study is the transformation of sugar beet explants via *Agrobacterium tumefaciens* with two chitin deacetylase enzymes. Chitin deacetylase genes was isolated from the fungus *Mucor ruxii* and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). The confirmation of putative transformed plants have already been achieved by PCR and Southern hybridization analyses.

**ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΤΗΣ ΣΠΟΓΓΟΜΟΡΦΗΣ
ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑΣ ΤΩΝ ΒΟΟΕΙΔΩΝ**

**Μανούσης, Θ., R. Keyes, M. Σαχσαμάνογλου, M. Dawson,
Ο. Παπαδόπουλος και Θ. Κ. Σκλαβιάδης
Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή
Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο,
Θεσσαλονίκη 540 06**

Εμπλουτισμένα παρασκευάσματα σε PrP πρωτεΐνη από εγκεφάλους βοοειδών ή ποντικών προσβλημένων από σπογγόμορφη εγκεφαλοπάθεια αναλύθηκαν για περαιτέρω μελέτη των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του παθογόνου παράγοντα που την προκαλεί. Τα παρασκευάσματα αυτά κατεργάστηκαν με πρωτεϊνάση K και με το αποδιατακτικό αντιδραστήριο γουανιδίνη σε συγκεντρώσεις 2.5M ή 5M. Η επαναδιάταξη των αποδιαταγμένων συμπλόκων έγινε με διαπίδηση του χαοτροπικού παράγοντα. Τα επαναδιαταγμένα σύμπλοκα αναλύθηκαν σε συστήματα διαβαθμισμένης συγκέντρωσης σουκρόζης για αναλογικό ή ισοπυκνικό διαχωρισμό. Κάθε στήλη σουκρόζης αναλύθηκε σε οκτώ κλάσματα και το καθένα εξετάστηκε για την παρουσία πολυπεπτιδίων ανθεκτικών στην πρωτεϊνάση K (PrPSc), για την παρουσία νουκλεϊνικών οξέων και για μολυσματικότητα με βιοδοκιμασίες. Υλικό με υψηλή μολυσματικότητα χάνει το μεγαλύτερο μέρος της μετά την μετουσίωση και την επανακτά μετά την επαναδιάταξή του. Μολυσματικότητα ανιχνεύτηκε στα κλάσματα σουκρόζης που περιέχουν σύμπλοκα νουκλεϊνικών οξέων/πρωτεΐνης. Επιπλέον πειράματα θα δώσουν πληροφορίες για το αν είναι απαραίτητη η σύνδεση πρωτεΐνών/νουκλεϊνικών οξέων για την επαναδιάταξη του μολυσματικού παράγοντα ή εάν μόνο η PrP πρωτεΐνη ευθύνεται για την μολυσματικότητα ενώ τα νουκλεϊνικά οξέα τυχαία συνκαθαρίζουν μαζί της.

PHYSICAL PROPERTIES OF THE BSE DISEASE AGENT

**Manousis, T., P. Keyes, M. Sahsamanoglou, M. Dawson,
O. Papadopoulos and T.K. Sklaviadis**

Laboratory of Pharmacology, Department of Pharmaceutical Sciences, School of Health Sciences, Aristotle University, Thessaloniki 540 06, Greece

We analyzed purified BSE and murine BSE brain material to delineate parameters that could alter the physical characteristics of the infectious agent, and thus increasing our understanding of its nature. Very mild treatments were used for purification and extraction and the obtained isolates were treated with proteinase K and subsequently denatured with 2.5M or 5M Guanidinium hydrochloride. Reconstitution of dissociated complexes took place by dialysis of the chaotropic agent, and followed by velocity sedimentation studies by rate zonal and isopycnic sucrose gradient fractionation. Eight fractions from each sucrose gradient were examined for the presence of pK resistant polypeptides, for nucleic acids and for infectivity by bioassays. Highly infectious material loses most of its infectivity after denaturation and regains it after renaturation. Infectivity was detected in those sucrose fractions which harbor the nucleic acid/protein complexes. Certain experiments are designed to clarify if the formation of the nucleic acid/protein complexes is necessary for reconstitution of the infectious agent or PrPSc *per se* is responsible for infectivity with nucleic acids copurifying with it by accident.

ΠΑΛΑΙΟΑΝΘΡΩΠΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΟ ΣΠΗΛΑΙΟ ΘΕΟΠΕΤΡΑ ΚΑΛΑΜΠΑΚΑΣ (ΘΕΣΣΑΛΙΑ)

Μανώλης⁽¹⁾, Σ.Κ., Ε. Στραβοπόδη⁽²⁾

και Ν. Κυπαρίσση-Αποστολίκα⁽²⁾

⁽¹⁾Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα

⁽²⁾ Εφορεία Σπηλαιολογίας & Παλαιοανθρωπολογίας, ΥΠΠΟ,
Αρδηττού 34 Β, 11636 Αθήνα

Η αρχαιολογική και παλαιοανθρωπολογική έρευνα στην Ελλάδα έχει αναπτυχθεί σημαντικά τα τελευταία 30-35 χρόνια, αλλά τα μέχρι σήμερα ανθρώπινα σκελετικά ευρήματα είναι λίγα. Μέχρι σήμερα έχουν ερευνηθεί εντατικά διάφορα σπήλαια, και βραχοσκεπές και μερικές ανοικτές θέσεις. Η γεωγραφική θέση της Ελλάδος είναι σπουδαία, γιατί είναι το σημείο συνάντησης της Μ. Ανατολής και της Ευρώπης και έχει τονιστεί συχνά σε σχέση με την μετακίνηση πληθυσμών ή ιδεών στην Ευρώπη από την Αφρική και τη Μ. Ανατολή. Έτσι, είναι βέβαιο ότι θα βρεθούν ίχνη κατοίκησης των ανατομικά συγχρόνων ανθρώπων (ΑΣΑ), που μετακινήθηκαν από την Αφρική μέσω της Μ. Ανατολής (Afro-European Hypothesis) ή των προιγούμενων κατοίκων της Ευρώπης (των Νεαντερντάλειων). Το σπήλαιο Θεόπετρα ανασκάπτεται συστηματικά από την Δρ. Ν. Κυπαρίσση από το 1988. Μέχρι σήμερα έχουν προκύψει σημαντικά ανθρωπολογικά ευρήματα. (Α) Βρέθηκαν (ανασκαφή 1990) ανθρώπινα υπολείμματα ύστερης Ανώτερης Παλαιολιθικής (16.000 πριν) που μέχρι σήμερα δεν αντιπροσωπεύονταν. (Β) Στην ίδια περίοδο ανακαλύφθηκε ταφή μιας νεαρής γυναίκας (που χρονολογείται στα τέλη της Μεσολιθικής περιόδου). (Γ) Το 1996 βρέθηκαν 4 αποτυπώματα ποδιών σε αδιατάρακτο γεωλογικό στρώμα. Η χρονολόγηση δειγμάτων έδωσε μια ηλικία 47.000 πριν. Από τη βιβλιογραφία τεκμηριώνεται ότι τα αποτυπώματα αυτά είναι τ' αρχαιότερα στην Ευρώπη. Από τη μελέτη τους προέκυψαν τα εξής : α) ανήκουν σε παιδιά ηλικίας 3-12 χρόνων. β) από τη μελέτη των εργαλείων και τη χρονολόγηση, υποθέτουμε ότι πρόκειται για Νεαντερντάλεια παιδιά και γ) ότι οι Νεαντερντάλειοι χρησιμοποιούσαν ένα είδος «παπούτσιού». Παραμένει άγνωστη όμως η ανατομία του κάτω άκρου των νεαρών Νεαντερντάλειων, αφού δεν έχουν βρεθεί μέχρι στιγμής υπολείμματα οστών.

PALEOANTHROPOLOGICAL FINDS FROM THEOPETRA CAVE (KALAMBAKA) (THESSALY, GREECE)

Manolis⁽¹⁾, S.K., E. Stravopodi⁽²⁾ and N. Kyparissi-Apostolika⁽²⁾

(¹)Division of Animal & Human Physiology, Department of Biology, Athens University, Panepistimiopolis 157 84 Athens, and (²) Ephory of Speleology & Paleoanthropology, Ministry of Culture, Arditou 34b, 11636 Athens, Greece

The archaeological and paleoanthropological research in Greece has developed significantly during the last 30-35 years, but the human findings are so far inadequate. Until now several caves, rockshelters and some open air sites have been searched thoroughly. The geographical site of Greece is significant as a crossed between Europe and Middle East; consequently, it is often correlated with the migration of either populations or ideas, from Africa and Middle East to Europe. Thus, it is certain that traces of human occupation of anatomically modern human that have migrated from Africa through Middle East (Afro-European Hypothesis, Braüer 1984, 1989, 1992) or those of previous inhabitants of Europe (Neanderthals), are about to be found. The Theopetra Cave is being systematically excavated by Dr. N. Kyparissi since 1988. Until today remarkable anthropological findings have unearthed: (A) Late Pleistocene (16,000 B.P.) human remains, which were not represented until recently, came to light (1990 excavation). (B) In the same period a young woman's burial (dated back to the end of the Mesolithic Era) was discovered. (C) In 1996, four footprints were discovered in undisturbed geological layers. The specimens' dating has demonstrated an age of 47,000 B.P. From references it is documented that these prints are the most ancient in Europe. From thei study the following data has turned up: a) they belong to children aged 3-12 years old, b) from the tools study and the dating as well, we presume that they are Neanderthalian children and c) the fact that the Neanderthals were using a sort of "shoe". Nevertheless, the anatomy of the lower limb of young Neanderthals is still unknown, since no bone remains have been found so far.

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΔΑΚΤΥΛΙΩΝ ΣΤΑ ΛΕΠΙΑ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΩΤΟΛΙΘΟΥΣ ΤΗΣ ΣΥΝΑΓΡΙΔΑΣ

Μαραβέγια¹, Ε., Α. Μαχιάς², Μ. Παυλίδης²,
Σ. Σωμαράκης¹, P. Divanac² και N. Τσιμενίδης^{1,2}

¹ Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Τ.Θ. 1470, 71110
Ηράκλειο, ² Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης,
Τ.Θ. 2214, 710 03 Ηράκλειο

Ο σχηματισμός ετήσιων δακτυλίων στα λέπια και τους ωτόλιθους της συναγρίδας πιστοποιήθηκε με την εξέταση των ανωτέρω δομών σε άτομα γνωστής ηλικίας από υδατοκαλλιέργειες.

Η δειγματοληψία των εκτρεφόμενων ψαριών ηλικίας 0+ έως 3+ πραγματοποιήθηκε κατά το χρονικό διάστημα του Φεβρουαρίου 1996 έως τον Φεβρουάριο του 1997. Τα ψάρια βρισκόντουσαν σε φυσικές συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας και διατρέφονταν μία φορά την ημέρα, με νωπή τροφή (2-3% του βαρους τους). Η ανάγνωση της ηλικίας στα λέπια και στους ωτόλιθους, έγινε με χρηση στερεοσκοπίου.

Από τα αποτελέσματα φάνηκε, ότι ένας δακτύλιος σχηματίζεται κάθε χρόνο τόσο στα λέπια όσο και στους ωτόλιθους. Στα λέπια ο δακτύλιος σχηματίζεται από Φεβρουάριο μέχρι Ιούνιο, ενώ στους ωτόλιθους σχηματίζεται μία αδιαφανής ζώνη από Απρίλιο μέχρι Αύγουστο. Στα λέπια οι ετήσιοι δακτύλιοι δεν ήταν έντονοι, πιθανότατα λόγω των συνθηκών υδατοκαλλιέργειας. Γενικά δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ πραγματικής ηλικίας και δακτυλίων στα λέπια. Πιστοποιήθηκαν σφάλματα στην αποτύπωση της ηλικίας στους ωτόλιθους, στα ψάρια μετά την γεννητική ωρίμανση.

Γενικά, η αύξηση των ωτολίθων θεωρείται ότι είναι αποδεσμευμένη από την αύξηση του σώματος. Το γεγονός ότι τα σφάλματα αρχίζουν να παρατηρούνται μετά την ωρίμανση πιθανόν να οφείλεται στις διαφορετικές θερμοκρασιακές απαιτήσεις των ενηλίκων ατόμων σε συνδυασμό με τον πολύ υψηλό ρυθμό αύξησής τους. Οι θερμοκρασίες στις δεξαμενές ήταν υψηλότερες από αυτές που παρατηρούνται την αντίστοιχη εποχή σε βάθη μεγαλύτερα των 30 m. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα ότι ενώ τα νεαρά ψάρια βρίσκονται σε θερμοκρασίες αντίστοιχες με το περιβάλλον τους, τα ενήλικα εβρίσκοντο σε υψηλότερες θερμοκρασίες και αυξάνοντο με πολύ ταχύτερους ρυθμούς από ότι στην φύση.

VALIDATION OF ANNULI FORMATION ON SCALES AND OTOLITHS OF COMMON DENTEX (*DENTEX* *DENTEX*)

**Maraveyia¹, E., A. Machias², M. Pavlidis², S. Somarakis¹,
P. Divanac² and N. Tsimenides^{1,2}**

**¹ University of Crete, Department of Biology, P.O.Box 1470,
71110, Iraklion, ² Institute of Marine Biology of Crete,
P.O.Box 2214, 71003, Iraklion, Greece**

In this study the annuli formation on scales and otoliths of common dentex, was compared, using farmed fish of known age. From February 1996 to February 1997, farmed fish, ranging from age 0+ to age 3+, were sampled every two months. The otoliths and a number of scales from the area under the pectoral fin were removed for study. Otoliths and scales of farmed fish were read under a binocular stereoscope.

One annulus was formed each year on the scales and otoliths of farmed fish. In our experimental conditions the fish were feeding under constant nutritional regime, so temperature seems to be the main factor affecting the scales annuli and opaque zone formation. Annuli formation on scales of common dentex coincided with the lowest values of temperature (February to May). The annuli on scales were not intense and distinct, probably due to the aquaculture conditions. The opaque zone began during February - April (minimum water temperature) and finished during June to August (maximum water temperature). A lack of congruence of otolith annulus formation (irregular additional marks) with calendar age in the adult specimens was observed. The temperatures were higher in tanks with those of depths >30m. The farmed common dentex grew with a much faster rate of their wild counterparts, as a consequence of greater food availability and higher temperatures.

The adult fish may have different physiological demands than juveniles and consequently high temperatures could be stressed for the former. In that case otoliths seem to be a structure where under the certain intensive farming conditions were imprinted. This item needs further more detailed research as seems to be interesting concerning aquaculture, as well as environmental aspects of the life history of fish.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΧΘΥΟΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΩΡΑΣ ΤΡΟΦΟΛΗΨΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΦΑΓΚΡΙΟΥ (*Pagrus pagrus*)

Μαραγκούδάκη¹, Δ., Μ. Πασπάτης² και Μ. Κεντούρη^{1,2}

¹Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Λεωφ. Κνωσού,
(Τ.Θ. 2208) 71409 Ηράκλειο Κρήτης, ²ΙΘΑΒΙΚ, Τ.Θ. 2214,
71003 Ηράκλειο Κρήτης

Το φαγκρί, είδος ψηλού ενδιαφέροντος για εκτροφή, δεν έχει ακόμα αποτελέσει αντικείμενο συστηματικής έρευνας. Ως εκ τούτου, οι βιολογικές του απαιτήσεις παραμένουν άγνωστες, και η προσαρμοστικότητά του στις συνθήκες εκτροφής είναι δύσκολο να εκτιμηθεί. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να μελετήσει την επίδραση της ιχθυοπυκνότητας και της ώρας τροφοληψίας στην ανάπτυξη του φαγκριού υπό συνθήκες αυτοδιατροφής.

Το πείραμα εκτελέστηκε τον χειμώνα και την άνοιξη του 1997. Η εκτροφή πραγματοποιήθηκε σε κυλινδρικές δεξαμενές των 500 λίτρων, υπό δύο συνθήκες ιχθυοπυκνότητας (50 και 100 ψάρια ανά δεξαμενή). Η διατροφή των ψαριών επιτελέστηκε με χρήση ταϊστρών αυτοχειρισμού (self-feeders) που παρείχαν τροφή με περιορισμό (νυχτερινή δυνατότητα τροφοληψίας) και χωρίς περιορισμό (24-ωρη δυνατότητα τροφοληψίας). Τα ψάρια σημάνθηκαν ατομικά, και διανεμήθηκαν ομοιόμορφα έτσι ώστε όλες οι δεξαμενές να περιέχουν ίσο αριθμό μικρών, μεσαίων και μεγάλων ψαριών. Η αύξηση του βάρους καταγραφόταν με ατομικό ζύγισμα κάθε δύο εβδομάδες, και για διάρκεια 8 εβδομάδων ανά εποχή.

Στο τέλος του πειράματος δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p>0.05$) των δεικτών ομοιογένειας (C.V.) μεταξύ των δεξαμενών. Η ανάπτυξη που παρουσίασαν τα μεγάλα ψάρια των δεξαμενών με 24-ωρη δυνατότητα τροφοληψίας ήταν και για τις δύο εποχές στατιστικά ($p<0.05$) καλύτερη σε σύγκριση με εκείνα που είχαν πρόσβαση στην τροφή μόνο κατά τη διάρκεια της νύχτας. Την άνοιξη, οι ομάδες των μικρών και μεγάλων ψαριών σε χαμηλή ιχθυοφόρτιση παρουσίασαν καλύτερη ανάπτυξη. Από γενική παρατήρηση των πληθυσμών φαίνεται πως δεν ευνοούνται τα μικρά ψάρια στην χαμηλή ιχθυοφόρτιση και στις συνθήκες νυχτερινής δυνατότητας τροφοληψίας, συνθήκες που, όπως φαίνεται, εντείνουν τις ανταγωνιστικές τάσεις μεταξύ των ατόμων του ίδιου πληθυσμού.

THE EFFECT OF FISH DENSITY AND FEEDING TIME ON THE GROWTH OF RED PORGY

(*Pagrus pagrus*)

Maragoudaki¹, D., M. Paspatis² and M. Kentouri^{1,2}

¹University of Crete, Department of Biology, P.O. Box 1470,
GR-71110, Iraclion, Crete, ²Institute of Marine Biology of
Crete, P. O. Box 2214, GR-71003, Iraclion, Crete, Greece

Red porgy, a fish species of great interest for aquaculture, due to its wide geographical distribution and its high market price, has not yet been studied sufficiently. Therefore, its biological needs remain unknown, and it is difficult to determine its adaptability to culture conditions. The purpose of this study is to investigate the effect of fish density and feeding time, the primary factors affecting the cultured species, on the growth of the fish, under self-feeding conditions.

The experiment was conducted (in duplicate) in winter and spring 1997. Fish were held in 500 l cylindrical tanks, in two stocking densities (50 and 100 fish per tank). They were fed by means of self-feeders under two feeding regimes: restrictive self-feeding (nocturnal access to food from 21.00 to 03.00 h), and free (24-hour) access. Fish were tagged individually with visible markers (VI alphanumeric tags, NMT), and distributed so that each tank would contain an equal number of small, medium and large fish. Weight gain was recorded by individual weighing every second week for an 8-week period in each season.

At the end of the experiment, no significant ($p>0.05$) differences were found among the coefficients of variation (C.V.) of the tanks. In both seasons, within the group of large fish, those feeding under restrictive feeding conditions had a lower growth compared to the ones with free access to food. During spring, the groups of small and large fish showed a better growth in low densities. In all cases, the majority of the fish that did not grow properly belonged to the group of small fish, especially to those in low density tanks, under restrictive self-feeding conditions, where antagonism among fish of the same population is more pronounced.

ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ

Μαργέτης¹, Π.Ι., Μ.Χ. Αντωνέλου¹, Π.Κ. Λιάτου¹,
Ι.Ε. Χριστοδούλου¹, Ι.Ε. Κολιόπουλος²,
Ι.Σ. Παπασιδέρη¹ και Λ.Χ. Μαργαρίτης¹

¹Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας
Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα

²Πανεπιστήμιο Πατρών, Ιατρική Σχολή, Πάτρα

Η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια είναι μια μορφή μικροαγγειοπάθειας, που παρατηρείται συχνά σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη και προκαλεί ελάττωση ή ακόμα και απώλεια της όρασης. Η μερική ή ολική απόφραξη των μικροτριχοειδών αγγείων (μικροαγγειοπάθεια) οφείλεται, εκτός των άλλων και σε μεταβολές των ερυθροκυτταρικών πρωτεΐνων. Αυτές κυρίως αφορούν την οξείδωση των πρωτεΐνων της μεμβράνης λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης γλυκόζης στο αίμα των ασθενών που επάγει την αυτοοξείδωσή της, καθώς και τη μη ενζυμική γλυκοζυλίωση των πρωτεΐνων του ερυθροκυττάρου που οδηγεί στη δημιουργία ενώσεων γνωστών ως προϊόντα Maillard. Εξαιτίας των αλλαγών αυτών στις μεμβρανικές πρωτεΐνες προκαλείται μεταβολή της ελαστικότητας και της ανθεκτικότητας των ερυθροκυττάρων. Μελετήθηκαν συνολικά 13 περιπτώσεις ασθενών με ποικίλουςας σοβαρότητας συμπτωματολογία διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Σε συστήματα SDS-ηλεκτροφόρησης έγινε ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των πρωτεΐνων της μεμβράνης με τη χρήση λογισμικού πυκνομέτρησης. Πραγματοποιήθηκαν, επίσης, λειτουργικές μελέτες αυτοσυγκρότησης της σπεκτρίνης και ανάλυση των πολυμερών της στη μεμβράνη με ουδέτερη ηλεκτροφόρηση. Οι πρωτεΐνες από δείγματα ασθενών με πιο βαριά συμπτώματα διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας αποδείχθηκε ότι είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην πρωτεόλυση. Επίσης στο ηλεκτροφορητικό πρότυπο ορισμένων ασθενών, παρατηρήθηκε μία μικρή μείωση του μοριακού βάρους της ζώνης-3 (AE1), ενώ σε άλλους παρατηρήθηκαν μερικές επιπλέον ζώνες, πιθανότατα λόγω της αυξημένης ευαίσθησίας στην πρωτεόλυση.

ALTERATIONS OF THE RED CELL MEMBRANE PROTEINS IN PATIENTS WITH DIABETIC RETINOPATHY

**Margetis¹, P.J., M.H. Antonelou¹,
P.K. Liatou¹, J.E. Christodoulou¹, J.X. Koliopoulos²,
I.S. Papassideri¹ and L.H. Margaritis¹**

**¹University of Athens, Department of Biology, Division of Cell
Biology and Biophysics, Panepistimiopolis, Athens, Greece**

²University of Patras, Medical School, Patras, Greece

Diabetic retinopathy is a type of microangiopathy, which is commonly observed in patients with diabetes mellitus and causes impairment or even loss of vision. One of the factors causing the partial or complete obstruction of microcapillaries (microangiopathy), is the alteration of membrane proteins. This alteration mainly concerns the oxidation of the membrane proteins arisen by the autooxidation of the high levels of glucose present in patients serum, as well as the non enzymatic glycolysation of the erythrocyte proteins which lead to the formation of compounds known as Maillard products. These transformations in membrane proteins cause changes in red cell elasticity and tolerance. We studied thirteen patients with diabetic retinopathy of variable severity. Qualitative and quantitative analysis of membrane proteins was made in SDS-PAGE systems, with the use of densitometric software. In order to assess the self-assembly function of native spectrin, we performed non-denaturating gel electrophoresis. We observed that membrane protein samples from patients suffering from severe diabetic retinopathy are more susceptible to proteolysis. Additionally, the electrophoretic pattern of some patients presents a slight decrease in the molecular weight of band 3 (AE1), whereas additional bands are present in other samples, most probably because of the increased susceptibility to proteolysis.

**ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΣΤΟΝ ΕΝΤΟΜΟ-
ΠΑΘΟΓΟΝΟ ΜΥΚΗΤΑ *Metarhizium anisopliae* ΛΟΓΩ
ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΕΣΩΝΙΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ-Ι ΣΤΟ 28S
ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΟ ΓΟΝΙΔΙΟ**

Μαυρίδου, Αννούλα και Μιλτιάδης Α. Τύπας
Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Κουπόνια 15701, Αθήνα

Πρόσφατες μελέτες της χρωμοσωμικής περιοχής που περιέχει τα rRNA γονίδια στελεχών του εντομοπαθογόνου μύκητα *M. anisopliae* var. *anisopliae* έδειξαν έντονο γενετικό πολυμορφισμό⁽¹⁾. Από την περιοριστική ανάλυση και τα υβριδιστικά πρότυπα της rRNA γονιδιακής περιοχής, των στελεχών που εξετάσθηκαν, εντοπίσθηκαν ενθέσεις εντός του 28S γονιδίου της rRNA περιοχής.

Με βάση τις λιγότερο συντηρητικές περιοχές του 3'-άκρου του 28S του φυτοπαθογόνου μύκητα *Verticillium dahliae* σχεδιάστηκαν εκκινητικά ολιγονουκλεοτίδια, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν σε αντίδραση PCR για 30 στελέχη του *M. anisopliae*. Για 27 από αυτά τα στελέχη, καθώς και το στέλεχος-μάρτυρα του *V. dahliae*, ενισχύθηκε περιοχή DNA μεγέθους 1.0 kb, ενώ σε τρία στελέχη *M. anisopliae* ενισχύθηκαν μόρια DNA μεγέθους από 1.4 έως 2.3 kb.

Ανάλυση της πρωτοταγούς δομής των προϊόντων PCR των 3 στελεχών και των στελεχών-μαρτύρων, και σύγκριση των μορίων αυτών με τα αντίστοιχα γνωστά από τις διεθνείς γονιδιακές τράπεζες, οδήγησε στη διαπίστωση ότι το ένα στέλεχος περιείχε 3 εσώνια της ομάδας-Ι, ενώ τα άλλα δύο στελέχη περιείχαν από ένα εσώνιο του ίδιου τύπου. Το προϊόν PCR του στελέχους-μάρτυρα *M. anisopliae* με μέγεθος 1.0 kb δεν περιείχε κανένα εσώνιο.

Ο σχεδιασμός εξειδικευμένων εκκινητικών ολιγονουκλεοτίδιων για κάθε ένα από τα τρία εσώνια και η χρησιμοποίησή τους σε αντιδράσεις PCR στα 30 στελέχη *M. anisopliae* έδειξε ότι παρόμοια εσώνια εντοπίζονται και σε άλλες θέσεις του γονιδιώματος των μυκήτων.

⁽¹⁾Mavridou A. & M.A. Typas (1998). *Mycol. Research* **102** (υπό έκδοση).

**THE PRESENCE OF GROUP-I INTRONS IN THE 28S
RIBOSOMAL GENE REGION OF ISOLATES OF THE
ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Metarhizium*
anisopliae AS A SOURCE OF GENETIC
POLYMORPHISM.**

Mavridou, Annoula and Milton A. Typas

Division of Genetics and Biotechnology, Department of Biology,
University of Athens, Panepistemiopolis, Kouponia 157 01,
Athens, Greece

Restrictional and hybridization pattern analysis of the chromosomal rRNA gene-complex of 25 isolates of the entomopathogenic fungus *M. anisopliae* var. *anisopliae* has shown, in previous studies, the presence of genetic polymorphism among isolates⁽¹⁾.

Degenerate primers designed from the less conserved region of the 3'-end of the 28S rRNA gene of *Verticillium dahliae* were used to PCR amplify the relevant region of 30 *M. anisopliae* isolates. A PCR product of 1.0 kb in size was amplified in most (27) of the isolates, whereas in three *M. anisopliae* isolates the size of the amplified fragments was larger, ranging from 1.4 to 2.3 kb.

The DNA sequence and structure of these PCR products was determined and showed the presence of three group-I introns in one isolate, and one group-I intron in the other two. The PCR product of the control *M. anisopliae* isolate, sized 1.0 kb, did not include any intron.

DNA sequence analysis and comparisons between the three introns and all those published in various gene banks showed a great degree of homology with group-I introns found in other organisms.

Specific primers were designed to amplify the 'core' of each of the introns and were used in PCR experiments with the 30 *M. anisopliae* isolates; results showed the presence of such introns in other sites of the genome of the fungal isolates.

⁽¹⁾ Mavridou A. and M.A. Typas (1998). *Mycological Research* **102** (In press).

ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΝΟΣ ΝΕΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ ΜΕ ΔΑΚΤΥΛΟΥΣ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ, ΜΕΛΟΥΣ ΤΗΣ ΥΠΟΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ SCAN, ΠΟΥ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΕΙΤΑΙ ΣΤΟ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑ 17

**Μαυρόγιαννης, Λ. Α., Α. Αργυροκαστρίτης,
Σ. Βρόντου, Ε. Δερμιτζάκης και Ν. Κ. Μοσχονάς**
**Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης και Ινστιτούτο
Μοριακής Βιολογίας & Βιοτεχνολογίας, ΙΤΕ, Ηράκλειο**

Η συστηματική διερεύνηση κανονικοποιημένων βιβλιοθηκών cDNA, μέσω προγραμμάτων απομόνωσης ESTs (*Expressed Sequence Tags*), αποτελεί αποδοτική προσέγγιση για το χαρακτηρισμό νέων, σπάνιων μεταγράφων. Τυχαίοι κλώνοι απομονώθηκαν από μία κανονικοποιημένη μορφή της βιβλιοθήκης cDNA από την ερυθρολευχαψική σειρά K562 με σκοπό την ανίχνευση σπάνιων, mRNAs από ένα κυτταρικό περιβάλλον κατάλληλο για μελέτες διαφοροποίησης. 31 από τα 57 ESTs που κατατέθηκαν στην Genbank, δεν εμφάνιζαν σημαντικές νουκλεοτιδικές ομοιότητες με υπάρχουσες καταχωρήσεις. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζουμε την δομική ανάλυση και το πρότυπο έκφρασης ενός νέου γονίδιου (ZNF246), το οποίο προήλθε μέσω του EST HSIMBB246 και χαρτογραφήθηκε, με FISH, στο χρωμόσωμα 17 (17p12-13). Το γονίδιο ZNF246, κωδικοποιεί για έναν εν δυνάμει μεταγραφικό ρυθμιστή, μέλος της προσφάτως στοιχειοθετημένης υποοικογένειας SCAN/LeR. Από την ανάλυση της αλληλουχίας του cDNA (1.5 Kb) προέκυψε ένα δυνητικό πολυπεπτίδιο μεγέθους 417 αμινοξέων με πέντε μοτίβα δακτύλων ψευδαργύρου του τύπου C2H2 στο καρβοξυτελικό άκρο και το συντηρημένο SCAN/LeR domain στο αμινοτελικό. Η ανάλυση των γενομικών κλώνων, υποστηρίζει την κατανομή της κωδικής περιοχής του γονιδίου σε τέσσερα εξόνια. Πιθανότατα το τρίτο εξόνιο υπόκειται σε εναλλακτική συναρμολόγηση. Ένα μετάγραφο μεγέθους 2 Kb ανιχνεύεται σε κυτταρικές σειρές-αιμοποιητικής ή μη προέλευσης. Σε ανθρώπινους ιστούς ένα μείζον mRNA μεγέθους 7 Kb, εμφανίζεται άφθονο σε σκελετικό και δευτερευόντως σε καρδιακό μυ. Επιπλέον θα παρουσιαστούν δεδομένα σχετικά με την υποκυτταρική τοπολογία της πρωτεΐνης και τη δυνατότητά της να συμμετέχει κατασταλτικά κατά τη μεταγραφή.

MOLECULAR ANALYSIS OF A NOVEL HUMAN ZINC-FINGER GENE, MEMBER OF THE SCAN DOMAIN SUBFAMILY, THAT MAPS TO CHROMOSOME 17

Mavrogiannis, L.A., A. Argyrokastritis,

S. Vrontou, E. Dermitzakis and N. K. Moschonas

**Department of Biology, University of Crete and Institute of
Molecular Biology & Biotechnology, FORTH, Greece**

Systematic screening of normalized cDNA libraries, through EST isolation, is a common and effective approach towards the characterization of novel, relatively rare transcripts. Random isolates from a normalized version of a K562 cDNA library (constructed from the K562 erythroleukemia cell line) were picked in order to trace rare, potentially regulatory, mRNAs from a cellular environment suitable for differentiation studies. Thirty-one out of 57 ESTs deposited in Genbank, displayed non-significant similarities with any other entry; two of them were selected for further study on the basis of interesting motifs identified. In the present study, structural as well as expression data concerning a novel zinc-finger gene (*ZNF246*) determined, by FISH, to map to 17p12-13 are presented. *ZNF246* encodes for a potential transcriptional regulator, member of the recently identified SCAN/LeR subfamily. The 1.5 Kb long cDNA sequence (obtained through the EST HSIMBB246) encodes for a predicted polypeptide of 417aa; five zinc-fingers of the C2H2 type are present at the carboxy terminus, while the conserved finger-associated SCAN/LeR domain is located in the amino terminus. The SCAN subfamily includes 17 members, so far. *ZNF246* is the first to be mapped to chromosome 17. cDNA and genomic clone analysis suggests that the coding region of *ZNF246* is splitted in three exons, probably subjected to alternative splicing. A transcript of 2 Kb, is detected in several cell lines examined. A major 7 Kb mRNA is abundant in human skeletal muscle and heart. Shorter and less abundant transcripts, with variable size (probably reflecting alternative splicing events in the 5' UTR) are present in other human and murine tissues. Preliminary evidence concerning both the subcellular localization of the respective protein and its transcriptional potential acting as a negative regulator will be also presented.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΦΑΓΙΑΣ ΣΤΑ ΑΙΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ *CERATITIS CAPITATA*

Μεθενίτη, Α., Ν. Παρασκευοπούλου και Μ. Λαμπροπούλου
Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Πάτρα

Η κυτταροφαγία αποτελεί βασικό μηχανισμό άμυνας όλων σχεδόν των ευκαρυωτικών οργανισμών. Τα φαγοκύτταρα αναγνωρίζουν, δεσμεύουν και στη συνέχεια εγκολπώνουν μικροοργανισμούς, ξένα σωματίδια ή υπολείμματα ιστών, που προκύπτουν μετά από μόλυνση ή φλεγμονή. Πρόσφατα έχει προταθεί από το εργαστήριό μας, ένας μηχανισμός σχετικός με την αναγνώριση και δέσμευση των μικροοργανισμών στα αιμοκύτταρα των εντόμων, που αποτελούν φυσιολογικά τα πρώτα βήματα στη διαδικασία της κυτταροφαγίας. Για περαιτέρω διαλεύκανση των διαφόρων σταδίων της κυτταροφαγίας, μελετήσαμε αν πράγματι η αναγνώριση και η δέσμευση είναι προϋπόθεση της εγκόλπωσης των μικροοργανισμών και ποιοι ακόμη κυτταρικοί μηχανισμοί συμμετέχουν στην κυτταροφαγία. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε μονόστιβα και εναιωρήματα αιμοκυττάρων της προνύμφης του εντόμου *Ceratitis capitata* και ως επαγωγείς της κυτταροφαγίας χρησιμοποιήθηκαν *E. coli* και ελαστικά σφαιρίδια. Διαπιστώθηκε ότι από τους διάφορους τύπους αιμοκυττάρων υπεύθυνα για την κυτταροφαγία είναι τα πλασματοκύτταρα και τα κοκκιώδη κύτταρα και ότι η θερμοκρασία επηρεάζει την κυτταροφαγία. Για τη μελέτη του μηχανισμού της κυτταροφαγίας χρησιμοποιήθηκαν διάφοροι παράγοντες, που συμμετέχουν στην αναγνώριση και δέσμευση των μικροοργανισμών στην επιφάνεια των αιμοκυττάρων καθώς και παράγοντες που συμμετέχουν σε βασικές κυτταρικές λειτουργίες. Η χρήση genistein (αναστολέας της κινάσης της τυροσίνης) ή SITS (αναστολέας της κυτταρικής έκκρισης) μείωσε την κυτταροφαγία κατά 70%. Η χρήση PTU και αντισωμάτων έναντι της φαινολοξειδάσης μείωσε κατά 50% την ικανότητα της κυτταροφαγίας. Τέλος, η χρήση αντισωμάτων έναντι της ιντεγκρίνης β3 ή πεπτιδίων RGD μείωσε την κυτταροφαγία κατά 50% και 90% αντιστοίχως. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν σαφώς ότι η αναγνώριση και η δέσμευση των βακτηρίων στα αιμοκύτταρα, είναι προϋπόθεση για την κυτταροφαγία. Προφανής είναι η συμμετοχή της φωσφορυλίωσης και της έκκρισης ενεργών μορίων.

PHAGOCYTOSIS IN HAEMOCYTES OF *CERATITIS CAPITATA*

Metheniti, A., N. Paraskevopoulou and M. Lambropoulou
University of Patras, Department of Biology, Patras, Greece

Phagocytosis is a fundamental process in resistance to infections for almost all the eukaryotes. The phagocytes recognize and engulf microorganisms, foreign particles or tissue debris that accumulate during infection, inflammation or wound repair. In contrast, to the importance of phagocytosis little is known about the molecular mechanisms of its induction and regulation. We have proposed a model for the recognition and attachment of *E. coli* to haemocyte surface. In the present work we looked further to elucidate the molecular mechanisms underlying the engulfment of bacteria. To study phagocytosis monolayers and suspensions of larval haemocytes were used. As phagocytosis agents we used FITC-labeled *E. coli* and dyed latex beads. Our results clearly show that plasmacytoides and granulocytes are the only haemocytes with phagocytic activity which depends on temperature. Indeed, the percentage of phagocytosis was increased twice as the temperature was increased from 25 to 31 C. To study the mechanisms of phagocytosis various factors participating in the recognition and attachment of bacteria to haemocytes as well as factors involved in basic cellular mechanisms were used. Treatment of haemocytes with genistein, an inhibitor of tyrosine kinase, or SITS, an inhibitor of secretion, resulted in reduction of phagocytic activity by 70%. The use of PTU (inhibitor of phenol oxidase) or antibodies against PO inhibited phagocytosis by 50%. Finally, antibodies against b3 integrins (cell surface receptor), or RGD peptides, also reduced phagocytosis activity by 50% and 90% respectively. The above results demonstrate that the recognition and binding of target on haemocyte surface are prerequisite for successful phagocytosis. It is evident the participation of protein phosphorylation and the secretion of various active molecules.

ΥΠΟΘΕΣΕΙΣ ΕΡΜΗΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΜΟΡΦΩΜΑΤΩΝ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΤΗΣ ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ: ΤΑ ΕΡΠΕΤΑ ΤΟΥ ΕΛΛΑΔΙΚΟΥ ΧΩΡΟΥ

**Μελιάδου, Αλεξάνδρα και Ανδρέας Τρούμπης
Εργαστήριο Διαχείρισης Βιοποικιλότητας,
Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου,
Καραντώνη 17, 81100, Μυτιλήνη**

Για την ερμηνεία των γεωγραφικών μορφωμάτων κατανομής της βιοποικιλότητας έχουν διατυπωθεί διάφορες υποθέσεις. Στην παρούσα εργασία μελετάται η κατανομή της ποικιλότητας της ερπετοπανίδας στο χερσαίο και νησιωτικό ελλαδικό χώρο και ελέγχεται η ισχύς της κλιματικής υπόθεσης, της ενεργειακής υπόθεσης, της υπόθεσης της κλιματικής σταθερότητας και της υπόθεσης της ετερογένειας του χώρου. Εξετάζεται επίσης η επίδραση της επιφάνειας των νησιών *per se* στην ποικιλότητα σε σχέση με την επίδραση παραγόντων που αντιστοιχούν στις παραπάνω υποθέσεις. Ο έλεγχος των υποθέσεων γίνεται με πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση ανάμεσα στον αριθμό των ειδών και σε μεταβλητές που εκφράζουν παράγοντες που αντιστοιχούν στις υποθέσεις αυτές. Ο χερσαίος ελλαδικός χώρος διαιρείται σε επιφάνειες διαστάσεων 50kmx50km. Τα νησιά θεωρούνται αυτόνομες χωρικές μονάδες. Για την κάθε επιφάνεια υπολογίζεται ο αριθμός των ειδών των ερπετών και οι τιμές (μέσες ή εύρη) φυσιογραφικών και κλιματικών μεταβλητών. Καταγράφονται συνολικά 55 είδη ερπετών, 6 από τα οποία είναι ενδημικά. Ο μέγιστος πλούτος ειδών εντοπίζεται στις δυτικές περιοχές της Ελλάδας και ιδιαίτερα στην Πελοπόννησο και στα Ιόνια νησιά. Διαβάθμιση γεωγραφικού πλάτους στην ποικιλότητα δεν παρατηρείται στην κλίμακα αυτή. Η μόνη μεταβλητή που εισάγεται ως στατιστικά σημαντική κατά τη διαδικασία της πολλαπλής παλινδρόμησης είναι το συνολικό ετήσιο ύψος των βροχοπτώσεων τόσο για το χερσαίο όσο και για το νησιωτικό χώρο. Αν θεωρηθεί οτι οι βροχοπτώσεις αντιπροσωπεύουν την ενέργεια του περιβάλλοντος, τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν την ενεργειακή υπόθεση σύμφωνα με την οποία η βιοποικιλότητα καθορίζεται από την διαθέσιμη προς τους οργανισμούς ενέργεια. Αν όμως τα αυξημένα επίπεδα βροχοπτώσεων θεωρηθεί οτι ενισχύουν την περιβαλλοντική ετερογένεια επιδρώντας στη δομή της βλάστησης και στον αριθμό των τύπων βιοκατοικιών ανά μοναδιαία επιφάνεια, τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης υποστηρίζουν την υπόθεση της χωρικής ετερογένειας. Σύμφωνα με την υπόθεση αυτή, η ποικιλότητα των ειδών καθορίζεται από το βαθμό ετερογένειας και συνθετότητας του περιβάλλοντος.

HYPOTHESES FOR THE EXPLANATION OF BIODIVERSITY DISTRIBUTION PATTERNS: THE HERPETOFAUNA OF GREEK AREA

Meliadou, Alexandra and Andreas Troumbis
Biodiversity Conservation Laboratory, Department of
Environmental Studies, University of the Aegean,
17 Karadoni St., 81100, Mytilene, Greece
E-mail: amel@env.aegean.gr

Many hypotheses have been proposed to account for the geographic variation in biodiversity distribution patterns. In the present study, we investigate the spatial distribution of herpetofauna diversity in the Greek mainland and the islands and we test the validity of the climatic favorableness hypothesis, the energy hypothesis, the hypothesis of climatic stability and the hypothesis of spatial heterogeneity. Moreover, we test the effect of island area *per se* on diversity in comparison to the effect of factors corresponding to the above hypotheses. Hypotheses testing is made through multiple linear regression between species number and variables expressing factors corresponding to these hypotheses. Greek mainland has been divided into 50kmx50km quadrats. Each island is treated as autonomous spatial unit. For each cell we estimate the reptile species number and values (means or ranges) of physiographic and climatic variables. Over the study area, 55 reptile species have been recorded, 6 of which are endemics. The maximum values of species richness are located on the western regions, especially in Peloponnese and Ionian islands. No latitudinal gradient has been detected on this spatial scale. The only variable which correlates significantly with species richness is total annual precipitation for both mainland and islands. Under the presumption that precipitation levels represent the energy of the environment, these results support the energy hypothesis according to which biodiversity is determined by the available energy to the organisms. If however, higher precipitation levels are considered to promote environmental heterogeneity affecting the vegetation structure and the number of different habitat types, then the results of linear regression analysis support the spatial heterogeneity hypothesis. According to this hypothesis, species diversity is determined by the degree of environmental heterogeneity and complexity.

**ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΟΛΥΚΛΩΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ
ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΤΡΑΣΝΦΕΡΑΣΩΝ ΤΗΣ
ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΟΝΥΜΦΗ ΤΟΥ
ΟΛΟΜΕΤΑΒΟΛΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *T. MOLITOR***

**Μεταξάκης, Α., Ε. Μπουκουβάλα, Ι. Κωσταρόπουλος
και Α.Ι. Παπαδόπουλος**

**Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ., 54006 Θεσσαλονίκη**

Η ομάδα των τρανσφερασών της γλουταθειόνης είναι ευρύτατα διαδεδομένη σε όλο σχεδόν το ζωϊκό βασίλειο. Σε κάθε οργανισμό απαντώνται μία ή περισσότερες ισοενζυμικές μορφές. Η δράση του ενζύμου ανιχνεύεται σε πολλούς ιστούς του ιδίου οργανισμού όπου συχνά εντοπίζονται διαφορετικές ισοενζυμικές μορφές. Ενώ αυτό διαπιστώνεται σχετικά εύκολα στα θηλαστικά, σε μικρότερου μεγέθους οργανισμούς όπως τα έντομα μία τέτοιας μορφής μελέτη παρουσιάζει σημαντικές δυσκολίες.

Με στόχο τη σε βάθος μελέτη της κατανομής της δραστικότητας των τρανσφερασών της γλουταθειόνης στα έντομα, προχωρήσαμε στη δημιουργία πολυκλωνικών αντισωμάτων έναντι των τρανσφερασών της γλουταθειόνης που απαντώνται στο ολομετάβολο έντομο *T. molitor*.

Για το σκοπό αυτό, με χρωματογραφία εστιασμού, απομονώθηκε πρωτεΐνη τρανσφεράσης της γλουταθειόνης από το στάδιο της προνύμφης του ολομετάβολου εντόμου *T. molitor*. Για την ανοσοποίηση του κουνελιού ενέθηκαν 360 μ gr ενζυμικής πρωτεΐνης αναμεμιγμένα με CFA (Complete Freuds Adjuvant) σε πολλαπλές θέσεις υποδορίως. Ακολούθησαν δύο ακόμη επαναληπτικές ενέσεις πρωτεΐνης (140 μ gr) με IFA (Incomplete Freuds Adjuvant) και στη συνέχεια έγινε ανίχνευση ατισωμάτων στον ορό του κουνελιού από αίμα που πάρθηκε από την αρτηρία του αυτιού. Η ταυτοποίηση των αντισωμάτων έγινε με τη μέθοδο ανοσοδιάχυσης Ouchterlony. Για να διαπιστωθεί η εξειδίκευση των αντισωμάτων έναντι των διαφορετικών ισοενζυμικών μορφών της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης που απαντώνται στο *T. molitor* χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία της ανοσοκατακρήμνισης (σαν δεύτερο αντίσωμα χρησιμοποιήθηκε goat anti-rabbit IgG) καθώς επίσης και η μεθοδολογία Western blotting όπου ως δεύτερο αντίσωμα χρησιμοποιήθηκε alkaline phosphatase conjugated goat anti-rabbit-IgG.

PREPARATION OF POLYCLONAL ANTIBODIES AGAINST GLUTATHIONE-S-TRANSFERASES FROM THE LARVAL STAGE OF THE INSECT *T. MOLITOR*

**Metaxakis, A., E. Boukouvala, I. Kostaropoulos
and A. I. Papadopoulos**

**Laboratory of Animal Physiology, Department Zoology, School
of Biology, Aristotle University, GR-54006 Thessaloniki, Greece**

The glutathione S-transferase is a widely distributed enzyme family among the animal kingdom. In each organism one or more isoenzymes are present. In all mammals and vertebrates studied, enzyme activity is present in all the tissues of each organism and usually different isoenzymes are present in different tissues. Although this is easily studied in mammals, in animals of a smaller size like insects, this kind of investigation faces serious problems.

In order to further investigate the distribution of glutathione S-transferase among the various insect tissues, we proceeded to the production of polyclonal rabbit anti-GST antibodies from the larvae of the insect *T. molitor*. The rabbit was inoculated subcutaneously at multiple sites with 360 μ gr of affinity purified protein mixed with Complete Freuds Adjuvant. Two weeks later the rabbit was inoculated with 140 μ gr of protein mixed with Incomplete Freuds Adjuvant. The injection was repeated once more two weeks later. The presence of specific antibodies was detected in the serum of the rabbit from blood taken from the ear vein. The detection of the antibodies was made by means of Ouchterlony double diffusion immunoassay and immunoprecipitation. For the immunoprecipitation, goat anti-rabbit IgG was used as the second antibody. The specificity of the antibody against the four GST isoenzymes present in the larvae of *T. molitor* was detected by means of Western blotting by the use of alkaline phosphatase conjugated goat anti-rabbit IgG.

ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ Rb ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΠΟΝΤΙΚΟΥ *Mus musculus domesticus* ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΣ

Μήτσαινας, Γ.Π. και Ε.Β. Γιαγιά-Αθανασοπούλου
Τομέας Βιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο
Πατρών, 26001 Πάτρα

Ο οικιακός ποντικός *Mus musculus domesticus*, έχει τυπικό καρυότυπο $2n=40$, όλο ακροκεντρικά χρωμοσώματα. Εντούτοις, πληθυσμοί αυτού χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη Robertsonian (Rb) συντήξεων μεταξύ των ακροκεντρικών χρωμοσωμάτων, με αποτέλεσμα τη δημιουργία Rb φυλών. Οι φυλές αυτές δημιουργούν Rb συστήματα, ακολουθώντας το πρότυπο των Πολλαπλών Διαδοχικών Μεταλλάξεων (MSM). Το Rb σύστημα της ΒΔ Πελοποννήσου, αποτελείται από Rb πληθυσμούς με χρωμοσωμικούς αριθμούς $2n=32$, 31 , 30 , 29 , 28 , 27 και 24 . Η παρούσα εργασία αποτελεί μέρος μίας εκτεταμένης έρευνας για τη μελέτη και την οριοθέτηση τόσο αυτού, όσο και άλλων Rb συστημάτων της Ελλάδας. Η καρυοτυπική ανάλυση 39 αντιπροσώπων από 10 διαφορετικούς άγριους πληθυσμούς του *M. m. domesticus*, με τις μεθόδους χρώσης των χρωμοσωμάτων G- και C-banding, έδωσε τα ακόλουθα αποτελέσματα: Τρεις σαφώς διαμορφωμένες χρωμοσωμικές φυλές εξαπλώνονται στη ΒΔ Πελοπόννησο. Οι φυλές με $2n=30$ και $2n=28$, καθώς και υβρίδια μεταξύ αυτών ($2n=29$), εντοπίστηκαν για πρώτη φορά στην περιοχή του Αιγαίου (Σελιανίτικα, Νεραντζές). Το ανατολικότερο άκρο εξάπλωσης του Rb συστήματος εντοπίζεται μέχρι σήμερα, στα σύνορα Κορινθίας-Αχαΐας (Ροζενά, $2n=28$). Στην ίδια περιοχή βρέθηκε άτομο με τον τυπικό καρυότυπο $2n=40$. Η Rb φυλή με $2n=24$, εξαπλούμενη στη Δ Πελοπόννησο, εντοπίστηκε πλησιέστερα στην περιοχή των Πατρών (Βασιλικό, Αχαΐα). Επίσης στο Ακταίο (περιοχή Πατρών) βρέθηκαν ετεροζυγώτες με $2n=31$, καθώς και για πρώτη φορά άτομο με τον τυπικό καρυότυπο $2n=40$. Μελετήθηκαν επίσης 14 άτομα από 5 τοποθεσίες εκτός της εξάπλωσης του παραπάνω Rb συστήματος: Άτομα με Rb συντήξεις στον καρυότυπο τους, εντοπίστηκαν στη Ν Πελοπόννησο (Μεθώνη Μεσσηνίας, $2n=38$), καθώς και για πρώτη φορά σε ένα νησιωτικό πληθυσμό από τα Κύθηρα ($2n=39$) καταρρίπτοντας, έτσι, τη μέχρι σήμερα άποψή μας ότι όλοι οι νησιωτικοί πληθυσμοί είναι ακροκεντρικοί. Δύο άτομα από το Μελισσοχώρι Βοιωτίας ($2n=28$, $2n=29$), ανήκουν στο Rb σύστημα της ευρύτερης περιοχής των Θηβών. Πέντε άτομα από τη Νέα Αγχίαλο Μαγνησίας, καθώς και 4 άτομα από την Πετρούπολη Αττικής έχουν το τυπικό καρυότυπο $2n=40$ και ανήκουν σε πληθυσμούς του *M. m. domesticus* με όλο ακροκεντρικά χρωμοσώματα, οι οποίοι περιβάλλουν τα Rb συστήματα.

GEOGRAPHIC DISTRIBUTION OF Rb POPULATIONS OF THE HOUSE MOUSE, *Mus musculus domesticus*, IN GREECE

Mitsainas, G.P. and E.B. Giagia-Athanasopoulou
Section of Animal Biology, Department of Biology, University of
Patra, 26001, Patra, Greece

The house mouse, *Mus musculus domesticus*, has a typical karyotype of $2n=40$, all acrocentric chromosomes. Nevertheless, certain some populations are characterized by the existence of Robertsonian (Rb) fusions between the acrocentric chromosomes, resulting in the creation of Rb races. These races form Rb systems, according to the Multiple Succeeding Mutations model (MSM). The Rb system of NW Peloponnese consists of Rb populations with chromosomal numbers $2n=32$, 31, 30, 29, 28, 27 and 24. This research contributes to the better study of this, as well as other Rb systems of Greece. The karyotypic analysis of 39 representatives from 10 different feral populations of *M. m. domesticus*, using the G- and C-banding chromosome staining methods, provided the following results: Three well-formed chromosomal races extend in NW Peloponnese. The races with $2n=30$ and $2n=28$, as well as, hybrids between them ($2n=29$), were found for the first time in the area of Aigio (Selianitika, Nerantzies). The easternmost boundary of distribution of the Rb system is located, up to date, at the borders between Kornithia and Achaia (Rozena, $2n=28$). At the same region, an individual with the typical karyotype $2n=40$ was found. The Rb race with $2n=24$, which extends in W Peloponnese, was located closer to the region of Patra (Vasiliko, Achaia). Also, heterozygotes with $2n=31$ as well as individuals with the typical karyotype $2n=40$ were found for the first time in Aktaio (wider area of Patra). Moreover, 14 individuals from 5 locations outside the aforementioned Rb system were studied: Individuals with Rb fusions in their karyotype, were also located in S Peloponnese (Methoni, Messinia, $2n=38$), and for the first time in an island population from Kithira ($2n=39$), overturning our previous opinion that all island populations are acrocentric. Two animals from Melissochori, Boiotia ($2n=28$, $2n=29$) belong to the Rb system of the wider area of Thebes. Five individuals from Nea Agchialos, Magnisia, as well as 4 animals from Petroupoli, Attiki have the typical karyotype, $2n=40$ and belong to the all acrocentric populations of *M. m. domesticus* that surround the Rb systems.

**ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Podarcis*
(*Sauria: Lacertidae*) ΒΑΣΙΣΜΕΝΗ ΣΕ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA**

Μίζη, Α., Μ. Μουρελάτου, D. Thomaz, E. Δ. Βαλάκος,
P. Λεκανίδου και Γ. Κ. Ροδάκης

Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη,
157 01 Αθήνα

Με την παρούσα εργασία επιδιώκεται η διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων στο γένος *Podarcis*. Επιλέχθηκαν είδη με ευρεία εξάπλωση εντός και εκτός του ελλαδικού χώρου (*P. muralis*, *P. taurica* και *P. erhardii*) καθώς και ενδημικά είδη που συναντώνται σε ορισμένες μόνο περιοχές της Ελλάδας (*P. peloponnesiaca* και *P. milensis*). Ως ταξινομική μονάδα αναφοράς (outgroup) χρησιμοποιήθηκαν τα είδη *Algyrodes moreoticus* και *Lacerta graeca*.

Η μοριακή προσέγγιση βασίστηκε σε συγκριτική ανάλυση αλληλουχιών της μεγάλης ριβοσωμικής υπομονάδας (rRNA) του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA) και προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα: Η παραφυλετική τοπολογία των κλάδων σε άτομα του είδους *P. erhardii*, που προέρχονται από διαφορετικές περιοχές δειγματοληψίας, είναι ενδεικτική μιας έντονης διαφοροποίησης στο συγκεκριμένο είδος. Όσον αφορά το είδος *P. peloponnesiaca*, αυτό φαίνεται ότι οφείλει την εμφάνισή του σε κάποιο γεγονός ειδογένεσης, που συνέβη σε πληθυσμό του είδους *P. erhardii* πριν 4,5-5,5 Mya. Αντίθετα, η εμφάνιση του άλλου ενδημικού είδους (*P. milensis*) υπολογίζεται να είναι της τάξης των 7-8 Mya ενώ η διαφοροποίηση των πληθυσμών του συνδέεται με πολύ πιο πρόσφατα γεγονότα. Επίσης, στα 7-8 Mya χρονολογείται και η εμφάνιση του είδους *P. taurica*. Πρέπει να σημειωθεί ότι η ακριβής εξελικτική σχέση των *P. taurica*, *P. milensis* ως προς την *P. erhardii* παραμένει ασαφής με βάση το γεγονός ότι η συγκεκριμένη τοπολογία των κλάδων δεν υποστηρίζεται από υψηλές τιμές bootstrap. Η διαλεύκανση αυτής της ασάφειας θα μπορούσε να αντιμετωπιστεί με την προσθήκη περισσοτέρων δεδομένων από πληθυσμούς των ειδών *P. milensis* και *P. taurica*.

EVOLUTIONARY ANALYSIS OF LIZARD GENUS *Podarcis* (*Sauria: Lacertidae*) BASED ON SEQUENCES OF MITOCHONDRIAL DNA

Mizi, A., M. Mourelatou, D. Thomaz, E. D. Valakos,
R. Lecanidou and G. C. Rodakis

Division of Biochemistry and Molecular Biology, Department of
Biology, University of Athens, Panepistimioupolis,
157 01 Athens, Greece

This paper addresses the phylogenetic relations among the species of the lizard genus *Podarcis*. Two species' categories were chosen for this study: those that exhibit a wide range of distribution inside and outside Greece (*P. muralis*, *P. taurica* and *P. erhardii*) and endemic species that appear only in certain regions of Greece (*P. peloponnesiaca* and *P. milensis*). *Algyroides moreoticus* and *Lacerta graeca* have been used as outgroup species.

Our molecular approach was based on comparative analysis of sequences of the large ribosomal subunit gene (lrrRNA) of the mitochondrial DNA (mtDNA). The following conclusions were obtained: A high degree of genetic differentiation among individuals of *P. erhardii*, collected from different areas, is indicated by the paraphyletic topology of the branches. *P. peloponnesiaca* appears to have speciated around 4,5-5,5 Mya from within a clade of *P. erhardii*. On the other hand the speciation time of the other endemic species (*P. milensis*) is estimated to have happened 7-8 Mya, while the radiation time seems to be much more recent. The diversification of the *P. taurica* clade is also dated 7-8 Mya. The precise evolutionary relations of *P. taurica* and *P. milensis* with regard to *P. erhardii* remain obscure, as shown by the unstable topology of the branches connecting these species, in a bootstrap analysis. This uncertainty may be clarified by adding more data from populations of *P. milensis* and *P. taurica*.

ΕΠΟΧΙΑΚΗ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΑΙ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΓΟΝΟΥ ΤΟΥ ΙΧΘΥΟΣ *Liza ramada* (Mugilidae) ΣΤΗ ΝΟΤΙΟΔΥΤΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ

Μίνος, Γ., Γ. Κατσέλης, Π. Κασπίρης και Ι. Όντριας
Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

Η κατανόηση και η ύπαρξη στοιχείων που αφορούν την εποχιακή εμφάνιση του γόνου στις ακτές και μέσα στη λιμνοθάλασσα, το χρόνο παραμονής τους και την ποιοτική και ποσοτική σύνθεση των ειδών σε κάθε βιότοπο είναι πρωταρχικής σημασίας για τη διαμόρφωση ενός ορθολογιστικού και αποδοτικού προτύπου διαχείρισης των λιμνοθαλασσών. Μελετήθηκε η εποχιακή εμφάνιση, η συχνότητα κατανομής ανά μέγεθος, η αφθονία του είδους σε διάφορες περιοχές καθώς και η ποιοτική σύσταση των πληθυσμών του *Liza ramada*, μαυράκι, που εμφανίζονται τόσο στις παράκτιες περιοχές όσο και στην λιμνοθάλασσα. Σε συνολικά 66 δειγματοληψίες έγιναν από τον Ιανουάριο του 1992 μέχρι τον Ιούνιο του 1993 στη λιμνοθάλασσα της Κλείσοβας, στον Εύηνο ποταμό και στο λιμάνι της Πάτρας. Συλλέχθηκαν 6693 ιχθύδια κεφαλοειδών, από τα οποία τα 647 (10%) ήταν *L. ramada*. Η προτίμηση των ατόμων *L. ramada* για νερά με χαμηλή αλατότητα, είναι γνωστή, γι' αυτό κατά τη μετανάστευση στις ακτές το είδος αυτό κινείται γρήγορα προς τα γλυκά νερά χωρίς να περιμένει μεγάλο χρονικό διάστημα στην ακτή και στην λιμνοθάλασσα. Πέραν τούτου η παρουσία του είδους σε υπερύαλα νερά, προσδίδει στο είδος αυτό ένα ευρύ φάσμα ανοχής στην αλατότητα από γλυκά μέχρι και υπερύαλα νερά. Η παρουσία, τόσο στην ακτή όσο και μέσα στην λιμνοθάλασσα της Κλείσοβας, κυρίως των κλάσεων μήκους των νεοεισερχομένων του *L. ramada* (15-25 mm) υποδηλώνει μια διερχόμενη εμφάνιση του είδους από την συγκεκριμένη περιοχή. Σε αντίθεση η υψηλή αφθονία (47 ατομ/δειγ.) στον Εύηνο ποταμό, ατόμων μεγέθους μεγαλυτέρου από εκείνο των νεοεισερχομένων, δείχνει την τάση του είδους αυτού για είσοδο και παραμονή σε νερά χαμηλής αλατότητας. Επίσης στον ποταμό, παρατηρείται μεγάλο ποσοστό του *L. ramada* στο σύνολο του αλιευόμενου γόνου κεφαλοειδών, 25% έναντι 10% στις υπόλοιπες περιοχές.

