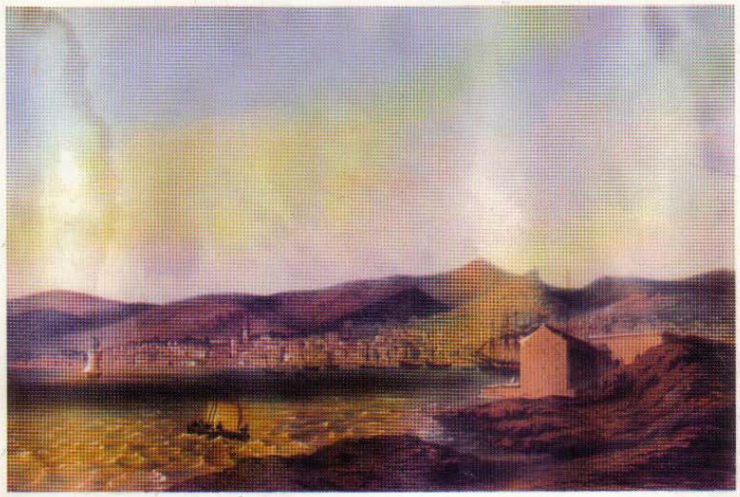
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

21ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ
21st PANHELLENIC MEETING

ΤΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΑΥΤΟ ΑΦΙΕΡΩΝΕΤΑΙ ΣΤΗ ΜΝΗΜΗ
του Καθηγητού ΙΩΑΝΝΗ Κ. ΔΡΑΚΟΠΟΥΛΟΥ, Αντιπρύτανη
του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών



ΠΡΑΚΤΙΚΑ - PROCEEDINGS

28–31 ΜΑΪΟΥ 1999 – MAY 28–31, 1999
ΓΑΛΗΣΣΑΣ – ΣΥΡΟΣ

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΗΧΑΝΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΙΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΟΥΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΜΙΤΟΓΟΝΑ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΕΣ ΚΙΝΑΣΕΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΙΟΥ *Rana ridibunda*

Αγγελή Ι.Κ., Γαϊτανάκη Κ. και Ισ. Μπέης

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

Η υπεροικογένεια των ενεργοποιούμενων από μιτογόνα πρωτεϊνικών κινασών (MAPKs) έχει ως μέλη κινάσες σερίνης/θρεονίνης, οι οποίες ενεργοποιούνται με φωσφορυλίωσή τους και έχουν ως στόχους τόσο ενδοκυτταρικά όσο και μεμβρανικά συστατικά. Διακρίνονται σε τρεις ομάδες: α) αυτές που ρυθμίζονται από εξωκυτταρικά ερεθίσματα (ERKs), β) κινάσες του αμινοτελικού άκρου του μεταγραφικού παράγοντα c-jun/ ενεργοποιούμενες από το στρες (JNKs/SAPKs) και γ) επανεργοποιούμενες κινάσες (p38). Παρά τα πολυάριθμα βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν στην ενεργοποίηση των ομάδων αυτών πολύ λίγα είναι μέχρι σήμερα γνωστά για τους ακριβείς μηχανισμούς της και αυτά περιορίζονται στην καρδιά των θηλαστικών. Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η επίδραση του μηχανικού στρες και στις τρεις ομάδες των κινασών σε εμποτισμένη καρδιά του αμφιβίου *Rana ridibunda*. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε με τη χρήση διαφόρων μεθόδων (Western blot, in gel assays), η πιθανή ενεργοποίηση των κινασών αυτών στην καρδιά κάτω από συνθήκες εμποτισμού με αυξημένη ή μειωμένη πίεση. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι σε σχέση με το μάρτυρα, η αυξημένη πίεση εμποτισμού προκαλεί ενεργοποίηση τόσο της ERK1 (p44) (4 φορές) όσο και των JNKs (3,5 φορές) ενώ δεν προκαλεί καμία ενεργοποίηση της p38. Αντίθετα, η μειωμένη πίεση δεν ενεργοποιεί καμία από τις κινάσες αυτές. Με τη χρήση ειδικού αναστολέα (PD98059) βρέθηκε ότι η αναστολή της ενεργοποίησης της ERK1 κάτω από τις συνθήκες αυτές είναι πλήρης. Η μελέτη του χρονοδιαγράμματος ενεργοποίησης έδειξε ότι πρώτα ενεργοποιείται η ERK1 (στα 30 sec) και πολύ αργότερα οι JNKs (στα 15 min) και ότι η ενεργοποίηση και των δύο διατηρείται για 60 min, ενώ μειώνεται μετά από επανεμποτισμό της καρδιάς κάτω από φυσιολογικές συνθήκες (κατά 50% και 45% αντίστοιχα). Πιστεύουμε ότι περαιτέρω μελέτες, με χρήση κατάλληλων ουσιών που μπορούν έμμεσα να προκαλέσουν μηχανικό στρες στην καρδιά, θα βοηθήσουν στη λεπτομερέστερη διερεύνηση του μηχανισμού ενεργοποίησης των κινασών αυτών.

THE EFFECT OF MECHANICAL STRESS ON THE MITOGEN ACTIVATED PROTEIN KINASES IN THE HEART OF THE AMPHIBIAN *Rana ridibunda*

Aggeli I.K., Gaitanaki C. & Is. Beis

Department of Human and Animal Physiology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens, Ellas

The superfamily of Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPKs) consists of Ser- / Thr- kinases, which are activated by phosphorylation and have as downstream targets intercellular as well as membrane components/substrates. There are at least three groups of MAPKs : a) extracellularly responsive kinases (ERKs), b) kinases of the N-terminal of c-Jun transcription factor (JNKs) / kinases activated by stress (SAPKs) and c) reactivating kinases (p38). Despite the plethora of bibliographic data, so far very little is known for the accurate activation mechanism of these kinases and this is restricted to the mammalian heart. In the present study, the effect of mechanical stress on all three groups was tested in the perfused heart of the amphibian *Rana ridibunda*. In particular, the possible activation of these kinases in the heart was examined by using various methods (western blot, in gel assays). Several conditions were tested, including increased or decreased perfusion pressure. The results of this study have shown that compared to the controls, increased perfusion pressure activates ERK1 (p44) (by 4-fold) as well as JNKs (by 3,5-fold) whereas it has no effect on the p38 activation. On the contrary, decreased pressure does not activate any of these kinases. Using a specific inhibitor (PD98059) we found that the activation of ERK1 is completely inhibited under these conditions. The study of the time course of the activation showed that ERK1 is activated first (at 30 sec) while JNKs are activated much later (at 15 min) and that the activation of both subgroups remains elevated for 60 min declining after reperfusion of the heart under normal conditions (by 50% and 45%, respectively). We believe that further studies with suitable substances, which can indirectly cause mechanical stress to the heart, will contribute to the detailed clarification of these kinases' activation mechanism.

Η ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΤΗΣ ΧΡΩΣΤΙΚΗΣ ORANGE II ΑΠΟ ΤΟ ΦΥΤΟ *Coleus blumei* L.

Αγγελόπουλος Κ.[1], Αβράμπου Α., Παστρουμά Ζ., Τσερεμέγκλη Ο., Κορνάρος Μ.[2] και Γ. Λυμπεράτος[2]

[1]Εργαστήριο Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών
[2]Εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής και Τεχνολογίας Περιβάλλοντος, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών

Συχνά στα υγρά απόβλητα βιομηχανιών συνυπάρχουν οργανικές ενώσεις μη βιολογικής προέλευσης (ξενοβιοτικά). Αυτές οι ενώσεις όταν διατίθενται στο περιβάλλον προκαλούν ρύπανση. Τελευταία διερευνάται η ανάπτυξη συστημάτων διάθεσης και βιοαποδόμησης υγρών βιομηχανικών αποβλήτων που περιέχουν ανάλογες ενώσεις με τη χρήση ανωτέρων φυτών (φυτοαπορρύπανση). Μεταξύ των ξενοβιοτικών ενώσεων που απαντώνται στα απόβλητα βιομηχανιών υφαντουργίας, δέρματος, ή τροφίμων είναι διάφορες χρωστικές όπως η orange II. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται αποτελέσματα για την πρόσληψη του αζωχρώματος orange II από τις ρίζες του φυτού *Coleus blumei* L. και οι επιδράσεις του σε φυσιολογικές παραμέτρους του φυτού όταν αυτό καλλιεργείται σε υδροπονικό σύστημα παρουσία 0, 10, 20 και 40 mg/l χρωστικής. Διαπιστώθηκε ότι η χρωστική αυτή απορροφάται από τις ρίζες ταυτόχρονα με το νερό, με συνέπεια τη σταδιακή μείωση της συγκέντρωσής της στο θρεπτικό διάλυμα, όταν ο όγκος του διατηρείται σταθερός. Η παρουσία της χρωστικής στο θρεπτικό διάλυμα προκαλεί φαινόμενα φυτοτοξικότητας στις ρίζες. Τα φαινόμενα αυτά είναι πιο έντονα όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση της χρωστικής. Στο μάρτυρα η μέση αύξηση του μήκους των ριζών 32 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος ήταν 42,7% ενώ στο διάλυμα με συγκέντρωση 10 mg/l ήταν 33,3%. Στις άλλες δύο συγκεντρώσεις 20 και 40 mg/l παρατηρήθηκε πλήρης ανάσχεση της αύξησης του μήκους των ριζών. Παράλληλα παρατηρήθηκε μείωση των ρυθμών διαπνοής. Οι ρυθμοί απώλειας του νερού ανά μονάδα φυλλικής επιφάνειας και ημέρα, 25 ημέρες μετά την έναρξη του πειράματος ήταν $3,29X10^{-2}$, $1,11X10^{-2}$ (33,7%), $1,03X10^{-2}$ (31,2%), $0,6X10^{-2}$ (18,2%) cm^3 H_2O/cm^2/ημέρα για τις συγκεντρώσεις 0, 10, 20, 40 mg/l αντιστοίχως.

UPTAKE OF THE AZO-DYE ORANGE II BY THE PLANT *Coleus blumei* L.

Angelopoulos K.[1], Avrabou A., Pastrouma Z., Tseremegli O., Kornaros M.[2] & G. Lyberatos[2]

[1]Laboratory of Plant Physiology, Department of Biology, University of Patras
[2]Laboratory of Biochemical Engineering and Enviromental Technology, Department of Chemical Engineering, University of Patras

Industrial wastewaters often contain significant amounts of xenobiotic compounds. These compounds, when discharged, cause pollution. Recently, phytoremediation has been considered as a possible approach to the treatment of such wastewaters. Azo-dyes are often among these compounds derived from food, textile and leather industries. In this work the uptake of the azo-dye Orange II by the roots of the plant *Coleus blumei* L. grown hydroponically and its effect on the plant physiological parameters was studied. It was found that the azo-dye is absorbed by the plant roots simultaneously with the water uptake, having as a consequence the gradual decrease of its concentration in the solution, when the water volume is maintained constant through addition of azo-dye-free nutrient solution. The presence of the azo-dye causes phytotoxicity to the plant roots. This phenomenon is more pronounced for higher dye concentrations. 32 days after the beginning of experiment the mean root length increased in control plants 42.7% and for a 10 mg/l dye-containing solution 33.3%. For higher dye concentrations (20 and 40 mg/l) root growth was completely inhibited. Transpiration rates were also seriously reduced for high dye concentrations. Water losses per leaf area and day, at 25 days after the beginning of the experiments were $3.29X10^{-2}$, $1.11X10^{-2}$ (33.7%), $1.03X10^{-2}$ (31.2%), $0.6X10^{-2}$ (18.2%) $cm^3H_2O/cm^2/d$ for dye concentrations of 0, 10, 20, 40 mg/l respectively.

ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΣΤΑΔΙΑ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΩΝ Η1-ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΔΙΘΥΡΟΥ ΜΑΛΑΚΙΟΥ *Ostrea edulis*

Αγγελοπούλου Β., Crane-Robinson C.*, Παταργιάς Θ. και Β. Αλεπόρου-Μαρίνου

Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Αθηνών Πανεπιστημιόπολη, 15784 - Αθήνα
***Biophysics Laboratories, University of Portsmouth, UK**

Η πρωτεϊνική σύσταση του σπέρματος των δίθυρων μαλακίων έχει αποτελέσει, λόγω της ιδιαιτερότητας της, αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης. Συγκεκριμένα, σε ένα μεγάλο αριθμό ειδών έχει αποδειχθεί ότι στον πυρήνα του σπέρματος υπάρχουν τρία είδη πρωτεϊνών που είναι συνδεδεμένα με τη χρωματίνη. Οι τυπικές ιστόνες (H2A,H2B, H3,H4), οι πρωτείνες που έχουν κοινά χαρακτηριστικά με τις πρωταμίνες και οι πρωτείνες που προσομοιάζουν στην ιστόνη Η1. Πιστεύεται ότι η ιδιαίτερη αυτή πρωτεϊνική σύσταση πρέπει να σχετίζεται με το συγκεκριμένο τρόπο οργάνωσης της χρωματίνης στο σπέρμα των δίθυρων μαλακίων και ότι επιπλέον μπορεί να προσφέρει ενδείξεις σχετικά με την εξελικτική πορεία των οργανισμών.
Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκαν οι πυρηνικές πρωτείνες του σπέρματος του δίθυρου μαλακίου *Ostrea edulis*. Σε αυτό προσδιορίστηκαν τρεις κύριες πυρηνικές πρωτείνες στο σπέρμα του, που ονομάστηκαν OE1,OE2,OE3. Αναλύθηκαν κυρίως οι OE1 και OE2,που βρίσκονται σε μεγαλύτερη ποσότητα. Αποδείχθηκε ότι και οι δύο ανήκουν στην κατηγορία των πρωτεϊνών που προσομοιάζουν με την Η1 και ότι πρόκειται μάλλον για πολυμορφισμούς της ίδιας πρωτείνες. Χαρακτηριστικό των πρωτεϊνών αυτών είναι η ύπαρξη μιας υψηλά συντηρημένης σφαιρικής περιοχής στο μέσο του μορίου. Η εύρεση της αμινοξικής αλληλουχίας ενός τμήματος της περιοχής αυτής των OE1 και OE2 καθώς και η σύγκρισή της με την αντίστοιχη περιοχή της Η1-παρόμοιας πρωτείνης του δίθυρου μαλακίου *Mytilus trosssulus* έδειξε πολύ μεγάλη ομολογία. Στη συνέχεια κατασκευάστηκε μια cDNA βιβλιοθήκη από mRNA που εκχυλίστηκε από αρσενικές γονάδες του *O.edulis* με σκοπό να απομονωθεί και να αναλυθεί το γονίδιο των OE1 και OE2 πρωτεϊνών. Ακολούθησε σάρωση της βιβλιοθήκης αυτής χρησιμοποιώντας ως ετερόλογο μόριο-ανιχνευτή το κλωνοποιημένο γονίδιο του *M.trossulus*.Απομονώθηκαν οκτώ θετικοί κλώνοι, οι οποίοι θα υποβληθούν σε δεύτερη και τρίτη σάρωση μέχρι την απομόνωση ενός μοναδικού και πλήρους μήκους κλώνου του γονιδίου.

PRIMARY STAGES OF ISOLATION OF THE H1-LIKE PROTEIN GENE FROM THE BIVALVE MOLLUSC *Ostrea edulis*

Agelopoulou B., Crane Robinson C.*, Patargias Th. & V. Aleporou-Marinou

Department of Genetics and Biotechnology,University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens, Ellas
***Biophysics Laboratories, University of Portsmouth, UK**

The sperm of bivalve molluscs has been the object of extensive study due to its exceptional protein composition. It has been proven in a number of species that in the sperm nucleus there are three kind of proteins bound to the chromatin. The four typical histones(H2A,H2B,H3,H4), the proteins that share common features with the protamines and the proteins that are similar to the histone H1(H1-like). It is believed that this unique protein content must be related to the specific mode of organization of the chromatin in the sperm nucleus of bivalve molluscs and in addition that it may offer some data concerning the evolution of these species. In this work, the chromosomal proteins of the sperm of the bivalve mollusc *Ostrea edulis* have been studied. The main nuclear proteins are three, the OE1, OE2, OE3. The proteins OE1 and OE2 have been further analyzed and it has been conclusively proven that they both belong to the family of the H1-like proteins and may be polymorphisms of the same protein. The common feature of all these proteins is the existence of a highly conserved globular domain in the middle of the molecule. The aminoacid sequencing of a part of this region from the proteins OE1 and OE2 and its comparison to the relevant region from the H1-like protein of the bivalve mollusc *Mytilus trossulus* showed great homology. Consequently, with the intension of isolating and analysing the OE1 ,OE2 gene a cDNA library was prepared from the mRNA extracted from immature male gonads of *O.edulis*. The library was then screened ,using as a heterologous probe ,the cloned gene of *M.trossulus*. Eight positive clones were picked which in the next stages will be submitted to secondary and tertiary screening, in order to isolate a single full-length clone of the gene.

ΕΚΛΕΚΤΙΚΗ ΣΗΜΑΝΣΗ ΤΩΝ 30S-ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΑΠΟ *E. Coli*, ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΕΝΟΣ ΦΩΤΟΔΡΑΣΤΙΚΟΥ ΠΟΛΥΑΜΙΝΙΚΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ

Αμάραντος Ι. και Δ.Λ. Καλπαξής

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500-Πάτρα

Προσφάτως, μελετήσαμε τη δράση της N^1-αζιδοβενζαμιδινο-σπερμίνης (N^1-ABASPM) κατά τη σύνθεση του πεπτιδικού δεσμού, υπολογίζοντας τις κινητικές παραμέτρους της πεπτιδυλοτρανσφεράσης [Αμάραντος, Ι. και Καλπαξής, Δ. Λ (1998) *Πρακτικά 20ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.*, Μάιος 28-31, Σάμος, 7-8]. Έχοντας υπ' όψη το μιμητικό χαρακτήρα της N^1-ABASPM σε σχέση με τη μητρική ένωση, προσπαθήσαμε να ταυτοποιήσουμε τις θέσεις πρόσδεσης των πολυαμινών στο ριβόσωμα, χρησιμοποιώντας την N^1-ABASPM ως μοριακό ανιχνευτή. Βρέθηκε ότι το διάγραμμα της ποσότητας του προσδεμένου ανιχνευτή έναντι της συγκέντρωσής του στο διάλυμα είναι σιγμοειδές, γεγονός που εισηγείται την ύπαρξη περισσοτέρων της μιας θέσεως πρόσδεσης της N^1-ABASPM ανά μόριο ριβοσωματικού σωματιδίου. Το ποσό της προσδεμένης N^1-ABASPM στις 30S-ριβοσωματικές πρωτεΐνες ήταν λιγότερο από 11% του συνολικά ενσωματωμένου ανιχνευτή. Επίσης, η τιμή του συντελεστή αλληλεπίδρασης (n) ήταν μεγαλύτερη της μονάδας, γεγονός που εισηγείται την ύπαρξη συνεργατικότητας μεταξύ των θέσεων πρόσδεσης. Η δέσμευση της N^1-ABASPM αναλύθηκε περαιτέρω με ηλεκτροφόρηση δύο διαστάσεων και αυτοραδιογραφία Όταν φωτοσημάνθηκαν 30S-ριβοσωματικές υπομονάδες, βρέθηκε ότι η N^1-ABASPM προσδένεται στις S2, S3, S4, S5, S7, S9 και S16 πρωτεΐνες. Κατά την φωτοσήμανση 70S-ριβοσωμάτων, επισημάνθηκε επιπλέον η S20 πρωτεΐνη. Η παρουσία μεταφραστικών παραγόντων μετέβαλε μόνο τη σχετική φθορισμομετρική ένταση ορισμένων πρωτεϊνών. Τα αποτελέσματά μας εισηγούνται την εμπλοκή της σπερμίνης σε σπουδαίες λειτουργίες της 30S-ριβοσωματικής υπομονάδας.

Ευχαριστήρια αναφορά: ***Η εργασία αυτή χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας & Τεχνολογίας, του Υπουργείου Ανάπτυξης***

SELECTIVE LABELLING OF 30S-RIBOSOMAL PROTEINS FROM *Escherichia coli*, USING A NEW POLYAMINE PHOTOPROBE.

Amarantos I. & D.L. Kalpaxis

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

Recently, we have studied the inhibitory and stimulatory effects of N^1-azidobenzamidino-spermine (N^1-ABASPM) on peptide-bond formation, by evaluating the kinetic parameters of ribosomal peptidyltransferase [Amarantos, I and Kalpaxis, D.L (1998) *Proceedings of the 20th Panhellenic meeting of H.S.B.S,* May 28-31, Samos, pp.7-8]. In recognition of the mimetic character of N^1-ABASPM in reference to the parent compound, we have attempted to investigate the polyamine localization on ribosomes using this photo-affinity reagent as a molecular probe. It was found that the plots of specifically bound ligand vs. free ligand concentration were represented by sigmoidal curves, suggesting more than one N^1-ABASPM binding sites per molecule of ribosomal particle. The amount of N^1-ABASPM bound to 30S ribosomal proteins was less than 11% of ligand incorporated to 30S ribosomal subunits. In all cases, the value of interaction coefficient (n) was greater than one, which implies a cooperativeness among the binding sites. The binding of 30S-ribosomal proteins with N^1-ABA[^{14}C] SPM was further analyzed by two-dimensional gel electrophoresis and autoradiography. When 30S-ribosomal subunits were used as the target, N^1-ABASPM was bound to S2, S3, S4, S5, S7, S9**,** and S16 proteins. When 70S-ribosomal particles were used, in addition to linking with the above proteins, N^1-ABASPM bound to S20 protein. The presence or the absence of translation factors during the irradiation course did not change the species of labelled ribosomal proteins, however, altered the relative intensity of certain proteins on fluorography. Given that the biological role of each protein is well defined, our results suggest the involvement of spermine in important functions of 30S-ribosomal subunits.

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

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΕΩΝ ΠΟΥΡΙΝΩΝ-ΠΥΡΙΜΙΔΙΝΩΝ ΣΤΟΝ *ASPERGILLUS NIDULANS*

Αμίλλης Σ. και Γ. Διαλλινάς

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784

Η διαμεμβρανική μεταφορά βιομορίων πραγματοποιείται κυρίως μέσω ειδικών ενσωματωμένων μεμβρανικών πρωτεινών γνωστών ως μεταφορείς. Εξειδικευμένοι μεταφορείς πουρινών και πυραμιδινών υπάρχουν στα κύτταρα όλων των οργανισμών και φαίνεται να ανήκουν σε μια ειδική πρωτεινική οικογένεια, μέλη της οποίας μοιράζονται κοινά δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά. Παρόλο που η διαμεμβρανική μεταφορά πουρινών και πυριμιδινών παρουσιάζει εξαιρετική φυσιολογική, κλινική και φαρμακολογική σημασία, ελάχιστα δεδομένα υπάρχουν όσον αφορά στα εμπλεκόμενα γονίδια και στις πρωτείνες που κωδικεύουν. Το εργαστήριο μας χρησιμοποιεί τον ασκομύκητα *Aspergillus nidulans* ως πρότυπο ευκαρυωτικό μικροβιακό σύστημα για τη μελέτη της διαμεμβρανικής μεταφοράς πουρινών. Στον *Aspergillus nidulans* έχουν αναγνωριστεί τρεις βασικοί μεταφορείς πουρινών που κωδικεύονται από τα γονίδια *uapA*, *uapC* και *aygA* (1,2). Τα γονίδια *uapA* και *uapC* έχουν κλωνοποιηθεί, η αλληλουχία του DNA τους έχει καθοριστεί, και η έκφρασή τους έχει μελετηθεί στο επίπεδο μηνυμάτων RNA και πρωτεινών (2,4). Επίσης, πρόσφατες μελέτες μας που αφορούν στις σχέσεις δομής-λειτουργίας στην πρωτείνη UapA έδειξαν ότι η περιοχή που εμπεριέχει τα αμινοξέα 378-446, και πιό συγκεκριμένα τα κατάλοιπα A^{404}, E^{412}, R^{414}, Q^{449} και N^{450} παίζουν καθοριστικό ρόλο στην απόδοση και εξειδίκευση του μεταφορέα αυτού (5,6). Πέραν των βασικών μεταφορέων πουρινών, ο *Aspergillus nidulans* φαίνεται να έχει και μια σειρά δευτερευόντων (χαμηλής απόδοσης) μεταφορέων πουρινών και πυραμιδινών, τα αντίστοιχα γονίδια των οποίων δεν έχουν ταυτοποιηθεί. Ο πρόσφατος καθορισμός της αλληλουχίας ολόκληρου του γονιδώματος του *Aspergillus nidulans* από την εταιρία Cereon Corp. (USA) μας επέτρεψε την αναγνώριση *in silico* επτά «ορφανών» γονιδίων των οποίων η αλληλουχία μας οδηγεί στην υπόθεση ότι κωδικεύουν τους δευτερεύοντες μεταφορείς πουρινών και πυραμιδινών. Στην παρούσα εργασία μελετάμε τη φυσιολογική και αναπτυξιακή ρύθμιση της έκφρασης των βασικών, αλλά και των δευτερευόντων, μεταφορέων πουρινών και πυραμιδινών. Πιο συγκεκριμένα, θα παρουσιάσουμε αποτελέσματα που αφορούν στη ρύθμιση της έκφρασης των μεταφορέων αυτών σε απόκριση ι) σε διαφορετικές πηγές καθώς και στην έλλειψη αζώτου, και ιι) σε αναπτυξιακές αλλαγές κατά τη διάρκεια της εκβλάστησης των κονιδίων και το σχηματισμό μυκηλίου.

PHYSIOLOGICAL AND DEVELOPMENTAL CONTROL OF MAJOR AND MINOR PURINE-PYRIMIDINE TRANSPORTERS IN *Aspergilus nidulans*

Amillis S. & G. Diallinas
Department of Biology, Division Botany, Microbiology Lab., University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15784, Greece

Transport of a variety of solutes across biological membranes is mediated by integral membrane proteins known as transporters or carriers. Specific transmembrane purine and pyramidine transporters are present in both prokaryotic and eukaryotic cells and seem to constitute a unique protein family, members of which share highly conserved structural and functional molecular determinants. Although purine and pyramidine transport presents physiological, clincal and pharmaceutical interest, very little is known concerning the genes and proteins responsible. Our laboratory uses the ascomycete *Aspergillus nidulans* as a model microbial system to study purine transporters. *A. nidulans* possesses three major purine transporters encoded by the genes *uapA*, *uapC* and *azgA*. Two of these genes (*uapA* and *uapC*) have been cloned, sequenced and their expression studied in great detail in mycelia (1,2). Recently, we presented a series of experiments addressing structure-function relationships and which led to the conclusion that the region including amino acid residues 378-446, and in particular amino acids A^{404}, E^{412}, R^{414}, Q^{449} and N^{450}, are critical for purine recognition and transport by the UapA transporter (3). *A. nidulans* also possesses a number of minor purine and pyrimidine transporters which are encoded by non-identified genes. The recent completion of the entire sequence of the *A. nidulans* genome (Cereon corp.) revealed the presence of 7 "orphan" genes which might encode the minor purine and pyrimidine transporters. In this work we study the physiological and developmental regulation of expression of both the major and minor purine and pyrimidine transporters. In particular, we will present data concerning how these transporters are regulated in response to i) different nitrogen sources and purine starvation, and ii) developmental changes associated with germination and mycelium formation.

References

1. Gorfinkiel, L., Diallinas, G. and Scazzocchio, C. (1993) J. Biol. Chem., 268, 23376-23381. **2.** Diallinas, G., Gorfinkiel, L., Arst, H.N.Jr., Ceccheto, G. and Scazzochio, C. (1995) J. Biol. Chem., 270, 8610-8622. **3.** Diallinas, G., Valdez, J., Sophianopoulou, V., Rosa, A. and Scazzochio, C. (1998) EMBO J. 17(14), 3827-3837.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΩΝ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΤΗΣ ΠΥΡΟΣΤΑΦΥΛΙΚΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ ΣΤΟ ΟΛΟΜΕΤΑΒΟΛΟ ΕΝΤΟΜΟ *T. Molitor*

Αναγνώστης Αρ. και Α.Ι. Παπαδόπουλος

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ.

Μελετήθηκε η επίδραση των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων methyl-parathion και methyl-paraoxon στο μεταβολισμό του ολομετάβολου εντόμου *T. molitor*. Η μελέτη περιέλαβε και τα τρία αναπτυξιακά στάδια και τα εντομοκτόνα ενέθηκαν στο έντομο. Ως δείκτες κατάστασης του ενεργειακού μεταβολισμού χρησιμοποιήθηκαν οι κινητικές ιδιότητες της πυροσταφυλικής κινάσης (PK). Η πείνα έχει σημαντικές επιπτώσεις στις κινητικές ιδιότητες του ενζύμου. Διαπιστώθηκε ότι στην προνύμφη η τιμή Michaelis-Menten μειώθηκε κατά 3 φορές (0.1568±0,022 και 0.0558±0,005 αντίστοιχα) μετά από 24 ώρες ασιτίας. Στη νύμφη δεν παρατηρήθηκε αλλαγή της Km ενώ στα ώριμα άτομα η τιμή μειώθηκε στο μισό (0,0702±0,055 και 0,033±0,002 αντίστοιχα). Φαίνεται, δηλαδή, ότι στα δύο αναπτυξιακά στάδια που παρουσιάζεται κινητικότητα, η ασιτία προκαλεί αύξηση της αγχιστείας του ενζύμου προς το υπόστρωμα ενώ στο στάδιο της νύμφης, η οποία χαρακτηρίζεται από πλήρη ακινησία, η ασιτία δεν δημιουργεί αντίδραση (η τιμή παραμένει στα επίπεδα 0,28±0,04).
Τραυματισμός του εντόμου με βελόνα προκαλεί αλλαγές στο μεταβολισμό της προνύμφης και του ώριμου ατόμου όπου η τιμή της Km αυξήθηκε κατά δύο φορές (0,3518±0,054 και 0,1517±0,013 αντίστοιχα) ενώ στο στάδιο της νύμφης όπου ο μεταβολισμός φαίνεται να είναι μειωμένος δεν υπάρχει σημαντική αντίδραση. Ένεση methyl-parathion δεν διαπιστώθηκε να έχει σημαντικό αποτέλεσμα ακόμη και σε δόσεις μέχρι και 400ng ανά άτομο. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε έλλειψη εξειδίκευσης των οξειδασών μεικτής δράσης οι οποίες ευθύνονται για την οξείδωση του parathion σε paraoxon. Ένεση methyl paraoxon προκάλεσε αύξηση της τιμής της Km στα στάδια της προνύμφης και του ώριμου ατόμου ανάλογη της δόσης που ενέθηκε (διαφοροποιούμενη κατά συνέπεια από αυτή που προκαλεί ο τραυματισμός), ενώ στο στάδιο της νύμφης δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις. Η τιμήLD_{50} βρέθηκε να είναι για τις προνύμφες 30ng ενώ για τις νύμφες και τα ώριμα άτομα 40ng.

EFFECT OF INSECTICIDE INJECTION ON PYRUVATE KINASE OF THE INSECT *T. molitor*

Anagnostis A. & A.I. Papadopoulos

Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki 54006, Thessaloniki

The effect of organophosphate insecticides methly-parathion and methyl-paraoxon on the energy metabolism of the insect *T. molitor* was studied in all three developmental stages of the insect. The insecticides were injected into the insect's body by means of a microsyringe. The kinetic properties of pyruvate kinase were studied as a marker of the energy metabolism status of the organism.
Starvation for 24 hr resulted to a significant decrease of the Km values of the enzyme in the larvae (0.1568±0,022 and 0.0558±0,005 reciprocally) and adult (0,0702±0,055 and 0,033±0,002 reciprocally) developmental stages of while in the pupae stage no alterations were evident. The lack of any reaction in the pupal stage was attributed to the fact that in this stage the insect does not move and feed therefore the metabolism is rather constant and unaffected by the external environment.
Injury of the insects by the microsyringe resulted to an elevation of Km in the larvae and adult stage (0,3518±0,054 and 0,1517±0,013 reciprocally) while in the pupae no reaction was noticed again.
Injection of methyl-parathion was found to be almost ineffective for the insect in doses up to 400 ng/insect. This may be due to lack of spesific activity of mixed function oxidases which convert the insecticide to methyl-paraoxon. Injection of methyl-paraoxon caused an elevation to Km relevant to the dose injected in the two reactive stages while in the pupae stages no difference was observed. The LD_{50} values for this insecticide were found to be 30 ng/insect for the larvae and 40 for the pupae and adult stage.
We conclude that insecticide injection does have an effect upon the energy metabolism. The pyruvate kinase enzyme appears to be insensitive to the presence of insecticides in the developmental stage of the pupae where the energy metabolism is low and steady.

ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ASE ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ *IN VITRO*

Ανδριανόπουλος Κ., Στεφάνου Γ., Πολίτη Ε., Δημόπουλος Ν.

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών.

Η ASE [ομο-αζα-στεροειδικός εστέρας του π-δις(2-χλωροαίθυλ)αμινο-φαίνυλο οξικού οξέος] είναι μία ένωση με αντινεοπλασματική, μεταλλαξιγόνο και κυτταρογενετική δράση. Προκαταρκτικά αποτελέσματα έδειξαν, ότι η ASE προκαλεί τη δημιουργία μικροπυρήνων σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων. Οι μικροπυρήνες αποτελούν πυρηνικό υλικό διακριτό από τον πυρήνα του κυττάρου προερχόμενο, είτε από δημιουργία χρωμοσωματικών ρηγμάτων, είτε από χρωμοσωματική απώλεια.

Στην παρούσα εργασία εξετάζεται η κυτταρογενετική δράση της ASE σε δύο διαφορετικά στάδια του κύκλου ζωής των λεμφοκυττάρων, G1 και G2. Εξετάζεται επίσης η δράση της σε καλλιέργειες λεμφοκυττάρων ολικού αίματος και σε καλλιέργειες απομονωμένων λεμφοκυττάρων. Η παρουσία στον πρώτο τύπο καλλιέργειας ερυθροκυττάρων και ορού αίματος δίνει δυνατότητα μεταβολικής ενεργοποίησης της ένωσης, αλλά και αντιοξειδωτικής προστασίας των κυττάρων. Ως σύστημα ελέγχου χρησιμοποιήθηκε η επαγωγή μικροπυρήνων. Αναλύθηκε επίσης ο μηχανισμός δημιουργίας τους με *in situ* υβριδοποίηση με φθοριοχρώματα (FISH). Ως ανιχνευτής χρησιμοποιήθηκε αλληλουχία DNA συμπληρωματική του κεντρομερικού α-satellite DNA.

Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι η ASE σε καλλιέργειες λεμφοκυττάρων ολικού αίματος προκαλεί αύξηση της συχνότητας των μικροπυρήνων, η οποία σχετίζεται γραμμικά με τη συγκέντρωση. Η αύξηση αυτή είναι ισχυρότερη όταν η επίδραση γίνεται κατά την G1 φάση του κυτταρικού κύκλου. Σε καλλιέργειες απομονωμένων λεμφοκυττάρων εξετάσθηκε η επίδραση μόνο κατά την G2 φάση και φάνηκε ότι προκαλείται επίσης αύξηση της συχνότητας των μικροπυρήνων, η οποία φαίνεται να ακολουθεί το ίδιο πρότυπο, όπως στις καλλιέργειες ολικού αίματος. Η ανάλυση του περιεχομένου των μικροπυρήνων έδειξε ότι λειτουργούν δύο μηχανισμοί. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις λειτουργεί μόνο ο μηχανισμός δημιουργίας χρωμοσωματικών ρηγμάτων, ενώ σε μεγαλύτερες λειτουργεί και ο μηχανισμός της χρωμοσωματικής απώλειας. Τα ευρήματα ισχύουν και για τους δύο τύπους καλλιεργειών, υποδεικνύοντας έτσι, ότι η παρουσία ερυθροκυττάρων και ορού στην καλλιέργεια δεν επηρεάζει την κυτταρογενετική δράση της ASE.

ASE CYTOGENETIC ACTIVITY AS REVEALED IN HUMAN LYMPHOCYTE CULTURES TREATED *IN VITRO*

Andrianopoulos C., Stephanou G., Politi E., Demopoulos N.

Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University of Patras

ASE is a homo-aza-steroidal ester of p-bis (2-chloroethyl) amino phenyl acetic acid and has been shown to display antineoplastic, mutagenic and cytogenetic activity. Preliminary results have demonstrated that the compound is able to cause micronucleus formation in human lymphocyte cultures treated *in vitro*.
In this study the ability of ASE to induce enhanced micronucleus frequencies is followed in two different stages of cell cycle of lymphocytes, G_1 and G_2. Two types of cultures were proceeded: whole blood lymphocyte cultures and isolated lymphocyte cultures, since it has been referred that erythrocytes can display metabolic activation and plasma can offer antioxidant protection to the cells. The mechanism of micronucleus formation was also analyzed by FISH experiments.
Our results suggested that ASE is able to increase micronucleus frequencies in a dose-dependent relation. This increase seems to be higher in G_1 than in G_2 phase. FISH analysis proposed that in lower ASE concentrations chromosome breakage is the only cause for micronucleus formation, while at higher concentrations chromosome loss might also be responsible for enhanced micronucleus frequency. This seems to hold true for both type cultures indicating that erythrocytes and plasma can not alter ASE cytogenetic activity.

ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΣΥΓΓΕΝΟΥΣ ΔΥΣΕΡΥΘΡΟ-ΠΟΙΗΤΙΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΜΕ α-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Αντωνέλου Μ.Χ., Παπασιδέρη Ι.Σ. και Λ.Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784

Αναφέρεται η περίπτωση μιας ασθενούς με κλινικό ιστορικό συγγενούς δυσερυθροποιητικής αναιμίας. Μορφολογικά στοιχεία των ερυθροβλαστών αδυνατούν να κατατάξουν την ασθένεια σε κάποια τυπική μορφή. Μοριακή ανάλυση της αιμοσφαιρίνης, αποκάλυψε σε ομοζυγωτία την A–>G σημειακή μεταλλαγή στην poly-A θέση του α2 γονιδίου της α-σφαιρίνης, χωρίς ωστόσο να εμφανίζονται τα β4 τετραμερή (HbH) τα οποία είναι χαρακτηριστικά αυτού του γονοτύπου. Τα ερυθροκύτταρα παρουσιάζουν εντονότατη ανισοποικιλοκυττάρωση και θραύση. Μελετήθηκε σε βιοχημικό επίπεδο η δομική ακεραιότητα και λειτουργική επάρκεια των ερυθροκυτταρικών μεμβρανών της ασθενούς και συγγενών της. Ο μεμβρανικός φαινότυπος συγκρίθηκε με τους αντίστοιχους ατόμων-φορέων άλλων αιματολογικών νόσων, οι οποίοι προκύπτουν ως συνέπεια πρωταρχικών βλαβών είτε στις ίδιες τις μεμβρανικές πρωτείνες, είτε στην αιμοσφαιρίνη του κυτταροπλάσματος. Ορισμένες από τις μεμβρανικές αλλοιώσεις που σημειώνονται και αφορούν κυρίως στην πρωτεϊνική σύσταση, στην ευαισθησία σε πρωτεόλυση, σε δυσλειτουργίες και σε μια σειρά από έκτοπα πεπτίδια, συνιστούν κοινούς βιοχημικούς δείκτες ασθενών με διάφορες κληρονομικές μεμβρανοπάθειες. Είναι ενδιαφέρον ότι σχεδόν στο σύνολό τους απαντήθηκαν σε ένα μη-σχετιζόμενο πάσχοντα από δρεπανοκυτταρική αναιμία. Μελετάται ο ρόλος των β-σφαιρινικών αλυσίδων στη διαμόρφωση αυτού του φαινοτύπου καθώς και η συσχέτισή του με τη δυσερυθροποίηση στο μυελό.

Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από τη ΓΓΕΤ (πρόγραμμα ΥΠΕΡ).

ERYTHROCYTE MEMBRANE PROTEINS DEFECTS IN A CASE OF CON-GENITAL DYSERYTHROPOIETIC ANEMIA IN COMBINATION WITH α-THALASSEMIA

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

Division of Cell Biology & Biophysics, Department of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15784, Athens, Ellas

The case of a woman with clinical history of congenital dyserythropoietic anemia (CDA) is reported. The morphological features of the erythroblasts are not typical of a single type of CDA. DNA analysis in the α-globin gene region, revealed the A–>G mutation in the poly-A site of the a2-globin gene in homozygosity, although β-chain tetramers (HbH), which are typical of this genotype, are not detected. Peripheral blood smears exhibited severe anisopoikilocytosis and fragmentation. The structural and functional integrity of the erythrocyte membranes from the patient and her relatives had been studied with biochemical approaches. The resultant protein phenotype had been compared with those observed in carriers of various hematological diseases, which come as a consequence of a primary defect related to the membrane proteins or to the hemoglobin. Some of the observed lesions, which primarily included the protein texture, deficiencies, dysfunction, oversensitivity to proteolysis and the presence of a range of aberrant peptides, are biochemical signs commonly seen in inherited membranopathies. It is interesting that an almost identical pattern of abnormalities is observed in a non-related patient suffering from sickle-cell anemia. The role of the β-globin chain in the production of this specific phenotype, as well as its correlation with the dyserythropoiesis in the bone marrow, are studied in the patient and her relatives.

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

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΟΥ ΚΥΤΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΣΤΗΝ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΣΤΑ ΔΙΑΙΡΟΥΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Triticum turgidum*

Αποστολάκος Π.[1], Quader H.[2], Γαλάτης Β.[1]

[1]Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784
[2]Institut fur Allgemeine Botanik, Universitat Hamburg, Ohnhorst-strasse 18, D-22609, Hamburg, Germany

Στην παρούσα εργασία ερευνήθηκε ο ρόλος του κυτοπλασματικού ασβεστίου στην οργάνωση των μικροσωληνίσκων (ΜΣ) σε διαιρούμενα κύτταρα ακρορρίζου του φυτού *Triticum turgidum*. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε η ουσία cyclopiazonic acid (CPA), η οποία αναστέλλει τη λειτουργία των αντλιών μεταφοράς Ca^{2+}, οι οποίες εντοπίζονται στις μεμβράνες του ενδοπλασματικού δικτύου. Η επίδραση με CPA είχε ως αποτέλεσμα τη διαταραχή του μηχανισμού ελέγχου της συγκέντρωσης του κυτοπλασματικού Ca^{2+}.
Τα επηρεασμένα κύτταρα, μετά από ανοσοεντόπιση της σωληνίνης, μελετήθηκαν με συνεστιακό μικροσκόπιο laser, διαπιστώθηκαν δε οι παρακάτω διαταραχές:
(1) Καθυστέρηση ή αναστολή ωρίμανσης της προπροφασικής ζώνης των ΜΤ στα προπροφασικά/προφασικά κύτταρα.
(2) Αναστολή σχηματισμού διπολικής προφασικής ατράκτου.
(3) Δημιουργία πολυπολικών μεταφασικών ατράκτων στα προμεταφασικά/μεταφασικά κύτταρα, οι οποίες αδυνατούν να προσανατολίσουν τα χρωμοσώματα σε ισημερινό επίπεδο του κυττάρου.
(4) Διαταραχή του μηχανισμού αποπολυμερισμού/πολυμερισμού των ΜΣ κατά την ανάφαση με αποτέλεσμα τη διατάραξη της αναφασικής κίνησης των χρωμοσωμάτων.
(5) Καθυστέρηση της φυγόκεντρης επέκτασης του συστήματος φραγμοπλάστη-κυτταρικής πλάκας προς την περιφέρεια του κυττάρου κατά την τελόφαση / κυτοκίνηση.
Από την αξιολόγηση των δεδομένων συνάγεται ότι το κυτοπλασματικό Ca^{2+} ελέγχει τους μηχανισμούς, δημιουργίας, οργάνωσης και λειτουργίας των επάλληλων συστημάτων ΜΣ στα διαιρούμενα κύτταρα των αγγειοσπέρμων φυτών.

THE ROLE OF CYTOPLASMIC Ca^{2+} ON MICROTUBULE ORGANIZATION IN DIVIDING ROOT-TIP CELLS OF *Triticum turgidum*

Apostolakos P.[1], Quader H.[2], Galatis B.[1]

[1]University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, Athens 157 84
[2]Institute fur Allgemeine Botanik, Universitat Hamburg, Ohnhorst-strasse 18, D-22609, Hamburg, Germany

In this work was studied the role of cytoplasmic calcium on the microtubule (Mt) organization in dividing root-tip cells of *Triticum turgidum,* using cyclopiazonic acid. This substance inhibits preferentially the function of molecular pumps transporting Ca^{2+}, which are located on the endoplasmic reticulum membranes. This results in the disturbance of the mechanism controlling the concentration of cytoplasmic Ca^{2+}. The affected cells, after tubulin immunolabelling, were examined with a confocal-laser scanning microscope. The observations made revealed that CPA induces the following disturbances in the dividing cells:

(1) Delays or inhibits the maturation of the preprophase microtubule bands in preprophase/prophase cells.
(2) Prevents the transformation of the perinuclear Mts into a bipolar prophase spindle.
(3) Induces the formation of polypolar spindles in prometaphase / metaphase cells, which are incapable to align the chromosomes on a equatorial cell plane.
(4) Disturbs the assembly / disassembly Mt process during anaphase disordering the anaphase chromosome movement.
(5) Delays detectably the expansion of the phragmoplast-cell plate system towards the parent walls at telophase/cytokinesis.

The above observations support the hypothesis that cytoplasmic Ca^{2+} controls the mechanisms underlying the formation, organization and function of the successive Mt systems in dividing angiosperm cells.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΤΕΣΣΕΡΑ ΕΙΔΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ MULLIDAE ΜΕ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Αποστολίδης Α.Π.[1], Μαμούρης Ζ.[2], Σταμάτης Κ.[3], Μπάνη Μ.[3], Τριανταφυλλίδης Κ.[1]

[1]Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, [2]Γενικό Τμήμα και [3]Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν οι φυλογενετικές και οι ταξινομικές σχέσεις τεσσάρων ειδών της οικογένειας Mullidae (*Mullus barbatus, Mullus surmuletus, Upeneus moluccensis, Pseudopeneus prayensis).* Εφαρμόστηκαν τέσσερις γενετικές μέθοδοι: ισοενζυμική ανάλυση, RAPD, ανάλυση πολυμορφισμού 3 περιοχών του μιτοχονδριακού DNA (κυτόχρωμα b, κυτοχρωμική οξειδάση II, 16S rRNA) και ανάλυση πρωτοδιάταξης του κυτοχρώματος b και του 16S rRNA). Και οι τέσσερις μέθοδοι κατέληξαν σε παρόμοια αποτελέσματα, διαχωρίζοντας τα 4 είδη και προσδιορίζοντας με επιτυχία την ταξινομική τους θέση. Όλες οι τεχνικές έδειξαν ότι οι γενετικές αποστάσεις ήταν μικρότερες ανάμεσα στο *U. moluccensis* και στο *P. prayensis* απ'ότι μεταξύ αυτών των ειδών και των ειδών του γένους *Mullus.* Ως προς την ισοενζυμική ανάλυση και την ανάλυση πρωτοδιάταξης τα δύο είδη *Mullus* βρέθηκαν γενετικά περισσότερο διαφοροποιημένα από το *U. moluccensis* απ'ότι από το *P. prayensis.* Ωστόσο, η ανάλυση των RAPDs και του πολυμορφισμού του μιτοχονδριακού DNA κατέληξε σε αντίθετα αποτελέσματα. Σε σύγκριση με τα ισοένζυμα, τα RAPDs έδειξαν μικρότερη διαειδική διαφοροποίηση. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματά τους ήταν περισσότερο σύμφωνα με την ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA. Αν και τα RAPDs δεν προσθέτουν κάποιες σημαντικές συμπληρωματικές πληροφορίες στην φυλογενετική ανάλυση, σε σύγκριση με τις υπόλοιπες τεχνικές αποδεικνύονται πολύτιμα για τη γρήγορη και αξιόπιστη ταυτοποίηση των ειδών. Τα συνολικά αποτελέσματα κατέδειξαν την αναγκαιότητα εφαρμογής πολλαπλών μοριακών τεχνικών, για τον ακριβέστερο προσδιορισμό των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των ταξινομικών ομάδων.

STUDY OF TAXONOMIC RELATIONSHIPS BETWEEN FOUR SPECIES OF THE MULLIDAE FAMILY REVEALED BY FOUR GENETIC METHODS

Apostolidis A.P.[1], Mamuris Z.[2], Stamatis C.[3], Bani M.[3], Triantaphyllidis C.[1]

[1]Dept of Genetics, Development and Molecular Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki
[2]Department of Applied and Theoretical Sciences and
[3]Department of Agriculture, University of Thessaly, Volos

The taxonomic relationships between four species, belonging to the Mullidae family (*Mullus barbatus, Mullus surmuletus, Upeneus moluccensis* and *Pseudopeneus prayensis*) were investigated, using four genetic methods (allozymes, RAPD, mtDNA PCR-RFLP analysis and mtDNA sequence variation). The four methods have been successful in distinguishing the Mullidae species and in revealing their taxonomic status, producing similar results. All methods showed that genetic distances were lower between *U. moluccensis* and *P. prayensis* than between those species and the *Mullus* species. However, for allozymes and sequence variation the two *Mullus* species were found genetically more distinct from *U. moluccensis* than from *P. prayensis*, but RAPD and mtDNA-RFLP analysis showed the opposite. RAPDs revealed less interspecific divergence compared with allozymes and the results they produced were more consistent with mtDNA analysis. Although RAPDs did not add any supplementary taxonomic information, they proved valuable tool for quick and reliable species discrimination compared with allozymes and mtDNA. Overall results emphasize the importance of considering a number of genetic systems for the exact determination of phylogenetic relationships between taxa.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ *Bacillus Sphaericus*, ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ ΧΩΡΟ

Απτόσογλου Σ.Γ. και Σ.Ι. Κολιάης

Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Το *Bacillus sphaericus* είναι βακτήριο μεγάλης οικονομικής σημασίας χάρη στην παραγωγή τοξικών πρωτεϊνών με εντομοκτόνες ιδιότητες. Με σκοπό τη χρήση του μικροοργανισμού αυτού ως βιολογικό εντομοκτόνο απομονώθηκε του από το έδαφος, από πολλές περιοχές του Ελλαδικού χώρου. Τα 75 δείγματα που απομονώθηκαν συγκρίθηκαν και ομαδοποιήθηκαν με βάση το πολυπεπτιδικό πρότυπο των βλαστικών κυττάρων τους. Από τη σύγκριση των δειγμάτων με τη μέθοδο αυτή προέκυψαν 38 διαφορετικοί ηλεκτροφορέτυποι που είχαν ποικίλες διαφορές μεταξύ τους, με κοινό χαρακτηριστικό την εμφάνιση έντονης ζώνης μοριακού μεγέθους τουλάχιστο 100 kDa. Η μεγάλου μεγέθους ζώνη στα περισσότερα δείγματα πιθανόν να αντιστοιχεί στη γνωστή τοξική πρωτεΐνη των βλαστικών κυττάρων του *B. sphaericus,* μεγέθους 100 kDa. Απομονώσεις του πλασμιδιακού DNA ενός αριθμού δειγμάτων έδωσαν ηλεκτροφορητικά πρότυπα που εμφάνισαν ποικιλία μεγεθών πλασμιδιακού DNA. Τα πλασμιδιακά πρότυπα ορισμένων δειγμάτων ομοιάζουν με αυτά γνωστών τοξικών στελεχών του *B. sphaericus* που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Πέψη με ένζυμο περιορισμού έδειξε διαφορές στο πλασμιδιακό περιεχόμενο δείγματος *B. sphaericus* και *B. thuringiensis* από την ίδια περιοχή απομόνωσης, με παρόμοιο πλασμιδιακό πρότυπο. Πέψεις ολικού DNA ενός αριθμού δειγμάτων έδωσαν μια μεγάλη ποικιλία προτύπων με έντονες διαφορές μεταξύ τους. Έτσι τα πολυπεπτιδικά πρότυπα βλαστικών κυττάρων των δειγμάτων μαζί με τα πρότυπα περιορισμού ολικού DNA τους αποκαλύπτουν ένα μεγάλο βαθμό ετερογένειας στο είδος *B. sphaericus*, πράγμα που ενδέχεται να δώσει ενδιαφέροντα αποτελέσματα σε ό,τι αφορά την παρουσία τοξικών πρωτεϊνών και γονιδίων τους στα δείγματα αυτά.

CHARACTERIZATION OF *Bacillus spaericus* ISOLATES FROM GREECE

Aptosoglou S.G. & S.I. Koliais

Laboratory of General Microbiology, Department of Biology, Aristotelian University of Thessaloniki

Bacillus sphaericus is a bacterium of great economical importance due to the production of toxic proteins with insecticidal properties. In order to use this microorganism as a biological insecticide, it was isolated from soil, from a number of areas of Greece. The 75 isolates obtained were compared and grouped according to the polypeptide profiles of their vegetative cells. Comparison of the isolates using this method resulted in 38 different electrophoretypes, with a characteristic intense zone of large molecular size of at least 100 kDa. For most of the isolates, this large zone possibly corresponds to the well known mosquitocidal toxin (mtx) of *B. sphaericus,* of a size of 100 kDa, that appears at the vegetative stage of the cells. Isolation of plasmid DNA from a number of isolates gave electrophoretic patterns that showed a number of zones of various mobilities. The plasmid patterns of some of the isolates are similar to those of known toxic strains of *B. sphaericus* mentioned in the literature. Restriction enzyme analysis showed differences in the restriction patterns of a *B. sphaericus* isolate and a *B. thuringiensis* isolate obtained from the same area. These two isolates carry plasmids of similar electrophoretic mobility. Restriction analysis of total DNA obtained from a number of *B. sphaericus* isolates gave a wide variety of patterns with intense differences among them. Therefore, the polypeptide profiles of the vegetative cells of the isolates, together with their total DNA restriction patterns, reveal a high degree of heterogeneity within the species *B. sphaericus*. This is expected to give some interesting results concerning the presence of toxins and their genes in the above isolates.

Η ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΩΝ α_1-ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ ΤΟΥ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ

Βασάρα Ε., Σερασκέρης Σ. και Α. Λάζου

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Η ισχαιμική προετοιμασία προστατεύει το μυοκάρδιο κατά την επαναιμάτωση μετά από ισχαιμία. Το φαινόμενο αυτό μιμείται και η διέγερση των α_1-αδρενεργικών υποδοχέων. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να διευκρινιστεί αφενός αν οι α_1-αδρενεργικοί υποδοχείς συμμετέχουν στο μηχανισμό της ισχαιμικής προετοιμασίας και αφετέρου ποιος υποτύπος (α_{1A} ή α_{1B}) των υποδοχέων συμμετέχει. Έτσι, σε καρδιές που προετοιμάστηκαν ισχαιμικά χορηγήθηκαν πριν την ισχαιμική προετοιμασία ανταγωνιστικές ενώσεις των α_1-αδρενεργικών υποδοχέων (πραζοσίνη: μη ειδικός α_1 -ανταγωνιστής, 5-methyl-urapidil: α_{1A}-ανταγωνιστής και chloroethylclonidine: α_{1B}-ανταγωνιστής). Στο πειραματικό μοντέλο που εφαρμόστηκε η διάρκεια της ισχαιμίας ήταν 45 λεπτά.
Ως δείκτες προστασίας χρησιμοποιήθηκαν διάφορες αιμοδυναμικές παράμετροι καθώς και το ποσοστό νέκρωσης του μυοκαρδίου. Η προστατευτική δράση της ισχαιμικής προστασίας δεν ανεστάλη στις καρδιές που χορηγήθηκαν οι ανταγωνιστές των α_1 -αδρενεργικών υποδοχέων. Σε αυτές τις καρδιές παρατηρήθηκε σημαντικά βελτιωμένη αιμοδυναμική συμπεριφορά και μικρότερο ποσοστό νέκρωσης του μυοκάρδιου σε σύγκριση με καρδιές που δεν υποβλήθηκαν σε ισχαιμική προετοιμασία. Επίσης, η σύγκριση των παραπάνω αποτελεσμάτων με αντίστοιχα από καρδιές που υποβλήθηκαν σε ισχαιμική προετοιμασία ή προετοιμασία με α_1-αδρενεργική διέγερση (χορήγηση φαινυλεφρίνης), δεν έδειξε σημαντικές διαφορές τόσο στη αιμοδυναμική συμπεριφορά όσο και στο ποσοστό νέκρωσης. Συμπερασματικά, η διέγερση των α_1-αδρενεργικών υποδοχέων μιμείται το φαινόμενο της ισχαιμικής προετοιμασίας, όμως η ενεργοποίησή τους δεν είναι απαραίτητη για να συμβεί η ισχαιμική προετοιμασία.

ACTIVATION OF α_1-ADRENERGIC RECEPTORS IS NOT ESSENTIAL FOR THE MEDIATION OF ISCHEMIC PRECONDITIONING IN RAT HEART

Vasara E., Seraskeris S. & A.Lazou

Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

Ischemic preconditioning, induced by repetitive short periods of ischemia protects the myocardium from damages during a following sustained ischemia and reperfusion. Stimulation of α_1-adrenoreceptors mimics the phenomenon. The aim of the present study is to determine whether α_1-adrenergic receptors are involved in the mechanism of ischemic preconditioning and moreover to determine the subtype (α_{1A} or α_{1B}) responsible for the induced protection. Hearts preconditioned by transient ischemia were pretreated with α_1-adrenergic receptor antagonists (prazosin: non specific α_1-antagonist, 5-methyl-urapidil: α_{1A}-antagonist and chloroethylclonidine: α_{1B}-antagonist). In the experimental protocol used, the duration of sustained ischemia was 45 min. Various hemodynamic parameters as well as infarct size of the myocardium were taken as an index of protection conferred. The protective effect of ischemic preconditioning was not blocked when the hearts were pretreated with the α_1-adrenergic receptor antagonists. These hearts demonstrated significantly better functional recovery and reduced infarct size in comparison with hearts not subjected to preconditioning. Furthermore, no differences in the functional parameters or the infarct size were observed between ischemic preconditioned hearts pretreated with the antagonists, ischemic preconditioned or preconditioned by α_1-adrenergic stimulation with phenylephrine. In conclusion, α_1-adrenergic receptor stimulation mimics the phenomenon of ischemic preconditioning but the activation of these receptors is not necessary for ischemic preconditioning to occur.

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΕΚΔΥΣΟΝΗΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΜΥΓΑΣ *Ceratitis capitata*

Βέρρας Μ., Μαυροειδής Μ., Κοκολάκης Γ., Γουρζή Π., Ζαχαροπούλου Α. και Α. Μίντζας

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Η στεροειδής ορμόνη εκδυσόνη ρυθμίζει μια σειρά από διαφορετικά βιολογικά φαινόμενα σε όλα τα στάδια της ανάπτυξης των εντόμων. Με στόχο την κατανόηση του ρόλου της εκδυσόνης κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης της μεσογειακής μύγας *Ceratitis capitata*, κλωνοποιήθηκε και χαρακτηρίστηκε ο υποδοχέας της εκδυσόνης αυτού του εντόμου. Χρησιμοποιώντας ως ανιχνευτή την συντηρητική περιοχή δέσμευσης στο DNA του cDNA της EcR-B1 ισομορφής από το έντομο *Drosophila melanogaster* (DmEcR-B1), απομονώθηκαν αρκετοί κλώνοι μετά από διαλογή μιας cDNA βιβλιοθήκης τρίτου προνυμφικού σταδίου της μεσογειακής μύγας. Ένας από αυτούς (CcEcR) περιέχει ένα ανοιχτό αναγνωστικό πλαίσιο 673 κωδικών και περιλαμβάνει όλες τις περιοχές (A\B, C, D, E και F) ενός τυπικού υποδοχέα στεροειδών ορμονών. Οι περιοχές A\B, C, D, E και F του CcEcR έδειξαν 48.3%, 95.5%, 67.3%, 94.1% και 10.6% αμινοξική ταυτότητα με τις αντίστοιχες περιοχές της DmEcR-B1 ισομορφής. Το CcEcR γονίδιο χαρτογραφείται με *in situ* υβριδοποίηση, σε μία εκδυσονοεπαγόμενη χρωμοσωματική διόγκωση (puff) των πολυταινικών χρωμοσωμάτων των σιελογόνων αδένων (4R:53B). Υβριδοποίηση κατά Northern έδειξε ότι τα CcEcR μετάγραφα έχουν μέγεθος περίπου 8 kb ενώ με τη χρήση RT-PCR φάνηκε ότι τα επίπεδα των CcEcR μεταγράφων είναι υψηλά κατά το στάδιο του αυγού, στο μέσο και όψιμο εμβρυϊκό στάδιο, στο όψιμο τρίτο προνυμφικό στάδιο και κατά το μέσο του σταδίου του προβομβυκίου (prepupa). Πειράματα αλλαγής της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας έδειξαν ότι ο CcEcR δεσμεύεται ειδικά με το hsp27 στοιχείο απόκρισης στην εκδυσόνη της *Drosophila*, σχηματίζοντας ετεροδιμερές με την πρωτείνη USP της *Drosophila* η οποία αποτελεί προϊόν του γονιδίου *ultraspiracle*.

CLONING AND CHARACTERIZATION OF THE ECDYSONE RECEPTOR OF THE MEDITERRANEAN FRUIT FLY *Ceratitis capitata*

Verras M., Mavroidis M., Kokolakis G., Gourzi P., Zacharopoulou A. & A.C. Mintzas

Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University of Patras, Greece

The steroid hormone ecdysone regulates a series of different biological events during all the stages of insect development. In order to clarify the role of ecdysone during the development of the Mediterranean fruit fly (medfly) *Ceratitis capitata*, the ecdysone receptor of this insect has been cloned and characterized. Several cDNA clones were isolated by screening a third instar larvae medfly cDNA library, using as a probe the conserved DNA binding domain of the *Drosophila melanogaster* EcR-B1 cDNA (DmEcR-B1). One of them (CcEcR) had an open reading frame of 673 codons and contained all five domains (A\B, C, D, E and F) typical of a steroid hormone receptor. The CcEcR A\B, C, D, E and F domains showed 48.3%, 95.5%, 67.3%, 94.1% and 10.6% amino acid identity to the respective domains of DmEcR-B1 isoform. *In situ* hybridization analysis showed that the CcEcR gene is mapped on one of the ecdysone regulated puffs (4R:53B) of the salivary gland polytene chromosomes. Northern hybidization analysis showed that CcEcR transcripts have a size of approximately 8 kb while RT-PCR analysis showed that significant levels of CcEcR transcripts were present in eggs, middle and late embryos, late third instar larvae and middle prepupae. Electrophoretic mobility shift assays indicated that CcEcR binds specifically to the *Drosophila* hsp27 ecdysone response element as a heterodimer with *Drosophila* USP, the product of the *ultraspiracle* gene.

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΟ 23-ΔΥΝΑΜΟ ΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΙΚΟ ΕΜΒΟΛΙΟ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ

Βικτωράτος Π.[1], Γραφάκος Σ.[2] και Β. Σπούλου[1]

[1]Ερευνητικό Πανεπιστημιακό Ινστιτούτο Μελέτης Γενετικών και Κακοήθων Νοσημάτων Παιδικής Ηλικίας
[2]Μονάδα Μεταμόσχευσης Μυελού Οστών, Νοσοκομείο Παίδων «Αγία Σοφία», Αθήνα

Ο πνευμονιόκοκκος αποτελεί τον κυριότερο παθογόνο μικροοργανισμό σε ασθενείς με μεταμόσχευση μυελού των οστών (ΜΜΟ), και συνιστάται ο προληπτικός εμβολιασμός τους με το πνευμονιοκοκκικό εμβόλιο. Τριάντα οκτώ παιδιά (μέση ηλικία: 8 ετών) εμβολιάστηκαν με το 23-δύναμο πνευμονιοκοκκικό εμβόλιο (Pneumovax II Morson) 12-60 μήνες (μέση τιμή: 24 μήνες) μετά τη ΜΜΟ. Η συγκέντρωση και η συγγένεια των ειδικών αντικαψιδικών IgG αντισωμάτων (anti-PS-IgG) κατά των πνευμονιοκοκκικών οροτύπων 3, 6Β, 14, 19F και 23F προσδιορίστηκαν σε ορούς που συλλέχθηκαν προ και κατά τον 1ο, 3ο, 6ο, 9ο και 12ο μήνα μετά από τον εμβολιασμό. Ο εμβολιασμός είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των anti-PS-IgG αντισωμάτων και των πέντε οροτύπων κατά τον 1ο και 3ο μήνα μετά τον εμβολιασμό (P<0,005). Τα επίπεδα των anti-PS-IgG αντισωμάτων επανήλθαν στα προ του εμβολιασμού επίπεδα μετά τον 9ο ή 12ο μήνα. Παρόλα αυτά, το ποσοστό των παιδιών με ΜΜΟ που παρουσίασαν διπλασιασμό της συγκέντρωσης των anti-PS-IgG αντισωμάτων ήταν χαμηλό (21%) τουλάχιστον σε τρεις από τους πέντε ορότυπους. Η σειρά ανοσογονικότητας των πέντε οροτύπων ήταν 6Β < 3 ≈ 23F < 19F < 14. Σε αντίθεση με την αύξηση της συγκέντρωσης, η συγγένεια των anti-PS-IgG αντισωμάτων παρουσίασε σταδιακή μείωση μέχρι το 12ο μήνα μετά τον εμβολιασμό (P<0,005) γεγονός που δηλώνει ότι το 23-δύναμο εμβόλιο δεν προάγει τη διαδικασία ωρίμανσης αντισωμάτων. Κλινικά χαρακτηριστικά, όπως το είδος της μεταμόσχευσης, η ηλικία (μετά τα 4 χρόνια) και ο χρόνος εμβολιασμού (μετά τους 12 μήνες) δεν βρέθηκαν να επιδρούν σημαντικά στη συγκέντρωση και στη συγγένεια των αντισωμάτων. Τα παραπάνω αποτελέσματα δεικνύουν ότι το 23-δύναμο πνευμονιοκοκκικό εμβόλιο δεν επάγει επαρκή ανοσολογική απόκριση σε παιδιά με ΜΜΟ.

IMMUNE RESPONSE TO 23-VALENT PNEUMOCOCCAL VACCINE OF BONE MARROW TRANSPLANTED CHILDREN

Victoratos P.[1], Grafakos S.[2] & V. Spoulou[1]

[1]University Research Institute for the Study of Genetic and Malignant Disorders in Childhood
[2]Bone Marrow Transplantation Unit, «Agia Sophia» Children's Hospital

Pneumococcus pneumoniae is the major pathogen in bone marrow transplanted patients (BMT) and their vaccination is suggested as a precaution. Thirty-eight BMT children (median age: 8 years) were vaccinated with the 23-valent pneumococcal vaccine (Pneumovax II Morson) 12-60 months (median: 24 months) after transplantation. Serum specific anti-capsular (anti-PS-) IgG antibody concentration and avidity against 3, 6B, 14, 19F and 23F pneumococcal serotypes were determined. Vaccination resulted in a significant increase of anti-PS-IgG antibody concentration against five serotypes during the 1st and 3rd month post vaccination. The antibodies levels were restored to pre-vaccination levels by 9th or 12th month. The immunogenicity of the serotype tested was 6B < 3 ≈ 23F < 19F < 14. In contrast to the increased antibody concentration, the anti-PS-IgG antibody avidity gradually decreased until 9th or 12th month post vaccination. Clinical features as the BMT type, the age (after 4 years) and the time of vaccination (after 12 months of BMT) did not significantly affect the anti-PS-IgG antibody concentration and avidity. The relatively low increase of antibody concentration, the small percentage of BMT recipients with 2-fold increase in antibody concentration and the decline of antibody avidity illustrate that BMT recipients fail to mount an adequate response to the 23-valent pneumococcal vaccine and strongly support the necessity for improved pneumococcal vaccines.

ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟ-ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΣΤΟ ΕΜΒΟΛΙΟ ΤΟΥ Hib ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΜΕ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΜΥΕΛΟΥ ΟΣΤΩΝ

Βικτωράτος Π.[1], Γραφάκος Σ.[2] και Β. Σπούλου[1]

[1]Ερευνητικό Πανεπιστημιακό Ινστιτούτο Μελέτης Γενετικών και Κακοήθων Νοσημάτων Παιδικής Ηλικίας
[2]Μονάδα Μεταμόσχευσης Μυελού Οστών, Νοσοκομείο Παίδων «Αγία Σοφία», Αθήνα

Η συγκέντρωση, ο ισότυπος και η συγγένεια των αντισωμάτων είναι σημαντικοί δείκτες επαγωγής προστατευτικής ανοσίας μετά από εμβολιασμό. Οι δείκτες αυτοί διερευνήθηκαν στην περίπτωση παιδιών με μεταμόσχευση μυελού των οστών (ΜΜΟ) τα οποία εμβολιάστηκαν κατά του *Haemophilus influenza type b* (Hib). Τριάντα οκτώ παιδιά (μέση ηλικία: 8 ετών) εμβολιάστηκαν με το συνδεδεμένο με την τοξίνη του τετάνου εμβόλιο του Hib (Hib-Titer, Lilly), 12-60 μήνες μετά τη ΜΜΟ (μέση τιμή: 24 μήνες). Είκοσι τρία από τα παιδιά έλαβαν 2η και 3η δόση του εμβολίου μετά τον 1ο και τον 3ο μήνα, αντίστοιχα. Ακολούθησε προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ειδικών αντικαψιδικών (anti-PRP-) IgG, IgG1 και IgG2 αντισωμάτων και της συγγένειας των anti-PRP-IgG αντισωμάτων του ορού κατά του Hib προ και κατά τον 1ο, 3ο, 4ο, 6ο, 9ο και 12ο μήνα μετά τον 1ο εμβολιασμό. Ο εμβολιασμός είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των αντισωμάτων (P<0,001) τον 1ο μήνα μετά τον εμβολιασμό. Το 83% (33/38) των παιδιών με ΜΜΟ είχε συγκέντρωση anti-PRP-IgG αντισωμάτων >1μg/ml (ελάχιστη συγκέντρωση αντισωμάτων που σχετίζεται με μακροχρόνια προστασία). Οι επαναληπτικοί εμβολιασμοί προκάλεσαν επιπλέον αύξηση της συγκέντρωσης των anti-PRP-IgG, anti-PRP-IgG1 και anti-PRP-IgG2 αντισωμάτων (P<0,005) και του ποσοστού των παιδιών με συγκέντρωση >1μg/ml (100%). Σε όλες τις περιπτώσεις ο κυρίαρχος ισότυπος ήταν ο IgG1, γεγονός που δηλώνει ότι μετά τη σύνδεσή του με την τοξίνη του τετάνου ο πολυσακχαρίτης του Hib συμπεριφέρεται ως θυμοεξαρτημένο αντιγόνο. Στη διαπίστωση αυτή συνεισφέρει και η αύξηση της συγγένειας των anti-PRP-IgG αντισωμάτων (P<0,01) η οποία δεικνύει ότι οι ενεργοποιημένοι κλώνοι των Β λεμφοκυττάρων υποβάλλονται σε διαδικασία ωρίμανσης των αντισωμάτων.

QUANTITATIVE AND QUALITATIVE ASPECTS OF IMMUNE RESPONSE TO Hib CONJUGATE VACCINE OF BONE MARROW TRANSPLANTED CHILDREN

Victoratos P. [1], Grafakos S.[2] & V. Spoulou[1]

[1]University Research Institute for the Study of Genetic and Malignant Disorders in Childhood
[2]Bone Marrow Transplantation Unit, «Agia Sophia» Children's Hospital

The concentration, the isotype and the avidity of the antibodies are important markers for the evaluation of protective immunity. These markers were investigated in bone marrow transplanted children (BMT) vaccinated against *Haemophilus Influenza type b* (Hib). Thirty-eight BMT children (median age: 8 years) were vaccinated with the Tetanus Toxoid conjugate vaccine (Hib-Titer, Lilly) 12-60 months (median: 24 months) post transplantation. Twenty-three of the BMT children received two booster doses by the 1st and by the 3rd month. Serum specific anti-capsular- (anti-PRP-) IgG, IgG1, IgG2 antibody concentration and anti-PRP-IgG avidity against Hib were determined prior to and in the 1st, 3rd, 4th, 6th, 9th and 12th month after the 1st vaccination. As a result, an increase of anti-PRP-IgG, anti-PRP-IgG1 and anti-PRP-IgG2 antibody concentration (P<0,001) by the 1st month post vaccination was observed. The percentage of BMT children mounted an anti-PRP-IgG response >1μg/ml (associated with long term protection) was 83% (33/38). The booster doses further increased the anti-PRP-IgG, anti-PRP-IgG1 and anti-PRP-IgG2 antibody concentration (P<0,005) and the percentage of BMT children with anti-PRP-IgG antibody concentration >1μg/ml was raised to 100%. In all circumstances, the dominant isotype was IgG1 indicating that after the conjugation with Tetanus Toxoid, the polysaccharide PRP propagates a thymus-dependent immune response. In addition, the increase of anti-PRP-IgG (P<0,01) avidity further support the thymus-depended nature of the vaccine and denotes that B cells are submitted to antibody maturation, a process strongly related to immunological memory.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΣΤΙΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΤΟΥ DNA ΥΓΙΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Βισβάρδης Ε.Ε.[1], Χαβελές Κ.Σ. [1], Παταργιάς Θ.[2], Μαργαρίτης Λ.Χ.[2], Σοφιανοπούλου Β. [1] και Ε.Γ. Σιδέρης[1]

[1]ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Ινστιτούτο Βιολογίας, Αγία Παρασκευή, Αττική 15310
[2]Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784

Στη παρούσα εργασία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα διερεύνησης της απόκρισης στις οξειδωτικές βλάβες του DNA (γ-ακτινοβολία, H_2O_2) απομονωμένων υγιών ανθρωπίνων λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος. Η μελέτη της επαγωγής οξειδωτικών βλαβών του DNA και επιδιόρθωσής των πραγματοποιήθηκε με τη χρήση των ηλεκτροφορήσεων παλμικού πεδίου και μεμονωμένων κυττάρων με απαραίτητες προσαρμογές για την ανίχνευση μονοκλωνικών και αλκαλοευαίσθητων θραύσεων του DNA. Η επαγωγή απόπτωσης στο εξεταζόμενο σύστημα μελέτης διερευνήθηκε και χαρακτηρίστηκε σε επίπεδο αλλαγής της συμμετρίας της κυτταρικής μεμβράνης, ενεργοποίησης των αποπτωτικών πρωτεασών και ενδονουκλεασών καθώς και συσσώρευσης της πρωτεΐνης p53. Ο διαφορετικός τρόπος δράσης των δύο οξειδωτικών παραγόντων και η διαφορετική απόκριση της κυτταρικής αντιοξειδωτικής άμυνας φαίνεται τόσο στη ποσότητα όσο και στο είδος-κατανομή των μοριακών βαρών των οξειδωτικών θραύσεων του DNA. Παρατηρήθηκε σημαντική επιδιόρθωση των επαγόμενων βλαβών μετά από 4 h επώασης των κυττάρων σε πλήρες θρεπτικό υλικό. Επιπλέον παρατηρήθηκε σημαντική επαγωγή απόπτωσης, το ποσοστό εμφάνισης της οποίας παρουσιάζει δοσοεξάρτηση και με τους δύο παράγοντες και συσχετίζεται με το ποσοστό επιδιόρθωσης των οξειδωτικών βλαβών και το διαφορετικό τρόπο δράσης των δύο οξειδωτικών παραγόντων. Επίδραση μιτογονικού ερεθίσματος (φυτοαιμαγλουτινίνη), γλουταθειόνης καθώς και ο εμπλουτισμός με δεσοξυριβονουκλεοτίδια δεν αναστέλλει την επαγωγή του φαινομένου της απόπτωσης στα εν λόγω κύτταρα.

ANALYSIS OF THE RESPONSE TO OXIDATIVE DNA DAMAGE IN HELTHY-DONOR PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES

Visvardis E.E.[1], Haveles K.S.[1], Pataryas Th.[2], Margaritis L.H.[2], Sophianopoulou V. [1] & E.G. Sideris[1]

[1]NCSR "Demokritos", Institute of Biology, Aghia Paraskevi, Attiki, 15310
[2]University of Athens, Department of Biology, Panepistimiopolis, Athens, 15701

In this study, we present experimental data in an attempt to elucidate the response of isolated healthy-donor peripheral blood lymphocytes to oxidative DNA damage induction (γ-rays, H_2O_2 exposure). Oxidative DNA strand breakage induction (single-strand breaks and alkali-labile sites) and repair was followed using modified Single-Cell Gel Electrophoresis and Pulsed Field Gel Electrophoresis. The induction of apoptosis in the used experimental cell system was investigated utilizing specialized assays for the verification of changes in cell morphology and loss of membrane symmetry, activation of apoptotic proteases and endonucleases and accumulation of the p53 protein. The different mode of action of the two oxidizing agents and the differential cellular antioxidant response are possibly responsible for the different quantitative and qualitative distribution of the induced oxidative DNA damage observed. A significant repair of the induced DNA breakage was observed at 4 h of post-exposure incubation in complete media. Additionally, a significant percentage of cells revealed typical apoptotic features after exposure to the oxidizing agents. The level of the induced apoptosis is shown to be dose-responsive, and is related to both the repair efficiency and the different mode of oxidative DNA damage induction. Exposure to mitogenic stimuli (phytohemagglutin), glutathione as well as deoxyribonucleoside enrichment, after oxidative DNA damage induction, is not blocking or reversing the induction of cell death in the experimental cell system.

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΟΥ ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΩΝ

Βλάσση Μ.

Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε "Δημόκριτος", 15310 Αγ. Παρασκευή Αττικής

Από το Φθινόπωρο του 1998 λειτουργούν στο ΕΚΕΦΕ "Δημόκριτος" οι δύο εργαστηριακές μονάδες του «*Κέντρου Κρυσταλλογραφίας Μακρομορίων*» (ΚΚΜ) το οποίο περιλαμβάνει:

- Πλήρες σύστημα περίθλασης ακτίνων-Χ κατάλληλο για συλλογή κρυσταλλογραφικών δεδομένων μακρομορίων που αποτελείται από: πηγή ακτίνων-Χ του τύπου Rigaku RU-H3R Rotating Anode (18kW) εξοπλισμένη με σύστημα εστίασης διπλών καθρεπτών MSC/Yale και ανιχνευτή τύπου R-AXIS IV Imaging Plate προσαρτημένο σε βραχίονα επέκτασης της γωνίας σκέδασης 2θ.
- Φασματοπολωσίμετρο κυκλικού διχρωϊσμού τύπου JASCO J-715 στα 165-900nm με αυτοματοποιημένο σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας τύπου Peltier.

Το ΚΚΜ χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα ΕΠΕΤ ΙΙ (Υποπρόγραμμα 3- Υποδομή Ερευνητικών Κέντρων, 11/1996) της Γενικής Γραμματείας Έρευνας και Τεχνολογίας και λειτουργεί στα πλαίσια δικτύου των παρακάτω ερευνητικών-ακαδημαϊκών φορέων: 1) Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Ινστιτούτα Φυσικοχημείας, Βιολογίας, Ραδιοϊσοτόπων Ραδιοδιαγωστικών Προϊόντων, 2) Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομείς Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής και Βιοχημείας & Μοριακής Βιολογίας, 3) Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, 4) Εθνικό Ιδρυμα Ερευνών, Ινστιτούτο Βιολογικών Ερευνών και Βιοτεχνολογίας, 5) Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Τμήμα Βιοχημείας, 6) Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Χημείας, Τομέας Χημικών Εφαρμογών, Χημικής Ανάλυσης & Χημείας Περιβάλλοντος και 7) Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Φυσικής, Τομέας Εφαρμογών Φυσικής & Φυσικής Περιβάλλοντος.
Για περισσότερες πληροφορίες παρακαλώ απευθυνθείτε στη διεύθυνση:

http://raxis.bio.demokritos.gr/index.html

PRESENTATION OF THE CENTRE FOR CRYSTALLO-GRAPHIC STUDIES OF MACROMOLECULES

Vlassi M.

Institute of Biology, N.C.S.R "Demokritos", 15310 Ag. Paraskevi, Athens.

A Centre for Crystallographic studies of Macromolecules (C.C.M) is working since September 1998 in the National Centre for Scientific Research "Demokritos" and comprises:

- A state-of-the art X-Ray Diffraction System appropriate for crystallographic studies of macromolecules which consists of a Rigaku RU-H3R Rotating Anode X-Ray generator (working at 18kW) with an MSC/Yale double mirror focusing system and a Rigaku R-AXIS IV Imaging Plate Detector fitted with a 2θ-extension arm and
- A Circular Dichroism JASCO J-715 Spectropolarimeter with a wavelength range of 165-900nm and a Peltier type temperature control system.

The C.C.M has been financed by the General Secretariat for Research and Technology (Program E.P.E.T II) and is part of a network comprising the following research laboratories: 1) N.C.S.R "Demokritos", Institutes of Physical-Chemistry, Biology and Radioisotopes & Radiodiagnostic Products, 2) University of Athens, Department of Biology, Divisions of Cell Biology & Biophysics and of Biochemistry & Molecular Biology, 3) Agricultural University of Athens, Department of Agricultural Biotechnology, 4) National Hellenic Research Foundation, Institute of Biological Research & Biotechnology, 5) Hellenic Pasteur Institute, Department of Biochemistry, 6) University of Patras, Department of Chemistry, Section of Analytical, Environmental & Applied Chemistry and 7) University of Thessaloniki, Department of Physics, Laboratory of Applied Physics.

For more informations please address to site:

http://raxis.bio.demokritos.gr/index.html

ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΑ ΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΜΕΤΑ ΤΗ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Βλάχου Τ., Κοντρογιάννη Κ. & Κ.Ν. Φλυντζάνης

Department of Cell Biology, Baylor College of Medicine, and Kerckhof Marine Laboratory, California Institute of Technology, USA

Οι μεταγραφικοί παράγοντες SpCOUP-TF και SpSHR2 του αχινού είναι μοναχικά μέλη της υπεροικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων. Προηγούμενα αποτελέσματα του εργαστηρίου μας έδειξαν ότι μέσα στο αβγό εντοπίζονται μετάγραφα του SpCOUP-TF τα οποία είναι ασύμμετρα κατανεμημένα μέσα στα πρώιμα βλαστομερίδια (Vlahou et al., 1996). Ανοσοϊστοχημική ανάλυση δείχνει ότι ο SpCOUP-TF είναι μια πρωτεΐνη μητρικής προέλευσης που ευρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του αγονιμοποίητου αβγού. Κατά τη διάρκεια της ταχείας διαίρεσης των εμβρυϊκών κυττάρων ο SpCOUP-TF φαίνεται να παλινδρομεί από την περιφέρεια του μεσοφασικού πυρήνα προς τα συμπυκνωμένα μιτωτικά χρωμοσώματα, με τρόπο που εξαρτάται από τον κυτταρικό κύκλο.
Διερευνήθηκε η υποκυτταρική θέση του σημασμένου με το myc ανθρώπινου υποδοχέα COUP-TF I, ο οποίος εισήχθη μέσα στο έμβρυο του αχινού με ένεση RNA σε γονιμοποιημένα αβγά. Το πρότυπο του υποκυτταρικού εντοπισμού του ανθρώπινου COUP-TF I, όπως αποκαλύφθηκε από ένα μονοκλωνικό myc αντίσωμα, ανακεφαλαίωνε τα ουσιώδη χαρακτηριστικά της κυκλοφορίας του ενδογενούς SpCOUP-TF.
Ανάλυση μεταλλαγμένων COUP-TF/GFP πρωτεϊνών σύντηξης δείχνει ότι, η επικράτεια που συνδέει το DNA είναι αναγκαία αλλά όχι ικανή για την συγκέντρωση των μιτωτικών χρωμοσωμάτων, και ότι η προσθήκη του καρβοξυτελικού άκρου στην επικράτεια που συνδέει το DNA δημιουργεί ένα μόριο με τη χαρακτηριστική θέση του ενδογενούς υποδοχέα.
Μέχρι τώρα έχουν χαρακτηρισθεί δύο διάκριτες ισομορφές του SpSHR2 οι οποίες δημιουργούνται από διαφορετική συρραφή που γίνεται μέσα στην επικράτεια δέσμευσης του συνδεόμενου (Kontrogianni-Konstantopoulos et al., 1996; 1998).
Μικροένεση σε αβγά του *S. Purpuratus* των δύο σημασμένων με myc ισομορφών του SpSHR2 αποκαλύπτει ότι ο ακέραιος, εξωγενής υποδοχέας εκφράζει το ίδιο πρότυπο κατανομής όπως και η ενδογενής πρωτεΐνη.
Αντιθέτως, η συρραμένη ισομορφή η οποία στερείται της LBD περιορίζεται στους εμβρυϊκούς πυρήνες. Επί πλέον, διερευνήθηκε και η ενδοκυτταρική κατανομή των δύο «ακρωτηριασμένων» ισομορφών του υποδοχέα, που φέρουν έλλειψη είτε στην επικράτεια που συνδέει το DNA, είτε στην καρβοξυτελική F-επικράτεια. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο υποδοχέας που έχει άθικτη την LBD ευρίσκεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα των ώριμων εμβρύων, ενώ η ισομορφή που στερείται της LBD εντοπίζεται στον πυρήνα. Θα συζητηθεί ένα μοντέλο περί της πιθανής λειτουργίας αυτών των υποδοχέων στο έμβρυο.

INTRACELLULAR MOBILIZATION OF NUCLEAR RECEPTORS FOLLOWING FERTILIZATION

Vlahou T., Kontrogianni K. & C.N. Flytzanis

Dept. of Cell Biology, Baylor College of Medicine and Kerckhoff Marine laboratory, California Institute of Technology, USA.