SEASONAL APPEARANCE AND ECOLOGY OF MUGILIDAE FRY *Liza ramada* IN SOUTH- WESTERN GREECE

Minos, G., G. Katselis, P. Kaspiris and I. Ondrias
Zoological Laboratory, Department of Biology,
University of Patras, 26500, Patras, Greece

The understanding and the knowledge the seasonal appearance of fry in coasts and lagoons, the time of presence, the qualitative and quantitative composition of species in each biotope, are of major meaning for the configuration of an orthologic and thriflily type of management of lagoon. In present paper it was studied the seasonal appearance, the size frequency distribution, the abundance of *Liza ramada* in different places and also the qualitative composition of *L. ramada* populations appearing in coastal waters and in the lagoon. The samplings, 66 in total, were made in Klisova lagoon, Evinos river, and Patras port from January 1992 to June 1993. From the 6693 mugilidae individuals, the 647 (10%) were *L. ramada*. The preference of this species for low salinity water is known, so during the migration to the coast it moves fast to fresh water without staying for long period in the coast and lagoon. More than that the presence of this species in high salinity waters, gives a profile of a wide range of salinity adaptations, from low to high. The presence, in coast and into the lagoon of Klisova, especially the length range 15-25 mm, who represents the new recruits of *L. ramada*, indicates a passing appearance from the specific area. In contras, high abundance (47 individuals per sampling) in Evinos river, especially individuals longer than the new recruits (juveniles), appears a tense of *L. ramada* to enter and stay in fresh waters. Also in the river, appears high percentage of *L. ramada* in all Mugilidae fry fished, which is 25%, than 10% which is in all other areas.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΝΕΥΡΟΕΙΔΙΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ β-ΥΔΡΟΞΥΛΑΣΗ ΤΗΣ ΤΥΡΑΜΙΝΗΣ ΣΤΗ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Μοναστηριώτη, Μαρία

Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, ΙΤΕ,
Βασιλικά Βουτών, 71110 Ηράκλειο, Κρήτη

Η συμπεριφορά των πολυκύτταρων ευκαρυωτικών οργανισμών είναι αποτέλεσμα της σωστής λειτουργίας του νευρικού συστήματος η οποία επιτελείται από δίκτυα νευρικών κυττάρων και δράση πολλών χημικών μορίων. Η οκτοπαμίνη, το μονοϋδροξυλιωμένο ανάλογο της νοραδρεναλίνης, είναι σημαντικός νευρορυθμιστής, νευροδιαβιβαστής και νευρο-օρμόνη του νευρικού συστήματος των αρθροπόδων, ελέγχει δε πολλές φυσιολογικές λειτουργίες και συμπεριφορές των οργανισμών αυτών (π.χ. έλεγχος της δραστηριότητας των μυών, της ωοαπόθεσης των λειτουργιών μάθησης και μνήμης, των βιολογικών ρυθμών). Σκοπός του προγράμματος μας είναι η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών μεταβολισμού και δράσης της οκτοπαμίνης στον οργανισμό *Drosophila melanogaster*. Σαν εργαλείο χρησιμοποιούμε τη γενετική και μοριακή ανάλυση του γονιδίου ΤΒΗ που κωδικοποιεί για το ένζυμο β-υδροξυλάση της Τυραμίνης της βιοσυνθετικής οδού της Οκτοπαμίνης. Το γονίδιο είναι το ομόλογο της β-υδροξυλάσης της Ντοπαμίνης από τα θηλαστικά και εκφράζεται αποκλειστικά στο νευρικό ιστό σε μεμονωμένους πληθυσμούς νευρικών κυττάρων. Μεταλλαγές στο γονίδιο της ΤΒΗ της Δροσόφιλας έχουν σαν αποτέλεσμα την έλλειψη οκτοπαμίνης από τον νευρικό ιστό του οργανισμού και επηρεάζουν, εκτός των άλλων, την γονιμότητα των θηλυκών ατόμων. Ειδικότερα, υπομορφικές μεταλλαγές παρουσιάζουν μείωση της γονιμότητας, ενώ μηδενικές μεταλλαγές προκαλούν στειρότητα. Η στειρότητα των θηλυκών ατόμων συνίσταται στην αδυναμία τους να εναποθέσουν τα αιγάλια τους γεγονός που αναστέλλεται μόνο εάν η διατροφή τους συμπληρωθεί με εξωγενή οκτοπαμίνη στη τροφή. Στόχοι των πειραμάτων μας είναι: 1) μοριακή ανάλυση του γονιδίου ΤΒΗ και προσδιορισμός των 5' ρυθμιστικών περιοχών του 2) μοριακός χαρακτηρισμός και μελέτη συμπεριφοράς των μεταλλάξεων στο γονίδιο ΤΒΗ και 3) δημιουργία μοριακών και γενετικών εργαλείων (κατασκευή συνθετικών γονιδίων και αντίστοιχων μετασχηματισμένων σειρών-στελεχών) που θα επιτρέπουν την ελεγχόμενη έκφραση του γονιδίου στο νευρικό ιστό της Δροσόφιλας.

**MOLECULAR GENETIC ANALYSIS
OF TYRAMINE β -HYDROXYLASE GENE IN
*DROSOPHILA MELANOGASTER***

Monastirioti, Maria

**Institute of Molecular Biology and Biotechnology,
FORTH, 71110 Heraklion, Greece**

Octopamine is the structural homologue of noradrenaline and one of the major neuroactive molecules in arthropods' nervous system. It acts as neurotransmitter, neuromodulator and neurohormone controlling important physiological functions and behaviors of these organisms (e.g. muscular activity, oviposition, learning and memory, biological rhythms). We have been interested in studying the molecular mechanisms underlying the function of octopamine in *Drosophila melanogaster*. As a tool, we use the molecular genetics of the *T β h* gene which encodes Tyramine β -hydroxylase (TBH) enzyme, involved in the biosynthesis of octopamine. The gene is the homologue of Dopamine β -hydroxylase from mammalian species and its expression is restricted in specific cell populations of the central nervous system of *Drosophila*. Mutations at the *T β h* locus result in complete absence of the protein and blockage of the octopamine biosynthesis. Mutant females are sterile because even though they mate, they retain fully developed eggs, a defect which can be rescued if these females are fed on a octopamine-supplemented food (Monastirioti et al. 1996, *J. Neuroscience* 16, 3900-3911). Our current studies focus on: 1) molecular analysis of the *T β h* gene and identification of its 5' regulatory sequences 2) molecular characterization and behavioral analysis of the *T β h* mutations and 3) development of molecular genetic tools (synthetic genes and transgenic flies) which will allow manipulation of the *T β h* gene expression in specific neuronal cell populations.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΤΑΜΟΡΦΩΣΗ ΖΑΧΑΡΟΤΕΥΤΛΟΥ
(*Beta vulgaris* L.) ΜΕ ΓΟΝΙΔΙΑ ΚΑΤΑΛΑΣΗΣ (Cats)
ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΦΥΤΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ**

**Μουλαδάκης, Χ., Αθ. Γιαμουστάρης και Αθ. Τσαντάρης
Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών,
Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη**

Οι καταλάσεις μαζί με τις υπεροξειδάσεις είναι ενζυμικά συστήματα που προκαλούν απ' ευθείας αποικοδόμηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) σε H_2O και οξυγόνο. Η παραπάνω ενζυμική αντίδραση προστατεύει τους αερόβιους οργανισμούς από τα καταστροφικά αποτελέσματα των ριζών οξυγόνου, που είναι άμεσο αποτέλεσμα της αναπνοής.

Στόχος της συγκεκριμένης εργασίας είναι η δημιουργία μεταμορφωμένων φυτών τεύτλου με γονίδια που κωδικοποιούν καταλάσεις, για την δημιουργία φυτών με αντοχή σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες που προκαλούν οξειδωτικές καταπονήσεις. Οξειδωτικό stress στα φυτά μπορεί να δημιουργηθεί από ακραίες θερμοκρασίες, έλλειψη υγρασίας, έντονο φωτισμό, υψηλή συγκέντρωση O_3 και SO_2 , όπως επίσης και προσβολή από διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς.

Δημιουργήθηκε μια σειρά μεταμορφωμένων σακχαρότευτλων με το γονίδιο της καταλάσης II του αραβίσιτου (Cat II), μέσω της τεχνικής της μόλυνσης με *Agrobacterium tumefaciens*. Τα παραπάνω φυτά μετά την απαραίτητη πιστοποίηση (PCR, υβριδισμοί Southern) βρίσκονται στο στάδιο της σκληραγώγησης. Συγχρόνως μελετάται και η έκφραση της καταλάσης σε ενζυμικό επίπεδο τόσο στα γενετικά τροποποιημένα όσο και στα μη γενετικά τροποποιημένα φυτά σε διάφορα στάδια ανάπτυξης. Τα πειράματα θα ολοκληρωθούν με την μελέτη της συμπεριφοράς των παραπάνω φυτών σε διάφορες οξειδωτικές καταπονήσεις.

Παράλληλα, τέσσερα άλλα γονίδια καταλάσης, τρία από *Arabidopsis thaliana* (Cat1, Cat2 και Cat3) και ένα από τομάτα (TOMCAT1A) βρίσκονται στο στάδιο κλωνοποίησης σε κατάλληλους φορείς έκφρασης, έτσι ώστε να χρησιμοποιηθούν σε πειράματα μεταμόρφωσης.

CATALASE GENE CLONING IN SUGARBEETS (*Beta vulgaris* L.) FROM VARIOUS PLANT SOURCES

Mouladakis, C., A. Giamoustaris and A. Tsafaris

Department of Genetics and Plant Breeding,
School of Agriculture, A.U.TH., Thessaloniki, Greece

Catalases and peroxidases are enzymes that convert hydrogen peroxide to H₂O and oxygen. This enzymatic reaction protects living cells from the devastating effects of active oxygen species, a result of respiration.

The aim of this study is to develop transformed sugarbeet lines, with genes that encode catalases, in order to withstand oxidative stress resulting from adverse environmental conditions. Oxidative stress can be the result of high and low temperatures, low moisture, intense light and high concentration of O₃ and SO₂ as well as disease incidence.

A series of transformed sugar beet lines, carrying a catalase gene from maize (Cat II) were developed by *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation. The resulting plants have already been verified for the presence of transgenes and are currently being transferred from nutritive media to the greenhouse. The expression of the above mentioned gene is studied by measuring the enzyme activity in transformed plants. In the near future the transgenic plants will be studied for tolerance to oxidative stresses.

In addition, four more catalase genes, three from *Arabidopsis thaliana* (Cat1, Cat2 and Cat3) and one from tomato (TOMCAT1A) are currently being cloned in appropriate expression vectors. The resulting constructs will be used in future transformation experiments.

ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΗΚΩΝ ΚΑΙ ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΗΚΟΥΣ - ΒΑΡΟΥΣ ΕΠΤΑ ΕΙΔΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΣΤΟ ΑΙΓΑΙΟ ΠΕΛΑΓΟΣ

Μουτόπουλος, Δ. Κ. και Κ. Ι. Στεργίου
Α.Π.Θ., Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας,
Τ. Θ. 134, Θεσσαλονίκη 540 06

Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται οι σχέσεις μεταξύ του ολικού (TL), μεσουραίου (FL) και σταθερού (SL) μήκους, η σχέση ολικού μήκους (TL) - μικτού βάρους (W) και οι κατά μήκος συνθέσεις για επτά είδη ψαριών, τα οποία αλιεύθηκαν στη θαλάσσια περιοχή της Νάξου χρησιμοποιώντας δίχτυα με μέγεθος ματιού 22 mm, 24 mm, 26 mm και 28 mm (από κόμπο σε κόμπο) και παραγάδια με μέγεθος αγκιστριού 11 mm, 12 mm, 13 mm και 15 mm. Τα δείγματα συλλέχθηκαν το φθινόπωρο και το χειμώνα του 1997-1998 σε βάθη από 9 ώς 70 m. Οι δειγματοληψίες γίνονταν 3 ώρες πριν και 3 ώρες μετά την ανατολή του ηλίου. Τα είδη που μελετήθηκαν είναι : *Conger conger* (Linnaeus, 1758), *Diplodus annularis* (L., 1758), *Diplodus vulgaris* (E. Geoff. St. Hilaire, 1817), *Merluccius merluccius* (L., 1758), *Mullus surmuletus* (L., 1758), *Pagellus erythrinus* (L., 1758) και *Serranus cabrilla* (L., 1758). Ο αριθμός των ατόμων που εξετάστηκαν ανά είδος κυμάνθηκε από 29, για το *D. vulgaris* και το *M. merluccius*, ώς 170, για το *P. erythrinus*. Ο εκθέτης b της εξίσωσης ολικού μήκους - μικτού βάρους ($W = aTL^b$) κυμάνθηκε από 2.814, για το *P. erythrinus*, ώς 3.408, για το *M. merluccius* (μέσο b = 3.012, SE = 0.072). Οι σχέσεις ανάμεσα στο TL, FL και SL ήταν όλες γραμμικές (σε όλες τις περιπτώσεις $r^2 > 0.928$).

LENGTH - WEIGHT AND LENGTH RELATIONSHIPS FOR SEVEN FISH SPECIES OF THE AEGEAN SEA

Moutopoulos, D. K. and K. I. Stergiou
Aristotle University, School of Biology, Laboratory of
Ichthyology, BOX 134, Thessaloniki 540 06, Greece

In the present study we present the relationships between total (*TL*), fork (*FL*) and standard (*SL*) length, the relationship between total length (*TL*) and gross weight (*W*) and the total length frequency distribution for seven fish species, caught in the coastal waters off Naxos island. Sampling was conducted using gillnets of mesh sizes 22 mm, 24 mm, 26 mm and 28 mm (nominal bar length) and hooks of sizes of 11 mm, 12 mm, 13 mm and 15 mm. Samples were collected in autumn and winter 1997-1998 at depths ranging from 9 to 70 m. Sampling took place three hours before and three hours after the sunrise. The following species were studied: *Conger conger* (Linnaeus, 1758), *Diplodus annularis* (L., 1758), *Diplodus vulgaris* (E. Geoff. St. Hilaire, 1817), *Merluccius merluccius* (L., 1758), *Mullus surmuletus* (L., 1758), *Pagellus erythrinus* (L., 1758) and *Serranus cabrilla* (L., 1758). The number of individuals examined per species ranged from 29, for *D. vulgaris* and *M. merluccius*, to 170, for *P. erythrinus*. The value of the exponent *b* of the length-weight relationship ($W = aTL^b$) ranged from 2.814, for *P. erythrinus*, to 3.408, for *M. merluccius* (mean *b* = 3.012, SE = 0.072). The relationships between *TL*, *FL* and *SL* were all linear (for all cases $r^2 > 0.928$).

ΕΝΑ ΝΕΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΣΤΗΝ ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Μπάγκος, Παντελής και Γεώργιος Μπάγκος
Χειμάρας 14, Αγία Βαρβάρα, 12351 Αθήνα

Παρά τις θεαματικές επιτυχίες που έχουν πραγματοποιηθεί στον ερευνητικό τομέα, η βιολογία δεν μπορεί ώς σήμερα να ερμηνεύσει επαρκώς κανένα από τα φαινόμενα που μελετά¹. Το βασικό αίτιο αυτής της αδυναμίας είναι το "μοριακό δόγμα" (ή μοριακό υπόδειγμα) το οποίο χρησιμοποιείται στη δόμηση των θεωριών^{2,3}. Το μοριακό υπόδειγμα σύμφωνα με το οποίο η ανταπόκριση των ζωντανών οργανισμών είναι μια αλυσίδα διαδοχικών μοριακών ενεργοποιήσεων⁴, είναι ανεπαρκές, ακατάλληλο για ζωντανούς οργανισμούς και ασύμβατο με τη φυσική πραγματικότητα. Σ' αυτή την προσπάθεια προτείνεται ένα νέο υπόδειγμα το οποίο είναι πλήρες, κατάλληλο για τους ζωντανούς οργανισμούς και συμβατό με τα σύγχρονα δεδομένα, με το οποίο ερμηνεύονται όλα τα βιολογικά φαινόμενα. Το υπόδειγμα που προτείνεται είναι ένα κύκλωμα το οποίο απαρτίζεται από α) Την κεντρομόλο οδό ή οδό πρόσληψης του μηνύματος μέσω της οποίας μεταφέρονται τα μηνύματα που προσλαμβάνονται από το περιβάλλον, στο νοητικό όργανο ή πρόγραμμα του ζωντανού οργανισμού, αφού πάρουν την κατάλληλη μορφή μέσω ενεργειακών μετατροπών που λαμβάνουν χώρα κατά μήκος της οδού πρόσληψης. β) Το νοητικό όργανο ή πρόγραμμα στο οποίο καταλήγουν όλα τα μηνύματα και αφού αξιολογηθούν επιλέγεται η ανταπόκριση του οργανισμού στο μήνυμα. Όταν ολοκληρωθεί η επεξεργασία, εκπέμπονται εντολές οι οποίες καταλήγουν στα συστήματα ανταπόκρισης μέσω της φυγοκέντρου οδού ή οδού ανταπόκρισης. γ) Τη φυγόκεντρο οδό ή οδό ανταπόκρισης μέσω της οποίας μεταφέρονται οι εντολές του νοητικού οργάνου αφού τροποποιηθούν ενεργειακά, στα συστήματα ανταπόκρισης.

A NOVEL MODEL IN BIOLOGY

Bagos, Pantelis and Georgios Bagos

14 Chimaras Str., Agia Varvara, 12351 Athens, Greece

Despite the spectacular success within the field of research, biology fails to fully elaborate on the phenomena that are studied¹. The basic cause of this inability is the "molecular dogma" (molecular exemplar) used in the construction of theories^{2,3}. The molecular dogma according to which the response of living organisms is a chain of consecutive molecular activation⁴, is inadequate, unsuitable for living organisms and incompatible with the natural reality. In this attempt a new model is suggested, which is complete, suitable for living organisms and compatible with modern facts, through which all biological phenomena can be explained. The model suggested is a circuit made of a) The message reception channel through which messages received from the environment are being transferred to the comprehension center or program of the living organism after they acquire suitable form through the reception channel. b) The comprehension center or program where all messages end and, after they are evaluated the response of the organism to the specific stimulus is chosen. When process is completed, commands are generated and directed to the response system through the response channel. c) The response channel through which the commands of the comprehension center are being transferred after they are energetically modified at the response systems.

1. Weiss , Paul A.. " Within the gates of science and beyond" N.Y. Hafiter

2. Judson, Horace Freeland. 1979 "The eight day of creation" Simon & Schuster.

3. Engel ,George L. 1977 " The need for a new medical model: A challenge for biomedicine" Science April 8.

4. Adey, W.Ross "Electromagnetic fields and the brain microenvironment in transmembrane signaling" Encyclopaedia of Neuroscience Vol 11, BIRKHAUSER, Boston -Basel-Suttgart.

ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΕ ΑΚΟΛΟΥΘΙΕΣ ΓΕΝΩΜΑΤΙΚΟΥ DNA

Μπάρτζος, Χ., Γ. Σχίζας και Ι. Σούρδης

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας,
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855, Αθήνα

Είναι δυνατή η προσέγγιση στο πρόβλημα του εντοπισμού γονιδίων με την εφαρμογή διαφόρων θεωρητικών μοντέλων. Όμως η διερεύνηση τους, και ειδικά ο έλεγχος της αξιοπιστίας τους, εξαρτάται από τον όγκο της πληροφορίας που είναι διαθέσιμος (γνωστές νουκλεοτιδικές αλληλουχίες), τη γνώση γύρω από την πολυπλοκότητα της έκφρασης του ευκαρυωτικού γονιδιώματος και από τις κατανομές των παραμέτρων, όπως η προτίμηση στη χρήση κωδικονίων, ο αριθμός και το μέγεθος των εξονίων, οι ομόφωνες (consensus) αλληλουχίες κ.ά.

Μια εναλλακτική λύση στο πρόβλημα αυτό, είναι ο έλεγχος των χρησιμοποιούμενων μεθόδων αλλά και των θεωρητικών προσεγγίσεων στο πρόβλημα, με τεχνικές προσομοίωσης. Για διάφορους τύπους οργάνωσης γονιδιωμάτων, δημιουργούμε μεγάλες βάσεις δεδομένων τυχαίων ακολουθιών DNA, των οποίων είναι πλήρως καθορισμένη η θέση των λειτουργικών περιοχών τους. Από τις βάσεις δεδομένων αυτές υπολογίζουμε τις κατανομές των πιθανοτήτων, όπως την πιθανότητα να αρχίζει μια τυχαία ακολουθία από διάφορες περιοχές του γονιδιώματος (διαγονιδιακή περιοχή, εξόνιο, ιντρόνιο κλπ.), τις κατανομές μεγέθους των λειτουργικών στοιχείων, μήτρες πιθανοτήτων μεταβάσεως από περιοχή σε περιοχή και πιθανότητες νουκλεοτιδίων σε ομόφωνες περιοχές. Οι πληροφορίες αυτές χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό και προσδιορισμό της δομής των γονιδίων σε τυχαίες ακολουθίες DNA εφαρμόζοντας διάφορους αλγορίθμους.

1. Burset M, Guigo R (1996) *Evaluation of gene structure in human genomic DNA*. Genomics, **34**: 353-367
2. Burge C, Karlin S (1997) *Prediction of Complete Gene Structures in Human Genomic DNA*. J. Mol. Biol. **268**: 78-94
3. Fickett JW (1996) *Finding genes by computer: the state of the art*. Trends Genet. **12(8)**: 316-320

PREDICTION OF GENE STRUCTURES IN GENOMIC DNA SEQUENCES

Bartzos, C., G. Schizas and J. Sourdis

Genetics Lab, Department of Agricultural Biotechnology,
Agricultural University of Athens,
Iera Odos 75, 11855, Athens, Greece

An approach to the gene prediction problem is with the application of various theoretical models. Their evaluation and especially their fidelity investigation is dependent of the available information volume (known nucleotide sequences), the knowledge about the expression complexity of the eukaryotic genome and the parameter distribution, such as the codon usage preferences, the number and length of the exons, the consensus sequences etc. Two important limitations are that the majority of current algorithms assume that the input sequence contains exactly one complete gene (so that, when presented with a sequence containing a partial gene or multiple genes); and that accuracy measured by independent control sets may be considerably lower than was originally thought.

An alternative solution to this problem is the examination of the methods that are commonly used as well as the theoretical approaches to the problem, by simulation techniques. We create large databases of random DNA sequences for various genome structure types, that have fully defined functional element positions. From those databases we estimate the probability distribution, like the probability that the sequence initiates from various genome regions (intergenic region, exons, introns etc.), the length distributions of functional elements, transition from one functional element to another probability matrices and nucleotide probabilities in consensus sequences. This information can be used to locate and predict the gene structure in random DNA sequences, by applying a number of algorithms.

ΣΤΕΡΕΟΔΙΑΤΑΞΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΕΠΤΙΔΙΚΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΩΝ ΩΟΘΥΛΑΚΙΩΝ ΤΩΝ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΩΝ

Μπενάκη¹, Δ., Ε. Μικρός² και Σ.Ι. Χαμόδρακας¹

**¹ Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα
Βιολογίας, ² Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα
Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01**

Οι δομικές πρωτεΐνες παίζουν έναν πρωτεύοντα ρόλο στους ζωντανούς οργανισμούς. Ως πρότυπο σύστημα μελέτης της αυτοσυγκρότησής τους σε λειτουργικά συστήματα με σημαντικές μηχανικές ιδιότητες επιλέχθηκε το χόριο των ωοθυλακίων των μεταξοσκωλήκων. Λόγω της δυσκολίας χειρισμού των δομικών πρωτεϊνών του χορίου (μεγάλο ποσοστό υδρόφοβων καταλοίπων, δυσδιάλυτες), η προσέγγιση επιχειρήθηκε μέσω της μελέτης συνθετικών πεπτιδίων, αναλόγων αντιπροσωπευτικών περιοχών των πρωτεϊνών του χορίου. Τα πεπτίδια που μελετήθηκαν είναι:
Α-πεπτίδιο: GELPVAGKTAVAGRVP_{II}, B-πεπτίδιο: GNLPFLGTAGVAGEFPTA
cA-πεπτίδιο: SYGGEGIGNVAVAGELPVAGKTAVAGRVP_{II}GAVGFPGGPAGAAGAVSIAGR
Μελέτες των στερεοδιαταξικών «προτιμήσεων» και ιδιοτήτων των πεπτιδίων διεξήχθησαν με την χρήση φασματοσκοπικών μεθόδων σε στερεή μορφή, με φασματοσκοπία laser-Raman και υπερερύθρου και σε μία σειρά διαλυμάτων (οργανικοί διαλύτες, MeOD/D₂O, DMSO/H₂O και υδατικά διαλύματα), με φασματοσκοπία υπερερύθρου, κυκλικού διχροϊσμού και πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού. Ακολουθώντας μία συνδυαστική προσέγγιση, χρησιμοποιώντας τα πειραματικά δεδομένα ως περιοριστικές παραμέτρους σε θεωρητικές υπολογιστικές μεθόδους (ελαχιστοποίηση ενέργειας, μοριακή δυναμική, αναζήτηση ευνοϊκών δομών στον πολυδιάστατο στερεοδιαταξικό χώρο, προσομοίωση διαδικασίας ανόπτησης), τα δομικά συμπεράσματα της παρούσας μελέτης συνοψίζονται στα ακόλουθα: ύπαρξη εκτεταμένων περιοχών της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, με στροφές που εντοπίζονται στα φορτισμένα κατάλοιπα, καθώς και πλήρης απουσία της ελικοειδούς δομής.

CONFORMATIONAL STUDIES OF PEPTIDE-ANALOGUES OF SILKMOTH CHORION PROTEIN SEGMENTS

Benaki¹, D., E. Mikros² and S.J. Hamodrakas¹

¹ Department of Biology, Division of Cell Biology and Biophysics, ² Department of Pharmacy, Division of Pharmaceutical Chemistry, University of Athens, Athens 157 01, Greece

Silkmoth chorion is a model system to study how structural proteins fold and self-assemble to form complex, physiologically important structures. Peptides representative of certain evolutionary conservative parts of chorion proteins were synthesized in order to elucidate principles that govern folding and assembly. The sequences of the peptides studied are as follows:

A-peptide :GELPVAGKTAVAGRVPII, B-peptide :GNLPFLGTAGVAGEFPTA

cA-peptide: SYGEGIGNVAVAGELPVAGKTAVAGRVPIIGAVGFPGGPAGAAGAVSIAGR

In this report we present results from laser-Raman and infrared spectroscopic conformational studies of these peptides in the solid state and in solution from infrared, circular dichroism and nuclear magnetic resonance spectroscopy. The complexities inherent in the exploration of the structural properties of such small flexible peptides have motivated us to use many experimental methods combined with computational techniques. Using an ensemble approach (energy minimization, molecular dynamics, conformational search by applying stochastic variation of torsional angles and Cartesian coordinates, simulated annealing), where the experimental restraints are applied as averages over multiple copies of the same molecule, different families of conformations are obtained, which taken together can reproduce the experimental data. The results suggest a high degree of conformational flexibility for a large population of conformations that exhibit the characteristic extended structure combined with turn structures located in the vicinity of the polar amino acids of the sequence. The peptides in the solid-state adopt β -sheet structure and favor more β -turns instead of unordered structure.

ΥΠΟΕΙΔΗ ΤΗΣ *CAMPANULA SPATULATA* ΣΤΟΝ ΟΛΥΜΠΟ: ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΥΨΟ ΜΕΤΡΙΚΗ ΛΙΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΕΝΛΙΑΙΤΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥΣ

Μπλιώνης, Γ. και Δ. Βώκου
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.,
540 06 Θεσσαλονίκη

Το είδος *Campanula spatulata* Sibth & Sm., ενδημικό της Βαλκανικής, εκπροσωπείται στον 'Ολυμπο από δύο υποείδη με διαφορετική υψομετρική εξάπλωση το καθένα - το υποείδος *spruneriana* (400-1100m) και το υποείδος *spatulata* (1750-2500m). Για κάθε υποείδος, μελετήσαμε σε υψομετρικά διαφορετικούς πληθυσμούς και κατά τη διάρκεια δύο ετών (1993-1994) τα εδαφικά χαρακτηριστικά του ενδιαιτήματος, την πυκνότητα και διευθέτηση των ατόμων στο χώρο, την κατανομή βιομάζας στα διαφορετικά φυτικά τμήματα, τη φαινολογία άνθησης και την επικονιαστική δραστηριότητα καθώς και την παραγωγή και τα χαρακτηριστικά καρπών και σπερμάτων. Το υποείδος των μεγάλων υψομέτρων (subsp. *spatulata*), συγκρινόμενο με εκείνο των μικρών υψομέτρων (subsp. *spruneriana*) βρέθηκε πως α) είναι τρεις φορές χαμηλότερο, με μικρότερα άνθη και πολύ μικρότερη παραγωγή ανθέων, β) κατανέμει ποσοστιαία περισσότερη βιομάζα στο υπόγειο τμήμα του, γ) ανθίζει δύο με τρεις μήνες αργότερα, έχει μεγαλύτερη ανθική περίοδο και διάρκεια ζωής άνθους τετραπλάσια, δ) παράγει μικρότερους καρπούς με λιγότερα αλλά βαρύτερα σπέρματα, ε) δέχεται λιγότερες επισκέψεις επικονιαστών και για μικρότερο χρονικό διάστημα της ημέρας, στ) οι κυριότεροι επικονιαστές του είναι υμενόπτερα της οικογένειας Andrenidae και Melittidae (σε αντίθεση με το υποείδος *spruneriana*, το οποίο επισκέπτονται υμενόπτερα της οικογένειας Andrenidae και Halictidae) και ζ) τα άτομά του οργανώνονται στο χώρο σε μικρού μεγέθους συσσωματώματα. Οι περισσότερες από αυτές τις διαφορές μπορούν να αποδοθούν άμεσα ή έμμεσα στην υψομετρική διάσταση του ενδιαιτήματος του συνιστώντας προσαρμογές απέναντι στις επικρατούσες συνθήκες. Συγκρινόμενο με το σχετικά ξηρό 1993, το 1994 οδήγησε σε α) μεγαλύτερες ανθικές περιόδους, β) παραγωγή μεγαλύτερων καρπών στις περισσότερες περιπτώσεις και σχεδόν διπλάσια παραγωγή στο υποείδος *spruneriana*, γ) λιγότερα σπέρματα στο υποείδος *spruneriana* αλλά περισσότερα στο υποείδος *spatulata* και δ) μεγαλύτερη πυκνότητα και εντονότερη συσσωμάτωση. Τα δύο υποείδη διαχωρίζονται υψομετρικά (κατά 650 περίπου μέτρα) και αναπαραγωγικά αφού ανθίζουν με διαφορά δύο-τριών μηνών.

PERFORMANCE OF TWO CO-SPECIFIC TAXA WITH RESPECT TO THE ALTITUDE DIMENSION OF THEIR HABITAT; THE CASE OF *CAMPANULA SPATULATA* SUBSPECIES ON MT OLYMPOS

Blionis, G. and D. Vokou

**Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University,
Thessaloniki 540 06, Greece**

Campanula spatulata Sibth. & Sm., a balkan endemic, is one of the nine *Campanula* species that occur on Mt. Olympos. It is a perennial protandrous species with a globose or napiform tuber, one to several stems and a bluish-velvet corolla. Two subspecies occur on the mountain with distinct altitudinal ranges: subsp. *spruneriana* (400-1100m) and subsp. *spatulata* (1750-2500m). Different populations along the altitudinal gradient were studied during two consecutive years (1993-1994) with respect to habitat characteristics, population spatial patterns, energy allocation and reproductive performance related to flowering phenology, pollination, fruit and seed set. The high altitude subsp. *spatulata*, compared to the low altitude subsp. *spruneriana*, a) is two to three times lower, with smaller flowers and much lower flower production, b) allocates proportionately more energy and resources to below ground tissues, c) flowers two to three months later, has longer duration of flowering and four times longer flower life span, d) produces smaller fruits with less but heavier seeds, e) receives lower numbers of insect visits for less hours per day, f) is visited by Andrenidae and Melittidae but not by Halictidae bees, as is the case for subsp. *spruneriana*, and g) has a spatial structure characterized by small first-order clusters. Most of these differences can be associated directly or indirectly to the altitude dimension of its habitat. It could be argued, therefore, that they represent adaptations to the conditions prevailing at high altitudes. Performance of the two subspecies differed between the two years. Compared to the rather dry 1993, 1994 led to a) earlier flowering periods, b) larger fruits in most cases and almost double fruit production in the low altitude subsp. *spruneriana*, c) less seeds in the case of subsp. *spruneriana* and more seeds in subsp. *spatulata*, and d) more intensely clustered spatial structure and increase in plant density. The two subspecies are separated not only altitudinally (c. 650m) but also reproductively (two to three months difference in their flowering periods).

ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ P53 ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΤΟΥ ΕΠΙΜΥ - ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ

**Μπόζας, Ε., Α. Μπενέκου, Σ. Μπόλαρης
και Φ. Στυλιανοπούλου**

**Εργαστήριο Βιολογίας-Βιοχημείας, Τμήμα Νοσηλευτικής,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα**

Το P53 είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο που κωδικοποιεί για μία φωσφοπρωτεΐνη η οποία δρα ως παράγοντας μεταγραφής. Η πρωτεΐνη αυτή παίζει σημαντικό ρόλο, μεταξύ άλλων, και στη διαδικασία της απόπτωσης (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος). Στη μελέτη αυτή διερευνήσαμε την έκφραση του γονιδίου p53 στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο του επίμυ και την σχέση της με την ανάπτυξιακά επαγόμενη απόπτωση. Επιπροσθέτως μελετήθηκε ο πιθανός ρυθμιστικός ρόλος του p53 στη απόπτωση που προκαλείται μετά από ακτινοβολία χαμηλής ισχύος. Καθ' όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης του εγκεφάλου η πρωτεΐνη και το mRNA του p53 είναι ανιχνεύσιμα, σε ανάλυση Western και Northern, αντίστοιχα. Στην E16 ανιχνεύεται με την αντίδραση TUNEL μεγάλος αριθμός αποπτωτικών κυττάρων, που ως επί το πλείστον είναι ανοσοϊστοχημικά θετικά και για την πρωτεΐνη P53. Έκθεση σε ακτινοβολία γύρω από την E16 (E15 ή E17) έχει ως αποτέλεσμα την παροδική αύξηση της διανούκλεοσωματικής κατάτμησης του DNA (4 και 24 ώρες μετά) η οποία επανέρχεται σε φυσιολογικά επίπεδα 7 ημέρες μετά. Παράλληλα, αμέσως μετά την έκθεση (4 ώρες) σε ακτίνες x αυξάνονται τα επίπεδα της πρωτεΐνης του p53 ενώ τα επίπεδα του αντίστοιχου mRNA μειώνονται. 24 ώρες μετά την ακτινοβολία η μεν πρωτεΐνη διατηρείται αυξημένη, το δε mRNA αρχίζει να αυξάνεται, και παραμένει αυξημένο 7 και 29 μέρες μετά την έκθεση. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι το p53 πιθανόν να παίζει ρόλο στον έλεγχο της απόπτωσης που συμβαίνει κατά την ανάπτυξη. Επιπλέον εμπλέκεται και σε μηχανισμούς που οδηγούν είτε σε επιδιόρθωση του DNA είτε σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο υπό την επίδραση τοξικών παραγόντων όπως είναι η ιονίζουσα ακτινοβολία.

THE ROLE OF P53 IN APOPTOSIS DURING RAT BRAIN DEVELOPMENT - IRRADIATION EFFECTS

Bozas, E., A. Benekou, S. Bolaris and F. Stylianopoulou
Laboratory of Biology - Biochemistry, Faculty of Nursing,
University of Athens, Athens, Greece

p53 is a tumor suppressor gene coding for a phosphoprotein, which acts as a transcription factor. This protein plays an important role, among others, in the process of apoptosis (programmed cell death). In this study we investigated the expression of the p53 gene in the developing rat brain and its relation to developmentally induced apoptosis. In addition we studied the possible regulatory role of p53 in apoptosis induced by low dose irradiation. Throughout brain development both p53 protein and mRNA were detectable in Western and Northern analysis, respectively. On E16 a large number of TUNEL positive apoptotic cells were detected, the majority of which also stained for p53 immunoreactivity. Exposure to x-irradiation on E15 or E17 resulted in a transitory increase of intranucleosomal DNA fragmentation (4 and 24 hrs after irradiation), which returned to normal levels 7 days later. Furthermore, immediately after exposure (4 hrs), p53 protein levels were increased while those of the mRNA were decreased. 24 hours after irradiation, p53 protein levels remained high while those of the mRNA started to increase and remained elevated 7 and 29 days later. In conclusion, our results show that p53 plays an important role in the control of apoptosis incurring during brain development. It is furthermore involved in mechanisms which leads to DNA repair of programmed cell death, after neurotoxic insults such as ionizing irradiation.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

Μπότσαρης, Ιωάννης

**Υπεύθυνος Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης, Δ' Δ/νση Δ/θμιας
Εκ/σης Αθήνας, Ομήρου 15 - Ν. Σμύρνη, Αθήνα**

Η Περιβαλλοντική εκπαίδευση εντάχθηκε σαν στοιχείο της παιδαγωγικής διαδικασίας πριν οκτώ χρόνια (Ν. 1892/90), με καθυστέρηση είκοσι ετών από τις υπόλοιπες χώρες της Ευρώπης και των Η.Π.Α. Παρά τη σοβαρή αυτή καθυστέρηση η ενασχόληση των μαθητών είναι συνεχώς αυξανόμενη η δε παραγωγή υλικού από τους μαθητές είναι εντυπωσιακή. Είναι χαρακτηριστικό ότι αποτελεί την δεύτερη σε αριθμό εκδόσεων θεματική ενότητα των βιβλίων οικολογικού περιεχομένου (1). Η ανάλυση των 51 προγραμμάτων Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης τα οποία πραγματοποιούνται στην Δ' Δ/νση Δ/θμιας Εκ/σης Αθήνας στην οποία ανήκουν 112 σχολεία (Μοσχάτο, Καλλιθέα, Ν. Σμύρνη, Παλ. Φάληρο, Άλιμος, Αγ. Δημήτριος, Αργυρούπολη και Γλυφάδα) μας δίνει ακόλουθα αποτελέσματα : Α) Το μέρος των μαθητών οι οποίοι συμμετέχουν στα προγράμματα αυτά είναι το 12% για τα Γυμνάσια και 8% για τα Λύκεια. Η ερμηνεία αυτού είναι προφανής καθώς οι μαθητές του Λυκείου ασχολούνται με την προετοιμασία τους στην Τριτοβάθμια εκπαίδευση και ο ελεύθερος χρόνος τους συρρικνώνεται αφάνταστα με τα φροντιστήρια τα οποία κάνουν (2). Β) Υπάρχει σημαντική διαφορά στον αριθμό των προγραμμάτων Π.Ε. που πραγματοποιούνται από περιοχή σε περιοχή (ΠΕΡΙΟΧΗ 1 = Μοσχάτο, Καλλιθέα ΠΕΡΙΟΧΗ 2 = Άλιμος, Γλυφάδα, Αργυρούπολη ΠΕΡΙΟΧΗ 3 = Ν. Σμύρνη, Παλ. Φάληρο). Η διαφοροποίηση αυτή η οποία παρατηρείται οφείλεται σε λόγους κτητηριολογικούς, καθώς τα σχολεία κυρίως του Μοσχάτου και της Καλλιθέας λειτουργούν σε διπλές και τριπλές βάρδιες, σε λόγους σύνθεσης της εκπαιδευτικής ομάδας αλλά και σε κοινωνικούς παράγοντες (3). Γ) Εγινε ανάλυση του περιεχομένου των προγραμμάτων κατά πρώτον, εάν έχουν σχέση με τη βιολογία. Κατόπιν αναλύθηκαν τα θέματα με βιολογικό περιεχόμενο σε διάφορες κατηγορίες. Η ανάλυση αυτή δείχνει ότι το 70% των προγραμμάτων έχουν βιολογικό περιεχόμενο και μεγαλύτερη συμμετοχή έχουν τα θέματα γύρω από την θάλασσα και τα ρέματα. Τα συμπεράσματα αυτά εμπλουτιζόμενα και από την ανάλυση των προγραμμάτων άλλων περιοχών, θα μας δώσουν μία πληρέστερη εικόνα για την συνολική εξέλιξη της πορείας της Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης στην Ελλάδα.

ANALYSIS THE PROJECTS OF THE ENVIRONMENTAL EDUCATION

**Botsaris, Ioannis
Environmental Education, 15 Omirou Str.,
Nea Smyrni, Athens, Greece**

The environmental education only before eight years has been included in the educational program of the schools in Greece. In this sort period the interesting of the pupils are quite intensive and it is very characteristic that they produce a lot of material from this educational projects. Analyzing the 51 projects from the Environmental Education that caring out in the district of Athens that include 112 schools (Gymnasium and Lyceum) (Moschato, Kallithea, N. Smirni, Pal. Faliro, Alimos, Ag. Dimitrios, Argiroupoli, Glyphada) we have the following conclusions: A) The participation of pupils are 12% for the Gymnasium and only 8% for the Lyceum, the explanation is that in the Lyceum the more of them they have not free time. B) There is a significant difference in the number of caring out projects from district to district in same area. The differentiation that there is between the three districts in the same area has the explanation in the condition of the schools building and from others social factors. C) Analyzing the subjects from all these 51 projects. From this analysis we can observe that the 70% of these projects needed biological background. The subjects that are more attractive for the pupils are these for the sea and the rivers.

BIBLIOGRAPHIA

1. Μπότσαρης Ι. 1997. Η εξέλιξη των βιβλίων Οικολογίας. **Νέα Οικολογία**, 158: 30-32.
2. Κάτσικας Χ. & Καββαδίας Γ.Κ. 1994. Η ανισότητα στην Ελληνική Εκπαίδευση. Εκδ. Gutenberg, 170σελ. Αθήνα.
3. Παντής, Ι.Δ., Παρασκευόπουλος, Σ., Σγαρδέλης Σ., Στάμου Γ.Π. & Κορφιάτης Κ. 1996. Καταγραφή των απόψεων, της στάσης και της συμπεριφοράς των νέων σχετικά με το περιβάλλον στην ευρύτερη περιοχή των Αθηνών. Εκδ. Νέα Σύνορα - Α.Α. Λιβάνη, 222 σελ. Αθήνα.

ΟΙ ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΕΣ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΣΤΑ ΨΑΡΙΑ *LEUCISCUS CEPHALUS* KAI *BARBUS* *PELOPONNESIUS*

Μπουκουβάλα, Ε., Κ. Γκάνιας, Αθ. Μεταξάκης,

I. Κωσταρόπουλος και A. I. Παπαδόπουλος

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας,

Τμήμα Βιολογίας, Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ., 54006 Θεσσαλονίκη

Η οικογένεια των τρανσφερασών της γλουταθειόνης (GSTs) που αποτελούν ένζυμα αποτοξίνωσης της φάσης II, μελετήθηκε σε δύο είδη ψαριών του γλυκού νερού, το *Leuciscus cephalus* και *Barbus peloponnesius*. Διαπιστώθηκε η παρουσία ενζυμικής δραστικότητας GSTs στις γονάδες, ήπαρ, βράγχια και μύες του *Leuciscus*. Η σειρά με την οποία αναφέρονται οι ιστοί είναι ενδεικτική του μεγέθους της δραστικότητας που ανιχνεύτηκε σ' αυτούς, όπου οι γονάδες παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη δραστικότητα. Αναλυτική μελέτη των GSTs έγινε στο ήπαρ των δύο ψαριών. Μετρήθηκε η ειδική δραστικότητα του ενζύμου έναντι 5 υποστρωμάτων (CDNB, DNB, ethacrynic acid, bromosulfophthalein, trans-4-phenyl-3-buten-2-one) καθώς επίσης η δράση του ως υπεροξειδάση και αναγωγάση της γλουταθειόνης. Οι τρανσφεράσες της γλουταθειόνης από το ήπαρ απομονώθηκαν με χρωματογραφία συγγένειας σε στήλη GSH-epoxy activated Sepharose 6B. Το ένζυμο από το *Leuciscus* υποβλήθηκε σε ηλεκτροφόρηση SDS-PAGE και βρέθηκε ότι αποτελείται από δύο υπομονάδες. Με χρήση χρωματογραφίας εστιασμού, σε εύρος pH 8-10.5, διαπιστώθηκε η ύπαρξη δύο ισοενζυμικών μορφών με ισοηλεκτρικά σημεία 8.8 και 9.3 στο *L. cephalus*, ενώ στο *B. peloponnesius* διαπιστώθηκε η ύπαρξη μιας μόνο ισοενζυμικής μορφής με ισοηλεκτρικό σημείο 8.65.

GLUTATHIONE S-TRANSFERASES IN THE FISH *LEUCISCUS CEPHALUS AND BARBUS PELOPONNESIUS*

**Boukouvala, E., K. Ganias, A. Metaxakis, I. Kostaropoulos
and A. I. Papadopoulos**

**Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology,
School of Biology, Aristotle University,
GR-54006 Thessaloniki, Greece**

Glutathione S-transferases (GSTs), a family of phase II detoxification enzymes, were studied in two river fish, *Leuciscus cephalus* and *Barbus peloponnesius*. Enzyme activity was detected in gonads, liver, gills and muscles of *Leuciscus*. The order the tissues are mentioned is indicative of the strength of the enzymatic activity with gonads exhibiting the highest activity. Liver was used for further investigation of GSTs in both species. Specific activities of the enzymes towards 5 substrates (CDNB, DCNB, ethacrynic acid, bromosulfophthalein, trans-4-phenyl-3-butene-2-one) and their activities as glutathione reductase and peroxidase were determined. Liver GSTs were purified by means of GSH-epoxy activated Sepharose 6B affinity chromatography column. *Leuciscus* enzyme consists of two subunits, as judged by SDS-PAGE electrophoresis. By means of chromatofocusing at pH range 8-10.5, two isoenzymes with isoelectric points of 8.8 and 9.3 were identified in *Leuciscus*, whereas, only one isoenzyme was found in the case of *Barbus* with an isoelectric point of 8.65.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΤΥΠΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΤΗΝ *IN VITRO* ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΤΗΣ ΠΙΠΕΡΙΑΣ

Νιάνιου-Ομπεϊντάτ, Ε. και Αθ. Τσαντάρης
Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών,
Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

Η πιπεριά (*Capsicum annuum* L.) είναι μία από τις οικονομικά σημαντικότερες καλλιέργειες τόσο σαν λαχανοκομικό είδος όσο και για την παραγωγή χρωστικών ουσιών. Στο εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών του Α.Π.Θ. δημιουργήσαμε ένα αποτελεσματικό πρωτόκολλο για την αναγέννηση ελληνικών ποικιλιών της κόκκινης πιπεριάς τύπου «Φλωρίνης» και δύο ξενικών υβριδίων «Clause» και «Vilmorin». Τα έκφυτα που έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα ήταν κοτυληδόνες δέκα ημερών. Η δημιουργία βλαστικών οφθαλμών ήταν πιο αποτελεσματική, σχεδόν 80-90% των κοτυληδόνων, όταν η καλλιέργεια των εκφύτων έγινε σε υπόστρωμα MS εμπλουτισμένο με IAA (0,3mg/l) και BAP είτε 7,5mg/l για το υβρίδιο Vilmorin είτε 9,0mg/l για την κόκκινη πιπεριά Φλωρίνης και το υβρίδιο Clause. Η ανάπτυξη των βλαστικών οφθαλμών προωθήθηκε όταν καλλιεργήθηκαν στο ίδιο υπόστρωμα, συμπληρωμένο επιπρόσθετα με GA₃ (1,0mg/l). Οι αναπτυγμένοι βλαστοί μεταφέρθηκαν σε υπόστρωμα ριζοβολίας MS συμπληρωμένο με IAA (0,5mg/l). Τα ριζοβολημένα φυτάρια επιτυχώς σκληραγγήθηκαν σε ελεγχόμενες συνθήκες *in vivo*.

Δεδομένου ότι το συγκεκριμένο πρωτόκολλο ισχύει για τις τρεις προαναφερόμενες ποικιλίες πιπεριάς, σε συνδυασμό με προκαταρκτικά πειράματα που βρίσκονται σε εξέλιξη, μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το παραπάνω πρωτόκολλο μπορεί να υποστεί χρήσης και σε πολλές άλλες ποικιλίες πιπεριάς.

THE EFFECT OF GENOTYPE AND MEDIUM ON *IN VITRO* REGENERATION OF PEPPER

Nianiou-Obeidat, I. and Ath. Tsafaris

Department of Genetics and Plant Breeding,
School of Agriculture, A.U.TH., Thessaloniki, Greece

Pepper (*Capsicum annum* L.) is an economically important vegetable and spice crop. In our laboratory we have established a regeneration protocol for the bell type, sweet red pepper «type Florinis» and for two hybrid peppers (Clause and Vilmorin) using cotyledons as explants. Shoot bad initiation is more effective on MS media supplemented with IAA (0,3mg/l) and BAP 7,5mg/l for hybrid Vilmorin or 9,0mg/l for type Florinis and hybrid Clause. Approximately, 80-90% cotyledons are regenerated. Development of shoot buds is promoted on the above MS media with addition of GA₃ (1,0mg/l). Best root induction and formation of healthy roots is obtained with IAA (0,5mg/l). Rooted shoots are successfully established in soil under controlled conditions.

This protocol was successfully used for the three above mentioned cultivars. However, preliminary results suggest that the above protocol might prove to be genotype-independent.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *hsp70C* ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ *ACROBELOIDES* (Nematoda)

Νικολαΐδης¹, Ν., Γ. Στάμου² και Ζ.Γ. Σκούρας¹

¹Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,

²Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών

Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη

Οι νηματώδεις, ελεύθεροι ή παρασιτικοί, ζούν σε χερσαία και σε υδάτινα περιβάλλοντα. Οι ελεύθεροι νηματώδεις αποτελούν τμήμα του αποικοδομητικού μηχανισμού του εδάφους, συμβάλλοντας στην ανοργανοποίηση των συστατικών του, συμμετέχοντας ενεργά στους κύκλους των διαφόρων στοιχείων και στη ροή ενέργειας μέσα στο οικοσύστημα και επιδεικνύοντας άμεση σχέση με τη γονιμότητα των εδαφών. Ο μεγάλος αριθμός ειδών και οι ελάχιστες μορφολογικές διαφορές ακόμα και μεταξύ στενά συγγενικών ειδών δημιουργεί προβλήματα στην ταξινόμηση και στον καθορισμό των σχέσεων των νηματωδών. Η παρούσα μελέτη σκοπό έχει να συμβάλλει στην ταξινόμηση και στην περαιτέρω ανάλυση του γονιδιώματος των νηματωδών. Από άτομα του παρθενογενετικού γένους *Acrobeloides* της ελληνικής, γερμανικής και σουηδικής πανίδας απομονώθηκε ολικό DNA που χρησιμοποιήθηκε για περαιτέρω ανάλυση με τη χρησιμοποίηση της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR). Ως «ακολουθίες στόχοι» επιλέχθηκαν τμήματα DNA που περιελάμβαναν μέρος των εξωνίων καθώς και όλα τα ιντρόνια του γονιδίου *hsp70C*. Οι εκκινητές συντέθηκαν με βάση τις ήδη γνωστές ακολουθίες του γονιδίου *hsp70C* των καλά μελετημένων ειδών *Caenorhabditis elegans* και *C. briggsae* (είδη μάρτυρες στην παρούσα μελέτη). Το *hsp70C* είναι ένα από τα συστατικά αλλά και αναπτυξιακά ελεγχόμενα γονίδια της οικογένειας HSP70. Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα, τόσο από την ηλεκτροφορητική κινητικότητα των προϊόντων της PCR, όσο και από την ανάλυση της πρωτοδιάταξης των βάσεων του DNA οδηγούν στο συμπέρασμα ότι στα παρθενογενετικά *Acrobeloides* δε φαίνεται να υπάρχουν ιντρόνια στο *hsp70C*, τουλάχιστον στις αντίστοιχες περιοχές με αυτές των *C. elegans* και *C. briggsae*. Το εύρημα αυτό εγείρει ερωτήματα για τη εξέλιξη και τη χρησιμότητα των ιντρονίων σε εξαιρετικά συντηρημένα γονίδια.

THE *hsp70C* GENE OF THE *ACROBELOIDES* GENUS (Nematoda)

Nikolaidis¹, N., G. Stamou² and Z.G. Scouras¹

¹Department of Genetics, Development and Molecular Biology,

²Department of Ecology, School of Biology, Faculty of Science,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece

Nematodes are considered to be the most abundant organisms on earth, and can be found in both soil and water environments. Nematodes may be free-living or parasitic in many plants, vertebrates, and in most invertebrates. Nematodes are very important in the nutrition chain and in soil ecosystems and can be used as bioindicators in soil fertility. Because of the amount of different species and their degree of divergence, classification of nematodes is not easy and their taxonomic affinities are hard to be determined. The purpose of this study is to contribute in the taxonomy and further analysis of nematodes' genome. Total DNA was extracted from parthenogenetic *Acrobeloides* populations occupying different European territories (Greek, German, Swedish) and used for further PCR and DNA sequencing analysis. Target sequences were DNA fragments including all the three introns of the *hsp70C* gene of *Caenorhabditis elegans* and *Caenorhabditis briggsae* (well studied nematode species used as control in the present study). Our present results show that differently from the *Caenorhabditis* genus, in the parthenogenetic *Acrobeloides* genus the *hsp70C* gene lacks of introns, a result that raises questions concerning intron function and evolution.

ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΦΩΤΙΣΜΟΥ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΠΡΟΕΚΤΑΣΕΩΝ ΤΩΝ ΔΕΣΜΙΚΩΝ ΚΟΛΕΩΝ ΣΤΑ ΕΤΕΡΟΒΑΡΗ ΦΥΛΛΑ

Νικολόπουλος, Δ., Γ. Λιακόπουλος, Β. Λιάκουρα,

Ι. Δροσόπουλος και Γ. Καραμπουντηγάτης

Εργαστήριο Φυσιολογίας και Μορφολογίας Φυτών,

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Πολλά φύλλα μονοκοτύλων και δικοτύλων φυτών χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη ενός ιστού στήριξης των αγωγών δεσμίδων που είναι πρόεκταση των δεσμικών κολεών τους. Οι προεκτάσεις αυτές δημιουργούν διαφανείς περιοχές στο έλασμα το οποίο έτσι διαφοροποιείται λειτουργικά κατά θέσεις (ετεροβαρή φύλλα). Συγκριτική μελέτη σε διάφορα φυτά που διαθέτουν τέτοιου είδους φύλλα έδειξε ότι η επιφάνεια που καταλαμβάνουν οι διαφανείς αυτοί ιστοί συσχετίζεται θετικά με το πάχος του φύλλου και ότι σε ορισμένα φυτά μπορεί να φθάσει και το 50% της συνολικής φυλλικής επιφάνειας. Επιπροσθέτως, σε φύλλα που αναπτύσσονται σε συνθήκες σκιάς η επιφάνεια που καταλαμβάνουν οι προεκτάσεις των δεσμικών κολεών είναι σημαντικά μικρότερη εκείνης των φύλλων που αναπτύσσονται σε άπλετο φως. Ανάλυση των εικόνων που ελήφθησαν από ανάστροφο οπτικό μικροσκόπιο έδειξαν ότι ένα σημαντικό ποσοστό του προσπίπτοντος φωτός το οποίο διαπερνά τους διαφανείς αυτούς ιστούς μεταφέρεται μέσω ανακλάσεων ή σκεδασμών προς τα γειτονικά φωτοσυνθετικά κύτταρα. Η λειτουργία αυτή φαίνεται ότι συνεισφέρει στην αποδοτικότερη φωτοσυνθετική δραστηριότητα των ετεροβαρών φύλλων, μέσω της βελτίωσης του φωτεινού μικροπεριβάλλοντος των φωτοσυνθετικών κυττάρων που βρίσκονται στο εσωτερικό του μεσοφύλλου.

LIGHT GUIDING FUNCTION OF THE BUNDLE SHEATH EXTENSIONS IN HETEROBARIC LEAVES. AN IMAGE ANALYSIS STUDY

**Nikolopoulos, D., G. Liakopoulos, V. Liakoura,
I. Drossopoulos and G. Karabourniotis**
Laboratory of Plant Physiology,
Agricultural University of Athens, Athens, Greece

Bundle sheath extensions of the heterobaric leaves of many monocotyledons, as well as dicotyledons, create transparent regions on the laminae. Comparative studies between heterobaric leaves of a number of different plant species showed that the area of the lamina occupied by these structures is positively correlated to the particular leaf thickness and may reach the 50% of the total leaf area. The bundle sheath extensions of shade leaves occupied significantly lower leaf area than these of sun leaves. Image analysis showed that these tissues are able to transfer light by multiple reflections and/or scattering into the internal layers of the photosynthetic mesophyll cells. The improvement of the light microenvironment within mesophyll may affect the photosynthetic performance of such leaves, giving the suitable adaptive characteristics to tolerate water stress.

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΓΝΩΣΕΩΝ, ΑΠΟΨΕΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΣΕΩΝ ΤΩΝ ΜΑΘΗΤΩΝ ΤΗΣ Α' ΛΥΚΕΙΟΥ ΣΕ ΘΕΜΑΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Ντούβλη¹, Π., Μ. Πυροβέτση¹ και Σ. Παρασκευόπουλος²

**¹Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ²Παιδαγωγικό Τμήμα
Δημοτικής Εκπαίδευσης, Α.Π.Θ., 540 06 Θεσσαλονίκη**

Η έρευνα αυτή αναφέρεται στην μελέτη των περιβαλλοντικών γνώσεων, απόψεων και στάσεων, των μαθητών της Α' Λυκείου στη Θεσ/νίκη. Η έρευνα περιέλαβε 244 μαθητές από 9 σχολεία της πόλης και 2 σχολεία αγροτικών περιοχών, για σύγκριση. Ως ανεξάρτητες μεταβλητές χρησιμοποιήθηκαν το φύλο, η περιοχή του σχολείου, η μόρφωση των γονιών. Βρήκαμε ότι αν και οι μαθητές συγκέντρωσαν μάλλον χαμηλή βαθμολογία στις γνωστικές ερωτήσεις, η βαθμολογία τους ήταν υψηλή όσον αφορά την περιβαλλοντική στάση. Η κεντρική Θεσ/νίκη συγκέντρωσε υψηλότερη βαθμολογία στην περιβαλλοντική γνώση και διέφερε σημαντικά από τη δυτική Θεσ/νίκη και την αγροτική περιοχή. Στην περιβαλλοντική στάση δε φάνηκαν διαφορές μεταξύ των περιοχών. Τα κορίτσια εμφάνισαν θετικότερη στάση προς το περιβάλλον σε σχέση με τα αγόρια. Το μορφωτικό επίπεδο της μητέρας φαίνεται να παίζει ρόλο στη περιβαλλοντική γνώση των μαθητών.

RECORDING OF KNOWLEDGE, VIEWS AND ATTITUDE OF THE A' GRADE OF LYCEUM STUDENTS, ON ENVIRONMENTAL ISSUES

Douvli¹, P., M. Pyrovetsi¹ and S. Paraskevopoulos²

¹Department of Ecology, School of Biology, ²School of Education, Department of Primary Education, A.U.Th., 540 06, Thessaloniki, Greece

This survey reports on the study of the environmental knowledge, views and attitudes, of 10-th grade students in Thessaloniki. The survey included 244 students from 9 schools of the urban area and 2 schools from rural areas. The sex, the region of school and parents' education were used as independent variables. We found that, although students scored rather low on knowledge questions, they displayed higher scores on environmental attitude. Central Thessaloniki scored higher on environmental knowledge questions and differed significantly from Western Thessaloniki and rural region. No differences were displayed regarding environmental attitude between the different regions. Girls displayed more positive environmental attitude than boys. Mother's education level affects students' environmental knowledge level.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *URTICA DIOICA*

Ντουρούπη, Τ. και Λ.Χ. Μαργαρίτης
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής,
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Πανεπιστημόπολη, Αθήνα 15701

Οι υπεροξειδάσες είναι ένζυμα που περιέχουν αίμη ως προσθετική ομάδα και ανάγονται το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) χρησιμοποιώντας διάφορα υποστρώματα. Είναι ευρύτατα διαδεδομένες στη φύση και έχουν σημαντικές μεταβολικές λειτουργίες.

Στα φυτά οι υπεροξειδάσες παίζουν ρόλο στο σχηματισμό του κυτταρικού τοιχώματος (παραγωγή λιγνίνης, σουβερίνης και σχηματισμό δεσμών ανάμεσα στα πολυμερή), στην άμυνα του φυτού ενάντια σε παθογόνα, στη βιοσύνθεση αιθυλενίου, στη ρύθμιση της ανάπτυξης του φυτού, στον καταβολισμό φαινολικών ενώσεων και H_2O_2 , καθώς και στην αναπνοή και στη φωτοσύνθεση.

Η υπεροξειδάση του φυτού *Urtica dioica* (κ. τσουκνίδα) ανιχνεύθηκε σε πήκτωμα SDS-πολυακρυλαμίδης με χρήση υποστρώματος υπεροξειδασών (o-dianisidine), ως μια ζώνη μοριακού βάρους ~50kD. Στην προσπάθεια καθαρισμού του ενζύμου από εκχύλισμα *Urtica dioica* γίνεται διαφορική κατακρήμνιση με θεικό αμμώνιο, κατιοντο-ανταλλακτική και ανιοντο-ανταλλακτική χρωματογραφία, χρωματογραφία υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων (σε στήλη Phenyl- Sepharose) καθώς και χρωματογραφία συγγενείας (σε στήλη Con-A-Sepharose).

Ανάλυση σε πήκτωμα ισοηλεκτρικής εστίασης και χρώση με o-dianisidine εμφανίζεται ζώνη με όξινο ισοηλεκτρικό σημείο. Στο φωτονικό μικροσκόπιο καθώς και στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης εντοπίζεται υπεροξειδική ενεργότητα σε τομές φύλλων και βλαστών *Urtica dioica* με τη χρήση του υπεροξειδικού υποστρώματος 3,3'-διαμινοβενζιδίνη (DAB), κυρίως στα κύτταρα του αγωγού ιστού και της επιδερμίδας, στο επίπεδο του τονοπλάστη και στα διαστήματα μεταξύ των κυτταρικών τοιχωμάτων.

STUDIES OF THE PEROXIDASE OF THE PLANT *URTICA DIOICA*

Douroupi, T. and L.H. Margaritis
Division of Cell Biology and Biophysics,
Department of Biology, University of Athens,
Panepistimiopolis, Kouponia, 15701 Athens, Greece

Peroxidases are a group of heme containing enzymes which catalyze the reduction of hydrogen peroxide in the presence of a substrate that can donate hydrogen ions. Peroxidases have a wide tissue distribution and are present in most living organisms. In plants, peroxidases are involved in a number of physiological functions. Some of these are cell wall biosynthesis (lignification, suberization, forming di-tyrosine bridges in extensin), auxin and phenolics catabolism, ethylene biosynthesis, plant defense, growth regulation, hydrogen peroxide detoxification, respiration and photosynthesis.

The *Urtica dioica* (stinging nettle) peroxidase was localized on SDS-polyacrylamide gels with the peroxidase substrate o-dianisidine as a band of MW 50kD. Ammonium sulfate fractionation, cation- and anion-exchange chromatographies, hydrophobic interactions chromatography (Phenyl-Sepharose) and affinity chromatography (Con-A-Sepharose) were used in the attempt to purify the enzyme.

Isoelectric focusing electrophoresis and o-dianisidine staining revealed a band with acidic isoelectric point. Peroxidase activity was localized at the light microscope and transmission electron microscope (TEM) level in *Urtica dioica* (stinging nettle) leaves and stems with the use of Diaminobenzidine (DAB), which undergoes oxidative polymerization to produce an insoluble brown reaction product at sites of enzyme activity. Peroxidase is mainly localized in epidermal and vascular cells, at the tonoplast level and in the space between cell walls.

**ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ
ΒΙΟΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΩΡΙΜΩΝ ΩΟΘΥΛΑΚΙΩΝ ΚΑΙ
ΓΕΝΝΗΜΕΝΩΝ ΑΥΓΩΝ ΤΟΥ ΙΧΘΥΟΣ *Dicentrarchus
labrax***

Οικονομίδου¹, Β., Β. Γαλανόπουλος² και Σ.Ι. Χαμόδρακας¹

**¹Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσκής,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01, ²Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο**

Χρησιμοποιούμε το πρωτεϊνικής φύσεως χόριο (κέλυφος) των ωοθυλακίων των ιχθύων ως πρότυπο σύστημα αναδίπλωσης και οργάνωσης δομικών πρωτεϊνών για τη δημιουργία δομών φυσιολογικής σημασίας. Σ' αυτήν την εργασία παρουσιάζονται προκαταρκτικά αποτελέσματα βιοχημικών μελετών και μορφολογίας χορίων από ώριμα ωοθυλάκια και γεννημένα αυγά του ιχθύος *Dicentrarchus labrax*. Το χόριο γεννημένων αυγών του ιχθύος *Dicentrarchus labrax* παρουσίασε μορφολογικές διαφορές μετά την «εκχύλισή» του σε υδατικό διάλυμα 8M ουρίας σε σχέση με το άθικτο απομονωμένο κέλυφος. Συγκεκριμένα, μελέτες με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης έδειξαν ότι τόσο τα άθικτα όσο και τα «εκχυλισμένα» χόρια αποτελούνται από 12 περίπου ομοιόμορφα ελάσματα, με συνολικό πάχος ~5μμ. Η εξωτερική τους επιφάνεια είναι διάτρητη από κανάλια-πόρους (~0.4 μμ σε διάμετρο) και φέρει τη μικροπύλη (~25 μμ σε διάμετρο). Τα κελύφη από οποία προηγήθηκε εκχύλιση με 8M ουρία παρουσίασαν καθαρότερη εικόνα τόσο στην εξωτερική επιφάνεια, η οποία εμφανίστηκε απαλλαγμένη από ένα επικαλυπτήριο επενδυτικό στρώμα πάχους ~0.5μμ, όσο και στα ενδιάμεσα λεπτά ελάσματα, τα οποία φάνηκαν λιγότερο συμπαγή απ' ότι ήταν τα αντίστοιχά τους στα άθικτα κελύφη. Η ίδια πληροφορία επιβεβαιώθηκε και με μελέτες της βιοχημικής σύστασης των παραπάνω κελυφών οι οποίες αποκάλυψαν μια πρωτεϊνική ζώνη σε SDS-PAGE ηλεκτροφόρηση του εκχυλίσματος των μερικώς διαλυτοποιημένων κελυφών γεννημένων αυγών με μοριακό βάρος 89 kDa. Σε αντίθεση με τα κελύφη των γεννημένων αυγών τα κελύφη των ώριμων ωοθυλακίων έδωσαν διαφορετικό ηλεκτροφορητικό πρότυπο όταν παρέμειναν σε διάλυμα 8M ουρίας. Σ' αυτά η διαλυτοποίηση ήταν πλήρης και οι πρωτεΐνες που αναγνωρίστηκαν με SDS-PAGE ηλεκτροφόρηση ήταν πρωτεΐνες MB 180, 135, 102, 89, 86, 49, 45 και 42 kDa. Οι πλέον άφθονες φαίνεται ότι είναι οι πρωτεΐνες με MB 89, 86, 49 και 45 kDa.

PRELIMINARY COMPARATIVE BIOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL STUDIES OF CHORIONS FROM MATURE FOLLICLES AND LAID EGGS OF THE FISH

Dicentrarchus labrax

Iconomidou¹, B.A., V.K. Galanopoulos² and S.J. Hamodrakas¹

¹Department of Biology, Division of Cell Biology and Biophysics,
University of Athens, Athens 157 01, Greece, ²Department of
Biology, University of Crete, Heraklion, Greece

We are using the proteinaceous eggshell (chorion) of fish eggs as a model system to study how structural proteins fold and assemble to form physiologically important structures. In this report, we present preliminary results obtained from biochemical and morphological studies of chorions from mature and laid eggs of the fish *Dicentrarchus labrax*. Scanning electron microscopy studies reveal subtle differences between intact chorions and chorions treated with 8 M urea from laid eggs: Both chorions consist of ca. 12 lamellae with a total thickness of ca. 5 μm . Their outer surface is perforated by a large number of pore-canals (ca. 0.4 μm in diameter), arranged in a rather regular fashion. The micropyle (ca. 2.5 μm in diameter) is seen, situated in the animal pole of the egg. However, treatment with 8M urea removes an outer, ca. 0.5 μm , thick layer, covering chorion outer surface and reveals an intriguing network of intertwined lamellae in the inner surface of chorion. SDS-PAGE patterns show a protein with m.w of ca. 89 kDa to exist in the 8M urea extracts, which apparently is dominant in the relevant regions of intact chorions. Chorions from mature follicles were fully solubilized in a 8 M urea extraction. SDS-PAGE patterns obtained from these extracts, reveal that *D. labrax* chorion consists of proteins with apparent mol. weights of ca. 180, 135, 89, 86, 49, 45 and 42 kDa. The most abundant are the proteins with m.w of 89, 86, 49 and 45 kDa.

ΤΑ ΠΑΛΑΙΟΛΙΘΙΚΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΤΗΣ ΝΗΣΟΥ ΚΡΗΤΗΣ

Παναγιωτοπούλου, Ε. Γ., Φ. Π. Ρωμηού και Σ. Κ. Μανώλης
Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84 Αθήνα

Αν και η παλαιονθρωπολογική έρευνα έχει αναπτυχθεί τις τελευταίες δεκαετίες, τα πλειστοκαίνικά ανθρώπινα υπολείμματα είναι σποραδικά. στην Ελλάδα. Έχουν βρεθεί μερικά δείγματα αβέβαιης χρονολόγησης. Ένα από αυτά είναι ο ανατομικά σύγχρονος άνθρωπος της Κρήτης. Το συγκεκριμένο δείγμα έχει παρουσιασθεί από τους Facchini & Gousperti (1989, 1992) και χρονολογείται στα 51.000 ± 12.000 χρόνια. Οι ίδιοι συγγραφείς προσπάθησαν να διαλευκάνουν τον τρόπο με τον οποίο ανατομικά σύγχρονοι άνθρωποι μετακινήθηκαν στην Κρήτη καθώς και να συνδέσουν το συγκεκριμένο δείγμα με το πρόβλημα της καταγωγής του σύγχρονου ανθρώπου. Εάν αυτό το δείγμα είναι τόσο αρχαίο, τότε η Afro-European υπόθεση (Brauer, 1984) έχει ένα επιπλέον στήριγμα. Αυτό συμβαίνει επειδή υπάρχει ένα κενό μεταξύ της Qafzeh/Skhul και των πληθυσμών της πρώιμης Ανώτερης Παλαιολιθικής Περιόδου της Ευρώπης και το συγκεκριμένο δείγμα συμπληρώνει το κενό. Είναι πιθανόν ότι αυτό μπορεί να ισχύει, όμως υπάρχουν σημεία που δεν λήφθηκαν υπόψη. Αυτά είναι: (1) Η χρονολόγηση δειγμάτων συνδετικού υλικού και όχι δειγμάτων οστού. (2) Τα μορφολογικά γνωρίσματα καθώς και η ανάταξη του κρανίου θυμίζει έντονα πρόσφατη κρανιοπροσωπική μορφολογία. Είναι δύσκολο να αποδεχθεθούμε τέτοια μορφολογική περιγραφή ως αρχαία, εφόσον τα δείγματα που χρονολογούνται στην πρώιμη Ανώτερη Παλαιολιθική έχουν ρωμαλέα κρανιοπροσωπική μορφολογία. (3) Οι αρχαιολόγοι συμφωνούν ότι η εποίκηση της νήσου έγινε πολύ πρόσφατα - πιθανόν στη Μεσολιθική Εποχή. (4) Οι Δερμιτζάκης και συν. (1997) αναφέρονται στις πιθανότητες της εποίκησης των νησιών της Μεσογείου και ισχυρίζονται ότι κάτι τέτοιο θα ήταν δύσκολο στην περίπτωση της Κρήτης. (5) Ένα άλλο πρόβλημα είναι η δημιουργία ψαμμιτικών μαζών. Οι Μαρίνος και Συμεωνίδης (1979), δίνουν πληροφορίες σχετικές με τη διαμόρφωση των beach-rocks στο Αιγαίο και την παρουσία νεολιθικών ταφών. Συνεπώς η μελέτη των Facchini & Giusperti δεν είναι πειστική όσον αφορά στην αρχαιότητα αυτού του δείγματος, καθώς δεν συνυπολογίζει αυτά τα 5 βασικά θέματα που αναφέρθηκαν παραπάνω.

PLEISTOCENE HOMO FOSSIL FROM CRETE ISLAND (GREECE)

Panagiotopoulou, E.G., F.P. Romiou and S.K. Manolis

**Division of Animal & Human Physiology, Department of
Biology, Athens University, Panepistimiopolis, 157 84 Athens,
Greece**

The Pleistocene human remains in the Hellenic peninsula are sparse. Although the paleoanthropological research has grown the last decades, the results are not satisfying. Pleistocene has demonstrated several uncertain specimens. One of these is the Crete *Homo s. sapiens* remains. This specimen has been published by Facchini & Giusberti (1989, 1992), and dated on $51,000 \pm 12,000$ years B.P. They also tried to enlighten how anatomically modern humans migrated to this island, and to connect this specimen to the problem of the modern human origins. It must be noted that if this specimen is so ancient then the Afro-European hypothesis has another support, because there is a gap between the Qafzeh/Skhul group and the early UPL populations in Europe and this specimen somewhat fills it. There are no doubts about the possibility that their hypothesis to be correct, but there are several critical problems which the authors did not faced. These are the following : (1) It is very difficult to accept such a date, by using samples of the connecting material for dating purposes and not a bone-sample itself. (2) The described morphological traits and the reconstruction of the skull remind us a recent craniofacial morphology. It is difficult to accept such morphological description and view as ancient while the early Upper Paleolithic specimens have a very robust crano-facial organization. This specimen has not the early UPL morphology, even for a female which is gracile. (3) The archaeological research has given poor results about the Paleolithic Man in Crete. The archaeologists who are working the last decades on Crete are agreed upon the basis that the human presence in the island is very recent (probably in Mesolithic, ca 10,000 B.P.). (4) Dermitzakis et al. (1997), are referred to the possibilities for colonization of the Mediterranean islands and claimed that it was very difficult for Crete. (5) Another problem is the formation of the littoral benches. Marinos & Symeonides (1979) give an outline for the «beach-rocks» formation in the Aegean. They stated that in most of the coastline of Aegean have noted slow upward and downward movements of the sea-shore, from the Neolithic until recently. Thus, the study of Facchini & Giusberti is not convincing for the antiquity of this specimen, because they did not taken in account these 5 main issues cited above.

**Ο ΛΕΙΧΗΝΑΣ *PSEUDEVERNIA FURFURACEA* ΩΣ
ΒΙΟΜΕΤΡΗΤΗΣ ΑΣΤΙΚΗΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΣΕ ΔΡΟΜΟΥΣ
ΤΗΣ ΑΘΗΝΑΣ, ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ
«ΜΕΤΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ»**

Παναγιωτοπούλου, Σ., Α.Ν. Ρίγα –Καρανδεινού
και Κ. Σαϊτάνης

Εργαστήριο Οικολογίας και Προστασίας Περιβάλλοντος
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Ιερά Οδός 75, Αθήνα 118 55

Η μετεγκατάσταση (transplanting) των επίφυτων επίφλοιων λειχήνων, από καθαρές (μη ρυπανόμενες) περιοχές σε δρόμους πόλεων, είναι μια από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται στις μελέτες της ατμοσφαιρικής ρύπανσης με την χρήση βιοδεικτών- βιομετρητών. Στην παρούσα εργασία αποικίες του επίφλοιου λειχήνα *Pseudevernia furfuracea*, επάνω σε κλαδίσκους έλατου (*Abies cephalonica*), μετεγκαταστάθηκαν από το όρος Πάρνηθα σε δέντρα έξι οδικών αρτηριών της Αθήνας. Οι λειχήνες αυτοί παρέμειναν από 1η Μαΐου έως 1η Οκτωβρίου 1993 με στόχο να αξιολογηθεί το είδος αυτό ως βιομετρητής των μετάλλων Ca, Cd, Cu, Fe, Pb και Zn, μερικά των οποίων είναι αστικοί ρύποι.

Διαπιστώθηκε ότι: Παρά την σχετικά μικρή διάρκεια παραμονής των μετεγκατεστημένων λειχήνων και παρά το γεγονός ότι οι σταθμοί μετεγκατάστασης επελέγησαν στα ευνοϊκότερα χωροτακτικά (από πλευράς αραίωσης των εκπεμπόμενων ρύπων) σημεία των δρόμων της Αθήνας οι συγκεντρώσεις των μετρηθέντων στοιχείων ήσαν αρκετά υψηλές (μ.ο. Cd: 4,94ppm, Cu: 12,32ppm, Zn:75,96ppm, Pb: 36,47ppm).

Επίσης η παρούσα μελέτη επιβεβαιώνει ότι η συγκέντρωση των ρύπων μειώνεται με την απομάκρυνση από τον άξονα του δρόμου, έστω και μερικές δεκάδες μέτρα.

Ο βιομετρητής μας κατέγραψε την ιδιαιτερότητα του σταθμού στη λεωφόρο Υμηττού λόγω γειτνίασης με βαφεία και συνεργεία αυτοκινήτων (υψηλές τιμές Cd, Zn και Cu). Ο χρησιμοποιηθείς λειχήνας *Pseudevernia furfuracea* εμφανίζεται αξιόπιστος βιομετρητής αστικών ρύπων, ιδιαίτερα για τα στοιχεία Cd και Cu.

THE LICHEN *PSEUDEVERNIA FURFURACEA* AS BIOMONITOR OF URBAN POLLUTION IN ROADWAYS OF ATHENS USING THE METHOD OF TRANSPLANTING

Panagiotopoulou, S., A.N. Riga-Karandinos and K. Saitanis

Laboratory of Ecology and Environmental Sciences

Agricultural University of Athens

Iera odos 75, Athens 11855, Greece

The «transplanting» of epiphytic- corticolous lichens from non-polluted areas to the roadways of cities is one of the methods used in studies of air pollution utilizing bioindicators-biomonitor. In the present study the corticolous lichen *Pseudevernia furfuracea*, on twigs of *Abies cephalonica*, was transplanted from the mountain Parnis to trees in six streets of Athens and for the period between May 1st to October 1st, 1993. The purpose of the study was to assess this species as a biomonitor of the metals Ca, Cd, Cu, Fe, Pb and Zn, some of which are urban pollutants.

Although the transplanted lichens were exposed for rather short period of time and the sampling sites were favourable in terms of pollutant's dilution, the mean concentrations of the metals were high: Cd- 4,94; Cu- 12,32; Zn- 75,96 and Pb- 36,47 ppm. d.w. Moreover, the present study confirmed that the concentration of pollutants decreases with the distance from the street.

The biomonitor differentiated (high values of Cd, Zn, and Cu) the station in the Hymittos street, where several car dyeworks and vehicles' workshops are located. The species *P. furfuracea* seems to be a reliable biomonitor of urban pollutants, particularly of Cd and Cu.

IN VITRO ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΜΕ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Παναγοπούλου, Ε., Μ. Κουλούκουσα, Χ. Κίττας και Ε. Μαρίνος
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστήριο Ιστολογίας
και Εμβρυολογίας, Αθήνα

Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται ο εντοπισμός των κυτταροσκελετικών στοιχείων F-ακτίνης και βινκουλίνης σε μονοστιβάδες κυττάρων Sertoli, με ειδικά τροποποιημένες τεχνικές φθορισμού. Τα κύτταρα καλλιεργούνται σε ειδικές γυάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες (glass chamber - slides), οι οποίες δεν παρουσιάζουν αυτοφθορισμό και είναι χωρισμένες σε 2 ή/και 8 τμήματα. Στο τέλος της καλλιέργειας τα κύτταρα μονιμοποιούνται με παραφορμαλδεϋδη 4% και γίνονται διαπερατά με εμβάπτιση σε Triton 0,5% για 3 λεπτά. Ο εντοπισμός της F - ακτίνης γίνεται με ροδαμίνη-φαλλοϊδίνη (3μg/ml) στους 37°C σε ειδικό ρυθμιστικό διάλυμα κυτταροσκελετού. Ο εντοπισμός της βινκουλίνης γίνεται με διαδοχική επώαση σε μονοκλωνικό αντίσωμα βινκουλίνης (1/50) για 1 ώρα στους 37°C και σε δεύτερο αντίσωμα goat anti-mouse IgG (1/50) συνδεδεμένο με ροδαμίνη για 1 ώρα στους 37°C. Για την αντιμετώπιση της εξασθένησης του φθορισμού κατά την διάρκεια της παρατήρησης χρησιμοποιείται το ειδικό υγρό κάλυψης aqua-poly mount. Χρησιμοποιούνται τα ειδικά φίλτρα ροδαμίνης 546/580-590nm και αντικειμενικός φακός 63X. Η φωτογράφηση γίνεται σε ασπρόμαυρο φιλμ Kodak T-MAX 400ASA. Τα μικροϊνίδια της ακτίνης και η βινκουλίνη φαίνεται ότι διατηρούνται σε άριστη κατάσταση. Και στις δύο περιπτώσεις ο φθορισμός είναι έντονος και ειδικά εντοπισμένος. Τα μικροϊνίδια της ακτίνης σχηματίζουν επιμήκεις δεσμίδες ενώ η βινκουλίνη εντοπίζεται στις θέσεις πρόσδεσης του κυττάρου με το υπόστρωμα. Τα αποτελέσματα δείχγουν ότι η παραπάνω μεθοδολογία μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την ανίχνευση της ακτίνης και βινκουλίνης σε μονοστιβάδες κυττάρων Sertoli.

IN VITRO LOCALIZATION OF CYTOSKELETAL ELEMENTS USING FLUORESCENCE MICROSCOPY

**Panagopoulou, E., M. Kouloukoussa, Chr. Kittas
and E. Marinos**

**University of Athens, Medical School, Department of Histology
and Embryology, Athens, Greece**

The purpose of the present study is the localization of F-actin and vinculin in Sertoli cell monolayers, using modified fluorescence techniques. The cells are cultured on non-autofluorescent glass chamber - slides, divided in 2 and/or 8 compartments. At the end of the culture, the cells are fixed in a 4% solution of paraformaldehyde and are permeabilized for 3 min in 0.5% Triton. To visualize actin filaments, TRITC-conjugated phalloidin is used, in a working solution of 3mg/ml in a cytoskeleton stabilizing buffer, in 37°C. Vinculin is stained using a monoclonal anti-vinculin antibody diluted 1/50 for 1h in 37°C, and a secondary goat anti-mouse IgG antibody conjugated to rhodamine diluted 1/50 for 1h in 37°C. To prevent fluorescence fading during observation, slides are covered with aqua-poly mount. Observation is made using the rhodamine filters 546/580-590nm and a 63x objective lens. Images are recorded on a Kodak T-MAX 400ASA film. The actin microfilaments and vinculin appear to be very well preserved and in both cases fluorescence is intense and specifically localized. F-actin forms lengthy bundles of filaments whereas vinculin is found to be localized in focal contacts. The results show that the above method can successfully be used for the localization of F-actin and vinculin in Sertoli cell monolayers.

ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΟΞΕΙΑΣ ΦΑΣΗΣ ΣΤΗ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΚΑΙ ΕΡΥΘΩΜΑΤΩΔΗ ΛΥΚΟ

Πανταζίδης*, Γ., Μ. Γιάγκου#, Λ. Χατζηπέτρου#,

Σ. Ασλανίδης*, Ε. Καραμπέρη* και Ζ. Πολυμενίδης*

***Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, Α.Π.Θ., *Τμήμα Ανοσολογίας,**

Ιπποκράτειο Γ.Π.Ν., Θεσσαλονίκη

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (RA) και ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (SLE) ανήκουν στα αυτοάνοσα νοσήματα και χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα αυτοαντισωμάτων ή και αυτοδραστικών Τ-λεμφοκυτταρικών κλώνων. Στους ανώτερους οργανισμούς κάτω από συνθήκες stress όπως λοιμώξεις, καταστροφή ιστών, θερμικό πλήγμα αλλά και σε μη ειδικές φλεγμονές τα επίπεδα των πρωτεΐνων οξείας φάσης που παράγονται κυρίως από ηπατοκύτταρα παρουσιάζονται αυξημένα στον ορό. Πρόσφατα δεδομένα μας έδειξαν ότι το γονίδιο της al όξινης γλυκοπρωτεΐνης (AGP) ενεργοποιείται και σε μονοκύτταρα αρουραίων. Προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της AGP και al- αντιτρυψίνης (AT) τόσο στον ορό όσο και σε κύτταρα του αίματος σε ασθενείς με RA και SLE σε διάφορα χρονικά διαστήματα κάτω από θεραπευτική αγωγή ή όχι. Πιστοποίηση της R.A. έγινε σύμφωνα με τα κριτήρια της ARA 1988. Τα αποτελέσματα μας με ανάλυση κατά Western και με ανοσοκυτταροχημεία δείχνουν αύξηση των επιπέδων της AGP τόσο στον ορό όσο και στα κύτταρα των ασθενών σε σχέση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες. Υψηλότερα επίπεδα ανιχνεύθηκαν στους ασθενείς που βρίσκονται σε καταστάση έξαρσης της ασθένειας. Τα παραπάνω ενισχύουν την άποψη ότι η AGP πιθανά να συμμετέχει στο μηχανισμό επαγωγής RA. Τα επίπεδα της al αντιτρυψίνης ενώ στον ορό δεν δείχνουν να διαφέρουν ούτε στους φυσιολογικούς ούτε στους ασθενείς που βρίσκονται σε κατάσταση έξαρσης εντούτοις παρουσιάζονται να είναι αυξημένα ενδοκυτταρικά στους ασθενείς που βρίσκονται σε κατάσταση έξαρσης. Το γεγονός αυτό δείχνει διαφορική ρύθμιση του γονιδίου της AT στα μονοκύτταρα των RA και SLE ασθενών από τον αντίστοιχο μηχανισμό ρύθμισης της AT στο ήπαρ των ασθενών όπως επίσης και στα μονοκύτταρα των φυσιολογικών μαρτύρων.

ACUTE PHASE PROTEINS IN RHEUMATOID ARTHRITIS AND SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS PATIENTS

**Pantazidis*, G., M. Yiangou[#], L. Hadjipetrou[#], S. Aslanidis*,
E. Karamperi* and Z. Polymenidis***

**#Division of Genetics, Development and Molecular Biology,
Biology Department, Aristotle University, *Immunology
Department, Hippocrates Hospital, Thessaloniki, Greece**

Rheumatoid arthritis (R.A.) and Systemic Lupus Erythematosus (S.L.E.) are autoimmune diseases characterized from particularly high levels autoantibodies or autoreactive T-cell clones. Liver in response to several stress stimuli such as inflammation, tissue destruction, heat shock produce and then secretes in the serum several proteins called acute phase proteins. Recently we have shown that the α 1-acid glycoprotein(AGP) gene is activated in monocytes. The levels of AGP and α 1-antitrypsin (AT) were determined in serum and blood leucocytes isolated from RA and SLE patients at different times and under medicine-treatment or not. R.A. was determined according to A.R.A's 1998 rules. Western blot analysis and immunocytochemistry revealed increased AGP levels in serum and increased number of AGP positive cells in RA and SLE patients. Higher levels were determined in active phase of RA or SLE patients. These results support the point that AGP probably participates in mechanism of R.A induction. The levels of α 1- antitrypsin were similar in patient or normal group. However, increased number of AT positive cells was observed in either RA or SLE patients at the active stage of disease.. The above may indicate differential regulation of AT gene in patients monocytes than in patients liver or monocytes of normal group.

**ΠΡΟΤΥΠΑ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ
ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ
ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΚΑΙ
ΛΕΥΧΑΙΜΙΕΣ**

Παπαγγελή¹, Πιπίνα Χ., Παναγιώτα Θ. Ματσουκά²,
Αλέξανδρος Χ. Κορτσάρης³, Ιωάννης Κοραντζής³
και Γιώργος Ι. Δημητριάδης¹

¹Εργ. Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Τομέας
Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα
Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 261 10 Πάτρα,

²Παθολογική Κλινική, Τμήμα Αιματολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26110 Πάτρα,

³"Θεαγένειο" Ιατρικό Ινστιτούτο, Αλ. Συμεωνίδη 2,
54007 Θεσσαλονίκη

Η μεθυλίωση του DNA φαίνεται, ότι κατέχει ένα σημαντικό ρόλο στον κυτταρικό κύκλο, επηρεάζοντας και ελέγχοντας διάφορες κυτταρικές λειτουργίες όπως η αντιγραφή, η μεταγραφή και η διαφοροποίηση. Αυτή η τροποποίηση του DNA επηρεάζει και τη νεοπλασματική μεταμόρφωση των κυττάρων. Οι αλλαγές στην κατάσταση της μεθυλίωσης (υπο- ή υπερ-μεθυλίωση) ορισμένων σημαντικών γονιδίων, όπως c-myc, c-fos και p53, που, φυσιολογικά, λειτουργούν ως παράγοντες μεταγραφής εμπλέκονται στην καρκινογένεση. Στα πειράματά μας εξετάσαμε τα πρότυπα της μεθυλίωσης των συγκεκριμένων γονιδίων, σε ασθενείς με λευχαιμία (οξεία μη λεμφογενής λευχαιμία, οξεία λεμφογενής λευχαιμία) και μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα. Αντά τα πρότυπα μεθυλίωσης συνεκρίθησαν με φυσιολογικά δείγματα. Η μεθυλίωση του DNA εξετάσθηκε με πέψεις των δειγμάτων με ένζυμα περιορισμού εναίσθητα στη μεθυλίωση (Msp I, Hpa II, Sma I, Xba I, Sal I και Ava I) και με υβριδοποίησή τους με ραδιενεργούς ανιχνευτές των γονιδίων c-myc, c-fos και p53. Τα πειράματα δείχνουν διαφορές στα πρότυπα μεθυλίωσης των γονιδίων αυτών μεταξύ λευχαιμικών και φυσιολογικών δειγμάτων και της ενδιάμεσης κατάστασης της λευχαιμικής μεταμόρφωσης στα δείγματα μυελοδυσπλαστικών. Τα αποτελέσματα αυτά υπαγίνονται μια σχέση μεταξύ της αλλαγής της μεθυλίωσης του DNA με την εμφάνιση και την εξέλιξη της λευχαιμίας. Οι αλλαγές στη μεθυλίωση αυτών των γονιδίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν, πιθανόν, ως δείκτες στη διάγνωση των λευχαιμιών.

DNA METHYLATION PATTERNS OF TRANSCRIPTION FACTORS GENES IN HUMAN MYELODYSPLASTIC SYNDROMES AND LEUKEMIAS

**Papageli¹, Pipina C., Panayota T. Matsouka², Alexandros
C. Kortsaris³, Ioannis Korantzis³
and George J. Dimitriadis¹**

**¹Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology,
Division of Genetics, Cellular Biology, and Development
Dept. of Biology, University of Patras, 26110 Patras,
Greece; ²Dept. of Internal Medicine, Haematology
Division, Scholl of Medicine, University of Patras, 26110
Patras, Greece; ³"Theagenio" Medical Institute, 2 Al.
Simeonidis Str., 54007 Thessaloniki, Greece**

Methylation of DNA seems to play a key role in cell cycle, affecting and controlling several critical cellular functions like growth, transcription and differentiation. This modification affects malignant transformation of the cells; alterations of methylation state (hypo- and hyper-methylation) of important genes like c-myc, c-fos and p53 are involved in carcinogenesis. We studied DNA methylation patterns of these specific genes in leukemic samples (acute non lymphoid leukemia, acute lymphoid leukemia, myelodysplastic syndromes, Hodgkin lymphomas etc.) and in normal controls. DNA methylation patterns were visualised by digesting DNA samples with methylation sensitive restriction enzymes (Msp I, Hpa II, Sma I, Xma I, Sal I and Av α I) and then hybridizing them with radiolabeled probes of c-myc, c-fos and p53 genes.

The experiments showed differences in methylation patterns of these genes between leukemic and normal samples; c-fos and c-myc genes in leukemic samples indicated a hypomethylation compared with their normal counterparts, while p53 gene in leukemic samples seems to be hypermethylated. These results support an implication of DNA methylation changes in leukemic transformation. DNA methylation patterns of these genes suggest an aberrant transcription activity which is related to transition from the normal to leukemic state and as a method could support the leukemic transformation of myelodysplastic syndromes to overt leukemia.

ΑΝΤΙΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΣΤΙΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ *CROCUS SATIVUS*

Παπαγεωργίου¹, Α., Δ. Μουρελάτος², Ε. Μιόγλου²,
Ζ. Ιακωβίδου², Μ. Λιακοπούλου³ και Α. Κώτσης²

¹Εργαστήριο Πειραματικής Χημειοθεραπείας, Θεαγένειο
Αντικαρκινικό Ινστιτούτο, Θεσσαλονίκη, ²Εργαστήριο Γενικής
Βιολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Α.Π.Θ., ³Εργαστήριο Οργανικής
Χημείας, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

Από την αρχαιότητα τα άνθη του φυτού *Crocus sativus* ήταν γνωστά για τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες. Πρόσφατα έχει αναφερθεί ότι εκχύλισμα των στιγμάτων του υπέρου των ανθέων του φυτού που περιέχουν κροκίνη, σαφρανάλη και πικροκροκίνη αναστέλλουν την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων ανθρώπου *in vitro*.

Αναφέρεται ότι από το αρχικό μεθανολικό εκχύλισμα των στιγμάτων διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης (silica gel) και απομονώθηκαν τέσσερα κλάσματα. Για την εκτίμηση της πιθανής αντινεοπλασματικής δράσης του δραστικού κλάσματος Β χρησιμοποιήθηκαν BDF₁ υβρίδια μιών στα οποία μεταμοσχεύθηκε ο λευκοκυτταρικός όγκος P₃₈₈. Το κλάσμα Β χορηγήθηκε σε τρία διαφορετικά θεραπευτικά σχήματα και προσδιορίστηκε ο σγκοστατικός δείκτης T/C % που εκφράζει την αύξηση της επιβίωσης των λευχαιμικών μυών μετά τη χορήγηση του εκχυλίσματος σε σχέση με τους μάρτυρες (T/C % = 140 και 149, αρκετά σημαντική αύξηση). Στην παρούσα μελέτη η δραστική ουσία ή ουσίες του κλάσματος Β μεμονωμένα ή συνεργικά φαίνεται ότι έχουν κύριο στόχο τους την πρόκληση βλαβών στο DNA. Η στατιστικά σημαντική δοσοεξαρτώμενη υπερδιπλάσια αύξηση των χρωματιδιακών ανταλλαγών (SCEs) αντανακλά στην ανεπιδιόρθωτη βλάβη του DNA φυσιολογικών λεμφοκυττάρων ανθρώπου (*in vitro*) και η στατιστικά σημαντική μείωση του δείκτη ρυθμού πολλαπλασιασμού (PRI) των κυττάρων στην κυτταροστατικότητα. Επιβάλλεται η διερεύνηση της βιολογικής δράσης του κλάσματος (ή δυνατόν και απομονωμένων δραστικών ουσιών) και σε άλλα βιολογικά συστήματα.

ANTINEOPLASTIC CYTOGENETIC AND CYTOSTATIC ACTIVITY OF FRACTION FROM *CROCUS SATIVUS* FLOWERS EXTRACT

**Papageorgiou¹, A., D. Mourelatos², E. Mioglou², Z. Iakovidou²,
M. Liakopoulou³ and A. Kotsis²**

**¹Laboratory of Experimental Chemotherapy, Theagenion
Anticancer Institute, Thessaloniki, ²Laboratory of General
Biology, Medical Dept, Aristotle University, Thessaloniki,**

**³Laboratory of Organic Chemistry, Department of
Chem.Engineer, Aristotle University, Thessaloniki, Greece**

From the ancient times the flowers of *Crocus sativus* were already used for therapeutic purposes. The inhibitory activity of safran extracts from the crocus flowers which contained crocini, safranal and picrocrocin in cancer cultured cells have been recently established.

In the present study four fractions were chromatographically separated and isolated from the original methanolic extract of safran. For antineoplastic activity studies of B fraction BDF₁ mice inoculated with P₃₈₈ leukemic cells were employed. Three therapeutic schedules were used. The T/C % values were established statistically significant. T/C % values of 140% and 149% were observed. Substances of B fraction acting alone or synergistically have as their main target damage upon DNA. We found upon cultured normal human lymphocytes statistically significant, more than doubling effect, dose dependent enhancement in SCE (Sister Chromatid Exchange) levels and in PRI (Proliferation Rate Index) depression. SCEs reflect unrepaired DNA damage, while PRI depression indicates cytostatic effect. These results are encouraging in investigating the action of this extract in other biological test system.

ΟΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΙΑΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΛΥΜΑΤΟΣ ΕΡΓΟΣΤΑΣΙΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙ- ΣΜΟΥ ΣΤΟΥΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ, ΤΟ ΒΑΡΟΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΕΠΙΜΥΩΝ, ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΑ ΕΜΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΜΕΤΑΛΛΑ

Παπαγιάννης¹, Ι., Ε. Κάγκαλου², Γ. Τσιμαράκης²
και Β. Καλφακάκου¹

¹Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής
Παν/μίου Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110, ²Τμήμα Περιβάλλοντος
ΔΕΥΑΙ, Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων Ιωαννίνων

Η μελέτη αυτή έχει σκοπό την διερεύνηση της επίδρασης των μετάλλων (Zn,Cu,Pb,Cd), στους αιματολογικούς δείκτες και το βάρος επίμυων (Wistar rats) που εξετέθησαν επί 24 μήνες σε συστηματική λήψη επεξεργασμένου λύματος. Οι επίμυες (100 άρρενες) χωρίστηκαν σε 5 ομάδες από τις οποίες στις 2 ομάδες χορηγήθηκε λύμα αραιώμενο με πόσιμο νερό σε αναλογίες 1:5(A) και 1:10(B) αντίστοιχα και pH 7.5, ενώ στις άλλες 2 χορηγήθηκε λύμα χωρίς αραίωση με pH 7.5(G) και 6.5(D), αντίστοιχα. Τέλος στην ομάδα ελέγχου χορηγήθηκε πόσιμο νερό με pH 7.5(E).

Παρατηρήθηκε μια συνεχής πτώση, στις ομάδες Γ και Δ, του αριθμού των λεμφοκυττάρων των αιμοπεταλίων και των ουδετεροφύλων μετά τους 12 μήνες. Παρά το ότι το λύμα δεν παρουσίαζε αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων τα επίπεδά τους στο πλάσμα εμφανίστηκαν αυξημένα, το βάρος των ζώων μειωμένο και η θνησιμότητα μεγαλύτερη, ιδίως μετά τον 16^ο μήνα, στις ίδιες ομάδες.

Συμπερασματικά, είναι πιθανό η δράση των υπολοίπων συστατικών του λύματος να συνεργεί σε δυσλειτουργίες που προκαλούν τις αναφερθείσες επιπτώσεις στα πειραματόζωα, ενώ η αραίωση του λύματος πιθανώς δε και η οξίνιση του τις βελτιώνει σημαντικά.

THE EFFECTS OF LONG TIME ADMINISTRATION TO RATS OF BIOLOGICAL TREATMENT PLANT EFFLUENT ON BLOOD INDICES, BODY WEIGHT AND SURVIVAL TIME, IN RELATION TO METALS

**Papagiannis¹, I., E. Kagalou², G. Tsimarakis²
and V. Kalfakakou¹**

**¹ Experimental Physiology Laboratory, Faculty of Medicine,
University of Ioannina, Ioannina 45110, Greece**

**² Department of Environment D.E.A.Y.I. Biological Treatment
Plant of Ioannina, Ioannina 45500, Greece**

The aim of this study is to investigate the effects of metals(Zn,Cu,Pb and Cd) on blood indices and body weight of Wistar rats exposed for 24 months to the biological treatment plant effluent, oral intake. The animals(100 males) were divided in 5 groups. Two groups were administered the effluent diluted with tap water at the proportion of 1:5(A) and 1:10(B) respectively, at pH 7.5. The other 2 groups were administered undiluted effluent at pH 7.5(C) and 6.5(D) respectively. Control group received tap water at pH 7.5(E).

A constant decrease of lymphocytes, platelets and neutrophils was observed in groups C and D after the 12th month of exposure. Despite low levels of metals, in the effluent, their plasma levels have been increased at groups C and D while body weight decreased significantly during the last 8 experimental months. Groups C and D revealed, also, the highest mortality during this period, but less significant in D group.

Conclusively blood indices changes in groups C and D are related to plasma metal increase as well as to loss of weight and increased mortality. Nevertheless since metal concs in the plant effluent are normal it is possible that other constituents producing more general metabolic disorders may act synergistically to metal effects, while dilution and possibly acidification of the effluents may ameliorate them.

**ΒΙΟΣΥΣΩΡΕΥΣΗ ΤΩΝ Cd, Cu, Zn, Pb ΣΤΟΝ
ΝΕΦΡΙΚΟ ΚΑΙ ΗΠΑΤΙΚΟ ΙΣΤΟ ΕΠΙΜΥΩΝ
ΕΚΤΕΘΕΝΤΩΝ ΣΕ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΑ ΛΥΜΑΤΑ
ΑΣΤΙΚΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ**

Παπαγιάννης¹, Ι., Β. Μάιπα² και Β. Καλφακάκου¹

**Εργαστήρια ¹Πειραματικής Φυσιολογίας, και ²Υγιεινής
Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα 45110**

Στην παρούσα εργασία διενρευνάται η επίδραση των μετάλλων (Cd,Cu,Pb,Zn) που περιέχονται στην εκροή της μονάδας δευτεροβάθμιας βιολογικής επεξεργασίας αστικών λυμάτων, στον ρυθμό βιοσυστάρευσης των μετάλλων στο νεφρικό και ηπατικό παρέγχυμα, στην λειτουργία των δύο οργάνων καθώς και στον χρόνο επιβίωσης των πειραματοζώων. Η εκροή χορηγήθηκε ώς πόσιμο νερό επί 2 έτη σε 4 ομάδες επιμύων, ενώ η ομάδα ελέγχου ελάμβανε πόσιμο νερό του δικτύου υδροδότησης της πόλης. Σε δύο ομάδες επιμύων χορηγήθηκε λύμα αραιωμένο με νερό πόσιμο του δικτύου, σε αναλογίες 1:5 και 1:10 αντίστοιχα και pH 7,5, στις άλλες 2 ομάδες χορηγήθηκε αυτούσιο λύμα σε pH 7,5 και 6,5 αντίστοιχα.

Από τα αποτελέσματά μας φαίνεται ότι τα μέταλλα Cd,Cu,Pb,και Zn παρουσιάζουν συγκεντρώσεις στο λύμα παρόμοιες αυτών του πόσιμου νερού της πόλης. Εν τούτοις παρατηρήθηκε αυξημένος ρυθμός βιοσυστάρευσης του Cd και Pb στο νεφρικό παρέγχυμα κατά το διάστημα χορήγησης λύματος μεταξύ 12-18 μηνών, ενώ την περίοδο 18-24 μηνών ο ρυθμός τους μειώθηκε και αυξήθηκε του Cu και Zn. Κατά την περίοδο αυτή παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη θνησιμότητα στα πειραματόζωα της ομάδας που λάμβανε αυτούσιο λύμα με pH 7.5. Στο ηπατικό παρέγχυμα ο ρυθμός συσσώρευσης των Cu,Cd και Pb, αυξήθηκε μεταξύ 12-18 μ. στις ομάδες που ελάμβαναν αραιωμένο λύμα 1:5 ή 1:10. Οι μεταβολές κρεατινίνης και τρανσαμινασών δεν ήταν σημαντικές κατά την διάρκεια του πειράματος.

Συμπερασματικά είναι δυνατόν να θεωρήσουμε ότι τα μέταλλα δεν σχετίζονται άμεσα με νεφρική ή ηπατική δυσλειτουργία ή με μείωση του χρόνου επιβίωσης των ζώων, αλλά έμμεσα και σε συνδυασμό με άλλα συστατικά του λύματος είναι δυνατό να επηρεάσουν αρνητικά την υγεία οργανισμών που επί μακρόν εκτίθενται σε αυτό.

BIOACCUMULATION OF Cd, Cu, Zn, Pb IN RENAL AND LIVER TISSUE OF RATS EXPOSED TO TREATED DOMESTIC EFFLUENTS

Papagiannis¹, I., V. Maipa² and V. Kalfakakou¹

**¹ Experimental Physiology and ² Hygiene Laboratories,
Faculty of Medicine, University of Ioannina,
Ioannina 45110, Greece**

The effects of Cd,Cu,Pb and Zn as constituents of domestic discharges treatment plant effluent, on the accumulation rate in the renal and hepatic tissue of rats as well as on the functional parameters of the two organs and the survival time of the animals are investigated in the present study. The effluent of the biological treatment plant was administered as drinking water to 4 groups of Wistar rats, while the control group was administered tap water. Two groups of rats were administered the effluent diluted with tap water at the proportion of 1:5 and 1:10 respectively, at pH 7.5 and the other two the raw effluent at pH 7.5 and 6.5 respectively. The follow up of the animals lasted two years(1995-1997).Our results show that metals in the final effluent were close to city's drinking water levels. However the rate of Cd and Pb accumulation in the renal tissue for the period between 12 and 18 months was increased, while for Cu and Zn for the same period was decreased. During this period also the maximum mortality between animals receiving raw effluent at pH 7.5 was observed. The next period between 18-24 m. accumulation rate for Cd and Pb was decreased but for Cu and Zn was increased. The accumulation rate in the liver tissue was increased between 12-18 m for Cu, Cd and Pb in groups drinking dilute effluent, 1:5 or 1:10. Creatinin and hepatic transa-minases changes were not significant during the experiment.

In conclusion we may assume that metals are not directly related to renal and hepatic dysfunction or to decreased survival time but indirectly and in combination to other constituents of the raw effluent may affect negatively the health, of long exposed to, animals.

**ΕΠΙΠΕΔΑ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΚΑΙ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ
ΤΩΝ ΛΙΠΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΧΑΛΚΟΥ ΣΤΟ
ΒΑΤΡΑΧΟ *Rana ridibunda***

**Παπαδημητρίου, Ευαγγελία και Νικόλαος Σ. Λουμπουρδής
Εργαστήριο Ιστολογίας, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Σ.Θ.Ε., Α.Π.Θ., 54006 Θεσσαλονίκη**

Η μελέτη της τοξικότητας των βαρέων μετάλλων αποτελεί ένα ευρύ πεδίο έρευνας. Μέσα στα πλαίσια αυτής της έρευνας έμφαση δίνεται το τελευταίο διάστημα στην μελέτη των αντιοξειδωτικών αμυντικών συστημάτων που υπάρχουν σε όλους τους αερόβιους οργανισμούς. Ο ρόλος τους είναι να απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου (ROS) προστατεύοντας από καταστάσεις stress. Ένα τέτοιο σύστημα αποτελεί η υπεροξείδωση των λιπών, ενώ και η γλουταθειόνη (GSH) φαίνεται πως παίζει κρίσιμο ρόλο σε καταστάσεις αυξημένης πρόσληψης από το κύτταρο βαρέων μετάλλων μεταξύ των οποίων και ο Cu.

Στην παρούσα εργασία η τοξικότητα του Cu εκτιμήθηκε με τον υπολογισμό των επιπέδων της ηπατικής GSH όσο και των επιπέδων της μαλοδιαλδεΰδης (MDA) η οποία αποτελεί έκφραση της υπεροξείδωσης των λιπών. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις ομάδες ζώων στις οποίες χορηγήθηκαν συγκεντρώσεις μετάλλου 10, 50 και 100 ppm αντίστοιχα για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (30 ημέρες). Ήδιες μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν και σε μια ομάδα ζώων που είχαν τοποθετηθεί σε καθαρό νερό και αποτελούσαν την ομάδα των μαρτύρων. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μαρτύρων και των ομάδων των 50 και 100 ppm ($p<0.01$) τόσο για τα επίπεδα της MDA όσο και της GSH. Φαίνεται λοιπόν πως η αυξημένη συγκέντρωση του μετάλλου προκαλεί την ενεργοποίηση των αντιοξειδωτικών συστημάτων του οργανισμού.

LEVELS OF GLUTATHIONE AND LIPID PEROXIDASE AFTER EXPOSURE TO COPPER IN FROG *Rana ridibunda*

Papadimitriou, Evangelia and Nikolaos S. Loumpourdis
Laboratory of Zoology, Department of Biology, School of
Science, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

The study of toxicity of heavy metals in organisms has increasing attention during recent years. One of the interesting fields in this study is antioxidant defenses present in all aerobic organisms. Their function is to remove oxygen reactive species (ROS), thus protecting organisms from stress situations. One of these defenses is lipid peroxidation. On the other hand, glutathione (GSH) seems to play a critical role in states of high accumulation of heavy metals such as Cu.

In this study Cu toxicity was estimated by measuring the levels of hepatic GSH and malonaldehyde (MDA). The last is the expression of lipid peroxidation. We used three groups of animals exposed for 30 days at concentrations of 10, 50 and 100 ppm respectively. The same measurements have been made in a group of animals kept in clean water serving as the control group.

The levels of GSH and MDA increased in the exposed groups of 50 and 100 ppm, compared to the group of controls. The increase was statistically significant ($p<0.01$) for both GSH and MDA. These results implied the induction of the antioxidant systems due to high concentration of the metal.

**ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ ΚΑΙ ΕΠΠΕΔΑ
ΜΕΤΑΛΛΟΘΕΙΟΝΕΙΝΩΝ ΣΤΟ ΒΑΤΡΑΧΟ *Rana*
*ridibunda***

**Παπαδημητρίου, Ευαγγελία και Νικόλαος Σ. Λουμπουρδής
Εργαστήριο Ιστολογίας, Τομέας Ζωολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο,
54006 Θεσσαλονίκη**

Όταν η συγκέντρωση ορισμένων μετάλλων όπως του χαλκού (Cu) ξεπεράσουν κάποιο όριο, πρέπει να απομακρύνονται από τον οργανισμό γιατί αποβαίνουν πολύ τοξικά. Οι χαμηλού μοριακού βάρους πρωτεΐνες πλούσιες σε κυστεΐνη, μεταλλοθειονείνες (Mt), φαίνεται πως αποτελούν σημαντικό παράγοντα ρύθμισης της συγκέντρωσης των βαρέων μετάλλων στους περισσότερους οργανισμούς. Η μελέτη του τρόπου δράσης του Cu στο βάτραχο *Rana ridibunda* πραγματοποιήθηκε με τη χορήγηση τριών συγκεντρώσεων του μετάλλου (10, 50 και 100 ppm) για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (30 ημέρες). Υπολογίστηκε η συσσώρευση του Cu σε τέσσερις διαφορετικούς ιστούς: ήπαρ, νεφρό, δέρμα και παχύ έντερο καθώς και η συγκέντρωση των επιπέδων των Mts στο ήπαρ. Ίδιες μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν και σε ζώα που είχαν τοποθετηθεί σε καθαρό νερό και αποτελούσαν την ομάδα των μαρτύρων. Συσσώρευση του Cu παρατηρήθηκε κυρίως στο ήπαρ (στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μαρτύρων και των ομάδων των 50 και 100 ppm), στο δέρμα (στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μαρτύρων και των τριών ομάδων 10, 50 και 100 ppm) καθώς και στο παχύ έντερο (στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μαρτύρων και των ομάδων των 50 και 100 ppm). Προεισαγωγικές μελέτες έδειξαν πως ο Cu δεν συσσωρεύεται στα άλλα μέρη του πεπτικού συστήματος παρά μόνο στο παχύ έντερο. Στο νεφρό παρατηρήθηκε συσσώρευση μόνο στην ομάδα των 100 ppm. Τα επίπεδα των Mts δεν έδειξαν την αναμενόμενη αύξηση λόγω της βιοσυσώρευσης του μετάλλου, ενώ στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ της ομάδας των 10 και 100 ppm. Πιστεύεται πως κύρια οδός αποτοξίνωσης δεν είναι οι Mts αλλά πως ο Cu συνδέεται με μόρια όπως η κερουπλασμίνη και οδηγείται από το ήπαρ στη χολή και από εκεί στο παχύ έντερο γιαντό άλλωστε και τα αυξημένα ποσοστά του μετάλλου στο συγκεκριμένο τμήμα του πεπτικού συστήματος.

A STUDY OF COPPER ACCUMULATION AND HEPATIC METALLOTHIONEIN LEVELS IN THE FROG *Rana ridibunda*

Papadimitriou, Evangelia and Nikolaos S. Loumpourdis
Laboratory of Zoology, Department of Biology School of
Sciences, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

When the concentration of some metals such as copper (Cu), exerts the normal levels, homeostatic control is needed to maintain it in non-toxic levels. Low molecular weight, cystein-rich, metal binding proteins, metallothioneins (Mts), seemed to be an important factor for the regulation of the heavy metals present in most of the organisms.

In our study we examined the accumulation of Cu in four different tissues (liver, Kidney, skin and large intestine) and also we measured the hepatic Mts. Frogs were exposed to three different concentrations of the metal, 10, 50 and 100 ppm for a period of 30 days. The same measurements have been made in a group of animals kept in clean water serving as the control group. Cu concentration increased in liver (statistically significant difference between the controls and the exposure groups of 50 and 100 ppm), in skin (statistically significant difference between the controls and each exposure group) and also in large intestine (statistically significant difference between the controls and the groups of 50 and 100 ppm). Previous studies have shown that Cu is only accumulating in this part of the digestive system. In Kidney we noticed an increase in Cu only in the group of 100 ppm. The levels of hepatic Mts were not those that we expected due to the metal accumulation. The only difference we had was that between the group of 10 and 100 ppm. We believe that Cu is linked to other molecules such as cerouplasmin and then leaded from liver to bile and then to large intestine; this explains the increasing levels of the metal in this organ.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ α_1 - ΚΑΙ α_2 - ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΩΝ
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΩΝ ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΩΝ
ΕΜΠΥΡΗΝΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΙΟΥ
RANA BALCANICA ΣΕ ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ
ΚΑΙ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΥΠΟΞΙΑΣ**

**Παπαευθυμίου, Ιωάννης και Μάρθα Καλογιάννη
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54006 Θεσσαλονίκη**

Μελέτες έδειξαν ότι η επινεφρίνη (αδρεναλίνη) δεσμεύεται στους β-αδρενεργικούς υποδοχείς και προκαλεί συσσώρευση του cAMP στα ερυθροκύτταρα του αμφιβίου *Rana balcanica*. Το cAMP, δρα ως δεύτερος μηνύτορας στο κύτταρο προκαλώντας ενεργοποίηση της γλυκόλυσης και μείωση των επιπέδων του ATP τόσο σε κανονικές συνθήκες όσο και σε συνθήκες υποξίας. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η επίδραση της πραζοσίνης και της γιοχιμπίνης, ενώσεις που ανταγωνίζονται την επινεφρίνη στη δέσμευσή της στους α_1 - και α_2 -υποδοχείς αντίστοιχα, στη γλυκόλυση των ερυθροκυττάρων του *Rana balcanica*. Η επώαση των κυττάρων παρουσία μόνο επινεφρίνης προκαλεί διέγερση της γλυκόλυσης που γίνεται αντιληπτή από τη μείωση στην παραγωγή του ATP και την ελάττωση των επιπέδων της γλυκόζης. Η σύγχρονη παρουσία της πραζοσίνης οδηγεί στην αναστολή της μείωσης των επιπέδων ATP και γλυκόζης, η οποία είναι περισσότερο έντονη στις συνθήκες υποξίας. Από την άλλη, επώαση των ερυθροκυττάρων με επινεφρίνη και γιοχιμπίνη συγχρόνως προκαλεί περαιτέρω μείωση τόσο των επιπέδων ATP όσο και των επιπέδων της γλυκόζης. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι στις κανονικές συνθήκες, τα επίπεδα τόσο της γλυκόζης όσο και του ATP είναι υψηλότερα από τα αντίστοιχα επίπεδα στις συνθήκες υποξίας. Τα αποτελέσματα αυτά παρέχουν ενδείξεις για την ύπαρξη α_1 - και α_2 - αδρενεργικών υποδοχέων στα ερυθροκύτταρα του είδους.

THE EFFECT OF α_1 - AND α_2 - ADRENERGIC ANTAGONISTS ON THE METABOLISM OF NUCLEATED *RANA BALCANICA* ERYTHROCYTES UNDER NORMOXIC AND HYPOXIC CONDITIONS

Papaefthimiou, Ioannis and Martha Kaloyianni
Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology,
School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University,
54006 Thessaloniki, Greece

Studies have shown that epinephrine (adrenaline) binds to the β -adrenergic receptors and induces an accumulation of cAMP of *Rana balcanica* erythrocytes. cAMP acts as a second messenger in the cell inducing activation of glycolysis and ATP consumption under normoxia as well as hypoxia. In the present study, the effect of prazosin and yohimbine, which antagonize epinephrine binding to α_1 - and α_2 - receptors respectively, on glycolysis was studied. Incubation of *Rana balcanica* red cells with epinephrine alone caused a stimulation of glycolysis which was observed as a decrease in ATP levels and glucose concentration. The presence of prazosin and epinephrine together in the incubation medium caused an inhibition of ATP consumption and an inhibition of glycolysis' activation, both under normoxic and hypoxic conditions. On the other hand, incubation of erythrocytes with yohimbine and epinephrine induces further decrease of ATP levels as well as glucose concentration. Finally, ATP and glucose levels were significantly higher in normoxia than hypoxia. These results provide indications for the existence of α_1 - as well as α_2 - adrenoreceptors in *Rana balcanica* erythrocytes.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ ΑΔΕΝΥΛΙΚΗΣ
ΚΥΚΛΑΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης ΣΤΟ
ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ ΤΩΝ ΕΜΠΥΡΗΝΩΝ
ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΙΟΥ *RANA
BALCANICA* ΣΕ ΚΑΝΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΚΑΙ ΣΕ
ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΥΠΟΞΙΑΣ**

Παπαευθυμίου, Ιωάννης και Μάρθα Καλογιάννη
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54006 Θεσσαλονίκη

Λίγα είναι γνωστά για το ρόλο της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης στο μεταβολισμό των ερυθροκυττάρων αμφιβίων. Είναι γνωστό ότι το σύστημα της αδενυλικής κυκλάσης είναι συνδεδεμένο κυρίως με β-αδρενεργικούς υποδοχείς και υπεύθυνο για την παραγωγή cAMP μετά από αδρενεργική διέγερση. Το cAMP ενεργοποιεί τη γλυκόλυση πιθανά μέσω της ενεργοποίησης της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η επίδραση του ενεργοποιητή της αδενυλικής κυκλάσης φορσκολίνη και του αναστολέα της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης ουαβαΐνη στο μεταβολισμό των ερυθροκυττάρων του *Rana balcanica* προκειμένου να διερευνηθεί η αλληλεπίδραση των συστημάτων αυτών. Επώαση των ερυθροκυττάρων μόνο με φορσκολίνη προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος, τόσο σε κανονικές συνθήκες όσο και σε συνθήκες υποξίας, η οποία διατηρήθηκε ως το τέλος της επώασης. Από την άλλη, τα επίπεδα του πυροσταφυλικού οξέος παρουσία μόνο φορσκολίνης αυξήθηκαν σημαντικά στα πρώτα λεπτά της επώασης για να μειωθούν στη συνέχεια λόγω της μετατροπής του πυροσταφυλικού οξέος σε γαλακτικό. Η συνδυασμένη δράση της ουαβαΐνης τόσο με φορσκολίνη όσο και με επινεφρίνη προκάλεσε σημαντική αναστολή στην αύξηση της συγκέντρωσης και των δύο μεταβολιτών, ενώ η μεγαλύτερη αναστολή παρατηρήθηκε στις συνθήκες υποξίας. Τέλος, οι συγκεντρώσεις του γαλακτικού και του πυροσταφυλικού οξέος στην επώαση των ερυθροκυττάρων σε συνθήκες υποξίας ήταν σημαντικά υψηλότερες από τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις σε κανονικές συνθήκες. Από τα αποτελέσματα αυτά φαίνεται ότι το σύστημα της αδενυλικής κυκλάσης και της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης σε συνδυασμό με αδρενεργική διέγερση, έχουν ρυθμιστικό ρόλο στη γλυκόλυση.