The sea urchin transcription factors SpCOUP-TF and SpSHR2 are orphan members of the nuclear receptor superfamily. 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). Immunohistochemical analysis suggests that SpCOUP-TF is a maternal protein residing in the cytoplasm of the unfertilized egg. During the rapid embryonic cell division, SpCOUP-TF was found to shuttle from the interphase nuclear periphery to the condensed chromosomes in mitosis, in a cell cycle- dependent manner. The subcellular localization of myc-tagged human COUP-TF I introduced into the sea urchin embryo by RNA injection of fertilized eggs was examined. The pattern of human COUP-TF I subcellular localization, detected with a monoclonal myc antibody, recapitulated the essential features described for the endogenous SpCOUP-TF trafficking. Analysis of mutant COUP-TF/GFP fusion proteins, suggests that the DNA binding domain is necessary but not sufficient for mitotic chromosome association and that the addition of the C- terminus to the DNA binding domain results in a molecule with the characteristic localization of the endogenous receptor. Two distinct SpSHR2 isoforms have been characterized so far, resulting from an alternative splicing event that occurs in the SpSHR2 ligand binding domain (Kontrogianni-Konstantopoulos et al., 1996 and 1998).

Microinjection of the two myc-tagged SpSHR2 isoforms in S. Purpuratus eggs, revealed that the full length exogenous receptor exhibits a similar distribution pattern as the endogenous protein. On the contrary, the spliced isoform which lacks the LBD is confined in the embryonic nuclei. The intracellular distribution of two truncated receptor isoforms, carrying either a deletion in the DNA Binding Domain (DP) or the C- terminal F-domain (DF), was also investigated. The results suggest that the receptor with intact LBD is mostly cytoplasmic in late embryos, whereas the isoform that lacks the LBD is nuclear. A model that proposes an embryonic function for these receptors will be discussed.

Η ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Βοργιάς Κ.Ε. και Ε. Χριστοδούλου

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Εργαστήριο Βιοχημείας

Ένα από τα πλέον μοντέρνα αλλά και πολύπλοκα προβλήματα της σύγχρονης δομικής βιολογίας είναι η διαλεύκανση των μηχανισμών που είναι υπεύθυνοι για τη σταθερότητα των πρωτεϊνών σε ακραίες συνθήκες. Ακραίες συνθήκες είναι αυτές που απέχουν σημαντικά από τις ανθρωποκεντρικά παραδεκτές φυσιολογικές συνθήκες, όπως υψηλές θερμοκρασίες που πολλές φορές είναι πάνω από το σημείο βρασμού του νερού ή χαμηλές θερμοκρασίες που πλησιάζουν το σημείο πήξης του νερού. Στην ευρύτερη έννοια, ακραίες συνθήκες είναι επίσης υψηλή αλατότητα, ακραία pH και υψηλή πίεση. Το ερώτημα που τίθεται είναι απλό αλλά και πολύπλοκο. Ποιους μηχανισμούς χρησιμοποιούν οι οργανισμοί και κατ' επέκταση οι πρωτεΐνες τους, ώστε να επιβιώνουν σε τέτοια ακραία περιβάλλοντα. Η θερμοσταθερότητα των πρωτεϊνών μπορεί να μελετηθεί με διάφορους τρόπους, όπως η χρήση φασματοσκοπικών μεθόδων (κυκλικού διχρωισμού, υπερέρυθρου, φθορισμού κτλ), θερμιδομετρικών μεθόδων αλλά και απλών βιοχημικών μεθόδων όπως η μελέτη ενζυμικής ενεργότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες και η χρήση ειδικών διατάξεων ηλεκτροφόρησης πηκτώματος πολυακρυλαμίδης. Παράλληλα με τις εργαστηριακές μεθόδους, η χρήση υπολογιστών και η συστηματική σύγκριση των αλληλουχιών πρωτεϊνών σε επίπεδο πρωτοταγούς δομής και στερεοδομής που εμφανίζουν ενδιαφέρον ως προς τη θερμοσταθερότητά τους, έχει προσφέρει σημαντικές πληροφορίες που μας βοηθούν στο να κατανοήσουμε, εξηγήσουμε και προβλέψουμε τις δομικές ιδιότητες των πρωτεϊνών που σχετίζονται με τη θερμοσταθερότητά τους.

THE MOLECULAR BASIS OF PROTEIN THERMOSTABILITY

Vorgias C.E. & E. Christodoulou

National and Kapodistrian University of Athens, School of Natural Sciences, Faculty of Biology, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Biochemistry Laboratory

One of the modern and complicated problems of the contemporary structural biology is the elucidation of the mechanisms which are responsible for the thermal stability of protein molecules at extreme environments. Extreme environments, from the anthropocentric point of view, are high temperatures, sometimes very close or above the boiling point of water or low temperatures which are reaching the freezing point of water. In a more wide respect, extreme conditions are also high salinity, extreme pH (acid or basic) and high pressure. The question which is raised is very simple and simultaneously very complicated. Which mechanism use the organisms in order to survive in such extreme environments. Particularly, how are the proteins constructed to be able to survive and function under those conditions. Protein thermostability can be studied using various approaches like the use of spectrophotometrical methods (like circular dichroism, infrared, fluerescens etc.), calorimetric methods but also wet laboratory biochemical methods like the measure of enzymatic activity at various temperatures, the use of special gel electrophoresis systems on polyacrylamides. Biocomputing has also been heavily involved in terms of primary, secondary etc. protein structure comparisons, protein modeling, protein prediction etc. To study the thermostability of various proteins there are also several limitations. Among others the major are: (a) the production of high amounts of protein using recombination technology, (b) the reversibility of the protein unfolding and (c) the availability of structural information.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΠΟΜΠΕΣΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΓΑΣΤΡΙ-ΝΗΣ ΣΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΠΑΧΕΟΣ ΕΝΤΕΡΟΥ ΚΑΙ ΣΕ ΗΠΑΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΧΡΥΣΟΥ

Γαβριήλ-Barry Α., Σερέτη-Λιλικάκη Ε.Χ., Αγνάντη Ν.Ι., Γολεμάτης Β.Χ. & Ε.Ε. Βολουδάκη-Μπαλτατζή

Τμήμα Ηλεκτρ. Μικροσκοπίας, Ερευν. Κέντρο Ογκολ.«Γ. Παπανικολάου», Νοσ. «Άγ. Σάββας», Λ. Αλεξάνδρας 171, 11522 Αθήνα

Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη της εντόπισης και κατανομής των πολυπεπτιδίων μπομπεσίνης και γαστρίνης, σε 30 πρωτοπαθή αδενο-καρκινώματα παχέος εντέρου και σε 25 ηπατικές μεταστάσεις αδενοκαρκινωμάτων. Η μελέτη έγινε με την μέθοδο της Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, και τη μέθοδο του ανοσοχρυσού, χρησιμοποιώντας τα μονοκλωνικά αντισώματα της γαστρίνης και της μπομπεσίνης. Η παρατήρηση έγινε σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διελεύσεως (TEM) PHILIPS CM100. Τα αποτελέσματα της λεπτής δομής έδειξαν ομοιότητες στα φτωχά διαφοροποιημένα πρωτοπαθή αδενοκαρκι-νώματα και στις ηπατικές μεταστάσεις, κυρίως στις αδενοειδείς δομές. Τα κύτταρα των αδενίων καταλήγουν σε αραιές και σπασμένες μικρολάχνες οι οποίες περιβάλλονται από γλυκοκαλυκοειδή κυστίδια και σχηματίζουν πλέγματα εμβόλιμων ριζών προεκβάλλοντας στο κυτταρόπλασμα. Παρατηρήθηκαν αλλαγές στα κυτταροπλασματικά οργανίδια των κυττάρων των ανωτέρω καρκινικών ιστών, σε σχέση με τα φυσιολογικά κύτταρα των αντιστοίχων ιστών. Οι σημαντικότερες αλλαγές παρατηρούνται στα μιτοχόνδρια τα οποία διογκώνονται και χάνουν τις εσωτερικές τους μεμβράνες, και στα εκκριτικά κοκκία τα οποία μειώνονται σημαντικά. Αυτές οι αλλαγές γίνονται εντονότερες με την αύξηση της κακοήθειας κατά στάδιο A, B, C, D DUKES και στις ηπατικές μεταστάσεις. Στους πρωτογενείς ιστούς του παχέος εντέρου η μπομπεσίνη εντοπίζεται στα εκκριτικά κοκκία των εκκριτικών κυττάρων, εντονότερα στα στάδια A και B συγκριτικά με τα στάδια C και D κατά DUKES. Επίσης στις ηπατικές μεταστάσεις, η μπομπεσίνη εντοπίζεται στα εκκριτικά κοκκία των μεταστατικών κυττάρων. Το ποσοστό της εντόπισης (ανοσοαντίδρασης) της μπομπεσίνης στα πρωτοπαθή αδενοκαρκινώματα των σταδίων A και B είναι 65%, στα C και D είναι 50% ενώ στις ηπατικές μεταστάσεις η θετική ανοσοαντίδραση της μπομπεσίνης είναι 67,3%. Αντιθέτως η γαστρίνη εντοπίζεται στις μεμβράνες των κυττάρων που προέρχονται από πρωτογενή αδενοκαρκινώματα, μόνο στα στάδια C και D κατά DUKES σε ποσοστό 32,5% των ιστών. Στις ηπατικές μεταστάσεις η ανοσοαντίδραση φαίνεται στις μεμβράνες των αντιστοίχων κυττάρων σε μικρότερο ποσοστό, 25.9%, απ' ότι των πρωτογενών αδενοκαρκι-νωμάτων. Συμπερασματικά βλέπουμε ότι με τη μέθοδο της Ηλ. Μικροσκοπίας έχουμε τη δυνατότητα να μελετήσουμε τις δομικές αλλαγές των καρκινικών κυττάρων, παχέος εντέρου και ήπατος οι οποίες δικαιολογούν τα ευρήματα της ανοσοϊστοχημείας, όπως είναι η καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης που έχει άμεση σχέση με την εμφάνιση της γαστρίνης. Η δε έκκριση της μπομπεσίνης που έχει σχέση με τις αλλαγές στα εκκριτικά κοκκία των νεοπλασματικών κυττάρων. Πιστεύουμε ότι αυτή η έρευνα μπορεί να βοηθήσει

μελλοντικά στην καλύτερη διάγνωση και αντιμετώπιση του καρκίνου του παχέος εντέρου και των μεταστάσεων του στο ήπαρ.

COMPARATIVE STUDY OF BOMBESIN AND GASTRIN IN PRIMARY LARGE INTESTINE ADENOCARCINOMA AND LIVER METASTASES. USING THE IMMUNOGOLD METHOD.

Gavriel-Barry A., Sereti-Lilikakis E.Ch., Agnantis N.J., Golematis B.Ch. & I. E. Voloudakis-Baltatzis

Dept. of Electron Microscopy, Research Center of Oncology, Saint Savas Hospital, 171 Alexandras Ave., 11522 Athens.

The purpose of this paper is the study of the expression and the distribution of the bombesin and gastrin polypeptides from 30 primary large intestinal adenocarcinoma and 25 liver metastatic adenocarcinoma by the electron microscopy method and the electron gold method. We used the bombesin and gastrin monoclonal antibodies. Observations were carried out by Philips CM100 transmission electron microscope. The ultrastructural results showed similarities in low differentiation primary adenocarcinomas and liver metastatic adenocarcinoma, mainly in their glanular structure. The glanular cells are determinated by the reduced and spaced microvilli, which were surrounded by glycocalyceal vesicles, and they made one core rootlet in the cytoplasm. Changes were observed in the cytoplasmic organelles of the above neoplastic cells in contrary to the above normal cells. The most important changes were noted in the mitochondria which were swollen and they had lost their internal cristae and in the secretory granules which were strongly reduced. The strength of these changes were noted, depending upon increasing malignance by DUKES stages A,B,C and D as well as in the liver metastatic adenocarcinomas. In the primary large intestinal tissues the bombesin noted on the secretory granules of the secretory cells was stronger in stages A and B in contrast with stages C and D. Also in liver metastatic adenocarcinoma bombesin, was noted in the secretory granules of the secretory cells. The bombesin in primary large intestinal immunoreactions 65% in A and B stages and 50% in C and D while in liver metastatic adenocarci-noma the bombesin immunoreaction is 67,3% of the total tissues. In contrast the gastrin immunoreaction on the cell membranes from primary adenocarcinoma by DUKES stages C and D, was only 32,5% of the total cases. The immunoreactivity in liver metastatic tissues observed on cell membrane was 25,9%, lower than primary adenocarcinomas. In conclusion we observed that with the EM method, we can know the ultrastructure changes of the primary large intestinal adenocarcinomas and the liver metastatic adenocarcinomas. These changes are the destruction of the cell membrane which has immediate relation to the presence of gastrin. The secretion of bombesin is related to the changes in the secretory granules of the neoplasmatic cells. We believe that this research could help in the future

in the better diagnosis and treatment of large intestinal adenocarcinoma and the liver metastatic adenocarcinoma.

ΕΤΕΡΟΛΟΓΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΩΝ ΦΩΣΦΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ P0, P1 ΚΑΙ P2 ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΜΥΓΑΣ *Ceratitis capitata* ΣΤΟ ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΑ *Saccharomyces cerevisiae*

Γάγκου Μ.Ε., Rodriguez-Gabriel M.A., Ballesta J.P.G. και Σ. Κουγιανού-Κουτσούκου

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784

Ο μίσχος του ευκαρυωτικού ριβοσώματος αποτελείται από μια ομάδα φωσφοπρωτεϊνών P1, P2 και P0, οι οποίες αλληλεπιδρούν με τους παράγοντες επιμήκυνσης και ρυθμίζουν την ενεργότητα των ριβοσωμάτων. Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της έκφρασης των γονιδίων των ριβοσωμικών P-πρωτεϊνών της μεσογειακής μύγας *C. capitata* στο ζυμομύκητα *S. cerevisiae*. Για το σκοπό αυτό, οι κωδικές περιοχές των γονιδίων CcP0, CcP1 και CcP2 εισήχθησαν σε κατάλληλους πλασμιδιακούς φορείς, υπό τον έλεγχο των 5' και 3' ρυθμιστικών περιοχών των ομόλογων γονιδίων του *S. cerevisiae*. Οι κατασκευές αυτές χρησιμοποιήθηκαν για το μετασχηματισμό των κατά συνθήκη μεταλλαγμένων -ως προς το γονίδιο P0- στελεχών W_{303}dGP0 και D_{67}dGP0 του ζυμομύκητα. Στο στέλεχος D_{67}dGP0 είχαν επιπλέον αδρανοποιηθεί και τα γονίδια των όξινων πρωτεϊνών YP1a και YP1b του ζυμομύκητα. Η έκφραση των τριών γονιδίων της *C. capitata* αποκατέστησε τη βιωσιμότητα των στελεχών σε περιοριστικές συνθήκες ανάπτυξης. Η πρωτείνη CcP0 αντικαθιστούσε λειτουργικά την ενδογενή πρωτείνη YP0 και προσδενόταν σταθερά στο ριβόσωμα του ζυμομύκητα, αλληλεπιδρώντας και με τις 4 ενδογενείς όξινες πρωτείνες (YP1a, YP1b, YP2a και YP2b). Οι πρωτείνες CcP1 και CcP2 του εντόμου αντικαθιστούσαν τις ενδογενείς πρωτείνες YP1a και YP2a, αντίστοιχα. Η έκφραση των ετερόλογων πρωτεϊνών δεν ειχε πολύ μεγάλη επίδραση στο ρυθμό ανάπτυξης των στελεχών W_{303}dGP0, που ήταν κάπως μικρότερος από αυτόν του φυσικού τύπου. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασαν τα στελέχη D_{67}dGP0, τα οποία μετά το μετασχηματισμό τους με το γονίδιο CcP0, είτε μόνο του είτε μαζί με CcP2, αναπτύσσονταν σε υγρή καλλιέργεια, μόνο υπό αναερόβιες συνθήκες.

HETEROLOGOUS EXPRESSION OF THE RIBOSOMAL PHOSPHO-PROTEINS P0, P1 AND P2 OF THE MEDFLY *Ceratitis capitata* IN THE YEAST *Saccharomyces cerevisiae*

Gagou M.E., Rodriguez-Gabriel M.A., Ballesta J.P.G. & S. Kouyanou-Koutsoukou

University of Athens, Department of Biology, Division of Genetics and Biotechnology, Panepistimiopolis, Athens 15784

The stalk of the eucaryotic ribosomes consists of a set of phosphoproteins, P0, P1 and P2, that interact with the elongation factors and regulate the ribosomal activity during protein synthesis. We present here the results of the expression of the ribosomal P-proteins of the medfly *Ceratitis capitata* in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. For this reason, the coding regions of the genes CcP0, CcP1 and CcP2 of *C. capitata* were introduced into appropriate plasmid vectors, under the control of the 5' and 3' regulatory regions of the homologous genes of *S. cerevisiae*. These constructs were used for the transformation of the conditional P0 protein-null strains W_{303}dGP0 and D_{67}dGP0 of *S. cerevisiae.* The yeast strain D_{67}dGP0 was also deficient for the acidic proteins YP1a and YP1b. The expression of the three genes of *C. capitata* restored the viability of the mutant strains under restrictive conditions. The CcP0 protein replaced the endogenous yeast protein YP0, binding all four endogenous acidic proteins (YP1a, YP1b, YP2a, YP2b). The acidic proteins CcP1 and CcP2 of the medfly replaced the endogenous yeast proteins YP1a and YP2a, respectively. The expression of the heterologous proteins seemed not to affect greatly the growth rate of the strains W_{303}dGP0, that was slightly slower than the normal. Interestingly, the strains D_{67}dGP0 were able to grow in liquid culture, only in anaerobic conditions, when transformed either with the CcP0 gene, or with the CcP0 and the CcP2 genes.

ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΠΛΟΕΙΔΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ *Taxus baccata*

Γαζής Φ. και Π. Χατζόπουλος

Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα

Η κυτταροκαλλιέργεια του ***Taxus baccata*** αποτελεί εναλλακτική μέθοδο παραγωγής με βιοτεχνολογική εφαρμογή, της ουσίας taxol η οποία χρησιμοποιείται στην χημειοθεραπεία καρκίνου. Οι συνθήκες επαγωγής και ανάπτυξης κάλλου και η εγκατάσταση κυτταροκαλλιεργειών από ιστούς *Taxus baccata* καθορίστηκαν. Ως θρεπτικό υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε το διάλυμα B5 Gamborg με 20 gr/l σακχαρόζη. Ως ρυθμιστές ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκαν 2,4-D και BAP σε συνδυασμό ή ξεχωριστά σε συγκεντώσεις 1-2 mg /l. Μία τροποποίηση του B5 όπου το NH_4NO_3 εξέλειπε, η συγκέντρωση του KNO_3 ελαττώθηκε κατά 25 φορές και προστέθηκαν γλουταμίνη και καζείνη έδωσε επίσης θετικά αποτελέσματα. Έκφυτα από ποικίλους ιστούς όπως φύλλα, αρσενικοί κώνοι, έμβρυα και γύρη εξετάσθηκαν. Επιτεύχθηκε επαγωγή, ανάπτυξη και αύξηση βιομάζας κάλλου από όλα τα είδη ιστών σε συνθήκες μή φωτισμού και θερμοκρασία 22 $\pm$ 1°C. Κάλλος από αρσενικούς κώνους παρουσίασε την υψηλότερη αύξηση βιομάζας στο τροποποιημένο B5. Επίσης κάλλος από έμβρυα δημιουργήθηκε μόνο σε αυτό το θρεπτικό. Ως ρυθμιστές ανάπτυξης στο τροποποιημένο B5 χρησιμοποιήθηκαν 2 mg/l 2,4-D και 1mg/l BAP. Προστέθηκαν ακόμα 1.45gr/l γλουταμίνη και 0.5gr/l καζείνη. Κάλλος από φύλλα δημιουργήθηκε σε βασικό B5 με 1 mg/l 2,4-D και 2gr/l καζείνη. Ο κάλλος σκουραίνει και παύει να αυξάνεται μετά από ένα-δύο κύκλους ανακαλλιέργειας. Αργότερα επιλέγονται από τον σκούρο ιστό λευκοκίτρινες μάζες κυττάρων με βελτιωμένη ανάπτυξη. Προκαταρκτικά αποτελέσματα έχουν δείξει ότι γενετικά απλοειδείς καλλιέργειες κάλλου από γύρη, έχουν επαχθεί και διατηρηθεί και στους δύο τύπους B5 (τροποποιημένο ή μη). Προσπάθειες δημιουργίας κυτταροκαλλιεργειών έδωσαν ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη κυτταροκαλλιέργειας από κάλλο προερχόμενο από αρσενικούς κώνους. Το θρεπτικό ήταν B5 με την συγκέντρωση των βιταμινών 3 φορές υψηλότερη, 2mg/l 2,4-D και 2 gr/l καζείνη.

CALLUS FORMATION AND HAPLOID CELL CULTURE OF *Taxus baccata*

Gazis F. & P. Hatzopoulos

Laboratory of Molecular Biology, Agricultural University of Athens, Iera odos 75, 118 55 Athens, Greece.

Cell culture of *Taxus* represents a potential alternative source and biotechnological application of the drug taxol used in cancer chemotherapy. Conditions have been established for the formation of callus and suspension cultures of *Taxus baccata*. The basal medium was Gamborg's B 5 with 20 gr/l sucrose. The plant growth regulators 2,4-D and BAP in combination or alone in the range 1-2 mg/l were added . A modification of B5 medium was also used, where NH_4NO_3 was eliminated, the concentration of KNO_3 was reduced 25 times, and various forms of organic nitrogen were added (casein, glutamine).

Explants from various plant tissues such as leaves, sporophylls of male cones, pollen sacs and embryos were tested for induction. Induction and continuous growth *in vitro* of cultures from these tissues has been established on solidified media described above in dark and at 22 $\pm$ 1° C.

Callus derived from the sporophylls of the male cones on the modified medium displayed the best growth of biomass among the different tissues tested. This modified medium was also the only one on which callus cell lines from zygotic embryos were established. The couple of auxin/ cytokinin used was 2,4-D 2mg/l and BAP 1mg/l. Also it was added 2 gr/l casein and 1.45 gr/l glutamine. Callus from leaves was induced on B 5 with 1mg/l 2,4-D and 2gr/l casein. This tissue darkens and ceases growth following one or two cycles of subculture. Later it is possible to select from the brown callus white-yellow cell aggregates with improved growth. Preliminary results showed that haploid cell lines have been induced from pollen sacs and maintained on both types of media (modified or not). Trials of creating suspension cultures from these four types of callus tissue are under investigation. Preliminary results have shown growth of a suspension culture derived from callus from sporangia on a liquid B 5 medium where the vitamins were 3 times higher compared to the basal medium the concentration of 2,4-D was 2mg/l and casein was added at 2gr/l.

Η ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΣΑΥΡΑΣ *P.erhardii* (SAURIA : LACERTIDAE) ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Γερμανού Α., Παφίλης Π. και Ε.Δ. Βαλάκος

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Πανεπιστημιόπολη, 15784 Αθήνα

Η *P.erhardii* είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα είδη της οικογένειας Lacertidae στον Ελλαδικό χώρο. Πρόκειται για μια μεσαίου μεγέθους σαύρα έως 5,5cm, από τη μύτη έως την αμάρα (SVL), ενώ το μήκος της ουράς είναι διπλάσιο από αυτό. Αν και η κατανομή του είδους παρουσιάζεται στη Νότια Βαλκανική χερσόνησο είναι πολύ κοινό στα νησιά του Κεντρικού και Νότιου Αιγαίου, πολύ σπάνιο στην Κρήτη και σπάνιο στη στεριά. Μελετήσαμε την αναπαραγωγή της *P. erhardii* σε στεριανούς και νησιωτικούς πληθυσμούς.
Η αναπαραγωγική περίοδος διαρκεί από τις αρχές της Άνοιξης έως το τέλος του καλοκαιριού, ενώ φαίνεται ότι στους νησιωτικούς πληθυσμούς το εύρος της είναι μεγαλύτερο. Ο αναπαραγωγικός κύκλος των αρσενικών είναι ο τυπικός των σαυρών της εύκρατης ζώνης. Οι όρχεις είναι μεγαλύτεροι την Άνοιξη και το μέγεθός τους αρχίζει να μειώνεται στα μέσα του καλοκαιριού. Τα ωαγωγικά αυγά πρωτοεμφανίζονται στις αρχές της Άνοιξης στους νησιωτικούς πληθυσμούς και η παρουσία τους διαρκεί ως το τέλος του καλοκαιριού. Η αντίστοιχη περίοδος για τους στεριανούς είναι από την Άνοιξη έως περίπου τον Ιούλιο. Το μέγεθος της γέννας είναι γύρω στα τρία αυγά τη φορά. Υπάρχει μεγάλος συσχετισμός ανάμεσα στον αριθμό των αυγών και στο μέγεθος του σώματος των θηλυκών.
Το μέγεθος της γέννας παρουσιάζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το SVL, τόσο στους νησιωτικούς όσο και στους στεριανούς πληθυσμούς. Αντίθετα, δεν φαίνεται να υπάρχει συσχετισμός ανάμεσα στο SVL και στο μέσο όγκο αυγού. Τελικά, οι διαφορές ανάμεσα στους νησιωτικούς και τους στεριανούς πληθυσμούς είναι υπό συζήτηση.

THE REPRODUCTION OF THE LIZARD *P. erhardii* (SAURIA: LACERTIDAE) IN GREECE

Germanou A., Pafilis P. & E.D. Valakos

University of Athens, School of Biology, Dept. of Animal and Human Physiolgy, GR 157 84 Panepistimiopolis, Athens, Ellas
Email: evalakos@biology.db.uoa.gr

The erhard's wall lizard *Podarcis erhardii* is one of the most widespread lacertid lizards in the Greek area. It is a medium size lizard up to 5.5 cm from snout to vent and with tail twice as long .Though the species is distributed in South Balkan peninsula is very common in the islands of Central and south Aegean , very rare in Crete Island and rare in mainland. We studied the reproduction of *Podarcis erhardii* from mainland and island populations. All the examined specimens belong to museum collections.
The reproduction period begins in spring and lasts until summer. Island populations have a longer reproductive period. The testicular cycle shows a typical pattern like the other lizards of temperate zone. Testis are larger in spring and regression begin in mid-summer. Oviductal eggs are present from the early spring until the end of the summer in the island populations and from spring to July in the mainland. The clutch size is about 3 eggs per clutch. There is a high correlation between number of eggs and size of females.
Clutch size was significant related to SVL in mainland and island populations. There is no correlation between SVL and mean egg volume.The differences between island and mainland populations are discussed.

We would like to thank Dr. W. Boehme (Bonn) who kindly allowed us to examine P. erhardii specimens from the Herpetological collection of Alexander Koening Zoological Institute and Museum in Bonn (Germany).

ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΕΜΒΡΥΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΗ *Ceratonia siliqua* L.

Γεωργίου Β., Ριζοπούλου Σ. και Στ. Διαμαντόγλου

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 157 84

Έμβρυα και κοτυληδόνες *Ceratonia siliqua* (χαρουπιάς) απομονώθηκαν σε άσηπτες συνθήκες, από ώριμα σπέρματα νεαρών - πράσινων λοβών μήκους 15-20 cm (η συλλογή έγινε τον Απρίλιο) και καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό μέσο M.S. παρουσία 30% σουκρόζη και 5 μM BA, σε θερμοκρασία 25±1 ºC και σε 16 h φωτοπερίοδο ή στο σκοτάδι. Από τους ιστούς αυτούς προέκυψαν εμβρυογενετικοί κάλλοι. Οι κάλλοι αυτοί μεταφέρθηκαν και καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό μέσο M.S. παρουσία 30% σουκρόζης και αυξητικών ρυθμιστών (2,4-D, NAA και IBA σε συγκεντρώσεις 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 και 2,5 μM), στις ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες κι εμφάνισαν σωματικά έμβρυα, μετά από 8 εβδομάδες. Τα υψηλότερα ποσοστά σωματικής εμβρυογένεσης και η ταχύτερη εμφάνιση σωματικών εμβρύων, παρατηρήθηκαν σε καλλιέργειες με 2,4-D και NAA, σε όλες σχεδόν τις συγκεντρώσεις. Η αντίδραση των κάλλων στο IBA ήταν καθυστερημένη (περισσότερο από 4 μήνες), ενώ τόσο το ποσοστό σωματικών εμβρύων όσο και η ποιότητά τους υστερούσε σε σχέση με τ' αποτελέσματα υπό την επίδραση των αυξητικών ρυθμιστών που προαναφέρθηκαν. Από τη μεταφορά των σωματικών εμβρύων σε θρεπτικό μέσο M.S., χωρίς αυξητικούς ρυθμιστές, προέκυψε ένα πολύ μικρό ποσοστό ανάπτυξης ανώμαλων φυταρίων, είτε χωρίς ρίζα και διογκωμένο βλαστό, είτε με μεγάλη ανάπτυξη ρίζας και μηδαμινή ανάπτυξη βλαστού, ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας (σκοτάδι ή φως αντίστοιχα).

BA : Βενζυλαμινοπουρίνη, 2,4-D : 2,4-διχλωρο-φαινοξυ-οξικό οξύ
NAA : ναφθυλενο-οξικό οξύ, IBA : ινδολυλο-βουτυρικό οξύ
M.S. : Murashige- Skoog

SOMATIC EMBYOGENESIS IN *Ceratonia siliqua* L.

Georgiou V., Rhizopoulou S. & S. Diamantoglou

Section of Botany, Department of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 84

Embryogenetic callus were obtained from isolated embryos and cotyledons from *Ceratonia siliqua.* Plant tissues were placed in M.S. culture medium containing 30% sucrose and 5 μM BAP, at 25±1 °C, under 16 h photoperiod or in the darkness. The callus were transferred in M.S. culture medium, containing plant growth regulators (2,4-D, NAA and IBA in a grated series of concentration 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 μM), under the same environmental conditions; then, somatic embryos were observed after 8 weeks. The somatic embryogenesis was markedly induced, in M.S. culture medium in presence of 2,4-D and NAA, while it was inhibited and delayed in presence of IBA. Abnormal formation of plantlet has been observed, when somatic embryos were transferred in M.S. culture medium in absence of any plant growth regulators.

BAP : benzylaminopurine
2,4- D : 2,4-dichlorophenoxyacetic acid
NAA : alphanaphthalene - acetic acid
IBA : inlole -3 - butyric acid
M.S. : Murashige and Skoog.

ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΤΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΤΩΝ ΛΟΦΩΝ ΦΙΛΟΠΑΠΠΟΥ, ΠΝΥΚΑΣ ΚΑΙ ΑΣΤΕΡΟΣΚΟΠΕΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

Γιαννίτσαρος Α., Ζερβού Σ. και Ι. Μπαζός

Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής, Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 84

Η περιοχή έρευνας περιλαμβάνει τους λόφους του Φιλοπάππου, της Πνύκας και του Αστεροσκοπείου ή Νυμφών και βρίσκεται στο κέντρο της Αθήνας, δίπλα από τον αρχαιολογικό χώρο της Ακρόπολης και του Αρείου Πάγου. Πετρολογικά η περιοχή αποτελείται κυρίως από ασβεστόλιθους. Το κλίμα της είναι έντονα μεσογειακό (στοιχεία Μ.Σ. Αστεροσκοπείου, περίοδος 1976 - 1991). Από τη βιολογική ταξινόμηση του κλίματος (μέθοδος Emberger-Sauvage) προκύπτει ότι η περιοχή ανήκει στον ημίξηρο βιοκλιματικό όροφο. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η γνωστή μέχρι σήμερα χλωρίδα της περιοχής αποτελείται από 199 taxa (είδη και υποείδη). Κατά τις επισκέψεις μας (Οκτώβριος 1998 - Μάρτιος 1999) συλλέξαμε δείγματα ή σημειώσαμε την παρουσία 214 taxa αυτοφυών και καλλιεργημένων φυτών. Από αυτά τα 121 (104 αυτοφυή και 17 καλλιεργημένα) φαίνεται πως είναι νέα για την περιοχή. Έτσι σύμφωνα και με τα δεδομένα αυτά η γνωστή χλωρίδα της περιοχής αποτελείται από 320 taxa (300 αυτοφυή, 20 καλλιεργημένα). Από τα νέα για την περιοχή taxa τα πλέον ενδιαφέροντα είναι: *Andrachne telephioides* L., *Biarum tenuifolium* (L.) Schott s.l., *Convolvulus siculus* L. subsp. *siculus*, *Cosentinia vellea* (Aiton) Tod., *Crassula tillaea* Lester-Garland, *Crepis pusilla* (Sommier) Merxm., *Gynandriris sisyrinchium* (L.) Parl., *Inula verbascifolia* (Willd.) Hausskn. subsp. *methanea* (Hausskn.) Tutin, *Plantago amplexicaulis* Cav., *Romulea columnae* Sebastiani & Mauri, *Sonchus tenerrimus* L. και *Sternbergia sicula* Tineo ex Guss. Στόχος μας είναι η συνέχιση της έρευνας έτσι ώστε να προκύψει μία όσο το δυνατόν πληρέστερη εικόνα για τη χλωρίδα της περιοχής. Η προσπάθεια αυτή αποτελεί μέρος ευρύτερης έρευνας που διεξάγεται από εμάς για τη χλωρίδα του λεκανοπεδίου της Αθήνας.

CONTRIBUTION TO THE FLORA OF FILOPAPPOU, PNIKA AND ASTEROSKOPIO HILLS (ATTIKI, GREECE)

Yannitsaros A., Zervou S. & I. Bazos

Institute of Systematic Botany, Section of Ecology and Systematics, Department of Biology, University of Athens, Penepistimiopolis, Athens 157 84, Greece

The investigated area is situated in the centre of Athens next to the archeological site of Acropolis and Arios Pagos and includes the hills of Filopappou, Pnika and Asteroskopio (Nimfon). Geologically the area consists mainly of limestone. According to the Emberger-Sauvage method of classification, the area belongs to the semiarid bioclimatic stage and its climate is characterized as intense Mediterranean (data of the meteorological station of Asteroskopio (National Observatory), time period 1976-1991). The up to date known flora of the area consists as per the relative bibliography of 199 taxa (species and subspecies). During our visits (October 1998-March 1999) we have collected plant specimens or observed the presence of 214 taxa of indigenous and cultivated plants. Out of these taxa 121 (104 indigenous and 17 cultivated) seem to be new for the area. Consequently according to the above data the known flora of the area consists of 320 taxa (300 indigenous, 20 cultivated). Among the new for the area taxa, the most interesting are: *Andracnhe telephioides* L., *Biarum tenuifolium* (L.) Schot s.l., *Convolvulus siculus* L. subsp. *siculus*, *Cosentinia vellea* (Aiton) Tod., *Crassula tillaea* Lester-Garland, *Crepis pusilla* (Sommier) Merxm., *Gynandriris sisyrinchium* (L.) Parl., *Inula verbascifolia* (Willd.) Hausskn. subsp. *methanea* (Hausskn.) Tutin, *Plantago amplexicaulis* Cav., *Romulea columnae* Sebastiani & Mauri, *Sonchus tenerrimus* L. and *Sternbergia sicula* Tineo ex Guss. It is our intention to continue the investigation so that we obtain an as complete as possible account of the area's flora. Our contribution forms part of a wider investigation of the flora of Athens' basin.

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΟΛΕΟΣΙΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΚΑΡΠΟΥ

Γιαννούλια Κ. και Π. Χατζόπουλος

Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Οι καρποί της ελιάς *(Olea europaea)* συσσωρεύουν τα τριγλυκερίδια στο σαρκώδες μεσοκάρπιο και στο σπόρο τους. Τα ολεοσώματα του μεσοκαρπίου και του σπόρου έχουν παρόμοια σύσταση λιπαρών οξέων αλλά με διαφορετική λειτουργία. Τα τριγλυκερίδια των σπόρων συντελούν στην αποθήκευση ενέργειας. Τα ολεοσώματα των σπόρων αποτελούνται από τριγλυκερίδια τα οποία περιβάλλονται από μια φωσφολιπιδική μονοστιβάδα. Μέσα στη στιβάδα αυτή εντοπίζονται οι ολεοσίνες. Οι ολεοσίνες είναι μικρές αλκαλικές πρωτεΐνες και έχουν χαρακτηριστεί σε διάφορα φυτά. Ο ρόλος των ολεοσινών εικάζεται πως παρέχει: α) μια σταθεροποιητική λειτουργία των ολεοσωμάτων και β) μια πιθανή θέση δέσμευσης των λιπασών για παραγωγή ενέργειας. Στις ολεοσίνες διακρίνονται τρεις δομικά ξεχωριστές περιοχές: α) μια πολική περιοχή του Ν-άκρου β) μια κεντρική υδρόφοβη περιοχή και γ) μια αμφιπαθική περιοχή του C-άκρου. Το γονίδιο της ολεοσίνης απομονώθηκε από ελιά με τη μέθοδο του RT-PCR. Η αμινοξική αλληλουχία που προέκυψε έχει μεγάλη ομολογία με ολεοσίνες από διάφορα φυτά. Η κεντρική περιοχή της ολεοσίνης της ελιάς περιέχει τουλάχιστον μία διαμεμβρανική περιοχή και είναι υδρόφοβη. Το C-άκρο έδειξε μια αμφιπαθική διαμόρφωση. Για να προσδιοριστεί η έκφραση της ολεοσίνης κατά την ανάπτυξη του καρπού, απομονώθηκε RNA. Η ανάλυση κατά Northern έδειξε ότι συσσώρευση mRNA της ολεοσίνης ανιχνεύτηκε την 11 εβδομάδα μετά την άνθηση (ΕΜΑ) στο έμβρυο και το ενδοσπέρμιο όπου το έμβρυο είναι στο πρώιμο στάδιο της τορπίλης. Η μέγιστη συσσώρευση mRNA ολεοσίνης παρατηρείται κατά την 19 ΕΜΑ και ακολούθως φθίνει. Στα μεσοκάρπια δεν παρατηρήθηκε έκφραση της ολεοσίνης. Ανάλυση των πρωτεϊνών του μεσοκαρπίου και των σπόρων κατά Western έδειξε επίσης απουσία ολεοσίνης στα μεσοκάρπια. Συμπεραίνουμε επομένως, ότι η παρουσία των ολεοσινών ρυθμίζεται σε μεταγραφικό επίπεδο. Είναι γνωστό ότι το ΑΒΑ ρυθμίζει την έκφραση της ολεοσίνης. Δύο διαφορετικοί τύποι κάλλων ελιάς (φωτομιξοτροφικοί και ετεροτροφικοί) χρησιμοποιήθηκαν για να διερευνηθεί η έκφραση του γονιδίου της ολεοσίνης υπό κανονικές συνθήκες και υπό την επίδραση ΑΒΑ. Και στις δύο περιπτώσεις δεν παρατηρήθηκε mRNA ολεοσίνης ακόμη και όταν εφαρμόστηκε ΑΒΑ.

OLEOSIN GENE EXPRESSION DURING OLIVE FRUIT DEVELOPMENT

Giannoulia K. & P. Hatzopoulos

Laboratory of Molecular Biology, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 118 55 Athens, Greece

Olive drupes (*Olea europaea*) accumulate triacylglycerol (TAG) in the mesocarp and in their seeds. Oil bodies composition of olive mesocarp is similar to that from seed but their function is entirely different. The seed TAG is a long-term carbon storage compound. The oil bodies from the seed tissues are composed of a matrix of triacylglycerols, surrounded by a phospholipid monolayer and a set of interfacial proteins termed "oleosins". Oleosins are small alkaline proteins and have been characterised in numerous plant species. The roles of oleosins have been hypothesised to act: (i) as a stabilising function of the oil bodies and (ii) as a possible binding site, targeting lipase enzymes for energy production. Oleosins are made up of three structurally distinct domains: a) a relatively polar N-terminal region b) a central hydrophobic domain and c) an amphipathic C-terminus. Oleosin gene has been isolated from olive seeds, applying the method of RT-PCR. The deduced amino acid sequence showed similarity with oleosins from other species. The middle domain of the olive oleosin consist of at least one membrane spanning region and is hydrophobic. The C-terminus showed an amphipathic conformation. In order to determine oleosin gene expression during olive fruit development, we have isolated RNA. Northern blot analysis showed that the oleosin mRNA accumulation starts at 11 week after flowering (WAF) in embryo and endosperm tissues in which the embryo is at the early torpedo stage. Maximum oleosin mRNA accumulation was observed during 19 WAF and thereafter there is a decline. Expression was not detected in mesocarps. Western blot analysis against mesocarp and seed proteins showed also absence of oleosins in the mesocarps. Therefore, the presence of the oleosins is regulated at the transcriptional level. It is already known that ABA modulates oleosin gene expression. Two different types of olive tissue cultures (photomixotrophic and heterotrophic) were also used to determine oleosin gene expression under normal conditions and after treatment with ABA. The mRNA was absent from both types of calli even in the presence of ABA.

ΕΠΟΧΙΑΚΗ ΚΑΙ ΧΩΡΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΤΑΞΕΩΝ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ *a* ΣΤΟ ΜΑΛΙΑΚΟ ΚΟΛΠΟ

Γκαραμέτση Β., Κορμάς Κ.Α. και Α. Νικολαϊδου

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

Στην παρούσα μελέτη, έγινε διαχωρισμός της ολικής χλωροφύλλης *a* σε τέσσερις τάξεις μεγέθους φυτοπλαγκτονικών κυττάρων στο Μαλιακό Κόλπο, ώστε να προσδιοριστεί το επικρατές μέγεθος του φυτοπλαγκτού κατά τις διάφορες εποχές.
Αυτή η πληροφορία είναι καθοριστικής σημασίας για τον τύπο του επικρατούντος πελαγικού τροφικού πλέγματος στη θάλασσα, αφού σε ολιγοτροφικές περιόδους/περιοχές επικρατούν τα μικρότερα κύτταρα με πιθανή επικράτηση ενός μικροβιακού τροφικού πλέγματος, ενώ σε περισσότεο εύτροφες περιόδους/περιοχές η φυτοπλαγκτονική κοινωνία χαρακατηρίζεται από μεγάλα κύτταρα που οδηγούνται είτε στην καθίζησή τους στο ίζημα ή στη βόσκησή τους από το ζωοπλαγκτό.
Μελετήθηκαν τέσσερις διαφορετικές τάξεις μεγέθους: 0,2-2 μm (πικοπλαγκτό), 2-20 μm (νανοπλαγκτό), 20-180 μm (μικροπλαγκτό) και >180 μm (μεσοπλαγκτό).
Παρατηρήθηκε διαδοχή στην επικρατούσα τάξη μεγέθους σε όλον τον κόλπο και σε όλη τη στήλη του νερού. Το πικο- και νανοπλαγκτό εμφάνισε σημαντική παρουσία κατά τους θερινούς και πρώτους φθινοπωρινούς μήνες ενώ το μικρο- και μεσοπλαγκτό ήταν επικρατέστερο τους ψυχρούς μήνες.
Η επικράτηση των μικρότερων φυτοπλαγκτονικών κυττάρων το καλοκαίρι, στις περισσότερες περιπτώσεις, επιβεβαιώνει την ισχύουσα για την περιοχή άποψη ότι το καλοκαίρι επικρατεί ένα τροφικό πλέγμα όπου οι μικροοργανισμοί παίζουν το σημαντικότερο ρόλο στη μεταφορά ενέργειας από τα χαμηλότερα προς τα ανώτερα τροφικά επίπεδα.