**STUDY OF THE ROLE OF ADENYLATE CYCLASE
AND Na^+/K^+ -ATPase ON THE METABOLISM
OF NUCLEATED *RANA BALCANICA* ERYTHROCYTES
UNDER NORMOXIA AND HYPOXIA**

Papaefthimiou, Ioannis and Martha Kaloyianni

Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology,
School of Biology, Faculty of Science, Aristotle University,
54006 Thessaloniki, Greece

Inspite of the fact that several studies have been conducted on the role of adenylate cyclase and Na^+/K^+ -ATPase on the erythrocytic metabolism of many vertebrate species, to our knowledge there are few studies indicating the role of these two systems on the metabolism of amphibian erythrocytes, in relation to adrenergic stimulation. It is known that adenylate cyclase is connected to β - adrenoreceptors and it is responsible for cAMP production as a result of adrenergic stimulation. Incubation of erythrocytes with epinephrine or forskolin, an adenylate cyclase stimulator, caused an increase of lactate concentration, both under normoxia and hypoxia, which was obtained until the end of incubation. Pyruvic acid levels were significantly increased after incubation with forskolin alone for the first 7 minutes. This increase of pyruvate levels was followed by a decrease due to pyruvate transformation to lactate. The combined action of ouabain with forskolin and epinephrine with ouabain - a well known Na^+/K^+ -ATPase inhibitor- induced a significant inhibition of both lactate and pyruvate levels increase in normoxic as well as in hypoxic conditions. Finally, pyruvate and lactate levels were significantly higher in hypoxia than normoxia. These results provide indications for the regulatory role of adenylate cyclase and Na^+/K^+ -ATPase in glycolysis, under adrenergic stimulation.

**ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΣΠΟΡΙΩΝ
ΚΑΙ ΤΩΝ ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΝ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ 1.13 ΤΟΥ
*Bacillus thuringiensis***

Παπαλαζαρίδου, Α., Κ. Αδάμ, Λ. Χαριτίδου και Α. Σιβροπούλου
**Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τομέας Γενετικής,
Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη 54006**

Προηγούμενες μελέτες μας έδειξαν ότι οι υποκλώνοι του στελέχους 1.13 του *B. thuringiensis*, που απομονώθηκαν μετά από αφαίρεση πλασμιδίων, διαφέρουν ως προς το πρότυπο των πολυπεπτιδίων των κρυστάλλων τους και ως προς την αντίδραση τους σε συγκεκριμένους βιοχημικούς ελέγχους. Παρατηρήθηκε ότι οι υποκλώνοι που είχαν το ίδιο πρότυπο πολυπεπτιδίων των κρυστάλλων είχαν και την ίδια αντίδραση στους βιοχημικούς ελέγχους. Με στόχο τη συσχέτιση των πολυπεπτιδίων των κρυστάλλων του στελέχους 1.13 και της πιθανής ενζυμικής τους δράσης, παράχθηκαν αντισώματα ενάντια στην β-γλυκοσιδάση, η παρουσία της οποίας είχε ελεγχθεί με έναν από τους βιοχημικούς ελέγχους. Τα αντισώματα αυτά αναγνωρίζουν σε ανοσοανίχνευση τύπου Western, τα πολυπεπτίδια των κρυστάλλων μεγέθους 140 KDa και 190 KDa, όπως επίσης και το 190 KDa πολυπεπτίδιο του περικαλύμματος των σπορίων. Επίσης, αντισώματα που παράχθηκαν ενάντια στα πολυπεπτίδια των κρυστάλλων αναγνωρίζουν τη β-γλυκοσιδάση και το 190 KDa πολυπεπτίδιο του περικαλύμματος των σπορίων. Ενζυμική δράση β-γλυκοσιδάσης ανιχνεύτηκε σε παρασκευάσματα καθαρών κρυστάλλων και σπορίων μεγέθους 2.95 U/mg και 3.64 U/mg, αντίστοιχα. Επιπλέον, η παρουσία αντισωμάτων, είτε ενάντια στην β-γλυκοσιδάση είτε ενάντια στα πολυπεπτίδια των κρυστάλλων τους, αναστέλλει κατά 60% περίπου την ενζυμική δράση της β-γλυκοσιδάσης. Διαπιστώθηκε ότι η εκβλάστηση των σπορίων παρεμποδίζεται από την παρουσία αντισωμάτων ενάντια στην β-γλυκοσιδάση, κατά τρόπο ανάλογο με την συγκέντρωση τους. Επιπλέον, αντισώματα ενάντια στην β-γλυκοσιδάση αναγνωρίζουν σε ανοσοανίχνευση τύπου Western πολυπεπτίδια των κρυστάλλων και άλλων στελεχών του *B. thuringiensis*.

ENZYMIC ACTIVITY OF CRYSTAL AND SPORE COATED POLYPEPTIDE OF THE *Bacillus thuringiensis* STRAIN 1.13

Papalazaridou, A., K. Adam, L. Haritidou and A. Sivropoulou
Laboratory of General Microbiology, Department of Genetics,
Development & Molecular Biology, School of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki, 54006, Greece

Previously, we showed that subclones isolated after plasmid curing of the *B. thuringiensis* strain 1.13 differ with respect to crystal polypeptide pattern and their reactivity to specific biochemical tests. Since all subclones showing the same crystal polypeptide pattern exhibited the same reactivity to biochemical tests applied, we investigate the possible enzymic nature of crystal polypeptides of the strain 1.13. For that purpose antibodies were raised against β -glucosidase, whose presence was investigated biochemically. These antibodies recognized in a Western immunoblot the 140 KDa, and 190 KDa crystal polypeptide of 1.13 as well as the 190 KDa spore coated polypeptide of the same strain. Likewise, antibodies raised against the crystal polypeptide of the strain 1.13 recognize the pure β -glucosidase, as well as the 190 KDa spore-coated polypeptide. Pure isolated crystals and spores showed β -glucosidase enzymic activity, 2.95 U/mg and 3.64 U/mg, respectively. In addition, the presence of anti- β -glucosidase or anti-crystal polypeptide antibodies reduced the β -glucosidase enzymic activity by almost 60%. The enzymic nature of spore coated polypeptides lead us to investigate their possible biological role for spore germination. Thus, the presence of anti- β -glucosidase antibodies inhibited the spore germination in a concentration dependent manner. In addition, antibodies against β -glucosidase recognize in Western immunoblot crystal polypeptides produced by other *B. thuringiensis* strains.

ΕΚΦΡΑΣΗ, ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΑΚΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΤΟΥ ΑΝΟΙΚΤΟΥ ΑΝΑΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΠΛΑΙΣΙΟΥ U86 ΤΟΥ HHV-6

**Παπανικολάου, Ε., Β. Κουβάτσης, Χ. Τζήμας, Γ. Δημητριάδης
και Μ. Αρσενάκης**
**Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο,
Θεσσαλονίκη 54 006**

Ο ανθρώπινος ερπητοϊός 6 (human herpesvirus 6, HHV-6) είναι ο αιτιολογικός παράγοντας του αιφνιδίου εξανθήματος της νηπιακής ηλικίας (exanthem subitum) και μολύνει τα περισσότερα άτομα στους πρώτους 6 μήνες της ζωής τους. Η συχνότητα μόλυνσης στο γενικό πληθυσμό φτάνει έως και το 90%. Το γονιδίωμα του HHV-6 αποτελείται από 159.321 ζεύγη βάσεων και περιλαμβάνει 119 ανοιχτά αναγνωστικά πλαίσια. Η δομή και η οργάνωση του γονιδιώματος του HHV-6 παρουσιάζει μεγάλη συγγένεια με έναν άλλο β-ερπητοϊό, τον ανθρώπινο κυττομεγαλοϊό (HCMV). Τα πρώτα ικά γονίδια που εκφράζονται αμέσως μετά την είσοδο του ιού στο κύτταρο είναι τα a-γονίδια (immediate early, IE genes, άμεσα πρώιμα γονίδια). Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα HHV-6 ομόλογα των γονιδίων IE1 και IE2 του HCMV τα οποία περιλαμβάνουν τα ανοικτά αναγνωστικά πλαίσια U90-U89 και U90-U86 αντίστοιχα. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι ενώ το IE1 μεταγράφεται παρουσία κυκλοεξαμιδίου, αποκλειστικό χαρακτηριστικό των a-γονιδίων, το IE2 υπό τις ίδιες πειραματικές συνθήκες δεν μεταγράφεται, και κατά συνέπεια δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ως a-γονίδιο. Στο εργαστήριο μας κλωνοποιήθηκαν 7 υποπεριοχές του IE2 cDNA σε τρεις διαφορετικούς προκαρυωτικούς πλασμιδιακούς φορείς έκφρασης. Οι πρωτεΐνες-χίμαιρες που εκφράστηκαν, καθαρίσθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν ως αντιγόνα για την παραγωγή μονοειδικών πολυκλωνικών ορών σε κουνέλια. Οι αντιοροί χρησιμοποιήθηκαν στην ανίχνευση και αναγνώριση των γονιδιακών προϊόντων του IE2 γονιδίου σε HHV-6 μολυσμένα κύτταρα.

EXPRESSION, DETECTION AND ISOLATION OF THE GENE PRODUCT OF THE OPEN READING FRAME U86 OF HHV-6

**Papanikolaou, E., V. Kouvatsis, Ch. Tzimas, G. Dimitriadis
and M. Arsenakis**

**Laboratory of General Microbiology, School of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki 54 006, Greece**

Human herpesvirus-6 (HHV-6) is a newly identified herpesvirus initially isolated from peripheral blood lymphocytes of patients with lymphoproliferative disorders or AIDS. HHV-6 is one of the most widespread herpesviruses infecting up to 90% of the population and has been identified as the causative agent of exanthem subitum. The genome of HHV-6 is 159.321 base pairs in size and encodes 119 open reading frames. The genome is collinear with the genome of another betaherpesvirus, human cytomegalovirus (HCMV). The first genes to be expressed immediately after virus infection are the immediate early genes (IE genes). The major immediate early gene region of HHV-6 codes for two immediate early genes, IE1 and IE2 corresponding to open reading frames U90-U89 and U90-U86 respectively. Recent studies have shown that IE1 is indeed an immediate early gene as it is transcribed in the presence of cyclohexamide. Transcription in the presence of cyclohexamide is an exclusive feature of immediate early genes. Surprisingly, IE2 was not transcribed under these conditions and therefore cannot be assigned to the IE class of genes and appears to be responsible for the production of more than one polypeptide. In our laboratory seven fragments spanning the U86 cDNA and representing various domains of the IE2 gene, were cloned into three different prokaryotic expression vectors. The chimeric proteins produced were used as antigens for the production of antisera in rabbits. These antisera were used for the detection and identification of the gene products of the IE2 gene in HHV-6 infected cells.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΣΥΝΔΕΣΗΣ ΣΕ DNA ΤΩΝ IE1 ΚΑΙ IE2 ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ HHV-6

**Παπανικολάου, Ε., Χ. Τζήμας, Β. Κουβάτσης, Γ. Δημητριάδης
και Μ. Αρσενάκης**

**Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο,
Θεσσαλονίκη 54 006**

Ο ανθρώπινος ερπητοϊός 6 (human herpesvirus 6, HHV-6) είναι ο αιτιολογικός παράγοντας του αιφνιδίου εξανθήματος της νηπιακής ηλικίας (exanthem subitum) και μολύνει τα περισσότερα άτομα στους πρώτους 6 μήνες της ζωής τους. Η συχνότητα μόλυνσης στο γενικό πληθυσμό φτάνει έως και το 90%. Μελέτες της αλληλουχίας του γονιδιώματος του HHV-6 έδειξαν ομοιογία ως προς την δομή και την οργάνωση με το γονιδίωμα του ανθρώπινου κυττομεγαλοϊού (human cytomegalovirus, HCMV), ενός άλλου β-ερπητοϊού. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η περιοχή A των άμεσα πρώιμων γονιδίων (major immediate early, MIE) του HHV-6, η οποία εμφανίζει μείωση στη συχνότητα CpG δινουκλεοτιδίων, ένα χαρακτηριστικό των A περιοχών που είναι συντηρημένο σε όλους τους β-ερπητοϊούς. Η MIE περιοχή του HHV-6 κωδικοποιεί δύο α-γονίδια, τα IE1 και IE2 που περιλαμβάνουν τα ανοιχτά αναγνωστικά πλαίσια U90-U89 και U90-U86 αντίστοιχα. Η αντίστοιχη MIE περιοχή στον ιό HCMV κωδικοποιεί για διάφορες πρωτεΐνες που ονομάζονται επίσης IE1 και IE2 και οι οποίες παράγονται μετά από διαφορετικό μάτισμα (splicing) των αρχικών μεταγραφημάτων. Εκτεταμένες μελέτες σε ότι αφορά τις ιδιότητες ενεργοποίησης της μεταγραφής (trans-activation functions) των πρωτεϊνών αυτών έχουν δείξει ότι δρουν είτε μόνες τους είτε και σε συνδιασμό με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες. Με βάση την ομοιογία που παρατηρείται ανάμεσα στην A περιοχή του HCMV και του HHV-6, διαφορετικά cDNA τμήματα των U89 και U86 ανοιχτών αναγνωστικών πλαισίων, που αντιτροσωπεύουν συγκεκριμένες περιοχές των IE1 και IE2 γονιδίων, κλωνοποιήθηκαν σε τρεις διαφορετικούς προκαρυωτικούς φορείς έκφρασης. Οι πρωτεΐνες-χίμαιρες που εκφράστηκαν, καθαρίστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν σε μελέτες σύνδεσης στο DNA χρησιμοποιώντας σαν στόχο ένα μικρό τμήμα του προαγωγέα της A περιοχής του HHV-6.

DNA BINDING ACTIVITIES OF THE IE1 AND IE2 PROTEINS OF HHV-6

**Papanikolaou, E., Ch. Tzimas, V. Kouvatsis, G. Dimitriadis
and M. Arsenakis**

**Laboratory of General Microbiology, School of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki 54 006, Greece**

Human herpesvirus-6 (HHV-6) is a newly identified herpesvirus initially isolated from peripheral blood lymphocytes of patients with lymphoproliferative disorders or AIDS. HHV-6 is one of the most widespread herpesviruses infecting up to 90% of the population and is the causative agent of exanthem subitum. Sequencing studies have shown that the unique component of the HHV-6 genome and the unique long segment of the human cytomegalovirus (HCMV) genome are genetically collinear. Of particular interest is the identification of a region of local CpG dinucleotide suppression in the genome of HHV-6, a feature conserved in beta-herpesviruses and a characteristic of the major immediate early (MIE) loci in these viruses. The MIE region in HHV-6 consists of two Immediate Early (IE) genes, IE1 and IE2, which correspond to open reading frames U89 and U86 respectively and have been found to possess trans-activating functions. In HCMV the homologous MIE region encodes several proteins termed as IE1 and IE2 that are produced by alternative splicing and polyadenylation of the primary transcripts. These proteins have been extensively studied with respect to their ability, both individually and in combination, to affect the transcriptional activity of many promoters. Based on the homology found between the HHV-6 and HCMV MIE regions, different fragments from the U89 and U86 region, representing several domains of the IE1 and IE2 genes were cloned in three different prokaryotic expression vectors. The chimeric proteins produced were used in DNA binding studies using as a target sequence a small fragment of the HHV-6 MIE promoter.

ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΟΜΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΩΝ

Παπανικολάου, Ι., Μ. Παπαδοβασιλάκη, Γ. Ταβλάς
και Κ. Πετράτος

Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας (IMBB) -
Ι.Τ.Ε., Τ.Θ. 1527, 711 10 Ηράκλειο Κρήτη

1. Οι οξειδοαναγωγικές μεταλλοπρωτεΐνες από το αναερόβιο βακτήριο *Alcaligenes faecalis* [1,2] συνεχίζουν να απασχολούν την ερευνητική μας ομάδα. Προσφάτως, έχουμε εστιάσει τις προσπάθειες μας στην συγκρυστάλλωση της ψευδοαζουρίνης και του *in vivo* δέκτη ηλεκτρονίων αυτής νιτρωδορεδονυκτάσης με σκοπό τον προσδιορισμό της δομής του συμπλόκου των δύο πρωτεΐνών.
2. Στα πλαίσια ενός Ευρωπαϊκού προγράμματος Βιοτεχνολογίας σε συνεργασία με την ομάδα του καθ. Κ. Βοργιά (Παν. Αθηνών) αρχίσαμε την μελέτη της σχέσης δομής-λειτουργίας της χιτινάσης A (ChiA) από το βακτήριο *Serratia marcescens*. Στόχος του ερευνητικού έργου είναι η παραγωγή ταχύτερων, μικρότερων και σταθερότερων ενζύμων για βιομηχανικές εφαρμογές, με τη βοήθεια των τεχνικών της πρωτεΐνικης μηχανικής. Για την ανάλυση της σχέσης δομής-λειτουργίας της ChiA που έχει κυρίως ($\alpha\beta$)₈ δομή (βαρέλι-TIM) [3], μελετάμε την δομή των συμπλόκων αυτής με τους γνωστούς αναστολείς του ενζύμου: αλλοζαμιδίνη, εποξυ-βουτυλ-χιτοβιόζη και εποξυ-βουτυλ-χιτοτριόζη καθώς και με τα υποστρώματα: χιτοτετραόζη ((NAG)₄) και χιτοδεκαόζη ((NAG)₁₀). Οι δομές που θα προκύψουν θα μας δώσουν πολύτιμες πληροφορίες για τον τρόπο πρόσδεσης υποστρωμάτων και αναστολέων στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Ο τρόπος πρόσδεσης του ισχυρού αναστολέα αλλοζαμιδίνη στο ένζυμο έχει ήδη προσδιοριστεί από τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα του συμπλόκου σε διακριτικότητα 2,05 Angstroem. Η 'refinement' της δομής έδωσε rms-σφάλμα θέσεως ατόμων=0,2 Angstroem, κρυσταλλογραφικό R-factor=0,164 για τις 47943 ανεξάρτητες μετρήσεις και R-free=0,179 (για ένα τυχαίο υποσύνολο 2566 ανακλάσεων).

CRYSTAL STRUCTURE ANALYSIS OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES

Papanikolau, Y., M. Papadovasilaki, G. Tavlas
and K. Petratos

Institute of Molecular Biology and Biotechnology (IMBB) -
FO.R.T.H, P.O. Box 1527, 711 10 Heraklion, Greece

1. Our research group continues its studies on the redox active metalloproteins from the anaerobe *Alcaligenes faecalis* [1, 2]. Recently, we have concentrated our efforts in the co-crystallisation of pseudoazurin and its *in vivo* electron acceptor nitrite reductase. The aim of this is to determine the structure of the binary protein complex.
2. In the framework of a European Biotechnology Programme with the collaboration of the group of Prof. C. E. Vorgias (Univ. of Athens), we initiated the analysis of the structure-function relationship of chitinase A (ChiA) from the soil bacterium *Serratia marcescens*. This work focuses in the production of faster, smaller and more stable enzymes with industrial applications using protein-engineering techniques. For the analysis of the structure-function relationship of ChiA which assumes mainly an $(\alpha\beta)_8$ structure (TIM-barrel) [3], we study the structures of the enzyme binary complexes with its known inhibitors: allosamidin, epoxy-butyl-chitobiose and epoxy-butyl-chitotriose as well as with its substrates: chitotetraose ($(NAG)_4$) and chitodecaose ($(NAG)_{10}$). The resulting structures will provide useful information for the mode of binding of substrates and inhibitors at the active site of the enzyme. The mode of binding of the potent inhibitor allosamidin is well characterised from crystallographic data of the complex of ChiA with it, which extend to 2.05 Angstroem resolution. The refinement of the structure gave an estimation for the rms-deviation of the atoms =0.2 Angstroem, a crystallographic R-factor=0.164 for 47,943 unique observations and an R-free=0.179 (for a random subset of 2,566 reflections).

1. Vakoufari, E. *et al.* (1994) FEBS Letters, **347**, 203-206.
2. Petratos, K. *et al.* (1995) FEBS Letters, **368**, 432-434.
3. Perrakis, A. *et al.* (1994) Structure **2**, 1169-1180.

ΗΜΕΡΗΣΙΑ ΤΡΟΦΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΣΕ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΕΣ ΤΣΙΠΟΥΡΕΣ (*SPARUS AURATA*)

Πασπάτης⁽¹⁾, Μ., Δ. Μαραγκουδάκη⁽²⁾ και Μ. Κεντούρη^(1,2)

⁽¹⁾Ι.Θ.Α.Β.Ι.Κ, Τ.Θ. 2214, 71003 Ηράκλειο Κρήτης

⁽²⁾Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Τ.Θ. 2208, 71409
Ηράκλειο Κρήτης

Η ραγδαία αναπτυσσόμενη ιχθυοκαλλιέργεια στην Μεσόγειο αλλά και ειδικότερα στην Ελλάδα εστιάζεται ιδιαίτερα στο θέμα της διατροφής μια και έχει πολλαπλές επιδράσεις στον καλλιεργητή, στον εκτρεφόμενο οργανισμό, αλλά και στο περιβάλλον. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη των ημερήσιων ρυθμών διατροφής της τσιπούρας (*Sparus aurata*) σε όλο τον κύκλο ανάπτυξης με βάση τα δεδομένα από τη χρήση των ταϊστρών αυτοχειριμούν (self-feeders).

Πραγματοποιήθηκαν 2 παράλληλα πειράματα σε αντίστοιχους πληθυσμούς ηλικίας 0+ και 1+. Η χρονική διάρκειά τους (12 μήνες) κάλυψε όλα τα στάδια μέχρι το εμπορικό μέγεθος (0,5g έως 385g μέσο ατομικό βάρος) σε συνθήκες παραγωγής. Τα ψάρια εκτρέφονταν με τη βοήθεια ταϊστρών αυτοχειρισμού, με τις οποίες οι οργανισμοί ρύθμιζαν εκούσια την χρονική στιγμή και την ποσότητα τροφής που επιθυμούσαν.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα οι τσιπούρες ακολουθούσαν ημερήσια πρότυπα πρόσληψης τροφής τα οποία ομαδοποιήθηκαν στις εξής κατηγορίες: α) Πρότυπα νεαρών ατόμων ηλικίας 0+ με αυξημένο ποσοστό ενεργοποίησεων κατά τις ώρες 12:00 - 18:00. β) Πρότυπα θερμών μηνών για ψάρια ηλικίας 0+ με έξαρση των ημερήσιων ενεργοποιήσεων (06:00-18:00). γ) Πρότυπα φθινοπωρινής περιόδου σε ψάρια ηλικίας 0+ με σημαντική πτώση των ημερήσιων χτυπημάτων (06:00-18:00). δ) Πρότυπα χειμερινής περιόδου για ψάρια ηλικίας 1+ με αυξημένη δραστηριότητα τις απογευματινές ώρες (16:00 έως 21:00). Κατά την περίοδο Μαΐου- Δεκεμβρίου τα ψάρια ηλικίας 1+ ακολουθούσαν ενδιάμεσα πρότυπα.

Από τα παραπάνω αποδεικνύεται ότι οι ρυθμοί διατροφής της τσιπούρας επηρεάζονταν κατά κύριο λόγο από τις εποχιακές διακυμάνσεις των αβιοτικών παραμέτρων και την ηλικία των ψαριών. Η γενικευμένη ημερήσια τροφική δραστηριότητα στα νεαρά άτομα σταδιακά περιορίστηκε σε συγκεκριμένες ώρες στα μεγαλύτερα (πρωινές κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού και απογευματινές τον χειμώνα).

DAILY FEEDING BEHAVIOUR IN REARED GILTHEAD SEA BREAM (*SPARUS AURATA*)

Paspatis⁽¹⁾, M., D. Maragoudaki⁽²⁾ and M. Kentouri^(1,2)

⁽¹⁾I.M.B.C, P.O. Box 2214, 71003 Heraclion Crete

⁽²⁾Biology Department, University of Crete, P.O. Box 2208,
71409 Heraclion Crete, Greece

Feeding behaviour of cultured fish species is one of the main topics in aquaculture research. The huge development of aquaculture industry in Mediterranean region and particularly in Greece, demands further information on feeding because of its importance for farmers, cultured animals and the environment. The aim of the present work was the study of the daily feeding pattern in the on-growing period of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed by the means of self-feeder devices, recording the species feeding activity.

Two experiments were carried out simultaneously on the age-classes of 0+ and 1+ year old sea bream respectively. They were conducted for 12 months and covered the weight range of 0.5 g through 385 g mean individual weight under farmed conditions (high stocking density, ambient environmental conditions, rearing by commercial feed). Fish were fed by self-feeders activating a trigger. By this way they self-regulated the time and the quantity of feed distribution.

The revealed results showed that sea bream had a main diurnal feeding activity. Daily feeding patterns over the experiment were grouped in the following: a) Patterns of early stages of 0+ fish which had an increased activity from 12:00 h to 18:00 h. b) Warm months' patterns of 0+ age-class with a diurnal peak (06:00 h-18:00 h). c) Autumn patterns of 0+ fish, presenting a dramatic reduction of daylight feeding activity (06:00 h-18:00 h). d) Winter patterns of older fish (age 1+), preferring to be fed in afternoon hours (16:00 h - 21:00 h). This age-class presented an intermediate daily activity from May to December (2 acrophases one in dawn and the other in afternoon and dusk).

The raised results demonstrated that the feeding rhythms in sea bream were affected mostly by the seasonal fluctuation of the environmental conditions and the age of the animals. The general daily feeding in early stages of 0+ age-class progressively changed to specific diurnal bands of high activity (restricted in dawn or in dusk) for older fish.

FT: ΜΙΑ ΔΙΑΣΥΝΔΕΣΗ ΣΤΟΝ ΠΑΓΚΟΣΜΙΟ ΙΣΤΟ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟΤΗΤΩΝ ΣΕ ΑΚΟΛΟΥΘΙΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ Ή DNA

**Pasquier, C.M., B.I. Προμπονάς, N.I. Βαρβαγιάννης
και Σ.I. Χαμόδρακας**

**Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01**

Το FT είναι μια νέα εφαρμογή της ανάλυσης Fourier για τον εντοπισμό περιοδικοτήτων σε ακολουθίες πρωτεΐνων ή DNA. Εκμεταλλεύεται τη δυνατότητα που δίνεται από τον Παγκόσμιο Ιστό για την παροχή εργαλείων στο ευρύ κοινό, χωρίς ανάγκη εγκατάστασης λογισμικού ή εξειδικευμένης δεξιότητας από τον χρήστη. Μπορεί να εκτελεστεί με οποιοδήποτε Java-συμβατό Φυλλομετρητή Ιστού στη διεύθυνση: <http://o2.db.uoa.gr/FT>. Περιοδικά μοτίβα και συνεχείς επαναλήψεις καταλοίπων συναντώνται συχνά σε ακολουθίες DNA ή πρωτεΐνων. Η αναγνώρισή τους βοηθά στην κατανόηση της μοριακής δομής και προτείνει τρόπους διαμοριακής συγκρότησης για το σχηματισμό δομών ανώτερης τάξης. Η ιδέα είναι να μετασχηματιστεί μια βιολογική ακολουθία σε αριθμητική, ώστε να εφαρμοσθεί σ' αυτή μαθηματική ανάλυση. Τα ψηφιακά δεδομένα μπορεί να αντιπροσωπεύουν φυσικές ιδιότητες των καταλοίπων (πχ. υδροφοβικότητα, μερικό φορτίο, βάρος) ή λογικούς δείκτες (1 ή 0) που ορίζονται αν κάποιο κατάλοιπο έχει χρησιμοποιηθεί στον υπολογισμό ή όχι. Ετσι γίνεται δυνατή η ανίχνευση περιοδικοτήτων για ομάδες καταλοίπων (πχ. πολικά, αλειφατικά κλπ.) και κατόπιν ο εντοπισμός επαναλήψεων στοιχείων δευτεροταγούς δομής, (πχ. επιλέγοντας κατάλοιπα που ευνοούν σχηματισμό α-ελίκων, β-πτυχωτών φύλλων). Ένας χρήστης μπορεί να εισάγει μια ακολουθία σε FASTA, SwissProt, ή PDB format, επιλέγοντας όλη την ακολουθία ή ένα τμήμα της για ανάλυση. Μετά την επιλογή των καταλοίπων για την ανίχνευση περιοδικοτήτων, μπορεί να εκτελεστεί το πρόγραμμα στον server μας και το αποτέλεσμα αναπαριστάνεται στον φυλλομετρητή του λίγα δευτερόλεπτα αργότερα. Το κύριο πρόγραμμα του FT είναι γραμμένο σε C++. Το πρόγραμμα για την εισαγωγή των δεδομένων είναι γραμμένο σε Java και επιτρέπει στους χρήστες να έχουν πιο φιλικό περιβάλλον από αυτό που παρέχεται από απλές HTML φόρμες, ελέγχει τα δεδομένα που εισάγονται από το χρήστη, τυπώνει μηνύματα σφαλμάτων και παρουσιάζει ενδιαφέρουσες πληροφορίες που αφορούν την εισαχθείσα ακολουθία.

A WEB INTERFACE FOR FT: A TOOL DEDICATED TO THE STUDY OF PERIODICITIES IN SEQUENCES

Pasquier, C.M., V. J. Promponas, N.J. Varvayannis
and S.J. Hamodrakas

Department of Biology, Division of Cell Biology and Biophysics,
University of Athens, Athens 157 01, Greece

FT is a new implementation of the Fourier analysis method to locate residue periodicities in aminoacid or DNA sequences. It takes advantage of the opportunity offered by the worldwide web to provide tools for a wide audience without any installation or expertise needed from the user. FT can be executed on any Java-compatible Web Browser at the address <http://o2.db.uoa.gr/FT>. Periodical patterns and tandem repeats of residues are often found in DNA and protein sequences. Their presence helps to understand the molecular structure of a protein and may suggest ways of ultramolecular assembly for the formation of higher order structure. The idea is to transform a biological sequence in a sequence of numbers in order to perform a mathematical analysis on it. The digital data may be represented by physical properties of the residues (e.g. hydrophobicity, partial charge, weight) or by logical indicators (1 or 0) which specify whether the residues have to be used in the calculation or not. This way, it is possible to search for periodicities of a group of residues (e.g. polar, aliphatic) and then detect repeats of secondary structure folds by selecting, for example, α -helix or β -sheet former residues. Users can type or copy a sequence in FASTA, SwissProt or PDB format and possibly select a part or the whole sequence for analysis. After selecting the residue or group of residues they wish to search for periodical appearance, they can run the program on our server and visualize the result on their web browser, usually in a few seconds. The core program of FT is written in C++. The data-input part, written in Java, allows users to benefit from an interface more user-friendly than those designed by HTML forms, controls the data entered, prints error messages and displays interesting information concerning the data entered.

**ΝΕΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ
ΤΗΣ ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ
ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟ**

**Πατρινός¹, Γεώργιος Π., Χρήστος Ζέρβας¹, Piera
Samperi², Luca Lo Nigro², Gino Schiliro²,
Ζαχαρίας Ανυφαντάκης¹, Κωνσταντίνος Τέγος¹
και Παναγιώτης Μενούνος¹**

**¹Σχολή Αξιωματικών Νοσηλευτικής, Ερευνητικό
Εργαστήριο, Στρατόπεδο Σακέτα «Α», Βύρωνας, Αθήνα, Ελλάς,
²University of Catania, School of Medicine, Department of
Hematology, Catania, Sicily, Italy**

Η μεταλλαγή που ευθύνεται για τη δρεπανοκυτταρική αναιμία έχει προέλθει με ανεξάρτητα γεγονότα μεταλλαξογένεσης σε πέντε διαφορετικά χρωμοσώματα, όπως καθορίζονται από τους αντίστοιχους απλότυπους ($\beta^S/Bantu$, $\beta^S/Benin$, $\beta^S/Senegal$, $\beta^S/Cameroon$ και $\beta^S/Saudi Arabian-Indian$). Η σύνδεση της μοριακής αλλαγής Aγ-499 TfA αποκλειστικά με τα β^S χρωμοσώματα στον ελληνικό πληθυσμό (Patrinos et al., Hum Genet 97:357, 1996) εγείρει ερωτήματα σχετικά με τη μοριακή ετερογένεια του απλοτύπου $\beta^S/Benin$, όπως άλλωστε συμβαίνει και με τον απλότυπο $\beta^S/Bantu$. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας μελετήθηκαν 105 $\beta^S/Benin$ χρωμοσώματα από τον ελληνικό και τον σικελικό πληθυσμό με την τεχνική PCR-DGGE, σε συνδυασμό με ανάλυση της πρωτοδιάταξης του DNA. Η μοριακή αλλαγή Aγ-499 TfA βρέθηκε στο σύνολο των $\beta^S/Benin$ χρωμοσωμάτων που μελετήθηκαν και όχι σε 112 β^A και 90 β^{thal} χρωμοσώματα από τον ελληνικό και το σικελικό πληθυσμό, γεγονός που υποδηλώνει ότι η αλλαγή αυτή θα πρέπει να χαρακτηρίζει αποκλειστικά τα χρωμοσώματα $\beta^S/Benin$, τόσο του ελληνικού όσο και του σικελικού πληθυσμού. Τα παραπάνω συντηγορούν υπέρ της μοριακής ετερογένειας του απλοτύπου $\beta^S/Benin$. Η μοριακή αλλαγή θα πρέπει να έχει προέλθει πρόσφατα κατά τη διάδοση των β^S χρωμοσωμάτων από την Κεντρική Αφρική στη λεκάνη της Μεσογείου, πιθανότατα ύστερα από τη μεταφορά των β^S χρωμοσωμάτων στην Αμερικανική ήπειρο. Η υπόθεση αυτή ενισχύεται από την απουσία της μοριακής αλλαγής Aγ-499 TfA από χρωμοσώματα $\beta^S/Benin$ αμερικανικής προέλευσης (Lanclos et al., Blood 77:2488, 1991).

NEW INSIGHTS INTO THE ORIGIN OF THE SICKLE CELL MUTATION IN THE MEDITTERANEAN BASIN

Patrinos¹, George P., Christos Zervas¹, Piera Samperi²,
Luca Lo Nigro², Gino Schiliro², Zacharias Anifantakis¹,
Costantinos Tegos¹ and Panayotis Menounos¹

**¹Nursing Military Academy, Laboratory of Research,
Saketa «A» barrack, Vironas, Athens, Greece,**

**²University of Catania, School of Medicine, Department
of Hematology, Catania, Sicily, Italy**

There are at least five distinct major haplotype backgrounds on which the sickle cell mutation has been arisen (β^S /Bantu, β^S /Benin, β^S /Senegal, β^S /Cameroon and β^S /Saudi Arabian-Indian). Our recent discovery of the A γ -499 TfA variation, linked to the β^S chromosomes of the hellenic population (Patrinos et al., Hum Genet 97:357, 1996) raised the question whether the β^S /Benin, like the β^S /Bantu, haplotype is heterogeneous at the molecular level. We screened 105 β^S /Benin chromosomes from both the hellenic and the sicilian population, using a PCR-DGGE strategy, combined with DNA sequence analysis. All 105 β^S /Benin chromosomes studied were determined to carry the A γ -499 TfA variation and all the β^S /Benin-specific polymorphisms inside the β -globin gene cluster and the LCR. However, the A γ -499 TfA variation was not observed in 112 β^A and 90 β^{thal} chromosomes from both populations, indicating that the A γ -499 TfA variation should be β^S /Benin-specific for the β^S chromosomes of the hellenic and the sicilian populations. These data suggest that the A γ -499 TfA variation arose recently, during the migration of the sickle cell mutation from Africa to the Mediterranean basin, presumably after the introduction of the sickle cell anemia to the American continent. The absence of the A γ -499 TfA variation from the β^S /Benin chromosomes of american origin (Lanclos et al., Blood 77:2488, 1991) supports this hypothesis, which underlines the molecular heterogeneity of the β^S /Benin haplotype. Screening for the A γ -499 TfA variation in β^S /Benin chromosomes of other Mediterranean populations will definitely provide new insights into the sequence of events, leading to the spread of the sickle cell mutation in the Mediterranean basin.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ ΣΕ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ΚΑΙ *BACTROCERA OLEAE*

Παυλίδου, Β., Ζ. Σκούρας και Π. Μανραγάνη-Τσιπίδου
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη

Τα αιθέρια έλαια (ΑΕ) αποτελούν προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των αρωματικών φυτών και θεωρούνται βιολογικά δραστικές ενώσεις δεδομένου ότι πολλά από αυτά παρουσιάζουν αντιμικροβιακή, αντιβακτηριακή, κυτταροστατική και εντομοκτόνο δράση. Παρά το γεγονός ότι η εντομοκτόνος δράση διαφόρων φυτικών εκχυλισμάτων ήταν γνωστή από τους αρχαίους χρόνους, η χρήση τους ως εντομοκτόνα είναι πολύ περιορισμένη λόγω της ευρείας χρήσης συνθετικών εντομοκτόνων. Τα τελευταία χρόνια όμως, η επιβάρυνση του περιβάλλοντος από τη συσσώρευση χημικών ενώσεων μαζί με όλους τους κινδύνους που αυτά εγκυμονούν, καθιστά αναγκαία την ανεύρεση ασφαλών εντομοκτόνων για την καταπολέμηση εντόμων με μεγάλες οικονομικές συνέπειες όπως ο δάκος της ελιάς, η μύγα της μεσογείου κ.λ.π. Η παρούσα μελέτη εντάσσεται σε ένα γενικότερο πλαίσιο μελέτης της εντομοκτόνου και μεταλλαξιγόνου δράσης διαφόρων αιθερίων ελαίων και των συστατικών τους στα έντομα *Drosophila melanogaster* και *Bactrocera oleae* (*Dacus oleae*). Στην παρούσα εργασία ελέγχεται η εντομοκτόνος και μεταλλαξιγόνος ή ανασυνδυαστική δράση του αιθερίου ελαίου του φυτού *Salvia fruticosa* και των συστατικών του thujone, cineole, camphor, bornyl acetate, και borneol στο έντομο *D. melanogaster* το οποίο και χρησιμοποιείται σαν σύστημα ελέγχου. Η εντομοκτόνος δράση των ίδιων ουσιών ελέγχεται στο οικονομικής σημασίας έντομο *B. oleae*, το οποίο χρησιμοποιείται ως σύστημα εφαρμογής. Η τοξικότητα κάθε ουσίας καθορίζεται από το ποσοστό ατόμων που εκκολάπτονται, μετά από επίδραση με διάφορες συγκεντρώσεις των υπό μελέτη ουσιών. Ως τιμή LD₅₀ (Lethal Dose 50%) ορίζεται η συγκέντρωση κάθε ουσίας που προκαλεί θάνατο στο 50% των ατόμων. Για την εύρεση της μεταλλαξιγόνου ή ανασυνδυαστικής δράσης εφαρμόζεται η δοκιμή SMART (Somatic Mutation and Recombination Test) σε προνύμφες *D. melanogaster*. Τα αποτελέσματα αξιολογούνται και γίνεται σύγκριση της τοξικότητας που παρουσιάζουν οι ουσίες αυτές στα έντομα *B. oleae* και *D. melanogaster*.

EFFECTS OF ESSENTIAL OILS ON *DROSOPHILA MELANOGASTER* AND *BACTROCERA OLEAE*

Pavlidou, V., Z. Scouras and P. Mavragani-Tsipidou

**Department of Genetics, Development and Molecular Biology,
School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University,
Thessaloniki, Greece**

In recent years, the essential oils of aromatic plants have received much attention as potentially useful bioactive compounds with particular emphasis to their antimicrobial, antifungal, cytostatic and insecticidal activities. The present study is part of an ongoing study concerning the use of plant extracts as insecticidal factors. The essential oil of the aromatic plant *Salvia fruticosa* together with its main constituents thujone, cineole, camphor, bornyl acetate and borneol are tested for insecticidal activities on both *Drosophila melanogaster* and *Bactrocera oleae* (*Dacus oleae*) and for genotoxic activities on *Drosophila melanogaster* using the somatic mutation and recombination test (SMART test).

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΕΝΟΣ
ΦΥΛΟΣΥΝΔΕΤΟΥ ΥΠΟΤΕΛΟΥΣ ΚΑΤΑΣΤΟΛΕΑ
ΤΩΝ ΕΝΘΕΣΕΩΝ $H(w^+)$, (*haw1*)^{*} ΣΤΗΝ *D.
melanogaster***

Παυλικάκη, Χ., Ν. Σταμάτης και Γ. Γιαννόπουλος
Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής
Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Πάτρα

Όταν ένα γονίδιο μετακινείται από την κανονική του θέση η έκφρασή του μπορεί να αλλάξει κάτω από την επίδραση του νέου χρωμοσωματικού περιβάλλοντος. Αυτό το αποτέλεσμα θέσης μπορεί να αλλάξει τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου, το πρότυπο ιστοειδίκευσης, τη ρύθμιση της έκφρασής του κατά την ανάπτυξη ή μπορεί να οδηγήσει σε ποικιλόμορφη έκφρασή του. Κατά τη διάρκεια μιας μελέτης που αφορούσε τη μετάθεση του $H(w^+)$, (*haw1*), από *hobo* στελέχη και από το $P(ry^+, HBL)$, απομονώσαμε κάποιες ενθέσεις *haw1* που προκαλούν ένα σταθερό μωσαϊκό πρότυπο χρώσης του ματιού. Η έκφραση του *haw1* μόνο σε κάποια τμήματα του ματιού οδηγεί στην υπόθεση της κατασταλτικής δράσης ενός σιωπηλού μεταγραφικά στοιχείου, στην ρυθμιστική περιοχή του *mini-white(m-w⁺)*. Μια ένθεση *haw1* στην περιοχή 4C επιτρέπει στο *(m-w⁺)*.να εκφράζεται μόνο στους δύο πόλους του ματιού. Αυτό το χρωμόσωμα φέρει επίσης τις μεταλλάξεις *y*, *w* και *sn³* και καλείται *ywhaw1^{4C}sn³*. Με σκοπό την μελέτη του τρόπου ρύθμισης της έκφρασης του *ywhaw1^{4C}sn³*, διασταυρώσαμε θηλυκά και αρσενικά τα οποία είχαν τραφεί, ξεχωριστά, με EMS (E. D. Lewis and F. Bacher 1968, DIS:43:193). Ανάμεσα στους απογόνους βρέθηκαν 12 αρσενικά, από τέσσερα διαφορετικά φιαλίδια, με πολύ αχνό κόκκινο χρώμα στα μάτια. Η γενετική ανάλυση σε δύο από αυτές τις μεταλλάξεις, από διαφορετικά αρσενικά, έδειξε ότι είναι υποτελείς, μη θανατογόνες και βρίσκονται στο X χρωμόσωμα ανάμεσα στο *haw1^{4C}* και στο *sn³*, περίπου στη θέση 7.7mu. Όταν ετερόζυγα θηλυκά *wsn³/ywhaw1^{4C}sn^{3(pale)}* διασταυρώθηκαν με αρσενικά που φέρουν όλες ενθέσεις *haw1*, με διαφορετικό πρότυπο χρώσης του ματιού, παρατήρηθηκε ότι τα αρσενικά *ywsn³* έχουν πιο αχνό φαινότυπο από τα αρσενικά *wsn³*. Αυτή η παρατήρηση οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η καταστολή της έκφρασης του *w⁺* δεν σχετίζεται με την ένθεση *haw1^{4C}* αυτή καθεαυτή. Το πιθανότερο είναι αυτός ο καταστολέας [*su(w⁺)^{4c}*] να κωδικοποιεί ένα προϊόν που επιδρά στην ρυθμιστική περιοχή του *(m-w⁺)*.

* Calvi et al. 1991 (Cell vol. 66, 465-471)

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF AN X-LINKED RECESSIVE SUPPRESSOR OF THE $H(w^+)$, ($haw1$)^{*} INSERTIONS IN *Drosophila melanogaster*

Pavlikaki, H., N. Stamatis and G. Yannopoulos

University of Patras, Department of Biology, Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Patra, Greece

When a gene is moved from its normal location its expression can be altered by the influence of its new chromosomal environment. These position effects can alter the level of the gene's expression, its pattern of tissue specificity, the developmental timing of its expression, or cause it to exhibit variegated expression. During a study concerning the action of the natural hobo stains and the P(ry^+ , HBL)^{*} on the mobilization of the $H(w^+)$, ($haw1$)^{*}, we have isolated $haw1$ insertions with spatially restricted pigmentation pattern in the eye. The failure of the expression in parts of the eye suggests the suppressive effect of a transcriptionally silencer element which is dominant over the mini-white ($m-w^+$) regulatory region.

A $haw1$ insertion in 4C permits the ($m-w^+$) to be expressed only in the polar portions of the eye. This chromosome also carries the mutations y , w and sn^3 and is named as $ywhaw1^{4C}sn^3$. In an attempt to look for modifiers of the $ywhaw1^{4C}sn^3$, males and females were separately fed with EMS (E. D. Lewis and F. Bacher 1968, DIS:43:193) and then crossed together. Among their male progeny we found 12 males, from four different vials, with very pale polar red color. Genetic analysis in two of them, from different males, revealed that the responsible mutations are recessive, non-lethal and both are located on the X chromosome, between the $haw1^{4C}$ and the sn^3 at the site ~7.7mu. When heterozygous virgins $wsn^3/ywhaw1^{4C}sn^3(pale)$ females were crossed to males from other $haw1$ insertions with, either, spatially restricted pigmentation pattern or very dark brownish red eyes, we observed that $ywsn^3$ male progeny had paler eye color than the wsn^3 ones. This observation suggests that the suppression of the w^+ is not peculiar to the $haw1^{4C}$ insertion. Most probably this suppressor [$su(w^+)^{4c}$] codes for a product that effects the regulatory region of the ($m-w^+$).

* Calvi et al. 1991 (Cell vol. 66, 465-471).

**Η ΚΡΥΣΤΑΛΛΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΤΗΣ
ΑΕΚΤΙΝΗΣ ΚΟΝΚΑΝΑΒΑΛΙΝΗΣ Α ΜΕ ΤΟ ΣΑΚΧΑΡΟ
4'-ΜΕΘΥΛΟΥΜΠΕΛΛΙΦΕΡΥΛΟ-α-D-
ΜΑΝΝΟΠΥΡΑΝΟΖΗ (α-MUM)**

Παύλου¹, Κ.Σ., Π.Ν. Κανελλόπουλος²,
P.A. Tucker² και Σ.Ι. Χαμόδρακας¹

¹Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01, Ελλάς

²European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg,
Germany

Η Κονκαναβαλίνη Α (Con A) είναι η ευρύτερα γνωστή φυτική λεκτίνη με σημαντικές βιολογικές ιδιότητες που προκύπτουν από την ικανότητά της να δεσμεύει σάκχαρα. Ο ακριβής βιολογικός της ρόλος παραμένει άγνωστος. Το σύμπλοκο της ConA με το σάκχαρο 4'-μεθυλουμπελλιφερυλο-α-D-μαννοπυρανοζίτη (α-MUM) κρυσταλλώθηκε σε ομάδα συμμετρίας χώρου P2₁ με παραμέτρους στοιχειώδους κυψελίδας $a=82.74 \text{ \AA}$, $b=129.83 \text{ \AA}$, $c=82.20 \text{ \AA}$, $\alpha=90^\circ$, $\beta=118.5^\circ$, $\gamma=90^\circ$, και συλλέχθηκαν δεδομένα εντάσεων περίθλασης ακτίνων-X σε διακριτικότητα 2.2 \AA . Η δομή του συμπλόκου λύθηκε με τη μέθοδο της μοριακής αντικατάστασης και βελτιώθηκε με μεθόδους προσομοιωμένης επαναδιάταξης (simulated annealing) σε κρυσταλλογραφικό δείκτη αξιοπιστίας $R=0.21$ ($R_f=0.26$).

Κοντά στην επιφάνεια κάθε μονομερούς, στην θέση δέσμευσης σακχάρων είναι δεσμευμένο ένα μόριο σακχαρίτη, ενώ το μη σακχαρικό (άγλυκο) τμήμα του μορίου βοηθάει στον ακριβή προσανατολισμό του σακχαρίτη στο σημείο δέσμευσης αλλά επίσης συμμετέχει σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ τετραμερών επηρεάζοντας το πακεττάρισμά τους. Συγκρίσεις της δομής του συμπλόκου Con A-α-MUM με το σύμπλοκο Con A-α-MUG, που έχει λυθεί επίσης από την ομάδα μας, γίνονται ώστε να μελετηθεί σε λεπτομέρεια η προτίμηση της δέσμευσης της Con A σε μαννοζίτες μάλλον παρά με γλυκοζίτες.

**THE CRYSTAL STRUCTURE OF THE COMPLEX
OF CONCANAVALIN A WITH
4'-METHYLUMPELLIFERYL- α -D-
MANNOPYRANOSIDE (α -MUM)**

Pavlou¹, K.S., P.N. Kanellopoulos²,
P.A. Tucker² and S.J. Hamodrakas¹

¹Department of Biology, Division of Cell Biology and
Biophysics, University of Athens, Athens 157 01, Greece

²European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg,
Germany

Concanavalin A (Con A) is the best known plant lectin with important biological properties due to its specific saccharide binding ability. The complex of Con A with 4'-methylumpelliferyl- α -D-mannopyranoside (α -MUM) has been crystallised in space group P2₁, with cell parameters $a=82.74$ Å, $b=129.83$ Å, $c=82.20$ Å, $\alpha=90^\circ$, $\beta=118.5^\circ$, $\gamma=90^\circ$. X-ray diffraction intensities to 2.2 Å resolution have been collected and the structure of the complex was solved by molecular replacement and refined by simulated annealing methods to a crystallographic R-factor value of 0.21 and free R-factor of 0.26.

In the structure, the unit cell contains four molecules per asymmetric unit, arranged as a tetramer with approximate 222 symmetry. A saccharide molecule is bound in the sugar binding site near the surface of the molecule per monomer. Apparently, the saccharide adopts a different conformation in each monomer. The non-sugar (aglycon) portion of the compound used, helps identifying the exact orientation of the saccharide in the sugar binding pocket, and is involved in major crystal packing contacts. The hydrogen bonding network in the region binding site is analysing. Comparisons of the complex of Con A- α -MUG are being carried out to determine in detail the preference of Con A binding to mannosides rather than glucosides.

**ΑΥΤΟΤΟΜΙΑ ΤΗΣ ΟΥΡΑΣ ΣΤΑ ΕΝΔΗΜΙΚΑ ΕΙΔΗ
ΣΑΥΡΩΝ ΤΗΣ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ *Lacerta graeca* KAI
Podarcis peloponnesica (Sauria: Lacertidae)**

**Παφίλης, Π., Π. Μαραγκού, Αικ. Γαϊτανάκη
και Ε. Δ. Βαλάκος**

**Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας
Ζώων & Ανθρώπου, 157 84 Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα**

Μία συνήθης αμυντική στρατηγική των σαυρών της οικογένειας Lacertidae (όπως άλλωστε και των περισσότερων σαυρών) είναι η αυτοτομία της ουράς. Πρόσφατα έχει δειχθεί ότι στα νησιωτικά είδη της οικογένειας Lacertidae οι απομονωμένοι πληθυσμοί, που έχουν ελάχιστη πίεση θηρευτών, τείνουν να απωλέσουν την ικανότητα αυτοτομίας της ουράς. Η ικανότητα της αυτοτομίας της ουράς μελετήθηκε σε δύο ενδημικά είδη της Πελοποννήσου την *Lacerta graeca* και την *Podarcis peloponnesiaca*. Η εργαστηριακή μελέτη έγινε με προσομοίωση θήρευσης όπως περιγράφεται από τους Perez-Mellado και συν. (J. Zool. Lond (1977) 243: 533-541). Ακούλουθως στα κομμένα τμήματα έγινε προσδιορισμός της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος. Η *Podarcis peloponnesiaca* παρουσίασε μεγάλο ποσοστό αυτοτομίας (περίπου 80%) ενώ στην *Lacerta graeca* το ποσοστό ήταν περίπου 50%. Ο χρόνος κίνησης των κομμένων τμημάτων ήταν από 2,5 λεπτά έως 12 λεπτά περίπου. Και στα 2 είδη η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος αυξήθηκε σημαντικά σε σχέση με τους μάρτυρες. Δεν φαίνεται να υπάρχει διαφορά ανάμεσα στα 2 είδη ως προς την ποσότητα γαλακτικού οξέος που παράγεται στην μονάδα του χρόνου. Στο πεδίο, το ποσοστό των σαυρών με αναγεννημένη ουρά είναι για την *Podarcis peloponnesiaca* περίπου 30-40 % και για την *Lacerta graeca* περίπου 50%. Ο συνδυασμός των παραπάνω στοιχείων οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο αμυντικός μηχανισμός της αυτοτομίας της ουράς αποτελεί ένα σύνθετο φαινόμενο το οποίο επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως είναι η επιλογή του ενδιαιτήματος και η χρήση της ουράς για άλλες λειτουργίες.

Μέρος της παρούσας μελέτης χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα 70/4/3434 της Επιτροπής ερευνών του ΕΚΠΑ και από το πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ 70/3/2798.

**TAIL AUTOTOMY IN THE ENDEMIC LIZARDS
SPECIES OF PELOPONNESE *Lacerta graeca* and *Podarcis
peloponnesiaca* (SAURIA : LACERTIDAE)**

Pafilis, P., P. Maragou, C. Gaitanaki and E. D. Valakos

**University of Athens, Department of Biology, Division of Animal
& Human Physiology, 157 84 Panepistimioupolis ,
Athens, Greece**

Tail autotomy is one of the main antipredator strategy of lacertids lizards (like the most lizard species). The percentage of animals with regenerated tails in a population is an index of the predator's pressure. Ability to autotomize the tail is primitive in lizards and is suggested that the mechanism is only retained in evolutionary time when the benefits exceeds the costs. Recent studies have demonstrated that the in island species of the family Lacertidae the isolated populations without predator's pressure have lost the ability of the tail autotomy. The ability of the tail autotomy was studied in two endemic lizards species of Peloponnese, *Lacerta graeca* and *Podarcis peloponnesiaca*. For this study a simulation method of predator as described by Perez- Mellado et.. al. (J. Zool. 1977, 243:533-541) was used.. In the case of autotomy the moving time of the breakage was continuously recorded. Afterwards the lactic acid of the breakage were estimated. The percentage of the tail autotomy in *P. peloponnesiaca* (80%) is quite higher than in *L graeca* (50%). In the animals of both species the time of tail moving ranges from 2,5 min to 12 min. In both species the quantity of lactic acid produced in the breakage increases in relation to the controls. It seems that there is not any difference between the two species in the production of lactic acid (μ moles/mg of protein/sec). In the field the percentage of the lizards with regenerated tails is 30-40% for *P. peloponnesiaca* and 50% for *L. graeca*. All the above data support the suggestion that the antipredator mechanism of the tail autotomy is complicated and that many factors such as habitat selection, reproduction and energy storage could affect the ability of the tail autotomy.

Part of this study was supported by PENED program (95/67) and from program of Business Relation Office of Athens University(4/3434).

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΡΙΚΗΣ ΠΡΩΤΟΔΙΑΤΑΞΗΣ ΤΟΥ
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ
ΓΑΣΤΕΡΟΠΟΔΟΥ *Monodonta turbinata*: ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ
ΓΙΑ ΠΟΛΥΦΥΛΕΤΙΚΗ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΟΥ mtDNA
ΤΩΝ ΜΑΛΑΚΙΩΝ**

Παχιαδάκη, Μ., Ε. Χατζόγλου, Γ.Κ. Ροδάκης και Ρ. Λεκανίδον
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιοχημείας
και Μοριακής Βιολογίας, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15701

Το mtDNA είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για τη μελέτη των εξελικτικών μηχανισμών και των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των οργανισμών. Κατά κανόνα το γονιδιακό περιεχόμενο και η γονιδιακή οργάνωση του mtDNA των μεταξών παραμένει σταθερό μεταξύ των οργανισμών του ιδίου φύλου, με ελάχιστες εξαιρέσεις. Μέχρι σήμερα είναι γνωστή η πλήρης πρωτοδιάταξη (στο φύλο των μαλακίων) του χιτώνα *Katharina tunicata*, των χερσαίων γαστεροπόδων *Albinaria coerulea* και *Cepaea nemoralis*, και η μερική *Euhadra herklotzi*, *Albinaria turita*, του *Loligo bleekeri* και του *Mytilus edulis*. Τα δεδομένα από τους οργανισμούς αυτούς δείχνουν μεγάλες αποκλίσεις τόσο στη γονιδιακή οργάνωση, όσο και σε νουκλεοτιδικό επίπεδο. Για την περαιτέρω διερεύνηση των μακροεξελικτικών σχέσεων των μαλακίων, θεωρήθηκε αναγκαία η ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA ενός θαλάσσιου γαστερόποδου της *Monodonta turbinata*. Στην παρούσα εργασία απομονώθηκαν με τη μέθοδο PCR και κλωνοποιήθηκαν σε πλασμίδια-φορείς δύο τμήματα του mtDNA της *M. turbinata*, η πρωτοδιάταξη των οποίων αναλύθηκε με τη μέθοδο Sanger. Το πρώτο τμήμα (~1 kb) περιλαμβάνει το μεγαλύτερο τμήμα του lrRNA, ένα τμήμα του γονιδίου ND1 καθώς και το τμήμα του DNA που βρίσκεται μεταξύ των δύο αυτών γονιδίων, το οποίο περιέχει τα γονίδια tRNA^{Leu(CUN)} και tRNA^{Leu(UUR)}. Το δεύτερο τμήμα (~1.5 kb) περιλαμβάνει τα γονίδια COI και COII. Από τη σύγκριση της γονιδιακής οργάνωσης των προσδιορισμένων περιοχών του mtDNA της *M. turbinata* παρατηρείται παραδόξως εντελώς διαφορετική διευθέτηση των γονιδίων από αυτή των τριών προσδιορισμένων χερσαίων γαστεροπόδων (*A. coerulea*, *C. nemoralis*, *E. herklotzi*), αντίθετα εμφανίζεται σημαντική ομοιότητα με το έντομο *Drosophila yakuba* και το χιτώνα *K. tunicata*. Η εικόνα αυτή επιβεβαιώνεται από σύγκριση σε επίπεδο πρωτοδιάταξης. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν την υπόθεση της πολυφυλετικής προέλευσης των μαλακίων.

**PARTIAL SEQUENCE OF MITOCHONDRIAL DNA OF
THE SEA GASTROPOD *Monodonta turbinata*:
INDICATIONS OF POLYPHYLETIC ORIGIN OF
MOLLUSCAN mtDNA**

**Pachiadaki, M., E. Hatzoglou, G. C. Rodakis
and R. Lecanidou**

**University of Athens, Department of Biology,
Division of Biochemistry and Molecular Biology
Panepistimioupolis, 157 01 Athens, Greece**

mtDNA is a useful tool for studying evolutionary mechanisms and phylogenetic relationships among different organisms. Generally, with few exceptions, the structure and gene organization of animal mtDNA is relatively conserved among the representatives of the same phylum. Until now, the complete sequence of the mtDNA of the molluscs *Katharina tunicata*, *Albinaria coerulea*, *Cepea nemoralis* and the partial ones of *Euhandra herklotsi*, *Albinaria turita*, *Loligo bleekeri* and *Mytilus edulis* has been determined. These data show many differences in gene organization and in nucleotide sequence. In order to investigate the macroevolutionary relations within molluscs, we decided to analyze the mtDNA of *Monodonta turbinata*, a sea gastropod. In this study, two fragments of *M. turbinata* mtDNA were isolated by PCR, cloned in plasmid vectors and sequenced. The first fragment (~1kb) contains the largest part of tRNA gene, one part of ND1 gene as well as the tRNA^{Leu(CUN)} and tRNA^{Leu(UUR)} genes. The second fragment (~ 1.5 kb) includes the COI and COII genes. Comparative analysis of the known fragments of *M. turbinata* mtDNA reveals a totally different pattern of gene organization than that of the 3 other gastropods (*A. coerulea*, *C. nemoralis*, *E. herklotsi*). On the contrary, there are similarities with *Drosophila yakuba* and *K. tunicata*. Sequence comparison also reveals a higher degree of homology of *M. turbinata* with *K. tunicata* and *D. yakuba*. These findings reinforce the idea of a possible polyphyletic origin of moluscan mtDNA.

THE NEPHROBLASTOMA OVEREXPRESSED (NOV) PROTEIN: RELATIONSHIP WITH SIGNALING, CELL GROWTH AND DIFFERENTIATION

PERBAL, Bernard

**Laboratoire d'Oncologie Virale et Moléculaire, Unité INSERM
142, Bâtiment R. Kourilsky, Hôpital Saint-Antoine, 184 Rue du
Fbg. St-Antoine, 75571 Paris 12e FRANCE**

The nov (nephroblastoma overexpressed) gene whose expression is altered in all nephroblastomas was first discovered (Joliot et al. 1992) as an insertion site for the Myeloblastosis Associated Virus (MAV1N) in virally induced avian nephroblastomas which represent a unique model of the Wilms' tumor in children (Perbal, 1995).

Wilms' tumor is a kidney cancer that affects approximately 1:10 000 children usually between 3 and 6 years of age. The majority of Wilms' tumors occur sporadically (99%) and are unilateral (93%). However there are heritable Wilms' tumors (1%) which are diagnosed earlier (at 2 to 3 years of age) and are usually bilateral.

In the classical triphasic Wilms' tumors which result from uncontrolled growth of embryonic metanephric blastema, the tumor blastema resembles undifferentiated metanephric mesenchyme or can give rise to differentiated derivatives reminiscent of elements in normal kidney. Thus the presence of dysplastic tubules and pseudoglomeruli in these tumors reflects an abnormal pattern of kidney specific differentiation. Variants of Wilms' tumors exhibit different proportions of each of the blastemal, stromal and epithelial components ranging from infrequent to abundant. Inasmuch as a significant proportion of cases, Wilms' tumors also display non-renal heterotypic differentiated tissues such as muscle, cartilage and bone, they constitute a good system in which to study processes responsible for aberrant mesenchymal differentiation.