SEASONAL AND TEMPORAL VARIATION OF SIZE FRACTIONATED CHLOROPHYLL *a* IN MALIAKOS GULF (AEGEAN SEA, HELLAS)

Garametsi V., Kormas K.A. & A. Nicolaidou

Department of Zoology-Marine Biology, School of Biology, Univeristy of Athens, 157 84 Panepistimiopolis, Athens, Ellas

In the present study, size fractionation of chlorophyll *a* was applied in an Aegean semi enclosed embayment (Maliakos Gulf, Hellas), in order to detect the seasonal succession of the dominant size class of phytoplankton.
This knowledge can provide real evidence on the dominant type of the pelagic food web, since during oligotrophic periods or in oligotrophic areas small cells tend to dominate and the role of microbes is important in the energy flow, while in more eutrophic periods or areas large cells dominate leading most often to the sedimentation of the phytoplankton bloom or its grazing by zooplankton.
In this study, four size fractions were considered: 0.2-2 μm (picoplankton), 2-20 μm (nanoplankton), 20-180 μm (microplankton) and >180 μm (mesoplankton). During the warm months of the year, pico- and nanoplankton were the major contributors to the total chlorophyll *a* concentrations while during the cold months most of the chlorophyll *a* standing crop was attributed to micro- and mesoplankton. These results are in accordance with previous studies in the same area, which suggested the dominance of a microbial based food web, including small sized phytoplankton, during the oligotrophic summer months.

ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΥ ΙΣΟΡΡΟΠΗΜΕΝΟΥ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΜΥΓΑ *Ceratitis capitata*

Γουρζή Π.[1], Gubb D.[2], Λιβαδάρας Γ.[3], Caceres C.[4], Franz G.[4], Σαββάκης Χ.[3] και Α.Ζαχαροπούλου[1]

[1]Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών
[2]Dept. of Genetics, University of Cambridge, UK
[3]Ινστ. Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Κρήτη
[4]Entomology Unit, FAO/IAEA laboratories, Austria

Τα ισορροπημένα χρωμοσώματα αποτελούν σημαντικά γενετικά εργαλεία ενός είδους και φέρουν πολλαπλές και επικαλυπτόμενες χρωμοσωματικές αναστροφές, οι οποίες καταστέλλουν το διασκελισμό με το ομόλογό τους χρωμόσωμα, διατηρώντας έτσι άθικτο ένα χρωμοσωματικό τμήμα ή και ολόκληρο το χρωμόσωμα. Η ιδιότητά τους αυτή επιτρέπει τη διατήρηση υποτελών θανατογόνων μεταλλάξεων και μεταλλάξεων που προκαλούν στειρότητα, σε ετεροζυγωτία. Είναι σημαντικό για ένα ισορροπημένο χρωμόσωμα να φέρει υποτελή θανατογόνο μετάλλαξη, εμποδίζοντας έτσι την ομοζύγωσή του, γεγονός που θα συντελούσε στην αντικατάσταση του ομόλογου χρωμοσώματος και στην απώλεια της υπό μελέτη μετάλλαξης. Στην εργασία αυτή περιγράφεται η κατασκευή του πρώτου ισορροπημένου χρωμοσώματος στη Μεσογειακή μύγα, *Ceratitis capitata*. Στόχος της πρώτης αυτής προσπάθειας ήταν το 5 χρωμόσωμα του εντόμου. Το αρχικό στέλεχος που χρησιμοποιήθηκε έφερε μια μικρή περικεντρική αναστροφή στο 5 χρωμόσωμα. Μετά από δύο διαδοχικές ακτινοβολήσεις (ακτίνες-γ) και κατάλληλες διασταυρώσεις, απομονώθηκε ένα χρωμόσωμα που φέρει τρεις επικαλυπτόμενες περικεντρικές αναστροφές που καλύπτουν όλο το μήκος του, είναι δε θανατογόνο σε ομοζυγωτία. Το χρωμόσωμα σημάνθηκε με μια υπερέχουσα μετάλλαξη, ενώ δύο παράγωγά του φέρουν επιπλέον από μια υποτελή μετάλλαξη. Το ισορροπημένο στέλεχος έδειξε πλήρη καταστολή του διασκελισμού, ενώ χρησιμοποιήθηκε στην απομόνωση υποτελών θανατογόνων μεταλλάξεων.

THE CONSTRUCTION OF THE FIRST BALANCER CHROMOSOME FOR THE MEDITERRANEAN FRUIT FLY *Ceratitis capitata*

Gourzi P.[1], Gubb D.[2], Livadaras Y.[3], Caceres C.[4], Franz G.[4], Savakis Ch.[3] & A. Zacharopoulou[1]

[1]Dept. of Biology, University of Patras, Greece
[2]Dept. of Genetics, University of Cambridge, U.K
[3]Inst. Mol. Biology & Biotechnology, Krete, Greece
[4]Entomology Unit, FAO/IAEA laboratories, Austria

Balancer chromosomes have been proved an essential tool in the genetic analysis of species and carry multiple inversion breakpoints, which suppress recombination strongly, maintaining thus, intact a whole chromosome or a part of it. These properties allow homozygous lethal or unhealthy chromosomes to be maintained in heterozygous stocks. It is essential that a balancer chromosome carry a recessive lethal mutation to prevent it from becoming homozygous in an unselected stock and thus eliminating the chromosome of interest. We present here the construction of the first balancer chromosome for the Mediterranean fruit fly *C. capitata.* Our target was the fifth chromosome. The initial strain we used, carried a pericentric inversion on chromosome 5. Following two successive irradiation experiments (γ-rays) and the appropriate crosses, a chromosome carrying three overlapping pericentric inversions, was isolated. These inversions cover the whole length of the fifth chromosome. The chromosome was marked by a dominant marker, while two recessive marked derivatives were recovered followed EMS mutagenesis. The balancer was tested for suppression of recombination and showed a complete absence of recombination, through out the whole length of the fifth chromosome. Additionally, it was used for the isolation of recessive lethals mapped on the fifth chromosome.

ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΣΤΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΠΕΠΤΙΚΟΥ ΑΔΕΝΑ ΜΥΔΙΩΝ *Mytilus galloprovincialis*

Δημητριάδης Β.Κ., Κουκουζίκα Ν., Κατράνα Ε. και Γ. Δομουχτσίδου

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

Στην παρούσα μελέτη εξετάσθηκε με το οπτικό και το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ο πεπτικός αδένας μυδιών *Mytilus galloprovincialis* που μονιμοποιήθηκαν αμέσως μετά από την εξαγωγή από το φυσικό τους περιβάλλον (ομάδα 1), μετά από δύο ώρες παραμονής έξω από το νερό (ομάδα 2), μετά από μία μέρα (ομάδα 3) ή μία εβδομάδα (ομάδα 4) παραμονής σε συνθήκες εργαστηρίου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα πεπτικά κύτταρα του πεπτικού αδένα των μυδιών της πρώτης ομάδας εμφάνισαν μορφολογικές αστάθειες, με εκχύσεις κυτταροπλασματικών υλικών στον αγωγό των πεπτικών σωληναρίων. Τα φαινόμενα εντάθηκαν στα ζώα της ομάδας 2 οδηγώντας στη μείωση του ύψους των πεπτικών κυττάρων στην ομάδα 3, οπότε τα κύτταρα σταθεροποιήθηκαν μορφολογικά. Στα μύδια της ομάδας 4 τα κύτταρα διατήρησαν τη μορφολογία και αύξησαν το ύψος τους. Τα αποτελέσματα δείχνουν οτι η μονιμοποίηση των μυδιών πρέπει να γίνεται αμέσως μετά την εξαγωγή τους από το νερό, ώστε να αποφεύγονται φαινόμενα αστάθειας των κυττάρων του πεπτικού αδένα που ίσως θα οδηγούσαν σε παραπλανητικά συμπερά-σματα. Επίσης εξετάστηκαν οι διαφορές σε μύδια μικρού ή μεγάλου μεγέθους από φυσικούς πληθυσμούς από το Μικρό Καράμπουρνου ή σε μεγάλα μύδια από καλλιέργειες της Χαλάστρας. Τα παραπάνω μύδια παρουσίασαν διαφορές στο ποσό των λιπιδιακών εγκλείστων, των υπολειπόμενων σωματίων των πεπτικών κυττάρων, στο πάχος του επιθηλίου και στη διάμετρο των πεπτικών σωληναρίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αυτές οι διαφορές θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη σε μελέτες βιο-παρακολούθησης.
Τέλος, μετρήθηκε η "σταθερότητα της λυσοσωμικής μεμβράνης", ένας καθιερωμένος βιοδείκτης. Τα μύδια της ομάδας 2 παρουσίασαν μειωμένη τιμή στον βιοδείκτη αυτό σε σχέση με τα μύδια των υπόλοιπων κατηγοριών, γεγονός που επίσης συνηγορεί στην προσεκτική επιλογή του τρόπου μονιμοποίησης των ιστών που εξετάζονται.

CONSEQUENCES OF THE SAMPLING PROCEDURES ON THE STRUCTURE OF THE DIGESTIVE GLAND OF THE COMMON MUSSEL *Mytilus galloprovincialis*

Dimitriadis V.K., Koukouzika N., Katrana E. & G. Domouhtsidou

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

In the present study, the digestive gland of four groups of the common mussel *Mytilus galloprovincialis* was examined under the light and electron microscope. Mussels of the first group were fixed right after the extraction from seawater. The second group was fixed after having been kept for 2h out of water, while the third and the fourth group where fixed after their maintenance in an aquarium in the laboratory for one day and for one week, respectively. The digestive cells of the digestive gland displayed morphological disorganization in the mussels of the first group, with cytoplasmic extrusions in the digestive tubule lumen. The phenomena became more intense after two hours and led to a decreased height of the digestive cells of the mussels of the second group. Mussels of the third group displayed digestive cells with stable morphology and increased cell height. The results show that during sampling the digestive gland should be immediately fixed in order cell disorganization to be avoided and misleading conclusions prevented. In addition, morphological differences in both small sized and large sized mussels from natural populations of Micro Karabournou, as well as from cultivated populations of Halastra were examined. Among the three previous categories, mussels indicated variations in the amount of lipid inclusions, in the amount of the residual bodies of the digestive cells, in the height of the epithelium, as well as in the diameter of their digestive tubules. The results show that these differences should be taken into account in biomonitoring studies. The value of "lysosomal membrane stability", a bioindicator of general stress, was evaluated. Mussels of the second group, showed decreased value compared to the mussels of the other categories. To conclude, scientists should be careful with the sampling procedure of mussels about to be used in biomonitoring studies.

ΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΩΡΙΜΑΣΗ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ (*Sparus aurata)* ΣΤΗ ΛΙΜΝΟΘΑΛΑΣΣΑ ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ – ΑΙΤΩΛΙΚΟΥ

Δημητρίου Ε.[1] και Γ. Κατσέλης[2]

[1]Τμήμα Αλιείας Αιτωλοακαρνανίας, 30200, ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ
[2]Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, ΠΑΤΡΑ

Εξετάστηκε η γεννητική ωρίμαση του πρώτανδρου ερμαφρόδιτου ιχθύος *Sparus aurata* (τσιπούρα) στην λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου Αιτωλικού. Κατά την περίοδο Μάιος έως Δεκέμβριος της διετίας 1994-95, συλλέχθηκαν μηνιαία δείγματα, από τις ιχθυοσυλληπτικές εγκαταστάσεις της λιμνοθάλασσας. Σε σύνολο 358 ατόμων του δείγματος εξετάστηκε το φύλο, το στάδιο ωριμότητας των γονάδων, η ηλικία από τα λέπια και ο γοναδοσωματικός δείκτης. Βρέθηκε ότι οι μεγαλύτερες τιμές του γοναδοσωματικού δείκτη παρατηρούνται τους μήνες Οκτώβριος–Δεκέμβριος. Την περίοδο αυτή (Οκτώβριος – Δεκέμβριος) βρέθηκε ότι το 12.5% των ατόμων ήταν ανώριμα, το 68 % αρσενικά, στο 13% παρατηρήθηκε συνύπαρξη και των δύο γεννητικών αδένων (ωοθήκες και όρχεις) και το 5.4% ήταν θηλυκά. Επίσης το 37.9% των αρσενικών βρίσκονταν στο στάδιο της απελευθέρωσης των γεννητικών προϊόντων, ενώ για τα θηλυκά το ποσοστό αυτό ήταν 27.2% των ατόμων. Η αναλογία των φύλων ήταν 9.7 αρσενικά : θηλυκό για το σύνολο των ατόμων και 17.3 αρσενικά : θηλυκό για τα άτομα που βρίσκονται στο στάδιο απελευθέρωσης γεννητικών προϊόντων. Κατά τη πρώτη αναπαραγωγική περίοδο (ηλικία O^+) το 81% των ατόμων ήταν αρσενικά. Την δεύτερη αναπαραγωγική περίοδο (ηλικία 1^+) περίπου το 60% των ατόμων παρουσιάζει αντιστροφή του φύλου. Στο 14% των ατόμων αυτών ολοκληρώθηκε η αντιστροφή σε θηλυκά και στο 46% των ατόμων παρατηρήθηκε συνύπαρξη και των δύο γεννητικών αδένων με δραστηριότητα των αρσενικών.

THE GONADS MATURITY OF THE GILTHEAD BREAM (*Sparus aurata*) IN MESSOLOGHI – ETOLIKO LAGOON

Dimitriou E.[1] & G. Katselis[2]

[1]Department of Fisheries, Prefecture of Etoloakarnania , 30200 Messologhi
[2]Zoological Laboratory, Dept of Biology, University of Patras, 26500, Patras-Greece

The gonad maturity of the protandrous hermaphrodite fish *Sparus aurata* (gilthead bream) was examined in Messologhi – Etoliko lagoon. The samples were collected from the fish barriers during the period from May to December, 1994-95. From a total of 358 individuals the sex, gonad maturity stage, age base on the scales and gonadosomatic index were examined. The largest value for the gonodosomatic index were observed during the month October to December. During this period it was observed that 12.5% of the specimens were immature, 68 % were males, in 13% both genetic glands were coexistent (ovaries and testicles), and 5.4% were female. In addition 37.9% of the males were found to be at the ripen, while for the females it was 27.2% of all the individuals. The sex ratio was 9.7:1 (males : females) for the total number of individuals, while for the individuals who were at the stage of ripen the ratio was 17.3:1 (males : females). During the first spawning period (age group O^+) 81% of the individuals were males. On the second spawning period (age group 1^+) about 60 % of this individuals showed a sex reversion. In 14 % of these individuals this reversion was completed to females, and on 46 % both gonads were found to be coexistent, with the male gonads having the exclusive activity.

ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ (*Bactrocera oleae* GMELIN*)* ΣΤΗΝ ΑΧΑΪΑ: ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ.

Δήμου Ι., Λυκάκης Ι. και Κ. Κουτσικόπουλος

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, 26 500 Ρίο

Το δίπτερο *Bactrocera* (=*Dacus*) *oleae* Gmelin αποτελεί από την αρχαιότητα ως τις μέρες μας το σοβαρότερο εχθρό της ελαιοκαλλιέργειας. Οι προκαλούμενες από αυτό ζημιές είναι τεράστιες · στην Ελλάδα μπορούν να φτάσουν το 20-30% της συνολικής παραγωγής. Ο ρυθμός ανάπτυξης και η εξέλιξη του κύκλου ζωής του εντόμου έχει δειχθεί ότι εξαρτώνται άμεσα και σε πολλές περιπτώσεις γραμμικά από κλιματικούς παράγοντες, με κυριότερους τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία. Κατά συνέπεια τα πρότυπα εμφάνισης του είδους διαφέρουν στις διάφορες περιοχές της χώρας. Για την περιοχή της Αχαΐας δεν υπάρχουν σχετικά δεδομένα, τα οποία θα επιτρέψουν την ακριβέστερη και ελαχιστοποιημένη χρήση των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων αλλά και την αποτελεσματική εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων καταπολέμησης.
Η προκαταρκτική δειγματοληψία του ακμαίου δάκου έγινε με παγίδες McPhail και ελκυστικό διάλυμα θειικής αμμωνίας 3%, από 6/3 έως 16/10/1998, στον ελαιώνα του Πανεπιστημίου Πατρών. Οι παγιδεύσεις εμφάνισαν τρία κυρίως μέγιστα (αρχές Μαρτίου, μέσα Απριλίου και τέλη Ιουνίου – αρχές Ιουλίου) μέχρι τον Ιούλιο, οπότε δύο διαδοχικά κύματα καύσωνα κατέστειλαν τους πληθυσμούς του εντόμου και απέτρεψαν την εξέλιξη των επόμενων γενεών. Τα αρσενικά άτομα παγιδεύονταν σε μεγαλύτερους αριθμούς στις περισσότερες των περιπτώσεων. Επίσης συζητείται ο ρόλος των κλιματικών παραμέτρων στη διαμόρφωση των προτύπων εμφάνισης και την απόδοση των παγίδων. Τα δεδομένα αποδεικνύονται χρήσιμα για τον καθορισμό του πλαισίου μελέτης , των κυρίων χωρικών και χρονικών κλιμάκων και την ανάπτυξη της μεθοδολογίας παρακολούθησης του πληθυσμού για το κύριο μέρος της εργασίας που θα ακολουθήσει στο επόμενο διάστημα.

ECOLOGY AND BIOLOGY OF THE OLIVE FRUIT FLY (*Bactrocera oleae* GMELIN) IN ACHAIA (GREECE): PRELIMINARY RESULTS.

Dimou I., Lykakis I. & C. Koutsikopoulos

University of Patras, Faculty of Biology, Department of Animal Biology, P.O. 26 500 Rion, Greece.

The olive fruit fly, *Bactrocera* (=*Dacus*) *oleae* Gmelin (Diptera, Tephritidae) has been since antiquity the most serious olive pest. Economic damage can reach high levels. In Greece it may account for 20-30% of total production. It has been shown that the insect's lifecycle and development rate are directly and often linearly related to climatic variables, mainly temperature and relative humidity. Consequently, phenology patterns vary in different parts of the country. For the region of Achaia there is no phenological data available which would permit a more accurate and minimized use of organophosphorous insecticides or even the application of alternative control measures.

The adult population was monitored by McPhail glass traps using a 3% ammonium sulfate solution. Traps were set at the University orchard, covering the period from 6/3 to 16/10/1998. Trap captures show three main peaks (beginning of March, mid-April and end of June – beginning of July) till July, when two consecutive heat waves suppressed the insect population and impeded the development of other generations for the following period. In most cases males are trapped in greater numbers than females. The role of climatic parameters in determining the phenology patterns and trap efficiency is also discused. The results are found useful for establishing the study frame and the main spatial and temporal scales, and developing the population monitoring methodology for the oncoming main part of the study.

ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΣΤΟΝ ΠΕΠΤΙΚΟ ΑΔΕΝΑ ΤΟΥ ΜΥΔΙΟΥ *Mytilus galloprovincialis* ΚΑΤΑ ΜΗΚΟΣ ΤΟΥ ΟΡΜΟΥ ΤΗΣ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ, ΩΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ

Δομουχτσίδου Γ. και Β.Κ. Δημητριάδης

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

Η χρήση μυδιών για την εκτίμηση της ποιότητας του περιβάλλοντος με χρήση καθιερωμένων και νέων βιοδεικτών, είναι εκτεταμένη. Εδώ χρησιμοποιήθηκαν μύδια του εδώδιμου είδους *Mytilus galloprovincialis* που συλλέχθηκαν από φυσικούς (***φ***) ή καλλιεργούμενους (***κ***) πληθυσμούς του όρμου της Θεσσαλονίκης (Αγγελοχώρι ***κ***, Μικρό Καράμπουρνου ***φ***, Χαλάστρα ***κ***, Χαλάστρα ***φ,*** Μακρύγιαλος ***κ***, Μακρύγιαλος ***φ)*** το Μάιο, Αύγουστο και Δεκέμβριο 1996. Στη συνέχεια, σε κρυοτομές ή τομές ρητίνης του πεπτικού αδένα των μυδιών μετρήθηκαν κυτταρικές παράμετροι, όπως μορφομετρικά χαρακτηριστικά λυσοσωμικών δομών και το ποσό των λιπιδίων, ενώ τα κύτταρα του πεπτικού αδένα εξετάστηκαν και με μικροανάλυση ακτινών Χ. Τα αποτελέσματα των μορφομετρικών μελετών έδειξαν ότι η διάμετρος των υπολειπόμενων σωματίων του πεπτικού αδένα ήταν αυξημένη στα μύδια της Χαλάστρας ***φ*** τον 8/96 καθώς και στα μύδια από το Μικρό Καράμπουρνου και το Μακρύγιαλο ***κ*** το 12/96 σε σχέση με την περιοχή ελέγχου (Αγγελοχώρι ***κ***). Τα αποτελέσματα της μικροανάλυσης ακτίνων Χ στα λυσοσώματα των πεπτικών κυττάρων έδειξαν αυξημένη περιεκτικότητα σε κάδμιο στα μύδια όλων των περιοχών, σε σχέση με την περιοχή ελέγχου, τον 5/96 και 8/96. Μέτρηση των λιπιδίων του πεπτικού αδένα έδειξε αυξημένη περιεκτικότητα στον πληθυσμό του Μακρύγιαλου ***κ*** τον 8/96, σε σχέση με την περιοχή ελέγχου. Τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με παράλληλες εκτιμήσεις της "σταθερότητας της λυσοσωμικής μεμβράνης", ενός καθιερωμένου βιοδείκτη γενικού στρες. Τα συμπεράσματα των συγκρίσεων του τελευταίου με τους προτεινόμενους βιοδείκτες δείχνουν ότι η εκτίμηση μορφομετρικών χαρακτηριστικών των λυσοσωμάτων του πεπτικού αδένα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης γενικού στρες ακόμα και κατά μήκος των ακτών του όρμου της Θεσσαλονίκης, όπου οι τιμές της περιβαλλοντικής ρύπανσης διαφέρουν ελάχιστα. Αντίθετα, οι εκτιμήσεις βιοδεικτών ειδικού στρες, όπως το ποσό των λιπιδίων και η περιεκτικότητα των λυσοσωμάτων σε βαρέα μέταλλα παρουσιάζουν χαμηλή ευαισθησία και έντονη εποχικότητα, και καθιστούν ίσως απαραίτητη την παράλληλη χρήση αναλυτικών τεχνικών.

LYSOSOMAL AND LIPID RESPONSES IN THE DIGESTIVE GLAND OF THE MUSSEL *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* COLLECTED ALONG THESSALONIKI BAY, AS BIOINDICATORS OF POLLUTION

Domouhtsidou G. & V.K. Dimitriadis

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

In the present study, mussels *Mytilus galloprovincialis* from natural (***n***) or cultivated (***c***) populations were collected along the bay of Thessaloniki (Agellohorion ***c***, Mikro Karabournou ***n,*** Halastra ***c***, Halastra ***n,*** Makrygialos ***c,*** Makrygialos ***n***) at May, August and December 1996 and used for pollution monitoring. In cryosections or resin sections of the digestive gland of the mussels, a morphometrical evaluation of lysosomal parameters, x-ray microanalysis and lipid measurements were applied as stress indices and, consequently, as biomarkers of pollution. Concerning the morphometrical evaluation of lysosomal parameters, there was an increase in the volume density and diameter of the residual bodies in Halastra ***n*** at 8/96 and in Mikro Karabournou ***n*** and Makrygialos ***c*** at 12/96, compared to the reference area (Agellohorion ***c***). Regarding x-ray microanalysis in the digestive lysosomes, there was an increased amount of cadmium, compared to the reference area, at 5/96 and 8/96. Concerning the measurements of lipid content in the digestive gland, there was an increase in Makrygialos at 8/96, compared to the reference area. The results of the former techniques were compared to respective measurements of the "lysosomal membrane stability", a biomarker of general stress (Domouhtsidou and Dimitriadis, 1997). This evaluation showed that the estimation of morphometrical parameters of the digestive lysosomes could be used as general stress indices, even in mussels collected from stations of the same bay, where they receive a comparable amount of environmental waste.

1. G. Domouhtsidou and VK Dimitriadis (1997). Proceedings of 19th Panellenic Meeting of HSBS, p 91-92.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΕΛΑΦΡΙΑΣ ΑΛΥΣΙ- ΔΑΣ ΤΗΣ ΚΥΤΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗΣ ΔΥΝΕΪΝΗΣ ΣΤΟ ΦΥΤΟ *Arabidopsis thaliana*

Δούκα Α., Αργυρός Σ., Μπέης Δ., Μαυρίδου Α και Π. Χατζόπουλος

Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Παν/μιο Αθηνών, Ι. Οδός 75, 118 55 - Αθήνα

Στους ανώτερους οργανισμούς η κυτοπλασμική δυνε?νη είναι ένα πρωτεϊνικό σύμπλοκο που συμμετέχει με χρέη ΑΤΡάσης στη μετακίνηση των διαφόρων οργανιδίων, συμπεριλαμβανομένου και του πυρήνα. Αποτελείται από δύο βαριές αλυσίδες μεγάλου μοριακού βάρους (~500 kD) και έναν αριθμό αλυσίδων μεσαίου και μικρού μοριακού βάρους (75-61 kD). Πρόσθετα με τις παραπάνω υπομονάδες, έχει βρεθεί και μια κυτοπλασματική ελαφριά αλυσίδα 8 kD, ακόμα και σε οργανισμούς χωρίς μαστίγια ή βλεφαρίδες. Η πρωτε?νη αυτή παρουσιάζει εξαιρετική αμινοξική ομολογία μεταξύ διαφόρων οργανισμών, όπως *Saccharomyces cerevisiae, Caenorhabditis elegans, Drosophila melanogaster* και *Homo sapiens*. Στο φυτό *A. thaliana* από το πρόγραμμα αλληλούχισης του γενώματός του, απομονώθηκε ένα ανοικτό αναγνωστικό πλαίσιο από DNA του τετάρτου χρωμοσώματος που είχε μεγάλη ομολογία με την ελαφριά αλυσίδα της κυτοπλασμικής δυνε?νης. Στη συνέχεια απομονώθηκε ο αντίστοιχος cDNA κλώνος από μιά cDNA βιβλιοθήκη. Ο κλώνος αυτός μετά από αλληλούχιση του DNA, έδειξε οτι περιλαμβάνει ένα γονιδίο που παρουσιάζει πολύ μεγάλη ομολογία με γονίδια που κωδικοποιούν την ελαφριά αλυσίδα της δυνε?νης από διάφορους οργανισμούς. Το γονίδιο αυτό βρίσκεται 1-2 φορές μέσα στο απλοειδές γένωμα του φυτού. Ανάλυση κατά Northern έδειξε ότι η έκφραση του γονιδίου είναι παραπλήσια σε όλους τους ιστούς σε σχετικά χαμηλά επίπεδα. Παρόλα αυτά, με ιστοειδικό υβριδισμό εντοπίστηκε έντονη μεταγραφική δραστηριότητα σε μεριστωματικούς ιστούς. Τα παραπάνω αποτελέσματα συντελούν στο οτι το σύμπλοκο της δυνείνης στο φυτό *A..thaliana* εμπλέκεται στη μετατόπιση του πυρήνα και των χρωμοσωμάτων κατά τη κυτταροδιαίρεση.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF THE CYTOPLASMIC LIGHT DYNEIN CHAIN IN *Arabidopsis thaliana* PLANT

Douka A., Argiros S, Beis D., Mavridou A. & P. Hatzopoulos

Laboratory of Molecular Biology, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 118 55 Athens

In higher organisms the cytoplasmic dynein is an ATPase-protein complex which is involved in organelle and nuclei movement. It consists of two high molecular weight heavy chains (~500 kD) and several intermediate and light molecular weight chains (74-61 kD). In addition to these subunits, an 8 kD light dynein chain component identified, even in organisms lacking cilia or flagella. This protein exhibited extraordinary amino acid sequence conservation among a wide range of organisms, including *Saccharomyces cerevisiae, Caenophabditis elegans, Drosophila melanogaster* and *Homo sapiens.* In *A. thaliana* plant, from the "Arabidopsis genome sequence project", an ORF was isolated from DNA of the fourth chromosome, which showed high homology with the cytoplasmic light dynein chain. Subsequently, a cDNA clone was isolated from a cDNA library. DNA sequencing of this clone revealed the presence of a gene showing high levels of homology to cytoplasmic light dynein chain coding gene from various organisms. The gene is present in 1-2 copies in the haploid plant genome. Northern analysis showed that gene expression is similar in all tissues in relatively low levels. However, *in situ* hybridization showed high levels of gene expression in meristomatic tissues having strong meristomatic activity. The above results suggest that the dynein complex participate in nucleus and chromosomal motility during cell division.

ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΣΤΑ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΑΜΦΙΒΙΟΥ *Rana balcanica*

Δουκάκης Γ. και Μ. Καλογιάννη

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54006 Θεσσαλονίκη

Η μεταφορά της γλυκόζης, καθώς επίσης και οι παράγοντες που επηρεάζουν τη μεταφορά της διαμέσου της μεμβράνης είναι ζωτικής σημασίας για το ερυθροκύτταρο. Παρόλα αυτά λίγη μόνο πληροφόρηση υπάρχει για τον τρόπο με τον οποίο πραγματοποιείται η είσοδός της στα εμπύρηνα ερυθροκύτταρα του βατράχου. Η χρησιμοποίηση της 3-O-methyl-D-glucose (3-OMG) ενδείκνυται σαν υπόστρωμα για τη συγκεκριμένη μελέτη αφού δεν μεταβολίζεται στο κύτταρο και η παρακολούθηση της μεταφοράς της οδηγεί σε αξιόπιστα συμπεράσματα. Στην παρούσα εργασία δείξαμε ότι η μεταφορά της 3-O-[^{14}C]methyl-D-glucose διαμέσου της μεμβράνης του ερυθροκυττάρου είναι σχεδόν γραμμική για τα πρώτα 30 λεπτά της επώασης και συνεχίζει να αυξάνει με την παροδο του χρόνου (για τουλάχιστον 3 ώρες). Επώαση με φλοριτίνη (10^{-4}-10^{-8} M) έδειξε ότι σε συγκέντρωση 10^{-4} M αναστέλλεται πλήρως η μεταφορά της 3-OMG. Επίσης μετά την επίδραση 10^{-4} M αδρεναλίνης παρατηρήθηκε μικρή αύξηση στο ρυθμό μεταφοράς της 3-OMG. Επιπλέον μελετήθηκε η επίδραση της υποτονικότητας και δείχτηκε ότι η αύξησή της προκαλεί αύξηση στο ρυθμό μεταφοράς της 3-OMG.

Συμπερασματικά, δεν είναι ξεκάθαρο εάν η μεταφορά της γλυκόζης παραγματοποιείται με τη διαμεσολάβηση ενός μεταφορέα, γιατί ενώ παρατηρείται πλήρης αναστολή της εισόδου της από την επίδραση της φλοριτίνης, εντούτοις δεν παρατηρείται κινητική κορεσμού. Επιπλέον η αυξημένη μεταφορά της γλυκόζης μετά από επώαση σε υποτονικό μέσο καθώς και με την επίδραση αδρεναλίνης πιθανά να γίνεται μέσω του καναλιού "ενεργοποίησης του όγκου" (volume activated channel) , το οποίο πιθανώς ενεργοποιείται και στις δύο περιπτώσεις, και το οποίο μεταξύ άλλων μεταφέρει διάφορα μικρά οργανικά μόρια στο ερυθροκύτταρο.

GLUCOSE TRANSPORT IN *Rana balcanica* ERYTHROCYTES

Doukakis G. & M. Kaloyianni

Laboratory of Animal Physiology, Zoology Department, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki 54006

Glucose transport as well the factors that affect its transport through erythrocytic membrane is of vital importance for the erythrocyte. 3-O-methyl-D-glucose (3-OMG) is considered an appropriate substrate for transport studies, since it is not metabolized by the erythrocyte. In the present study, the characteristics of the uptake of 3-OMG by frog (*Rana balcanica*) erythrocytes were studied in vitro with tracer methods.

The time course of the initial rate of uptake of 3-OMG rises linearly till 30 min while till 3hrs of incubation glucose entry goes on increasing. Saturation kinetics are not apparent at the concentrations used (3 mmoles l^{-1}). Various phoretin concentrations (10^{-4}-10^{-8} M) inhibited 3-OMG transport, but at the concentration of 10^{-4} M of 3-OMG, transport was 100% inhibited. 10^{-4} M of adrenaline, which is within the physiological range measured in *Rana balcanica* plasma, induced an increase of 3-MOG transport. Furthermore, osmotic swelling caused a marked increase in 3-MOG transport.

In spite of the fact that glucose transport is totally inhibited by phloretin, the glucose transport does not show saturation kinetics. Therefore, it is not clear if glucose transport is achieved through a specific glucose transporter. In addition, the results suggest that transport of glucose is increased both by osmotic swelling as well as by adrenaline effect and that the transport probably occurs via a volume activated channel that also transports various other small organic molecules in the erythrocyte.

ΦΥΛΟΓΕΩΓΡΑΦΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *Albinaria* (Gastropoda: Clausiliidae) ΣΤΟ ΑΙΓΑΙΟ

Δουρής Β., Thomaz D., Μίζη Α., Λεκανίδου Ρ. και Γ.Κ. Ροδάκης

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιοχημείας & Μοριακής Βιολογίας, Πανεπιστημιόπολη, 157 84 Αθήνα

Τα χερσαία σαλιγκάρια του γένους *Albinaria* αποτελούν ένα πρότυπο σύστημα μελέτης της γενετικής ποικιλομορφίας των πληθυσμών. Η διερεύνηση της φυλογένεσής τους επιτρέπει το συσχετισμό ιστορικών και παλαιογεωγραφικών δεδομένων με τις σημερινές κατανομές, δηλαδή την ανίχνευση φυλογεωγραφικών προτύπων στις περιοχές διασποράς του γένους. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η μοριακή φυλογενετική ανάλυση αλληλουχιών δύο γονιδίων μιτοχονδριακού DNA (***ATPase8***, ***lrRNA***) που διαφέρουν ως προς το ρυθμό εξέλιξης, για αντιπροσώπους των ειδών *A. turrita* και *A. coerulea* από τις Κυκλάδες και *A. brevicollis* από τα Δωδεκάνησα. Από την ανάλυση αυτή, σε σχέση με τη γεωγραφική κατανομή των πληθυσμών, διαφαίνεται ότι η σημερινή κατανομή του γένους στην περιοχή είναι αποτέλεσμα κυρίως χωρικής διαφοροποίησης (vicariance). Το βασικό αποτέλεσμα αφορά το διαχωρισμό των απλοτύπων της ομάδας *A. coerulea* - *A. brevicollis* ανάμεσα στις κεντρικές Κυκλάδες και τα Δωδεκάνησα, που πιθανότατα οφείλεται στο σχηματισμό ενός θαλάσσιου διαύλου που διαχώρισε οριστικά τις δύο περιοχές πριν από περίπου 9 εκ. χρόνια. Η υπόθεση αυτή ερμηνεύει το μεγαλύτερο μέρος της σημερινής κατανομής και επιτρέπει την εκτίμηση ενός εξελικτικού ρυθμού της τάξης του 0.9% ανά εκ. χρόνια για το *lrRNA*. Η τιμή αυτή είναι παραπλήσια με την αντίστοιχη εκτίμηση για το είδος *A. hippolyti* στην Κρήτη (1%, Douris et al.. 1990 - *Evolution*, **52**:116-125). Παρόλα αυτά, υπάρχουν ορισμένες εξαιρέσεις από το βασικό πρότυπο, που επιτρέπουν τη διατύπωση εναλλακτικών φυλογεωγραφικών υποθέσεων. Παράλληλα, σε κάποιες τουλάχιστον περιπτώσεις δεν μπορεί να αποκλειστεί και η παθητική ή ανθρωπογενής διασπορά, καθώς και η συμβολή δημογραφικών μάλλον παρά ιστορικών παραγόντων στο σχηματισμό της σημερινής εικόνας της κατανομής του γένους.

PHYLOGEOGRAPHIC PATTERNS OF GENUS *Albinaria* (Gastropoda: Clausiliidae) IN THE AEGEAN

Douris V., Thomaz D., Mizi A., Lecanidou R. & G.C. Rodakis

University of Athens, Faculty of Biology, Department of Biochemistry-Molecular Biology, Panepistimiopolis, 157 84 Athens

Land snails of the genus *Albinaria* represent a model system for the study of genetic variability of populations. The investigation of their phylogeny allows correlation of historic and paleogeographic data to contemporary distributions, i.e. identification of phylogeographic patterns at the genus dispersal areas. In this paper we present the molecular phylogenetic analysis of DNA sequences from two mitochondrial genes (***ATPase8***, ***lrRNA***) with different evolutionary rates for representatives of the species *A. turrita* and *A. coerulea* from Cyclades and *A. brevicollis* from the Dodecanese. This analysis, in correlation with the geographic distribution of populations, indicates that contemporary dispersal patterns in this area have resulted mainly from vicariance events. The basic result concerns the distinction of haplotypes of the *A. coerulea - A. brevicollis* group between central Cyclades and the Dodecanese, which is probably due to the formation of a mid-Aegean sea channel that has permanently separated the two regions about 9 Myr ago. This hypothesis can be employed in order to interpret most of the contemporary distribution patterns, and permits the estimation of an evolutionary rate of about 0.9% per Myr for the *lrRNA* gene. This value is very similar to the corresponding estimation for *A. hippolyti* in Crete (1%, Douris et al. 1990 - *Evolution*, **52**:116-125). On the other hand, there are certain exceptions from the main pattern which allow alternative phylogeographic hypotheses. Moreover, in some cases, passive or human dispersal scenarios, as well as the contribution of demographic rather than historical factors to the formation of the present picture of the genus distribution, should not be ruled out.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΛΩΝΩΝ α ΚΑΙ β-ΣΩΛΗΝΙΝΩΝ ΣΕ ΕΙΔΗ *Drosophila* ΤΗΣ ΥΠΟΟΜΑΔΑΣ *Montium*

Δροσοπούλου Ε., Wiebauer K., Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π. και Ζ. Γ. Σκούρας

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη

Οι α και β-σωληνίνες είναι δομικές πρωτεΐνες, οι οποίες συμμετέχουν στο σχηματισμό των μικροσωληνίσκων και κωδικοποιούνται από μικρές πολυγονιδιακές οικογένειες. Στη *Drosophila melanogaster* έχουν αναγνωριστεί τέσσερα γονίδια, διασκορπισμένα σε διαφορετικές θέσεις των πολυταινικών χρωμοσωμάτων, τόσο για τις α όσο και για τις β-σωληνίνες. Για να μελετηθεί η οργάνωση των γονιδίων των β-σωληνινών στα είδη της υποομάδας *montium,* κατασκευάστηκαν γονιδιωματικές βιβλιοθήκες των ειδών *D. auraria, D. serrata* και *D. kikkawai,* τα οποία παρουσιάζουν διαφορετικό πρότυπο υβριδισμού των παραπάνω γονιδίων στα πολυταινικά τους χρωμοσώματα. Από τις βιβλιοθήκες απομο-νώθηκαν κλώνοι που έφεραν ακολουθίες ομόλογες με τα γονίδια των β-σωληνινών της *D. melanogaster*. Η ανάλυση των κλώνων έδειξε ότι στα είδη της υποομάδας *montium* υπάρχουν τέσσερις ακολουθίες β-σωληνινών, η χρωμοσωματική κατανομή των οποίων είναι παρόμοια με την κατανομή των αντίστοιχων γονιδίων στη *D. melanogaster*. Για να μελετηθεί η οργάνωση των γονιδίων των α-σωληνινών στη χρωμοσωματική θέση κοινού υβριδισμού των γονιδίων των α_1 και α_3-σωληνινών στα είδη της υποομάδας *montium*, σαρώθηκε η γονιδιωματική βιβλιοθήκη του είδους *D. auraria* με ανιχνευτή το γονίδιο της α_1-σωληνίνης της *D. melanogaster*. Απομονώθηκε και αναλύθηκε ένας γονιδιωματικός κλώνος από την περιοχή ενδιαφέροντος, ο οποίος φαίνεται να περιέχει το γονίδιο της α_1-σωληνίνης της *D. auraria*. Ακόμη, πραγματοποιήθηκαν κατά Southern υβριδισμοί γονιδιωματικού DNA των ειδών *D. auraria* και *D. serrata* με ανιχνευτές τα γονίδια των α_1 και α_3-σωληνινών, οι οποίοι αποκάλυψαν ότι στην κοινή χρωμοσωματική θέση υβριδισμού των παραπάνω ανιχνευτών στα είδη της υποομάδας *montium* ομαδοποιούνται δύο ακολουθίες α-σωληνινών.

ISOLATION AND ANALYSIS OF α AND β-TUBULIN GENOMIC CLONES IN *Drosophila S*PECIES BELONGING TO THE *Montium* SUBGROUP

Drosopoulou E. Wiebauer K., Mavragani-Tsipidou P. & Z.G. Scouras

Dept of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, Faculty of Sciences, Aristotle University, 540 06 Thessaloniki

α and β-tubulins are structural proteins taking part in the assembly of microtubules and are encoded by small multigene families. In *Drosophila melanogaster* four genes, dispersed at distinct chromosome loci, have been identified for the α, as well as for the β-tubulin gene family. In order to study further the organization of the β-tubulin genes in the *montium* species, genomic libraries of the species *D. auraria, D. serrata* and *D. kikkawai,* which present different *in situ* hybridization pattern of the β-tubulin genes were constructed. The three libraries were screened and several clones bearing β-tubulin DNA sequences were isolated. Analysis of the clones showed that there are four β-tubulin DNA sequences in the *montium* species, distributed on their polytene chromosomes in a pattern similar to the distribution of the respective genes in *D. melanogaster*. In order to study the α-tubulin gene organization at the common hybridization locus of the α_1 and α_3-tubulin genes in the *montium* species, the *D. auraria* genomic library was screened, using the *D. melanogaster* α_1-tubulin gene as probe. One genomic clone, which seems to be bearing the sequence of the α_1-tubulin gene of *D. auraria,* was isolated from the region of interest. Southern hybridization of *D. auraria* and *D. serrata* genomic DNA with the α_1 and α_3-tubulin probes revealed the presence of two distinct α-tubulin sequences at the common hybridization chromosome locus of the above probes in the *montium* species.

ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *PISTACIA* ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ RAPDs

Δρόσου Α., Λουκάς Μ. και Α. Κατσιώτης

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Γενετικής, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα

Η ταξινόμηση και οι φυλογενετικές σχέσεις στο γένος *Pistacia* βασίζονται σχεδόν αποκλειστικά σε δεδομένα από μορφολογικούς χαρακτήρες. Στην παρούσα μελέτη εφαρμόστηκε η μέθοδος των RAPDs για τον καθορισμό ταξινομικών και φυλογενετικών σχέσεων στα είδη *P. terebinthus*, *P. palaestina*, *P. chinensis*, *P. lentiscus*, στην ποικιλία *P. lentiscus* var. *chia*, στις ποικιλίες του είδους *P. vera* Αιγίνης και Νυχάτη και στους κλώνους Α, Β και Γ. Χρησιμοποιήθηκαν 25 εκκινητές, ενώ από τους πολυμορφισμούς που προέκυψαν με 10 από αυτούς εκτιμήθηκαν οι γενετικές αποστάσεις με τις μεθόδους των Nei και Li (1979) και Apostol *et al.* (1993) και κατασκευάστηκαν δενδρογράμματα με τις μεθόδους UPGMA και NJ. Διαχωρίστηκαν όλα τα άτομα μεταξύ τους και ομαδοποιήθηκαν ανάλογα με το είδος στο οποίο ανήκουν. Τα είδη *P. terebinthus* και *P. palaestina* είναι τα πιο συγγενικά, ενώ το είδος *P. vera* (φιστικιά) έχει στενότερες φυλογενετικές σχέσεις με τα είδη *P. terebinthus*, *P. palaestina* και *P. chinensis* σε σύγκριση με το είδος *P. lentiscus*.

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS AMONG *PISTACIA* SPECIES USING RAPDs

Drossou A., Loukas M. & A. Katsiotis

Agricultural University of Athens, Laboratory of Genetics, Iera Odos 75, 118 55 Athens

Taxonomic and phylogenetic studies in the genus *Pistacia* have been based mostly on morphological traits. In the present study the RAPD method was used to determine the taxonomic and phylogenetic relationships among *P. terebinthus*, *P. palaestina*, *P. chinensis*, *P. lentiscus*, *P. lentiscus* var. *chia*, *P. vera* cv *Aegina*, *P. vera* cv *Nychate* and the male *P. vera* clones A, B and C. Based on the polymorphisms produced by 10 out of the 25 primers used, the genetic distances were estimated according to the formulas of Nei and Li, and Apostol *et al*. and the UPGMA and NJ trees were constructed. All individuals included in this study were separated from each other and were clustered according to the species they belong to. Species *P. terebintus* and *P. palaestina* seem to be the most related ones, while *P. vera* clusters with *P. terebinthus*, *P. palaestina* and *P. chinensis,* revealing a more close phylogenetic relationship of Pistachio with these species than to *P. lentiscus*.

ΑΝΟΣΟΚΥΤΤΑΡΟΧΗΜΙΚΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΗΣ V-PPάσης ΚΑΙ ΤΗΣ S V-ATPάσης ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Ricinus communis* ΜΕΤΑΜΟΡΦΩΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΟ *Agrobacterium tumefaciens*

Ελευθερίου Ε.Π.[1], Hillmer S.[2], Lδuchli A.[3], Lὸttge U.[4], Fischer-Schliebs E.[4], Ratajczak R.[4], Ullrich-Eberius C.[4], Robinson D.[2]

[1]Εργαστήριο Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ., 540 06 Θεσσαλονίκη
[2]Univ. Goettingen, Abt. Structurelle Zellphysiologie, Germany
[3]University of California, Department of Land, Air and Water Resources, U.S.A.
[4]Technische Hochschule Darmstadt, Institut fὸr Botanic, Darmstadt, Germany

Η μεταφορά των ιόντων και των μεταβολιτών διαμέσου της μεμβράνης των χυμοτοπίων των φυτών, του τονοπλάστη, ενεργοποιείται από δύο πρωτογενείς αντλίες πρωτονίων, τη V-τύπου ATPάση και τη V-τύπου PPάση (ανόργανη πυροφωσφατάση), οι οποίες υδρολύουν αντίστοιχα ATP και ανόργανο πυροφωσφορικό (PPi) για τη μεταφορά H^+ από το κυτολύμα στο χυμοτόπιο. Η V-PPάση είναι ένζυμο που συναντάται μόνο στα φυτικά κύτταρα. Οι αντλίες αυτές αποτελούν ένζυμα/δείκτες της μεμβράνης των χυμοτοπίων, χωρίς να σημαίνει ότι συναντούνται αποκλειστικά και μόνο στον τονοπλάστη. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε με ανοσοκυτταροχημεία κολ-λοειδούς χρυσού η ενδοκυτταρική κατανομή των αντλιών πρωτονίων V-PPάση και V-ATPάση σε καρκινώματα βλαστού του φυτού *Ricinus communis* (ρετσινολαδιά) που δημιουργήθηκαν τεχνητά με μόλυνση από το *Agrobacterium tumefaciens* (αγροβακτήριο). Τα αποτελέσματα έδειξαν σαφή εντοπισμό και των δύο ενζύμων στον τονοπλάστη και στην πλασματική μεμβράνη όλων των κυτταρικών τύπων. Σήμανση εντοπίστηκε στην *trans* ζώνη της συσκευής Golgi και του *trans*-Golgi δικτύου περιλαμβανόμενων των καλυμμένων με κλαθρίνη κυστιδίων, σε αντίθεση με τις καλυμμένες εσοχές της πλασματικής μεμβράνης που είχαν πάντα αρνητική σήμανση. Έντονη σήμανση των ενζύμων εντοπίσθηκε στα πολυκυστιδιακά σωμάτια μέσα στο κυτόπλασμα και τα χυμοτόπια, αλλά και σε παρόμοιες δομές, τα πλασμαλημμα-σώματα, που σχετίζονται με την πλασματική μεμβράνη. Με την παρούσα μελέτη επιβεβαιώνεται ότι η V-PPάση και V-ATPάση, τυπικά ένζυμα του τονοπλάστη, δεν έχουν σαφή διαμερισματοποίηση, αφού εντοπίζονται και σε άλλες μεμβρανικές δομές, χωρίς όμως ο βιολογικός τους ρόλος να είναι σαφής.

IMMUNOCYTOCHEMICAL LOCALIZATION OF V-PPase AND V-ATPase IN *Agrobacterium tumefaciens* INDUCED-TUMOURS OF *Ricinus communis*

Eleftheriou E.P.[1], Hillmer S.[2], Lδuchli A.[3], Lὸttge U.[4], Fischer-Schliebs E.[4], Ratajczak R.[4], Ullrich-Eberius C.[4], Robinson D.[2]

[1]Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-540 06, Thessaloniki, Greece
[2]Univ. Gφttingen, Abt. Structurelle Zellphysiologie, Germany
[3]University of California, Dept of Land, Air and Water Resources, Davis, U.S.A.
[4]Technische Hochschule Darmstadt, Institut fὸr Botanic, Darmstadt, Germany

Transport of ions and metabolites across the plant vacuolar membrane, the tonoplast, is energized by two primary proton pumps, the V-type ATPase and the V-type PPase (inorganic pyrophosphatase), which hydrolyze respectively ATP and inorganic pyrophosphate (PPi) to transport H^+ from the cytosol to the vacuole. V-PPase is unique of plant vacuoles. Both enzymes are considered to be markers of the vacuolar membrane, though they are not exclusively localized at the tonoplast.

In the present study the intracellular distribution of V-ATPase and V-PPase has been studied by colloidal gold immunocytochemistry in tumourized tissue of *Ricinus communis* stems induced by *Agrobacterium tumefaciens*. Results showed a clear localization of both enzymes on the tonoplast and the plasma membrane of all cell types from the tumour and control tissues. Labelling was conspicuous on the *trans* pole of the Golgi apparatus including clathrin coated vesicles, in contrast to coated pits at the plasma membrane which remained unlabelled. Also intensely stained with immunogold were the multivesicular bodies, either found in the cytoplasm or the vacuoles. Similar structures associated with the plasma membrane (plasmalem-masomes) were also heavily labelled.

The present study extends the range of anatomical situations where V-PPase and V-ATPase, typical enzymes of tonoplast, do not have a strict compartmentalisation as they are localized also on other cellular membranes, without however their biological role to be clear.

Η ΙΣΧΑΙΜΙΚΗ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΜΕΙΩΝΕΙ ΤΟ ΒΑΘΜΟ ΝΕΚΡΩΣΗΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ ΧΩΡΙΣ ΝΑ ΑΠΟΤΡΕΠΕΙ ΤΟ "ΑΠΟΠΛΗΚΤΟ" ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ

Ευσταθίου Α., Σερασκέρης Σ. και Α. Λάζου

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη

Μικρή περίοδος ισχαιμίας (5min) ακολουθούμενη από μικρής διάρκειας επαναιμάτωση (10 min) ,"ισχαιμική προετοιμασία", βελτιώνει την αιμοδυναμική συμπεριφορά της καρδιάς κατά την επαναιμάτωση, μετά από παρατεταμένο ισχαιμικό επεισόδιο. Στην εργασία αυτή, μελετήθηκε κατά πόσο η βελτίωση της αιμοδυναμικής συμπεριφοράς του μυοκαρδίου κατά την επαναιμάτωση, στις καρδιές που υποβλήθηκαν σε ισχαιμική προετοιμασία, είναι αποτέλεσμα της μείωσης του βαθμού νέκρωσης του μυοκαρδίου ή της αποτροπής των αναστρέψιμων βλαβών (stunned myocardium). Μετά από περίοδο ισχαιμίας 20 λεπτών το ποσοστό νέκρωσης των καρδιακών κυττάρων ήταν ελάχιστο, 5.67±1.47 (εκφραζόμενο ως % του συνολικού όγκου του μυοκαρδίου της αριστερής κοιλίας) στις ισχαιμικά προετοιμασμένες καρδιές, και 7.67±1.17 στο μάρτυρα. Η αναπτυσσόμενη πίεση της αριστεράς κοιλίας, LVDP, (εκφραζόμενη ως % της LVDP κατά τη σταθεροποίηση) ήταν 76,30 ±3.14 και 86.87 ± 5,27 αντίστοιχα. Μετά από περίοδο ισχαιμίας 45 λεπτών η LVDP στις ισχαιμικά προετοιμασμένες καρδιές ήταν 57.41±8.49 ενώ στο μάρτυρα 32.11±4.53 ($P<0.05$). Το αντίστοιχο ποσοστό νεκρωμένου ιστού ήταν 15.73±4.28 και 53.14±5.77 ($P<0.005$), ποσοστό μείωσης 70.4%.

Συμπερασματικά, η βελτίωση της αιμοδυναμικής συμπεριφοράς του μυοκαρδίου μετά από ισχαιμική προετοιμασία οφείλεται στη μείωση του βαθμού νέκρωσης του μυοκαρδίου και όχι στη μείωση του βαθμού αποπληξίας του «stunned myocardium».

ISCHAEMIC PRECONDITIONING: REDUCTION OF INFARCT SIZE BUT NOT ATTENUATION OF STUNNING

Efstathiou A., Seraskeris S. & A. Lazou

Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

Brief transient episodes (5min) of ischaemia followed by short intervals of reperfusion (10 min) improves the postischaemic recovery of myocardial contractile function after a subsequent more sustained ischaemic insult.This phenomenon termed ischaemic preconditioning.In this study we attempted to clarify whether the improvement of postischaemic recovery of contractile function is due to the reduction of infarct size or the attenuation of stunning. After 20 min. of ischaemia the degree of infarct volume was minimal, 5.67 ±1.47 (expressed as percentage of left ventricular volume) in preconditioned hearts and 7.67 ± 1.17 in control hearts. The left ventricular developed pressure, LVDP, (expressed as percentage of LVDP during stabilization) was 76.30 ±3.14 and 86.87 ± 5.27 respectively. After 45 min. of ischaemia the LVDP in preconditioned hearts was 57.41 ± 8.49 and in control hearts 32.11 ± 4.53 ($P<0.05$). The infarct volume for the preconditioned hearts was 15.73 ± 4.28 and for control hearts 53.14 ± 5.77 ($P<0.005$), a reduction of 70.4% in infarct volume.
In conclusion, ischaemic preconditioning preserves postischaemic myocardial contractile function through a prevention of irreversible injury and not through an attenuation of stunning.

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΕΚΒΟΛΗΣ ΛΥΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΘΑΛΑΣΣΑ: ΔΙΑΣΠΟΡΑ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Ευστρατίου Μ.Α.[1], Μαυρίδου Α.[2] και S.C. Richardson[3]

[1]Υπουργείο Γεωργίας
[2]Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας
[3] Πάντειο Πανεπιστήμιο Κοινωνικών και Οικονομικών Επιστημών

Τα απόβλητα μεταφέρουν στη θάλασσα μεγάλο αριθμό χερσόβιων μικροοργανισμών, των οποίων ο αριθμός μειώνεται με την πάροδο του χρόνου. Το θαλάσσιο περιβάλλον, επικουρούμενο από βιολογικούς, χημικούς και φυσικούς παράγοντες δημιουργεί έναν μηχανισμό αυτοκάθαρσης ο οποίος συμβάλλει στην τελική εξολόθρευση των αλλοχθόνων οργανισμών.
Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η σχέση μεταξύ απόστασης από το σημείο απόρριψης των αποβλήτων και μικροβιολογικής ποιότητας του θαλασσινού νερού. Εκατόν δεκαέξι δείγματα νερού συνελλέγησαν από διάφορες αποστάσεις από (α) τον κεντρικό αγωγό στο Κερατσίνι, και (β) την εκβολή του Κηφισού στο Νέο Φάληρο. Τα βακτήρια που μελετήθηκαν ήταν ολικά κολοβακτηρίδια, κολοβακτηρίδια κοπράνων, στρεπτόκοκκοι κοπράνων και υποείδη σαλμονέλλας.
Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η συγκέντρωση βακτηρίων σε απόσταση 1.000 μέτρων από το σημείο απόρριψης στο Κερατσίνι είναι μεγαλύτερη από τις δειγματοληψίες των 800, των 600 ακόμη και των 400 μέτρων. Η συγκέντρωση των βακτηρίων στις παράκτιες δειγματολειψίες 200 και 400 μέτρα μακριά από την έξοδο του Κηφισού ήταν τουλάχιστον 10 φορές μεγαλύτερη από τα 200 και 400 μέτρα μέσα στην ανοικτή θάλασσα.
Συμπεραίνεται ότι η ελάττωση του αριθμού των χερσόβιων μικροοργανισμών δεν αποτελεί γραμμική συνάρτηση της απόστασης από την έξοδο των λημμάτων, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία. Παράγοντες όπως το βάθος της θάλασσας και τα κύματα επηρεάζουν την επιβίωση των αλλόχθονων οργανισμών στο θαλάσσιο περιβάλλον.

ENVIRONMENTAL CONSEQUENCES OF SEWAGE DISCHARGE INTO THE SEA: MICROBIAL DISTRIBUTION

Efstratiou[1] M.A., Mavridou A.[2] & S.C. Richardson[3]

[1]Ministry of Agriculture
[2]The National School of Public Health
[3]Panteion University of Social and Political Sciences, Athens

Sewage carries a great number of terrestrial microorganisms into the sea, which decreases with time. The marine environment, assisted by biological, chemical and physical factors, creates a self-purifying mechanism, which contributes to the final elimination of the allochthonous organisms.
In this study the changes in the microbiological quality of the sea water in relation to the distance from sewage outlets was examined. 116 sea water samples were collected from various distances from a) the Central Sewage Outfal of Athens, in Keratsini and b) the mouth of the small polluted river Kifisos, in Neo Phaliro. The bacteria studied were total coliforms (TC), faecal coliforms (FC), faecal streptococci (FS) and *Salmonella spp*.
The data from the stations near the Central Sewage Outfal demonstrated that 1000m from the outlet the bacterial concentrations were higher than in the stations 800m, 600m, even 400m away. The numbers of the examined microorganisms in the stations on the coast 200m and 400m away from the mouth of river Kifisos were at least tenfold higher than the corresponding numbers 200m and 400m away into the open sea.
It is concluded that the decrease in the numbers of terrestrial microorganisms is not in linear relation with the distance from the sewage outlet, as described in literature. Factors like the depth of the sea and exposure to waves influence the survival of allochthonous organisms in the marine environment.

ΔΟΜΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΓΙΑ ΤΟ ΤΡΙΤΟ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΠΕΣΤΡΟΦΑ

Ζαρκάδης Ι.Κ.[1], Sarrias M.-R.[2], Σφυρόερα Γ.[1], Sunyer O.J.[2] και Ι.Δ. Λάμπρης[2]

[1]Εργ. Γεν. Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστημίου Πατρών, Ρίο Πάτρα
[2]Laboratory of Protein Chemistry, Department of Pathology, School of Medicine, University of Pennsylvania, USA.

Το τρίτο συστατικό του Συμπληρώματος C3, παίζει έναν κεντρικό ρόλο και στις τρείς οδούς ενεργοποίησης του συστήματος (κλασική, εναλλακτική και οδό λεκτίνης). Είναι συστατικό της φλεγμονώδους αντίδρασης και συνδετικός κρίκος μεταξύ φυσικής και μη ανοσίας. Στον άνθρωπο, η C3 πρωτεΐνη βρίσκεται στον ορό σε μεγάλη συγκέντρωση (1.2mg/ml) ΜΒ 185 KDa, αποτελούμενη από δύο πεπτιδικές αλυσίδες, α και β. Για τον χαρακτηρισμό δομικών περιοχών καθώς και περιοχών σύνδεσης, το γονίδιο για το C3 έχει κλωνοποιηθεί σε διάφορους οργανισμούς (σπονδυλωτά και ασπόνδυλα). Η πέστροφα, ένας τετραπλοειδής υπό διπλοειδοποίηση οργανισμός, έχει αναπτυγμένο σύστημα Συμπληρώματος όμοιο με εκείνο στα θηλαστικά. Όμως στην πέστροφα έχουν περιγραφεί 4 διαφορετικές ισομορφές για το μόριο C3 (C3-1, C3-2, C3-3, C3-4). Τα μόρια αυτά διαφέρουν στην πρωτοταγή πεπτιδική δομή, ηλεκτροφορητική κινητικότητα, εικόνα γλυκοσυλιωσης και δυνατότητα σύνδεσης με διάφορους παράγοντες που ενεργοποιούν το Συμπλήρωμα. Τα γονίδια C3-1, C3-3 και C3-4 έχουν κλωνοποιηθεί και πρόσφατα τμήμα του C3-5 έχει απομονωθεί και προσδιορισθεί η νουκλεοτιδική του αλληλουχία. Μία σύγκριση των αμινοξικών αλληλουχιών για τα 4 αυτά μόρια δείχνει την παρακάτω ταυτοσημία: C3-1/C3-3:54.6%, C3-1/C3-4:54.4%, C3-1/C3-5:87%, C3-3/C3-4:76.5%. Οι περιοχές του C3 που περιέχουν τα σημεία πρόσδεσης της προπερδίνης και σχηματισμού του θειοεστερικού δεσμού είναι πολύ συντηρημένες για τις 3 ισομορφές, ενώ η περιοχή σύνδεσης του CR1 και διάσπασης από τον παράγοντα Ι, δείχνουν μικρή ομολογία. Επί πλέον, υπάρχουν αλλαγές στα αμινοξέα His^{1126} και Glu^{1128} για τις τρεις ισομορφές, γεγονός που πιθανόν επιδρά στην ειδικότητα δέσμευσης των πρωτεϊνών με θειο-εστερικό δεσμό, και ίσως μπορεί να εξηγεί τις διαφορές στην απόκριση εναντίον διαφόρων ενεργοποιητών του Συμπληρώματος για τις τρείς ισομορφές του C3.

STRUCTURE OF GENES FOR COMPLEMENT C3 IN TROUT

Zarkadis I.K.[1], Sarrias M.-R.[2], Sfyroera G.[1], Sunyer O.J.[2] & J.D. Lambris[2]

[1]Laboratory of Biology, School of Medicine, University of Patras, Rion Patras
[2]Laboratory of Protein Chemistry, Dept. of Pathology, Univ. of Pennsylvania, USA

The third component of Complement, C3, plays a central role in the three pathways of Complement (classical, alternative and lectin pathway), is an integral component of the inflamatory response and a link between innate and adaptive immunity. In human, C3 is the most abundant complement protein in serum (1.2mg/ml), 185KDa, comprised of two chains α and β. In order to identify important structural and binding domains, C3 cloned from different species. C3-like proteins have been identified from a variety of species, including invertebrates.
The rainbow trout, a quasitetraploid fish, has a complement system similar to that of mammals. However, unlike its mammalian counterpart, four different C3 isoforms have been described in trout, (C3-1, C3-2. C3-3, C3-4). These molecules have differences in their tryptic peptide maps, electrophoretic mobility, glycosylation patterns and ability to bind to different complement activators. We have cloned the C3-1, C3-3, C3-4 genes and also a partial clone for C3-5 gene. A comparison of the deduced amino acid sequences showed identity: C3-3 to C3-4: 76.5%, C3-3 to C3-1: 54.6%, C3-4 to C3-1: 54.4% and C3-1 to C3-5: 87%. The C domains of C3 that contain the thiolester and the properdin binding sites are highly conserved in the three trout isoforms, whereas the region of CR1 binding and factor I cleavage site, showed low amino acid sequence similarity. In addition here are changes on His^{1126} and Glu^{1128} peptides among the three isoforms, that may play an important role in determining binding specificity of the thioester-containing proteins, which may explain the differences in reactivity to complement activators.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΩΣΗΣ ΤΗΣ ΜΙΤΩΤΙΚΗΣ ΑΤΡΑΚΤΟΥ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΚΡΟΡΡΙΖΟΥ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Triticum turgidum* ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΒΡΩΜΙΟΥΧΟ ΑΙΘΙΔΙΟ

Ζαχαριάδης Μ., Γαλάτης Β. και Π. Αποστολάκος

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Πανεπιστημιόπολη 15784, Αθήνα

Στην εργασία αυτή μελετάται ο μηχανισμός οργάνωσης της ατράκτου σε ακρόρριζα του φυτού *Triticum turgidum*, μετά από επίδραση βρωμιούχου αιθιδίου. Η ουσία αυτή αντιπροσωπεύει έναν ισχυρό αναστολέα της σύνθεσης των νουκλεϊκών οξέων, προκαλεί δε τις ακόλουθες διαταραχές της οργάνωσης της ατράκτου και γενικότερα της μιτωτικής πορείας: (1) Σημαντική καθυστέρηση της αποδιοργάνωσης του πυρηνικού φακέλου και αναστολή της ενεργοποίησης των περιπυρηνικών κέντρων οργάνωσης μικροσωληνίσκων (ΚΟΜ) κατά την πρόφαση. Το γεγονός αυτό υποστηρίζει την άποψη ότι οι μοριακοί μηχανισμοί που ελέγχουν τα φαινόμενα συνδέονται μεταξύ τους. (2) Αναστολή της δημιουργίας της διπολικής προφασικής ατράκτου, πιθανώς λόγω ανάσχεσης της ενεργοποίησης των περιπυρηνικών ΚΟΜ. Φαίνεται ότι οι πόλοι της ατράκτου δεν συμμετέχουν στη δημιουργία των μικροσωληνίσκων (ΜΣ) της διπολικής προφασικής ατράκτου, αλλά η δημιουργία της είναι αποτέλεσμα μηχανισμού αυτο-οργάνωσης των περιπυρηνικών ΜΣ. (3) Δημιουργία κατά την προμετάφαση / μετάφαση μιας νέας άτυπης μεταφασικής ατράκτου, απουσία προφασικής ατράκτου. Το γεγονός αποδεικνύει ότι η πρώτη δεν αποτελεί συνέχεια της δεύτερης, όπως είναι γενικότερα αποδεκτό σήμερα. Οι ΜΣ της άτυπης μεταφασικής ατράκτου δημιουργούνται κοντά ή στην επιφάνεια των χρωμοσωμάτων. (4) Ανάσχεση της διάταξης των μεταφασικών χρωμοσωμάτων στο ισημερινό επίπεδο της ατράκτου, γεγονός που οφείλεται πιθανώς σε σημαντικό βαθμό στην αναστολή της αποδιοργάνωσης του πυρηνικού φακέλου. Αποτέλεσμα των παραπάνω διαταραχών είναι η ανάσχεση της ανάφασης. Ο κυτταρικός κύκλος των επηρεασμένων κυττάρων, δεν ακινητοποιείται στην ανάφαση, αλλά αυτά εισέρχονται σε ένα άτυπο τελοφασικό / κυτοκινητικό στάδιο.

MITOTIC SPINDLE ORGANIZATION IN ROOT-TIP CELLS OF *Triticum turgidum*, AFTER ETHIDIUM BROMIDE TREATMENT

Zachariades M., Galatis B. & P. Apostolakos

University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, Athens 157 84

This work examines the mechanism of mitotic spindle organization in root-tips of the angiosperm *Triticum turgidum* after treatment with ethidium bromide. This substance is a strong inhibitor of nucleic acid synthesis and induces the following disturbances in the mitotic spindle organization and the general mitotic process: (1) Delays the disintegration of nuclear envelope and inhibits the activation of the perinuclear microtubule organizing centers (MTOCs) during prophase. This suggests that the mechanisms controlling these phenomena are closely related. (2) Inhibits the formation of the prophase spindle, probably because of the inhibition of the perinuclear MTOC activation. It seems likely, that the spindle poles do not participate in the formation of microtubules (Mts) of the bipolar prophase spindle. The formation of the latter is probably result of the auto-organization ability of the perinuclear Mts. (3) Induces the formation of an atypical metaphase spindle, in the absence of a prophase spindle. This fact show that the former does not originate form the latter, as it is generally believed today. The Mts of the atypical metaphase spindle appear nucleated near or on the chromosome surface. (4) Inhibits the metaphase chromosome arrangement on the equatorial plane of the cell, a phenomenon also related to the delay of the nuclear envelope disintegration. The above disturbances result in the inhibition of anaphase. However, the affected cells are not arrested at anaphase but they enter an atypical telophase/cytokinetic stage.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΗΣ ΜΟΝΑΔΑΣ «SYMI-FISH» ΣΤΗΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΘΑΛΑΣΣΙΟΥ ΥΔΑΤΟΣ

Ζερβουδάκη Σ., Αποστολοπούλου-Μωραϊτου Μ.

Τομέας Ζωολογίας & Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84 Αθήνα.

Η εντατική ιχθυοκαλλιέργεια στην Ελλάδα πραγματοποιείται στο φυσικό θαλάσσιο περιβάλλον και είναι, επομένως, απαραίτητος ο έλεγχος των επιπτώσεων που προκαλεί μια ιχθυοκαλλιεργητική μονάδα στο θαλάσσιο οικοσύστημα. Με την παρούσα εργασία προσεγγίζεται το θέμα της επίδρασης της εντατικής καλλιέργειας ιχθύων σε πλωτούς ιχθυοκλωβούς στην ευρύτερη θαλάσσια περιοχή. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν τον Οκτώβριο 1998 σε πέντε σταθμούς στην περιοχή της νήσου Σύμης (Δωδεκάνησα), όπου βρίσκεται η ιχθυοκαλλιεργητική μονάδα «SYMI-FISH». Οι παράμετροι που προσδιορίστηκαν διακρίνονται σε φυσικοχημικές και βιολογικές. Την περίοδο του Οκτωβρίου, η θερμοκρασία κυμάνθηκε σε φυσικολογικά για την εποχή επίπεδα (20-24°C). Η διαφάνεια του νερού παρουσίασε υψηλές τιμές (19,5-33m). Οι συγκεντρώσεις του διαλυμένου οξυγόνου (5,8-6,9mg/l) ήταν επίσης υψηλές σε όλους τους σταθμούς, ενώ ο σταθμός κοντά στους ιχθυοκλωβούς φαίνεται να διαφοροποιείται από τους υπόλοιπους έχοντας λίγο χαμηλότερες τιμές. Οι συγκεντρώσεις των θρεπτικών αλάτων (φωσφορικά και νιτρικά) είναι σε χαμηλά επίπεδα, γεγονός που δικαιολογείται από τον ολιγοτροφικό χαρακτήρα της περιοχής. Οι τιμές των βακτηρίων εμφανίζονται σε χαμηλά επίπεδα σε όλους σταθμούς, ενώ τα Κυανοβακτήρια παρουσίασαν τιμές σχετικά υψηλές. Οι συγκεντρώσεις της φυτοπλαγκτονικής χλωροφύλλης-*a* κυμάνθηκαν από 0,004 ως 0,211μg/l. Η αφθονία (423-1613ind.m^{-3}) και η βιομάζα του μεσοζωοπλαγκτού (4,5-7,03mg.m^{-3}) δεν παρουσίασαν σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των σταθμών μελέτης. Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρούμε ότι η ιχθυοκαλλιεργητική μονάδα δεν φαίνεται να προκαλεί διατάραξη στις φυσικοχημικές και βιολογικές παραμέτρους τις οποίες χρησιμοποιήσαμε για την εκτίμηση των επιπτώσεων της λειτουργίας της μονάδας, της ευρύτερης θαλάσσιας περιοχής της νήσου Σύμης.

EFFECTS OF THE FISHCULTURE UNIT «SYMI-FISH» ON THE SEA WATER QUALITY

Zervoudaki S., Apostolopoulou-Moraitou M.

Department of Zoology & Marine Biology, Faculty of Biology, University of Athens, 157 84 Athens, Ellas

Since the cultivation of marine organisms is carried out in the natural water environment, it is not possible to control the influence and perhaps to purify it before entering the environment. This study examines the environmental impact of the fishculture unit «SYMI-FISH» to the hydrobiochemical parameters at the coastal area of Symi island (Greece), during October 1998. During this period water temperature ranged at the normal for the season levels (20-24°C). Water transparency presented high values (19,5-33m). The dissolved oxygen concentrations (5,8-6,9mg/l) were also high in most stations, whereas the station near the cages was differentiated from the others having lower values. The nutrients (phoshpates and nitrates) concentrations were low, which is justified from the oligotrophic character of the region. The density of bacteria was low enough in all stations, whereas the Cyanobacteria presented significantly higher values. The concentrations of phytoplanktonic chlorophyll-*a* ranged from 0,004 to 0,211μg/l. The mesozooplankton abundance (1613-423 ind.m^{-3}) and biomass (7,03-4,5 mg.m^{-3}) showed differentiation between stations. According to the above results, it seems that the fishculture unit does not provoke any influence to the hydrobiochemical parameters along the entire coastal area of the Symi island.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

Η ΝΤΟΠΑΜΙΝΗ ΜΙΜΕΙΤΑΙ ΤΙΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ

Ζιώγα Μ. και Α. Λάζου

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Το φαινόμενο της "ισχαιμικής προετοιμασίας" συνίσταται στην προστασία της καρδιάς σε παρατεταμένη ισχαιμία όταν έχουν προηγηθεί επεισόδια μικρής διάρκειας ισχαιμίας. Στην εκδήλωση του φαινομένου συμμετέχουν πολλοί παράγοντες και κυρίαρχο ρόλο παίζει η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C. Διέγερση των α_1 αδρενεργικών υποδοχέων μπορεί επίσης να μιμηθεί τις προστατευτικές επιδράσεις της ισχαιμικής προετοιμασίας. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να διερευνηθεί κατά πόσο η ντοπαμίνη, οι επιδράσεις της οποίας στη συσταλτότητα της καρδιάς είναι γνωστές, μπορεί να μιμηθεί το φαινόμενο και να επιφέρει προστασία στην καρδιά μετά από παρατεταμένη ισχαιμία. Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο της απομονωμένης, εμποτισμένης καρδιάς όπου αξιολογήθηκαν διάφορες αιμοδυναμικές και λειτουργικές παράμετροι. Επίσης κατά τον επανεμποτισμό, μετά την ισχαιμία, μετρήθηκε το ποσοστό νέκρωσης του μυοκαρδίου. Η προετοιμασία με ντοπαμίνη είχε ως αποτέλεσμα αφενός την καλύτερη λειτουργική ανάκτηση της καρδιάς μετά την ισχαιμία αφετέρου μικρότερο ποσοστό νέκρωσης του μυοκαρδίου. Η αναπτυσσόμενη πίεση στην αριστερή κοιλία ανέκτησε σε ποσοστό 62,14±5,15 % στις καρδιές στις οποίες είχε χορηγηθεί ντοπαμίνη σε σύγκριση με 30,6±2,29% στους μάρτυρες και 54,65±3,65 στις καρδιές που είχαν υποστεί ισχαιμική προετοιμασία. Επίσης το ποσοστό νέκρωσης του μυοκαρδίου ήταν 11,95±4,78%, 49,34±2,53% και 22,16±3,70% αντίστοιχα. Η ταυτόχρονη χορήγηση προπρανολόλης, ενός β-αδρενεργικού αναστολέα δεν ανέστειλε τις προστατευτικές επιδράσεις της προετοιμασίας με ντοπαμίνη. Τα αποτελέσματα αποτελούν ένδειξη ότι η ντοπαμίνη μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στο μηχανισμό της ισχαιμικής προετοιμασίας. Ο μηχανισμός δράσης της απομένει να αποσαφηνιστεί σε περεταίρω μελέτες.

DOPAMINE MIMICS THE EFFECTS OF ISCHEMIC PRECONDITONING IN RAT HEART

Zioga M. & A. Lazou

Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

Ischemic preconditioning refers to the phenomenon where the exposure of the heart to low-duration ischemia insults renders the myocardium resistant to damages during a subsequent ischemic insult. Many factors have been reported to be involved in the phenomenon, the main one being the activation of protein kinase C. In addition, stimulation of α_1 adrenergic receptors mimics the effects of ischemic preconditioning. The aim of the present study is to determine whether dopamine, with the known cardiac effects, can mimic the phenomenon and confer protection to the heart after ischemic insults. The model of the isolated, perfused heart was used and hemodynamic and functional parameters of the heart were measured. Infarct size was determined at the end of the reperfusion period. Preconditioning with dopamine resulted in better functional recovery of the heart and reduced infarct size. The left ventricular developed pressure recovered to 62.14±5.15 % in dopamine preconditioned hearts compared with 30.6±2.29% in control and 54.65±3.65% in ichemic preconditioned hearts. Infarct size was 11.95±4.78%, 49.34±2.53% and 22.16±3.70%, respectively. Pretreatment with propranolol, a β-adrenergic receptor antagonist did not abort the protective effect of dopamine on the heart. The results give evidence for the role of dopamine in ischemic preconditioning. The molecular mechanisms of this effect remain to be determined in future studies.

ΜΕΛΕΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΚΥΠΡΙΝΟΥ (*Cyprinus carpio*) ΤΗΣ ΒΟΡΕΙΑΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Ζωγράφος Μ., *Πάσχος Ι. και Κ. Τριανταφυλλίδης

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσ/νίκης, Τμήμα Βιολογίας, 54006, Θεσσαλονίκη
***Δημοτική Επιχείρηση Λίμνης Ιωαννίνων, Λορέντζου Μαβίλη, Τ.Κ.45500, Ιωάννινα**

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν οκτώ πληθυσμοί κυπρίνου (*Cyprinus carpio*) οι οποίοι συλλέχθηκαν από δύο ποτάμια (Αλιάκμονας και Έβρος), πέντε λιμναία (Βόλβη, Δοϊράνη, Καστοριά, Βιστωνίδα και Πρέσπες) συστήματα και έναν Ιχθυογεννητικό Σταθμό (Ιωάννινα). Για τη μελέτη της μορφολογικής ποικιλότητας των πληθυσμών μετρήθηκαν, σε κάθε ψάρι, 7 μεριστικά και 23 πλαστικά χαρακτηριστικά. Επίσης, για τη μελέτη του πρωτεϊνικού πολυμορφισμού χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ηλεκτροφόρησης σε άμυλο.
Οι τιμές των μορφολογικών χαρακτηριστικών υπέστησαν μετασχηματισμό και στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι ακόλουθες παράμετροι: ελάχιστη, μέγιστη, μέση τιμή, τυπικό σφάλμα και τυπική απόκλιση. Από τις παραπάνω παραμέτρους υπολογίστηκε ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV) για κάθε μετρούμενο χαρακτηριστικό.
Σε ό,τι αφορά στον πρωτεϊνικό πολυμορφισμό, μελετήθηκαν 10 ενζυμικά συστήματα, τα οποία αντιστοιχούν σε 22 γονιδιακούς τόπους. Συνολικά βρέθηκαν 36 αλληλόμορφα. Ο αναμενόμενος βαθμός ετεροζυγωτίας κυμαίνονταν από 0,077 έως 0,134 και το ποσοστό των πολυμορφικών γονιδιακών τόπων από 22,7% έως 40,9%. Η τιμή της F_{ST} ήταν 0,045, ενώ όλοι οι πληθυσμοί βρέθηκαν σε ισορροπία Hardy-Weinberg για τους πολυμορφικούς γονιδιακούς τόπους.

Το πρόγραμμα υποστηρίχθηκε από το Υπουργείο Ανάπτυξης (ΥΠΕΡ) σε συνεργασία με τη Δημοτική Επιχείρηση Λίμνης Ιωαννίνων (Δ.Ε.Λ.Ι.).

AN INVESTIGATION OF THE MORPHOLOGICAL AND PROTEIN VARIABILITY IN CARP (*CYPRINUS CARPIO*) POPULATIONS OF NORTHERN GREECE

Zografos M., *Paschos J., & C. Triantaphyllidis

Aristotle University of Thessaloniki, School of Biology, P.O. 54006, Thessaloniki, Macedonia, Hellas
***Municipal Company of Ioannina Lake (D.E.L.I), Lorentzou Mavili str., GR 45500 Ioannina Hellas.**

Eight populations of carp (*Cyprinus carpio*) collected from two rivers (Aliakmon and Evros), five lakes (Volvi, Doirani, Kastoria, Vistonida and Prespes) and one hatchery (Ioannina), were examined. Seven meristic and 23 plastic characters were measured in each fish, in order to study the morphological variability among the populations. Furthermore, starch gel electrophoresis was used in order to determine the genetic structure of these populations..
Morphometric values were transformed and the following parameters were calculated : Minimum (min), Maximum (max) value, the Average (avg), the Standard Error (m) and the Standard Deviation (std). From these values the Coefficient Variation (CV) for each measured character was calculated.
As far as the protein variability concerns, ten enzyme systems were examined which correspond to 22 putative enzyme loci. In total, 36 alleles were found. The expected degree (H_e) of heterozygosity was fluctuated between 0.077 and 0.134 and the percentage of the polymorphic loci between 22.7% and 40.9%. The F_{ST} value was 0.045, whereas all the populations were in Hardy - Weinberg equilibrium for the polymorphic loci.

The program was supported by the Ministry of Development in cooperation with the Municipal Company of Ioannina Lake (D.E.L.I.).

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΟΧΙΑΚΗΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ ΤΗΣ ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΠΟΤΑΜΩΝ: ΚΑΛΑΜΑΣ,ΑΧΕΡΟΝΤΑΣ,ΑΛΦΕΙΟΣ, ΠΗΝΕΙΟΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΒΕΝΘΙΚΩΝ ΜΑΚΡΟΑΣΠΟΝΔΥΛΩΝ ΩΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Ηλιοπούλου-Γεωργουδάκη Ι., Κασπίρης Π., Κάντζαρης Β. και Π. Καθάριος

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Πανεπιστήμιο Πατρών 26500 Πάτρα

Η αναγκαιότητα της χρήσης των βενθικών μακροασπονδύλων ως βιολογικών δεικτών για την παρακολούθηση της ρύπανσης των ρεόντων υδάτων έχει επισημανθεί από την οδηγία 94C 222/06 (10/08/1994) της Ευρωπαϊκής Ένωσης αλλά και από την υπό διαμόρφωση Οδηγία για την Ευρωπαϊκή Πολιτική στα νερά. Στην Ελλάδα έχει ξεκινήσει προσπάθεια για τη πλήρη εναρμόνιση της χώρας μας με τις υπάρχουσες κοινοτικές οδηγίες καθώς και για την επιστημονική συνεισφορά μας στην υπό διαμόρφωση οδηγία. Έτσι στα πλαίσια του προγράμματος «Οικολογική Ποιότητα Επιφανειακών Υδάτων, Έλεγχος, Ταξινόμηση Αποδεκτών και Τεχνογνωσία Εφαρμογής Οικολογικών Κριτηρίων Ποιότητας», βρίσκεται σε εξέλιξη μελέτη της οικολογικής ποιότητας των ρεόντων υδάτων των ποταμών Καλαμάς και Αχέροντας που ανήκουν στη βόρεια υδρολογική λεκάνη και των ποταμών Αλφειός και Πηνειός που βρίσκονται στη νότια υδρολογική λεκάνη της χώρας μας. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιούνται εποχιακές δειγματοληψίες σε επιλεγμένους σταθμούς, αντιπροσωπευτικούς για κάθε ποταμό. Η συλλογή των μακροασπονδύλων πραγματοποιείται με τη χρήση της μεθόδου Surber (ISO 8265) και η αναγνώρισή τους γίνεται στο κατώτερο δυνατό taxon. Συγχρόνως λαμβάνονται μετρήσεις φυσικοχημικών παραμέτρων (θερμοκρασία, DO_2, PH, αγωγιμότητα, TDS, PO_4, NO_3, NO_2, NH_3, SO_4, SiO_2, BOD_5). Για την ποιοτική εκτίμηση των υδάτων εφαρμόστηκε κατ' αρχήν ο βελγικός βιοτικός δείκτης (Belgian Biotic Index BBI) σύμφωνα με τα αποτελέσματα του οποίου η ποιότητα των υπό μελέτη ρεόντων υδάτων μπορεί να χαρακτηριστεί από μέτρια έως καλή και για τις δύο πρώτες δειγματοληψίες, αποτέλεσμα το οποίο βρίσκεται σε αντιστοιχία με αυτό των φυσικοχημικών παραμέτρων.

STUDY OF THE SEASONAL FLUCTUATION OF THE ECOLOGICAL QUALITY IN THE RIVERS: KALAMAS, ACHERONTAS, ALFEIOS, PINEIOS WITH THE USE OF BENTHIC MACROINVERTEBRATES AS BIOLOGICAL INDICATORS

Iliopoulou-Georgudaki, J., Kaspiris P., Kantzaris B. & P. Katharios

**Department of Biology, Section of Animal Biology, University of Patras,
Patras 26500 Greece**

The necessity of the use of benthic macroinvertebrates as biological indicators for the monitoring of running waters quality has been pointed out by the 94C 222/06 (10/08/1994) directive of the European Union as well as in the under shape Directive for the European Policy for the water. In Greece has began an assay for the complete harmonization of our country with the existing European Union directives as well as for our scientific contribution to the under shape directive. Therefore according to the research project "Ecological Quality of Surface Waters, Checking, Classification of Receivers and Knowledge of Appliance of Ecological Quality Criteria" a study of the ecological quality of the running waters of the rivers Kalamas, Acherontas (north hydrologic basin) Alfeios and Pineios, (south hydrological basin) of our country is in progress.

For this purpose seasonal sampling takes place in selected stations characteristic for every river. The collection of the macroinvertebrates is made with the Surber method (ISO 8265) and they are identified to lower possible taxonomical level. In addition several physicochemical parameters (temperature, DO_2, PH, conductivity, TDS, PO_4, NO_3, NO_2, NH_3, SO_4, SiO_2, BOD_5) are measured.