The nov gene shares extended nucleotide sequence similarities with two groups of immediate-early genes (ctgf/fisp12 and cyr61/cef10) which encode positive cell growth regulators acting cooperatively with growth factors.

Early experiments established that the over-expression of nov in normal embryonic fibroblasts was interfering with their growth in vitro

(Joliot et al. 1992). The expression of nov was found to be associated with cell quiescence and down-regulated upon induction of cell proliferation following serum or TPA induction and oncogenic transformation. These distinctive features raised the possibility that nov is a negative regulator of cell growth, and could have an antagonist effect, as compared to the CTGF and/or CYR61 stimulatory effects.

The expression of the human nov gene (novH) was shown to be down-regulated by the WT1 transcriptional regulator whose activity plays a key role in kidney development and levels of novH and WT1 mRNA were inversely correlated in Wilms' tumors (Martinerie et al. 1994, 1995).

As a first step in establishing the biological function(s) of nov and its involvement in normal and tumoral growth, we have performed *in situ* hybridization and immunohistochemistry on normal human embryo sections and on different Wilms' tumors samples representative from sporadic, WAGR and DDS cases.

We now provide evidence the expression of novH is not restricted to kidney tissues and that, during normal embryonic human development, levels of novH expression are regulated in a tissue-specific way. Immunocytochemistry experiments performed on normal and tumor samples, indicated that novH protein accumulates in kidney tubular epithelium, glomerular podocytes, and somato-motor axis of the central nervous system. In Wilms' tumors, expression of novH was correlated with areas of heterotypic differentiation, suggesting that it may serve as a molecular marker for tumor typing. Analysis of novH expression in tumors of the central nervous system also led to the conclusion that it is higher in cells with a reduced tumorigenic potential.

Structural motifs on novH support its potential interaction with IGF, cytoskeleton and extracellular matrix components. The potential of novH for binding receptors and/or transportation of growth factors would make novH an important protein for modulating local and distant cellular growth and differentiation functions.

**ΑΥΞΗΜΕΝΗ UV-B ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ
ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΑ ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ
CISTUS RETICULUS L.**

Πετροπούλου, Γ., Μ. Στεφάνου, Ο. Γεωργίου* και Ι. Μανέτας

Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Πανεπιστήμιο Πατρών,

*Εργαστήριο Βοτανικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα

Μακροχρόνια έκθεση του Μεσογειακού θάμνου *Cistus creticus* L. σε ήπιες δόσεις αυξημένης UV-B ακτινοβολίας (που να αντιστοιχούν σε μία ενδεχόμενη κατά 15% μείωση του στρατοσφαιρικού όζοντος στην περιοχή της Πάτρας) δεν επιφέρει καμμία μεταβολή στη φωτοσύνθεσή του και στη βλαστητική του ανάπτυξη. Έν τούτοις, η αυξημένη UV-B ακτινοβολία ευνοεί την αναπαραγωγική του προσπάθεια, αυξάνοντας τον αριθμό των παραγομένων σπερμάτων ανά κάψα και ανά φυτό χωρίς να επηρεάζει τη βλαστηκότητά τους (Stephanou and Manetas 1998). Μεγαλύτερος αριθμός σπερμάτων ανά κάψα υποδηλώνει μεγαλύτερη επικονιαστική αποτελεσματικότητα, η οποία πιθανόν σχετίζεται με μία μεγαλύτερη προσέλευση επικονιαστών που μπορεί να προκληθεί είτε από κάποιες μεταβολές των ανθικών χαρακτηριστικών είτε από πιθανή προσέλκυση των επικονιαστών από τους λαμπτήρες ακτινοβόλησης. Βιντεοσκόπηση των επισκέψεων των εντόμων αποκάλυψε δύο κατηγορίες επισκεπτών: μέλισσες, που αποκομίζουν κυρίως γύρη, και μικρά έντομα που καταναλώνουν νέκταρ ("κλέφτες" νέκταρος, δεν συμμετέχουν στην επικονίαση). Ο αριθμός των επισκέψεων ήταν ο ίδιος τόσο στα φυτά μάρτυρες όσο και στα φυτά ελέγχου ανεξάρτητα αν οι λάμπες ήταν ανοικτές ή κλειστές, υποδεικνύοντας ότι τα έντομα δεν ελκύονται εκλεκτικά ούτε από τους λαμπτήρες αλλά ούτε και από κάποιο σήμα των ανθέων. Τα παραπάνω ενισχύονται από μετρήσεις των μορφολογικών και οπτικών ιδιοτήτων των ανθέων, όπου δεν παρατηρήθηκε καμμία επίδραση της αυξημένης UV-B ακτινοβολίας. Ωστόσο, η διάρκεια των επισκέψεων αυξήθηκε σημαντικά στα φυτά που δέχθηκαν επί πλέον UV-B ακτινοβολία και αυτό πιθανώς αντικατοπτρίζει κάποιες μεταβολές στην ποιότητα των ανθικών παροχών. Διαπιστώθηκε ότι ο αριθμός των γυρεοκόκκων δεν επηρεάσθηκε ενώ, αντίθετα, ο όγκος των νεκταρίων υπερδιπλασιάσθηκε κάτω από αυξημένη UV-B ακτινοβολία. Συμπερασματικά, η μεγαλύτερη διάρκεια επισκέψεων πιθανώς σχετίζεται με την αύξηση του όγκου των νεκταρίων (αυξημένη ποσότητα νέκταρος): στην περίπτωση των μελισσών, μεγαλύτερης διάρκειας επισκέψεις μπορεί να οδηγούν σε αύξηση της επικονιαστικής αποτελεσματικότητας.

ENHANCED UV-B RADIATION AND REPRODUCTIVE EFFORT IN *CISTUS RETICULUS* L.

Petropoulou, Y., M. Stephanou, O. Georgiou* and **Y. Manetas**

**Laboratory of Plant Physiology, *Laboratory of Botany,
Department of Biology, University of Patras, Patras, Greece**

Long term exposure of the Mediterranean shrub *Cistus creticus* L. seedlings to mild doses of enhanced UV-B radiation (simulating a 15% ozone depletion over Patras) had no effect on photosynthesis and growth. However, supplemental UV-B radiation improved the reproductive effort of this species by increasing the number of seeds per fruit and plant, without affecting the germination rate of the seeds (Stephanou and Manetas 1998). Increased number of seeds per fruit indicates an improvement in pollination success, which could be due to an increase in pollinators visits. This, in turn, could be related to changes in floral attributes or to a possible attraction of the insects by the UV-B tubes. Video-recording of insect visits revealed two categories of visitors: bees foraging mainly on pollen and nectar consuming small insects ("nectar thieves", not involved in the pollination process). The number of visits was the same on both control and UV-B treated plants and independent on whether the UV-B tubes were on or off, indicating that the insects were not preferentially attracted by the UV-B tubes nor by a signal emitted by the flowers. The above results are compatible with the absence of any UV-B supplementation effects on flower morphology and optical properties. However, the visit duration of both insect groups was significantly increased and this is probably related to changes in flower rewards. Although the number of pollen grains was not affected, the volume of nectaries was more than doubled by the enhanced UV-B radiation. In conclusion, we suggest that the longer insect visits may be correlated to the increase in nectary volume (increased nectar quantity); in the case of bees, longer visits may underlie the improvement of pollination success under UV-B supplementation.

**ΤΟ ΟΜΟΛΟΓΟ ΓΟΝΙΔΙΟ *neuralized* ΤΗΣ
D. melanogaster ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΠΟΝΤΙΚΟ,
ΕΝΑ ΥΠΟΨΗΦΙΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΕΚΤΡΟΔΑΚΤΥΛΙΑ, ΕΚΦΡΑΖΕΤΑΙ ΣΤΑ ΠΡΩΙΜΑ
ΣΤΑΔΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΑΚΡΩΝ**

Πρίνος³, Π., Η. Παυλόπουλος^{1,2}, Μ. Κοκκινάκη^{1,2},
C. Dealy⁴, Rose³, R. Kosher⁴, M. Kilpatrick³,
N. Μοσχονάς^{1,2} και Π. Τσίπουρας³

¹Παν/μιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας & ²Ινστιτούτο Μοριακής
Βιολ. και Βιοτεχν. ΙΤΕ, Ελλάς, ^{3,4}Dept. of Pediatrics, and
Anatomy, U. of CONN, Farmington, CT, USA

Στα πλαίσια του εντοπισμού νέων γονιδίων στη χρωμοσωματική περιοχή 10q24-q25 και ειδικότερα στην υποπεριοχή όπου έχουν χαρτογραφηθεί μία μορφή παρεγκεφαλιδονωτιαίας ατροφίας (IOSCA locus) και εκτροδακτυλίας, εντοπίσαμε ένα EST που παρουσιάζει σημαντική δομική ομοιότητα με το γονίδιο *neuralized* (*neur*) της *D. melanogaster*. Το *neur* ανήκει στην κατηγορία των νευρογόνων γονιδίων και εκφράζεται στα αρχικά στάδια της νευρογένεσης καθώς επίσης και στους προνυμφικούς δίσκους του φτερού και τα προγονικά αισθητήρια όργανα. Με βάση την αναπτυξιακή αναλογία του ορίου του φτερού στη *Drosophila* και της κορυφαίας εκτοδερμικής ακρολοφίας (AER) κατά την εμβρυική ανάπτυξη των άκρων στα θηλαστικά, θεωρήθηκε ότι, πιθανόν, το ανθρώπινο *neur* να εκφράζεται στην AER και ίσως, υποψήφιο γονίδιο για την εκτροδακτυλία. Διερευνήθηκαν βιβλιοθήκες cDNA από εγκέφαλο εμβρύων ανθρώπου και ποντικού. Ανάλυση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας των cDNAs και του ανοιχτού πλαισίου ανάγνωσης (ORF) έδειξε ότι τα πολυπεπτίδια που κωδικοποιούνται στα δύο είδη αποτελούνται από 574 αμινοξέα. Η αμινοξική ταυτότητα ανάμεσά τους είναι 93.9% και με την πρωτεΐνη της *D. melanogaster* 33%. Αναλύσεις Northern ανιχνεύουν και στα δύο είδη ένα μετάγραφο μεγέθους 4 Kb. Ανάλυση Southern έδειξε ότι το γονίδιο αντιπροσωπεύεται μία φορά στο γονιδίωμα και έχει μέγεθος, περίπου, 7 Kb, αποτελούμενο από πέντε εξόντια. Υβριδοποιήσεις *in situ* σε τομές εμβρύων ποντικού και ανθρώπου και πειράματα αντίστροφης μεταγραφής έδειξαν έντονη και εξειδικευμένη έκφραση του γονιδίου στις χόνδρινες πρόδρομες δομές των σκελετικών στοιχείων των άκρων. Τα παραπάνω στοιχεία αποτελούν σημαντικές ενδείξεις ότι έχουμε απομονώσει ένα νέο γονίδιο που εκφράζεται με αυστηρή ιστοεξειδίκευση κατά την εμβρυική ανάπτυξη των άκρων στα θηλαστικά.

THE HUMAN AND MOUSE HOMOLOGUE OF THE DROSOPHILA *neuralized* GENE, A CANDIDATE GENE FOR ECTRODACTYLY, IS PREDOMINANTLY EXPRESSED IN EARLY STAGES OF LIMB DEVELOPMENT

Prinos³, P., E. Pavlopoulos^{1,2}, M. Kokkinaki^{1,2}, C. Dealy⁴,
Rose³, R. Kosher⁴, M. Kilpatrick³, N. Moschonas^{1,2}
and P. Tsipouras³

^{1,2}U. of Crete, Dept. of Biology & Institute of Molecular Biol.
and Biotech., FORTH, Greece; ^{3,4}Dept. of Pediatrics, and
Anatomy, U. of CONN, Farmington, CT, USA

Searching for new genes within the chromosomal region 10q24-25 and especially the subregion of the spinocerebellar ataxia (IOSCA locus) and ectrodactyly (Split Hand-Split Foot Malformation-SHSFM3), we identified a human EST showing significant sequence similarity to *neuralized* (*neur*) gene of *D. melanogaster*. This gene is one of the so-called neurogenic genes and is expressed in the early stages of neurogenesis. In addition, *neur* is expressed in the wing imaginal discs and sensory organ precursors. Given the developmental analogy of the wing margin formation and the apical ectodermal ringe (AER) we reasoned that the human homologue might be also expressed in the AER and thus be a candidate gene for SHSFM3. We used this human EST to screen human and mouse embryonal brain cDNA libraries. Sequencing of the isolated cDNAs and ORF identification suggested a predicted 574 aa polypeptide in both species. The human and mouse proteins were found to share a 93.9% sequence identity. Northern blot analysis of human and mouse tissue RNAs, detected a major transcript of about 4 Kb. Alignment of the mammalian proteins to the *Drosophila* homologue exhibits a 33% identity, spread through out the sequence. Southern blot analysis suggested that the gene is unique in the genome and a size of about 7 Kb in both species and is organized in 5 exons. The *in situ* expression of the gene was studied in limb sections from an, approximately, six weeks human embryo and in tissue sections of mouse developmental stages ranging from E9.5 to E16.5d. The gene showed a predominant uniform expression in the cartilaginous limb skeletal precursors, vertebrae and ribs. Reverse transcription experiments using RNA samples from mouse embryonal limbs confirmed the above information. These data strongly suggest the isolation of a new gene, the mammalian homologue of *Drosophila neur* gene, exhibiting a tissue specific expression predominantly in early stages of limb development.

**CoPreTHi : ΕΝΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΓΙΑ ΤΟΝ
ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ
ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΑ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟ ΣΤΟ
ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ**

Προμπονάς, Β. Ι., Γ.Α. Παλαιός, C.M. Pasquier,

Ι.Σ. Χαμόδρακας και Σ.Ι. Χαμόδρακας

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής,

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Μέχρι σήμερα, έχουν αναπτύχθεί διάφορες μέθοδοι για την πρόβλεψη της ύπαρξης και της τοπολογίας διαμεμβρανικών τμημάτων σε πρωτεΐνικές ακολουθίες. Το CoPreTHi χρησιμοποιεί τα αποτελέσματα μερικών δημοφιλών μεθόδων (DAS, ISREC, PHD, SOSUI, TmPred, TopPred II), που είναι ελεύθερα προσβάσιμες μέσω του Διαδικτύου, συνδυάζοντάς τα σε ένα συνδυασμένο ιστόγραμμα για κάθε πρωτεΐνη. Παράλληλα υπολογίζεται ένας δείκτης αξιοπιστίας (Q) κατά Chou και Fasman καθώς και ο συντελεστής συσχέτισης κατά Mathews (C) για κάθε μέθοδο ξεχωριστά. Τα αποτελέσματα είναι δυνατόν να παρουσιαστούν υπό μορφή κειμένου ή γραφικών. Το CoPreTHi αποτελείται από δύο υποπρογράμματα από τα οποία το πρώτο δημιουργεί την φόρμα εισόδου των δεδομένων (αποτελέσματα μεθόδων πρόβλεψης) και εκτελεί τους υπολογισμούς, ενώ το δεύτερο δημιουργεί την γραφική παράσταση. Και τα δύο υποπρογράμματα είναι γραμμένα στη γλώσσα προγραμματισμού Java, ώστε να δημιουργείται μια διασύνδεση (interface) φιλική στον χρήστη. Με το πρόγραμμα αυτό, ελέγχεται τα αποτελέσματα των προαναφερθέντων μεθόδων σε γνωστές ακολουθίες διαμεμβρανικών πρωτεϊνών, κατατεθειμένων στη SwissProt, διαπιστώνοντας σημαντικές διαφορές στις προβλέψεις, ακόμη και για χαρακτηριστικά παραδείγματα, όπως η Βακτηριοροδοψίνη. Είναι διαθέσιμο για ελεύθερη χρήση στο Διαδίκτυο στην διεύθυνση:

<http://o2.db.uoa.gr/~vasilis/Main.html>

**CoPreTHi: A PROGRAM TO COMBINE THE RESULTS
OF TRANSMEMBRANE PROTEIN SEGMENT
PREDICTION METHODS, FREELY AVAILABLE
THROUGH THE INTERNET**

**Promponas, V.J., G.A. Palaios, C.M. Pasquier,
J.S. Hamodrakas and S. J. Hamodrakas**

**Department of Biology, Division of Cell Biology and Biophysics,
University of Athens, Athens 157 01, Greece**

Different methods have been developed for the prediction and topology of transmembrane segments in protein sequences. CoPreTHi uses the results of the most popular prediction methods (DAS, ISREC, PHD, SOSUI, TmPred, TopPred II) that are freely available through the Internet, combining them into a joint histogram for each protein. A Chou and Fasman reliability index (Q) and a Mathews correlation coefficient (C) are calculated for each method separately. The results may be presented in plain text or in graphics mode. CoPreTHi consists of two subprograms: the first creates the input form for the data (results of individual prediction methods) and performs the calculations, whereas the second draws a graphical representation. Both subprograms are written in Java, so that the interface is user friendly. Using this program, we compared the results of the methods mentioned above, in known sequences of transmembrane proteins, deposited in SwissProt. Significant differences were found between the prediction methods, even in characteristic examples, such as Bacterial Rhodopsin. It is freely available for use through the Internet at the address:

<http://o2.db.uoa.gr/~vasilis/Main.html>

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΙ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΑΜΒΡΑΚΙΑΣ (ΝΟΜΟΣ ΑΙΤΩΛ/ΝΙΑΣ) ΜΕ ΚΕΦΑΛΟΕΙΔΗ. ΠΡΩΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ρογδάκης*, Ι. και Γ. Μίνος**

*Ιχθυοκαλλιεργητικό Κέντρο Αχελώου Α.Ε., Νεοχώρι
Μεσολογγίου, 30001, Μεσολόγγι, **Εργαστήριο Ζωολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται τα πρώτα αποτελέσματα από τη διενέργεια πειραματικών εμπλουτισμών της λίμνης Αμβρακίας (νομός Αιτωλ/νίας) με κεφαλοειδή των ειδών *Mugil cephalus* και *Liza ramada* (ερευνητικό έργο που υλοποιεί το ΙΧΘΥΚΑ με χρηματοδότηση από τη Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Αιτωλ/νίας). Τα ιχθύδια προέρχονται από φυσικούς πληθυσμούς (άγριος γόνος) που αλιεύθηκαν και προαναπτύχθηκαν στις εγκαταστάσεις που διαθέτει το ΙΧΘΥΚΑ στις εκβολές του Αχελώου. Τον Ιούνιο του 1996, ελευθερώθηκαν στη λίμνη 9.000 άτομα κέφαλου (*M. cephalus*) μέσου βάρους 3.5 γρ. και 1.144 άτομα μαυράκι (*L. ramada*) μέσου βάρους 5.0 γρ. Οι εμπλουτισμοί επαναλήφθηκαν τον Μάιο του 1997, με την ελευθέρωση 7.000 ατόμων *M. cephalus* και 51.000 ατόμων *L. ramada* μέσου βάρους 2.5 γρ. Σκοπός του έργου είναι η διερεύνηση και ο καθορισμός των οικονομοτεχνικών προϋποθέσεων και συνθηκών διενέργειας εμπλουτισμών με τα είδη αυτά των λιμνών του νομού Αιτωλ/νίας, με στόχο την ενίσχυση της ιχθυοπαραγωγής των λιμνών και τόνωση των τοπικών οικονομιών. Τα αποτελέσματα είναι ιδιαίτερα ικανοποιητικά. Το Νοέμβριο του 1996, πέντε μήνες μετά τον πρώτο εμπλουτισμό, εμφανίζονται στο αλίευμα άτομα *M. cephalus* και *L. ramada* με μέσα ατομικά βάρη 312 και 128 γρ. αντίστοιχα, τη στιγμή που δείγμα του ίδιου πληθυσμού που κρατείται ως μάρτυρας στη λιμνοθάλασσα του ΙΧΘΥΚΑ ήταν 52,1 και 63,4 γρ. αντίστοιχα. Η καταγραφή των δεδομένων, μέχρι στιγμής, φαίνεται ότι επιβεβαιώνει τις υποθέσεις στις οποίες στηρίχτηκε ο σχεδιασμός του έργου, δηλ. ότι και τα δύο είδη μπορούν εύκολα να εγκλιματιστούν και να προσαρμοστούν στο περιβάλλον των λιμνών και να αξιοποιηθούν στο μέγιστο δυνατό τα τροφικά διαθέσιμα της πελαγικής ζώνης για την ανάπτυξή τους. Η ιδιαίτερα ικανοποιητική ανάπτυξη και των δύο ειδών που καταγράφτηκε, μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα είδη αυτά μπορούν να αποτελέσουν ένα νέο ενδιαφέρον αντικείμενο για εμπλουτισμούς των λιμνών με πολύ καλή ανάπτυξη, παρέχοντας σημαντικά πλεονεκτήματα, σε σχέση με άλλα είδη.

EXPERIMENTAL TRANSPLANTATION IN LAKE AMVRAKIA WITH MUGILIDAE. FIRST RESULTS

Rogdakis*, I. and G. Minos**

***Aquaculture Centre of Acheloos S.A., Neohori, 30001,
Mesologhi, Greece, **Zoological Laboratory, Department of
Biology, University of Patras, 26500, Patras, Greece**

The present paper deals with the first results of an experimental transplantation in lake Amvrakia (prefecture of Etolokarnania) with Mugilidae fry of *Mugil cephalus* and *Liza ramada*, during a project substantiating from the Aquaculture Centre of Acheloos SA. financed by the Etolokarnania prefecture. The Mugilidae fry originated from wild populations, were fished in winter of 1996 and 1997 and they adapted to fresh water in ACEA installations. In June of 1996, there were released in lake Amvrakia 9.000 individuals of *M. cephalus* of about 3.5 gr. and 1.144 individuals of *L. ramada* about 5.0 gr. The same procedure repeated in May of 1997, with 7.000 *M. cephalus* and 51.000 *L. ramada* individuals, about 2,5 gr. Scope of this project is to investigate the technical and economical point of transplanting Mugilidae in lakes of Etolokarnania, expecting as a result the reinforcement of lake fish production and fisherman's income. The results were more than satisfied. After 5 months, in November of 1996 fishes of *M. cephalus* and *L. ramada* were about 312 and 128 gr. respectively, when sample of the same population rearing in ACEA lagoon were not more than 52,1 and 63,4 gr. respectively. The results, so far, reinforce the relevance which were supported the design of the project. This is that, both species can be acclimatized and adapted in lake environment, as reported in bibliography, and utilizing in much degree the food availability in pelagic zone for their growth. The very satisfied growth of both species as recorded, leads us to the conclusion that these species can be a new interesting subject for transplanting lakes with very good growth results, giving us a lot of advantages instant with other species. Biological and economical advantages, since Mugilidae have much more marketable value from the other species of lake ichthyofauna.

ΕΡΕΥΝΑ ΣΕ ΟΜΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΕΤΕΡΟΚΥΤΤΑΡΑ ΔΙΔΥΜΑ ΣΤΟ ΒΟΡΕΙΟΕΛΛΑΔΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

**Ρουμελιώτη, Κατερίνα και Α. Πέντζου - Δαπόντε
ΑΠΘ, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας,
54006 Θεσσαλονίκη**

Κατά την γονιμοποίηση ενώνεται το ωάριο με το σπερματοζωάριο και δημιουργείται το ζυγωτό, το οποίο θα εξελιχθεί σε νέο άτομο. Όταν το γονιμοποιημένο ωάριο χωρίζεται σε δύο πλήρεις, ανεξάρτητους βλαστούς, και ο καθένας από αυτούς αναπτύσσεται σε κανονικό έμβρυο, προκύπτουν τα ομοκύτταρα δίδυμα. Αυτά είναι σπανιότερα από τα ετεροκύτταρα, τα οποία δημιουργούνται με γονιμοποίηση δυο ή περισσότερων ωαρίων και δεν μοιάζουν πάντα μεταξύ τους. Διαφορετική εκδήλωση γνωρισμάτων σε ομοκύτταρα ζεύγη διδύμων ερμηνεύεται σαν αποτέλεσμα περιβαλλοντικής επίδρασης (π.χ. τροφής) ή σωματικής μετάλλαξης στα πρώτα στάδια ανάπτυξης. Όταν ο βαθμός συγγένειας μεταξύ ομοκυττάρων διδύμων είναι μεγαλύτερος απ' αυτόν των ετεροκύτταρων, το γνώρισμα θεωρείται ότι έχει γενετική βάση, ενώ όταν είναι ίσος εξαρτάται απ' το περιβάλλον.

ΛΑΚΚΑΚΙΑ	Και στα δυο	Σε κανένα	Μόνο σε ένα
Ομοκύτταρα	0%	80%	20%
Ετεροκύτταρα	50%	0%	50%

ΑΝΑΔΙΠΛΩΣΗ	Κάνουν	Δεν κάνουν	Μόνο το ένα
Ομοκύτταρα	20%	60%	20%

Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι στο σταύρωμα των χεριών και των βραχιόνων στα λακκάκια και στην αναδίπλωση της γλώσσας συμμετέχει κυρίως η γενετική σύσταση των εξεταζομένων ατόμων. Είναι φανερό λοιπόν, ότι τα ομοκύτταρα δίδυμα έχουν τις ίδιες κληρονομικές καταθέσεις, ενώ τα ετεροκύτταρα διαφορετικές.

STUDY ON THE IDENTICAL AND HETEROZYGOTIC TWINS IN GREEK POPULATION

Roumelioti, Katerina and Athena Pentzou-Daponte
Aristotle University, Faculty of Sciences,
Department of Biology, 54006 Thessaloniki, Greece

During the fertilization, the ovule is joined with the spermatozoon and the zygote is created, which will be developed into a new person. When the fertilized ovule divides into two complete, independent boughs and each one develops into a normal fetus, the identical twins are created. These aren't as frequent as the heterozygotic twins are, which develop after the fertilization of two or more ovules and aren't always similar to each other. The different expression of the signs of the identical pairs of twins is interpreted as the result of an environmental influence (e.g. nutrition) or a somatic mutation during the first stages of development. When the relation ratio between the identical twins is higher than the heterozygotic twins' one, the characteristic is considered to have genetic base, when it's equal it depends on the environment.

DIMPLES	BOTH	NONE	ONLY ONE
Identical	0%	80%	20%
Heterozygotic	50%	0%	50%

REFOLDING	THEY DO	THEY DON'T	ONE DOES
Identical	20%	60%	20%

Our results support that at the refolding of the tongue, the dimples and the folding of the arms and the hands, the genetic base of the examined persons mainly participates. It's obvious that the identical twins have the same hereditary depositions, while the heterozygotic have different ones.

**ANTISENSE ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ LBF1 ΤΗΣ ΨΥΧΑΝΘΟ-
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ, ΣΤΟ *LOTUS JAPONICUS***

**Ρούσσης, Α., P. Esbenssen, N. Pallisgaard, K.A. Marcker
και Erik Østergaard-Jensen**

**Laboratory of Gene Expression, IMSB, Aarhus University
Gustav Wieds Vej 10, 8000 Aarhus C, Denmark**

Το ενδιαφέρον μας εστιάζεται στη μελέτη ρυθμιστικών γονιδίων που συμμετέχουν στο σχηματισμό, ανάπτυξη και λειτουργία των φυματίων που δημιουργούνται στις ρίζες των ψυχανθών ύστερα από τη μόλυνση τους από τα ριζόβια. Προκειμένου να απομονώσουμε γονίδια που ελέγχουν σε μεταγραφικό επίπεδο την έκφραση της ψυχανθοαιμοσφαιρίνης κατά την λειτουργία του φυματίου, σαρώσαμε μία λΖΑΡ cDNA βιβλιοθήκη έκφρασης της σόγιας με τη μέθοδο South-Western. Ένας από τους θετικούς κλώνους, που ονομάστηκε LBF1, παρουσιάζει σημαντική ομολογία με τους μεταγραφικούς παράγοντες BPF1 (*Petroselinum crispum*) και IBP1 (*Zea mays*). Για να προσεγγίσουμε την *in-vivo* λειτουργία του γονιδίου LBF1, απομονώσαμε γενωματικούς και cDNA κλώνους από το ψυχανθές-μοντέλο *Lotus japonicus*, ώστε να εκμεταλευτούμε τις δυνατότητες δημιουργίας διαγενετικών φυτών, που παρέχει. Μετασχηματισμένα φυτά που εκφράζουν αντιπληροφοριακό LBF1 mRNA, παρουσιάζουν φαινοτυπικές αλλαγές που σχετίζονται με την εμφάνιση νεκρωτικών κυττάρων του φλοιού της ρίζας, φυματίων με πρόωρη γήρανση και με ιδιαίτερα χαμηλά ποσοστά αζωτοδέσμευσης. Ανάλυση της S1 γενιάς, έδειξε ότι ο φαινότυπος κληρονομείται ως απλός γονιδιακός τόπος. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι ο *trans* - παράγοντας LBF1 παίζει κεντρικό ρόλο στον μεταγραφικό έλεγχο της ψυχανθοαιμοσφαιρίνης και σε μηχανισμούς άμυνας του φυτού. Μελλοντικά πειράματα, στοχεύουν στην κατανόηση της αλληλεπίδρασης του LBF1 με άλλες ρυθμιστικές πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη ρύθμιση της έκφρασης των ψυχανθοαιμοσφαιρινών.

ANTISENSE INHIBITION OF THE LEGHEMOGLOBIN TRANS-ACTING FACTOR LBF1, IN *LOTUS* *JAPONICUS*

**Roussis, A., P. Esbessen, N. Pallisgaard, K.A. Marcker
and Erik Østergaard-Jensen**

**Laboratory of Gene Expression, IMSB, Aarhus University
Gustav Wieds Vej 10, 8000 Aarhus C, Denmark**

We were interested in identifying important regulatory genes participating in the establishment, development and function of the nodule structure, which is formed on the roots of leguminous plants upon infection with *Rhizobium*. In order to circumvent the limitations of the conventional purification procedures for isolating rare *trans*-acting factors we probed a soybean λ ZAP expression library with leghemoglobin promoter fragments, employing the South-Western technique. Among several DNA-binding proteins isolated, LBF1 exhibits significant similarity to the pathogen-induced transcription factor BPF1 of parsley and to the IBP1 DNA-binding protein of the *shrunken* initiator of maize. To approach the *in-vivo* function of LBF1, the corresponding gene and cDNA were isolated from the model legume plant *Lotus japonicus*. This enabled us to take advantage of the well established transformation system in this leguminous species. Transgenic plants expressing LBF1 antisense mRNA showed interesting phenotypes: roots in which necrotic cells appear in the presence of the microsymbiont, greenish nodules that enter senescence faster than the wild-type and contain no visible signs of leghemoglobin. Analysis of the S1 progeny demonstrates that the phenotype segregates as a single mendelian locus. Our results indicate that LBF1 is a novel transcription factor and plays a central role in leghemoglobin expression and in defence responses. Future experiments aim in understanding the interaction of LBF1 with other regulatory proteins involved in the transcriptional regulation of leghemoglobin genes.

Ac/Ds KAI T-DNA TAGGING ΣΤΟ *LOTUS JAPONICUS*

**Ρούσσης, A., K. Larsen, L. Schausler, E. Pajuelo
και Jens Stougaard**

**Laboratory of Gene Expression, IMSB, Aarhus University
Gustav Wieds Vej 10, 8000 Aarhus C, Denmark**

Ο σχηματισμός φυματίων στις ρίζες των ψυχανθών είναι μία αναπτυξιακή διαδικασία στην οποία συμμετέχουν ομάδες γονιδίων τόσο από το φυτό όσο και από το μικροσυμβιότη. Στόχος μας ήταν να απομονώσουμε και να χαρακτηρίσουμε νέα γονίδια του φυτού που ελέγχουν την οργανογένεση των φυματίων και επάγονται σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια. Συμβατικές βιοχημικές τεχνικές, ή τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA έχουν αποδειχθεί ανεπαρκείς σε παρόμοιες περιπτώσεις μια και τέτοια γονίδια μπορεί να εκφράζονται όχι μόνο με μη σταθερό τρόπο, αλλά και σε συγκεκριμένους κυτταρικούς τύπους και αναπτυξιακά στάδια. Για αυτούς τους λόγους, η μεθοδολογία που ακολουθήσαμε ήταν η δημιουργία μεταλλάξεων με T-DNA και μεταθετά στοιχεία, στο ψυχανθές-μοντέλο *Lotus japonicus*. Τα μεταθετά στοιχεία του καλαμποκιού Ac και Ds έχουν ήδη εισαχθεί στο γένωμα του φυτού και περισσότερες από 1000 μετασχηματισμένες σειρές που τα φέρουν, έχουν χαρακτηριστεί. Η αρχική σάρωση ενός τμήματος των παραπάνω φυτών, αλλά και T-DNA μετασχηματισμένων, έχει οδηγήσει μέχρι στιγμής στην απομόνωση 10 μορφολογικών μεταλλαγμάτων, μεταξύ των οποίων ορισμένα με Fix⁺ και Nod⁺ φαινότυπους.

Ac/Ds AND T-DNA TAGGING IN LOTUS JAPONICUS

**Roussis A., K. Larsen, L. Schausler, E. Pajuelo
and Jens Stougaard**

**Laboratory of Gene Expression, IMSB, Aarhus University
Gustav Wieds Vej 10, 8000 Aarhus C, Denmark**

Formation of nitrogen fixing root nodules on the roots of leguminous plants is a unique developmental process in which gene sets from both bacteria and plants participate. Our aim was to identify developmentally controlled plant genes regulating this organogenic process. Identification of such plant genes has been difficult by conventional biochemical and recombinant techniques since these genes may be expressed transiently and often only in particular cell types at a particular developmental stage. Insertion mutagenesis by T-DNA or transposable elements have played a central role in the identification of developmental genes controlling other plant developmental processes. The diploid autogamous legume species *L. japonicus* was chosen for the T-DNA and transposon tagging experiments. The maize transposable elements *Ac* and *Ds* have already been introduced into *L. japonicus* genome via *Agrobacterium* mediated transformation. More than 1000 transgenic lines carrying transposons in different positions have been established and our results have demonstrated the excision of *Ac* in *L. japonicus*, using the spectinomycin resistance assay. Re-insertion of *Ac* has been demonstrated by Southern analysis and by sequencing of IPCR fragments overlapping the termini of *Ac* elements in new positions. The initial screening of a minor part of the progeny from T-DNA transformed plants and from families segregating transposon tagged mutants have identified 10 putative morphological *L. japonicus* mutants. In order to identify a broader selection of symbiotic plant mutants progeny of the 1000 primary transformants and populations segregating putative transposon tagged mutants are being screened. Root nodule development is an organogenic process which is not strictly required for survival of the plant. Interesting mutations which could be lethal in normal plant development may therefore be isolated in this mutagenesis programme.

**ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ ΚΑΙ
ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΠΑΓΟΠΥΡΗΝΩΣΗΣ ΑΠΟ ΤΟ
ΒΑΚΤΗΡΙΟ *ZYMO MONAS MOBILIS* ΣΕ ΑΝΟΙΚΤΑ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ
ΜΕΛΑΣΑΣ**

Σαββίδης, Α. και Α.Δ. Καραγκούνη
Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
15781 Αθήνα

Το *Z. mobilis* είναι υποχρεωτικά αιθανολοπαραγωγός οργανισμός και ακολουθεί μία απλή μεταβολική οδό αποικοδόμησης των σακχάρων. Μπορεί να χρησιμοποιήσει σαν πηγή άνθρακα μόνο τα σάκχαρα γλυκόζη, φρουκτόζη και σακχαρόζη για την παραγωγή δύο μόνο προϊόντων: αιθανόλη και CO₂. Το βακτήριο *Z. mobilis* χρησιμοποιεί το μεταβολικό μονοπάτι του Entner-Doudoroff για τη μετατροπή των υδατανθράκων σε πυροσταφυλικό οξύ και με αποκαρβοξυλίωση μετατρέπει το πυροσταφυλικό σε αιθανόλη. Ένα οσμοανθεκτικό στέλεχος *Z. mobilis* CP4 το οποίο επιλέχθηκε με βάση το μέγιστο ρυθμό αύξησης σε συνθετικό θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 40 % (w/v) σακχαρόζη χρησιμοποιήθηκε σαν δέκτης για το πλασμίδιο pDS3154 και το πλασμίδιο pBZIP1 τα οποία περιέχουν το γονίδιο *inaZ* που κωδικοποιεί για την πρωτεΐνη παγοπυρήνωσης. Με αυτό τον τρόπο δημιουργήθηκαν δύο νέα στελέχη: Το *Z. mobilis* CP4 pDS3154 και το *Z. mobilis* CP4 pBZIP1. Τα δύο αυτά στελέχη αναπτύχθηκαν σε ανοικτό σύστημα καλλιέργειας με συνθετικό θρεπτικό υπόστρωμα και διάλυμα μελάσας 20 % (w/v). Έχουν γίνει προσπάθειες βελτίωσης της παραγωγής αιθανόλης και πρωτεΐνης παγοπυρήνωσης σε ανοικτά συστήματα καλλιέργειας και τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα δύο αυτά στελέχη μπορούν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία για τη σύγχρονη παραγωγή της αιθανόλης καθώς και της πρωτεΐνης παγοπυρήνωσης.

**SIMULTANEOUS PRODUCTION OF ETHANOL AND
ICE NUCLEATION PROTEIN BY *Zymomonas mobilis*
IN CONTINUOUS FERMENTATION OF SUGAR
BEAT MOLASSES**

Savvides, A. and A.D. Karagouni

**Section of Botany, Biology Department, University of Athens,
157 81 Athens, Greece**

The Gram-negative bacterium *Zymomonas mobilis* is an obligately fermentative organism able to utilise only glucose, fructose and sucrose, which are converted to the sole fermentation products ethanol and carbon dioxide. *Z. mobilis* uses exclusively the Entner-Doudoroff pathway for the conversion of carbohydrates to pyruvate and the decarboxyelastase mechanism for ethanol production. An osmotolerant *Z. mobilis* CP4 mutant which was selected as the fastest growing on medium containing up to 40 % (w/v) sucrose was used as host strain for pDS3154inaZ plasmid and for pBZIP1 plasmid that encode for the production of ice-nucleation protein. Then, two new strains: *Z. mobilis* CP4 sucr pDS3154 inaZ and *Z. mobilis* CP4 sucr pBZIP1 were derived for our studies. Both strains were grown in continuous-flow cultures in complete sucrose medium and in liquid medium containing up to 20 % (w/v) sugar beat molasses. Optimisation of production of ethanol and ice-nucleation protein in the continuous fermenter were made and our results suggested that the above strains could be used successfully for the simultaneous production.

ΟΙ ΡΗΤΙΝΟΦΟΡΟΙ ΑΓΩΓΟΙ ΤΟΥ ΜΑΣΤΙΧΟΔΕΝΔΡΟΥ ΤΗΣ ΧΙΟΥ

Σαββίδης¹, Θ., Σ. Δαφνής¹ και E. Weryzko-Chmielewska²

¹Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., GR-54006

Θεσσαλονίκη, Greece, ²Katedra Botaniki, Akademia Rolnicza

PL-20950 Lublin, Poland

Οι ρητινοφόροι αγωγοί του μαστιχόδενδρου της Χίου (*Pistacia lentiscus var. Chia*) εντοπίζονται στο βλαστό, στα φύλλα και στη ρίζα και συνιστούν ένα ενιαίο σύστημα. Βρίσκονται σε στενή σύνδεση με το φλοίωμα των ηθμαγγειωδών δεσμίδων το οποίο συνοδεύουν κατά κανόνα. Οριοθετούνται από επιθηλιακά κύτταρα και εξωτερικά προστατεύονται από τόξα σκληρεγχυματικών ινών. Στην ίδια περιοχή απαντώνται και ιδιόβλαστα κύτταρα που περιέχουν κρυστάλλους οξαλικού ασβεστίου. Η έναρξη της δημιουργίας ενός αγωγού σηματοδοτείται με την διεύρυνση του μεσοκυττάριου χώρου ομάδας κυττάρων στο δευτερογενές φλοίωμα. Ο σχηματισμός της ρητίνης περιλαμβάνει δύο στάδια. Αρχικά ο σχηματισμός των επί μέρους συστατικών στα επιθηλιακά κύτταρα και στη συνέχεια η καταστροφή των κυττάρων αυτών και η απελευθέρωση των συστατικών στο εσωτερικό του αγωγού. Τα κυτταρικά τοιχώματα αυτών των κυττάρων διαλύνονται βαθμιαία ενώ πολυάριθμα κυστίδια που βρίσκονται κοντά στο κυτταρικό τοίχωμα μεταφέρουν εκεί τα κατάλληλα λυτικά ένζυμα για την αποδυνάμωση και τελικά τη λύση των κυτταρικών τοιχωμάτων. Τα διάφορα συστατικά των κυττάρων, τα υπολείματα των κυτταρικών τοιχωμάτων, μεμβράνες ακόμα και ολόκληρα κύτταρα δημιουργούν μία άμορφη μάζα η οποία αποτελεί το πρόδρομο υλικό της ρητίνης. Οι θέσεις όπου συντίθεται η ρητίνη δεν είναι ακόμη πλήρως γνωστές. Η παρουσία της ρητίνης σε διάφορα κυτταρικά οργανίδια φαίνεται μόνο από την ηλεκτρονική πυκνότητα που παρουσιάζουν τα τελευταία, ύστερα από χρώση με OsO₄. Πιστεύεται ότι η σύνθεση των τερπενίων της ρητίνης στα επιθηλιακά κύτταρα πραγματοποιείται, αρχικά στο εσωτερικό ή στη μεμβράνη των πλαστιδίων, τα οποία περιβάλλονται από ΕΔ και αργότερα στις μεμβράνες του Ε.Δ.

THE RESIN DUCTS OF CHIOS MASTIC-TREE

Sawidis¹, Thomas, Stefanos Dafnis¹

and Elzbieta Weryzko-Chmielewska²

¹Institute of Botany, University of Thessaloniki,
GR-54006 Thessaloniki, Macedonia, Greece, ²Katedra Botaniki,
Akademia Rolnicza, PL-20950 Lublin, Poland

The distribution, anatomy and development of the resin duct system responsible for the resin exudation in *Pistacia lentiscus* var. Chia was investigated. Resin ducts are present in the stem, leaf and root located only in phloem of the vascular bundles. They are tubular structures lined by a few layers of epithelial cells. Outwards the resin duct is well supported by arcs of sclerenchyma fibers. In the petiole and petiolule 5 resin ducts were found whereas in the midvein of the leaflet 3 resin ducts were present adjacent to vascular bundles. In the leaf primordium they are localized in the mesophyll below the dense conductive palisade parenchyma. Furthermore resin ducts were found in the leaf-scales protecting the dormant lateral buds. Ducts are surrounded by numerous crystal idioblasts. All resin duct systems of the root and stem, though separated from one another, form a continuous system with the corresponding ones in the leaf. The inner layers of epithelial cells seems to decomposed releasing their content into the duct lumen. In this space large masses of disorganized cytoplasm with many vesicles and organelles and wall remnants of the disintegrated cells could be found. The presence of resin ducts as well as the general structural characters of various plant organs is a part of the strategy that *Pistacia lentiscus* var. Chia has developed to deal with the stressful mediterranean climatic conditions. The presence of resin ducts in the form of three-dimensional network in leafs, stem and roots increased the water-holding capacity of tissues, helping the plant to prevent desiccation. On the other hand an injury to the bark will exude resin with the sap immediately in order to coat the cut surface. On this feature of *Pistacia lentiscus* var. Chia is based the extraction of resin, used as mastic, in Chios island from ancient time.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΥΞΗΣΗΣ
ΑΡΤΙΒΛΑΣΤΩΝ *PINUS NIGRA* ΚΑΙ *P. ROXBURGHII*
ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ**

Saeed, Mohammad και Kώστας Α. Θάνος

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας,

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 15784

Τα είδη *Pinus nigra* Arnold και *P. roxburghii* Sarg. απαντούν σε παρόμοιους ορεινούς βιοτόπους και διαθέτουν αρκετούς κοινούς φυσιολογικούς και οικολογικούς χαρακτήρες. Το πρώτο είδος έχει ευρεία εξάπλωση στη νότια Ευρώπη ενώ το δεύτερο απαντά στη ζώνη των μουσώνων στις παρυφές των Ιμαλαΐων (Πακιστάν μέχρι Μπουτάν). Στα πλαίσια της βιολογίας αναπαραγωγής και αναγέννησης των ειδών αυτών διερευνάται η αρχική αύξηση των αρτιβλάστων κάτω από εργαστηριακές συνθήκες προσομοίωσης. Χρησιμοποιώντας διάφορα φίλτρα και πηγές λευκού φωτός πυράκτωσης και φθορισμού επιτυγχάνονται 3 καθεστώτα φωτεινών συνθηκών που προσομοιώνουν τις φωτεινές συνθήκες που συναντώνται σε ανοικτούς βιοτόπους, σε δασικά ανοίγματα (ξέφωτα) καθώς και κάτω από πυκνή κόμη. Επιπλέον στο εργαστήριο ελέγχονται και τροποποιούνται κατάλληλα η φωτεινή ένταση και η θερμοκρασία έτσι ώστε να προσομοιώνονται οι μέσες κλιματικές συνθήκες κατά την άνοιξη. Η αύξηση των αρτιβλάστων μελετάται σε δείγματα που 'θερίζονται' κάθε 7-10 ημέρες για περίοδο 1 και 2 μηνών, για τα δύο είδη, αντίστοιχα. Η άριστη ανάπτυξη λαμβάνεται και στα δύο είδη σε συνθήκες ανοικτού βιοτόπου. Το δεύτερο είδος πάντως φαίνεται περισσότερο ανθεκτικό κάτω από φωτομορφογενετικά αντίξοες συνθήκες αφού σχεδόν όλα τα αρτιβλαστά επιβίωσαν κατά την περίοδο του πειραματισμού (64 ημέρες) αν και η συνολική αύξηση κάτω από συνθήκες πυκνής σκίασης ήταν μάλλον αμελητέα. Από την άλλη πλευρά όλα σχεδόν τα αρτιβλαστά της *P. nigra* νεκρώθηκαν κάτω από πυκνή σκίαση. Σε συνθήκες 'ανοίγματος' και τα δύο είδη επιβίωσαν αλλά η αύξησή τους ήταν πολύ περιορισμένη. Ιδιαίτερα, η ανάπτυξη πρωτογενών βελονών ήταν εξαιρετικά καθυστερημένη με αποτέλεσμα την καταστολή της επαύξησης της βιομάζας των αρτιβλάστων. Σε συνθήκες ανοικτού βιοτόπου η αύξηση των δύο ειδών είναι σημαντική έτσι ώστε στο τέλος της περιόδου πειραματισμού έχει διπλασιασθεί το ξηρό βάρος. Αξίζει ακόμη να σημειωθεί ότι μεγάλα κλάσματα της τελικής βιομάζας των φυταρίων έχουν επιμερισθεί στις πρωτογενείς βελόνες.

A COMPARATIVE GROWTH ANALYSIS OF *PINUS NIGRA* AND *P. ROXBURGHII* SEEDLINGS UNDER SIMULATED CONDITIONS

Saeed, Mohammad and Costas A. Thanos

Department of Botany, Faculty of Biology,

University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15784, Greece

Pinus nigra Arnold and *P. roxburghii* Sarg. constitute a pair of pine species that occupy similar montane habitats and share several physiological and ecological attributes. The former species is widespread in southern Europe while the latter is distributed in the monsoon belt of outer Himalayas from Pakistan to Bhutan. As a contribution to their reproductive and regeneration biology, the early seedling growth of the two pine species was studied under simulated conditions in the lab. Using various filters and both incandescent and fluorescent white light sources, 3 types of illumination regimes were developed. These 3 regimes simulated light conditions in the open, in a forest gap and under a dense canopy, respectively. Besides light quality, light intensity and temperature were additionally controlled to simulate daily conditions (dawn, mid-day, dusk, night) during springtime. Graphs of light spectra and daily temperature fluctuations will be presented. Seedling growth was studied on samples harvested every 7-10 days during a period of 1 and 2 months, for *Pinus nigra* and *P. roxburghii* respectively. Both species grow optimally under open habitat (full light) conditions. The latter species was shown to be more tolerant under photomorphogenetically adverse conditions; almost all seedlings survived a 64-day period under 'closed canopy' light (although their overall growth was negligible). On the other hand, almost all *P. nigra* seedlings died in 'closed canopy' within the 32-day period of study. Under 'forest gap' conditions both species survived but their growth was restricted. In particular, the development of primary needles was considerably delayed and as a consequence the overall biomass gain was suppressed. In 'open habitat' conditions, both species grew notably and doubled their total dry weight during the experimentation period. It is noteworthy that important fractions of dry biomass (1/4 and 1/3 of total, respectively, for the two species) have been allocated to the primary needles by the end of the study period.

ΕΠΙΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΟΖΟΝΤΟΣ ΣΤΗΝ ΚΒΑΝΤΙΚΗ ΑΠΟΔΟΣΗ ΤΗΣ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΗ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗ ΕΚΤΕΘΕΙΜΕΝΩΝ ΦΥΤΩΝ ΚΑΠΝΟΥ

**Σαιτάνης, Κ., Α. Ρήγα-Καρανδεινού και Μ. Γ. Καρανδεινός
Εργαστήριο Οικολογίας και Προστασίας του Περιβάλλοντος
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 11855**

Το όζον είναι ένας ευρέως διαδεδομένος δευτερογενής αέριος ρύπος με υψηλή φυτοτοξική δράση σε καλλιεργούμενα και μη φυτά. Ο καπνός είναι από τα πρώτα φυτά στα οποία διαπιστώθηκαν συμπτώματα τοξικότητας όζοντος (weather flecks). Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η επίδραση του Ο₃ στην κβαντική απόδοση της φωτοσύνθεσης και στην περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη φυτών της ποικιλίας Bel-W3 - γνωστή ως βιοδείκτης όζοντος - και επτά ποικιλιών καπνού που καλλιεργούνται στην Ελλάδα. Τα φυτά εκτέθηκαν σε 135ppb X 20ημ. X 8ωρ./ημ. εντός θαλάμων ελεγχομένων συνθηκών. Οι μετρήσεις έγιναν σε τρία κατά ύψος επίπεδα των φυτών (βάση, μέση και κορυφή) και σε περιοχές των φύλλων οι οποίες δεν είχαν νεκρωτικές κηλίδες. Από τη μεταχείριση αυτή διαπιστώθηκε ότι: α) Στα φυτά των περισσότερων ποικιλιών αναπτύχθηκαν χλωρωτικές και νεκρωτικές κηλίδες κυρίως στα ώριμα φύλλα της βάσης. Εντονότερα συμπτώματα αναπτύχθηκαν στα φύλλα της ποικιλίας Bel-W3 και δευτερευόντως της ποικιλίας Ζιχνομυρωδάτα (KK6/5). Το γεγονός ότι η μορφολογία των συμπτωμάτων καθώς και το κατώφλι ευαισθησίας διέφεραν στις δύο ποικιλίες, τις αναδεικνύει ως χρήσιμο ζεύγος βιοδεικτών όζοντος. Η παρατήρηση αυτή επαναβεβαιώθηκε και με άλλα πειράματα και αξιοποιήθηκε για την βιοκαταγραφή της παρουσίας τροποσφαιρικού όζοντος στην Ελληνική ύπαιθρο. β) Στα φύλλα της βάσης παρατηρήθηκε μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας τόσο στα εκτεθειμένα φυτά όσο και στα φυτά μάρτυρες, ενδεχομένως λόγω γήρανσης των φύλλων. Πέραν αυτού, η κβαντική απόδοση της φωτοσύνθεσης των εκτεθειμένων φυτών ήταν μικρότερη από ότι των φυτών μαρτύρων. Η μείωση αυτή ήταν σαφής κυρίως στα κατώτερα και λιγότερο στα μεσαία φύλλα. Μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε στις δύο ποικιλίες βιοδείκτες, Bel-W3 και Ζιχνομυρωδάτα. γ) Η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη μειώθηκε στατιστικά σημαντικά στα κατώτερα φύλλα όλων των ποικιλιών. Η μείωση αυτή εκφράστηκε ως χλώρωση των φύλλων. δ) Παρατηρήθηκε μικρή αύξηση του λόγου chl b/a (<10%) στα εκτεθειμένα φυτά η οποία δηλώνει μεγαλύτερη ευαισθησία της chl a στο όζον.

EFFECTS OF OZONE IN QUANTUM YIELD OF PHOTOSYNTHESIS AND IN CHLOROPHYLL CONTENT OF EXPOSED TOBACCO PLANTS

Saitanis, C., A. Riga-Karandinos and M. G. Karandinos
Laboratory of Ecology and Environmental Sciences
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75,
Athens 11855, Greece

Ozone is recognized as a widespread secondary photochemical air pollutant with high phytotoxic effects on plants. Tobacco was one of the first species on which symptoms of ozone (weather flecks) were recorded. In the present work the effects of ozone in quantum yield of photosynthesis and in chlorophyll content of Bel-W3 - a well-known ozone bioindicator - and seven other tobacco varieties cultivated in Greece were explored. Plants in environment controlled chambers were exposed to 135ppb X 20d X 8h/d. Measurements were taken in three levels (basal, middle and top leaves) of plants, in areas of leaves not having necrotic spots. From this treatment the following results were ascertained: a) Chlorotic and necrotic spots were observed in the exposed plants of most varieties tested here. Symptoms of ozone toxicity appeared mainly on the mature basal leaves. The most damaged plants were those of the Bel-W3 variety followed by those of the Zichnomirodata (KK6/5) variety. The fact that the appearance of symptoms as well as the sensitivity threshold were different between these varieties, renders them as a good pair of ozone bioindicators. These observations, reconfirmed by other experiments, were utilized for biomonitoring of tropospheric ozone in rural areas of Greece. b) The Photosynthetic activity was reduced in basal leaves, of both control and exposed plants, due perhaps to their aging. The quantum yield of photosynthesis of exposed plants was lower than that of control plants. This reduction was clear mainly in lower and middle leaves. Greater reduction was observed in Bel-W3 and Zichnomirodata varieties. c) The chlorophyll content in the lower leaves in all varieties was significantly reduced. This reduction appeared as a chlorosis of these leaves. d) An increase in the chl *b/a* ratio was observed in the ozone exposed plants that was usually less than 10%, suggesting a greater sensitivity of chl *a*.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΟΣΟ ΤΩΝ ΠΑΡΕΙΑΚΩΝ ΟΣΟ ΚΑΙ ΤΟΥ ΓΕΝΕΙΑΚΟΥ ΒΟΘΡΙΟΥ

**Σάτρα, Μ., Α. Τριανταφύλλου και Α. Πέντζου – Δαπόντε
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας,
Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,
54006 Θεσσαλονίκη, Μακεδονία, Ελλάδα**

Στην εργασία αυτή μελετούμε την ποικιλότητα με την οποία εκφράζεται το γονίδιο που ευθύνεται τόσο για τα παρειακά όσο και για το γενειακό βοθρίο. Η ποικιλότητα αυτή είναι έκδηλη τόσο μεταξύ ατόμων με συγγενικούς δεσμούς (μέλη της ίδιας οικογένειας) όσο και γενικότερα στα άτομα του πληθυσμού. Τα παρειακά βοθρία, τα λακκάκια δηλαδή που παρατηρούνται στα μάγουλα, έχουν σχέση με τη θέση των ζυγωματικών οστών. Το γονίδιο που ευθύνεται για τη θέση των ζυγωματικών οστών και για τα παρειακά βοθρία φαίνεται ότι υπερέχει, η εκδηλωτικότητά του, όμως ποικίλλει. Έτσι, τα ζυγωματικά οστά μπορεί να βρίσκονται ψηλά ή χαμηλά (οι Ινδιάνοι της Αμερικής χαρακτηρίζονται από την ψηλή θέση των ζυγωματικών οστών), ενώ τα παρειακά βοθρία μπορεί να υπάρχουν είτε και στα δύο μάγουλα είτε μερικές φορές μόνο στο ένα. Συχνά, επίσης, ένα παρόμοιο βοθρίο, το γενειακό βρίσκεται στο πηγούνι. Το σχήμα δε του βοθρίου αυτού ποικίλλει.

STUDY OF THE VARIATION BOTH OF THE GENAL AND THE CHIN LACUNA

Satra, M., A. Triantafillou and Athina Pentzou – Daponte
Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology,
Department of Genetics, Development and Molecular Biology,
54006 Thessaloniki, Macedonia, Greece

In this assay we study the variation in the way the gene, which is responsible for the genal and the chin lacuna, is expressed. This variation is obvious both between people who are relatives (members of the same family) and generally among people of the population. The genal lacuna, which one can see on the cheeks of course, is associated with the position of cheekbones. The gene, which is responsible for the position of the cheekbones and the genal lacuna, seems to be dominant, but its demonstration is diversified. Thus, the cheekbones may be located high or low (the Indians of America are characterized by the high location of the cheekbones). Also the genal lacuna may exist either on both cheeks or sometimes only on the one. Moreover we often find a similar lacuna on the chin and the shape of this lacuna is found to be in high diversity.

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΙΤΩΝ ΣΤΟ ΜΕΣΕΝΤΕΡΟ ΤΟΥ *An. gambiae*

Siden-Kiamos*, I., G. Lycett*, K. Βλάχου*,
Γ. Βαλιανάτος*#, B. Μαχαιράκη*# και X. Λούης*#

*I.M.B.B., ITE και #Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης,
Ηράκλειο

Η ομάδα μας έχει αρχίσει εδώ και καιρό τη μοριακή μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ κουνουπιών και παρασίτων ελονοσίας στο μεσέντερο του *Anopheles gambiae*. Έχουμε ήδη απομονώσει γονίδιά του που εκφράζονται στο ενήλικο μεσέντερο (Siden-Kiamos et al. (1996) *Insect Mol. Biol.*, 5, 61-71.; Dimopoulos et al. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 93, 13066-13071.), και έχουμε επίσης μελετήσει σε διαγονιδιακές *D. melanogaster* την έκφραση του γονιδίου αναφοράς *lacZ* υπό τον έλεγχο υποκινητών γονιδίων θρυψίνης του *An. gambiae* (Skavdis et al. (1996) *EMBO J.*, 15, 344-350). Στα πλαίσια ενός δικτύου TMR προχωρήσαμε στην ανάλυση των διεργασιών στο μεσέντερο του κουνουπιού, προσπαθώντας να πιστοποιήσουμε τον πιθανό υποδοχέα των ωοκινητών των πλασμωδίων. Παρά το ότι ο «προσδέτης» του πιθανού υποδοχέα είναι ακόμα άγνωστος, προσπαθούμε να βρούμε πρωτεΐνες που θα μπορούσαν να αλληλεπιδρούν με την πρωτεΐνη Pbs21 του πλασμωδίου, ενός μικρού και αφθόνου πεπτιδίου της επιφάνειας του παρασίτου. Όταν το κουνούπι τρέφεται με μολυσμένο αίμα στο οποίο έχει προστεθεί αντίσωμα anti-Pbs21, η μετάδοση του παρασίτου στο κουνούπι εμποδίζεται λόγω της ανικανότητας εισχώρησης στο τοίχωμα του εντέρου. Χρησιμοποιούμε μία πλειάδα μεθόδων που δυνητικά πιστοποιούν τέτοιου είδος αλληλεπιδράσεις και ταυτοχρόνως απομονώνουμε και χαρακτηρίζουμε γονίδια πιθανών υποδοχέων του *An. gambiae*. Μέχρι στιγμής έχουμε απομονώσει τα ομόλογα γονίδια του υποδοχέα EGF, της λαμινίνης B και του υποδοχέα της λαμινίνης, και συνεχίζουμε την ανάλυσή τους. Επί πλέον προσπαθούμε να χρησιμοποιήσουμε το σύστημα δύο υβριδίων του σακχαρομήκυτα για να δούμε αν υπάρχουν μεσεντερικά πεπτίδια που αλληλεπιδρούν με την Pbs21. Τέλος προσπαθούμε να αναπτύξουμε ένα τεστ για την παρεμπόδιση της εισχώρησης των οοκινητών, εξετάζοντας μέσω αντισωμάτων τόσο την Pbs21 αλλά και τους πιθανούς υποδοχείς που προαναφέρθηκαν.