For the water quality assessment the Belgian Biotic Index (BBI) was applied and according to its results the quality of the under study running waters can be considered moderate to good for both first samplings, which is in agreement to the physicochemical measurements.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΠΡΟΣΣΕΓΙΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΣΥΜ-ΠΑΤΡΙΩΝ, ΕΝΔΗΜΙΚΩΝ ΤΗΣ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ, ΕΙΔΩΝ *Podarcis peloponnesiaca* ΚΑΙ *Lacerta graeca*

Παφίλης Π.[1], Μαραγκού Π.[2], Θεολογίδης Ι.[1], Γαλάνης Γ.[1], και Ε.Δ. Βαλάκος[1]

[1]Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Ζωγράφου
[2] WWF Ελλάς, Φιλελλήνων 26, 105 58 - Αθήνα

Οι σαύρες σαν εξώθερμα ζώα, εξαρτώνται άμεσα από το περιβάλλον τους και θερμορυθμίζουν προς αυτό ακολουθώντας ανάλογα πρότυπα συμπεριφοράς.
Προκειμένου να απαντήσουμε στο ερώτημα εάν η Θερμική Βιολογία των σαυρών καθορίζεται από την φυλογενετική ιστορία ή από την επιλογή του ενδιαιτήματος ακολουθήσαμε την παρακάτω μεθοδολογία.
Αρχικά επιχειρήθηκε συνδυασμός των θερμοκρασιακών τιμών από άτομα στο πεδίο με αυτές του αέρα και του υποστρώματος. Παράλληλα, ελήφθησαν μετρήσεις από διαδρόμους θερμοκρασιακής κλίσης σε ζώα που συλλέχθηκαν πρόσφατα αλλά και σε σαύρες που αφέθηκαν για εγκλιματισμό σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Επιπλέον για να εκτιμηθεί το φάσμα των λειτουργικών θερμοκρασιών που είναι διαθέσιμες στο πεδίο, τοποθετήθηκαν μεταλλικά μοντέλα έτσι ώστε να καλυφθούν όσο το δυνατό περισσότερα μικροενδιαιτήματα.
Η μέση ετήσια θερμοκρασία στα δύο είδη είναι μάλλον παραπλήσια. Αντίθετα μέσα στις εποχές παρατηρείται σαφής διαφοροποίηση. Γενικά η *L. graeca* εμφανίζεται πιο συντηρητική στις διακυμάνσεις της ενώ η *P. peloponnesiaca* παρουσιάζει συμπεριφορά μερικού θερμοσυμμορφωτή.
Τα πρότυπα δραστηριότητας ερμηνεύονται εν μέρει από το εύρος των δυνατών θερμοκρασιών όπως αυτό υπολογίζεται από τα μοντέλα. Τέλος από τις επιλεγόμενες θερμοκρασίες υπολογίζονται τα θερμοκρασιακά βέλτιστα.

A COMPARATIVE APPROACH OF THE THERMAL BIOLOGY OF THE SYMPATRIC, ENDEMIC OF PELOPONNISOS, SPECIES Podarcis peloponnesiaca AND Lacerta graeca

Pafilis P.[1], Maragou P.[2], Theologidis J.[1], Galanis G.[1] & E.D.Valakos[1]

[1] Department of Animal and Human Physiology, School of Biology, University of Athens, 157 84 Panepistimiopolis, Athens, Ellas
[2] WWF Ellas, Fillelinon 26, Athens, 105 58 - Ellas

Like typical ectotherms, lizards are depending directly from their environment and they thermoregulate by adopting particular patterns of activity.
In the present study we look over the differences between the two species thermal comportment. The Thermal Biology of the lizards may be influenced by the different fylogenetic history or by the habitat selection. In order to respond at this problem, we apply the following methodology.
We correlate body temperatures with the temperature of the air and that of the substrate at the field. In the lab we took measurements in a thermal gradient by using animals just captured or other which were acclimated in different temperatures. For the estimation of the functional temperature spectrum, we used metallic models so that the microhabitat variety will be covered.
The average annual temperature in the two species seems to be more or less the same although a significant seasonal variation has been observed. *L. graeca* is rather conservative and appears to occur a constant pattern. In contrary *P. peloponnesiaca* could be described like a partial thermoregulator because of its fluctuations during the year. An explanation of the activity rates is attempted by analyzing the temperature width as it is given from the models. Thermal optima are estimated from the selective temperatures.

ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΩΝ ΜΕ ΘΥΡΕΟΣΦΑΙΡΙΝΗ: ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΕ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ

Θρασυβουλίδης Α. και Π. Λυμπέρη

Τμήμα Ανοσολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, Αθήνα

Μελετήθηκε η ορολογική απόκριση έναντι θυρεοειδικών αντιγόνων, κατά την υπερανοσοποίηση κουνελιών με ανθρώπινη θυρεοσφαιρίνη (Tg). Σε δύο ενήλικα λευκά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας ενέθηκαν υποδορίως 2.5mg ανθρώπινης Tg, σε αιώρημα πλήρους ανοσοενισχυτικού εκδόχου του Freund (CFA) ανά τρεις εβδομάδες, συνολικά έξι φορές (στάδια I-VI). Αιμοληψία έγινε πριν την ανοσοποίηση (στάδιο 0) και 8-10 ημέρες μετά από κάθε ανοσοποίηση (στάδια I-VI). Δύο ζώα ελέγχου ενέθηκαν μόνο με CFA. Οι οροί, καθώς και απομονωμένα (με χρωματογραφία συγγένειας) αντι-Tg αντισώματα από τα στάδια 0-VI, ελέγχθηκαν με μη ανταγωνιστική και ανταγωνιστική ELISA, για δραστικότητα έναντι θυρεοειδικών αντιγόνων: ανθρώπινη και ετερόλογες Tg, ορμόνες T_3 και T_4, ανθρώπινη θυρεοειδική υπεροξειδάση (TPO), καθώς και τρία συνθετικά πεπτίδια της ανθρώπινης Tg (2339-2358, 2471-2490 και 2651-2670). Επίσης, μετρήθηκαν οι ορμόνες T_3 και T_4 στον ορό των ζώων. Στα ζώα που ενέθηκαν με Tg, από την 1η αναμνηστική ένεση (στάδιο II) και μετά, παρατηρήθηκαν τα ακόλουθα: 1) Υψηλή δραστικότητα των αντιορών έναντι της ανθρώπινης Tg και χαμηλότερη έναντι ετερόλογων Tg. Στους στόχους των αντι-Tg αντισωμάτων συμπεριλαμβάνονται επομένως και συντηρητικοί επίτοποι. 2) Ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι των θυρεοειδικών ορμονών, η δραστικότητα των οποίων μεγιστοποιείται στο στάδιο IV. 3) Σημαντική δραστικότητα έναντι TPO, η οποία αυξάνεται στα επόμενα στάδια και οφείλεται σε διασταυρούμενη αντίδραση με την Tg. 4) Ισχυρή ανοσοαπόκριση έναντι ενός επιτόπου στην περιοχή 2651-2670 της ανθρώπινης Tg. 5) Σημαντική αύξηση των επιπέδων των ολικών θυρεοειδικών ορμονών στον ορό των ζώων, που αποτελεί ένδειξη για επαγωγή νόσου. Διερευνάται η αξιοποίηση των ζώων αυτών ως πειραματικού προτύπου της αυτοάνοσης θυρεοειδικής νόσου στον άνθρωπο.

EXPERIMENTAL THYROGLOBULIN IMMUNIZATION: IMMUNE RESPONSE TO THYROID ANTIGENS

Thrasyvoulides A. & P. Lymberi

Dept of Immunology, Hellenic Pasteur Institute,
127 Vas. Sofias Avenue, Athens

We studied the serological response to thyroid antigens during hyperimmunization of rabbits with human thyroglobulin (Tg). Two adult New Zealand white rabbits were injected subcutaneously with 2.5mg of human Tg in complete Freund's adjuvant (CFA) six times, every three weeks (stages I-VI). Animals were bled before priming (stage 0) and 8-10 days after each immunization (stages I-VI). Two control animals were injected only with CFA.Sera and affinity-purified anti-Tg antibodies from stages 0-VI were tested by non-competitive and competitive ELISA, for reactivity to thyroid antigens: human and heterologous Tgs, T_3 and T_4 hormones, human thyroid peroxidase (TPO) and three human Tg synthetic peptides (2339-2358, 2471-2490 and 2651-2670). Moreover, T_3 and T_4 hormones were measured in animal sera. In Tg-immunized rabbits, the following data were obtained from the 1st boosting (stage II) onward: 1) High reactivity of antisera to human Tg and lower reactivity to heterologous Tgs. Apparently, conservative epitopes are included in the targets of anti-Tg antibodies. 2) Antibodies to thyroid hormones were produced, the reactivity of which was maximum at stage IV. 3) High reactivity to TPO was detected, which increased in subsequent stages and was due to cross-reaction with Tg. 4) Strong response to an epitope in the region 2651-2670 of human Tg. 5) A dramatically increased level of thyroid hormones in animal sera, suggesting the development of disease. We investigate the value of these animals as a model for human autoimmune thyroid disease.

ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΩΝ ΜΕ ΘΥΡΕΟΣΦΑΙΡΙΝΗ: ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΕ ΜΗ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ

Θρασυβουλίδης Α. και Π. Λυμπέρη

Τμήμα Ανοσολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Βασ. Σοφίας 127, Αθήνα

Κατά την υπερανοσοποίηση κουνελιών με ανθρώπινη θυρεοσφαιρίνη (Tg), μελετήθηκε η ορολογική απόκριση έναντι ποικίλων μη θυρεοειδικών αντιγόνων. Σε δύο ενήλικα λευκά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας ενέθηκαν υποδορίως 2.5mg ανθρώπινης Tg, σε αιώρημα πλήρους ανοσοενισχυτικού εκδόχου του Freund (CFA) ανά τρεις εβδομάδες, συνολικά έξι φορές (στάδια I-VI). Αιμοληψία έγινε πριν την ανοσοποίηση (στάδιο 0) και 8-10 ημέρες μετά από κάθε ανοσοποίηση (στάδια I-VI). Δύο ζώα ελέγχου ενέθηκαν μόνο με CFA. Οι οροί και απομονωμένα αντι-Tg αντισώματα από τα στάδια 0-VI, ελέγχθηκαν με μη ανταγωνιστική και ανταγωνιστική ELISA, για δραστικότητα έναντι μη θυρεοειδικών αντιγόνων: βόεια αλβουμίνη ορού (BSA), φυσικό DNA (nDNA), ανθρώπινη μυοσίνη, ανθρώπινη ακτίνη, σφαιρική (G) και ινώδης (F), καθώς και τουμπουλίνη χοίρου. Τα ορολογικά ευρήματα έχουν ως εξής: Υψηλή δραστικότητα έναντι μυοσίνης παρατηρήθηκε από το στάδιο II και μετά. Σημαντική είναι και η δραστικότητα έναντι F-ακτίνης που παραμένει υψηλή μέχρι το στάδιο VI. Η δραστικότητα έναντι BSA αυξήθηκε παροδικά στο στάδιο III. Μικρή αύξηση παρουσίασε η δραστικότητα έναντι G-ακτίνης κατά το στάδιο III, ενώ δεν αυξήθηκε η δραστικότητας έναντι nDNA και τουμπουλίνης. Από τη μελέτη των απομονωμένων αντι-Tg αντισωμάτων διαπιστώθηκε ότι η δραστικότητα έναντι F-ακτίνης δεν οφείλεται σε διασταυρούμενη αντίδραση με την Tg. Αντίθετα, τα αντι-μυοσίνης αντισώματα, στα πρώτα στάδια εμφανίζουν διασταυρούμενη αντίδραση με την Tg, ενώ στο στάδιο VI γίνονται ειδικά μόνο για μυοσίνη. Τα αντι-BSA αντισώματα στο στάδιο III εμφανίζουν επίσης διασταυρούμενη αντίδραση με την Tg. Συμπεραίνεται ότι στα πρώτα στάδια υπερανοσοποίησης με Tg, τα αντι-Tg αντισώματα εμφανίζουν διασταυρούμενη αντίδραση με άλλα αντιγόνα (διέγερση κλώνων Β-κυττάρων που παράγουν πολυειδικά φυσικά αυτοαντισώματα;), ενώ στο τελικό στάδιο εξειδικεύονται αποκλειστικά για την Tg.

EXPERIMENTAL THYROGLOBULIN IMMUNIZATION: IMMUNE RESPONSE TO NON-THYROID ANTIGENS

Thrasyvoulides A. & P. Lymberi

Dept of Immunology, Hellenic Pasteur Institute,
127 Vas. Sofias Avenue, Athens

During hyperimmunization of rabbits with human thyroglobulin (Tg), we studied the serological response to several non-thyroid antigens. Two adult New Zealand white rabbits were injected subcutaneously with 2.5mg of human Tg in complete Freund's adjuvant (CFA) six times, every three weeks (stages I-VI). Animals were bled before priming (stage 0) and 8-10 days after each immunization (stages I-VI). Two control animals were injected only with CFA. Sera and affinity-purified anti-Tg antibodies from stages 0-VI were tested by non-competitive and competitive ELISA, for reactivity to non-thyroid antigens: bovine serum albumin (BSA), native DNA (nDNA), human myosin, human globular (G) and filamentous (F) actin and porcine tubulin. The following serological data were obtained: High reactivity to myosin was observed from stage II onward. Significant reactivity to F-actin, remaining high up to stage VI, was also detected. Reactivity to BSA peaks at stage III. Small increase was observed for reactivity to G-actin at stage III, while no increase of reactivity was observed for nDNA and tubulin. The study of affinity-purified anti-Tg antibodies revealed that reactivity to F-actin was not due to cross-reaction with Tg. On the contrary, anti-myosin antibodies during the first stages were cross-reactive with Tg, while at stage VI they became myosin-specific. Anti-BSA antibodies at stage III were also cross-reactive to Tg. We conclude that during the first stages of hyperimmunization with Tg, anti-Tg antibodies cross-react with other antigens (expansion of B-cell clones producing natural polyspecific autoantibodies?), whereas, at the final stage the response becomes highly specific to Tg.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΛΕΠΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΕΝΤΕΡΟΥ, ΥΠΟΓΝΑΘΙΟΥ ΑΔΕΝΑ ΚΑΙ ΠΑΡΩΤΙΔΙΚΟΥ ΑΔΕΝΑ ΕΝΟΣ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΟΝΤΙΚΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΥΣΤΙΚΗ ΙΝΩΣΗ

Θωμόπουλος Γ.Ν.[1], Shori D.K.[2], Κώστα Α.[1], Δημοπούλου Α.[1], Hartley R.[2] και W.H. Colledge[3]

[1]Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη, Ελλάς,
[2]King's College, London, UK
[3]University of Cambridge, Cambridge, UK

Η κυστική ίνωση (ΚΙ) είναι μια θανατηφόρος γενετική ασθένεια που χαρακτηρίζεται από αλλαγές στα επιθηλιακά κύτταρα διαφόρων ιστών, εξαιτίας ανεπαρκούς ενυδάτωσης των εκκριτικών προϊόντων τους, και από αλλαγές στη σύσταση των υδατανθράκων στα εκκριτικά προϊόντα. Η κύρια αιτία της ΚΙ είναι η αλλαγή ενός καναλιού Cl^- που ενεργοποιείται από την cAMP. Στην εργασία αυτή εξετάζεται η λεπτή δομή κυττάρων εντέρου, υπογνάθιου αδένα και παρωτιδικού αδένα σ' ένα Δf-508 μοντέλο ποντικού για την ΚΙ. Τα καλυκοειδή και τα απορροφητικά κύτταρα του εντερικού επιθηλίου έχουν την ίδια μορφολογία, όπως στα κανονικά ποντίκια, αλλά σε μερικές περιπτώσεις τα εκκριτικά κοκκία των καλυκοει-δών κυττάρων παρουσιάζουν ελασματοειδείς διαμορφώσεις στο εσωτερι-κό τους. Στον αγωγό του εντέρου των ποντικών με ΚΙ το έκκριμα φαίνε-ται πιο παχύρευστο ενώ παρατηρούνται επίσης πολλά βακτήρια, λευκο-κύτταρα και κυτταρικά θραύσματα. Διήθηση λευκοκυττάρων είναι επίσης εμφανής σε πολλές περιπτώσεις. Τα εκκριτικά κοκκία στα κυψελοειδή κύτταρα του υπογνάθιου αδένα ποντικών με ΚΙ, έχουν κανονική εμφάνιση, είναι PATCH-SP θετικά, αλλά το περιεχόμενό τους είναι πιο πυκνό απ' ότι στα αντίστοιχα κοκκία κανονικών ποντικών. Ορισμένα εκκριτικά κοκκία των κυψελοειδών κυττάρων στα ποντίκια με ΚΙ παρουσιάζουν μισή θετική και μισή αρνητική αντίδραση μετά τη χρώση με PATCH-SP. Τα περισσότερα εκκριτικά κοκκία στα κύτταρα των κοκκιωδών σωλήνων των υπογνάθιων αδένων με ΚΙ έχουν κανονική μορφολογία, αλλά ορισμέ-να παρουσιάζουν «αφρώδη» άκρα θετικά στη χρώση με PATCH-SP. Σε αντίθεση με τα κανονικά ποντίκια, τα εκκριτικά κοκκία του παρωτιδικού αδένα ποντικών με ΚΙ είναι πολυμορφικά και οι ηλεκτρονικά πυκνές περιοχές τους παρουσιάζουν ασθενή χρώση με την αντίδραση PATCH-SP.

ULTRASTRUCTURAL STUDIES IN THE INTESTINAL, SUB-MANDIBULAR GLAND AND PAROTID GLAND CELLS OF A CYSTIC FIBROSIS MOUSE MODEL

Thomopoulos G.N.[1], Shori D. K.[2], Kosta A.[1], Dimopoulou A.[1], Hartley R.[2] & W.H. Colledge[3]

[1]Aristotle University, Thessaloniki, Greece,
[2]King's College, London, UK,
[3]University of Cambridge, Cambridge,UK

Cystic fibrosis (CF) is a fatal genetic disorder and it is characterized by abnormalities in the epithelia of different tissues, possibly as a result of inadequate hydration of their secretions. CF is also characterized by secretion of glycoconjugates with altered carbohydrate composition. The primary defect in cystic fibrosis is the altered activity of a cAMP-activated Cl^- channel, the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) channel. About ten different CF mouse models have been developed in order to examine the different aspects of the disease in an animal model. In this study we report the ultrastructural characteristics of the intestinal, submandibular and parotid gland cells, using conventional and histochemical glycoconjugate (periodic acid - thiocarbohydrazide - silver proteinate - PATCH-SP) staining, of the ΔF 508 CF mouse model developed in Cambridge, UK. In the intestine, the goblet and absorptive cells have the same appearance as in the control animals, but in some cases the secretory granules of the goblet cells display laminated structures. In the lumen of CF animals, the secretory material appears thick and many bacteria, leukocytes and cytoplasmic fragments are seen. Furthermore infiltration by leukocytes into the cytoplasm is obvious. In the sub-mandibular glands of these animals, the secretory granules of the acinar cells carry a normal-looking morphology, are PATCH-SP positive but their contents are denser than controls. Occasionally, some secretory granules of the acinar cells were half PATCH-SP positive and half PATCH-SP negative. Most secretory granules of the GCT (granular convoluted tubule) cells show normal morphology but some granules display a PATCH-SP positive edge with a foamy appearance. Finally, in contrast to the control glands, the secretory granules of the parotid gland cells are polymorphic, and their electron dense parts are weakly PATCH-SP positive.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Sclerotium cepivorum* ΑΠΟ ΤΟ ΜΥΚΟΠΑΡΑΣΙΤΟ *Coniothirium minitans*

Καλόσακα Κ. και Χρ. Χριστιάς

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας 26500 Ρίο, Πάτρα

Το *Sclerotium cepivorum* είναι ένας φυτοπαθογόνος μύκητας που προσβάλλει πολλά είδη του γένους *Allium* (*A. cepa, A. sativum*) κ.ά., με καταστροφικές συνέπειες για την Ελληνική παραγωγή βολβοδών λαχανικών. Μια μέθοδος αντιμετώπισης του φυτοπαθογόνου βασίζεται στον έλεγχο της δράσης του χάρη στον παρασιτισμό από έναν άλλο μύκητα μη φυτοπαθογόνο. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η αλληλεπίδραση μυκηλιακής μορφής του μυκοπαράσιτου *Coniothirium minitans* με σκληρώτια του *S. cepivorum* με τη χρήση οπτικής και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας και με βιοχημικές αναλύσεις στο μοριακό επίπεδο. Ο μυκοπαρασιτισμός επιβεβαιώθηκε: α) με τη χρησιμοποίηση των σκληρωτίων του *S. cepivorum* ως βάση τροφής από το *C. minitans,* β) από την ανάπτυξη πλούσιου μυκηλίου του *C. minitans* και πυκνιδίων ως επακόλουθο του α΄, και γ) από τις δομικές και μορφολογικές αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν στη εξωτερική επιφάνεια των «παρασιτισμένων» σκληρωτίων. Η ανίχνευση υδρολυτικών ενζύμων στο μέσον καλλιέργειας του *C. minitans* λόγω της ταυτόχρονης ύπαρξης σκληρωτίων του *S. cepivorum* απουσία άλλου θρεπτικού μέσου, είναι μία πρόσθετη επιβεβαίωση του μυκοπαραστιτσμού. Τα πειράματα αυτά βρίσκονται σε εξέλιξη.

A STUDY OF PARASITISM OF PHYTOPATHOGENIC FUNGUS *Sclerotium cepivorum* BY THE MYCOPARASITE *Coniothirium minitans*

Kalosaka K. & Chr. Christias

University of Patras, Department of Biology, 26500 Rio Patras, Greece

Sclerotium cepivorum is a phytopathogenic fungus, which attacks many species of the genus ***A.*** *Allium* (*A. cepa, sativum*) etc. with catastrophic results for the Greek agricultural production. A method to overcome the phytopathogenic effects is based on the control of the phytopathogen through its parasitism by another non-phytopathogenic fungus. In the present work the interaction of mycelia of the mycoparasite *Coniothirium minitans* with sclerotia of *S. cepivorum* was studied using both photonic and electronic microscopy and biochemical analysis at the molecular level. The mycoparasitism was confirmed: a) by the use of sclerotia of *S. cepivorum* as food base by *C. minitans,* b) by the development of rich mycelium and pycnidia of *C. minitans* as a result of a), and c) from the structural and morphological alterations that were observed on the surface of the 'parasitized' sclerotia. The detection of hydrolytic enzymes in the culture medium of *C. minitans* due to the simultaneous presence of sclerotia of *S. cepivorum*, in the absence of any other culture medium is an additional proof of mycoparasitism. These experiments are in progress.

Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ, ΤΟ ΙΝΩΔΟΛΥΤΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΚΑΙ ΤΟ ΔΙΑΛΥΤΟ ICAM-1 ΟΡΟΥ ΣΕ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ (ΡΑ)

Κάμπερ Ε.Φ., Κοπείκινα Λ.Τ., Τρόντζας Π., Ποταμιάνου Α., Τσιρόγλου Ε., Σταυρίδης Ι.

Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθήνας, Μ. Ασίας 75 ΤΚ 115 27, Αθήνα.

Μελετήθηκε η συσχέτιση των προ- και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών με τη δραστικότητα της ΡΑ, παράγοντες πήξεως και ινωδόλυσης και του διαλυτού I-CAM-1 στον ορό των ΡΑ ασθενών, για να κατανοήσουμε την εμπλοκή τους στη φλεγμονώδη διεργασία της ΡΑ. Προσδιορίσθηκαν ο TNFα, η IL-6, η IL-10, το cICAM-1,το t-PA, ο PAI-1 και τα D-διμερή (ELISA) στο αίμα 45 ΡΑ ασθενών και 33 υγιών ατόμων (ΥΑ). Η δραστικότητα της νόσου (ΔΝ) προσδιορίζετο με έναν σύνθετο δείκτη (SI) βάσει του οποίου οι ασθενείς διαιρέθηκαν σε τρεις υποομάδες:Α - ελάχιστη-ήπια ΔΝ (SI, 1-7) , Β -μετρίου βαθμού ΔΝ (SI, 8-11), C -υψηλού βαθμού ΔΝ (SI, 12-17). Τα επίπεδα των κυτοκινών, TNFα , IL-6 και IL-10, ευρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα στους ΡΑ ασθενείς σε συγκριση με αυτά των ΥΑ. Οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, TNFα και IL-6, σε αντίθεση με την αντιφλεγμονώδη κυτοκίνη IL-10, αυξανόταν βαθμιαία με την αύξηση της ΔΝ και συσχετιζόταν σημαντικά με τον SI. Ο TNFα και η IL-6 συσχετίζοντο θετικά με PAI-1 και αρνητικά με το t-PA και τα D-διμερή. Η IL-6 συσχετίζετο θετικά με το ινωδογόνο ενώ ο TNFα και η IL-6 με τον μοριακό λόγο PAI-1/t-PA στο σύνολο των ΡΑ ασθενών. Η IL-10 έδειξε σημαντικά αρνητική συσχέτιση μόνο με τον PAI-1. Τα επίπεδα του cICAM-1 ευρέθηκαν υψηλότερα στους ΡΑ ασθενείς σε σύγκριση με τα ΥΑ, ιδιαίτερα στην C ομάδα, δείχνοντας ασθενή αλλά στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον SI. Ευρέθη θετική συσχέτιση του cICAM-1 με τον TNFα και την IL-6 και αρνητική με την IL-10 σε ΡΑ ασθενείς.
Τα ανωτέρω αποτελέσματα υποδεικνύουν αντίστροφη δράση των προ- και αντιφλεγμονωδών κυτοκινών στις οδούς πήξεως / ινωδόλυσης και προσκόλησης / αναγνώρισης.

THE RELATION OF SERUM CYTOKINES WITH INFLAM-MATORY ACTIVITY, FIBRINOLYTIC POTENTIAL AND SOLUBLE ICAM-1 IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Kamper E.F., Kopeikina L.T., Trontzas P*., Potamianou A., Tsiroglou E., & J. Stavridis

Department of Experimental Physiology, Medical School, University of Athens, M. Asias 75 GR-115 27, Athens

We explore the relation of pro- and anti-inflammatory cytokines to disease activity (DA), coagulation and fibrinolytic variables as well as to circulating intercellular adhesive molecule-1(cICAM-1), so as to better understand their implication in the rheumatoid arthritis (RA) inflammatory process.
Tumour necrosis factor-alpha (TNFα)**,** interleukin **(**IL)-6, IL-10, cICAM-1, tissue-type plasminogen activator (t-PA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and D-dimer were measured by ELISA in the blood of 45 RA patients and 33 healthy subjects (HS). The Stoke Index (SI) was used to describe the DA in-patients who were divided into subgroups: A: minimal-mild DA (SI, 1-7); B: moderate DA (SI, 8-11); C: severe DA (SI, 12-17). Serum TNFα, IL-6 and IL-10 were significantly higher in RA patients than in HS. Proinflammatory cytokines, TNFα and IL-6, in contrast to the anti-inflammatory cytokine IL-10, were increased progressively with the increase of DA from subgroup to subgroup, correlating significantly with SI. TNFα and IL-6 correlated positively with PAI-1 and negatively with t-PA and D-dimer. Moreover, a positive correlation of IL-6 with fibrinogen and of both cytokines with PAI-1/t-PA molar ratio were found in all RA patients, while, IL-10 showed a significant negative correlation with PAI-1. Serum cICAM-1 was significantly elevated in RA, especially in group C, compared to HS, showing a weak but significant correlation with SI. A positive correlation of cICAM-1 with TNFα and IL-6 and a negative one with IL-10 was observed in RA. The above data are suggestive of an inverse action of pro- and anti-inflammatory cytokines on coagulation/fibrinolysis and adhesive molecule pathways.

Η ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ ΣΤΟ ΘΡΑΚΙΚΟ ΑΠΟ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΙΧΘΥΟΠΛΑΓΚΤΟΥ

Καραγκίτσου Η., Σιαπάτης Α, Παπακωνσταντίνου Κ. και Β. Βασιλοπούλου

Εθνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών, Ελληνικό, 16604

Δείγματα ιχθυοπλαγκτού συγκεντρώθηκαν από ένα δίκτυο 35 σταθμών στο Θρακικό πέλαγος, εποχιακά, από τον Σεπτέμβριο 1991 μέχρι τον Ιούνιο 1992. Οι σύρσεις έγιναν διαγώνια στο ανώτερο στρώμα νερού μέχρι βάθος 150m, με δειγματολήπτη Bongo. Συνολικά αναγνωρίστηκαν 70 taxa λαρβών ψαριών, τα περισσότερα από τα οποία πιάστηκαν το Σεπτέμβριο (43 taxa), οπότε το δείγμα εμφάνισε και τη μεγαλύτερη ποικιλότητα (δείκτης Shannon-Wiener). Τον Ιούνιο, αν και ο αριθμός των taxa παρουσίασε μείωση (20) παρατηρήθηκαν οι μέγιστες τιμές αφθονίας στο δείγμα. Τον Σεπτέμβριο εμφανίστηκε πτώση της αφθονίας των λαρβών, που συνεχίστηκε το Δεκέμβριο και το Μάρτιο. Η εφαρμογή ανάλυσης ομαδοποίησης στα δεδομένα έδειξε συνάφεια ανάμεσα στα δείγματα του Ιουνίου και του Σεπτεμβρίου, και σ' εκείνα του Δεκεμβρίου και του Μαρτίου. Η δοκιμασία SIMPER υπέδειξε ότι οι παραπάνω ομαδοποιήσεις οφείλονταν κυρίως στο είδος *Encraulis encrasicolus* και στην οικογένεια Sparidae, με υψηλές τιμές αφθονίας την περίοδο καλοκαιριού-φθινοπώρου και μηδενικές τις άλλες δυο εποχές. 43 taxa βρέθηκαν στο δείγμα μιας μόνον εποχής, από τα οποία μεγαλύτερες τιμές αφθονίας παρουσίασαν το *Sardina pilchardus* το Δεκέμβριο, αλλά και άτομα Sparidae και Mullidae κατά την περίοδο του καλοκαιριού. 19 taxa παρουσίασαν μια περισσότερο εκτεταμένη αναπαραγωγική περίοδο, αφού συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια δυο δειγματοληψιών, με πιο σημαντικό από πλευράς αφθονίας το *E. encrasicolus*, την περίοδο Ιουνίου - Σεπτεμβρίου. Τα γένη *Gobius* και *Arnoglossus* παρουσίασαν αντιπροσώπους στα δείγματα και των τεσσάρων εποχών. Το μέγιστο της αναπαραγωγικής περιόδου για τα ψάρια του Θρακικού φαίνεται να λαμβάνει χώρα ανάμεσα στην άνοιξη και το φθινόπωρο. Ο υψηλότερος αριθμός λαρβών τον Ιούνιο και τον Σεπτέμβριο, πιθανόν υποδηλώνει επιπλέον και την επικράτηση ευνοϊκών περιβαλλοντικών συνθηκών, οι οποίες θα μπορούσαν να συμβάλλουν σε μια περισσότερο επιτυχημένη επιβίωση τους κατά την περίοδο αυτή.

ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΠΟ ΤΗ ΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗ ΔΡΑΣΗ ΔΥΟ ΕΣΤΕΡΩΝ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΟΥ ΑΖΩΘΥΠΕΡΙΤΗ

Καραμπέρης Ε.[1], Μουρελάτος Δ.[1], Παπαγεωργίου Α.[2], Νικολαρόπουλος Σ.[3] και Α Κώτσης[1]

[1] Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας και Γενετικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
[2] Εργαστήριο Πειραματικής Χημειοθεραπείας, Θεαγένειο Αντικαρκινικό Ινστιτούτο Θεσσαλονίκης
[3] Εργαστήριο Φαρμακευτικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Μελετήθηκε η επίδραση δύο τροποποιημένων στεροειδών στη πρόκληση των χρωματιδιακών ανταλλαγών (SCE) και τη μελέτη του δείκτη ρυθμού πολλαπλασιασμού (PRI) σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων . Τα δύο στεροειδή περιείχαν αλκυλιωτικό παράγοντα και εξετάστηκαν μόνα τους και σε μίγματα διαφορετικής (%) αναλογίας. Στα μίγματα παρουσιάστηκε συνεργική αύξηση των SCE ($p<0,05$).

Ο Ομο-αζα-στεροειδής εστέρας του π-δις(2-χλωροαιθυλ) αμινοφαινυλοξεικού οξέος (ASE) παρουσιάστηκε αποτελεσματικότερος σε μοριακή βάση από τον Ομο-αζα-στεροειδή εστέρα του 4-μεθυλ-3-Ν,Ν-δις(2-χλωροαιθυλ) αμινοφαινυλοξεικού οξέος (bSE) στη πρόκληση SCE και στη μείωση του δείκτη ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Παρουσιάστηκε συσχέτιση ($p<0,001$) μεταξύ της αύξησης των SCE και της μείωσης του PRI . Οι SCE έχουν προταθεί σαν μια πολύ ευαίσθητη μέθοδος για τον εντοπισμό γονοτοξικότητας και πρόσφατα σαν μια από τις μεθόδους για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της χημειοθεραπείας (Chemotherapy 45 (1999) 61) .

ENHANCED CYTOGENETIC EFFECTS BY THE COMBINED ACTION OF TWO ESTERIC STEROIDAL DERIVATIVES OF NITROGEN MUSTARD

Karaberis E.[1], Mourelatos D.[1], Papageorgiou A.[2], Nicolaropoulos S.[3] & A. Kotsis[1]

[1] Laboratory of General Biology & Genetics, Medical School, Aristotle University Thessaloniki
[2] Laboratory of Experimental Chemotherapy, Theagenion Anticancer Institute Thessaloniki
[3] Laboratory of Pharmaceutical Chemistry, University of Patras

We have studied the effect of two modified steroids containing different proportions (%) of alkylating agents alone or in combination on Sister Chromatid Exchange (SCE) rates and on human lymphocyte proliferation Kinetics. The two chemicals in mixtures enhance SCE induction in a synergistic manner ($p<0,05$). The homo-aza-steroidal ester of p-bis (2-chloroethyl) aminophenyl acetic acid (ASE) was found to be more effective, on a molar basis, than the homo-aza-steroidal ester of 4-methyl -3-N, N-bis (2-chloroethyl) aminobenzoic acid (bSE) in causing SCE and cell division delays. A correlation was observed ($p<0,001$) between the magnitude of the SCE response and the depression of the cell proliferation index. SCEs have been proposed as a very sensitive method for detecting genotoxicity and, lately, as one of the methods of evaluating chemotherapeutic efficiency in vitro and in vivo. There are findings indicating that the effectiveness of potential antitumor agents and schemes in SCE induction and cell proliferation rate index depression in vitro and in vivo correlate positively with in vivo tumor response to these agents and schemes (Chemotherapy 45 (1999) 61).

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΔΥΟ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΑΛΚΥΛΙΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Καραμπέρης Ε.[1], Μουρελάτος Δ.[1], Παπαγεωργίου Α.[2], Καμούτσης Χ.[3] και Α. Κώτσης[1]

[1] Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας και Γενετικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
[2] Εργαστήριο Πειραματικής Χημειοθεραπείας, Θεαγένειο Αντικαρκινικό Ινστιτούτο Θεσσαλονίκης
[3] Εργαστήριο Φαρμακευτικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Στη παρούσα μελέτη εξετάστηκε η επίδραση δύο καινούργιων συνθέσεων στεροειδών παραγώγων του αζωθυπερίτη στις χρωματιδιακές ανταλλαγές (SCE) και στον δείκτη ρυθμού πολλαπλασιασμού (PRI) σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων . Η ένωση 3β-υδροξυ-5α,22α-σπειροσταν-12-ονη εστέρας του π-[N,N-δις(2-χλωροαιθυλ) αμινο] φαινυλοξεικού οξέος (I) ήταν λιγότερο δραστική , συγκρινόμενη σε μοριακή βάση με την ένωση 3β-υδροξυ-12α-αζα-C-ομο-5α,22α-σπειροσταν-12-ονη εστέρας του π-[N,N-δις(2-χλωροαιθυλ)αμινο] φαινυλοξεικού οξέος (II) στην αύξηση των SCE και στην συμπίεση του δείκτη ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της αύξησης των SCE και της μείωσης του PRI ($p<0,05$). Εξετάζουμε τα αποτελέσματα των ενώσεων στο Lewis Lung καρκίνωμα και οι προκαταρκτικές ενδείξεις είναι σύμφωνες με τα κυτταρογενετικά αποτελέσματα.
Τα παραπάνω ευρήματα καθιστούν την SCE ανάλυση σαν μια πιθανή μέθοδο για την βελτίωση και καθοδήγηση της χημειοθεραπείας .

A COMPARATIVE STUDY ON CYTOGENETIC EFFECTS INDUCED BY TWO MODIFIED STEROIDAL ALKYLATING AGENTS

Karaberis E.[1], Mourelatos D.[1], Papageorgiou A.[2], Camoutsis Ch.[3] & A. Kotsis[1]

[1] Laboratory of Gen. Biology & Genetics, Medical School, Aristotle University Thessaloniki,
[2] Laboratory of Experimental Chemotherapy, Theagenion Anticancer Institute Thessaloniki,
[3] Laboratory of Pharmaceutical Chemistry, University of Patras

We have investigated the effects of two newly synthesized steroidal derivatives of nitrogen mustard on Sister Chromatid exchange (SCE) rates and on human lymphocyte proliferation kinetics. Compound 3b-Hydroxy-5a,22a-spirostan-12-one-p[N,N-bis(2-chloroethyl)amino]phenylacetate (I) was less effective , compared on a molar basis , with the compound 3b-Hydroxy-12a-aza-C-homo-5a,22a-spirostan-12-one-p[N,N-bis(2-chloroethyl)amino]phenylacetate (II), in inducing SCE and suppressing cell proliferation rate index. A correlation was observed between the magnitude of the SCE response and the depression of the cell proliferation index ($p<0,05$).
We are currently investigating the effects of the compounds on Lewis Lung carcinoma and the first indications are that the order of their antitumor activity coincides with the order of the cytogenetic effects they induce. Therefore these findings they further substantiate the SCE assay as a possible method for guiding and improving chemotherapy.

ΣΧΕΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΛΚΥΛ- ΚΑΙ ΒΕΝΖΥΛ-ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΗΣ ΣΠΕΡΜΙΝΗΣ ΝΑ ΑΝΑΣΤΕΛΛΟΥΝ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΠΟΛΥΑΜΙΝΩΝ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ *Escherichia coli*

Καραχάλιος Π. και Δ. Λ. Καλπαξής

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα.

Η διαμεμβρανική μεταφορά σπερμίνης σε κύτταρα *E. coli* ακολουθεί απλή κινητική Michaelis-Menten με τιμές V_{max} και K_t ίσες προς 83,3 $pmol \cdot min^{-1}$ ανά mg πρωτεΐνης και 25,16 μM, αντίστοιχα. Όταν κύτταρα *E. coli* αναπτύσσονται παρουσία αιθυλ- ή βενζυλ- αναλόγων της σπερμίνης, παρατηρείται συναγωνιστική αναστολή της πρόσληψης [^{3}H]σπερμίνης. Η σειρά δραστικότητας των αναλόγων είναι: N^4,N^9-διβενζυλοσπερμίνη > N^1-αιθυλοσπερμίνη ≅ N^4,N^9-διαιθυλο-σπερμίνη > N^1,N^{12}-διαιθυλοσπερμίνη. Όσον αφορά στη μεταφορά της πουτρεσκίνης, λεπτομερής κινητική ανάλυση απεκάλυψε ότι δύο ανεξάρτητοι μεταφορείς συμμετέχουν στο σύστημα πρόσληψης, με διαφορετική συγγένεια προς το υπόστρωμα. Και στο σύστημα αυτό, όλα τα ανάλογα συμπεριφέρονται ως συναγωνιστικοί αναστολείς. Όμως, ενώ επιδεικνύουν σημαντική δραστικότητα έναντι του συστήματος πρόσληψης χαμηλής συγγένειας (μεταφορέας 1), αποτυγχάνουν να αναστείλουν το μεταφορέα 2 της πουτρεσκίνης. Το γεγονός ότι εμφανίζουν παρόμοιες τιμές K_i για το σύστημα πρόσληψης της σπερμίνης και για το μεταφορέα 1 της πουτρεσκίνης, εισηγείται ότι οι δύο αυτοί μεταφορείς ταυτίζονται. Επίσης, είναι εμφανές ότι η αιθυλίωση των ακραίων αμινομάδων ελαττώνει τη συγγένεια της σπερμίνης για το σύστημα πρόσληψής της, ενώ αιθυλ- ή βενζυλ-υποκατάσταση των N^4,N^9-ιμινομάδων επιφέρει ασθενέστερη τροποποίηση στη βιολογική δράση του μορίου. Συνεπώς, εκτός των κατιοντικών φορτίων, φαίνεται ότι εξειδικευμένες υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταφορά των πολυαμινών. Παρά την ικανότητά τους να αναστέλλουν την πρόσληψη πολυαμινών, κανένα ανάλογο δεν εισέρχεται στα κύτταρα, και κατά συνέπεια δεν επηρεάζει τις συγκεντρώσεις των ενδογενών πολυαμινών και την αύξηση των κυττάρων.

RELATIVE ABILITIES OF VARIOUS ALKYL- AND BENZYL-ANALOGUES OF SPERMINE TO INHIBIT POLYAMINE UPTAKE INTO *Escherichia coli* CELLS

Karahalios P. & D.L. Kalpaxis

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

Spermine transport in *E. coli* cells obeys simple Michaelis-Menten kinetics with V_{max} and K_t values of 83.3 pmol·min^{-1} per mg protein and 25.16 μM, respectively. When *E. coli* cells are treated with ethyl or benzyl analogues of spermine, competitive inhibition of [^{3}H]spermine uptake is observed, the ranking order being N^4,N^9-dibenzylspermine, followed by N^1-ethylspermine and N^4,N^9-bis(ethyl)-spermine, and then by N^1,N^{12}-bis(ethyl)spermine. With respect to putrescine transport, detailed kinetic analysis revealed that two independent carriers are involved with different affinities for putrescine. Once again, all the aforementioned analogues behave as competitive inhibitors. However, they fail in inhibiting the high-affinity putrescine uptake system (carrier 2), whereas they exhibit significant effectiveness against carrier 1. The fact that the analogues show similar K_i values for both the carrier of spermine and the carrier 1 of putrescine, suggests the existence in fact of a common transporter. Moreover, it is obvious that ethylation of the terminal amino groups decreases the affinity of spermine for the uptake system, whereas ethyl or benzyl substitution of N^4,N^9-iminogroups can be greatly tolerated. Our results are consistent with the idea that in addition to the key role of cationic centers, specific hydrophobic interactions must also largely contribute to the affinity of analogues for the polyamine transporter. Despite the inhibitory effect of the examined analogues on putrescine and spermine uptake into cells, none of them can be internalized by the polyamine transport system, and therefore they cannot influence the intracellular polyamine pools and growth in *E. coli*.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΚΡΑΙΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΩΝ ΦΑΙΟΦΥΚΩΝ *Sphacelaria rigidula* ΚΑΙ *Dictyota dichotoma*

Καρυοφύλλης Δ., Κατσαρός Χ. και Β. Γαλάτης

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Αθήνα 157 84

Η οργάνωση της ακτίνης σε ακραία κύτταρα των φαιοφυκών *Sphacelaria rigidula* και *Dictyota dichotoma* μελετήθηκε μετά από χρώση με rhodamine-phalloidin. Και στα δύο φυτά που μελετήθηκαν αποκαλύφθηκε ένα καλά οργανωμένο δίκτυο μικρονημάτιων ακτίνης. Στα πολωμένα ακραία κύτταρα της *S. rigidula* αυτό το δίκτυο αποτελείται από δέσμες μικρονημάτιων που μπορούν να διακριθούν στις ακόλουθες κατηγορίες από την κορυφή προς τη βάση: α) Η κορυφαία περιοχή του ακραίου θόλου καταλαμβάνεται από έναν πληθυσμό τυχαία προσανατολισμένων μικρονημάτιων που παρουσιάζουν διάχυτο φθορισμό. β) Στη βασική περιοχή του θόλου παρατηρείται ένας ιδιόμορφος σχηματισμός από λεπτές, δακτυλιοειδείς δέσμες μικρονημάτιων με εγκάρσιο προσανατολισμό. γ) Το σωληνοειδές τμήμα του κυττάρου διασχίζεται από ένα περιφερειακό σύστημα αποτελούμενο από λεπτές δέσμες μικρονημάτιων που διασχίζουν τον κυτταρικό φλοιό με αξονικό έως ελικοειδή προσανατολισμό. δ) Ένα ενδοπλασμικό σύστημα με παχύτερες δέσμες μικρονημάτιων που ακολουθούν τις κυτοπλασματικές λωρίδες. ε) Ένα περιπυρηνικό σύστημα που δείχνει στενή σχέση με την πυρηνική μεμβράνη. Αυτό είναι πιο έντονο στις θέσεις των κεντροσωματίων. Στα φακοειδή ακραία κύτταρα του φυτού *D. dichotoma* το περιπυρηνικό σύστημα είναι περισσότερο εμφανές, αλλά όχι στις θέσεις των κεντροσωματίων. Το ενδοπλασμικό σύστημα αποτελείται από λεπτές δέσμες μικρονημάτιων που διατάσσονται ακτινωτά από την επιφάνεια του πυρήνα προς την περιφέρεια του κυττάρου. Παράλληλα, δέσμες μάλλον τυχαία διατεταγμένων μικρονημάτιων με έντονο φθορισμό διατρέχουν τον κυτταρικό φλοιό. Από τις παρατηρήσεις συνάγεται ότι η ακτίνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μορφογένεση των ακραίων κυττάρων των φαιοφυκών. Οι διαφορές στην οργάνωση της ακτίνης μεταξύ των δύο ειδών πιθανώς σχετίζονται με διαφορές στο πρότυπο κυτταρικής μορφογένεσης.