INSECT-PARASITE INTERACTIONS IN THE MIDGUT OF *An. gambiae*

Siden-Kiamos*, I., G. Lycett*, C. Vlachou*,
G. Valianatos*#, V. Mahairaki*# and C. Louis*#
*I.M.B.B., FORTH and #Department of Biology,
University of Crete, Heraklion, Greece

We have been interested in the study of mosquito/malaria-parasite interactions at the level of the mosquito's midgut for some time. In this respect we have tried to identify and to isolate *An. gambiae* genes that are expressed in the adult gut (Siden-Kiamos *et al.* (1996) *Insect Mol. Biol.*, 5, 61-71.; Dimopoulos *et al.* (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 93, 13066-13071.), but also, we have studied the expression of lacZ constructs under the control of the *An. gambiae* trypsin-encoding genes' promoters in transgenic *D. melanogaster* (Skavdis *et al.* (1996) *EMBO J.*, 15, 344-350). In the frame of a TMR network we extended our investigation of the events taking place in the mosquito midgut, trying to zero in on the putative receptor for the *Plasmodium* ookinete on its way to invade the midgut epithelium. Although a "ligand" for the putative receptor has not yet been unambiguously identified, we are trying to recognise molecules that could potentially interact with the *Plasmodium* Pbs21 protein, a relatively small and abundant surface peptide. When infected blood is supplied with specific anti-Pbs21 antibodies the transmission of the parasite in the mosquito is blocked due to the inability of the parasite to penetrate the gut. We are using a variety of methods that can detect protein/protein interactions, but we are also in the process isolating and characterising potential receptor molecules from *An. gambiae*. We have so far isolated cDNA and genomic clones for the *An. gambiae* genes encoding the homologues of the EGF receptor, the laminin B and the laminin receptor, and we are continuing their analysis. Furthermore, we are setting up a yeast two-hybrid system to look for potential genes whose products interact with the Pbs21 protein. Finally we are trying to develop an assay for the inhibition of midgut penetration by ookinetes. We are testing the assay using Pbs21, but we intend to try the assay, using recombinant antibodies, for the putative receptor molecules mentioned above.

ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ pH : ΜΕΛΕΤΗ ΑΚΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΣΤΗ *NEUROSPORA CRASSA*

Σιδερίδου*, Μ., Β. Γαλανόπουλος[^] και Β. Βομβογιάννη

*Πανεπιστήμιο Αθηνών, [^]Πανεπιστήμιο Κρήτης
και Ι. Β. 'Δημόκριτος'

Η αφυλετική αναπαραγωγή του μύκητα *Neurospora crassa* προσφέρεται για την μελέτη ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης κατά την ανάπτυξη και διαφοροποίηση. Στη βλαστική φάση ανάπτυξης, σε στερεό θρεπτικό υλικό, ο μύκητας αναπτύσσεται υπό μορφή νηματωδών υφών οι οποίες σχηματίζουν στρώμα. Συνεπεία περιβαλλοντικών ερεθισμάτων ο μύκητας εισέρχεται στον κύκλο της αφυλετικού κύκλου παράγοντας δύο είδη σπορίων. Η πιο κοινή μορφή είναι τα **μακροκονίδια** ή κονίδια. Τα κονίδια είναι πολυπύρηνα σπόρια τα οποία παράγονται με διαδοχικές εκβλαστήσεις σε ειδικές αέριες υφές, τους κονιδιοφόρους. Τα **μικροκονίδια** διαμορφώνονται στο περιβάλλον σχίζοντας το κυτταρικό τοίχωμα, αφήνοντας οπή. Τα βασικά στάδια κονιδιογένεσης (Springer, M. L. & Yanofsky, C., *Genes Dev*, 3, 559, 1989) είναι: α) η διαμόρφωση ειδικών αερίων διακλαδώσεων, β) η μετακίνηση των πυρήνων στα άκρα, γ) η διόγκωση των άκρων, δ) η εκβλάστηση των προκονιδιακών αλυσίδων, ε) ο σχηματισμός ειδικών διαφραγμάτων μεταξύ των εκβλαστήσεων και τελικά η απελευθέρωση τους ως κονίδια. Κονιδιογένεση δεν επάγεται σε υγρό θρεπτικό υλικό. Στα πλαίσια μελετών του μεταλλαγμένου στελέχους CH97 (ακονιδιακό υπό συνθήκες αναφοράς) βρέθηκε ότι το στέλεχος, κατ' αντίθεση προς τον φυσικό τύπο, προχωρεί σε κονιδιογένεση σε υγρές καλλιέργειες με pH 5,8 - 7,5. Η πορεία της κονιδιογένεσης μελετήθηκε με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης και με μικροσκόπιο φθορισμού. Τα αποτελέσματα συνηγορούν με την άποψη ότι οι μεταλλάξεις δεν παρεμβαίνουν αναστέλλοντας συγκεκριμένα στάδια κονιδιογένεσης αλλά αλλάζουν τον βαθμό σύζευξης (coupling) διαφόρων μεταβολικών αντιδράσεων που έμμεσα καθορίζουν την έκβαση μορφογενετικών διαδικασιών όπως μακρο- και μικροκονιδιογένεση και γήρανση των υφών.

pH-DEPENDENT CONIDIogenesis IN CH97, AN ACONIDIAL MUTANT OF *NEUROSPORA CRASSA*

Sideridou*, M., V. Galanopoulos[^] and V. Vomvoyanni

*University of Athens, [^]University of Crete and
I. B. 'Demokritos', Greece

The asexual reproductive cycle of *Neurospora crassa* is well suited for the study of the genetic control of differentiation. In the vegetative stage of its life cycle on solid media, *Neurospora* grows in the form of intertwined filamentous hyphae that eventually fuse into a mycelial mat. Under certain environmental cues the fungus enters asexual reproduction with two different types of spores: Macroconidia or simply conidia are multinucleated spores arising through repeated apical budding of specialized aerial hyphae called conidiophores. In aged cultures, microconidia originate inside vegetative hyphae and eventually rupture out through the hyphal cell wall leaving behind a hole. The sequence of events of conidiation involves five morphological steps: a) formation of specialized aerial branches; b) nuclear migration into the hyphal tips; c) swelling of the tips; d) apical budding of proconidial chains; e) septation and subsequent separation of mature conidia. These steps have been described by Springer and Yanofsky in *Genes Dev.* 3, 559, 1989. Under normal conditions there no conidiation is observed in liquid media. Here we present results from the mutant CH97, an aconidial female sterile strain which we find can be induced to produce conidia in liquid cultures by raising the pH of the medium from 5.8 to 7.5. This strain though remains aconidial on solid media. The process of conidiation in this mutant was studied by scanning electron microscopy and fluorescence microscopy and was correlated to changes in growth conditions. The process of conidiogenesis by this strain is different from that of the wild type in several respects. The data suggest that the mutation (s) did not abolish fundamental steps of conidiation but rather that they have altered thresholds and amplitudes of processes controlling micro-, macro-conidiation and the aging of hyphae.

**ΟΣΜΩΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ
ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ : ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΗΣ
ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΠΙΕΣΕΩΣ
ΣΠΑΡΓΗΣ**

**Σταματάκης, Κ., Αικ. Αλυγιζάκη-Ζορμπά
και Γ.Χ. Παπαγεωργίου
Ε.ΚΕ.Φ.Ε. «Δημόκριτος» Ινστιτούτο Βιολογίας,
Αγία Παρασκευή, 15310 Αθήνα**

Η κυτταρική μεμβράνη είναι βασικός φραγμός ελέγχου διαπερατότητας ουσιών, αλλά είναι ελεύθερα προσπελάσιμη στο νερό. Η εξομοίωση των δυναμικών του νερού στα δύο μέρη αυτής γίνεται με την απρόσκοπτη μεταφορά νερού διαμέσου αυτής. Οι δυσμενείς αλλαγές που επέρχονται, κάτω από αντίξοες περιβαλοντικές συνθήκες, στην πίεση σπαργής και στην δομή της κυτταρικής μεμβράνης είναι περιοριστικός παράγων για την επιβίωση των φυτικών κυττάρων. Ένας κυτταρικός προσαρμοστικός μηχανισμός είναι η σύνθεση και η συσσώρευση συμβατών, χαμηλού μοριακού βάρους, οσμορρυθμιστικών ουσιών στο εσωτερικό τους. Στην εργασία αυτή μελετήσαμε δύο ερωτήματα που αφορούν την ανθεκτικότητα των κυανοβακτηρίων σε συνθήκες αλατότητας. (α) Πόσο είναι το κατώφλι σπαργής, δηλ. ποιά είναι η μέγιστη εξωτερική ωσμωτικότητα στην οποία τα κύτταρα είναι ικανά να διατηρήσουν σπαργή; (β) Κάτω από ποιές υπεροσμωτικές συνθήκες τροποποιείται η λειτουργικότητα της κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων αυτών. Στα κυανοβακτήρια, η φωτοσυνθετική τους συσκευή είναι παρόμοια με των ανωτέρων φυτών. Αναπτύχθηκε μια μέθοδος προσδιορισμού του κατωφλίου σπαργής με την μέτρηση του φθορισμού της χλωροφύλλης *a* (Chl *a*). Παρατηρήθηκε ότι η φωτοεπαγόμενη αύξηση του φθορισμού της Chl *a* ελαττούνται με την αύξηση της ωσμωτικότητας του κυτταρικού αιωρήματος, που προκαλεί έξοδο νερού από τα κύτταρα. Η απεικόνηση της ελάτωσης του μέγιστου φθορισμού της χλωροφύλλης *a* ως πρός το αντίστροφο της ωσμωτικής συγκέντρωσης αποτελείται από δύο τεμνόμενες ευθείες. Το σημείο τομής τους απεικονίζει το κατώφλι σπαργής στο κύτταρο (Papageorgiou G.C., Alygizaki-Zorba Aik. Biochim. Biophys. Acta 1335: 1-4 1997) Η επίδραση υπεροσμωτικού shock, άνω του 1.0 Osm Kg⁻¹, στα κύτταρα προκάλεσε μια μη αναστρέψιμη καταστροφή της λειτουργικότητας των κυτταρικών μεμβρανών.

OSMOTIC FRAGILITY OF CELL MEMBRANES: APPLICATION OF NOVEL FLUOROMETRIC METHOD FOR THE ESTIMATION OF CELL TURGOR

Stamatakis, K., A. Alygizaki-Zorba and G.C. Papageorgiou
N.R.C. Demokritos Institute of Biology, Aghia Paraskevi 15310,
Athens, Greece

Cell membranes act as a selective barrier for solutes but they are virtually freely permeable to water. The free passage of water across the cell membranes leads to the equilibration of water potential inside and outside of the cell. The effect of environmental stresses on turgor pressure and cell membrane structure affects the survival of plant cells. One cellular defensive mechanism is the synthesis and accumulation of low molecular weight osmoregulatory substances (compatible osmolytes) in plant cells. In this work we asked two questions that pertain to the salinity tolerance of cyanobacterial cells. (a) What is the *turgor threshold*, namely what is the maximal external osmolality at which cells are able to maintain turgor? (b) Do hyperosmotic suspension media modify the osmotic functionality of the cell membranes of these cells? Cyanobacteria have a photosynthetic apparatus which is similar to that of higher plants. We applied a new sensitive method for the estimation of cell turgor which is based on measurements of chlorophyll *a* (Chl *a*) fluorescence. The light induced rise of Chl *a* fluorescence of cyanobacteria cells is depressed when the osmolality of the suspension increased. Therefore this depression indicates osmotic outflow of cytoplasmic water. The plot of the Chl *a* fluorescence depression vs the inverse of suspension osmolality consists of two linear segments that intersect at a point that corresponds to the turgor threshold (Papageorgiou G.C., Alygizaki-Zorba Aik. Biochim. Biophys. Acta 1335:1-4 1997). Transient hyperosmotic shocks in excess of 1.0 Osm Kg⁻¹ were found to damage the osmotic functionality of cell membranes irreversibly.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΕΝΔΟΕΙΔΙΚΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΜΠΑΡΜΠΟΥΝΙΟΥ (*Mullus surmuletus*) ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ RAPD

Σταμάτης¹, Κ., Ζ. Μαμούρης¹ και Κ. Τριανταφυλλίδης²

¹Γενικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος και ²Τομέας
Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, ΑΠΘ,
Θεσσαλονίκη

Στην παρούσα μελέτη επιχειρήθηκε ο προσδιορισμός της ενδοειδικής γενετικής ποικιλομορφίας του μπαρμπουνιού (*Mullus surmuletus*) με τη μέθοδο RAPD. Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε πληθυσμούς μπαρμπουνιού που συλλέχθηκαν από 5 θαλλάσιες περιοχές της Καβάλας, του Τρικερίου, της Πρέβεζας, της Ρόδου και του Κόλπου της Lion στη Γαλλία. Αναλύθηκαν συνολικά 184 δείκτες RAPD και υπολογίστηκαν οι γενετικές αποστάσεις του Nei. Από τους 40 εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν κανένας δεν έδωσε εξειδικευμένο πρότυπο ζωνών που θα μπορούσε να διαχωρίσει κάποιον συγκεκριμένο πληθυσμό. Παρόλα αυτά, η ανάλυση των γενετικών αποστάσεων απεκάλυψε μερικά ενδιαφέροντα στοιχεία ως προς το βαθμό και τον τρόπο της διαφοροποίησης μεταξύ των 5 πληθυσμών. Οι τιμές των γενετικών αποστάσεων (D) ήταν σχετικά μικρές και κυμάνθηκαν από D=0,007 (Κέρκυρα-Πρέβεζα) έως D=0,039 (Τρίκερι-Γαλλία). Παρατηρήθηκε ωστόσο μια εμφανής διαφοροποίηση σε σχέση με τη γεωγραφική απόσταση των πληθυσμών. Ο πληθυσμός της Γαλλίας διέφερε από αυτούς της Ελλάδας (μέση τιμή D=0,036) και ανάμεσα στους ελληνικούς πληθυσμούς οι δύο του Ιονίου διέφεραν από τους δύο του Αιγαίου (μέση τιμή D=0,016). Αν και ο αριθμός των πληθυσμών που εξετάστηκαν για κάθε θαλάσσια περιοχή είναι μικρός, τα αποτελέσματα της έρευνας φαίνεται να συμφωνούν με την υπόθεση ότι η γονιδιακή ροή μεταξύ των πληθυσμών είναι μεν υψηλή, αλλά δεν είναι αρκετή για να τους ομοιγενοποιήσει πλήρως σε γενετικό επίπεδο. Το γεγονός αυτό ίσως οφείλεται στην ύπαρξη ωκεανογραφικών και βαθυμετρικών δεδομένων στις συγκεκριμένες περιοχές, που λειτουργούν ως φυσικά φράγματα και εμποδίζουν την ελεύθερη γονιδιακή ροή.

INTRASPECIFIC GENETIC POLYMORPHISM OF STRIPED RED MULLET (*Mullus surmuletus*) ASSESSED BY THE RAPD METHOD

Stamatis¹, C., Z. Mamuris¹ and C. Triantaphyllidis²

¹Department of Applied and Theoretical Sciences, University of Thessaly, Volos and ²Department of Genetics, Development and Molecular Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

In the present study, the intraspecific genetic variation of striped red mullet was assessed, using the RAPD method. RAPD analysis was applied on striped red mullet populations collected from 5 sea areas (Kavala, Trikeri, Preveza, Rhodes and France). Forty decamer random primers were used during this study. To study the intraspecific polymorphism a total of 184 RAPD markers was analysed and Nei's genetic distances among populations were computed. All primers failed to yield any diagnostic band that could lead to the identification of the various *M. surmuletus* populations. However, the analysis of genetic distances revealed some interesting issues concerning the genetic variation among the 5 populations. Genetic distances (D) were relatively low and ranged from D=0.007 (Corfu-Preveza) to D=0.039 (Trikeri-France). Nevertheless, there was a consistency in genetic relationships with respect to geographic areas, since affinities of populations corresponded to the geographic relationships of collecting sites. The France population appeared genetically distinct from all Greek populations (mean D=0.036) and, within Greece, the Ionian Sea populations seem to diverge from those of the Aegean Sea (mean D=0.016). Although a small number of populations from each water body was analysed, these preliminary results support the hypothesis that gene flow levels were high, but insufficient to homogenise completely the striped red mullet populations. This genetic differentiation could be attributed to oceanographic and bathymetric constraints in these particular areas, which act as physical barriers, reducing gene flow between sampling sites.

ΡΥΠΑΝΣΗ, ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ, ΣΤΕΡΗΣΗ ΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΕΓΚΛΙΜΑΤΙΣΜΟΣ: ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΗΣ ΑΝΑΠΝΟΗΣ ΔΙΠΛΟΠΟΔΩΝ

Στάμου, Γ.Π., Γ. Καρρής, και Μ. Τσιαφούλη
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ, Θεσσαλονίκη

Το καθεστώς εγκλιματισμού και διατροφής επηρεάζει σημαντικά τη μεταβολική δραστηριότητα της εδαφοπανίδας. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας, του εγκλιματισμού, της επιβαρυμένης με βαριά μέταλλα τροφής καθώς και της στέρησης τροφής στην αναπνευστική δραστηριότητα του διπλόποδου *Glomeris balcanica*. Οι μετρήσεις της αναπνευστικής δραστηριότητας (έκλυση CO₂ που ισοδυναμεί με κατανάλωση O₂) γινόταν σε αέριο χρωματογράφο σε διάστημα δύο μηνών. Τα διπλόποδα συντηρούνταν στο σκοτάδι σε καλλιέργειες με τροφή από διάφορες ρυπασμένες με βαριά μέταλλα περιοχές της Θεσσαλονίκης ή με μη επιβαρυμένη τροφή. Πριν από τη μέτρηση διατηρούνταν για περίπου 5 ώρες σε κλιβάνους με σταθερές θερμοκρασίες των 4, 13, 20 και 25 °C.

Όλοι οι παράγοντες που μελετήθηκαν είχαν στατιστικά σημαντική επίπτωση στην αναπνευστική δραστηριότητα των διπλοπόδων. Η επιβαρυμένη τροφή είχε σαν συνέπεια την μείωση της αναπνοής και την ελάττωση του εύρους της θερμοκρασιακής κλίμακας στην οποία τα ζώα διατηρούν την αναπνευστική δραστηριότητα τους. Ο βαθμός απόκρισης των ζώων στην επιβαρυμένη τροφή ελαττώθηκε με τον εγκλιματισμό τους στις σταθερές εργαστηριακές συνθήκες. Αυτό οδήγησε επίσης στη γρηγορότερη απόκρισή τους στη μεταβολή της θερμοκρασίας. Στα διπλόποδα παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση της αναπνευστικής δραστηριότητας κατά τη διάρκεια του βραχυχρόνιου εγκλιματισμού και πτώση κατά τη διάρκεια του μακροχρόνιου τους εγκλιματισμού. Η μεταφορά των ζώων τέλος από κυμαινόμενες θερμοκρασίες σε σταθερές, οδήγησε σε μια πτώση της αναπνευστικής δραστηριότητας ιδιαίτερα στα μη επιβαρυμένα ζώα.

POLLUTION, TEMPERATURE, FASTING AND ACCLIMATIZATION: FACTORS WHICH AFFECT THE RESPIRATORY ACTIVITY OF DIPLOPODS

Stamou, G.P., G. Karris, and M. Tsiafouli

**Department of Ecology, School of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece**

The conditions of acclimatization and the status of feeding sources affect the metabolic activity of soil fauna. In this experiment we studied the impact of temperature, acclimatization, food polluted by heavy metals and fasting on the respiration activity of the diplopod *Glomeris balcanica*. The respiration activity was measured as CO₂ release equivalent to O₂ consumption with gas Chromatography. The diplopods had been kept under darkness in cultures with food either contaminated by heavy metals (from various regions of Thessaloniki) or not contaminated. In order to measure their respiration, the animals were incubated in standard temperatures of 4, 13, 20 and 25°C for approx. 5 hours.

All parameters had a statistical significant effect on respiratory activity. The contaminated food led to a decline of the respiration and a reduction of the temperature survival range. Acclimatized to constant conditions, animals fed on contaminated food, showed less response to contamination and faster response to changing temperature. Irrespective of the food regime, short term acclimatization resulted to increasing respiratory activity. On the other hand long-term acclimatization caused a significant decline in respiratory activity. Transferring the diplopods from standard conditions to fluctuating ones, led to a decline of respiration, especially to the not contaminated animals.

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ
ΔΙΧΤΥΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΑΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΠΟΡΤΟΓΑΛΙΑ
ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ**

**Στεργίου¹, K.I., K. Erzini², J.M.S. Goncalves²,
Δ. Μουτόπουλος¹, L. Bentes², P.G. Lino², J. Ribeiro²
και Π.Σ. Οικονομίδης¹**

**¹ Α.Π.Θ., Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας,
Τ.Θ. 134, 540 06 Θεσσαλονίκη, ²Universidade do Algarve,
Unidade de Ciências e Tecnologias dos Recursos Aquáticos**

Η συγκριτική μελέτη της επιλεκτικότητας των δίχτυων και των παραγαδιών έγινε ταυτόχρονα στην Ελλάδα (στη θαλάσσια περιοχή της Νάξου) και την Πορτογαλία (στις ακτές της Algarve). Για τη συλλογή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν δίχτυα (με μέγεθος ματιού για την Ελλάδα: 22, 24, 26 και 28 mm, από κόμπο σε κόμπο, και για την Πορτογαλία: 25, 30, 35 και 40 mm, από κόμπο σε κόμπο) και παραγάδια με μέγεθος αγκιστριού: 11, 12, 13 και 15 mm. Η σύνθεση σε είδη του αλιεύματος των Κυκλαδων ήταν παρόμοια με αυτήν του αλιεύματος από την περιοχή της Algarve όμως, τα κυρίαρχα είδη διέφεραν. Στις Κυκλαδες η παραγωγή ανά μονάδα αλιευτικής προσπάθειας ήταν κατά μία τάξη μεγέθους μικρότερη από ότι στην περιοχή της Algarve όπως επίσης και το μέσο μέγεθος των ατόμων. Τα άτομα που αλιεύθηκαν με παραγάδια ήταν γενικά μεγαλύτερα από αυτά του ίδιου είδους που συλλέχθηκαν με δίχτυα και στις δύο περιοχές. Οι κατά μήκος συνθέσεις των ειδών για διαφορετικά μεγέθη αγκιστριού παρουσίασαν ισχυρή επικάλυψη, ενώ δεν ισχύει το ίδιο για τα ψάρια που αλιεύθηκαν με δίχτυα.

COMPARATIVE FIXED GEAR SELECTIVITY STUDIES IN PORTUGAL AND GREECE

**Stergiou¹, K.I., K. Erzini², J.M.S. Goncalves²,
D. Moutopoulos¹, L. Bentes², P.G. Lino², J. Ribeiro²
and P.S. Economidis¹**

**¹ Aristotle University, School of Biology, Laboratory of
Ichthyology, BOX 134, 540 06 Thessaloniki, Greece**

**² Universidade do Algarve, Unidade de Ciências e Tecnologias
dos Recursos Aquáticos (UCTRA), Portugal**

Comparative fixed-gear selectivity studies are being carried out simultaneously in Hellas (in the waters off Naxos Island) and Portugal (off the Algarve coast). Sampling is conducted using commercial coastal boats which fish with longlines (for both countries : hook numbers 15, 13, 12 and 11 ; 250-500 hooks of each size) and monofilament gill nets (Hellas: 22, 24, 26 and 28 mm nominal bar length; Portugal 25, 30, 35 and 40 mm nominal bar length; 750-100 m per mesh size). Although the species composition of the Cyclades catches was similar to that of the Algarve, dominant species differed, catch rates were an order of magnitude lower and mean sizes of fishes were generally smaller in the Cyclades compared to the Algarve. In general, longlines caught larger specimens of the same species than gill nets in both areas. The catch length-frequency distributions for the different hook sizes are generally highly overlapped whereas this is not true in the case of gill nets.

ΕΚΤΡΟΦΗ ΝΥΜΦΩΝ ΚΑΙ ΙΧΘΥΔΙΩΝ ΣΥΝΑΓΡΙΔΑΣ (DENTEX DENTEX) ΥΠΟ ΔΥΟ ΗΜΙ-ΕΚΤΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

**Στεριώτη^{1,2}, A., P. Divanach¹, M. Παπαπέτρου¹, E. Maingot¹
και M. Κεντούρη^{1,2}**

¹Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης, Ηράκλειο

²Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, Ηράκλειο, Κρήτη

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να συγκρίνει τα αποτελέσματα εκτροφής των νυμφικών σταδίων της συναγρίδας (*Dentex dentex*) που αναπτύχθηκαν με τη μέθοδο του "πράσινου" (π.) και του "ψευδο-πράσινου" (ψπ.) νερού και των ιχθυδίων (έως τα 3g) που προέκυψαν.

Πραγματοποιήθηκαν 4 εκτροφές σε ημι-φυσικές συνθήκες, διάρκειας 75 ημερών κάθε μία, που χωρίζονται σε 3 φάσεις: της νυμφικής εκτροφής, της προ-προπάχυνσης και της ανατροφής των ιχθυδίων. Η φάση Α, πραγματοποιήθηκε σε δεξαμενές 40m³, (θ:21.3-22.3°C) όπου έγινε η επώαση, η εκκόλαψη των αυγών και η εκτροφή των νυμφών έως την ημέρα 22 (π. πληθυσμοί-10.0mm) και 18 (ψπ. πληθυσμοί-9.4 mm) από την εκκόλαψη. Για την θρέψη των νυμφών έως το τέλος της εκτροφής χρησιμοποιήθηκε η κλασσική μέθοδος (τροχόζωα *B.plicatilis*, ναύπλιοι και μεταναύπλιοι *Artemia sp.*). Από τα 8.0mm χορηγήθηκε επιπρόσθετα βιομηχανική τροφή και αλεσμένο ψάρι. Η φάση Β, πραγματοποιήθηκε σε δεξαμενές 2.3m³, (θ:19.0±0.3°C) έως την ημέρα 42 και 48 για τους πληθυσμούς π. και ψπ. αντίστοιχα. Για την θρέψη των ψαριών χρησιμοποιήθηκαν μεταναύπλιοι *Artemia sp.*, βιομηχανική τροφή, αλεσμένο ψάρι και "moist pellets" (8 ψάρι:2 βιομηχανική τροφή). Η φάση Γ, πραγματοποιήθηκε σε δεξαμενές 10m³, (θ: 23.5±1.0°C). Για την θρέψη των ψαριών χρησιμοποιήθηκαν "moist pellets" (1 ψάρι:1 βιομ. τροφή) και βιομηχανική τροφή.

Το ποσοστό επιβίωσης την ημέρα 75 ήταν 3.0% (άτομα L:59.0 mm και W:3.0g) για τους πληθυσμούς π. και 6.3% (άτομα L:54.0 mm και W:2.8g) για τους πληθυσμούς ψπ., που αναλύεται σε: 62.6 και 23.4%, 41.3 και 45.9%, 70.2 και 58.9% για κάθε μία από τις επιμέρους φάσεις και μεθόδους αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αν και δεν μπορούν να θεωρηθούν ικανοποιητικά επιδέχονται περαιτέρω βελτίωση για εφαρμογή σε βιομηχανική κλίμακα.

LARVAE AND FRY REARING OF COMMON DENTEX (*DENTEX DENTEX*) UNDER TWO SEMI-EXTENSIVE CONDITIONS

Sterioti^{1,2}, A., P. Divanach¹, M. Papapetrou¹, E. Maingot¹
and M. Kentouri^{1,2}

¹I.M.B.C, P.O.Box 2214, GR-71003 Iraklio, Crete,

²Department of Biology, University of Crete, P.O Box 2208,
GR-71409 Iraklio, Crete, Greece

The aim of this study is to compare the development of the common dentex (*Dentex dentex*) larvae reared with the «green» (g.) and the «pseudo-green» (p-g.) water method until the 3 g fry stage.

Four experiments (2 for each method) were conducted under semi-natural conditions, lasting 75 days each, and were organised in three phases: larval rearing, pre-weaning and nursery of fry (3 g). The phase A was performed in 40m² tanks (T:21.3- 22.3°C) where the incubation, the hatching of the eggs and the larval rearing until day 22 (g. populations-10.0 mm) and 18 (p-g. populations-9.4 mm) after hatching took place. For the larvae rearing the classical method was used (rotifers *Brachionus plicatilis*, instar I and instar II nauplii of *Artemia sp.*). The weaning with commercial crumbles and ground frozen fish began at 8.0 mm. The phase B was performed in 2.3m² tanks, (inflow water 100% of the tank volume/h, T:19.0±0.5°C) until day 42 (g. method-23.0 mm) and 48 (p-g. method-27.9 mm) after hatching. The fishes were fed on *Artemia sp.* metanauplii, commercial dry pellets, ground frozen fish and «moist pellets» (80% fish:20% dry pellets). The phase C was performed in outdoor subsquared tanks 10m² volume (100% of the tank volume/h, T:23.5±1.0°C). The main diet of the fish was the «moist pellets» (50% fish:50% dry pellets) and commercial dry pellets.

The total survival rate at day 75 (from hatching to 3 g fry) was 3.0% (L:59.0 mm, W:3.0 g) for the g. population and 6.3% (L:54.0 mm, W:2.8 g) for the p-g. population. In each of three phases and methods the respective survival rate was: 62.6% and 23.4%, 41.3% and 45.9%, 70.2 and 58.9%. These results, even though cannot be considered satisfactory, they can be improved and adapt to the common dentex mass production demands.

MOLECULAR DISSECTION OF NUCLEAR PORE COMPLEX STRUCTURE AND FUNCTION

Stoffler, D., B. Feja, B. Fahrenkrog, J. Walz*, D. Typke*,
K. Goldie**, N. Panté and Ueli Aebi

Biozentrum, M.E. Müller Institute, University of Basel,
CH-4056 Basel, Switzerland, *Max-Planck Institute for
Biochemistry, D-82152 Martinsried, Germany, **European
Molecular Biology Laboratory, D-69117 Heidelberg, Germany

The nuclear envelope (NE) physically separates the genetic machinery residing in the nucleus from protein synthesis taking place in the cytoplasm. Bidirectional transport of proteins, RNAs and RNP particles between these two compartments is mediated by the nuclear pore complexes (NPCs). Extensive structural studies have revealed the three-dimensional (3D) architecture of vertebrate NPCs, and epitopes of several nucleoporins have been localized within their 3D structure [reviewed in 7,9].

Genetic and biochemical approaches in yeast have led to the identification and characterization of over 30 nucleoporins [reviewed in 2], and this number is rapidly growing due to the recent completion of the *Saccharomyces* genome sequencing project. Since the 3D location of these nucleoporins within the yeast NPC has remained elusive, we have developed a new EM sample preparation protocol that yields structurally well preserved yeast NPCs. Direct comparison of yeast with *Xenopus* NPCs revealed an evolutionarily conserved architecture, although yeast NPCs appear typically 15% smaller in their linear dimensions [3]. These findings are in qualitative agreement with a recent 3D reconstruction of the yeast NPC calculated from frozen-hydrated specimens [14]. Moreover, by employing mutant yeast strains expressing nucleoporins tagged with protein A, we have localized by immuno-EM yeast nucleoporin Nsp1p and its interacting partners Nic96p, Nup49p, Nup57p, and Nup82p [4]. Interestingly, Nsp1p resides in three distinct subcomplexes within the yeast NPC, suggesting the NPC to be a dynamic assembly consisting of «fixed» and «mobile» nucleoporins.

In an attempt to go beyond the current consensus model of the NPC [cf. 7], we have embarked on a more systematic structural analysis of the molecular architecture of native NPCs. This is achieved by energy-

filtering transmission electron microscopy (EFTEM) of completely unfixed and unstained *Xenopus* oocyte NEs embedded in thick (i.e. ~200 nm) amorphous ice so that the 3D organization of the cytoplasmic and nuclear periphery of the NPCs (i.e. the cytoplasmic fibrils and nuclear baskets) is fully preserved [13]. Tomographic imaging of such NE preparations has yielded a number of new structural features of native NPCs. Among these are asymmetries of the cytoplasmic and nuclear ring, and a more detailed picture of the central plug or gated channel complex and the terminal ring of the nuclear basket [Feja et al., manuscript in preparation].

Current models for nucleocytoplasmic transport rest on 3 major premises [reviewed in 7,8]: (1) distinct types of cargos (i.e. proteins, RNAs and RNP particles) harbor specific molecular signals, e.g., nuclear localization signals (NLS) or nuclear export signals (NES); (2) signal-dependent translocation of the cargo through the NPC is mediated by cytosolic or nuclear factors, some of them being «shuttling carriers»; and (3) most transport processes require the small GTPase Ran. We have dissected the import of nuclear proteins into distinct steps by microinjecting colloidal gold tagged nucleoplasmin (NP-gold) and/or colloidal gold tagged transport factors into the cytoplasm of *Xenopus* oocytes and preparing samples at different times after injection for quantitative EM analysis [10]. Similarly, we have deciphered nuclear export of colloidal gold tagged RNAs (RNA-gold) microinjected into the nuclei of *Xenopus* oocytes [11]. Our data indicate that nuclear import and export may not be fully symmetric processes, consistent with the cytoplasmic and nuclear periphery of the NPC being structurally distinct [cf. 7], and in agreement with the finding that the net amounts of Ran-GTP and Ran-GDP are different in the cytosol and the nucleus [cf. 8].

In pursuit of our goal to directly correlate distinct structural features with corresponding functional states and dynamic aspects, we have initiated AFM studies of the channel topography in response to various chemical stimuli (i.e. effectors such as Ca^{2+} and nucleotides). As yet, the highlight has been AFM imaging the reversible Ca-mediated opening (i.e. +Ca) and closing (i.e. -Ca) of the nuclear baskets of completely unfixed NPCs kept 'alive' in physiological buffer [13, cited in 1, 6]. This is a remarkable observation as it has been documented before that nuclear Ca^{2+} does regulate NPC function [cf. 5]. Currently, we are investigating the possible Ca-mediated changes of the cytoplasmic topography of the

central gated channel. Preliminary data indicate that the cytoplasmic plugging of the central channel upon Ca^{2+} depletion described by Clapham and co-workers [12] does not actually represent a conformational change of the NPC but rather material caught in transit. Similar experiments are also in progress to determine the possible conformational changes of the NPC occurring in response to adding or removing different nucleotides (e.g. ATP/ADP or GTP/GDP) to completely unfixed NEs in physiological buffer or in cytoplasmic or nuclear extracts.

To better understand the observed topographic changes in 3D in response to adding or removing Ca^{2+} or nucleotides, we are in the process of performing in parallel tomographic imaging by EFTEM of the same unfixed/unstained NE preparations embedded in thick amorphous ice (see above). Preliminary results indicate that the observed opening and closing of the nuclear baskets in response to adding or removing Ca^{2+} (see above) involves the terminal ring which acts as an iris-like diaphragm [Stoffler et al., manuscript in preparation].

References cited:

1. Carafoli, E., Nicotera, P. & Santella, L. (1997). *Cell Calcium* 22, 313-319.
2. Doye, V. & Hurt, E. (1997). *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 401-411.
3. Fahrenkrog, B., Aeby, U. & Panté, N. (1997). *Mol. Biol. Cell* 8, 236a.
4. Fahrenkrog, B., Hurt, E., Aeby, U. & Panté, N. (1998). Submitted.
5. Greber, U.F. & Gerace, L. (1995). *J. Cell Biol.* 128, 5-14.
6. Malviya, A.N. & Rogue, P.J. (1998). *Cell* 92, 17-23.
7. Nigg, E. (1997). *Nature* 386, 779-787.
8. Ohno, M., Fornerod, M. & Mattaj, I.W. (1998). *Cell* 92, 977-984.
9. Panté, N. & Aeby, U. (1996a). *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 31, 153-199.
10. Panté, N. & Aeby, U. (1996b). *Science* 273, 1729-1732.
11. Panté, N., Jarmolowski, A., Baschong, W., Sauder U., Izaurrealde, E. & Mattaj, I.W. (1997). *RNA* 3, 498-513.
12. Perez-Terzic, C., Pyle, J., Jaconi, M., Stehno-Bittel, L. & Clapham, D.E. (1996). *Science* 273, 1875-1877.
13. Stoffler, D., Feja, B., Goldie, K.N. & Aeby, U. (1997). *Mol. Biol. Cell* 8, 425a.
14. Yang, Q., Rout, M.P. & Akey, C.W. (1998). *Mol. Cell* 1, 223-234.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΙΑΣ
ΘΕΡΜΟΕΥΑΙΣΘΗΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ
ΟΦΕΙΛΟΜΕΝΗΣ ΣΕ P ENΘΕΣΗ ΣΤΗΝ *Drosophila*
*melanogaster***

**Σφυρόερα, Γ., Χ. Παντικάκη, Ν. Σταμάτης
και Γ. Γιαννόπουλος**

**Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής,
Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Πάτρα**

Από μια δυσγενική διασταύρωση με τον $23.5A/CyL^4 MRF$ απομονώσαμε, ανεξάρτητα, δύο ίδιες φαινοτυπικά υποτελείς μεταλλάξεις. Και οι δύο επηρεάζουν τα μάτια (μικρότερα και σκουρότερα από τα κανονικά) και τα φτερά (κομμένα στην περιφέρεια), ενώ συμπεριφέρονται ως θερμοευαίσθητες θανατογόνες. Στους 20°C παρουσιάζουν κανονική βιωσιμότητα, στους 25°C συμπεριφέρονται ως ημιθανατογόνες και στους 29°C ως θανατογόνες. Οι διαλληλικές διασταυρώσεις έδειξαν ότι τα υπεύθυνα γονίδια γι' αυτές τις μεταλλάξεις είναι αλληλόμορφα. Με γενετική χαρτογράφηση τοποθετήθηκαν κοντά στην περιοχή 21,7μπ του X χρωμοσώματος. Η χαρτογράφηση με ελλείμματα τα τοποθέτησε στην κυτταρολογική περιοχή 7E και αυτό γιατί δείχνουν συμπληρωματικότητα με τα ελλείμματα Df(1)C128(7D1;7D5-6) και Df(1)KA14(7F1-2;8C6) αλλά όχι με το Df(1)RA2(7D10;8A4-5). Η *in situ* υβριδοποίηση με ανιχνευτές *P* και *hobo* DNA έδειξε ότι και οι δύο μεταλλάξεις έχουν μια ένθεση *P* στην περιοχή αυτή. Το ότι αυτές οι μεταλλάξεις οφείλονται σε *P* ένθεση προσδιορίστηκε από την διασταύρωση θηλυκών με αρσενικά του *P* στελέχους A_{2-3} (παράγει *P* τρανσποσάση). Και οι δύο μεταλλάξεις έδωσαν βιώσιμους αρσενικούς απογόνους στους 29°C . Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η *P* ένθεση στην περιοχή 7E είναι υπεύθυνη για την θερμοευαίσθητη θνησιμότητα. Η μελέτη για τον καθορισμό του κρίσιμου θανατογόνου αναπτυξιακού σταδίου (-ων) έδειξε ότι το στάδιο αυτό είναι μετά τη δέκατη μέρα από την ωοαπόθεση στους 20°C . Εντούτοις ο θάνατος επέρχεται αργότερα, λίγο πριν την εκκόλαψη του ενηλίκου. Το νεαρό ενήλικο άτομο είναι πλήρως αναπτυγμένο αλλά ανίκανο να βγει από το βομβύκιο.

**GENETIC AND DEVELOPMENTAL
CHARACTERIZATION OF A *P* INSERTION
TEMPERATURE SENSITIVE LETHAL MUTATION IN
*Drosophila melanogaster***

Sphyroera, G., H. Pavlikaki, N. Stamatis and G. Yannopoulos

**University of Patras, Department of Biology, Division of
Genetics, Cell and Developmental Biology, Patras, Greece**

From a dysgenic cross with the $23.5\Delta/CyL^4$ MRF, we have isolated independently two similar in phenotype recessive mutations; both of them affect the eyes (reduced and darker than normal), wings (incised) and they behave as temperature sensitive lethals. At 20°C both have normal viability, at 25°C they behave as semilethals and at 29°C as lethals. Allelic crosses showed that these mutations were alleles. Genetic mapping has located both of them in genetic position $\sim 21.7\mu\text{m}$ of the X-chromosome. Deletion mapping located them to the cytological region 7E; they showed complementation with Df(1)C128(7D1;7D5-6) and Df(1)KA14(7F1-2;8C6) but not with the Df(1)RA2(7D10;8A4-5). *In situ* hybridization with *P* and *hobo* DNA revealed that both had one *P* insertion in this area. That these mutations are due to *P* insertion was determined by crossing females to $\Delta_{2.3}$ *P* strain males (produces *P* transposase). Both strains gave viable male progeny at 29°C . These results show that 7E *P* insertion is responsible for the temperature sensitive lethality. Determination of the critical developmental stage(s) for the lethality showed that the crucial developmental time is after the tenth day since the oviposition at 20°C . However the death comes later; just before the eclosion of the adults. The imago is completely developed but unable to come out of the pupae shell.

ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΤΡΙΤΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΜΕ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥΣ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΥΣ

Σχίζας, Γ. και Ι. Σούρδης

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας,
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα

Το πρόβλημα του καθορισμού της τριτοταγούς δομής των πρωτεΐνων συνίσταται στον προσδιορισμό εκείνης της διαμόρφωσης της πεπτιδικής αλυσίδας στο χώρο, που αντιστοιχεί στην ελάχιστη δυναμική ενέργεια. Όμως ο εξαντλητικός έλεγχος όλων των δυνατών διαμορφώσεων μιας πρωτοταγούς δομής, είναι αδύνατος.

Μια προσέγγιση στο πρόβλημα είναι με χρήση Γενετικών Αλγόριθμων. Στην μέθοδο αυτή ορίζεται ένας πληθυσμός πιθανών λύσεων. Κάθε άτομο του πληθυσμού φέρει κωδικοποιημένες, στο γονιδίωμά του, τις παραμέτρους της λύσης την οποία εκπροσωπεί. Για την εφαρμογή των Γενετικών Αλγορίθμων στην πρόβλεψη της τριτοταγούς δομής μιας πρωτεΐνης, αυτή αναπαρίσταται είτε σε καρτεσιανές συντεταγμένες για κάθε άτομο ή με τις γωνίες στρέψης μερικών δεσμών.

Ορίζεται μια συνάρτηση αρμοστικότητας, που αντιστοιχίζει κάθε άτομο (λύση), σε μια τιμή η οποία εκφράζει το πόσο χαμηλότερη δυναμική ενέργεια έχει η λύση που εκπροσωπεί. Τα καλύτερα άτομα επιλέγονται είτε με την αύξηση της γονιμότητας τους ή / και με την αύξηση του χρόνου ζωής τους. Κάθε νέο άτομο διαφέρει από τους γονείς του, λόγω μετάλλαξης ή ανασυνδυασμού. Έτσι ο πληθυσμός εξελίσσεται από γενιά σε γενιά και προσεγγίζει έτσι την βέλτιστη λύση.

Προσπαθούμε να τροποποιήσουμε τις διαδικασίες μετάλλαξης, ανασυνδυασμού και επιλογής ώστε η εξέλιξη του αρχικού πληθυσμού να είναι ταχύτερη για μεγάλο αριθμό αμινοξέων, και να αποφεύγεται ο εγκλωβισμός του πληθυσμού σε τοπικά ελάχιστα δυναμικής ενέργειας. Ο έλεγχος των πειραμάτων γίνεται με τον ακόλουθο τρόπο: Έχοντας σαν δεδομένη μια τριτοταγή δομή, η οποία είναι αποτέλεσμα μιας αυθαίρετης διαμόρφωσης (της οποίας την τριτοταγή δομή έχουμε προσεγγίσει σε μεγάλο βαθμό) εκκινούμε τυχαίους αρχικούς πληθυσμούς λύσεων και παρακολουθούμε την εξέλιξή τους και το βαθμό επιρροής των διαφόρων διαδικασιών στην ταχύτητα συγκλίσεως προς την γνωστή διαμόρφωση της πεπτιδικής αλυσίδας.

PROTEIN TERTIARY STRUCTURE PREDICTION BY GENETIC ALGORITHMS

Schizas, G. and J. Sourdis

Genetics Lab, Department of Agricultural Biotechnology,
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75,
11855 Athens, Greece

The problem of determining the tertiary structure of proteins consists in defining the protein conformation, which corresponds to the minimum potential energy. The exhaustive inspection, however, of every possible conformation that correspond to a given primary structure, is impossible. An approach to this problem is by using Genetic Algorithms. In this method a population of possible solutions is defined. Every individual of the population carries the parameters of the solutions it corresponds to, encoded in its genome. To apply Genetic Algorithms on tertiary structure prediction, the protein can be represented either as Cartesian coordinates for each atom or as torsion angles of the bonds. A fitness function is defined, which matches an individual (solution) to a value that expresses how much lower potential energy the solution it corresponds to has. The best individuals are selected, by increasing their fertility and / or increasing their life span. Each new individual differs from its parents, due to mutation or crossover. Thus the population evolves, approaching in that way the optimal solution. We attempt to modify the mutation, crossover and selection procedures, in a way that the evolution of the original population will be faster for a large number of aminoacids, and the confinement of the population in local potential energy minima is avoided. The experiment control is accomplished by having a given tertiary structure, as a result of arbitrary conformation, and spinning random initial populations off and monitoring their evolution and degree of influence of the procedures on the speed of convergence towards the known conformation.

1. Elofsson A, LeGrand SM, Eisenberg D (1995) *Local Moves: An Efficient Algorithm for Simulation of Protein Folding* Prot. Struct. Funct. & Genetics 23: 73-82
2. Schulze-Kremer, S (1996) *Genetic Algorithms and Protein Folding* <http://merlin.mbcn.bcm.tmc.edu:8001/bcdusa/Curric/ProtEn/protein.html>
3. Fraenkel AV (1993) *Complexity of Protein Folding*, Bull. Math. Biol. 55: 1199-1210

**ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΚΑΙ
ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ
ΓΟΥΑΖΟΥΛΕΝΙΟΥ, ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ
ΑΙΘΕΡΙΟΥ ΕΛΑΙΟΥ ΤΟΥ ΧΑΜΟΜΗΛΙΟΥ**

Σωτηρίου, Ε., Ν. Αβραμίδης, Α. Κουρουνάκη, Μ. Γιάγκου
και Λ. Χατζηπέτρου

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα
Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

Το Γουαζουλένιο (1,4-dimethyl-7-isopropylazulene) είναι ένα μή τοξικό φυσικό προϊόν, συστατικό του αιθερίου ελαίου των δρογών *Matricaria chamomilla* και *Guajacum officinale*. Το γουαζουλένιο παρουσιάζει ευνοϊκές ιδιότητες κατά του έλκους, ενάντια ορισμένων αλλεργιών, καθώς και αμφιλεγόμενη αντιφλεγμονώδη δράση. Προστατεύει το ήπαρ από οξειδωτικά stress και από τοξικές ή καρκινογόνες ουσίες, ιδιότητες που σχετίζονται με την ευρεθείσα αντιοξειδωτική του δράση. Μελετήθηκε η αντιφλεγμονώδης δράση του γουαζουλενίου καθώς και η ανοσοτροποποιητική του δράση. Η αντιφλεγμονώδης δράση του Γουαζουλενίου διαπιστώθηκε με την παρεμπόδιση της φλεγμονής μετά τη χορήγηση I.P. διαφόρων δόσεων γουαζουλενίου (150-350 mg/kg βάρους του ζώου). Η ανοσοτροποποιητική δράση του γουαζουλενίου (300 mg/kg βάρους) μελετήθηκε στο μοντέλο της πειραματικής αρθρίτιδας αρουραίων, όπου χορηγήθηκε I.P. 1,3,5,7, και 9 ημέρες μετά την επαγωγή της αρθρίτιδας. Το γουαζουλένιο καταστέλει το οίδημα καρραγενίνης, ζυμομυκήτων, ConA και Νυστατίνης κατά 50%, 60%, 75% και 82% αντίστοιχα. Η καταστολή της πρωτογενούς φλεγμονής, στα αντίστοιχα ζώα που ενέθηκε το FCA, από το γουαζουλένιο ήταν 56% την πρώτη ημέρα ενώ στις επόμενες 8 ημέρες η φλεγμονή εξαφανίστηκε σχεδόν τελείως, ενώ στους μάρτυρες η φλεγμονή ήταν πολύ έντονη. Η δευτερογενής φλεγμονή (αρθρίτιδα) στα υπόλοιπα άκρα του ζώου άρχισε να εμφανίζεται 12 ημέρες μετά και έφθασε στη μέγιστη τιμή των αρθριτικών βαθμών στις 20 ημέρες μετά την ένεση του FCA. Στα ζώα που τους χορηγήθηκε γουαζουλένιο δεν εμφανίστηκε αρθρίτιδα. Συμπερασματικά το γουαζουλένιο, παρουσιάζει άριστες αντιφλεγμονώδεις και ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες επηρεάζοντας την κυτταρική ανοσία αφού καταστέλει τελείως την πειραματική αρθρίτιδα.

ANTIINFLAMMATORY AND IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF GUAIAZULENE

**Sotiriou, E., N. Avramidis, A. Kourounakis, M. Yiangou
and L. Hadjipetrou**

**Aristotle University, Faculty of Biology, Division of Genetics,
Development and Molecular Biology, Thessaloniki, Greece**

The aim of this study is to evaluate the antiinflammatory and immunomodulating properties of Guaiazulene. Guaiazulene (1,4-dimethyl-7-isopropylazulene) is a component of the oil of *Guajacum officinale* and *Matricaria chamommilla*. Guaiazulene has been reported to possess anti-allergic, anti-ulcer and controversial anti-inflammatory properties. In addition Guaiazulene, recently found to possess detoxifying and anti-oxidant activity. Thus this molecule is likely to show also immunomodulating properties. The antiinflammatory activity of Guaiazulene was evaluated by its action on paw induced oedema in rats and mice. The oedema was induced by various phlogistic agents, such as carragenin, beaker's yeast concanavalin A, nystatin and complete Freunds adjuvant, while Guaiazulene was administered i.p. (150-350 mg/kg B.W.) 10-15 min before the phlogistics. The immunomodulating properties of Guaiazulene were evaluated in rats with adjuvant arthritis (AA) induced by the intradermal injection (paw) of FCA. Guaiazulene was administered i.p. (350 mg/kg B.W.) on the 1st, 3nd, 5th, 7th, 9th day post adjuvant injection. Our results show that Guaiazulene suppresses the oedema/inflammation induced by carragenin, bakers yeast, Con-A, nystatin or FCA by 50%, 60%, 75%, 62% and 56% respectively. The suppression of adjuvant arthritis in animals that were treated with Guaiazulene was almost 100% while the non treated animals developed severe arthritis 12-14 days after FCA injection. In conclusion, this natural product, Guaiazulene appears to have excellent antiinflammatory properties, possibly by inhibiting the cyclooxygenase, lipooxygenase and complement systems as suggested by the results on various phlogistic agents with known mechanisms concerning the induction of inflammation. Guaiazulene appears to affect the cellular immunity, as shown by its total suppression of AA.

ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΦΥΤΑ ΤΕΥΤΛΟΥ (*Beta vulgaris* L.) ΜΕ ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ ΤΗΝ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ (SOD): ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ

Τερτιβανίδης, Κ., Αικ. Γκουντούλα και Αθ. Τσαυτάρης
Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών,
Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

Το ζαχαρότευτλο (*Beta vulgaris* L.) είναι μια καλλιέργεια με μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον σε χώρες της εύκρατης ζώνης, για την παραγωγή ζάχαρης. Άρα η βελτίωση των καλλιεργούμενων ποικιλιών είναι μεγάλης οικονομικής σημασίας. Τα τελευταία χρόνια ήρθε μια καινούργια προσέγγιση να συμπληρώσει τις μεθόδους της συμβατικής βελτίωσης, η γενετική μηχανική των φυτών.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού πρωτοκόλλου δημιουργίας μεταμορφωμένων φυτών τεύτλου με γονίδια που κωδικοποιούν το αντιοξειδωτικό ένζυμο Δισμούταση του Υπεροξειδίου (SOD) και οδηγούν σε φυτά ανθεκτικά σε οξειδωτικές καταπονήσεις (stress).

Η μεταφορά και η εισαγωγή γονιδίων έγινε με την συμβατική προσβολή πράσινων βλαστικών τμημάτων με *Agrobacterium tumefaciens* που περιέχει έναν δυαδικό φορέα ο οποίος φέρει το γονίδιο του ενζύμου της SOD στο T-DNA. Χρησιμοποιήθηκαν γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα SOD από την τομάτα και το *Nicotiana plumbaginifolia* και τα οποία δρουν σε διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα.

Μετά την πιστοποίηση των μεταμορφωμένων φυτών με μοριακές τεχνικές (Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης) και υβριδισμός με επισημασμένο ανιχνευτή τα φυτά δοκιμάστηκαν ως προς την ανθεκτικότητα τους ως προς την αντίσταση τους σε διάφορες οξειδωτικές καταπονήσεις και βρέθηκαν ανθεκτικά.

TRANSGENIC SUGARBEET (*Beta vulgaris* L.) WITH GENES THAT ENCODE SUPEROXIDE DISMOUTASE (SOD): RESISTANCE TO OXIDATIVE STRESSES

Tertivanidis, K., Aik. Goudoula and Ath. Tsafaris
Department of Genetics and Plant Breeding, School of
Agriculture, A.U.Th., Thessaloniki, Greece

Sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) is the most important sucrose-producing crop in temperate regions of the world. Therefore the development of new improved cultivars is of great interest. During the last years the development of genetic engineering offers a new tool for plant breeding.

The purpose of this work was the development of an efficient protocol for the creation of transgenic sugarbeets with genes that encode the antioxidative enzyme Superoxide Dismoutase (SOD), producing plants resistant to oxidative stresses.

The transformation of the sugarbeet explants took place via *Agrobacterium tumefaciens*. We used SOD-genes isolated from tomato and *Nicotiana plubaginifolia* that are transported in different cell compartments.

The transgenic plants that were verified with molecular techniques (PCR, Southern hybridizations) were tested for resistance to oxidative stresses.

ΟΙ ΑΡΧΑΙΟΙ ΕΛΛΗΝΕΣ ΚΑΙ ΜΙΑ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗΣ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΡΟΛΟΓΙΟΥ

Thomaz, D., P. Λεκανίδου και Γ. Κ. Ροδάκης
Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 01

Μια πιθανή εξήγηση της παρουσίας του χερταίου σαλιγκαριού *Albinaria coerulea* στην αρχαιολογική περιοχή της Βραυρώνας και στις γειτονικές της περιοχές είναι οι συναλλαγές με τους κατοίκους των Κυκλαδών κατά τη διάρκεια του Πρωτοελληνικού πολιτισμού. Με εξαίρεση την περίπτωση της Βραυρώνας, το είδος *A. coerulea* εμφανίζεται ως αποκλειστικά ενδημικό των Κυκλαδών και των Δωδεκανήσων. Αυτό το τυχαίο γεγονός προσφέρει μια ενδιαφέρουσα δυνατότητα εκτίμησης του μοριακού ρολογιού, όσον αφορά ταχέως μεταλασσόμενες περιοχές του DNA, καθώς και έμμεσου ελέγχου της επίδρασης διαφορετικών δημογραφικών γεγονότων στην εκτίμηση του ρυθμού μεταλλακτικότητας.

Σ' αυτή την εργασία παρουσιάζονται δεδομένα, που προκύπτουν από συγκριτική ανάλυση αλληλουχιών του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA) απόμων *A. coerulea*, που συλλέχθηκαν στη Βραυρώνα. Με τη χρησιμοποίηση μιας πρότυπης μεθόδου, τα δεδομένα αυτά επέτρεψαν την εκτίμηση του ρυθμού μεταλλακτικότητας της συγκεκριμένης περιοχής του mtDNA. Η εκτίμηση του ρυθμού διορθώθηκε με τη χρήση πιο "ρεαλιστικών" δημογραφικών μοντέλων με τη βοήθεια συστημάτων προσομοίωσης σε ηλεκτρονικό υπολογιστή. Ακολουθεί, τέλος, σύντομη συζήτηση σχετικά με άλλα δημογραφικά γεγονότα, που ενδέχεται να επηρεάζουν τη γενεαλογία των γονιδίων μέσα στο ίδιο είδος ή μεταξύ διαφορετικών ειδών, με ενδεχόμενο η εφαρμογή τυπικών προσεγγίσεων να οδηγήσει σε λάθος εκτιμήσεις είτε του ρυθμού μεταλλακτικότητας είτε της εξελικτικής ιστορίας των ειδών.

THE ANCIENT GREEKS AND AN OPPORTUNITY TO TEST THE EFFECTS OF POPULATION DEMOGRAPHY ON ESTIMATES OF THE MOLECULAR CLOCK

Thomaz, D., R. Lecanidou and G. C. Rodakis

**Division of Biochemistry and Molecular Biology, Department of
Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 157 01
Athens, Greece**

A possible vehicle for the introduction of the land snail *Albinaria coerulea* in the archaeological site of Vravrona and its immediate surroundings was trade with the Cycladic peoples during the protohellenic civilization. This species is, otherwise, found only in the cyclades and in the dodecanese. This chance event offers us today an interesting opportunity to estimate the molecular clock for fast mutating regions of DNA and also to indirectly test the effects of different demographic histories on estimates of mutation rate.

This paper presents data from an extensive screening of DNA sequences from a region of mitochondrial DNA (mtDNA) for individuals of *A. coerulea* sampled in Vravrona. The data is then used to estimate the mutation rate for this region of mtDNA using a standard approach. The estimate is then refined by the use of more realistic demographic models for this population with the help of computer simulations. The paper ends with a brief discussion of other demographic events that can affect the genealogies of genes within and between species, and that could lead to unlikely estimates of the species' history and unlikely estimates of mutation rate when standard interpretations are applied.

**Η ΑΝΟΣΟΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΑ
ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ
ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΤΩΝ ΧΟΡΙΟΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΟ
ΔΙΠΤΕΡΟ *Drosophila virilis***

Τρουγκάκος, Ι.Π. και Λ.Χ. Μαργαρίτης
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας
Κυττάρου & Βιοφυσικής, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15701

Το χόριο του ωθυλακίου στη *Drosophila virilis* αποτελεί το τελικό προϊόν της έντονης εκκριτικής δραστηριότητας των επιθηλιακών κυττάρων που περιβάλλουν το αναπτυσσόμενο ωοκύτταρο και αποτελείται από την εσώτερη χοριονική ζώνη, το ενδοχόριο και το εξωχόριο. Η μορφολογία των ζωνών αυτών διαφοροποιείται στις εξειδικευμένες περιοχές που παρατηρούνται κατά μήκος του ώριμου ωθυλακίου. Προκειμένου να μελετηθεί η δυναμική της έκκρισης και της αυτοσυγκρότησης των χοριονικών πρωτεΐνών παρήχθησαν αντισώματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ανοσοεντόπιση των πρωτεΐνών αυτών με ανοσοηλεκτρονική μικροσκοπία. Στο ώριμο ωθυλάκιο οι πρωτεΐνες αυτές κατανέμονται ομοιόμορφα στο ενδοχόριο παρά το γεγονός ότι δύο από αυτές συντίθενται και εκκρίνονται από το θυλακοκυτταρικό επιθήλιο μετά την ολοκλήρωση της μορφογένεσης του ενδοχορίου. Φαίνεται δηλαδή ότι αρχικά δημιουργείται ένα ικρίωμα από τις πρώιμες χοριονικές πρωτεΐνες μέσα στο οποίο παρεμβάλλονται οι πρωτεΐνες που εκκρίνονται στη συνέχεια, προκειμένου να δημιουργηθεί η τελική δομή του χορίου. Τελικά όμως, η αυτοσυγκροτήση του χορίου στη λειτουργική δομή που θα επιτελέσει μια σειρά από λειτουργίες απαραίτητες για την επιβίωση του εμβρύου απαιτεί την ενεργοποίηση της υπεροξειδάσης του κελύφους που καταλύει την ομοιοπολική σύνδεση των χοριονικών πρωτεΐνών μέσω δεσμών δι-, τρι- τυροσίνης.

IMMUNOELECTRON MICROSCOPY IN THE UNDERSTANDING OF SYNTHESIS AND ASSEMBLY OF THE CHORION PROTEINS IN *Drosophila virilis*

Trougakos, I.P. and L.H. Margaritis

**University of Athens, Department of Biology, Division of Cell
Biology & Biophysics, Panepistimiopolis, Athens 15701, Greece**

The chorion of *Drosophila virilis* is the end product of an intense secretory activity of the follicular epithelium that covers the developing oocyte and consists of the innermost chorionic layer, the endochorion and the exochorion. The structure of these layers varies at the specialized regions seen across the anterior-posterior axis of the laid egg. We are interested on the dynamics of the secretion and assembly of the chorion proteins, during the developmental process of chorion morphogenesis by the follicular epithelium. Therefore, specific antibodies of chorion proteins were raised and they were used for the subsequent immunolocalization (using immunoelectron microscopy) of these proteins on the chorion during all the developmental stages of its morphogenesis.

At the mature follicle these proteins were immunolocalized on the endochorion sublayer of the chorion despite the fact that two of these proteins are synthesized and secreted by the follicular epithelium following the completion of this structure. It seems thus, that a framework is initially made from the early secreted proteins into which the late secreted proteins intercalate to form the mature chorion. A functional chorion however, is produced following the eggshell peroxidase activation that crosslinks the chorion proteins through covalent di, tri- tyrosine bonds. This «hardening» enables the chorion to fulfill its important for the survival of the embryo, physiological role.

ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ΙΣΤΟΝΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑΣ H1⁰ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΚΑΙ ΤΗΝ ΦΑΣΗ ΤΗΣ ΗΡΕΜΙΑΣ ΣΕ ΔΥΟ ΗΛΙΚΙΕΣ ΙΝΟΒΛΑΣΤΩΝ

**Τσάπαλη¹, Δ.Σ., Θ.Γ. Σουρλίγκα¹, Ε. Βαγιάκου²,
Α. Καρπούζα¹ και Κ.Ε. Σέκερη-Παταργιά¹**

**¹Εθνικό Κέντρο Ερευνών Φυσικών Επιστημών
«ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ», ²Γενικό Κρατικό Νοσοκομείο Αθηνών
«Γεώργιος Γεννηματάς», Αθήνα**

Η H1⁰ ποικιλομορφία είναι μια πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια των ιστονών του συνδέτον του νουκλεοσώματος. Απομονώθηκε αρχικά και θεωρήθηκε ότι απαντά μόνο σε τερματικά διαφοροποιημένα κύτταρα. Ωστόσο πιο πρόσφατες μελέτες έδειξαν την συσσώρευση της H1⁰ σε κύτταρα που πολλαπλασιάζονται καθώς και σε μη πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα που όμως δεν βρίσκονται υπό διαφοροποίηση. Σε σύστημα *in vitro* κυτταρικής γήρανσης ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός σταματά κατά τρόπο μη αντιστρεπτό όταν εξαντληθεί το μιτωτικό δυναμικό των κυττάρων ή αντιστρεπτό όταν ικανά προς μίτωση κύτταρα μεταπέσουν στην Go φάση μετά από αναστολή εξ επαφής ή αποστέρηση ορού. Ενδιαφέρον ως εκ τούτου εμφανίζει η μελέτη της σύνθεσης της ποικιλομορφίας H1⁰ στις δύο αυτές φυσιολογικές καταστάσεις. Στην παρούσα εργασία μελετάται η σύνθεση της H1⁰ σε πληθυσμούς ανθρώπινων διπλοειδών ινοβλαστών με πεπερασμένο χρόνο ζωής (CPD 55-60). Οι καλλιέργειες συγχρονίστηκαν έπειτα από στέρηση ορού στις Go και S φάσεις του κυτταρικού κύκλου σε δυο διαφορετικές ηλικίες : σε μέση (CPD=30±2) και σε γηρασμένη (CPD=52±2) ηλικία. Για την ποσοτικοποίηση του ρυθμού σύνθεσης της H1⁰ χρησιμοποιήθηκαν ραδιενέργα πρόδρομα πρωτεινών και SDS-PAGE, ενώ για τον έλεγχο του συγχρονισμού και της μιτωτικής ικανότητας της καλλιέργειας έγινε σήμανση με [³H]θυμιδίνη. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως δεν υπάρχει αύξηση στην σύνθεση της H1⁰ κατά την γήρανση, εφόσον ο πληθυσμός δεν είχε ακόμη εξαντλήσει το μιτωτικό του δυναμικό. Ομως, υπάρχει αύξηση της σύνθεσης της H1⁰ σε πληθυσμούς που βρίσκονται σε ηρεμία. Η αύξηση αυτή είναι παρόμοια και για τις δύο ηλικίες που μελετήθηκαν. Παραμένει ανοιχτό το θέμα της σύνθεσης της H1⁰ σε πληθυσμούς που έχουν εξαντλήσει το μιτωτικό τους δυναμικό.

THE H1^o HISTONE VARIANT SYNTHESIS RATE DURING PROLIFERATION AND QUIESCENCE IN TWO AGES OF FIBROBLAST CULTURES

Tsapali¹, D.S., T.G. Sourlingas¹, E. Vagiakou², A. Karpouza¹,
and K.E. Sekeri-Pataryas¹

¹The National Centre for Scientific Research,
«DEMOKRITOS». ²National General Hospital, «Georgios
Gennimatas», Greece

The H1^o variant is a protein belonging to the linker histone family originally isolated from terminally differentiated cells and considered to be restricted to the nonproliferative cell state. However, recent work has shown that some cells accumulate significant amounts of the protein while still actively proliferating, whereas others accumulate it upon proliferation arrest without concomitant differentiation. In an *in vitro* model aging cell system the nonproliferative cell state appears either when a cell population has depleted its proliferative potential and is thus in a postmitotic nonreversible state or upon reversible G₀ phase growth arrest of mitotic populations attained by either contact inhibition or serum deprivation. Of interest is to study H1^o in these cell states. In the present work the synthesis of the H1^o variant was studied in human diploid fibroblast cell populations with a finite life span of 55-60 population doublings. Cell cultures were synchronized by serum deprivation in the G₀ and S phase of the cell cycle during two in culture ages, i.e., middle-aged (CPD=30±2) and aged (CPD=52±2) populations. Radioactive protein precursors and SDS-PAGE were used in order to analyze and quantitate the percent relative synthesis rate of the H1^o variant, whereas [³H]thymidine labeling was used on all populations of the study so as to verify synchronization as well as to monitor the proliferative capacity of the cultures. The results so far obtained do not show an increase in the H1^o relative synthesis rate during aging. However our aged cell populations were still mitotically competent. On the other hand the results do show an increase in H1^o synthesis in growth arrested, quiescent cell populations. Moreover this increase is similar in both ages used in this study. Future work will show whether H1^o accumulates in the postmitotic nonproliferative state as well.

**ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ ΤΟΥ
ΒΑΤΡΑΧΟΥ *Rana ridibunda* ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΤΟΥ
ΣΕ 100 ppm Cu**

**Τσαρδάκη, Αλεξάνδρα, Άννα Φωτιάδου
και Νικόλαος Λουμπουρδής**

**Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη**

Ο χαλκός (Cu) ανήκει στην κατηγορία των ιχνοστοιχείων και αποτελεί ένα απαραίτητο μέταλλο για τον οργανισμό αλλά και τοξικό σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Τα τελευταία χρόνια είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες επιβάρυνσης του περιβάλλοντος. Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στο να διερευνηθεί η επίδραση του μετάλλου αυτού στις διάφορες βιοχημικές διεργασίες στο ήπαρ του βατράχου *R. ridibunda*, μετά από αυξημένη πρόσληψη. Μελετήσαμε πιο συγκεκριμένα τις συγκεντρώσεις του γλυκογόνου και των πρωτεΐνων στο ήπαρ ζώων που παρέμειναν για 10, 20 και 30 σε 100 ppm χαλκού και σε ζώα που κρατήθηκαν σε καθαρό νερό και αποτέλεσαν τους μάρτυρες. Παρατηρήθηκε αύξηση του περιεχόμενου του γλυκογόνου με το πέρασμα των ημερών έκθεσης στο μέταλλο, ενώ το περιεχόμενο των πρωτεΐνων μειώθηκε. Πιο συγκεκριμένα βρέθηκε ότι ενώ στους μάρτυρες η συγκέντρωση του γλυκογόνου στο ήπαρ ήταν περίπου 47.236 μgr. /gr. υγρού βάρους, στα ζώα των 10 ημερών ήταν 120.438 μgr. /gr., στα ζώα των 20 ημερών ήταν 177.779 μgr./gr. και στις 30 ημέρες η συγκέντρωση του γλυκογόνου ήταν 144.166 μgr. /gr. Όσον αφορά τις πρωτεΐνες ενώ στους μάρτυρες η συγκέντρωση ήταν 106.657 μgr./gr. στις ομάδες των 10, 20 και 30 ημερών παρατηρήθηκε μείωση με αντίστοιχες συγκεντρώσεις 101.760, 91.709 και 79.471 μgr./gr. Θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι η έκθεση στο χαλκό προκαλεί γλυκονεογένεση στο ήπαρ του βατράχου. Η μείωση της συγκέντρωσης των πρωτεΐνων πιθανόν να σημαίνει ότι λαμβάνουν χώρα κάποιες κυτταρικές βλάβες στο ηπατικό παρέγχυμα.

A BIOCHEMICAL STUDY OF THE LIVER IN THE FROG *Rana ridibunda* AFTER ITS EXPOSURE IN 100 ppm Cu

Tsardaki, Alexandra, Anna Fotiadou
and Nikolaos Loumbourdis

Laboratory of Zoology, Department of Biology,
School of Sciences, Aristotle University,
Thessaloniki, Greece

Copper (Cu) belongs to the group of the trace elements and it's an essential metal for the organisms but also toxic at high concentrations. In the last years, Cu tends to become one of the most common factors of environment pollution. The purpose of this study is to examine the effect of this essential metal in liver of the frog *R. ridibunda* after its exposure at high concentrations. More specifically we studied glycogen and protein concentrations in four groups: animals which remain for 10, 20 and 30 days at 100 ppm Cu and animals used as controls which remain in fresh tap water. We detected an increase of glycogen accumulation and a decrease of protein accumulation. More specifically it was found that while glycogen concentration in controls liver was 47.236 µgr./gr. wet weight, in the group of 10 days was 120.438 µgr./ gr., in the group of 20 days was 177.779 wet weight and in the group of 30 days was 144.166 µgr./ gr. From these results we can conclude that there was an increase in glycogen accumulation. Regarding proteins, while the proteins concentration in the control was 106.657 µgr./ gr. wet weight, in the other groups there was a remarkable decrease. The proteins concentration in the groups of 10, 20 and 30 days was 101.760, 91.709 and 79.471 µgr./ gr. wet weight correspondingly. We can speculate the exposure to Cu results in an induction of gluconeogenesis in the liver of the frog *R. ridibunda*. The decrease of total protein levels may indicate a potential damage of liver parenchyma.

ΛΕΙΧΗΝΕΣ ΚΑΙ ΔΙΠΛΟΠΟΔΑ. Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΣΤΡΩΜΝΗΣ

Τσιαφούλη, Μ., Σ. Σγαρδέλης και Γ. Π. Στάμου
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε ο ρυθμός αποικοδόμησης στρωμνής πουρναριού *Quercus coccifera*, σε μικρόκοσμους πεδίου στους οποίους είχαν προστεθεί 0, 2 ή 5 άτομα του διπλόποδου *Glomeris balkanica* ή/και ποσότητα 0, 0.1, 0.3 ή 0.5 g του λειχήνα *Xanthoria parientina*. Από τους 12 πιθανούς συνδυασμούς που προκύπτουν επιλέχθηκαν 7 με τη βοήθεια Πειραματικού Σχεδιασμού βασισμένου στην Ανάλυση Διακύμανσης. Τα διπλόποδα και η κατάλληλη ποσότητα λειχήνα τοποθετήθηκαν μαζί με 10 g στρωμνής σε μικροκόσμους με άνοιγμα πλέγματος 1 mm και τοποθετήθηκαν στο πεδίο κάτω από θάμνους πουρναριού. Το άνοιγμα, που επιλέχθηκε, επιτρέπει ελεύθερη διέλευση μικροαρθροπόδων αλλά όχι μακροαρθροπόδων. Σε ένα διάστημα μισού έτους, σε κάθε μία από τις 4 δειγματοληψίες, ανασυρόταν 5 δείγματα από κάθε συνδυασμό. Σ' αυτά μετρήθηκαν η απώλεια βάρους, η έκλυση CO₂, η μικροβιακή βιομάζα, η αφθονία των μικροαρθροπόδων και ένας δείκτης προσβολής από μύκητες. Για το διάστημα που μελετήθηκε διακρίθηκαν δύο φάσεις αποικοδόμησης. Στην αρχή της διαδικασίας παρατηρείται μεγάλη απώλεια βάρους που ενδεχομένως οφείλεται στην απόπλυση υδατοδιαλυτών ουσιών από τα φύλλα. Στη συνέχεια ο ρυθμός αποικοδόμησης μειώνεται καθώς η διαδικασία πιθανότατα ελέγχεται από τη δράση βιοτικών παραγόντων. Στη δεύτερη αυτή φάση ο ρυθμός αποικοδόμησης αυξάνει αναλογικά με την αύξηση του αριθμού των διπλοπόδων ενώ αυξάνει γεωμετρικά με την αύξηση της ποσότητας των λειχηνών. Το μέγεθος της προσβολής του φυτικού υλικού από τους μύκητες συσχετίζεται με την αύξηση των λειχηνών. Η μικροβιακή βιομάζα παρουσιάζει τις μέγιστες τιμές της στα ενδιάμεσα επίπεδα τόσο των λειχηνών όσο και των διπλοπόδων. Η έκλυση CO₂ φαίνεται ανάλογη της ποσότητας των λειχηνών και αντιστρόφως ανάλογη του αριθμού των διπλοπόδων. Οι πληθυσμοί τέλος των κυριοτέρων ομάδων των μικροαρθροπόδων (Άκαρι, Κολλέμβολα κ.τ.λ) φαίνεται να αποκρίνονται με τον ίδιο ακριβώς τρόπο στο χειρισμό. Η αφθονία αυξάνεται όταν αυξάνεται και ο ένας από τους δύο παράγοντες (λειχήνες ή διπλόποδα) ενώ μειώνεται, όταν και οι δύο παράγοντες έχουν την μέγιστη τιμή τους.

LICHENS AND DIPLOPODS. THEIR CONTRIBUTION TO THE DECOMPOSITION PROCESS

Tsiafouli, M., S. Sgardelis and G. P. Stamou

Department of Ecology, School of Biology,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece

Quercus coccifera litter decomposition was studied in field microcosms where 0, 2, 3 or 5 individuals of the diplopod *Glomeris balcanica* and/or 0.1 0.3 or 0.5 g of the lichen *Xanthoria parientina* were added. Using Surface analysis Experimental Design, 7 combinations out of the 12 possible were selected and the appropriate number of diplopod individuals and quantities of lichens were added to 10 g DW of leaves. The material was set inside microcosms (soil cores enclosed in a plastic net of 1mm mesh size) and exposed in the field under *Q. coccifera* shrubs. The mesh size selected, permits the passage of microarthropodes but not that of macroarthropodes. Samples (5 replicates from each combination) were taken in 4 sampling occasions during the experiment, which lasted half a year. Litter weight loss, microbial biomass, CO₂ emission, microarthropod abundance and an index of fungal colonization were estimated for each sample. Two major phases of decomposition were observed during the studied period: an initial short period of high decomposition rate (attributed to leaching of water-soluble substances) and a long period with slow decomposition rate. During the second phase the decomposition rate increased linearly with the abundance of diplopods and geometrically with the quantity of lichens in the sample. Fungal colonization increased with the amount of lichens. Microbial biomass was at maximum at intermediate levels of lichens quantities and diplopod numbers. CO₂ emission raised with the quantity of lichens but decreased with increasing diplopod number. Finally, the communities of major microarthropod taxa (acari, collembola e.t.c) appeared with a unique type of response to the treatment. The abundance raised when either lichen quantity or diplopod individuals increased but reduced when both lichen quantities and diplopod numbers were at their maximum.

**ΦΥΣΙΚΗ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΚΑΙ ΚΛΩΝΩΝ DNA ΣΤΗΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΗ
ΠΕΡΙΟΧΗ 6q14-24 ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

**Τσιμπουξή, Α., Ε. Καραγιάννη, Β. Ορφανός, Γ.Μ. Μανιάτης
και Δ.Χ. Σπάθας**

**Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Ιατρικό Τμήμα,
Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα**

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι χρωμοσωμικές ελλείψεις ή απώλεια ετεροζυγωτίας στην περιοχή 6q14-q24 είναι συχνές σε ασθενείς με συγκεκριμένες νεοπλασίες (οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, λέμφωμα μη-Hodgkin, καρκίνο των ωοθηκών, του μαστού και του ενδομητρίου, καρκίνο του προστάτη κ.α.) και επομένως μπορεί να υποδηλώνουν αδρανοποίηση άγνωστων ογκοκατασταλτικών γονιδίων που σχετίζονται με την εκδήλωση της νεοπλασίας. Η λεπτομερής φυσική χαρτογράφηση της περιοχής αυτής με οριοθέτηση κλώνων DNA αποτελεί προϋπόθεση για τον προσδιορισμό της ελάχιστης κοινής έλλειψης σε DNA ασθενών που ενδεχομένως περιέχει κάποιο γονίδιο που έχει σχέση με την εκδήλωση της νόσου. Με πειράματα μονοχρωματικού φθορίζοντα υβριδισμού *in situ* (FISH) προσδιορίσαμε τη φυσική θέση οκτώ νέων κλώνων DNA και επαληθεύσαμε την θέση έξι κλώνων DNA από την υπό μελέτη περιοχή. Επίσης βρέθηκε με τη χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) η ακριβής θέση δύο γενετικών δεικτών και οριοθετήθηκε η θέση δέκα δεικτών DNA σε κλώνους YAC. Αναλυτικότερα οι κλώνοι 16AC1, οι 13DD10 βρίσκονται στην περιοχή q14, οι 764c10 και 767d1 στην περιοχή q16.2, οι 959b10 και 812f3 στην περιοχή 6q16.3-q21, ο κλώνος 751e6 στην περιοχή q21 ενώ ο κλώνος 767f12 βρίσκεται σε δύο περιοχές, την q21-q22.1 και την q22.2. Παράλληλα, από τα πειράματα PCR βρέθηκε ότι ο κλώνος 13DD10 (q14) περιέχει τους γενετικούς δείκτες D6S284 και D6S286, ο 764c10 (q16.2) τους γενετικούς δείκτες D6S300 και D6S1013, ο 767d1(q16.2) τους γενετικούς δείκτες D6S300 και D6S1041, ο 17DA1(q21) το ογκογονίδιο FYN και τους γενετικούς δείκτες D6S302 και D6S404, ο 23CE2 (q22.1-q22.3) το γονίδιο της Αργινάσης -1 και τους γενετικούς δείκτες D6S261 και D6S304, ο 23AB11 (q23.1) τους γενετικούς δείκτες D6S238 και D6S292. Η εργασία συμβάλλει στην καλύτερη φυσική χαρτογράφηση κλώνων και γενετικών δεικτών DNA στην περιοχή 6q14-q24 και σε συνδυασμό με άλλες μελέτες στον εντοπισμό σημαντικών γονιδίων από αυτή την περιοχή.

PHYSICAL MAPPING OF GENETIC MARKERS AND DNA CLONES AT REGION 6q14-24 OF HUMAN CHROMOSOME 6

**Tsimbouxi, A., E. Karayianni, V. Orphanos,
G.M. Maniatis and D.H. Spathas**

**Laboratory of General Biology, Medical School, University of
Patras, Patras, Greece**

It has been shown by recent studies that chromosomal deletions or loss of heterozygosity at region 6q14-q24 are frequent in patients with certain types of neoplasia (acute lymphoblastic leukaemia, non-Hodgkin lymphoma, ovarian, breast, endometroid and prostate cancer etc) and therefore may indicate inactivation of unknown tumor suppressor genes related to the pathogenesis of the neoplasia. The detailed physical mapping of this region is a prerequisite for the identification of the common minimal deletion and for the isolation of gene(s) related to the neoplastic process. We have physically mapped eight new DNA clones by fluorescence in situ hybridization (FISH) and verified the position of another six clones from this region. We have also found the precise position of two genetic markers and verified the position of ten markers by polymerase chain reaction (PCR) studies. More specifically, clones 16AC1, 13DD10 map at region q14, clones 764c10, 767d1 at q16.2, clones 959b10, 812f3 at q16.3-q21, clone 751e6 at q21, while clone 767f12 hybridizes at q21-q22.1 and q22.2. It was shown by PCR studies that clone 13DD10(q14) contains genetic markers D6S284 and D6S286, clone 764c10(q16.2) contains markers D6S300 and D6S1013, clone 767d1(q16.2) contains markers D6S300 and D6S1041, clone 17DA1(q21) contains the FYN oncogene and markers D6S302 and D6S404, clone 23CE2 (q22.1-q22.3) contains the Arginase-1 gene and genetic markers D6S261 and D6S304, while clone 23AB11(q23.1) contains markers D6S238 and D6S292. Our results contribute to a better physical mapping of DNA clones and markers at 6q14-q24 and may lead, along with other studies, to the identification and isolation of important genes from this region.

This study was supported by a grant to D.H.Spathas from the Ministry of Research and Technology.

ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΒΙΟΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΦΥΤΟΠΛΑΓΚΤΟΥ ΛΟΓΩ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΕΥΤΡΟΦΙΣΜΟΥ: ΜΙΑ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

**Γεώργιος Τσιρτσής και Μιχαήλ Καρύδης
Εργαστήριο Υδατικών Οικοσυστημάτων, Τμήμα
Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, 81100 Μυτιλήνη**

Εκτιμήθηκε η αποτελεσματικότητα της λογαριθμικής συνάρτησης κανονικής κατανομής των ατόμων μιας βιοκοινωνίας σε είδη, ως ποσοτική μέθοδος για την εκτίμηση των αλλαγών στην δομή της βιοκοινωνίας φυτοπλαγκτού που προκαλούνται από τον θαλάσσιο ευτροφισμό. Η αξιολόγηση της προτεινόμενης μεθοδολογίας βασίσθηκε σε δεδομένα ταξινόμησης ατόμων φυτοπλαγκτού σε είδη, από ήδη χαρακτηρισμένες εύτροφες, μεσότροφες και ολιγότροφες θαλάσσιες περιοχές. Έγινε δοκιμή πέντε διαφορετικών συνόλων διαστημάτων διπλασιασμού (οκτάβων) για την εφαρμογή της κατανομής και προέκυψε ότι το σύνολο με τα μικρότερα διαστήματα έδωσε καλύτερη προσαρμογή στα δεδομένα πεδίου. Η προσαρμογή ελέγχθηκε περατέρω στατιστικά και αποδείχθηκε επιτυχής σε επίπεδο 80%. Οι μεταβολές στην μορφή της κατανομής που οφείλονται στον θαλάσσιο ευτροφισμό εκφράσθηκαν μέσω των τριών χαρακτηριστικών παραμέτρων της κατανομής που είναι ο αριθμός της επικρατέστερης οκτάβας, ο αριθμός ειδών στην επικρατέστερη οκτάβα και ο παράγοντας σχήματος. Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις τρείς παραμέτρους μεταξύ ευτρόφων, μεσοτρόφων και ολιγοτρόφων θαλασσίων περιοχών. Ο αριθμός της επικρατέστερης οκτάβας ήταν υψηλός στις εύτροφες και μεσότροφες περιοχές, ο αριθμός ειδών στην επικρατέστερη οκτάβα έδειξε μιά τάση χαμηλών τιμών σε μεσότροφες συνθήκες, ενώ ο παράγοντας σχήματος παρουσίασε εμφανή αύξηση από τον εύτροφο προς τον ολιγότροφο τύπο νερού. Τέλος αναπτύχθηκε μαθηματικό μοντέλο προσομοίωσης για την ανάπτυξη, μέσω της προτεινόμενης κατανομής, πρότυπων βιοκοινωνιών φυτοπλαγκτού χαρακτηριστικών ευτρόφων, μεσοτρόφων και ολιγοτρόφων θαλασσίων περιοχών. Η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε προτείνεται για τον έλεγχο υποθέσεων σχετικών με τις αλλαγές στην δομή φυτοπλαγκτονικών βιοκοινωνιών που προκαλούνται από τον θαλάσσιο ευτροφισμό και γενικότερα για την ανάπτυξη συστηματικής προσέγγισης στην χρήση των δομικών αλλαγών σε επίπεδο βιοκοινωνίας για την αξιολόγηση της ποιότητας παράκτιων υδάτων.

QUANTIFICATION OF THE STRUCTURAL CHANGES OF PHYTOPLANKTONIC COMMUNITIES INDUCED BY MARINE EUTROPHICATION: A METHODOLOGICAL APPROACH

George Tsirtsis and Michael Karydis

Aquatic Ecosystems Laboratory,

Department of Environmental Studies

University of the Aegean, 81100 Mytilini, Greece

The lognormal equation assigning species abundance to doubling intervals (octaves) of individuals was evaluated as a methodological tool to describe the structural changes of phytoplanktonic communities induced by marine eutrophication. The field validation of the proposed methodology was based on phytoplankton enumeration and classification data characteristic of eutrophic, mesotrophic and oligotrophic waters. Five octave sets with different sizes were tested for goodness-of-fit against field data and the set with the smallest size of doubling intervals was selected for further consideration. The application of the lognormal equation was evaluated statistically with the field data and it was considered satisfactory at 80% level. The changes in the shape of the lognormal equation induced by eutrophication were expressed by the three characteristic parameters of the equation, the number of the modal octave, the number of species in the modal octave and the shaping factor. Significant differences were observed for the three parameters among eutrophic, mesotrophic and oligotrophic waters; the number of the modal octave was high in eutrophic and mesotrophic waters, the number of species in the modal octave has shown a trend of low values under mesotrophic conditions and the shaping factor has shown a considerable increase from eutrophic to oligotrophic waters. Furthermore, a mathematical model was developed to generate simulated phytoplanktonic communities of the three water types. This model is proposed to be used for hypotheses testing related to the structural changes of phytoplanktonic communities induced by eutrophication and for the development of a systematic procedure for the application of community structural metrics in coastal water quality assessment.

ΕΡΕΥΝΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΑΠΟΨΕΙΣ ΜΑΘΗΤΩΝ ΤΗΣ ΣΤ' ΔΗΜΟΤΙΚΟΥ ΓΙΑ ΤΟ ΑΣΤΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

**Φαρμάκης, Ι., Ε. Κίτσιου, Σ. Μποζατζούδης
και Σ. Παρασκευόπουλος**
**Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης, Α.Π.Θ.
Θεσσαλονίκη**

Η έρευνα αυτή είναι **πιλοτική** μιας πολύ ευρύτερης, που διεξάγεται μέσα στο 1998 στα δημοτικά και γυμνάσια Καλαμαριάς, Ελευθερίου-Κορδελιού, Έδεσσας και Λιτοχώρου. Πραγματοποιήθηκε στη ΣΤ' τάξη του 2^{ου} Πειραματικού Δημ. Σχ. του ΠΤΔΕ του ΑΠΘ το Φεβρουάριο του 1997. Το πλήθος των μαθητών είναι 27 (11 αγόρια, 16 κορίτσια) και προέρχεται από μία αρκετά μεγάλη αστική περιοχή, που τροφοδοτεί το συγκεκριμένο σχολείο.

Σκοπός της έρευνας είναι η διερεύνηση των **αντιλήψεων, απόψεων, στάσεων και συμπεριφοράς** των μαθητών της ΣΤ' δημοτικού και Γ' γυμνασίου για το Δομημένο Περιβάλλον, οι οποίοι να προέρχονται από διαφορετικά αστικά περιβάλλοντα, έτσι ώστε να γίνουν οι δυνατές συγκρίσεις.

Το ερωτηματολόγιο που δόθηκε, περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό ερωτήσεων - κλειστών και ανοιχτών - σχετικά με βασικά χαρακτηριστικά κτιρίων και χώρων του αστικού περιβάλλοντος, όπως: διαστάσεις, χρώμα, χωρική διάταξη, αισθητική, πολεοδομία, σημασιολογική διάσταση κ.ά. Είναι χωρισμένο σε τέσσερις ενότητες. Η **πρώτη** περιέχει κοινωνικά στοιχεία, η **δεύτερη** περιγραφικά στοιχεία της γειτονιάς που κατοικούν, η **τρίτη** περιγράφει το βαθμό ικανοποίησης απ' αυτήν και η **τέταρτη** καταγράφει προτιμήσεις των μαθητών σχετικά με το πώς επιθυμούν να είναι και τι να περιλαμβάνει η γειτονιά τους.

Τα γενικότερα συμπεράσματα που προέκυψαν είναι: γενικά οι απαντήσεις δίνονται με μεγάλο βαθμό βεβαιότητας, τα κορίτσια απαντούν με περισσότερη βεβαιότητα και σιγουριά από ότι τα αγόρια, τα αγόρια δείχνουν μεγαλύτερη επιθυμία για ανοιχτούς χώρους από ότι τα κορίτσια, τα κορίτσια δείχνουν εντονότερο ενδιαφέρον για θέματα που έχουν σχέση με την αισθητική πλευρά του αστικού περιβάλλοντος από ότι τα αγόρια.

CONCERNING THE VIEWS OF PRIMARY PUPILS-GRADE SIX- ABOUT THE URBAN ENVIRONMENT

Farmakis, J., E. Kitsiou, S. Bozatzoudis

and S. Paraskevopoulos

**School of Education, Department of Primary Education,
Aristotle University, Thessaloniki, Greece**

This research is pilotic and it is a part of a broader one which is being held in Primary and High schools in Kalamaria, Eleftherio-Kordelio, Edessa, and Litohoro (Macedonia-Greece).

This specific study was held with grade six pupils in the 2nd Experimental Primary School supervised by the School of Education, Department of Primary Education of the Aristotle University of Thessaloniki in February 1998. The number of subject was 27 (11 boys, 16 girls) who come from a wide different urban parts of the city of Thessaloniki.

The aim of this research is the investigation of the conceptions, views, attitudes, and behaviours which pupils of primary-grade six-and high schools have towards built environment. The pupils, on purpose, come from different urban environments, in order to facilitate comparisons.

The questionnaire which was given to children included a great number of closed and open questions concerning basic characteristics of the urban environment, particularly buildings and spaces such as: dimensions, colours, aesthetics, city planning, meaning dimension,, ect. The questionnaire was divided into four units. The first included social elements, the second descriptive elements to their neighbourhood, the third described the level of satisfaction from their neighbourhood, and the fourth recorded their preferences to their neighbourhood, how they would like it to be and what to include.

General Conclusions: the given answers were in a high certainty, the girls seem to answer with more certainty than boys, the boys show a greater preference for open spaces than the girls, the girls seem to be more interested in elements as aesthetics of the urban environment than boys.

ΕΝΔΟΠΥΡΗΝΙΚΕΣ ΚΙΝΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ COUP-TF ΣΤΗΝ ΕΜΒΡΥΟΓΕΝΕΣΗ

Φλυτζάνης¹, Κων/νος και Αντωνία Βλάχου²

**¹California Institute of Technology, Kerckhoff Marine
Laboratory, 101 Dahlia Ave., Corona Del Mar, CA 92625**

²Eastern Virginia Medical School, Norfolk, Virginia, USA

Ο πυρηνικός παράγοντας COUP-TF εκφράζεται κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης του αχινού, ειδικά στα κύτταρα που διαφοροποιούνται σε νευρικό σύστημα. Σημαντικό μέρος του ρυθμιστικού αυτού παράγοντα βρίσκεται αποθηκευμένο σαν μητρική πρωτεΐνη στο αυγό. Κατά τα πρώϊμα στάδια της ανάπτυξης ο μητρικός COUP-TF μεταβαίνει περιοδικά, ακολουθώντας τον κυτταρικό κύκλο, από την περιφέρεια του πυρήνα (S φάση) στα χρωμοσώματα (μίτωση). Η ενδοπυρηνική κυκλοφορία του COUP-TF εξαρτάται από την ικανότητα της πρωτεΐνης να συνδεθεί στο DNA. Η χαρακτηριστική αυτή συμπεριφορά του COUP-TF θα συζητηθεί σε σχέση με τη δράση του σαν αρνητικός ρυθμιστικός παράγοντας κατά την ανάπτυξη.

CELL CYCLE COORDINATED SUBCELLULAR MOVEMENTS OF THE COUP-TF NUCLEAR RECEPTOR IN EARLY EMBRYONIC CELLS

Flytzanis¹, Constantin N. and Antonia Vlahou²

¹California Institute of Technology, Kerckhoff Marine
Laboratory, 101 Dahlia Avenue, Corona Del Mar, CA 92625
and ²Eastern Virginia Medical School, Norfolk, Virginia, USA

The nuclear receptor SpCOUP-TF is the highly conserved sea urchin homologue of the COUP family of transcription factors. Previous results from our laboratory demonstrated that SpCOUP-TF transcripts are localized in the egg and asymmetrically distributed in the early embryonic blastomeres (Vlahou et al., 1996). To examine the subcellular localization of SpCOUP-TF protein, polyclonal antibodies were separately raised against the diverged N-terminus as well as the conserved DNA binding and ligand binding domains. Immunohistochemical analyses suggest that SpCOUP-TF is a maternal protein residing in the cytoplasm of the unfertilized egg. After fertilization, and as soon as the 2-cell stage embryo, the receptor translocates from the cytoplasm to the cell nuclei. During the rapid embryonic cell division, SpCOUP-TF was found to shuttle from the interphase nuclear lamina to the condensed chromosomes in mitosis, in a cell cycle-dependent manner. In an attempt to confirm these observations, we examined the subcellular localization of myc-tagged human COUP-TF I, introduced into the sea urchin embryo by RNA injection of fertilized eggs. The pattern of human COUP-TF I subcellular localization, detected with a monoclonal myc antibody, recapitulated the essential features of the endogenous SpCOUP-TF trafficking. Replacement of the N-terminus of the human receptor with the unique sea urchin N-terminus further facilitates its confinement to the nuclear lamina during interphase. Interestingly, deletion of the DNA binding domain of human COUP-TF I resulted in loss of all aspects of nuclear lamina and chromosomal localization. Taken together these data suggest that SpCOUP-TF transcriptional activity is keyed on a novel cell cycle dependent mechanism that regulates chromosomal protein traffic.

**ΦΥΛΛΑ ΘΑΜΝΩΔΩΝ ΦΥΤΩΝ ΕΛΙΑΣ ΩΣ
ΒΙΟΜΕΤΡΗΤΕΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΙΣ
ΟΔΙΚΕΣ ΑΡΤΗΡΙΕΣ ΤΗΣ ΑΘΗΝΑΣ**

**Φουλίδη, Α. και Α. Ν. Ρήγα-Καρανδεινού
Εργαστήριο Οικολογίας και Προστασίας Περιβάλλοντος
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75,
Βοτανικός 118 55, Αθήνα**

Έχει διαπιστωθεί ότι τα αστικά αερολύματα (υγρά και στερεά) έχουν άμεσες καὶ έμμεσες επιπτώσεις στα φυτά. Οι αποθέσεις π.χ σωματιδίων στα φύλλα μειώνουν την φωτοσυνθετική τους ικανότητα και αυξάνουν την θερμοκρασία τους, προκαλώντας την αυξημένη ευαισθησία των φυτών στην ξηρασία. Οι υψηλές συγκεντρώσεις διαφόρων μετάλλων στα φύλλα αποδεικνύονται συχνά τοξικές για ορισμένα είδη φυτών. Εξ άλλου φυτά των αστικών αυτοκινητοδρόμων έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για την βιοκαταγραφή των αποθέσεων των αστικών ρύπων.

Στην παρούσα εργασία μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις των μετάλλων Ca, Mn, Zn, Fe, Cu, Pb και Cd ξεχωριστά στα νέα και παλαιά φύλλα από θαμνώδεις ελιές, σε 16 σταθμούς 13 οδικών αρτηριών της Αθήνας και σε 3 σταθμούς (μάρτυρες) μη αστικών περιοχών στο Πόρτο-Ράφτη Αττικής και στην Ιεράπετρα Κρήτης.

Διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις των μετρηθέντων μετάλλων μεταξύ των νέων και των παλαιών φύλλων. Ανάλυση της παραλλακτικότητας έδειξε σημαντική διαφορά (δοκιμή F) μεταξύ των οδικών αρτηριών για όλα τα μέταλλα. Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντικός θετικός συντελεστής συσχέτισης μεταξύ κυκλοφοριακών φορτίων των αρτηριών και των συγκεντρώσεων των μετάλλων Zn, Fe, Cu και Pb. Ορισμένα ζεύγη μετάλλων είχαν σημαντικό θετικό συντελεστή συσχέτισης ενώ ορισμένα άλλα ζεύγη είχαν αρνητικό.

Τα ανωτέρω αποτελέσματα αποτελούν σοβαρή ένδειξη καταλληλότητας των φύλλων ελιάς ως βιομετρητή ρύπανσης, ιδιαίτερα σε αστικούς σταθμούς πόλεων με πολύμηνη ξηρή περίοδο όπου τα φυτά της ελιάς επιβιώνουν λόγω της ανθεκτικότητάς τους στις συνθήκες αυτές.

LEAVES OF OLIVE TREES AS BIOMONITORS OF METAL POLLUTION IN ROADWAYS OF ATHENS

Foulidi, A. and A.N. Riga-Karandinos
Laboratory of Ecology and Environmental Sciences
Agricultural University of Athens, Iera Odos 75,
118 55 Athens, Greece

It has been established that urban pollution has direct and indirect effects on plants. Deposition, for example, of small particles on leaves reduces their photosynthetic capacity and increases their temperature, enhancing, thus, the susceptibility of the plants to drought. High concentrations of several metals in leaves are often toxic for some species of plants. Plants along urban roadways have been successfully used for biomonitoring the deposition of urban pollutants.

In the present study the concentrations of the metals Ca, Mn, Zn, Fe, Cu, Pb and Cd were determined in the new and old leaves of olive trees in 16 stations of 13 roadways of Athens and in 3 stations(control) of rural regions in Porto-Rafti of Attica and Ierapetra of Crete.

Statistically significant differences were found, in the concentrations of the metals, between the new and the old leaves. Analysis of Variance showed significant difference (F-test) among the roadways for all the metals. Significant positive correlation coefficient was found between traffic load and concentration of the metals Cu, Fe, Pb and Zn. For certain pairs of metals, a significant positive correlation was found while for other pairs the correlation was negative.

The above results strongly indicate that olive leaves constitute an appropriate biomonitor of pollution , particularly in urban stations where the olive plants can survive the long dry period.

Ο ΧΡΟΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΑΤΑΚΟΡΥΦΗΣ ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΖΩΟΠΛΑΓΚΤΟΥ ΣΤΟΝ ΠΑΤΡΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ

Φραγκοπούλου, Ν., Κ. Κουτσικόπουλος, Γ. Μήτση

και Ι. Λυκάκης

Πανεπιστήμιο Πάτρας, Τμήμα Βιολογίας, 26500 Πάτρα

Το φαινόμενο της κατακόρυφης μετανάστευσης του ζωοπλαγκτού είναι καθοριστικής σημασίας για την δυναμική των θαλάσσιων οικοσυστημάτων. Πολλές πλευρές του φαινομένου αυτού δεν έχουν ακόμη επαρκώς κατανοηθεί, μεταξύ των οποίων και ο χρονισμός του. Πολλές υποθέσεις έχουν προταθεί, όπως το ότι ο κάθε πληθυσμός ακολουθεί μία βέλτιστη ζώνη φωτισμού ανάλογα με τις προτιμήσεις του, ή το ότι μεγαλύτερη σημασία για την μετακίνηση έχει η σχετική αλλαγή της έντασης του φωτός. Τα τελευταία χρόνια με την ανάπτυξη των τρισδιάστατων υδροδυναμικών μοντέλων η μελέτη της κατακόρυφης κατανομής είναι σημαντική για την κατασκευή συνδυασμένων φυσικών και βιολογικών μοντέλων. Τον Ιούλιο του 1997 πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία ζωοπλαγκτού σε ένα σταθμό στον Πατραϊκό Κόλπο με το ερευνητικό σκάφος «Little Alexander». Συλλέχθηκαν δείγματα ανά 20min σε διάστημα 3.5 ωρών πριν και μετά την δύση του ήλιου, με πλάγιες σύρσεις από βάθος 0 - 10m (δίχτυ 80X80cm, πόροι γάζας 315μμ). Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε σε επίπεδο ομάδων. Οι αλλαγές της πυκνότητας των ομάδων στο επιφανειακό στρώμα συσχετίσθηκαν με τη γωνία του ήλιου ως προς τον ορίζοντα. Η παράμετρος αυτή επιλέχθηκε λόγω του ότι αποτελεί σταθερό μέγεθος σύγκρισης μεταξύ των διαφόρων περιοχών, σε αντίθεση με την ώρα της ημέρας, που έχει κυρίως χρησιμοποιηθεί. Η μελέτη έδειξε ότι οι πυκνότητες των ομάδων που μετανάστευσαν (κωπήποδα, χαιτόγναθα, ευφαυσεώδη, προνύμφες γαρίδων) ακολούθησαν σιγμοειδή καμπύλη. Η αύξηση της πυκνότητας των πληθυσμών αυτών στο επιφανειακό στρώμα παρατηρήθηκε αμέσως μετά την δύση, αλλά ο μεγαλύτερος ρυθμός αύξησης εντοπίσθηκε 40min αργότερα, όταν η γωνία του ήλιου με τον ορίζοντα ήταν 6-12 μοίρες. Τότε παρατηρείται και η μεγαλύτερη σχετική αλλαγή της έντασης του φωτός. Ένα απλό μοντέλο κατασκευάσθηκε για να μελετηθεί η επίδραση του τύπου της κατακόρυφης κατανομής και της ταχύτητας μετανάστευσης των ατόμων στην παρατηρηθείσα σιγμοειδή διακύμανση της πυκνότητας των πληθυσμών στο επιφανειακό στρώμα.

THE TIMING OF THE VERTICAL MIGRATION OF ZOOPLANKTON IN THE GULF OF PATRAS (GREECE)

Fragopoulou, N., K. Koutsikopoulos, G. Mitsi and J. Lykakis
University of Patras, Department of Biology,
265 00 Patras, Greece

Although the vertical migration of the marine organisms contribute to both the energy transfer along the food web and the spread of individuals in space, several aspects of this fundamental mechanism are still remain not well documented. One of these points concerns the timing of the vertical migration. Several hypotheses have been proposed, among which the prevailing ones are related to the species specific preferences of constant light intensity and/or the stimulus provided by the great relative changes in the ambient light around sunrise and sunset. Since the development of 3D circulation models, the estimation of the timing of the vertical migration is of great importance for the coupling of physical and biological models. In this context, in July 1997 zooplankton sampling was conducted in the Gulf of Patras with the «R/V Little Alexander». The sampling strategy was based on a high frequency sampling (20 min lag) of the surface layer (0-10m) during a 3.5 hours period around sunset, in a fixed point station. Ten samples were collected with a square frame plankton net (80x80 cm, 315 µm mesh size) in 10 min duration oblique hauls, and analyzed at the main zooplankton group level. The observed changes in the density of these main groups in the surface layer were related to the angle defined by the sun and horizon. This parameter was selected because it permits a wide range of comparison among areas and seasons, contrary to the local time which depends on the geographic position and the day of the year. The study revealed that the densities of the main groups known to migrate (i.e. euphausiids, chaetognaths) showed an s-shape pattern. An increase in the surface layer densities was observed just after sunset but the highest rate of increase was observed 40 min latter. This moment corresponds to a sun angle of 6-12 degrees below the horizon (civil and marine twilight respectively) and is characterized by the higher relative changes in the irradiance intensity. A simple model was built in order to analyze the relative contribution of the pattern of vertical distribution and the speed of the upward movement of the different populations to the observed results.

ΑΝΤΙΦΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΜΕΛΑΝΙΝΗΣ ΤΟΥ ΤΣΑΓΙΟΥ

**Φρατζή, Ε., Δ. Μάρκου, Ν. Αβραμίδης, Μ. Γιάγκου
και Λ. Χατζηπέτρου**

**Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας,
Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη**

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η μελέτη της αντιφλεγμονώδους και ανοσοτροποποιητικής δράσης της μελανίνης που απομονώθηκε από τσάι. Οι μελανίνες είναι βιοπολυμερή της τυροσίνης χρωστικές. Η μελέτη της αντιφλεγμονώδους δράσης της μελανίνης έγινε με τη δημιουργία οιδήματος στο πέλμα επιμύων φυλής Fisher-344 μετά από ένεση φλοιογιστικών ουσιών και τη διαπίστωση της παρεμπόδισης της φλεγμονής μετά από χορήγηση i.p. της μελανίνης (19,5 mg/kg βάρους ζώου). Η ανοσοτροποποιητική δράση της μελανίνης μελετήθηκε στο μοντέλο της πειραματικής αρθρίτιδας αρουραίων που επάγεται με ενδοδερμική ένεση (0,1 ml) FCA στην ουρά ή στο πέλμα του ποδιού του ζώου. Η μελανίνη (66 mg/kg) χορηγήθηκε i.p. την ίδια μέρα με την επαγωγή της αρθρίτιδας. Ο προσδιορισμός των ιντερλευκινών και κυττοκινών έγινε με βιομεθόδους και ανοσοκυτταροχημικές μεθόδους. Μελετήθηκαν διάφοροι βιοχημικοί παράγοντες στον ορό (αλβουμίνη, ολική πρωτεΐνη, σφαιρίνες, α-1-όξινη γλυκοπρωτεΐνη), όπως και μια σειρά ανοσοβιολογικοί παράγοντες *in vitro* (Μιτογονική απόκριση, Φαγοκυττάρωση). Η μελανίνη καταστέλλει το οίδημα καρραγενίνης, ζυμομυκήτων, νυστατίνης και FCA κατά 59%, 40%, 68% και 93% αντίστοιχα. Η καταστολή της πειραματικής αρθρίτιδας στα ζώα που χορηγήθηκε μελανίνη είναι σχεδόν 100% ενώ στα ζώα που δεν χορηγήθηκε ανέπτυξαν σοβαρή αρθρίτιδα 12-14 ημέρες μετά την επαγωγή της. Η μελέτη της επαγωγής των κυττοκινών στο μοντέλο της πειραματικής αρθρίτιδας έδειξε πως η χορήγηση της μελανίνης προκαλεί αύξηση της IL-2 και IFN-γ ενώ παρατηρείται μειωμένη επαγωγή για τις TNF-α, IL-6, IL-10, IL-4, IL-5 σε σχέση με τα αρθριτικά ζώα. Συμπερασματικά, η μελανίνη, παρουσιάζει άριστες αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και φαίνεται ότι επηρεάζει την κυτταρική ανοσία, αφού καταστέλλει την πειραματική αρθρίτιδα.

ANTIINFLAMMATORY AND IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF TEA MELANIN

**Fratji, E., D. Markou, N. Avramidis, M. Yiagou
and L. Hadjipetrou**

**Aristotle University, Faculty of Biology, Division of Genetics,
Development and Molecular Biology, Thessaloniki, Greece**

The aim of this study is to evaluate the antiinflammatory and immunomodulating properties of tea melanin. Melanins are biopolymers of tyrosine possessing antioxidant activity. The antiinflammatory activity of melanin was evaluated by its action on paw induced oedema in rats. The oedema was induced by various phlogistic agents, such as carragenin, beaker's yeast, concanavalin A, nystatin and complete Freunds adjuvant, while melanin was administered i.p. (19.5 mg/kg B.W.). The immunomodulating properties of melanin were evaluated in rats with adjuvant arthritis (AA) induced by the intradermal injection (tail) of FCA. Melanin was administered i.p. (66 mg/kg B.W.) on the same day with adjuvant injection. Assays of the produced cytokines were performed with the corresponding bioassays and immunocytochemical techniques. Our results show that melanin suppresses the oedema/inflammation induced by carragenin, bakers yeast, nystatin or FCA by 59%, 40%, 68% and 93% respectively. The suppression of adjuvant arthritis in animals that were treated with melanin was almost 100% while the non treated animals developed sever arthritis 12-14 days after FCA injection. Melanin administration in AA rates increase the number of splenocytes producing IL-2 and IFN- γ in contrast to TNF α , IL-6, IL-10, IL-4 and IL-5 which are reduced in comparison to non-melanin injected AA rats. In conclusion, this natural product, melanin derived from tea, appears to have excellent antiinflammatory properties, possibly by inhibiting the cyclooxygenase, lipooxygenase and complement systems as suggested by the results on various phlogistic agents with known mechanisms concerning the induction of inflammation. Melanin appears to affect the cellular immunity, as shown by its total suppression of AA.

Η ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΕΝΕΣΗ ΚΥΣΤΕΙΝΙΚΗΣ ΣΑΡΩΣΗΣ ΩΣ ΝΕΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΕΝΣΩΜΑΤΩΜΕΝΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Φριλίγγος¹, Σ., M. Sahin-Toth, J. Wu και H. R. Kaback

Howard Hughes Medical Institute, UCLA, USA,

¹Τρέχουσα διεύθυνση: Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Η περμεάση λακτόζης της *Escherichia coli*, πολυτοπική μεμβρανική πρωτεΐνη υπεύθυνη για τη συμμεταφορά β-γαλακτοσιδίου και H^+ , μελετάται ως υπόδειγμα ενός ευρέος φάσματος πρωτεϊνών-μεταφορέων, οι οποίες λειτουργούν μετατρέποντας την ηλεκτροχημική ενέργεια μιας διαβάθμισης ιόντων σε διαβάθμιση συγκέντρωσης κάποιου μικρομορίου. Χρησιμοποιώντας ένα λειτουργικό μόριο περμεάσης λακτόζης όπου τα υπολείμματα κυστείνης έχουν αντικατασταθεί (περμεάση ελεύθερη κυστεινών), η περμεάση υποβλήθηκε σε μεταλλαξιγένεση κυστεινικής σάρωσης ώστε να δημιουργηθεί βιβλιοθήκη μεταλλαγμάτων με μονές Cys κατάλληλων για μελέτες δομής-λειτουργίας. Οι μελέτες έδειξαν, (1) ποιά αμινοξέα είναι αναντικατάστατα ως προς την ενεργό μεταφορά λακτόζης, (2) πώς διευθετούνται στην τριτοταγή δομή οι 12 διαμεμβρανικές έλικες και, (3) ποιός είναι ο πιθανός μηχανισμός λειτουργίας σε μοριακό επίπεδο. Αναντικατάστατα είναι 6 σε σύνολο 417 αμινοξέων, τα ζεύγη Glu126 (έλικα IV) - Arg144 (έλικα V), Glu269 (έλικα VIII) - His322 (έλικα X) και Arg302 (έλικα IX) - Glu325 (έλικα X). Η δέσμευση σακχάρου λαμβάνει χώρα στη μεσεπιφάνεια των έλικων IV (Glu126), V (Cys148, Met145, Arg144) και VIII (Val264, Gly268, Asn272). Η μεταφορά πρωτονίου εξαρτάται από τη μεσεπιφάνεια των έλικων IX (Arg302) και X (Glu325). Το ζεύγος Glu269 (έλικα VIII) - His322 (έλικα X) απαιτείται για τη σύζευξη δομικών μεταβολών μεταξύ της μεσεπιφάνειας δέσμευσης σακχάρου και της μεσεπιφάνειας μεταφοράς πρωτονίου.

CYSTEINE-SCANNING MUTAGENESIS AS A NOVEL APPROACH TO THE STUDY OF INTEGRAL MEMBRANE PROTEINS

Frillingos¹, S., M. Sahin-Toth, J. Wu and H. R. Kaback

Howard Hughes Medical Institute, UCLA, USA

¹Current address: Laboratory of Biochemistry, Department of Chemistry, University of Ioannina, Ioannina, Greece

The lactose permease of *Escherichia coli*, a polytopic membrane protein that catalyzes the coupled stoichiometric translocation of b-galactosides and H⁺ (symport), is studied as a paradigm for a wide range of secondary transport proteins that convert free energy stored in an electrochemical ion gradient into a concentration gradient. By using a functional molecule devoid of Cys residues, the permease was subjected to Cys-scanning mutagenesis to determine which residues play a central role in the mechanism and to create a library of single-Cys mutants for structure/function studies. The studies lead to: (i) delineation of residues that are irreplaceable with respect to active transport; (ii) determination of helix packing; and (iii) development of a mechanistic model for coupling between lactose and H⁺ translocation. Of 417 residues, only 6 are irreplaceable: Glu126 (helix IV) with Arg144 (helix V), Glu269 (helix VIII) with His322 (helix X) and Arg302 (helix IX) with Glu325 (helix X). Properties of mutants indicate that the substrate translocation pathway involves the interface between helices IV (Glu126), V (Cys148, Met145, Arg144) and VIII (Val264, Gly268, Asn272). The interface between helices IX (Arg302) and X (Glu325) is involved in H⁺ translocation, with Glu325 playing a central role. Glu269 (helix VIII) and His322 (helix X) are required to couple ligand-induced structural changes at the interface between helices IV, V and VIII to the interface between helices IX and X and vice versa.

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΟΣΣΥΣΩΡΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ
(Cu) ΣΤΟ ΒΑΤΡΑΧΟ *Rana ridibunda* ΜΕΤΑ ΑΠΟ
ΕΚΘΕΣΗ ΤΟΥ ΣΕ 100 ppm Cu**

**Φωτιάδου, Άννα και Νικόλαος Λουμπουρδής
Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών
Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο,
540 06 Θεσσαλονίκη**

Ο χαλκός (Cu) ανήκει στην κατηγορία των ιχνοστοιχείων και αποτελεί ένα από τα πιο κοινά βαρέα μέταλλα που συναντούμε στο περιβάλλον. Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στο να διερευνηθεί η βιοσυσσώρευση του απαραίτητου αυτού μετάλλου στο νεφρό και στο ήπαρ, μετά από αυξημένη πρόσληψη, στο νεροβάτραχο *R. ridibunda*. Επιλέξαμε το *R. ridibunda* λόγω της ευρείας κατανομής του στον Ελλαδικό χώρο και επιπλέον γιατί υπάρχουν λίγα στοιχεία όσον αφορά τα αμφίβια και τα βαρέα μέταλλα. Μελετήσαμε τη βιοσυσσώρευση του χαλκού στο ήπαρ και στους νεφρούς ζώων που παρέμειναν για 10, 20 και 30 ημέρες σε 100 ppm χαλκού και σε ζώα που κρατήθηκαν σε καθαρό νερό και αποτέλεσαν τους μάρτυρες. Παρατηρήθηκε αύξηση του περιεχόμενου χαλκού τόσο στο ήπαρ όσο και στο νεφρό. Πιο συγκεκριμένα βρέθηκε ότι ενώ στους μάρτυρες η συγκέντρωση του χαλκού στο ήπαρ ήταν περίπου 152 μgr. /gr. ξηρού βάρους, στα ζώα των 10 ημερών ήταν 420.28 μgr. /gr. ξηρού βάρους δηλαδή αυξημένη κατά 2.76 φορές, στα ζώα των 20 ημερών ήταν 434 μgr. / gr. ξηρού βάρους αυξημένη κατά πολύ μικρό ποσοστό και στις 30 ημέρες παρατηρήθηκε και πάλι αύξηση κατά 1,67 φορές σε σχέση με τις 20 ημέρες και η συγκέντρωση του χαλκού έφτασε τα 703 μgr. /gr. ξηρού βάρους. Δηλαδή η αύξηση του Cu στο ήπαρ παρουσίασε πτωτική πορεία. Στο νεφρό, ενώ στους μάρτυρες η συγκέντρωση του χαλκού ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης, στις ομάδες των 10, 20 και 30 ημερών παρατηρήθηκε ύπαρξη χαλκού με αντίστοιχες συγκεντρώσεις 33.76, 83.89, 389.93 μgr. /gr. ξηρού βάρους, παρουσιάστηκε δηλαδή έντονα αυξητική πορεία.

A STUDY OF COPPER (Cu) ACCUMULATION IN THE FROG *Rana ridibunda* AFTER ITS EXPOSURE IN 100 ppm Cu

Fotiadou, Anna and Nikolaos Loumbourdis
Laboratory of Zoology, Department of Biology, School of Sciences, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

Copper (Cu) belongs to the group of the trace elements and it's one of the common heavy metals in the environment. The purpose of this study is to examine the accumulation of this essential metal in liver and kidney of the water-frog *R. ridibunda* after its exposure at high Cu concentrations. We studied Cu accumulation in four groups: animals which remain for 10, 20 and 30 days at 100 ppm Cu and animals used as controls which remain in fresh tap water. We detected an increase of copper accumulation in both organs. More specifically it was found that while copper concentration in controls liver was 152 µgr./gr. dry weight, in the group of 10 days was 420.28 µgr./ gr.(2.76 times higher), in the groups of 20 days was 434 µgr./ gr.(almost the same to the previous group) and in the group of 30 days was 703 µgr./ gr.(1.76 times higher compared to the previous group). From these results we can conclude that while there was an increase in copper accumulation, the rate of increase was falling. In kidney, while the copper concentration in the control was below the detection limits, in the other groups there was a remarkable increase. The copper concentration in the groups of 10, 20 and 30 days was 33.76, 83.89 and 389.93 µgr./ gr. dry weight correspondingly. Copper concentration in the organism remains at normal levels because of an homeostatic mechanism. Liver plays the main role in this mechanism. Normally there are no copper contents in the kidney. However under the condition of an overexposure a different homeostatic mechanism may activate copper's excretion from the kidney.

ΥΠΕΡΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΥΣΤΙΔΙΩΝ ΚΑΤΕΧΟΛΑΜΙΝΩΝ ΣΤΑ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΥΤΟΝΟΜΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

**Χαβάκη, Σ., Μ. Χρυσάνθου-Πιτερού, Δ. Αρβανίτης¹
και Μ. P. Ισιδωρίδου**

**Ινστιτούτο Νευροβιολογικών Ερευνών, Ίδρυμα Θ. Θ. Κότσικα
και Ψυχιατρική Κλινική Παν/μίου Αθηνών, Αιγινήτειο
Νοσοκομείο, ¹Εργαστήριο Ανατομίας, Ιστολογίας και
Εμβρυολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα**

Τα νεοπλάσματα του Αυτόνομου Νευρικού Συστήματος (ΑΝΣ), όπως τα γαγγλιονευρώματα, είναι γνωστό ότι συνθέτουν, αποθηκεύουν, εκκρίνουν κατεχολαμίνες, και περιέχουν και νευροεκκριτικά κοκκία. Μελετήσαμε πέντε γαγγλιονευρώματα με σκοπό την ακριβή εντόπιση, στους όγκους αυτούς, θέσεων αποθήκευσης των κατεχολαμινών. Μικρά τεμάχια ιστών βιοψίας μονιμοποιήθηκαν πρώτα σε υπερμαγγανικό κάλιο, μετά σε διχρωμικό κάλιο, και τελικά εγκλείσθηκαν σε εποξικές ρητίνες. Η μέθοδος αυτή είναι διαμορφωμένη ώστε να αναδεικνύει στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ηλεκτρονιόπυκνα ιζήματα κατεχολαμινών στο κέντρο αποθηκευτικών κυστίδων (Høkfelt and Jonsson, 1968). Υπέρλεπτες τομές των ιστών έδειξαν καταφανή και πολυάριθμα σφαιρικά κυστίδια ποικίλων διαμέτρων, ομοιόμορφα κατανεμημένα στο κυτταρόπλασμα και συχνά κατά μήκος των διευρυμένων αποφυάδων νεοπλασματικών γαγγλιακών κυττάρων. Κάθε κυστίδιο εμφάνιζε ηλεκτρονιόπυκνο κέντρο, συνδεόμενο μέσω πολύ λεπτών ινιδίων με την περιβάλλουσα μεμβράνη. Είναι ενδιαφέρον ότι τα κυστίδια αυτά είναι όμοια, ως προς την δομή και το μέγεθος, με τα αποθηκευτικά κυστίδια κατεχολαμινών των μονοαμινικών νευρώνων στον εγκέφαλο του ανθρώπου (Issidorides et al., 1996). Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι τα λεγόμενα νευροεκκριτικά κοκκία των νεοπλασμάτων του ΑΝΣ είναι θέσεις αποθήκευσης των κατεχολαμινών που παράγονται από αυτούς τους όγκους. Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της ωρίμανσης αυτών των νευροενδοκρινικών όγκων, αποκαλύπτοντας δείκτες κατεχολαμινικής διαφοροποίησης των γαγγλιακών νεοπλασματικών κυττάρων.

ULTRASTRUCTURAL DEMONSTRATION OF GRANULES STORING CATECHOLAMINES IN GANGLIONEUROMAS

**Havaki, S., M. Chrysanthou-Piterou, D. Arvanitis¹
and M. R. Issidorides**

**Neurobiology Research Institute, T.T. Cozzika Foundation, and
Department of Psychiatry, University of Athens, Eginition
Hospital, ¹Department of Anatomy, Histology & Embryology,
University of Thessaly, Larisa, Greece**

Neoplasms of the Autonomic Nervous System, such as ganglioneuromas, are known to synthesize, store and secrete catecholamines (CA) and to display neurosecretory granules. We studied five ganglioneuromas in order to localize exact sites of CA storage in these tumors. Small biopsy tissues were fixed in potassium permanganate, postfixed in potassium dichromate, and processed for epoxy resin embedding. This method for electron microscopy is designed to demonstrate CA as dense cores inside vesicles (Høkfelt and Jonsson, 1968). Thin sections of the tissues showed numerous conspicuous spherical vesicles of varying diameters, evenly distributed in the cytoplasm, and frequently along large processes of the neoplastic ganglion cells. Each vesicle had an electron-dense central core separated by an electron-lucent fibrous halo from the surrounding membrane. It is significant that these dense-core vesicles are similar, as to fine structure and size, to the CA-storing dense core vesicles of monoamine neurons in the human brain (Issidorides et al., 1996). In conclusion, our results demonstrate that the so-called neurosecretory granules of autonomic neoplasms are storage sites of the CA produced by these tumors. This method can be used to estimate the maturity of neuroendocrine tumors by revealing differentiated CA markers of the neoplastic ganglion cells.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΣΒΕΣΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟ ΤΩΝ ΘΡΑΥΣΕΩΝ ΣΤΟ DNA

Χαβελές, Κ.Σ., Α. Γ. Γεωργακίλας, Θ. Κατσώρχης,
Β. Σοφιανοπούλου και Ε. Γ. Σιδέρης
Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ,
Αγία Παρασκευή 153 10, Αττική

Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης δύο αποσβεστών ελευθέρων ριζών στην θερμοσταθερότητα και την ηλεκτροφορετική κινητικότητα των DNA μορίων. Το Tris και η Φαινόλη χρησιμοποιούνται εκτενώς στην διερεύνηση της επαγωγής των μονόκλων (SSBs) και των δίκλωνων θραύσεων DNA που εκτίθεται σε ιονίζουσα ακτινοβολία. Οι μονόκλωνες θραύσεις, οι δίκλωνες θραύσεις καθώς και η σχέση μεταξύ τους, έχουν ιδιαίτερη σημασία στην κατανόηση των πρωταρχικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα κατά την αλλοίωση του DNA λόγω ακτινοβολίας και τις επακόλουθες χρωμοσωμικές αλλοιώσεις. Ιδιαίτερα οι δίκλωνες θραύσεις θεωρούνται ως οι αλλοιώσεις που οδηγούν στην ανενεργοποίηση του κυττάρου.

Κατά την εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκαν δύο παρασκευάσματα DNA: α) μακρομοριακό DNA από θύμο αδένα μόσχου μέσου μοριακού μήκους 8 ± 0.5 kb pairs και β) Τεμαχισμένο DNA από θύμο αδένα μόσχου καθορισμένου μοριακού μήκους 2 ± 0.2 kb pairs. Οι αποσβέστες που χρησιμοποιήθηκαν μεταβάλλουν την θερμοσταθερότητα καθώς και την ηλεκτροφορετική κινητικότητα των μη ακτινοβολημένων μορίων DNA όπως αυτή μετράται με τη μέθοδο της ηλεκτροφορήσεως παλμικού πεδίου (για το παρασκεύασμα α) και με τη μέθοδο της συμβατικής ηλεκτροφορήσεως (για το παρασκεύασμα β). Έκθεση των υδατικών διαλυμάτων DNA σε ιονίζουσα ακτινοβολία μειώνει τη θερμοκρασία «τήξης» (T_m) του DNA και αυξάνει ηλεκτροφορετική κινητικότητα των DNA μορίων. Οι χρησιμοποιούμενοι αποσβέστες εμποδίζουν τις μεταβολές αυτές. Ο αριθμός των SSBs και DSBs είναι δυνατό να υπολογιστεί υπό διαφορετικές συνθήκες ικανότητας απόσβεσης των ριζών. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι ένα σημαντικό μέρος της επίδρασης των συγκεκριμένων αποσβεστών ελευθέρων ριζών στο DNA οφείλεται όχι μόνο στην αποσβεστική τους ιδιότητα αλλά και στις μεταβολές που προκαλούν στις φυσικές ιδιότητες των μορίων DNA αυτών καθ' αυτών.

THE EFFECTS OF RADICAL SCAVENGERS ON THE ESTIMATION OF THE DNA STRAND BREAKS

Haveles, K.S., A. G. Georgakilas, Th. Katsorchis,
V. Sophianopoulou and E. G. Sideris

Institute of Biology, NCSR DEMOKRITOS, Aghia Paraskevi
153 10, Attiki, Greece

The effects of two free radical scavengers on the thermal stability and the electrophoretic mobility of the DNA molecules are studied. Tris and Phenol are extensively used by many laboratories in order to investigate the induction of DNA single strand breaks (SSBs) and double strand breaks (DSBs) after exposure to ionizing radiation. SSBs, DSBs as well as their interrelationship are of extreme importance in understanding the early reactions involved in the radiation induced DNA damage and its involvement to chromosome aberrations. Especially DSBs are considered as the main lesions leading to cell inactivation.

We have used two different DNA substrates: a) *Native* macromolecular calf thymus DNA of mean size 8 ± 0.5 kb pairs and b) *Fragmented* DNA of average molecular size of 2 ± 0.2 kb pairs. The scavengers used alter the thermostability and the overall migration of the non-irradiated DNA samples as estimated through pulsed field gel electrophoresis (for substrate a) and standard agarose gel electrophoresis (for substrate b). Exposure of DNA aqueous solutions to ionizing radiation decreases the T_m double helix to single coil thermal transition temperature and increases the overall migration of the DNA molecules. The used scavengers exhibit a strong effect on preventing these radiation induced alterations. The number of SSBs and DSBs was estimated in various conditions of scavenging capacity. Our observations suggest that a considerable part of the effect of these radical scavengers on DNA molecules might be attributed not only to their scavenging capacity but also to alterations on the dynamic properties of the DNA macromolecules *per se*.

**ΜΙΑ ΝΕΑ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΣΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ
ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΔΙΥΔΡΟΦΟΛΙΚΗ
ΑΝΑΓΩΓΑΣΗ (DHFR) ΑΠΟ ΗΠΑΡ ΜΟΣΧΟΥ**

Χαρκιολάκη¹, Μ., Ν. Παπανδρέου¹ Αικ. Βυζά²
και Σ.Ι. Χαμόδρακας

¹Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και
Βιοφυσικής, ²Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακευτικής
Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 01

Η Διυδροφολική Αναγωγάση (DHFR) είναι το εξαρτώμενο από νικοτιναμίδιο ένζυμο υπεύθυνο για τη μετατροπή του 7,8-διυδροφολικού σε 5,6,7,8-τετραϋδροφολικό. Το ανωτέρω προϊόν στη συνέχεια μεθυλώνεται και δρα σα δότης μονάδων άνθρακα στη βιοσύνθεση της θυμιδίνης. Αναστολή του ενζύμου οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο λόγω έλλειψης θυμιδίνης. Συνεπώς η DHFR είναι κατάλληλος υποψήφιος στόχος για τη θεραπεία του καρκίνου καθώς και παρασιτικών λοιμώξεων. Ο στόχος μας είναι να απομονώσουμε DHFR από ήπαρ μόσχου με βάση υπάρχοντα πρωτόκολλα απομόνωσης, ώστε να την κρυσταλλώσουμε καθώς και σύμπλοκά της με πρότυπους αναστολείσπιθανά αντικαρκινικά φάρμακα. Τροποποιήσεις μας οδήγησαν σε μια νέα προσέγγιση της μεθόδου καθαρισμού που αυξάνει το ποσό της καθαρής πρωτεΐνης και είναι λιγότερο χρονοβόρα από ό,τι έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα. Το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε ξεκινά με ομογενοποίηση του ιστού και διαδοχικά στάδια κατακρήμνισης. Το επόμενο σημαντικό βήμα απομόνωσης, χρησιμοποιεί χρωματογραφία συγγένειας. Το υλικό που χρησιμοποιείται είναι MTX-Agarose, ο σύνδεσμος είναι μεθοτρεξάτη, ένας αναστολέας της DHFR. Η πρωτεΐνη εκλούεται συναγωνιστικά και στη συνέχεια πραγματοποιείται μια δεύτερη χρωματογραφία συγγένειας, που αποτελεί το δεύτερο σημαντικό στάδιο απομόνωσης. Στο στάδιο αυτό το υλικό που χρησιμοποιείται είναι Red-Sepharose και έχει σα σύνδεσμο ένα χρωμοφόρο το οποίο μοιάζει στη χημική δομή με το NADPH. Το στάδιο αυτό αποτελεί μια νέα προσέγγιση στην απομόνωση της DHFR. Η χρήση δύο διαδοχικών σταδίων χρωματογραφίας συγγένειας αποκλείει την χρήση άλλων χρωματογραφικών μεθόδων που είναι χρονοβόρες και έχουν χαμηλή απόδοση.

NOVEL APPROACH IN THE PURIFICATION METHOD OF BOVINE DIHYDROFOLATE REDUCTASE (DHFR) FROM LIVER TISSUE

**Harkiolaki¹, M., N. Papandreou¹ E. Byza²
and S.J. Hamodrakas¹**

**¹Department of Biology, Division of Cell Biology and
Biophysics, ²Department of Pharmacy, Division of
Pharmaceutical Chemistry University of Athens, Athens 157 01,
Greece**

Dihydrofolate Reductase (DHFR) is the nicotinamide dependent enzyme responsible for the conversion of 7,8-dihydrofolate to 5,6,7,8-tetrahydrofolate. The latter then becomes methylated and acts as a carbon unit donor in the biosynthesis of thymidine. Inhibition of this enzyme leads to cell death due to the lack of thymidine. The latter marks DHFR as a perfect target candidate for treatment of cancer episodes as well as parasitic infections. Our goal was to isolate bovine DHFR from liver tissue through primarily standard purification protocols in order to crystallize it, as well as its complexes with novel inhibitors-possible anticancer agents. Modifications led us to a new approach to the purification method that increases recovery, is less laborious and more time efficient than those previously reported. The protocol developed starts with homogenization and successive precipitation steps. The next major separation step utilizes affinity chromatography. The matrix employed is MTX-Agarose and the ligand is methotrexate, a DHFR inhibitor. The protein is eluted competitively and then is applied on a second affinity matrix which is the second major separation step. In this stage Red-Sepharose is the matrix utilized, which contains a chromophore resembling in chemical structure NADPH. This stage is a novel approach to the purification of DHFR. The use of two successive affinity chromatography steps eliminates the need of other chromatographic methods which are time consuming and further limit the total yield of the procedure.

**ΑΠΡΕΣΣΟΡΙΑ ΤΟΥ ΑΦΙΔΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ
ΔΕΥΤΕΡΟΜΥΚΗΤΑ *ALTERNARIA ALTERNATA*
(DEMATIACEAE).
ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ**

Χατζήπαπας, Π. και Χ. Χριστιάς
Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 26500 Ρίο, Πάτρα

Τα κονίδια του Δευτερομύκητα *A.alternata* προσκολλώνται και βλαστάνουν στην επιφάνεια του εξωσκελετού του εντόμου *Aphis nerii*. Η βλάστηση των σπορίων διενεργείται μέσω του σχηματισμού ενός έως τριών βλαστικών υφών ή ενός δευτερογενούς κονιδίου το οποίο στη συνέχεια έχει την δυνατότητα να συμπεριφερθεί ως πρωτογενές. Οι βλαστικές υφές αρχικά έρπουν στην επιφάνεια του εξωσκελετού και σχηματίζουν απρεσσόρια (πλάκες συγράτησης) ή περνούν στο εσωτερικό του εντόμου μέσω των χώρων μεταξύ των τμημάτων στα οποία χωρίζεται το έντομο χωρίς την δημιουργία πλακών πρόσδεσης. Οι πλάκες πρόσδεσης έχουν χαρακτηριστικό σχήμα και σχηματίζονται σε ποικίλες αποστάσεις από τα βλαστημένα σπόρια. Ο μύκητας μετά τον σχηματισμό απρεσσορίων συνεχίζει να αναπτύσσεται έρποντας στην επιφάνεια του εξωσκελετού αναζητώντας νέες θέσεις για σχηματισμό καινούργιων απρεσσορίων. Τα σπόρια βλαστάνουν σε όλη την επιφάνεια του εξωσκελετού χωρίς να δείχνουν κάποια φαινομενική διαφορά ή υστέρηση σε κάποιο τμήμα. Η διάτρηση του εξωσκελετού γίνεται μέσω των πλακών πρόσδεσης σε όλα τα μέρη του εντόμου ωστόσο κυρίως στο θώρακα και δευτερευόντως στο κεφάλι παρατηρείται προτίμηση στη διάτρηση μέσω των χώρων μεταξύ των τμημάτων χωρίς δημιουργία απρεσσορίων. Η βέλτιστη θερμοκρασία για την βλάστηση των σπορίων φαίνεται να είναι 25°C και η υγρασία πρέπει να είναι εξαιρετικά υψηλή. Δεν έχει παρατηρηθεί βλαστικότητα σπορίων σε χαμηλή υγρασία ούτε σε αντικειμενοφόρους αλλά ούτε και σε έντομα. Η διάτρηση του εξωσκελετού φαίνεται να γίνεται μέσω συνδυασμού ενζυμικής και μηχανικής δραστηριότητας. Είναι χαρακτηριστική η λείαση της επιφάνειας του εξωσκελετού στην περιοχή που καλύπτει το απρεσσόριο καθώς επίσης και η οπή που δημιουργεί η υφή διάτρησης στο κέντρο της. Η όλη διαδικασία είναι πολύ γρήγορη ώστε μέσα σε 24 ώρες να διακρίνεται στην επιφάνεια του εντόμου μεγάλος αριθμός απρεσσορίων οδηγώντας σε γρήγορη ανάπτυξη της ασθένειας και το θάνατο του εντόμου. Ωστόσο το έντομο διατηρεί την αναπαραγωγική του ικανότητα για δύο με τρεις ημέρες ούτως ώστε υποτιθέμενη προσπάθεια βιολογικού ελέγχου των αφίδων με τον συγκεκριμένο μύκητα να απαιτεί προγραμματισμένη εφαρμογή.

**APPRESSORIA OF THE ENTOMOPATHOGENIC
DEUTEROMYCETE *ALTERNARIA ALTERNATA*
(DEMATIACEAE).
MICROSCOPICAL OBSERVATIONS**

Hatzipapas, P. and C. Christias
University of Patras, Department of Biology
26500 Rio, Patras, Greece

Conidia of the Deuteromycetous aphid pathogen *A.alternata* adhere to and germinate on the aphid cuticle. Conidial germination involves the formation of one to three germ tubes or one secondary conidium which can behave as a primary one. The germ tubes initially grow on the cuticle surface and form appressoria or penetrate into the insect through the intersegmental spaces of the insect body without forming appressoria. Appressoria have a characteristic shape and can be found at various distances from the germinated spores. After formation of appressoria, mycelial growth is continued indiscriminately on all parts of the cuticular surface and new appressoria are formed. Spores germinate on all parts of the insect without showing any discrimination on anyone particular segment. Penetration of integument follows the formation of appressoria at all segments of the insect body. Occasionally there is direct penetration without the formation of appressoria especially in the thorax and the head. The optimum temperature for spore germination is 25°C and humidity requirements are high. Spore germination has not been observed at low humidity, neither on glass slides nor on the insect's cuticle. Penetration of the integument is effected by combination of enzymatic and mechanical activities. Smoothing of the cuticle surface which is covered by an appressorium and the hole from the penetration peg at its center are obvious features. The whole procedure is quiet fast and a big number of appressoria can be found 24 hours after inoculation which means fast development of pathogen and death of the insect. Nevertheless insects maintain their reproductive ability for two or three days after infection. This should be taken into consideration in any attempts for biological control of aphids by *A.alternata*.

**ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΩΝ
ΣΤΑΔΙΩΝ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *APHIS NERII* ΣΤΟΝ
ΑΦΙΔΟΠΑΘΟΓΟΝΟ ΜΥΚΗΤΑ *ALTERNARIA
ALTERNATA***

**Χατζήπαπας, Π. και Χ. Χριστιάς
Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 26500 Ρίο, Πάτρα**

Η *Aphis nerii* ολοκληρώνει τα στάδια ανάπτυξης φτάνοντας στο τέλειο άτομο σε χρονικό διάστημα 8 - 10 ημερών. Στο διάστημα αυτό μεσολαβούν τέσσερις εκδύσεις καθώς το έντομο περνά τέσσερα προνυμφικά στάδια. Η διάρκεια κάθε προνυμφικού σταδίου είναι μία έως τρεις ή τέσσερις ημέρες. Ανώριμες αφίδες που μολύνονται με σπόρια του μύκητα *A. alternata* έχουν την δυνατότητα να μην υποστούν μόλυνση ανάλογα με το στάδιο στο οποίο βρίσκονται και το χρονικό διάστημα μεταξύ της εισόδου τους στο συγκεκριμένο στάδιο και της μόλυνσης. Η διαδικασία της μόλυνσης (βλάστηση σπορίων, βλαστικές υφές, πλάκες πρόσδεσης) είναι ίδια σε όλα τα προνυμφικά στάδια. Δεν έχει παρατηρηθεί υστέρηση ή ανικανότητα βλάστησης σε κάποιο απ' αυτά. Η δυνατότητα του ανώριμου εντόμου να γλιτώσει από το παθογόνο συνίσταται στο να προλάβει να εκδύθει εντός δύο ή τριών ημερών από τη στιγμή της μόλυνσης. Τα έντομα που το καταφέρνουν συνεχίζουν την ανάπτυξή τους κανονικά χωρίς να παρουσιάζουν κάποια φαινομενική διαφορά διατηρώντας επίσης και την αναπαραγωγική τους ικανότητα. Προφανώς ο μύκητας στο χρονικό αυτό διάστημα αναπτύσσεται στην επιφάνεια του εξωσκελετού του εντόμου και σε τμήματα αυτού που αποβάλλονται με την έκδυση ώστε να απομακρύνεται εντελώς από τον οργανισμό του. Η έκδυση είναι ελαττωματική και δεν ολοκληρώνεται φυσιολογικά σε μολυσμένες αφίδες των οποίων η έκδυση καθυστερεί πέραν των τριών ημερών, αν κατορθώσουν να εκδυθούν και δεν έχουν πεθάνει εν τω μεταξύ. Οι παράμετροι που φαίνεται να επηρεάζουν την εγκατάσταση της ασθένειας είναι ο ρυθμός ανάπτυξης των εντόμων που εξαρτάται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το βάρος κατά την γέννηση και η ποιότητα της τροφής.

**DIFFERENTIAL SENSITIVITY OF THE
DEVELOPMENTAL STAGES OF APHIS NERII
AGAINST THE ENTOMOPATHOGENIC
DEUTEROMYCETE ALTERNARIA ALTERNATA**

Hatzipapas, P. and C. Christias
University of Patras, Department of Biology
26500 Rio, Patras, Greece

Aphis nerii reach maturity in eight to ten days. During this period the insect undergoes ecdysis four times and becomes mature. The duration of each instar stage is one to three or four days. Aphids of all instar stages which are infected with conidia of the entomopathogenic Deuteromycete *A.alternata* are able to escape infection depending on the stage and the time between the initiation of the stage and the inoculation . The procedure of the infection (spore germination, germ tubes, appressoria) is identical for all the developmental stages. No delay or inability for germination has been observed at any stage. The instars escape the disease if they molt in two or three days after inoculation. The insects which manage to escape in this way continue to grow up normally. They also maintain full reproductive ability. Obviously during this period, growth of *A. alternata* is limited to the insect's surface and at parts of the integument which are aborted after molting. Molting which happens four days after infection (if the insects are still alive) is probably imperfect and cannot be completed normally. The parameters which affect the establishment of the disease is the growth rate of the insects which depends on genetic and environmental factors such as birth weight and food quality.

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΟΥ ΠΑΧΟΥΣ ΣΕ ΒΟΡΕΙΟΕΛΛΑΔΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ . ΑΙΤΙΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΗΣ

**Χατσατριάν, Λουσινέ και Α . Πέντζου-Δαπόντε
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Τμήμα Βιολογίας, Θεσσαλονίκη**

Όπως είναι γνωστό, η μελέτη της ανάπτυξης του ανθρώπινου οργανισμού είναι ένα από τα σημαντικότερα πεδία έρευνας της Φυσ. Ανθρωπολογίας. Ο ρυθμός της αύξησης ελέγχεται από πολύπλοκο συνδυασμό εξωτερικών και εσωτερικών παραγόντων. Το ιδανικό του μοντέρνου ανθρώπου χωρίς άλλο είναι ένα σώμα ευκίνητο και χωρίς περιττό λίπος. Ο σύγχρονος τρόπος ζωής, πέρα από τις ανέσεις που μας προσφέρει, έχει και τα αρνητικά του επακόλουθα. Εδώ σημαντικό ρόλο κατέχει η παχυσαρκία, η οποία αποτελεί ασθένεια του αιώνα μας. Από την κατάσταση αυτή δεν εξαιρούνται οι ανήλικοι (ένα στα πέντε δωδεκάχρονα παιδιά είναι παχύσαρκο). Παρατηρούμε ότι ενώ στην παιδική ηλικία η κατανομή του λίπους γίνεται ομοιόμορφα σε όλοκληρο το σώμα και στα δύο φύλα, με την ενηλικίωση και εξαιτίας της σεξουαλικής διαφοροποίησης στις γυναίκες συσσωρεύεται κυρίως στη γλουτομηριαία περιοχή και στους άνδρες στην κοιλιακή χώρα. Ως υλικό για την έρευνά μας χρησίμευσαν μαθητές Γυμνασίου, Λυκείου και φοιτητές, που φοιτούν στο Βορειοελλαδικό χώρο. Από άτομα αυτά πάρθηκαν σωματομετρικά στοιχεία. Υπολογίζονται επίσης τα στοιχεία διατροφής, υγείας και αθλητικών επιδόσεων. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιείται ο Ηλεκτρονικός Υπολογιστής για τη μέτρηση του Ποσοστού του Λίπους του Σώματος (Futrex-5000). Τα αποτελέσματα θα συζητηθούν με την βοήθεια της σύγχρονης ξένης και ελληνικής βιβλιογραφίας. Η στατιστική των αποτελέσματων θα επεξεργαστεί με PC και τη βοήθεια ειδικών για ανθρωπολογικές μελέτες στατιστικών προγραμμάτων. Θα αναλύσουμε και θα σχολιάσουμε τις καμπύλες ρυθμών ανάπτυξης οι οποίες προκύπτουν από τη στατιστική επεξεργασία. Επίσης θα προσπαθήσουμε να παρουσιάσουμε το ρόλο της διατροφής στην πρόκληση της παχυσαρκίας και τις μεθόδους της καταπολέμησής της.

THE SHARING OF FATNESS TO NORTH GREEK POPULATION. THE REASONS OF FATNESS AND METHODS TO FACE IT

Chatsatrian, Lousine and A. Penzou-Daponte
Aristotle University, Department of Biology,
Thessaloniki, Greece

As we all know, the study of development of the human organism is one of the most important subjects of anthropologism. The rate of increase is checked by the most complicated equals of externals and internals factors. The only thing that care men of 1989 is not haring any useless fat. The contemporary life style is more than less a nimble body without any fat. But to be fat is the greatest disease of our century. From this situation is not exempted the under age people (from five to twelve years old). We observe that while childhood, the distribution of fatness, is uniform to all the body-to both sex, but while you come of age, and because of sexual differentiation, women collect most at buttocks area and men at belly. As stuff of our investigation we have used pupils of high and secondary school and students that attend a course of studies at north area. From all these people, we have taken a lot of components. We estimate as well the components of food, health, and athletic presentations. For all this measuring, we used the electronic computer Futrex-5000. The results will be discussed with the help of contemporary Greek and Foreign bibliography. The statistic of results will be explained by PC and by the help of specialist to anthropological studies. We will analyse and discuss the curves of progress that arises from the statistic progressing. We will try as well ,to show the role of Food as the main cause of fatness (or plumpness) and also how can we all face it.

**ΣΕΝΑΡΙΑ ΠΑΓΚΟΣΜΙΑΣ ΚΛΙΜΑΤΙΚΗΣ
ΑΛΛΑΓΗΣ, ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΕΔΑΦΩΝ: ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ
ΤΩΝ ΕΔΑΦΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ ΚΑΤΑ ΜΗΚΟΣ ΜΙΑΣ
ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗΣ ΔΙΑΒΑΘΜΙΣΗΣ**

Χοβαρδάς, Α. και Γ.Π. Στάμου
Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο
Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη

Σύμφωνα με τις προβλεπόμενες κλιματικές αλλαγές, αναμένεται σύντομα μεταβολή της γονιμότητας των εδαφών. Σκοπός της μελέτης είναι να διερευνηθούν οι επιδράσεις τεχνητά επαγγέμενων θερμοϋγρασιακών διαβαθμίσεων στις βιοκοινότητες των εδαφικών νηματωδών. Η πειραματική διαταραχή εκτείνεται κατά μήκος μιας γεωγραφικής διαβάθμισης ευρωπαϊκών λιβαδικών συστημάτων. Εξετάστηκε μια σειρά περιβαλλοντικών μεταβλητών, καθώς και η σύνθεση και η αφθονία των γενών των νηματωδών. Οι βιοκοινότητες των νηματωδών περιγράφηκαν με την τεχνική της μήτρας βιοκοινότητας και το δείκτη ποικιλότητας και κυριαρχίας Simpson. Η κατανομή των γενών αναλύθηκε με την κανονική ανάλυση αντιστοιχιών. Αυξημένες πυκνότητες καταγράφηκαν σ' όλο το μήκος του διαβαθμιτή σχετικά με αυτές που δίνονται στη βιβλιογραφία. Παρατηρήθηκε επίσης κυριαρχία γενών με μεγάλο εύρος ενδιαιτήματος. Η θερμοκρασία καθορίζει τη συμπεριφορά των νηματωδών στο νότιο και η υγρασία στο βόρειο τμήμα του διαβαθμιτή. Τα λιβαδικά συστήματα προβλέπεται να είναι παραγωγικότερα και να προσφέρουν αυξημένο εύρος ενδιαιτήματος στο νότο. Οι επιδράσεις αφορούν κυρίως τα άκρα του διαβαθμιτή, προς τα οποία η σχετική σημασία της μικροπανίδας για τις ενεργειακές ροές των λιβαδικών συστημάτων αυξάνεται.

GLOBAL CLIMATE CHANGE SCENARIOS, SOIL FERTILITY: SOIL NEMATODE RESPONSES ALONG A GEOGRAPHICAL GRADIENT

Hovardas, A. and G.P. Stamou

**Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University,
540 06 Thessaloniki, Greece**

In accordance to anticipated climate changes, a modification of soil fertility in the near future is expected. The aim of this study is to examine the effects of technically induced temperature and humidity gradients on soil nematode biocommunities. The experimental disturbance extends over a geographical gradient of European grasslands. A number of environmental variables, as well as the composition and abundance of nematode genera have been explored. The nematode biocommunities have been described with the Biomatrix technique and the Simpson diversity and dominance indices. The genera distribution has been analyzed using Canonical Correspondance Analysis. Higher densities were recorded all over the length of the geographical gradient in relation to those given in bibliography. Besides, domination of genera with great niche width were detected. Temperature determined nematode behavior in the southern and humidity in the northern part of the gradient. Grasslands are expected to be more productive and to offer greater habitat width in the South. The effects concern mainly the extremes of the gradient, towards which the relative importance of microfauna according to energy flows in grasslands increases.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΓΕΝΟΥΣ ΧΛΩΡΙΔΑΣ ΤΗΣ ΠΟΛΗΣ ΤΩΝ ΠΑΤΡΩΝ

Χρονόπουλος, Γ. και Δ. Χριστοδούλακης
Εργαστήριο Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα

Η επιγενής χλωρίδα της αστικής και περιαστικής περιοχής της Πάτρας περιλαμβάνει 93 taxon και αποτελεί το 11,4% της συνολικής χλωρίδας (816 taxon) της εξεταζόμενης περιοχής. Οι πολυπληθέστερες σε επιγενή οικογένειες είναι αυτές των *Gramineae*, *Compositae*, *Solanaceae*, *Leguminosae*, *Cruciferae* και *Amaranthaceae*. Στο βιολογικό φάσμα των επιγενών κυριαρχούν τα θερόφυτα (51,6%) και όσον αφορά τη γεωγραφική τους καταγωγή τα περισσότερα είναι αμερικανικά (47,3%), ακολουθούμενα από τα ασιατικά (17,2%), τα αφρικανικά (8,6%) και τα τροπικά-υποτροπικά (7,5%). Ένα σημαντικό μέρος των επιγενών taxon (43%) είναι πλήρως εγκλιματισμένα στην περιοχή, ενώ τα υπόλοιπα (57%) χαρακτηρίζονται ως εφήμερα. Η ανάλυση των επιγενών στις 4 διακριθείσες οικολογικές ζώνες της πόλης έδειξε βαθμαία αύξηση της ποσοστιαίας συμμετοχής τους κατά τη μετάβαση από τη ζώνη μικρότερης (περίπου 9%) προς τη ζώνη μεγαλύτερης αστικοποίησης (περίπου 20%). Η ανάλυσή τους στους 22 διακριθέντες τύπους βιοτόπων απέδειξε ότι τα υψηλότερα ποσοστά επιγενών συνδέονται με τους βιοτόπους που υφίσταται τις πιο έντονες ανθρωπογενείς επιδράσεις. Σχεδόν όλα τα εγκλιματισμένα επιγενή είδη έχουν αυξημένη παρουσία και εμφανίζουν σημαντική ανταγωνιστική ικανότητα μόνο σε βιοτόπους έντονα επηρεασμένους από τον άνθρωπο, αποτελούν δε σταθερά στοιχεία της συνανθρωπικής βλάστησης. Άλλωστε, μόνο 2 από τα εγκλιματισμένα επιγενή είδη, τα *Agave americana* και *Opuntia ficus-barbarica*, αναπτύσσονται καλά σε ημιφυσικούς σταθμούς (υποβαθμισμένα φρύγανα), χωρίς όμως να ανταγωνίζονται σημαντικά την υπάρχουσα βλάστηση. Το χαμηλό ποσοστό επιγενών στο σύνολο της χλωρίδας, αλλά και η περιορισμένη τους εξάπλωση και ανταγωνιστική ικανότητα στους φυσικότερους βιοτόπους, οφείλεται αφενός στη μεγάλη σταθερότητα της ελληνικής χλωρίδας λόγω του πλούτου και της ποικιλίας της και αφετέρου στη σημαντική συμμετοχή στην αστική χλωρίδα των ιθαγενών ειδών (αποφύτων) και ιδιαίτερα των θεροφύτων, οι αναπαραγωγικοί μηχανισμοί των οποίων εξασφαλίζουν την προσαρμογή τους μέσα στο αστικό περιβάλλον.

ANALYSIS AND ECOLOGICAL APPROACH OF THE ADVENTIVE FLORA OF THE CITY OF PATRAS

Chronopoulos, G. and D. Christodoulakis
Botanical Institute, Department of Biology,
University of Patras, GR- 26500 Patras, Greece

The adventive flora of the urban and suburban area of Patras totals 93 taxa and composes 11.4% of the total flora (816 taxa) of the area studied. The families richest in adventives are: *Gramineae*, *Compositae*, *Solanaceae*, *Leguminosae*, *Cruciferae* and *Amaranthaceae*. In the life-form spectrum of adventives the therophytes dominate (51.6%), and as far as their geographical origin is concerned, most are species of American origin (47.3%), followed by Asian (17.2%), African (8.6%) and Tropical-subtropical (7.5%). A significant proportion of the adventive taxa (43%) are completely naturalized in the area, while the remainder (57%) are considered as casuals. The analysis of adventives in the four ecological zones identified for the city, showed that their participation gradually increases in the transition from the zone of lowest urbanization (ca. 9%), to that of highest urbanization (ca. 20%). Within the 22 distinguished biotopes it is shown that the highest percentages of adventives are connected with those biotopes exhibiting intense human disturbance. Almost all the naturalized adventives appear to be more abundant and significantly competitive only in biotopes strongly influenced by man and are stable elements of synanthropic vegetation. Only two naturalized adventive taxa, *Agave americana* and *Opuntia ficus-barbarica*, thrive well in semi-natural biotopes (degraded phrygana), but are not able to compete successfully with the existing vegetation. The low percentage of adventives in the total flora, but also their limited extension and competitiveness within more natural biotopes, is due to the great stability of the Greek flora because of its richness and diversity. Also to the significant participation in the urban flora of native species (apophytes), especially therophytes, the regenerative mechanisms of which ensure their adaptation in the urban environment.

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑ ΝΤΟΠΑΜΙΝΙΚΩΝ ΝΕΥΡΩΝΩΝ ΚΑΙ ΓΛΟΙΑΣ ΣΤΟ ΜΕΣΕΓΚΕΦΑΛΟ ΧΡΟΝΙΩΝ ΑΛΚΟΟΛΙΚΩΝ

**Χρυσάνθου-Πιτερού, Μ. και Μ. P. Ισιδωρίδου
Ψυχιατρική Κλινική Παν/μίου Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο,
και Ινστιτούτο Νευροβιολογικών Ερευνών,
Ίδρυμα Θ. Θ. Κότσικα, Αθήνα**

Προκαταρκτικά ανοσοϊστοχημικά ευρήματα μικρού δείγματος αλκοολικών, έδειξαν την εντόπιση της ουμπικουνίνης (UBQ)- πρωτεΐνης του στρες με ρόλο προστασίας του κυττάρου από μη αναστρέψιμες βλάβες- στους ντοπαμινικούς (DA) νευρώνες του μεσεγκεφάλου. Η εξασφάλιση νεκροτομικού υλικού μεγάλου δείγματος αλκοολικών μας οδήγησε στη μελέτη της συσχέτισης της παρουσίας UBQ με ηλικία, αιτία θανάτου και κλινικό ιστορικό αυτών. Μελετήθηκε η μέλαινα ουσία (SN) 27 αλκοολικών ατόμων ηλικίας 33-80 ετών και 10 μαρτύρων. Σε τομές παραφίνης εφαρμόστηκαν το πολυυκλωνικό αντίσωμα rabbit anti-UBQ, και η ιστοχημική μέθοδος για τη διαπίστωση αντιδραστικής γλοίας. Η ανοσοαντίδραση της UBQ παρουσιάστηκε σε δύο πρότυπα ανάλογα με την ηλικία : στην ομάδα νεαρών ατόμων (33-50 ετών) η αντίδραση εντοπίστηκε κατά μήκος των δενδριτών και κυτταρικών μεμβρανών των DA νευρώνων της SN, ενώ στην ομάδα μεγαλύτερης ηλικίας (50-80 ετών) εντοπίστηκε μόνο σε δυστροφικούς νευρίτες και σε αξονικά σφαιροειδή της περιοχής. Τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι το σύστημα DA, που εμπλέκεται στις νευρωνικές διεργασίες «αμοιβής», είναι πιο ευάλωτο στη δράση της αιθανόλης στους νεαρούς αλκοολικούς. Η έλλειψη της ανοσοαντίδρασης από τις κυτταρικές μεμβράνες και δενδρίτες των ηλικιωμένων αλκοολικών μας υποδηλώνει ότι η ομάδα αυτή είχε την ικανότητα να αντιρροπίσει τις βλάβες που προκαλεί το αλκοόλ. Η δεύτερη μεθοδολογία ανέδειξε αντιδραστική γλοία στην περιοχή της SN. Οι ινώδεις προεκβολές της επενδύουν την επιφάνεια των νευρώνων και των δενδριτών, με στόχο τη διατήρηση της ακεραιότητας του ιστού μετά από βλάβη. Τα παραπάνω ευρήματα αναδεικνύουν την κυτταρική μεμβράνη των DA νευρώνων ως το κύριο στόχο της βλαπτικής δράσης της αιθανόλης στη SN .

IMMUNOCYTOCHEMISTRY OF DOPAMINE NEURONS AND GLIA IN THE MESENCEPHALON OF CHRONIC ALCOHOLICS

Chrysanthou-Piterou, M. and M. R. Issidorides

**Department of Psychiatry, University of Athens, Eginition
Hospital, and Neurobiology Research Institute,
Th. Th. Cozzika Foundation, Athens, Greece**

Previous immunohistochemical findings in a small sample of individuals with chronic alcoholism revealed immunoreactivity of ubiquitin (UBQ) - a stress marker protein which protects cell from irreversible damage - in dopamine (DA) neurons of substantia nigra (SN). The availability of postmortem material of 27 alcoholics (33-80 y) and 10 matched controls, led us to study the localization of UBQ immunoreactivity (UBQ-IR) in comparison with age, cause of death and clinical history of the subjects. In paraffin section of SN we applied the polyclonal rabbit UBQ antibody, as well as the histochemical method for the demonstration of gliosis. Results showed that the UBQ-IR distributed in two patterns : in the younger age group (33-50y) staining was localized in neuronal dendrites, occasionally in the cytoplasm and most often along the cell membranes. In the older age group (50-80y) most UBQ-IR was confined to dystrophic neurites and axonal spheroids of the area. These findings suggest that the DA system, which subserves reward process, is more vulnerable to alcohol in the younger alcoholics. The lack of localization of UBQ-IR in the older age group indicates that this particular group can develop protective compensatory adaptation mechanisms to the effects of alcohol. The other histochemical method showed gliosis of activated astrocytes in the SN area. The fibrous extinctions of these reactive astrocytes invested closely the surface of the neurons and ran parallel to the dendrites. Given the role of reactive astrocytes in the preservation of the tissue integrity following injury, this finding, in addition to the presence of UBQ-IR, reveals that the cell membrane is a primary target of the deleterious effects of alcohol in DA neurons.

EYPETHPIO
INDEX

- Αβραμίδης, Ν. 1, 2, 9, 10, 63, 64, 330, 331, 356, 357
 Αγγελόπουλος, Κ. 3, 4
 Αγοραστός, Α. 137, 138
 Αδάμ, Κ. 259, 260
 Αδαμόπουλος, Α. 5, 6
 Αδαμοπούλου, Χ. 39, 40
 Aebei, U. 323
 Αθανασόπουλος, Α. 59, 60
 Αλυγιζάκη-Ζορμπά, Α. 313, 314
 Αμάραντος, Ι. 7, 8
 Αναγνώστου, Ν. 9, 10, 63, 64
 Αναστασόπουλος, Σ. 11, 12
 Αντωνέλου, Μ.Χ. 13, 14, 185, 186
 Ανυφαντάκης, Ζ. 271, 272
 Απτόσογλου, Σ. 15, 16
 Αραμπατζής, Θ. 17, 18
 Αρβανίτης, Δ. 362, 363
 Αρβανίτης, Ν. 135, 136
 Αργυροκαστρίτης, Α. 133, 134, 189, 190
 Αρμακά, Μ. 19, 20
 Αρσενάκης, Μ. 19, 20, 261, 262, 263, 264
 Αρχοντάκη, Κ. 113, 114
 Ασλανίδης, Σ. 241, 242
 Αφένδρα, Α.Σ. 23, 24

 Βαγιάκου, Ε. 338, 339
 Βαλάκος, Ε.Δ. 39, 40, 199, 200, 279, 280
 Βαλιανάτος, Γ. 309, 310
 Βαξεβανέλλης, Σ. 21, 22
 Βαρβαγιάννης, Ν.Ι. 269, 270
 Βαρβαρήγος, Β. 21, 22
 Βαρθολομάτος, Γ. 23, 24, 67, 68
 Βαρσάκη, Α. 23, 24
 Βασάρα, Ε. 85, 86
 Βασιλειάδου, Κ. 1, 2, 25, 26, 43, 44
 Βασιλείου, Α. 27, 28
 Bentes, L. 319, 320
 Βέρροιος, Γ. 29, 30
 Βλάχου, Α. 350, 351
 Βλάχου, Κ. 309, 310
 Βογιατζής, Α.Κ. 31, 32
 Βομβογιάννη, Β. 311, 312

 Βρόντου, Σ. 189, 190
 Βυζά, Α. 366, 367
 Βώκου, Δ. 215, 216

 Γάγκου, Μ.Ε. 33, 34
 Γαϊτανάκη, Α. 279, 280
 Γαλάνη, Β. 35, 36
 Γαλάνη, Ε. 37, 38
 Γαλανόπουλος, Β. 233, 234, 311, 312
 Γερμανού, Α. 39, 40
 Γεωργακίλας, Α.Γ. 41, 42, 364, 365
 Γεωργιάδης, Θ. 29, 30
 Γεωργίου, Ο. 285, 286
 Γεωργόπουλος, Ε. 5, 6
 Γιαγά-Αθανασοπούλου, Ε.Β. 197, 198
 Γιάγκου, Μ. 1, 2, 9, 10, 25, 26, 43, 44, 63, 64, 241, 242, 330, 331, 356, 357
 Γιαμυστάρης, Α. 205, 206
 Γιαννόπουλος, Γ. 275, 276, 326, 327
 Γιαννοτάκη, Α. 45, 46
 Γιαννουλάκη, Μ. 47, 48
 Γιώκαρη, Β. 49, 50
 Γκάνιας, Κ. 221, 222
 Γκουντούλα, Α. 332, 333
 Γκρίτζαλης, Κ.Χ. 51, 52, 53, 54
 Conlan, S.R. 55, 56
 Copf, T. 55, 56
 Γουλας, Χ. 137, 138
 Γονναλάκη, Ν. 55, 56

 Δαλαβάγκα, Γ. 35, 36
 Δανιηλίδης, Δ. 167, 168
 Δαφνής, Σ. 301, 302
 Dawson, M. 177, 178
 Dealy, C. 287, 288
 Δερμιτζάκης, Ε. 189, 190
 Δημητρέλλος, Γ. 57, 58
 Δημητριάδης, Β.Κ. 65, 66
 Δημητριάδης, Γ. 261, 262, 263, 264
 Δημητριάδης, Γ.Ι. 243, 244
 Δημητρίου, Ε. 59, 60, 117, 118
 Δημοπούλου, Α. 61, 62
 Διαμάντας, Ε. 9, 10, 63, 64
 Divanac, P. 181, 182, 321, 322

- Δομουχτσίδου, Γ. 65, 66
 Δούκα, Ε. 67, 68
 Δουκάκης, Γ. 69, 70
 Δραΐνας, Κ. 23, 24, 67, 68
 Δρίλιας, Π. 89, 90
 Δροσόπουλος, Ι. 227, 228
 Δρόσου, Β. 61, 62

 Erzini, K. 319, 320
 Esbensen, P. 295, 296
 Ευστρατίου, Μ.Α. 71, 72

 Fahrenkrog, B. 323
 Feja, B. 323

 Ζαΐζη, Ε. 73, 74
 Ζαμπετάκη, Α. 119, 120
 Ζαράνη, Φ.Ε. 75, 76
 Ζαρκάδης, Ι.Κ. 77, 78
 Ζαχαρίας, Ι. 53, 54
 Ζέρβας, Χ. 271, 272
 Ζερβολέα, Ε. 79, 80

 Goldie, K. 323
 Goncalves, J.M.S. 319, 320

 Ηλιόπουλος, Η. 113, 114
 Ηλιοπούλου-Γεωργουδάκη, Ι. 81, 82

 Θάνος, Κ.Α. 83, 84, 303, 304
 Θωμόπουλος, Γ.Ν. 61, 62

 Ιακωβίδου, Ζ. 245, 246
 Ισιδωρίδου, Μ.Ρ. 362, 363, 378, 379

 Kaback, H.R. 358, 359
 Κάγκαλου, Ε. 247, 248
 Καθαρού, Ι. 85, 86, 87, 88
 Καλαντζή, Σ. 89, 90
 Καλαντζή-Μακρή, Μ.Κ. 91, 92
 Καλιάφας, Α. 129, 130
 Καλογιάννη, Μ. 69, 70, 255, 256, 257, 258
 Καλόσακα, Κ. 49, 50, 93, 94, 103, 104

 Καλπαξής, Δ.Δ. 7, 8, 109, 110
 Καλφακάκου, Β. 247, 248, 249, 250
 Καμπούρογλου, Β. 95, 96
 Κανελλόπουλος, Π.Ν. 277, 278
 Καπανταγάκης, Α. 47, 48
 Καπετανάκη, Μ.Γ. 97, 98
 Κάπτας, Α. 75, 76
 Καραγιάννη, Ε. 344, 345
 Καραγιάννη, Η. 99, 100
 Καραγκούνη, Α.Δ. 135, 136, 299, 300
 Καραγκούνη, Ε. 101, 102
 Καρακατσάνης, Ι. 103, 104
 Καραμπέρη, Ε. 241, 242
 Καραμπουρνιώτης, Γ. 227, 228
 Καρανδεινός, Ν. 105, 106, 305, 306
 Καραντζής, Ι. 243, 244
 Καραπαπά, Β.Κ. 107, 108
 Καραχάλιος, Π. 109, 110
 Καρπούζα, Α. 338, 339
 Καρρής, Γ. 317, 318
 Καρύδης, Μ. 346, 347
 Κασπίρης, Π. 59, 60, 111, 112, 117, 118, 131, 132, 201, 202
 Καστάνης, Π. 113, 114
 Καστρότσης, Κ. 121, 122
 Κατίης, Ν. 105, 106
 Κατσαλούλης, Π. 115, 116
 Κατσαρές, Β. 119, 120
 Κάτσαρης, Ν. 121, 122
 Κατσέλης, Γ. 59, 60, 117, 118, 201, 202
 Κατσώρχης, Θ. 364, 365
 Κεντούρη, Μ. 183, 184, 267, 268, 321, 322
 Κεραμάρης, Κ.Ε. 123, 124
 Κετσετζόγλου, Σ.Ν. 125, 126
 Κεχαγιάς, Γ. 127, 128
 Keyes, P. 177, 178
 Kilpatrick, M. 287, 288
 Κίτσιου, Ε. 348, 349
 Κίττας, Χ. 239, 240
 Κλέτσας, Δ. 79, 80
 Κοκκινάκη, Μ. 287, 288
 Κολιάης, Σ. 15, 16
 Κολιόπουλος, Ι.Ξ. 185, 186

- Κολοκυθάς, Ε. 129, 130
 Κοναξή, Α. 131, 132
 Κονταράκη, Ι.Ε. 133, 134
 Κοράκη, Δ. 135, 136
 Κοραντζής, Ι. 243, 244
 Κορκόβελος, Α. 137, 138
 Κορμάς, Κ.Α. 99, 100
 Κόρτσαρης, Α.Χ. 243, 244
 Κορφιάτης, Κ. 95, 96, 139, 140
 Kosher, R. 287, 288
 Κότσανης, Ν. 81, 82
 Κουβάτης, Β. 261, 262, 263, 264
 Κουβέλης, Β.Ν. 141, 142
 Κουγιανού-Κουτσούκου, Σ. 33, 34
 Κουζιώτη, Ε. 25, 26
 Κούκη, Μ. 101, 102
 Κούκου, Α.Ε. 67, 68
 Κουκουμίδης, Χ. 159, 160
 Κούκουρας, Α. 73, 74
 Κουλούκουσα, Μ. 239, 240
 Κουρουνάκη, Α. 9, 10, 25, 26, 43, 44, 63,
 64, 330, 331
 Κουρτίδης, Α. 143, 144
 Κουσουλάκος, Σ. 11, 12, 145, 146
 Κουσουρής, Θ. 53, 54
 Κουτσιώπουλος, Κ. 354, 355
 Κράββα, Ν. 147, 148
 Κρικάς, Ν. 149, 150
 Κυπαρίσση-Αποστολίκα, Ν. 179, 180
 Κυπαρίσσης, Α. 89, 90
 Κωνσταντή, Ο.Α. 151, 152
 Κωνσταντόπουλος, Σ.Η. 35, 36
 Κωνσταντοπούλου, Μ. 153, 154
 Κώστα, Α. 61, 62
 Κωσταρίδης, Π. 11, 12
 Κωσταρόπουλος, Ι. 155, 156, 195, 196,
 221, 222
 Κωτούλας, Ο. 35, 36
 Κώτσης, Α. 245, 246

 Λαδάς, Ν.Π. 157, 158
 Λαξαρίδου-Δημητριάδου, Μ. 159, 160
 Λάζος, Γ. 161, 162
 Λάζου, Α. 85, 86, 87, 88

 Lalchev, L. 75, 76
 Λαλλάς, Γ. 163, 164
 Λάμψιου, Κ. 161, 162, 165, 166
 Λάμπρης, Ι.Δ. 77, 78
 Λαμπροπούλου, Μ. 191, 192
 Λαναράς, Θ. 125, 126
 Larsen, K. 297, 298
 Λεκανίδου, Ρ. 199, 200, 281, 282, 334,
 335
 Λέκκα, Ε. 159, 160
 Λιακόπουλος, Γ. 227, 228
 Λιακοπούλου, Μ. 245, 246
 Λιάκουρα, Β. 227, 228
 Λιάτου, Π.Κ. 185, 186
 Λιγουδιστιανού, Χ. 43, 44
 Lino, P.G. 319, 320
 Lo Nigro, L. 271, 272
 Λούβρου, Ι. 167, 168
 Λούης, Χ. 309, 310
 Λουκάς, Μ. 113, 114
 Λουκιμίδου, Σ. 169, 170, 171, 172
 Λουμπουρδής, Ν. 31, 32, 173, 174, 251,
 252, 253, 254, 340, 341, 360, 361
 Lyceitt, G. 309, 310
 Λυκάκης, Ι. 127, 128, 354, 355
 Λυκοθανάσης, Σ. 5, 6

 Μαβίδης, Μ. 73, 74
 Μαδέσης, Π. 175, 176
 Μαζωμένος, Β. 153, 154
 Maingot, E. 321, 322
 Μάυλα, Β. 249, 250
 Μάμος, Π. 109, 110
 Μαμούρης, Ζ. 137, 138, 149, 150, 315,
 316
 Μανέτας, Ι. 89, 90, 101, 102, 285, 286
 Μανιάτης, Γ.Μ. 344, 345
 Μανουσάκης, Λ. 47, 48
 Μανούσης, Θ. 177, 178
 Μαντά, Κ. 35, 36
 Μανώλης, Σ.Κ. 97, 98, 179, 180, 235,
 236
 Μαραβέγια, Ε. 181, 182
 Μαραγκού, Π. 279, 280

- Μαραγκουδάκη, Δ. 183, 184, 267, 268
 Μαργαρίτης, Δ.Χ. 13, 14, 41, 42, 91, 92,
 123, 124, 151, 152, 185, 186, 231, 232,
 336, 337
 Marcker, K.A. 295, 296
 Μαργέτης, Π.Ι. 185, 186
 Μαρίνος, Ε. 239, 240
 Μάρκος, Σ. 129, 130
 Μάρκου, Δ. 356, 357
 Μάρκου, Σ. 83, 84
 Ματσουκά, Π.Θ. 243, 244
 Μαυραγάνη-Τσιτίδου, Π. 119, 120, 273,
 274
 Μαυρίδου, Α. 71, 72
 Μαυρίδου, Αν. 187, 188
 Μαυρόγιαννης, Δ.Α. 189, 190
 Μαχαιράκη, Β. 309, 310
 Μαχιάς, Α. 47, 48, 181, 182
 Μεθενίτη, Α. 191, 192
 Μελιάδου, Α. 193, 194
 Μενούνος, Π. 271, 272
 Μερίκα, Μ. 133, 134
 Μεταξάκης, Α. 155, 156, 195, 196, 221,
 222
 Μήτσαινας, Γ.Π. 197, 198
 Μήτση, Γ. 354, 355
 Μήζη, Α. 199, 200
 Μικρός, Ε. 213, 214
 Μίνος, Γ. 117, 118, 201, 202, 291, 292
 Μιόγλου, Α. 245, 246
 Μιχαλούδη, Ε. 27, 28
 Μοναστηριώτη, Μ. 203, 204
 Μοσχονάς, Ν. 133, 134, 189, 190, 287,
 288
 Μουλαδάκης, Χ. 205, 206
 Μουρελάτος, Δ. 245, 246
 Μουρελάτου, Μ. 199, 200, 319, 320
 Μουτόπουλος, Δ.Κ. 207, 208, 319, 320
 Μπάγκος, Γ. 209, 210
 Μπάγκος, Π. 209, 210
 Μπάρτζος, Χ. 211, 212
 Μπενάκη, Δ. 213, 214
 Μπενέκου, Α. 217, 218
 Μπερταχάς, Η. 53, 54
 Μπλιώνης, Γ. 215, 216
 Μπόζας, Ε. 217, 218
 Μπόλαρης, Σ. 217, 218
 Μπόμπορη, Δ. 27, 28
 Μποτζατζούδης, Σ. 348, 349
 Μπότσαρης, Ι. 219, 220
 Μπουκουβάλα, Ε. 155, 156, 195, 196,
 221, 222
 Νιάνιου-Ομπεϊντάτ, Ε. 223, 224
 Νικολαΐδης, Ν. 143, 144, 225, 226
 Νικολαΐδου, Αν. 87, 88
 Νικολαΐδου, Αρ. 99, 100
 Νικολόπουλος, Δ. 227, 228
 Ντούβλη, Π. 229, 230
 Ντουρούπη, Τ. 231, 232
 Οικονομίδης, Π. 27, 28, 319, 320
 Οικονομίδου, Β. 233, 234
 Οικονόμου-Αμιλλη, Α. 167, 168
 Οντριας, Ι. 201, 202
 Ορφανός, Β. 344, 345
 Østergaard-Jensen, Ε. 295, 296
 Pajuelo, Ε. 297, 298
 Pallisgaard, Ν. 295, 296
 Παλαιός, Γ.Α. 289, 290
 Παναγιωτίδου, Μ. 87, 88
 Παναγιωτοπούλου, Ε.Γ. 235, 236
 Παναγιωτοπούλου, Σ. 237, 238
 Παναγιοπούλου, Ε. 239, 240
 Πανίτσα, Μ. 17, 18
 Πανόπουλος, Ν. 175, 176
 Πανταζίδης, Γ. 241, 242
 Panté, Ν. 323
 Παντής, Ι.Δ. 125, 126
 Παπαγγελή, Π.Χ. 243, 244
 Παπαγεωργίου, Α. 245, 246
 Παπαγεωργίου, Γ.Χ. 157, 158, 313, 314
 Παπαγιάννης, Ι. 247, 248, 249, 250
 Παπαδημητρίου, Ε. 251, 252, 253, 254
 Παπαδοβασιλάκη, Μ. 265, 266
 Παπαδόπουλος, Α.Ι. 155, 156, 195, 196,
 221, 222

- Παπαδόπουλος, Ο. 177, 178
 Παπαδοπούλου, Κ. 43, 44
 Παπαευθυμίου, Ι. 255, 256, 257, 258
 Παπαζαφείρη, Π. 75, 76
 Παπαθεοδώρου, Ε. 45, 46
 Παπαωάννου, Α. 163, 164
 Παπαλαζαρίδου, Α. 259, 260
 Παπανδρέου, Ν. 366, 367
 Παπανικολάου, Ε. 19, 20, 261, 262, 263, 264
 Παπανικολάου, Ι. 265, 266
 Παπαπέτρου, Μ. 321, 322
 Παπασιδέρη, Ι.Σ. 13, 14, 185, 186
 Παραθυρά, Α. 61, 62
 Παρασκευόπουλος, Σ. 229, 230, 348, 349
 Παρασκευοπούλου, Ν. 191, 192
 Πασπάτης, Μ. 183, 184, 267, 268
 Pasquier, C.M. 269, 270, 289, 290
 Πατρινός, Γ.Π. 271, 272
 Παυλίδης, Μ. 181, 182
 Παυλίδου, Β. 273, 274
 Παυλικάκη, Χ. 275, 276, 326, 327
 Παυλόπουλος, Η. 287, 288
 Παύλου, Κ.Σ. 277, 278
 Παψήης, Π. 39, 40, 279, 280
 Παχιαδάκη, Μ.Ε. 281, 282
 Πέντζου-Δαπόντε, Α. 21, 22, 293, 294, 307, 308, 372, 373
 Perbal, B. 283
 Πετράτος, Κ. 265, 266
 Πετροπούλου, Γ. 285, 286
 Πινιώτη, Π.Γ. 51, 52
 Πολυμενίδης, Ζ. 241, 242
 Πρατσίνης, Χ. 79, 80
 Πρίνος, Π. 287, 288
 Προμπονάς, Β.Ι. 269, 270, 289, 290
 Πυροβέτση, Μ. 229, 230
 Ραπτόπουλος, Δ. 153, 154
 Ribeiro, J. 319, 320
 Richardson, S.C. 71, 72
 Ρήγα-Καρανδεινού, Α.Ν. 237, 238, 305, 306, 352, 353
 Ρογδάκης, Ι. 291, 292
 Ροδάκης, Γ.Κ. 199, 200, 281, 282, 334, 335
 Ρουμελιώτη, Κ. 293, 294
 Ρούστης, Α. 295, 296, 297, 298
 Ρουσσομουστακάκη, Μ. 167, 168
 Ρωμηού, Φ.Π. 235, 236
 Σαββίδης, Α. 299, 300
 Σαββίδης, Θ. 301, 302
 Saeed, M. 303, 304
 Sahin-Toth, M. 358, 359
 Σαττάνης, Κ. 105, 106, 237, 238, 305, 306
 Σακελλάρη, Λ. 41, 42
 Samperi, P. 271, 272
 Σάτρα, Μ. 307, 308
 Σαχσαμάνογλου, Μ. 117, 178
 Σγαρδέλης, Σ. 115, 116, 342, 343
 Schausler, L. 297, 298
 Schiliro, G. 271, 272
 Σέκερη-Παταργιά, Κ.Ε. 338, 339
 Σερασκέρης, Σ. 85, 86
 Σιβροπούλου, Α. 19, 20, 259, 260
 Siden-Kiamos, I. 309, 310
 Σιδέρης, Ε.Γ. 41, 42, 364, 365
 Σιδερίδου, Μ. 311, 312
 Σκλαβιάδης, Θ.Κ. 177, 178
 Σκουλικίδης, Ν. 53, 54
 Σκούρας, Ζ.Γ. 143, 144, 225, 226, 273, 274
 Snogerup, B. 17, 18
 Snogerup, S. 17, 18
 Σούρδης, Ι. 91, 92, 211, 212, 328, 329
 Σουρλίγκα, Θ.Γ. 338, 339
 Σοφιανοπούλου, Β. 41, 42, 364, 365
 Σπάθας, Δ.Χ. 344, 345
 Σταθάκος, Δ. 79, 80
 Στάϊκου, Α. 147, 148
 Σταματάκης, Κ. 313, 314
 Σταμάτης, Κ. 315, 316
 Σταμάτης, Ν. 275, 276, 326, 327
 Στάμου, Γ.Π. 45, 46, 95, 96, 139, 140, 225, 226, 317, 318, 342, 343, 374, 375
 Σταυράκης, Ν. 153, 154

- Στεργίου, Κ.Ι. 169, 170, 171, 172, 207,
 208, 319, 320
 Στεριώτη, Α. 321, 322
 Στεφάνου, Μ. 285, 286
 Stoffler, D. 323
 Stougaard, J. 297, 298
 Στραβοπόδη, Ε. 179, 180
 Στυλιανοπούλου, Φ. 217, 218
 Sunyer, J.O. 77, 78
 Σφυρόερα, Γ. 326, 327
 Σχίζας, Γ. 211, 212, 328, 329
 Σωμαράκης, Σ. 181, 182
 Σωτηρίου, Ε. 330, 331

 Ταβλάς, Γ. 265, 266
 Τέγος, Γ. 23, 24, 271, 272
 Τερτιβανίδης, Κ. 332, 333
 Τζαμαρίας, Δ. 55, 56
 Τζανουδάκης, Δ. 17, 18
 Τζημαγιώργης, Γ. 133, 134
 Τζήμας, Χ. 261, 262, 263, 264
 Thomaz, D. 199, 200, 334, 335
 Τουράκη, Μ. 121, 122
 Τριανταφυλλίδης, Κ. 147, 148, 149, 150,
 315, 316
 Τριανταφύλλου, Α. 307, 308
 Τρουγκάκος, Ι.Π. 91, 92, 336, 337
 Τρούμπης, Α. 193, 194
 Τσάκας, Σ. 113, 114
 Τσάπαλη, Δ.Σ. 338, 339
 Τσαπαρδώνης, Χ-Κ.Δ. 97, 98
 Τσαρδάκη, Α. 340, 341
 Τσαυτάρης, Α. 37, 38, 175, 176, 205,
 206, 223, 224, 332, 333
 Τσιαφούλη, Μ. 317, 318, 342, 343
 Τσιμαράκης, Γ. 247, 248
 Τσιμενίδης, Ν. 47, 48, 181, 182
 Τσιμπουξή, Α. 344, 345
 Τσίπουρας, Π. 287, 288
 Τσιρτσής, Γ. 346, 347
 Τσιτουπής, Ι. 105, 106
 Tucker, P.A. 277, 278

 Τύπας, Μ. 107, 108, 141, 142, 187, 188
 Typke, D. 323

 Walz, J. 323
 Weryzko-Chmielewska, E. 301, 302
 Wu, J. 358, 359

 Φαρμάκης, Ι. 348, 349
 Φλυτζάνης, Κ. 350, 351
 Φουλιδη, Α. 352, 353
 Φουντούλη, Α. 163, 164
 Φραγκοπούλου, Ν. 127, 128, 354, 355
 Φράγκου-Λαζαρίδου, Μ. 35, 36
 Φρατζή, Ε. 356, 357
 Φριλίγγος, Σ. 67, 68, 358, 359
 Φωτιάδου, Α. 340, 341, 360, 361

 Χαβάκη, Σ. 362, 363
 Χαβέλες, Κ.Σ. 41, 42, 364, 365
 Χαμόδρακας, Ι.Σ. 289, 290
 Χαμόδρακας, Σ.Ι. 213, 214, 233, 234,
 269, 270, 277, 278, 289, 290, 366, 367
 Χαριτίδου, Λ. 259, 260
 Χαροιολάκη, Μ. 366, 367
 Χασιώτου, Ε. 37, 38
 Χατζήπατας, Π. 368, 369, 370, 371
 Χατζηπέτρου, Α. 1, 2, 9, 10, 25, 26, 43,
 44, 63, 64, 241, 242, 330, 331, 356, 357
 Χατζόγλου, Ε. 281, 282
 Χατσατούρη, Λ. 372, 373
 Χιντήρογλου, Χ. 143, 144
 Χοβαρδάς, Α. 374, 375
 Χριστιάς, Χ. 49, 50, 93, 94, 103, 104,
 368, 369, 370, 371
 Χριστοδουλάκης, Δ. 57, 58, 376, 377
 Χριστοδουλίδου, Α. 175, 176
 Χριστοδούλου, Ι.Ε. 185, 186
 Χρονόπουλος, Γ. 376, 377
 Χρυσάνθης, Γ. 129, 130
 Χρυσάνθου-Πιτερού, Μ. 62, 363, 378,
 379