ACTIN ORGANIZATION IN APICAL CELLS OF SPHACELARIA RIGIDULA AND DICTYOTA DICHOTOMA (PHAEOPHYTA)

Karyophyllis D., Katsaros C. & B. Galatis

**University of Athens, Faculty of Biology,
Department of Botany, Athens 157 84, Greece**

The organization of actin in apical cells of the brown algae *Sphacelaria rigidula* and *Dictyota dichotoma* was studied after staining with rhodamine-phalloidin (Rh-Ph). A well developed actin network was found in both the cells examined. In the polarized apical cells of *S. rigidula* this network consists of bundles of actin filaments (Afs) which can be classified into the following groups from tip to base: a) The part of the cell close to the tip is occupied by a population of thin, randomly oriented Af bundles showing a diffuse fluorescence. b) At the basal part of the apical dome a particular configuration consisting of thin, transversely oriented, ring-like Af bundles is observed. c) The tubular part of the cell is traversed by a cortical system consisting of thin Af arrays showing an axial-helical orientation. d) An endoplasmic Af population with thicker bundles follows the cytoplasmic strands, probably associated with cell organelles. e) A perinuclear system which shows a close association with the nuclear envelope. The latter is more intense in the centrosome areas. In the lens-shaped apical cells of *D. dichotoma* the perinuclear Af system is more obvious, but not in the centrosome sites. The endoplasmic system consists of thin Af arrays radiating from the nuclear surface towards the cell cortex. In parallel, an intensely fluorescent layer consisting of randomly oriented Afs traverses the cell cortex.
From the observations it can be suggested that actin is involved in the morphogenesis of the apical cells. The differences in actin organization between the two species are probably related to the differences in the pattern of cell morphogenesis.

ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΗΣ ΣΕ ΒΛΑΣΤΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΦΑΙΟΦΥΚΩΝ

Καρυοφύλλης Δ., Κατσαρός Χ., Δημητριάδης Η. & Β. Γαλάτης

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Αθήνα 15784

Με την εφαρμογή ενός τροποποιημένου πρωτοκόλλου χρώσης με rhodamine-phalloidin, μελετήθηκε το πρότυπο οργάνωσης της ακτίνης σε βλαστητικά κύτταρα του φαιοφύκους Sphacelaria rigidula. Τα μεσοφασικά κύτταρα φέρουν έναν καλά οργανωμένο κυτταροσκελετό ακτίνης, που αποτελείται από περιφερειακές, ενδοπλασμικές και περιπυρηνικές δέσμες μικρονηματίων. Η οργάνωση αυτή διατηρείται με μικρές μεταβολές σε όλες τις φάσεις της μίτωσης και εξαφανίζεται κατά την κυτοκίνηση. Ο περιπυρηνικός πληθυσμός μικρονηματίων ακτίνης καθίσταται έντονος κατά την πρόφαση, ιδιαίτερα στους πόλους. Κατά τη μετάφαση οργανώνεται άτρακτος ακτίνης, η τοποθέτηση της οποίας συμπίπτει με την θέση της ατράκτου των μικροσωληνίσκων. Κατά την ανάφαση αναπτύσσεται ένα σύστημα διαζωνικών (interzonal) μικρονηματίων ακτίνης, το οποίο διατηρείται μέχρι την πρώιμη τελόφαση. Κατά την προχωρημένη τελόφαση η εικόνα μεταβάλλεται και ένα διάχυτο δίκτυο ακτίνης εμφανίζεται στο μέσο της απόστασης των δύο θυγατρικών πυρήνων. Κατά την μετατελόφαση – πρώιμη κυτοκίνηση αυτό το σύστημα ακτίνης αποδιοργανώνεται και βαθμιαία δημιουργείται μία εμφανής πλάκα ακτίνης στο επίπεδο της κυτοκίνησης. Αυτή η πλάκα γίνεται πιο συμπαγής με την πρόοδο της κυτοκίνησης, επενδύει τα τμήματα του αναπτυσσόμενου διαφράγματος και αργότερα τα θυγατρικά πλασμαλήμματα. Επίδραση με κυτοχαλασίνη Β παρεμποδίζει τη μίτωση, μη επιτρέποντας στα κύτταρα να προχωρήσουν στην ανάφαση, ενώ στα διπύρηνα, μετατελοφασικά κύτταρα αναστέλλει την κυτοκίνηση. Από τις παρατηρήσεις συνάγεται ότι τα μικρονημάτια ακτίνης συνιστούν ένα σημαντικό στοιχείο του κυτταροσκελετού των βλαστητικών κυττάρων των φαιοφυκών κατά τη μεσόφαση. Φαίνεται επίσης ότι συμμετέχουν στην κίνηση των χρωμοσωμάτων κατά την ανάφαση, ενώ η πλάκα ακτίνης που δημιουργείται κατά την κυτοκίνηση φαίνεται ότι συμμετέχει στη δημιουργία του κυτοκινητικού διαφράγματος.

ACTIN ORGANIZATION IN VEGETATIVE CELLS OF BROWN ALGAE

Karyophyllis D., Katsaros C., Dimitriadis I. & B. Galatis

University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, Athens 157 84, GREECE

The organization of actin in vegetative cells of the brown alga *Sphacelaria rigidula* was studied after staining with a modified rhodamine-phalloidin (Rh-Ph) protocol. During interphase the subapical meristematic vegetative cells display a well organized actin cytoskeleton, consisting of cortical, endoplasmic and perinuclear arrays of actin filaments (Afs). This Af organization is retained with slight changes during mitosis, but disappears at cytokinesis.

The perinuclear Af population becomes more obvious during prophase, especially at the poles. At metaphase, an actin spindle is organized, consisting of thin Af bundles, co-localized with spindle microtubules (Mts), while at anaphase an interzonal Af system appears, which persists at early telophase. At advanced telophase the image changes and a rather diffuse actin meshwork develops in the mid-area between the daughter nuclei. During post telophase – early cytokinesis this actin system gradually disassembles and a conspicuous actin plate is gradually formed on the cytokinetic plane. This plate becomes more compact with the progress of cytokinesis, overcoats the patches of the forming diaphragm, and later the daughter plasmalemmata. Treatment with cytochalasin B disturbs mitosis, not allowing the cells to proceed to anaphase, and in binuclear, post-telophase cells prevents cytokinesis.

The observations suggest that Afs are ubiquitous cytoskeletal elements of the vegetative cells of brown algae during interphase. During mitosis they appear implicated in anaphase chromosome movement. The unique actin configuration found in cytokinetic cells seems to play a significant role in the cytokinetic diaphragm formation. The inhibition of cytokinesis after cytochalasin treatment further supports the implication of actin in this process.

ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΨΑΡΙΟΥ Economidichthys pygmaeus (Holly, 929) (ΤΕΛΕΟΣΤΕΟΙ: Gobiidae) ΣΤΟ ΕΛΟΣ ΣΑΓΙΑΔΑΣ (ΘΕΣΠΡΩΤΙΑ)

Κασπίρης Π.[1] και Ι. Κλαδάς[2]

[1]Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Πάτρα
[2]ΤΕΙ Ηπείρου, Τμήμα Ιχθυοκομίας, Ηγουμενίτσα

Στα γλυκά νερά της δυτικής Ελλάδας απαντούν δύο είδη της οικογένειας Gobiidae που είναι ενδημικά και ανήκουν στο γένος Economidichthys, αυτά είναι: *E. pygmaeus* και *E. trichonis* (το μικρότερο είδος τελεοστέου γλυκού νερού της Ευρώπης).
Το πρώτο ήταν γνωστό από τη Λευκάδα, Ήπειρο και λίμνη Τριχωνίδας ενώ το δεύτερο από τη λίμνη Τριχωνίδας.
Η ανεύρεση του είδους E. pygmaeus στο έλος Σαγιάδας το οποίο βρίσκεται κοντά στα σύνορα με την Αλβανία, διευρύνει τη γεωγραφική εξάπλωσή του στην ευρύτερη περιοχή της Βαλκανικής.

PRESENCE OF FISHES *Economidichthys pygmaeus* (Holly, 1929) (TELEOSTEI: Gobiidae) IN THE MARSH OF SAGHIADA (THESPROTIA)

Kaspiris P.[1] & J.Kladas[2]

[1]Patras University, Department of Biology, Patras
[2]Technological Institute, Department of Fisheries, Igoumenitsa

In the fresh waters of western Greece two species of the family Gobiidae, which are endemic and belong to the genus Economidichthys, live.
These species are *E. pygmaeus* and *E. trichonis* (the smallest freshwater european teleost). The former occurs in Lefkas, Epirus and lake Trichonis and the latter in lake Trichonis.
The presence of the species *E. pygmaeus* in the marsh of Saghiada, which is near the frontiers with Albania, extends the geographical distribution of it in the wide region of Balkan.

ΓΑΡΙΔΕΣ ΓΛΥΚΕΩΝ ΥΔΑΤΩΝ (ΔΕΚΑΠΟΔΑ ΚΑΡΚΙΝΟΕΙΔΗ) ΣΤΟ ΕΛΟΣ ΣΑΓΙΑΔΑΣ (ΘΕΣΠΡΩΤΙΑ)

Κασπίρης Π. και Σ. Σπυρόπουλος

Παν/μιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Πάτρα

Τα είδη γαρίδων που ζουν στα γλυκά νερά είναι περιορισμένα και ανήκουν σε δύο οικογένειες: Atyidae και Palaemonidae. Η πρώτη οικογένεια περιλαμβάνει είδη κατ' εξοχήν γλυκού νερού, ενώ η δεύτερη μόνο ένα γένος (Palaemonetes).
Στο έλος Σαγιάδας βρέθηκαν δύο είδη γαρίδων όπου το ένα (*Atyaephyra desmaresti*) ανήκει στην οικογένεια Atyidae και το άλλο (*Palaemonetes antennarius*) στην οικογένεια Palaemonidae.
Η ανεύρεση αυτών των δύο ειδών σε μία περιοχή όπου βρίσκεται στα βόρεια σύνορα της Ελλάδας συμβάλλει στη γνώση της γεωγραφικής κατανομής των ειδών στην ευρύτερη περιοχή της Βαλκανικής.

SHRIMPS OF FRESH WATERS (DECAPODA, CRUSTACEA) IN THE MARSH OF SAGHIADA (THESPROTIA)

Kaspiris P. & S. Spiropoulos

Department of Biology, Patras University,

The number of shrimp species which live in fresh waters, is limeted. These species belong to two families: Atyidae and Palaemonidae. The former contains exclusively species of fresh water while the latter contains the sole genus, Palaemonetes.
Two species of shrimp were located in the marsh of Saghiada, from which the one (Atyaephyra desmaresti) belongs to the family Atyidae and the other (Palaemonetes untrennarius) to the family Palaemonidae.
The presence of these two species in this locality, which is in the northern frontiers of Greece, contributes to the knowledge of the geographical distribution of the species in the wide region of Balkan.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΥ IMIDACLOPRID ΣΤΟ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ ΤΗΣ ΜΕΛΙΣΣΑΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΜΙΑ IN VITRO ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟ

Κατσάνου Β. και Γ. Θεοφιλίδης

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Η μυογενής καρδιά της μέλισσας οργανώνεται σε πέντε μεταμερή με κύριο πρότυπο λειτουργίας, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες in vitro εμποτισμού, την συνεχή σειρά αυτόματων μυϊκών δυναμικών δράσης και συσπάσεων. Η αυτόματη δράση είναι δυνατό να επηρεαστεί από διάφορους νευροδιαβιβαστές καθώς και ουσίες που μιμούνται τη δράση τους. Προκειμένου να διερευνηθεί η καρδιοτοξική δράση του εντομοκτόνου imidacloprid, το οποίο δεσμεύεται από τους νικοτινικούς υποδοχείς και αναστέλλει τη δράση τους, στους υποδοχείς του μυοκαρδίου της μέλισσας, χρησιμοποιήθηκαν αρχικά οι ουσίες ακετυλοχολίνη και ατροπίνη.
Χρήση ατροπίνης 100μΜ για 20min προκάλεσε αύξηση της δύναμης σύσπασης και μείωση της συχνότητας για τα πρώτα 10min ενώ είχε αντίθετα αποτελέσματα για τα επόμενα 10. Συνεπώς μπορούμε να παρατηρήσουμε μια αρχική δέσμευση των μουσκαρινικών υποδοχέων η οποία όμως συνοδεύεται από σταδιακή επαναφορά στα πλαίσια του μάρτυρα, γεγονός που υποδηλώνει την παρουσία μικρού αριθμού των υποδοχέων αυτών. Ο νευροδιαβιβαστής ακετυλοχολίνη δοκιμάστηκε σε συγκεντρώσεις 100μΜ, 10μΜ και 1μΜ με ακολουθούμενη χορήγηση ατροπίνης 100μΜ μετά από 20min. Παρατηρήθηκε αύξηση του καρδιακού ρυθμού, καθώς και μικρές μεταβολές στη δύναμη σύσπασης. Το νικοτινικό εντομοκτόνο imidacloprid χρησιμοποιήθηκε σε συγκεντρώσεις 100nM και 10nM. Και στις δυο παρατηρήθηκε μείωση της συχνότητας σύσπασης έως 60% για την πρώτη και εως 20% για την δεύτερη. Αντίθετα η δύναμη σύσπασης στην πρώτη περίπτωση παρουσίασε αύξηση έως 70% με σταδιακή επαναφορά στα πλαίσια του μάρτυρα, ενώ στη δεύτερη παρουσιάστηκε μικρή μείωση της τάξης του 10%.

EVALUATION OF CARDIOTOXICITY OF THE INSECTICIDE IMIDA-CLOPRID IN HONEYBEE. AN ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY

Katsanou V. & G. Theophilidis

Laboratory of Animal Physiology, Aristotle University,Thessaloniki,Greece

The myogenic heart of the honeybee is organized in five cardiac segments and under *in vitro* perfusion, the main pattern of its activity appears as series of contractions and pacemaker action potentials. This pattern can be affected by neurotransmitters and other substances that can simulate their effect. In order to investigate the cardiotoxicity of the insecticide imidacloprid, which is known to be bound from the nicotinic receptors and inhibit their action, acetylocholine and atropin were used.
The use of atropin 100μM for 20 min caused during the first 10 minutes an increase in the isometric force of contraction and a decrease in the internal frequency, results which for the last 10 minutes were inverted. The gradual recovery of the initially bounded muscarinic receptors indicates the presence of a limited number of these receptors. Acetylocholine (100μm, 10μM and 1μM) followed by atropin (100μM), both used for 20 min, resulted in an increase of the heartbeat and in minor changes in the force of contraction. Finally after administration of the nicotinic insecticide in two concentrations 100nM and 10nM, the heart rate was reduced up to 60% for the former and up to 20% for the latter. On the other hand the isometric force of contraction in the first case increased up to 70% and it was followed by a gradual recovery, while in the second one showed a slight drop of 10%.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΟΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΑΣΤΑΚΟΚΑΡΑΒΙΔΑΣ (*H. gammarus*)

Κατσαρές Β., Τριανταφυλλίδης Α., Αποστολίδης Α.Π., Κουβάτση Α. και Κ. Τριανταφυλλίδης

Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54006, Θεσσαλονίκη, Μακεδονία, Ελλάδα

Η Ευρωπαϊκή αστακοκαραβίδα (*Homarus gammarus*) αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά από κοινωνικοοικονομική άποψη θαλάσσια είδη. Έχει αποδειχθεί ότι η μελέτη της γενετικής σύστασης ενός είδους συμβάλλει στην αποτελεσματικότερη προστασία και διαχείριση των πληθυσμών του και ως εκ τούτου θεωρείται αναγκαία για την πληρέστερη μελέτη του.
Εντούτοις, αν και υπάρχουν μορφολογικές έρευνες που αφορούν τους Ελληνικούς πληθυσμούς αστακοκαραβίδας, δεν έχει πραγματοποιηθεί έρευνα της γενετικής δομής και ποικιλότητάς τους. Η μελέτη του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA) μπορεί να συμβάλλει αποτελεσματικά στην εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας, στον προσδιορισμό των διαφορετικών ιχθυοαποθεμάτων, καθώς και στον καθορισμό των φυλογενετικών σχέσεων ανάμεσα στους πληθυσμούς ενός είδους. Στην παρούσα εργασία σχεδιάστηκαν αρκετά ζευγάρια εκκινητών που επιτρέπουν την ενίσχυση, με τη μέθοδο PCR, μεγάλου τμήματος του mtDNA. Έπειτα ελέγχθηκε η αποτελεσματικότητα των εκκινητών αυτών σε δείγματα αστακοκαραβίδας που πάρθηκαν από πληθυσμούς του Αιγαίου και της Νορβηγίας. Οι δοκιμές αυτές αποκάλυψαν 3 ζευγάρια εκκινητών που ενισχύουν 3 τμήματα του mtDNA συνολικού μήκους 11.000 bp. Τα 3 αυτά ζευγάρια ενισχύουν τα γονίδια της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (COI, COII, COIII), του κυτοχρώματος b, της 1ης, 2ης και 3ης υπομονάδας της αφυδρογονάσης του NAD, των τμημάτων 16s και 12sRNA, του βρόχου εκτόπισης (D-loop), καθώς και αρκετών tRNAs του mtDNA. Ακολούθησε η πέψη των τμημάτων αυτών με 24 ένζυμα περιορισμού με σκοπό την εύρεση των ενζύμων εκείνων που αποκαλύπτουν πολυμορφισμό. Τα ένζυμα αυτά χρησιμοποιούνται για τη μελέτη των ευρωπαϊκών πληθυσμών του είδους.

PRELIMINARY RESULTS OF THE mtDNA ANALYSIS ON POPULATIONS OF THE EUROPEAN LOBSTER (*H. gammarus*)

Katsares V., Triantaphyllidis A., Apostolidis A.P., Kouvatsi A. & C. Triantaphyllidis

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

The European clawed lobster (*Homarus gammarus*) is one of the most commercially important marine species. Given that the study of the genetic structure of a species contributes to its better protection as well as to management strategies of its populations, it' s necessary for its overall study. Little information is available on the morphological study of Greek populations of *H. gammarus*. However, no information exists as far as it concerns its genetic structure and diversity. MtDNA analysis can contribute successfully to estimation of the genetic diversity, to identification of different stocks and finally to determination of phylogenetic relationships among different population of a species. In the present study several primer pairs have been designed in order to multiple, using the PCR technique, a large segment of the mtDNA. The effectiveness of these pairs has been tested in samples of clawed lobsters collected from Aegean and Norwegian populations. These tests revealed three primer pairs that multiple 3 mtDNA segments of a total length of 11000 bp. These 3 pairs multiple the cytochrome c oxidase genes (COI, COII and COIII), the cytochrome b gene, the genes of the 1st, 2nd and 3rd subunits of the dehydrogenase of NAD, the 12s and 16sRNA regions, the D-loop region and several mtDNA tRNAs. The digestion of these segments that had followed, using 24 restriction enzymes, determined which of them reveals polymorphism. These ones are being used in studies of the European *H. gammarus* populations. This study was supported by the E. U. (FAIR CT 98-4266).

ΧΩΡΟΤΑΞΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΟΥ ΓΟΝΟΥ ΚΕΦΑΛΟΕΙΔΩΝ (PISCES: MUGILIDAE) ΣΤΗ ΛΙΜΝΟΘΑΛΑΣΣΑ ΤΗΣ ΚΛΕΙΣΟΒΑΣ

Κατσέλης Γ. και Γ. Μίνος

Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500, Πάτρα

Την περίοδο Ιανουάριος 1992 μέχρι Ιούνιος 1993 πραγματοποιήθηκε πειραματική αλιεία άγριου γόνου ιχθύων της οικογένειας των κεφαλοειδών με συρόμενο δίκτυ 6 m και μάτι 3 mm, στη λιμνοθάλασσα Κλείσοβα –μέρος του λιμνοθαλάσσιου συμπλέγματος Μεσολογγίου-Αιτωλικού και στην παρακείμενη θαλάσσια ακτή.
Εξετάστηκε ο *δείκτης αφθονίας* (αριθμός ατόμων του κάθε είδους ανά δειγματοληψία*)* και *ο δείκτης παρουσίας* (αριθμός δειγματοληψιών με παρουσία του κάθε είδους / σύνολο των δειγματοληψιών) ανά μήνα, για τις κατηγορίες *νεοεισερχόμενα* (άτομα από πρόσφατη αναπαραγωγή) και *νεαρά άτομα* (άτομα μεγαλύτερα της κλάσης των νεοεισερχομένων) των ειδών *Liza saliens*, *Liza aurata* και *Chelon labrosus*.
Παρατηρήθηκε ότι τις περιόδους εμφάνισης των νεοεισερχόμενων και των τριών ειδών λαμβάνουν χώρα μεγάλες μηνιαίες αφθονίες σε συνδυασμό με συνεχή παρουσία. Αντίθετα τις περιόδους εμφάνισης των νεαρών ατόμων παρατηρούνται σχετικά μικρές αφθονίες σε συνδυασμό σποραδική παρουσία στους σταθμούς και των δύο βιότοπων. Τα νεοεισερχόμενα *L. saliens*, και *C. labrosus,* παρουσιάζουν μεγαλύτερη αφθονία στους θαλάσσιους σταθμούς ενώ το*υ L. aurata* στην λιμνοθάλασσα. Γενικά τα νεαρά άτομα και στα τρία είδη παρουσιάζουν μεγαλύτερες μηνιαίες αφθονίες μέσα στη λιμνοθάλασσα.
Οι παραπάνω παρατηρήσεις υποδηλώνουν την τάση προσέγγισης και εισόδου του γόνου των κεφαλοειδών στην λιμνοθάλασσα και διασπορά τους μέσα σ' αυτή. Οι διαφορές μεταξύ λιμνοθάλασσας και ακτής είναι αποτέλεσμα της διαφορετικής συμπεριφοράς τόσο μεταξύ των ειδών, όσο και μεταξύ των διαφορετικών μεγεθών του ίδιου είδους και πιθανόν συνδέονται με μια μεγεθο-εξαρτόμενη δυνατότητα εισόδου του γόνου από τους διαύλους επικοινωνίας της λιμνοθάλασσας με τη θάλασσα.

DISTRIBUTION OF GREY MULLET FRY (PISCES: MUGILIDAE) IN KLISOVA LAGOON, MESSOLOGHI WESTERN GREECE

Katselis G. & G. Minos

Zoological Laboratory, Department of Biology, University of Patras, 26500, Patras

During the period of January 1992 to June 1993 samples of grey mullet fry were collected by a beach seine net of 6 m length and mesh size 3 mm, in stations of inside and vicinage seashore line of Klisova lagoon, which is part of the Messologhi-Etoliko lagoon complex. The *monthly abundance index* (number of individuals of same species / sampling of each month) and the *monthly presence index* (number of sampling with presence of same species / total number of sampling of each month) were examined in *new recruits* and *juveniles* of *Liza saliens, Liza aurata* and *Chelon labrosus* in both regions. During the periods of occurrence of the *new recruits* in all the species, more abundance and stretch presence in stations occurred. In contrast, during the periods of occurrence of the *juveniles* in all species, almost small-scale abundance and occasional presence in all stations was observed. The *new recruits* of *L. saliens and C. labrosus* showed larger abundance in seashore but *L. aurata* in lagoon stations. The *juveniles* of all species showed larger abundance relatively in lagoon stations than seashore stations. The above results suggest the tendancy to approach and entering, as well as dispersion of grey mullets into the lagoon. The differences between lagoon and sea that were observed result from the different behavior between the species as well as the different behavior between the sizes of the same species. These are probably connected with a size related entering capability of the individuals, inflicted by the bridges of communication between lagoon and sea.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ HARP, ΕΝΟΣ ΝΕΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ

Κατσώρης Π.[1], Παπαδημητρίου Ε.[2], Caruelle D.[3], Barritault D.[3] και J. Courty[3]

[1]Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης
[2]Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εργ. Μοριακής Φαρμακολογίας
[3]Laboratoire CRRET, Universitι Paris Val de Marne, Avenue du Gιnιral de Gaulle, 94010 CRETEIL

Η HARP (Heparin Affin Regulatory Peptide), γνωστή και με το όνομα pleiotrophine (PTN), είναι μια πρωτεΐνη που εμφανίζει ιδιότητες αυξητικού παράγοντα. Επάγει τον *in vitro* πολλαπλασιασμό πολλών διαφορετικών κυττάρων-στόχων, μεταξύ των οποίων και τα ενδοθηλιακά, ενώ *in vivo* πιθανά εμπλέκεται στη διαδικασία της αγγειογένεσης τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές συνθήκες.
Προκειμένου να μελετήσουμε την πιθανή αγγειογενετική δράση της HARP, εξετάσαμε τη μιτογόνο δράση της σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς και την ικανότητά της να επάγει τον σχηματισμό αυλών από τα ίδια κύτταρα στο *in vitro* σύστημα του κολλαγόνου. Βρέθηκε ότι η HARP έχει μικρή αλλά στατιστικά σημαντική μιτογόνο δράση στα ενδοθηλιακά κύτταρα από τριχοειδή αγγεία εγκεφάλου βοός (BBC) αλλά καθόλου δράση σε ενδοθηλιακά κύτταρα από φλέβα ανθρώπινου ομφάλιου λώρου (HUVEC). Επίσης, επάγει το σχηματισμό αυλών από τα BBC όταν αυτά καλλιεργούνται σε κολλαγόνο. Προκαταρκτικές μελέτες στο *in vivo* σύστημα αγγειογένεσης της χοριοαλλαντοϊκής μεμβράνης εμβρύου όρνιθας (CAM) δείχνουν ότι η HARP πιθανά έχει αγγειογενετική δράση.

THE ROLE OF HARP, A NEW GROWTH FACTOR, IN ANGIOGENESIS *IN VITRO* AND *IN VIVO*

Katsoris P.[1], Papadimitriou E.[2], Caruelle D.[3], Barritault D.[3] & J. Courty[3]

[1]University of Patras, Department of Biology, Division of Genetics, Cell & Developmental Biology
[2]University of Patras, Department of Pharmakology, Lab. of Molecular Pharmacology
[3]Laboratoire CRRET, Universitι Paris Val de Marne, Avenue du Gınıral de Gaulle, 94010 CRETEIL

Heparin affin regulatory peptide (HARP), also known as pleiotrophin (PTN), is a 18 kDa secretory protein. Together with midkine (MK), it composes a new family of heparin-binding growth/differentiation factors for many different cell types, among which are endothelial cells. *In vivo* it is involved in the process of angiogenesis both in physiological and pathological situations. In order to elucidate the possible angiogenic activity of HARP, we studied its mitogenicity in cultured endothelial cells and its ability to induce tube formation by the same cells on collagen. HARP has a small but statistically significant mitogenic activity on endothelial cells derived from bovine brain capillary endothelial cells (BBC) but no such activity on those derived from human umbilical veins (HUVEC). When BBC are cultured on collagen, HARP induces tube formation. Preliminary studies on the chick chorioallantoic membrane system of *in vivo* angiogenesis suggest that HARP may have an angiogenic activity.

ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΧΡΩΜΑΤΟΣΩΜΙΚΗ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ DNA ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΑΠΟΜΟΝΩΘΕΙ ΑΠΟ ΤΟ ΓΕΝΟΣ *AVENA* (ΒΡΩΜΗ)

Κατσιώτης Α. και Μ. Λουκάς

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Γενετικής, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα.

Οι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DNA χρησιμοποιούνται για την ανάλυση γονιδιωματικών σχέσεων μεταξύ των ειδών με in situ και Southern υβριδισμούς. Το γένος Avena αποτελείται από διπλοειδή ($2n=2x=14$ χρωματοσώματα, Α και C γονιδιώματα), τετραπλοειδή ($2n=4x=28$ χρωματοσώματα, ΑΒ και ΑC γονιδιώματα) και εξαπλοειδή ($2n=6x=42$ χρωματοσώματα, ACD γονιδιώμα) είδη. Για τον διαχωρισμό των γονιδιωμάτων της βρώμης, επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες από διαφορετικά είδη απομονώθηκαν και μελετήθηκαν με in situ και Southern υβριδισμούς. Στην παρούσα εργασία απομονώθηκε υψηλής επαναληπτικότητας DNA (Cot=1) από τα είδη *A. strigosa* (CotA) και *A. sativa* (CotACD) που χρησιμοποιήθηκε σε in situ υβριδισμούς σε χρωματοσώματα εξαπλοειδούς βρώμης. Ο ανιχνευτής CotACD σήμανε όλα τα χρωματοσώματα ομοιόμορφα. Ο ανιχνευτής CotA σήμανε έντονα τα 28 χρωματοσώματα που ανήκουν στα Α και D γονιδιώματα, ενώ τα 14 χρωματοσώματα του C γονιδιώματος ήταν ασθενέστερα σεσημασμένα. Επίσης μελετήθηκε η οργάνωση και διασπορά τριών κλωνοποιημένων αλληλουχιών (pAvKB9, pAvKB26 και pAvKB32), που είχαν απομονωθεί από το είδος *A. vaviloviana*, στα Α, Β, C και D γονιδιώματα της βρώμης καθώς και στο γένος *Arrhenatherum*. Οι αλληλουχίες των κλώνων pAvKB9 και pAvKB26 απουσιάζουν από το C γονιδίωμα και μπορούν να διαφοροποιήσουν, σε Southern υβριδισμό, τα Α και D γονιδιώματα. Με in situ υβριδισμούς σε χρωματοσώματα διπλοειδών και τετραπλοειδών ειδών βρώμης βρέθηκε ότι οι αλληλουχίες αυτές είχαν ομοιόμορφη διασπορά σε όλο το μήκος των χρωματοσωμάτων αλλά απουσίαζαν από τα κεντρομερή, τα τελομερή και τις περιοχές οργάνωσης των πυρηνίσκων. Όλοι οι κλώνοι επίσης βρέθηκε να υβριδίζουν με DNA του γένους *Arrhenetherum*, δηλώνοντας την κοντινή σχέση με τα Α, Β και D γονιδιώματα της βρώμης. Επίσης, από τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας συμπεραίνουμε την συγγένεια των Α και D γονιδιωμάτων και την παρουσία κοινών DNA αλληλουχιών μεταξύ των Α και C γονιδιωμάτων της βρώμης.

GENOMIC AND CHROMOSOMAL ORGANIZATION OF REPETITIVE DNA SEQUENCES ISOLATED FROM *AVENA* SPECIES

Katsiotis A. & M. Loukas

Agricultural University of Athens, Laboratory of Genetics, Iera Odos 75, 118 55 Athens.

Repetitive sequences have been widely used for examining genome and species relationships by in situ and Southern hybridizations. The genus *Avena* consists of diploid ($2n=2x=14$ chromosomes, A and C genomes), disomic tetraploid ($2n=4x=28$ chromosomes, AB and AC genomes), and disomic hexaploid ($2n=6x=42$ chromosomes, ACD genome) species. To improve discrimination between *Avena* genomes, repetitive sequences from different oat species have been isolated and characterized by in situ and Southern hybridization. In the present study highly repetitive DNA fractions (Cot=1) from *A. strigosa* (CotA) and *A. sativa* (CotACD) were isolated and were used for in situ hybridization on hexaploid *A. sativa* chromosomes. Probe CotACD labeled all chromosomes evenly throughout their length at the same intensity. Probe CotA labeled the 28 A and D genomes chromosomes strongly and the 14 C genome chromosomes faintly. Furthermore, three cloned repetitive sequences, pAvKB9, pAvKB26 and pAvKB32 were characterized molecularly and cytologically, in relation to A, B, C and D *Avena* genomes and the genus *Arrhenatherum*, using molecular and cytological methods. Clones pAvKB9 and pAvKB26 were absent from *Avena* C genome, while both could discriminate the presence of D genome in Southern hybridizations. In situ hybridization to diploid and tetraploid *Avena* species revealed that the probes showed a dispersed genomic organization and that are present on both arms of all chromosomes excluded from broad centromeric and telomeric regions, and the NORs. Probe pAvKB26 hybridized less at subtelomeric regions. All probes were found to hybridize also on Southern blots containing *Arrhenatherum* digested genomic DNA, indicating *Arrhenatherum*'s close affinity to A, B and D *Avena* genomes. These results indicate the close relationship between A and D genomes and the presence of common DNA sequences between A and C *Avena* genomes.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ 12s rDNA ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ *Atherina boyeri*

Κλώσσα-Κίλια Ε.[2], Παπασωτηρόπουλος Β.[1], Κίλιας Γ.[1] και Σ. Αλαχιώτης[1]

Πανεπιστήμιο Πάτρας, Τμήμα Βιολογίας
[1]Τομέας Γενετικής Βιολογίας Κυττάρου & Ανάπτυξης
[2]Τομέας Βιολογίας Ζώων

Η *A. boyeri* είναι ένας ευρύαλος οργανισμός με μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση. Χαρακτηρίζεται από έντονη κινητικότητα, σε τοπικό όμως επίπεδο, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται ημιαπομονωμένοι πληθυσμοί, προσαρμοσμένοι στις τοπικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Για τη διεξαγωγή της μελέτης επιλέχθηκαν τέσσερις πληθυσμοί *A. boyeri* από περιοχές που παρουσιάζουν μεγάλο εύρος διακύμανσης ως προς την αλατότητα. Συγκεκριμένα επιλέχθηκαν άτομα από την λίμνη Τριχωνίδα (γλυκό νερό), από την λιμνοθάλασσα Αιτωλικού (υφάλμυρο), από το μέτωπο Πατραϊκού κόλπου-λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου (αλμυρό) και από την Β.Δ ακτή της Πελοποννήσου - περιοχή Καλαμάκι (αλμυρό). Η ανάλυση της γενετικής δομής των εν λόγω πληθυσμών και ο προσδιορισμός των φυλογενετικών τους σχέσεων, βασίστηκε στη μελέτη των πολυμορφισμών τμήματος του 12s r DNA με τη χρήση PCR και περιοριστικών ενζύμων. Δοκιμάστηκαν 24 περιοριστικά ένζυμα από τα οποία 7, τα Bfa I, BstN I, Dde I, Kpn I, Nla III, Rsa I και Taq I, βρήκαν θέσεις αναγνώρισης και αποκάλυψαν τόσο διαπληθυσμιακούς (διαγνωστικούς) όσο και ενδοπληθυσμιακούς πολυμορφισμούς. Με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος REAP προσδιορίστηκε η απλοτυπική ποικιλότητα των πληθυσμών και οι συντελεστές των νουκλεοτιδικών αποκλίσεων. Ήδη βρίσκεται σε εξέλιξη μελέτη τμημάτων του 16s r DNA και της περιοχής της D-loop , η οποία, θα συμβάλλει στην ερμηνεία της γενετικής δομής των πληθυσμών και στην κατασκευή πιθανών φυλογενετικών δένδρων.

**** Η έρευνα χρηματοδοτείται από την Επιτροπή Ερευνών Παν. Πατρών (πρόγραμμα Κ. Καραθεοδωρή)***

STUDY OF THE 12s rDNA GENE OF FOUR POPULATIONS OF *Atherina boyeri*

Klossa - Kilia E.[2], Papasotiropoulos B.[1], Kilias G.[1] & S. Alahiotis[1]

[1]Division of Genetics, Cell Biology & Development
[2]Division of Animal Zoology
Department of Biology, University of Patras.

Atherina boyeri is an euryalin organism with a large geographic distribution. It is characterized by intense mobility on the regional level, and as a result semi-isolated populations, which are adapted to the environmental conditions, are created. For this study four populations of *A. boyeri* were selected from regions that present a large range of variance in accordance to salinity. Specimens were collected from Trihonida lake (freshwater), Aitoliko lagoon (brackish water), from the border of Patraikos gulf - Mesologgi lagoon (sea water) and from the N.W. coast of Peloponnisos (Kalamaki region). The analysis of the genetic structure and the definition of the their phylogenetic relationships were based on the study of one mitochondrial gene polymorphisms (12s rDNA) after digestion with restriction enzymes. Twentyfour restriction enzymes were used from which seven (Bfa I, BstN I, Dde I, Kpn I, Nla III, Rsa I & TaqI) showed inter- and intra- population polymorphisms. Using the REAP statistical program the haplotypic variance and the coefficient of nucleotide divergence were estimated. The study of 16s rDNA and D-loop region polymorphisms is in progress, which will contribute to the further investigation of the genetic structure and the phylogenetic relations between these populations.

**** This research is financed by the Research Committee Univ. of Patras (Program K. Karatheodori)***

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΩΝ ΘΕΡΜΟΕΠΑΓΟΜΕΝΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΜΥΓΑ *Ceratitis capitata*

Κοκολάκης Γ., Παπαδημητρίου Ε., Χρυσανθακοπούλου Β., Ζαχαροπούλου Α., Μίντζας Α.

Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών

Ένας από τους μηχανισμούς αντίδρασης των οργανισμών στο θερμοκρασιακό σοκ και σε άλλες δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες είναι η σύνθεση μίας ομάδας πρωτεϊνών, των θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών (HSPs). Οι πρωτεΐνες αυτές προστατεύουν τους οργανισμούς κάτω από συνθήκες περιβαλλοντικής πίεσης ενώ διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και σε πολλές διαδικασίες κάτω από φυσιολογικές συνθήκες.

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η κλωνοποίηση και ο χαρακτηρισμός των *hsp27* και *hsp23* γονιδίων της οικογένειας των μικρών θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών στην μεσογειακή μύγα. Πραγματοποιήθηκε διαλογή σε μία γονιδιοματική βιβλιοθήκη της *C. capitata* κάτω από χαμηλό κριτήριο υβριδοποίησης χρησιμοποιώντας ως ανιχνευτή ένα γονιδιοματικό κλώνο της *Drosophila melanogaster* που περιείχε τα γονίδια *hsp27* και *hsp23.* Απομονώθηκαν 6 υποψήφιοι κλώνοι οι οποίοι αναλύθηκαν περαιτέρω. Ένας κλώνος περιείχε ένα 6.8 kb *EcoRI* τμήμα το οποίο υβριδοποιείται με τις κωδικές περιοχές των *hsp27* και *hsp23* γονιδίων της *D. melanogaster.* Η ανάλυση της πρωτοδιάταξης του τμήματος αυτού έδειξε ότι περιέχει 2 ανοιχτά αναγνωστικά πλαίσια μεγέθους 214 και 205 κωδικών τα οποίο κωδικοποιούν 2 πολυπεπτίδια μεγέθους 23.9 και 18.8 kDa αντίστοιχα. Τα πολυπεπτίδια αυτά έχουν 62.2 % και 58.6 % ομολογία με τα πολυπεπτίδια των hsp27 και hsp23 πρωτεϊνών της *Drosophila* γεγονός που υποδηλώνει ότι αποτελούν τα ομόλογα τους μόρια στην *C. capitata* . Τα τμήματα αυτά χαρτογραφήθηκαν στην 81A θέση των πολυταινικών χρωμοσωμάτων όπου εντοπίζεται μία από τις κύριες θερμοεπαγώμενες χρωμοσωμικές διογκώσεις. Τα 2 γονίδια παρουσιάζουν μέγιστη έκφραση σε θερμοκρασίες μεταξύ 35 και 37 ^{0}C ενώ κατά την ανάκαμψη από θερμοκρασιακό σοκ η συγκέντρωση των μεταγράφων επανέρχονται σε φυσιολογικά επίπεδα μετά από 20 λεπτά. Στην 5΄ρυθμιστική περιοχή των γονιδίων εντοπίσθηκαν στοιχεία απόκρισης στη θερμοκρασία.

THE SMALL HSPS GENES IN THE MEDFDLY *Ceratitis capitata*

Kokolakis G., Papadimitriou E., Chrysanthakopoulou V., Zacharopoulou A., Mintzas A.

Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Department of Biology, University of Patras, Greece

The response of all organisms to heat shock and other environmental stresses is connected to the induction or enhancement of the synthesis of a number of proteins called heat shock proteins (HSPs). HSPs provide protection against stresses and play major roles in several cellular processes under normal conditions. In the present study we have cloned and characterised the *hsp*27 and *hsp*23 medfly genes which belong to the small hsp family. In order to clone the small *hsp* genes of *C. capitata*, a medfly genomic library was screened under moderately stringent conditions using as probe a DNA fragment containing the *hsp*27 and *hsp*23 genes of *Drosophila melanogaster*. Six putative clones were isolated and further characterised. One of these clones contained a 6.8 kb *EcoR* I fragment which was hybridised with the coding regions of the *Drosophila hsp*27 and *hsp*23 genes. Sequencing of this fragment revealed two open reading frames of 214 and 205 codons which potentially encode two polypeptides with predicted molecular weights of 23.9 and 18.8 kDa respectively. These polypeptides had 62.2% and 58.6% identity with the *Drosophila* hsp27 and hsp23 polypeptides respectively, thus indicating that they are the medfly hsp27 and hsp23 homologs. Furthermore, restriction fragments containing the coding regions of the two genes were mapped in the region 81A of the salivary gland polytene chromosomes which corresponds to one of the major heat shock puffs. Northen analyses showed that the two genes reach maximum expression between 35 to 37 ^{0}C, while during recovery from a heat shock, the transcripts of the two genes reach normal levels 20 min after the heat shock treatment. In the 5' upstream region of the two genes, characteristic heat shock response elements were identified.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΟΙΚΟΤΟΥΡΙΣΤΙΚΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ : ΧΡΗΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΝΔΕΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΦΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΒΙΩΣΙΜΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΗΣ ΛΙΜΝΗΣ ΖΗΡΟΥ, ΗΠΕΙΡΟΥ

Κόλλιας Θ. και Ι. Ηλιοπούλου-Γεωργουδάκη

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Ζώων, Πανεπιστήμιο Πατρών 26500 Πάτρα

Είναι επιστημονικά τεκμηριωμένη η ανάγκη για μια πολυδιάστατη προσέγγιση της διαχείρισης του οικοτουρισμού που θα περιλαμβάνει τις ποσοτικές και ποιοτικές παραμέτρους που προσδιορίζουν την πολυπλοκότητα του συστήματος άνθρωπος - περιβάλλον, που θα βασίζεται στην αναλυτική μελέτη των κρίσιμων περιβαλλοντικών παραμέτρων και στον προσδιορισμό και εκτίμηση των διαχρονικών επιπτώσεων της δεδομένης δράσης. Η διαδικασία αυτή θα οδηγήσει στην καθιέρωση δεικτών και κριτηρίων για τη διασφάλιση της μακροπρόθεσμης βιωσιμότητας των φυσικών πόρων. Στην εργασία αυτή μελετώνται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ της διαχείρισης των φυσικών πόρων, της παρουσίας των επισκεπτών και της τοπικής κοινότητας κατά την υλοποίηση συγκεκριμένου σχεδίου προκειμένου να αναπτυχθούν οι κατάλληλες διαδικασίες για ορθολογικό οικοτουριστικό σχεδιασμό.
Για το σκοπό αυτό επελέγη η περιοχή της λίμνης του Ζηρού στο νομό Πρέβεζας, λόγω του ότι αποτελεί έναν εξαιρετικά ενδιαφέροντα οικολογικά και αισθητικά υγρότοπο με αποτέλεσμα να συνιστά ένα εν δυνάμει τοπίο εφαρμογής οικοτουριστικής πολιτικής. Προς τούτο επιχειρείται η διαμόρφωση ενός διαχειριστικού σχεδίου που λαμβάνει υπόψη την κατάσταση και τη δυναμική του οικοσυστήματος προκειμένου να προσδιορίσει τα αποδεκτά όρια χρήσης των φυσικών πόρων καθώς και τα ανεκτά όρια, που προκύπτουν από τα προηγούμενα, διακίνησης των επισκεπτών. Στο σχεδιασμό αυτό, σημαντικός είναι ο ρόλος της χρήσης των κατάλληλων βιολογικών δεικτών για την υπό μελέτη περιοχή. Αυτή θα επιτρέπει την συστηματική εφαρμογή της οικοτουριστικής δράσης κατά τρόπο αξιόπιστο, σύντομο χρονικά και οικονομικό με αποτέλεσμα να διασφαλίζει τη βιωσιμότητα της συγκεκριμένης δράσης και προστασία των φυσικών πόρων της περιοχής.

MANAGING ECOTOURISM: THE USE OF MARKERS FOR THE CONNECTION BETWEEN CONCERVATION OF NATURE AND ECONOMIC DEVELOPMENT. THE CASE OF LAKE ZEROS, EPIRUS, GREECE

Kollias T. & J. Iliopoulou-Georgoudaki

Deparlmnet of Biology, Section of Animal Biology, University of Patras, Patras 26 500 Greece

The need for a multidimensional approach of the ecotourism management that should include qualitative and quantitative parameters reflecting the complexity of human - environment system it is scientifically proved, More specifically, the ecotourism management has to rely on the analytical research of critical environmental parameters and focus on the identification and assessment of long - term impacts of this specific action. This procedure will lead to the establishment of the indicators and criteria ensuring the long-term viability of an area's natural resources. In this work the interactions between the natural resource management, visitors' flow and local communitv during the, implementation of the specific plan in order to develop the proper procedures for a sustainable ecotouristic planning, are studied, For this purpose the area of lake Zeros in Epirus, a wetland of great ecological and esthetical importance, for which is considered as a potential area of ecotourism management policy implementati~n, was chosen. It is attempted the design of the management plan that would take into account the status and dynamics of the ecosystem, so as to determine the acceptable limits of natural resources use and the derived acceptable limits of visitors' flow. The use of the appropriate biological indicators is of decisive importance. This allows the systematical implementation of the ecotourism action in an effective, reliable and economic way, that ensures the viability of the specific action and as a consequence the conservation of the area' s natural resources.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΡΙΖΩΝ ΠΟΥ «ΕΙΣΕΡΧΟΝΤΑΙ» ΣΤΙΣ ΚΑΤΑΚΟΜΒΕΣ ΤΗΣ ΜΗΛΟΥ

Κοτζαμάνης Γ.[1], Καπόλας Γ.[1], Ψαράς Γ.[2], Νάσιος Κ.[1] και Σ. Ριζοπούλου[1]

[1]Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 157 84
[2]Τομέας Βιολογίας Φυτών, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα 26500

Οι ρίζες φυτών «απαντούν» σε φυσικούς παράγοντες, όπως η αντοχή του εδάφους και οι κλιματικές συνθήκες, με βιοχημικές, φυσιολογικές, ανατομικές προσαρμογές. Μελετήσαμε τις ρίζες που εισέρχονται στις κατακόμβες της Μήλου. Φαίνεται πολύ πιθανό, ότι η διαδρομή που ακολουθούν οι ρίζες διαμέσου του εδάφους επηρεάζει όλη την (μεταγενέστερη) εδαφική δομή. Η κατασκευή και η λειτουργία των κατακομβών, ως χώρος θρησκευτικής λατρείας, αλλά και ταφής νεκρών, ξεκίνησε στο τέλος του 1ου αιώνα μ.Χ, αλλά η ύπαρξή τους έγινε γνωστή το 1840. Έτσι, οι κατακόμβες παρέμειναν κλειστές για περισσότερο από 1.500 χρόνια. Στο σκοτεινό εσωτερικό περιβάλλον, η σχετική υγρασία διατηρείται υψηλή (92-98 %) και η θερμοκρασία σταθερή (20-23 °C), καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Τ' αυτοφυή φυτά στον περιβάλλοντα χώρο πάνω από τις κατακόμβες, έχουν στη πλειονότητά τους εκτεταμένα ριζικά συστήματα.
Η εργασία μας έδειξε –για πρώτη φορά- ότι οι ρίζες των φυτών που διαπερνούν την οροφή των κατακομβών και επεκτείνονται συνήθως παράλληλα ως προς την οροφή, προέρχονται από φυτά *Capparis* sp., με τάχος ανάπτυξης 2,4-2,8 mm h^{-1}. Κατά τους χειμερινούς μήνες, το πέτρωμα μέσα στις κατακόμβες είναι υγρό κι εκκρίνεται υδατικό διάλυμα (pH=5) από πολυάριθμες πλάγιες ρίζες. Το Ψ των ριζών βρέθηκε 0,4 MPa. Ο κεντρικός κύλινδρος έχει μεμονωμένα αγγεία μεγάλης διαμέτρου. Η ρίζα περιβάλλεται από εξωδερμίδα. Το περιεχόμενο σε διαλυτά σάκχαρα κυμαίνεται 110-150 mg gr^{-1} ξ.β., σε άμυλο 10-30 mg gr^{-1} ξ.β. και σε προλίνη 20-45 μmoles gr^{-1} ξ.β.

A STUDY OF ROOTS INVATING THE CATACOMBS ON MILOS ISLAND

Kotzamanis G.[1], Kapolas G.[1], Psaras G[2], Nassios K.[1] & S. Rhizopoulou[1]

[1]Section of Botany, Department of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 84
[2]Section of Plant Biology, Department of Biology, University of Patras, Patras 265 00

Responses of plants to physical stimuli, like soil strength and climate are mediated via biochemical, physiological and anatomical processes. In the case of the early-Christians' Catacombs in the northern part of Milos island in Aegean, plant species invade fissures of pumice stone. The passage of roots through the soil changes the subsequent mechanical impedance of Catacombs. Their digging and function as both a place of worship and burial ground, began in the turn of 1st Century AD and continued into the 6th Century AD. However, their existence was officially announced in 1840. These Catacombs consist an underground network of three chambers and a corridor, which remained closed for more than 1,500 years. In our days, they are open and tourists can visit them. The indoor environment is characterized by high relative air humidity (90-98 %) and stable air temperature (20±3 °C), throughout a year. Several plant species growing above the Catacombs, up on the hill (more than 25 m height), are mainly deeply rooted plants, characteristic of the Mediterranean flora. We found, though, that the roots which do penetrate the roof of Catacombs, belong to *Capparis* sp.; the roots grow during late autumn, exhibiting an elongating rate 2.4 - 2.8 mm h^{-1}. In winter, the extrusion of a solution (pH 5), from numerous thin lateral roots per square meter, has been observed. ? of root apices is 0.5 MPa approximately. The central cylinder of the root consist of large solitary vessels. Root content in soluble sugars varies from 90 to 150 mg g^{-1} d.w., in starch 10-30 mg g^{-1} d.w. and that in free proline mg g^{-1} d.w.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΦΥΛΕΤΙΚΗΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΑΠΟΣΤΑΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΕΧΝΗΤΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ Της *D. melanogaster*

Κούκου Α, Κίλιας Γ. και Σ. Αλαχιώτης

Τομέας Γενετικής Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης
Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Πατρών

Η μελέτη της φυλετικής απομόνωσης μεταξύ φυσικών πληθυσμών Drosophila έχει απασχολήσει αρκετά εργαστήρια χωρίς να έχει αποκαλυφθεί απόκλιση από την παμμιξία. Χρησιμοποιώντας ένα μοναδικό πειραματικό σύστημα τεχνητών πληθυσμών D. melanogaster, που δημιουργήθηκε στο εργαστήριό μας το 1973, αποκαλύφθηκε για πρώτη φορά η ύπαρξη υψηλού συντελεστή φυλετικής απομόνωσης μεταξύ πληθυσμών (SII=0,34) που διατηρούνται κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Από τους αρχικούς δημιουργήθηκαν 8 υποπληθυσμοί οι οποίοι εκτέθηκαν σε νέες επιλογικές πιέσεις. Από αυτούς μελετήθηκαν οι $1Γ_{1M}$, $1Γ_{2M}$. $1Δ_{1E}$, $1Δ_{2E}$, υπολογίστηκε ο συντελεστής φυλετικής απομόνωσης, καθώς και η γενετική απόσταση.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο συντελεστής φυλετικής απομόνωσης εξακολουθεί να διατηρείται σε πολύ υψηλό επίπεδο (π.χ ο SII μεταξύ $1Γ_{1M}$ x $1Δ_{1E}$ = 0,45 ±0,102) 14 χρόνια μετά τη δημιουργία τους, και είναι αισθητά μεγαλύτερος από αυτόν που διατηρούν οι αρχικοί πληθυσμοί (SII=0,354±0,046). Οι γενετικές αποστάσεις που υπολογίστηκαν μεταξύ των 4 πληθυσμών είναι αρκετά χαμηλές, αν και υψηλότερες από αυτή που είχαν οι γονικοί, 1Γ και 1Δ, ενώ, δεν υπάρχουν ισχυροί μετασυζευκτικοί μηχανισμοί. Η ύπαρξη μικρής γενετικής απόστασης και υψηλής φυλετικής απομόνωσης οδηγούν στο συμπέρασμα ότι στα αρχικά τουλάχιστον ειδογενετικά στάδια οι αλλαγές στα γονίδια που επηρεάζουν την συμπεριφορά σύζευξης είναι σημαντικές◄ αντίθετα η ειδογενετική πορεία μπορεί να προχωρήσει και χωρίς να συνοδεύεται από μεγάλη γενετική απόσταση όπως τουλάχιστον αυτή υπολογίζεται.

**** Η έρευνα αυτή χρηματοδοτείται από την επιτροπή ερευνών Παν. Πατρών (πρόγραμμα Κ. Καραθεοδωρή)***

STUDY OF SEXUAL ISOLATION AND GENETIC DISTANCE BETWEEN LABORATORY POPULATIONS OF *D. melanogaster*

Koukou A, Kilias G. & S. Alahiotis

Division of Genetics, Cell Biology and Development.
Department of Biology, University of Patras

Several laboratories have studied sexual isolation between natural populations of Drosophila, without being able to reveal significant divergence from panmixia. The presence of high sexual isolation was revealed for the first time (SII=0,34), using a unique experimental system of D. melanogaster laboratory populations (maintained under different environmental conditions) created in our laboratory in 1973. Eight subpopulations created from these first populations were exposed to new selective pressures. Populations $1C_{1M}$, $1C_{2M}$, $1D_{1E}$, $1D_{2E}$ were studied and the sexual isolation index, as well as the genetic distance were estimated. The results of this study show that the sexual isolation index is maintained at high levels (e.g. SII of $1C_{1M}x1D_{1E}$=0,45±0,102), 14 years after there establishment of the populations and is significantly higher than that of 1Cx1D SII=0,354±0,046. The genetic distances that were estimated between these 4 populations are sufficiently low, even though they are higher than those of 1C &1D, while there are no strong postzygotic isolation mechanisms. The low genetic distance in regard to high sexual isolation, leads us to the conclusion that, at the initial stages of speciation at least, the changes in genes that effect sexual behaviour are important. In contrast the speciation process may continue without being accompanied by high genetic distances, in relation of how this distance is calculated.

**** This research is financed by the Research Committee, University of Patras (Program K. Karatheodoris).***

Η ΒΑΘΥΜΕΤΡΙΚΗ ΔΙΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΠΕΛΑΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΕΝΘΙΚΩΝ ΔΕΚΑΠΟΔΩΝ ΚΡΟΥΣΤΟΦΟΡΩΝ ΣΤΟ ΑΙΓΑΙΟ

Κούκουρας Α.[1], Καΐκας Β.[1], Καρακώτσιος Κλ.[1], Κίτσος Μ.-Σ.[1], Μαβίδης Μ.[1], Αναστασιάδου Χ.[1], Καλλιανιώτης Α.[2] και Δ. Βαφείδης[2]

[1]Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τομέας Ζωολογίας, 54006 Θεσσαλονίκη, Ελλάς
[2]Ινστ. Αλιευτικών Ερευνών Καβάλας, Νέα Πέραμος, 64007 Καβάλα, Ελλάς

Η εξέταση μιας μεγάλης, πρόσφατης συλλογής δεκαπόδων από όλα τα βάθη στο Αιγαίο σε συνδυασμό με τα υπάρχοντα δεδομένα και την ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας, έδωσε σημαντικές πληροφορίες για τη βαθυμετρική διανομή των δεκαπόδων κρουστοφόρων της περιοχής.
Η βαθυμετρική διανομή των πελαγικών και των βενθικών δεκαπόδων δίνεται ξεχωριστά.
Και για τις δυο ομάδες, δίνονται, για το κάθε είδος ξεχωριστά, τα όρια και όπου είναι δυνατό το κύριο εύρος της κατακόρυφης διανομής του.
Δίνεται επίσης η κατακόρυφη διανομή των δεκαπόδων, σαν αριθμός ειδών και γενών, σε μικρής και μεγάλης κλίμακας διαβαθμιζόμενα βάθη.
Τέλος, συζητούνται οι παράγοντες που ελέγχουν το πρότυπο της κατακόρυφης διανομής τους στο Αιγαίο.

BATHYMETRIC DISTRIBUTION OF THE PELAGIC AND BENTHIC DECAPODA CRUSTACEA, IN THE AEGEAN SEA

Koukouras A.[1], Kaikas V.[1], Karakotsios K.[1], Kitsos M.-S.[1], Mavidis M.[1], Anastasiadou Chr.[1], Kallianiotis A.[2] & D. Vafidis[2]

[1]Aristotle University of Thessaloniki, Department of Zoology, 54006 Thessaloniki, Greece
[2]Fisheries Research Institute of Kavala, Nea Peramos, 640 07 Kavala, Greece

The examination of a large, recently collected material from all depths in the Aegean Sea, in combination with previously existing data and the review of the relevant literature gave significant information on the bathymetric distribution of the decapod crustaceans, of the area. The bathymetric distribution of the pelagic and benthic decapods is given separately.
For both groups, the limits and wherever possible the main range of the vertical distribution are given, for each species separately. The vertical distribution of the decapods, presented as numbers of species and genera, in small and large scale graded depths, is also given.
Finally, the factors controlling their vertical distribution pattern in the Aegean are discussed.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΩΝ ΟΞΙΝΩΝ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ P1 ΚΑΙ P2 ΣΤΑ ΕΙΔΗ *Bombyx mori, Bactrocera oleae, Ceratitis capitata* ΚΑΙ *Drosophila melanogaster*

Κουσκούτη Α., Γάγκου Μ.Ε, Ζαχαριουδάκης Κ. και Σ. Κουγιανού-Κουτσούκου

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784

Οι όξινες ριβοσωμικές P-πρωτε?νες αποτελούν τα δομικά συστατικά του μίσχου του ευκαρυωτικού ριβοσώματος, και η λειτουργία τους σχετίζεται με την πρόσδεση των παραγόντων επιμήκυνσης και την υδρόλυση του GTP κατά την πρωτεϊνοσύνθεση. Η μελέτη αυτή περιλαμβάνει την απομόνωση των γονιδίων των όξινων P-πρωτεϊνών στα είδη *Bombyx mori* και *Bactrocera oleae* με κατασκευή ομόλογων μορίων ανιχνευτών με τη μέθοδο PCR. Για το γονίδιο P2 συντέθηκαν δύο προϊόντα μεγέθους 313 bp και 328 bp, για το *B. mori* και *B. oleae*, αντίστοιχα, ενώ για το γονίδιο P1 συντέθηκαν δύο προϊόντα μεγέθους 151 bp. Ως μήτρα χρησιμοποιήθηκε χρωμοσωμικό DNA και ως εναρκτήρια μόρια συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια. Η πρωτοταγής δομή και η προβλεπόμενη αμινοξική αλληλουχία των προϊόντων PCR έδειξαν ότι κωδικοποιούν ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης, ενώ η σύγκριση τους με τα γονίδια των ομολόγων P-πρωτεϊνών στα είδη *Ceratitis capitata* και *Drosophila melanogaster* έδειξε μεγάλο βαθμό ομοιότητας, σε επίπεδο αμινοξέων. Και στα τέσσερα είδη, το γονίδιο P2 δεν περιέχει εσόνιο, ενώ έχουν επίσης συντηρηθεί και οι χαρακτηριστικές δομές της ενδιάμεσης και καρβοξυτελικής περιοχής των ευκαρυωτικών P-πρωτεϊνών. Η πρωτοταγής δομή και ο αριθμός των υδρόφοβων καταλοίπων της ενδιάμεσης περιοχής ποικίλουν, ωστόσο, μεταξύ των τεσσάρων ειδών. Ο έλεγχος μιας λgt11 cDNA βιβλιοθήκης του *B. mori*, χρησιμοποιώντας ως μόριο ανιχνευτή το ομόλογο, 151 bp, προϊόν PCR, οδήγησε στην απομόνωση 10 ανασυνδυασμένων κλώνων, με το cDNA του γονιδίου P1.

COMPARATIVE STUDY OF THE ACIDIC RIBOSOMAL P - PROTEIN GENES IN THE SPECIES *Bombyx mori*, *Bactrocera oleae, Ceratitis capitata* AND *Drosophila melanogaster*

Kouskouti A., Gagou M.E., Zacharioudakis K. & S. Kouyanou-Koutsoukou

University of Athens, Department of Biology, Division of Genetics and Biotechnology, Panepistimiopolis, Athens 157 84

The stalk on the eukaryotic ribosome consists of acidic phosphoproteins, contributing to the binding of the elongation factors and the GTP hydrolysis during protein synthesis. We present here the isolation of the acidic P-protein genes of the insects *Bombyx mori* and *Bactrocera oleae*, with homologue DNA probes, prepared by PCR. Genomic DNA was used as template and primers of synthetic oligonucleotides. Two PCR products of 313 bp and 328 bp were synthesized for the P2 gene of *B. mori* and *B. oleae*, respectively, while two PCR products of 151 bp were synthesized for the P1 gene. Sequencing analysis and determination of the predicted amino acid sequence of the PCR products showed that they code for open reading frames, while comparison with the homologue P-proteins genes of *Drosophila melanogaster* and *Ceratitis capitata* showed great similarity. The P2 gene is intronless in all four species, and the characteristic structural domains of the hinge and carboxy terminal regions of the eukaryotic P-proteins have also been well conserved. The sequence and the number of hydrophobic residues of their hinge region vary, however, among the four species. Screening of a *Bombyx mori* λgt11 cDNA library with the homologue 151 bp PCR product, led to the isolation of 10 recombinant clones, with the P1 cDNA.

ΓΟΝΙΔΙΑΚΟΣ ΒΟΜΒΑΡΔΙΣΜΟΣ ΩΟΘΥΛΑΚΙΩΝ ΤΟΥ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΑ *Bombyx mori*: ΜΙΑ ΝΕΑ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΥΠΟΚΙΝΗΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ

Κραββαρίτη Λ., Thomas J-L.*, Σουρμελή Σ., Ροδάκης Γ. και Ρ. Λεκανίδου

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Πανεπιστημιόπολη, 15784 Αθήνα
***Unite National Sericole, INRA, La Mulatiere, France**

Ανάλογα με το αναπτυξιακό στάδιο στο οποίο εκφράζονται, τα γονίδια του χορίου του *Bombyx mori* διακρίνονται σε πρώιμα, ενδιάμεσα και όψιμα και είναι συγκεντρωμένα στους γενετικούς τόπους Ch1-2, που περιέχει όλα τα όψιμα και ενδιάμεσα γονίδια και Ch3, που περιλαμβάνει τα πρώιμα γονίδια. Ως εξαίρεση, τρία αντίγραφα ενός πρώιμου γονιδίου (6F6.1, 2 και 3) βρίσκονται διάσπαρτα στον γενετικό τόπο των όψιμων γονιδίων. Επιπλέον, η περιοχή του υποκινητή των γονιδίων αυτών δεν παρουσιάζει καμία σημαντική ομοιότητα με τους υποκινητές των υπόλοιπων πρώιμων γονιδίων, ενώ έχει κοινά στοιχεία με τους υποκινητές των ενδιάμεσων και όψιμων γονιδίων.
Στην προσπάθειά μας να προσδιορίσουμε και να αναλύσουμε *in vivo* την περιοχή του υποκινητή των πρώιμων 6F6 γονιδίων, επιδιώξαμε, με τη μέθοδο βομβαρδισμού (gene gun particle delivery), την παροδική έκφραση σε ωοθυλάκια ενός γονιδίου αναφοράς (LacZ) υπό τον έλεγχο θεωρητικά προσδιορισμένων υποκινητών γονιδίων του χορίου. Πιο συγκεκριμένα, η χρησιμοποίηση δύο υποκινητών, του πρώιμου 6F6.2 γονιδίου και του όψιμου Hc.12, έδωσε σωστή χρονική και ιστοειδική έκφραση του γονιδίου αναφοράς. Τα αποτελέσματά μας υποδηλώνουν ότι η μέθοδος γονιδιακού βομβαρδισμού είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό *cis* ρυθμιστικών στοιχείων στους υποκινητές των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων του χορίου.

GENE GUN BOMBARDMENT OF *Bombyx mori* FOLLICLES: A NEW APPROACH IN THE STUDY OF CHORION GENE PROMOTERS

Kravariti L., Thomas J-L.*, Sourmeli S., Rodakis G.C. & R. Lecanidou

University of Athens, Faculty of Biology, Department of Biochemistry and Molecular Biology
***Unite National Sericole, INRA, La Mulatiere, France**

According to their developmental specificity of expression, *Bombyx mori* chorion genes can be classified as early, middle and late. These are clustered in genetic loci Ch1-2, which contains all middle and late genes, and Ch3, which includes all early genes. As an exception to this pattern, three copies of an early gene (6F6.1,2 and 3) are dispersed in the late gene locus. Moreover, the promoter regions of the 6F6 genes have no significant similarities with the corresponding regions of other early genes, whereas they share common elements with middle and late gene promoters.
In an effort to identify and analyse *in vivo* the promoter region of the early 6F6 genes, we used the biolistic method (gene gun particle delivery) for the transient expression in follicles of a reporter gene (LacZ), under the control of putative chorion gene promoters. More specifically, the use of two constructs, one containing the early 6F6.2 gene promoter and the other containing the late Hc.12 promoter, resulted in the correct tissue and temporal expression of the reporter gene. Our results indicate that the gene bombardment method is suitable for the identification of cis regulatory elements in the promoters of the differentially expressed chorion genes.

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ cDmPO ΚΛΩΝΟΥ ΣΕ ΩΟΘΥΛΑΚΙΑ ΣΤΑΔΙΩΝ 11-14 ΣΤΗ *Drosophila melanogaster*

Κωνσταντή Ο.Α. και Λ.Χ. Μαργαρίτης

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστημιόπολη, 157 84 Αθήνα

Το χόριο που περιβάλλει τα ωάρια της *D. melanogaster* δημιουργείται κατά τα τελευταία στάδια της ωογένεσης. Η σκλήρυνση της εσώτερης χοριονικής ζώνης (ICL) και του ενδοχορίου οφείλεται σε δεσμούς δι- και τρι-τυροσίνης 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 της χοριογένεσης οπότε και ενεργοποιείται από ενδογενώς παραγόμενο υπεροξείδιο του υδρογόνου στις αρχές του σταδίου 14. Ο cDmPO κλώνος (3.2kb) έχει απομονωθεί από cDNA βιβλιοθήκη εμβρύου της *D. melanogaster.* Το γονίδιο εντοπίζεται ως μοναδικό αντίγραφο στο τρίτο χρωμόσωμα σε περιοχή κοντά στα γονίδια του χορίου. Με σκοπό να διαπιστωθεί εάν το DmPO γονίδιο κωδικοποιεί και για την υπεροξειδάση του χορίου, πραγματοποιήθηκαν RT-PCR αντιδράσεις σε mRNA που απομονώθηκε από ωοθυλάκια σταδίων 11-14, έμβρυα και γεννημένα αυγά. Κατασκευάστηκαν ζευγάρια εκκινητών τόσο από συντηρημένες περιοχές υπεροξειδασών θηλαστικών, όσο και από περιοχή ειδική για τον cDmPO κλώνο. Απομονώθηκαν τα προϊόντα της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης και ακολούθησε προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής τους αλληλουχίας. Ένα από τα προϊόντα έδειξε ομολογία 100% με τον cDmPO κλώνο. Θα ακολουθήσει in situ υβριδισμός με τον οποίο θα εξακριβωθεί εάν το DmPO γονίδιο κωδικοποιεί για την υπεροξειδάση του χορίου ή για κάποια υπεροξειδάση που η δράση της εντοπίζεται στο ωοκύτταρο.

**** Η έρευνα αυτή χρηματοδοτήθηκε από το TMR research network proposal Nº ERB4061PL970047 στον Καθηγητή Λ.Χ. Μαργαρίτη***

IDENTIFICATION OF THE cDmPO CLONE IN THE FOLLICLES STAGE 11-14 OF *Drosophila melanogaster*

Konstandi O.A. & L.X. Margaritis

University of Athens, Department of Biology, Division of Cell Biology and Biophysics, Panepistimiopolis, Athens, 157 84.

The egg-shell of *D.melanogaster* is formed during the last stages of oogenesis. The hardening of the innermost chorionic layer (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. The cDmPO clone (3.2 kb) was isolated from a D.melanogaster embryonic cDNA library. The gene appears as a single copy, located on the third chromosome near the chorion genes. In order to find out if the cDmPO clone codes for the chorion peroxidase too, RT-PCR reactions were performed using as template RNA from follicles stages 11-14, embryos and late eggs. Primers were design from both conserved regions for mamalian peroxidases and specific for the cDmPO clone. The PCR products were at the expected size and they were sequenced. One of the PCR products shows 100% homology with the cDmPO clone. The in situ hybridization that will be performed in follicles will reveal if this clone codes for the chorion peroxidase or for a peroxidase located in the oocyte.

**** This project is supported by grants from the TMR Research Network Proposal Nº ERB4061PL970047 to Prof. L.H. Margaritis***

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΑΝΤΙΜΕΤΑΦΟΡΑ Na^+/H^+ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΣΕ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΜΕΝΑ ΣΕ NaCl ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ *Synechococcus sp.* PCC 7942

Λαδάς Ν.Π. και Γ.Χ. Παπαγεωργίου

ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Ινστιτούτο Βιολογίας, Αγία Παρασκευή, Αθήνα 15310

Οι αντιμεταφορείς Na^+/H^+ των βακτηριακών και φυτικών κυττάρων μετέχουν στη ρύθμιση του κυτοπλασμικού pH και της συγκέντρωσης Na^+ σε μη τοξικά για τα κύτταρα επίπεδα. Το κυανοβακτήριο *Synecho-coccus* sp. PCC 7942, οργανισμός μοντέλο για μελέτες αντιμετώπισης της αλατότητας, εισάγει παθητικά NaCl (συμμεταφορά Na^+, Cl^-, βλ. 1,2) και αποβάλλει ενεργητικά Na^+ μέσω αντιμεταφορέα Na^+/H^+ της πλασματικής μεμβράνης (ΠΜ). Το απαιτούμενο ΔpH δημιουργείται με άντληση H^+ από υδρολάση του ATP όσο και από την αναπνευστική αλυσίδα της ΠΜ. Μελετήσαμε την κινητική του αντιμεταφορέα σε ολόκληρα κύτταρα με την μέθοδο ακριδίνης (1). Οι καμπύλες κορεσμού της ενεργότητας αντιμεταφοράς ως προς την εξωτερική συγκέντρωση Na^+ (βλ. Εικ. 1), έδειξαν ότι όταν τα κύτταρα προσαρμόστηκαν σε NaCl η μέγιστη ταχύτητα αντιμεταφοράς (V_{max}) τριπλασιάστηκε, χωρίς να μεταβληθεί η συγγένεια (K_m) του αντιμεταφορέα ως προς το Na^+, μαρτυρώντας έτσι είτε υψηλότερη ταχύτητα εναλλαγής του αντιμεταφορέα, είτε αυξημένο αριθμό αντιμεταφορέων στα προσαρμοσμένα σε NaCl κύτταρα. Τέλος, βρήκαμε ότι ο αντιμεταφορέας Na^+/H^+ του *Synechococcus* αναστέλλεται από το αμιλορίδιο όπως και οι αντιμεταφορείς των ανωτέρων φυτών.

Na^+/H^+ EXCHANGE IN CONTROL AND NaCl- ADAPTED CELLS OF CYANOBACTERIUM *Synechococcus sp.* PCC 7942

Ladas N.P. & G.C. Papageorgiou

NCSR Demokritos, Institute of Biology, Aghia Paraskevi
Athens 15310, Greece

Na^+/H^+ antiporters of bacterial and plant cells are involved in pH home-ostasis as well as in the expulsion of Na^+, which at high concentrations is toxic to the cells. The fresh-water cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942, a widely used model organism for salinity tolerance studies, imports NaCl passively (cotransport of Na^+ and Cl^-, 1,2) and extrudes Na^+ ions actively by a plasma membrane Na^+/H^+ antiporter. The necessary ΔpH is generated by H^+ extrusion via ATP hydrolases (H^+ pumps) and the respiratory electron transport of plasma membrane. We studied the antiporter kinetic properties in whole *Synecho-coccus* cells using the acridine orange fluorescence quenching method (1).

The Na^+/H^+ antiport activity (Fig. 1) displayed saturation kinetics with respect to extracellular Na^+ concentrations, with a 3-fold higher V_{max} in salt adapted cells, as compared to control cells (see Figure). Antiporter affinity for Na^+ (K_m) was the same in control and salt-adapted cells. This suggests either increased antiporter turnover, or higher antiporter number in salt-adapted cells. The diuretic drug amiloride inhibited the Na^+/H^+ antiport in *Synechococcus* in a similar manner as in higher plants.

(1) Blumwald, E., Wolosin, M.J and Packer, L. (1984). Biochem. Biophys. Res. Commun. 122: 452-459,
(2) Ritchie, R.J. (1992). Plant Cell Environ. 15: 163-177

ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΚΤΙΑΣ ΖΩΝΗΣ ΤΟΥ CAMPING ΤΟΥ Ε.Ο.Τ. ΣΤΗΝ ΕΠΑΝΩΜΗ, ΣΤΟ ΘΕΡΜΑΪΚΟ ΚΟΛΠΟ

Λαζαρίδου, Μ., Τσιρίκα, Α., Τσούκα, Β. και Σ. Χαριτωνίδης

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, 54006 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Η χλωρίδα, η βλάστηση, καθώς και η φύση του υποστρώματος στο βιότοπο του camping του Ε.Ο.Τ., στην Επανωμή-Θερμαϊκός Κόλπος ερευνήθηκε με τη μέθοδο της χαρτογράφησης στο χρονικό διάστημα Απρίλιος 1998- Οκτώβριος 1998. Η δειγματοληπτική επιφάνεια (50.000m^2) χωρίστηκε με 21 τομές, με απόσταση 0-50m από την ακτή και με 5 τομές, με απόσταση 50-100m από την ακτή. Αυτές οι 5 τομές μελετήθηκαν με τη βοήθεια αυτοδυτών και μικρής βάρκας. Προσδιορίστηκαν 31 είδη μακροφυκών και 3 είδη θαλάσσιων φανερογάμων. Επικρατούσα κοινωνία μακροφυκών ήταν η *Cystoseira barbata*, με διάσπαρτες φάσεις *Dictyota dichotoma* και *Padina pavonica*, ενώ οι κοινωνίες φανερογάμων ήταν της *Cymodocea nodosa* και της *Posidonia oceanica*. Η θαλάσσια βλάστηση στην περιοχή μελέτης δεν είναι πολύ πλούσια συγκριτικά με παλιότερη έρευνα στην περιοχή (ΧΑΡΙΤΩΝΙΔΗΣ, 1978) (μείωση κατά 41%), εξαιτίας έντονης ανθρωπογενούς επέμβασης, μειωμένης ύπαρξης σκληρού υποστρώματος και ευτροφισμού. Παρατηρήθηκε μία σταδιακή υποχώρηση των λειμώνων της *Posidonia oceanica* και διαδοχή των θαλάσσιων φανερογάμων σύμφωνα με τη σειρά *Posidonia_Cymodocea_Zostera*. Η χαρτογράφηση της παράκτιας ζώνης του camping του Ε.Ο.Τ. μπορεί να τύχει εφαρμογής στα πλαίσια συντήρησης και συνεχούς ανάπτυξης του βιοτόπου (αειφορία).

MAPPING THE COASTAL ZONE OF E.O.T. CAMPING. IN EPANOMI, THERMAIKOS GULF

Lazaridou M., Tsirika A., Tsouka B. & S. Haritonidis

Aristotle University of Thessaloniki, Department of Biology, Institute of Botany, 54006 Thessaloniki, Greece

The flora, the vegetation and the nature of the substrate in the biotope of the Camping of E.O.T. in Epanomi-Thermaikos Gulf has been studied with a mapping method from April 1998 to October 1998. The sampling area (50.000 m^2) was divided in 21 transects in a distance of 0-50m from the coastline. Samples from those 5 transects were collected by drivers (autonomy diving) and with the help of a small boat. 31 species of marine macroalgae and 3 species of marine phanerogams were identified. The dominant community of macroalgae was the one of *Cystoseira barbara* with scattered phases of *Dictyota dictotoma* and *Padina pavonica*. The plant communities that were observed, were those of the marine phanerogams *Cymodocea nodosa* and *Posidonia oceanica*. In comparison with a previous study (HARITONIDIS, 1978) the marine vegetation of the studied area was reduced (decrease of 41%), due to intense human interference, deficiency of adequate hard substrate and eutrophication. There has also been observed a gradual decrease of *Posidonia oceanica* meadows and a succession of the marine phanerogams that goes as follows: *Posidonia* _ *Cymodocea* _ *Zostera*. The mapping of the coastal zone of the E.O.T. camping, in Epanomi, can be further applied in order to provide the maintenance and the development of the biotope.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΗΣ ΘΗΛΕΟ-ΣΤΕΙΡΌΤΗΤΑΣ FS(2)UGRA ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Drosophila melanogaster*

Λάμνισου Κλ.[1], Β. Γαλανόπουλος[2]

[1]Τομέας Γενετικής & Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα , 15784
[2]Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, 2208

Η ωογένεση στα έντομα είναι μια διαδικασία που απαιτεί την ομαλή συνεργασία πολλών κυττάρων, τόσο γενετικής όσο και σωματικής προέλευσης. Στη *Drosophila melanogaster* γενετικές και μορφολογικές μελέτες μεγάλου αριθμού μεταλλαγών που προκαλούν στειρότητα στα θηλυκά άτομα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι πολλές γενετικές θέσεις παίρνουν μέρος στην παραγωγή των αυγών τα οποία θα στηρίξουν στη συνέχεια την εμβρυογένεση. Τα πιο πολλά γονίδια που μελετήθηκαν έχουν υπολειπόμενη συμπεριφορά έναντι των κανονικών γονιδίων και μόνο λίγα είναι επικρατή.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε βιοχημικά και μορφολογικά η επικρατής μεταλλαγή θηλεοστειρότητας Fs(2)Ugra της *D. melanogaster* για να διευκρινιστεί ο ρόλος του γονιδίου Ugra στην ωογένεση. Η μεταλλαγή Fs(2)Ugra έχει περιγραφεί ως μια επικρατής μεταλλαγή που προκαλεί στειρότητα στα θηλυκά άτομα και έχει εντοπισθεί στη θέση 2-18 (Szabad et al, 1989). Θηλυκά άτομα Ugra έχει αναφερθεί ότι χαρακτηρίζονται από ομαλή ανάπτυξη των ωοθυλακίων μέχρι το αναπτυξιακό στάδιο 10, κατά King, ενώ αργότερα παρατηρείται αποδιοργάνωση και καταστροφή των ωοθυλακίων. Η μελέτη της λεπτής δομής των ωοθηκών Ugra, που έγινε στην εργασία αυτή, έχει δείξει ότι η μη ομαλή ανάπτυξη των ωοθυλακίων αρχίζει συχνά πριν από το στάδιο 10 και καθώς προχωρεί η ωογένεση παρατηρούνται πολλαπλές ανωμαλίες στη δομή των ωοθυλακίων και πλήρης αποδιοργάνωση τους. Η βιοχημική μελέτη των λεκιθικών πρωτεϊνών έδειξε ότι οι κύριες πρωτείνες της λεκίθου συντίθενται στα στείρα άτομα. Οι Ugra ωοθήκες περιέχουν και τις τρεις κύριες λεκιθοπρωτείνες, αν και οι ποσότητες τους ποικίλουν από ωοθήκη σε ωοθήκη και αυτό εξαρτάται από το βαθμό καταστροφής των ωοθυλακίων.

Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η γενετική θέση 2-18 δεν επηρεάζει άμεσα την βιτελλογένεση αλλά σχετίζεται με την ανάπτυξη και ωρίμανση των ωοθυλακίων μετά την πρόσληψη των βιτελογενινών από την αιμολέμφο.

BIOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL STUDY OF THE DROSOPHILA FEMALE STERILE MUTATION FS(2)UGRA

Lamnissou K.[1], B. Galanopoulos[2]

[1]Department of Genetics & Biotechnology, Faculty of Biology University of Athens, Athens (15784)
[2]Department of Biology, Univerity of Crete, Hraklio (2208)

Oogenesis in insects is a highly regulated developmental process. It involves the cooperation between the germ cells and certain somatic cell types. In *Drosophila melanogaster* genetic and morphological studies of a large number of female sterile mutations suggest that many genes are active during oogenesis to product normal eggs. However, most of these mutations are recessive and only a few are dominant.

In the present work, the dominant female sterile mutation Fs(2)Ugra of *Drosophila melanogaster* was studied biochemically and cytologically to reveal the effect of Ugra gene mutation on oogenesis. The Fs(2)Ugra was described previously as a follicle cell dependent female sterile mutation located at 2-18 (Szabad et al, 1989). It is characterized by normal development of the follicles up to about King's stage 10. Our results from the study of the fine structure of Ugra ovaries have shown oocyte abnormalities and degeneration even in earlier stages than 10. The three major yolk proteins in Ugra ovaries can be detected suggesting that the genetic loci 2-18 does not affect directly the process of vitellogenesis but affects the development of oocytes beyond vitellogenic stages.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

OrienTM: ΜΙΑ ΝΕΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΓΝΩΣΗΣ ΤΗΣ ΤΟΠΟΛΟΓΙΑΣ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Λιακόπουλος Θ.Δ., Pasquier C. και Σ.Ι. Χαμόδρακας

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 15784

Η μελέτη των πρωτεϊνών της κυτταρικής μεμβράνης απαιτεί υπολογιστικά εργαλεία για τη διαλεύκανση της δομής τους, με χρήση της αμινοξικής ακολουθίας και μόνο. Δυστυχώς, ακόμα και σήμερα, είναι πολύ δύσκολο να λυθεί η τρισδιάστατη δομή τους με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ ή NMR. Έτσι, έχουν επινοηθεί αρκετές μέθοδοι για τον εντοπισμό των διαμεμβρανικών τους περιοχών. Επιπλέον χρειάζεται να προσδιοριστεί ο προσανατολισμός των μορίων στη μεμβράνη (τοπολογία), δηλαδή η κατεύθυνση του κάθε διαμεμβρανικού τμήματος (προς το εσωτερικό του κυττάρου ή αντίστροφα). Το orienTM είναι ένα λογισμικό Η/Υ (γραμμένο σε C++) που κάνει πρόγνωση του προσανατολισμού στο σύνολο του πρωτεϊνικού μορίου και σε κάθε περιοχή του ξεχωριστά. Χρησιμοποιεί στατιστική ανάλυση "συγκεκριμένης θέσης" των αμινοξικών κατάλοιπων στις μη διαμεμβρανικές περιοχές όλων των μεμβρανικών πρωτεϊνών της βάσης δεδομένων SwissProt. Στηρίζεται σε έναν σταθερό στατιστικό αλγόριθμο, χωρίς να ενσωματώνει εμπειρικές παρατηρήσεις ή να βελτιστοποιεί αυθαίρετα τα αποτελέσματα. Τα ποσοστά επιτυχίας είναι αρκετά ικανοποιητικά τόσο για συγκεκριμένα σύνολα διαμεμβρανικών πρωτεϊνών με προσδιορισμένη δομή που αναφέρονται στη βιβλιογραφία (100% σε δείγμα 80 ευκαρυωτικών), όσο και για το σύνολο της SwissProt (95.43% στις ευκαρυωτικές). Είναι δε στις περισσότερες περιπτώσεις υψηλότερα από αυτά του εμπειρικού κανόνα Positive Inside (που αποτελεί σήμερα την πιο κοινή μέθοδο). Το πρόγραμμα είναι διαθέσιμο ελεύθερα για χρήση στο Internet, στη διεύθυνση **http://o2.db.uoa.gr/orienTM** χρησιμοποιώντας οποιοδήποτε εργαλείο πλοήγησης (π.χ. Netscape, Internet Explorer).

OrienTM: A NOVEL COMPUTATIONAL METHOD TO PREDICT TRANSMEMBRANE PROTEIN TOPOLOGY

Liakopoulos Th.D., Pasquier C. & S.J. Hamodrakas

Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens, Athens 15784

The study of cellular membrane proteins calls for computational tools to elaborate their structure, using their amino-acid sequence alone. Unfortunately, even today, it is very difficult to solve their 3-D structure by X-ray crystallography or NMR. Thus, several methods have been invented to detect their transmembrane regions. In addition, their orientation through the membrane (topology) needs to be determined, that is, the direction of each transmembrane segment (towards the inner part of the cell or vice-versa). OrienTM is a computer software (written in C++) that predicts the orientation for both the whole molecule, and for each region of it independently. It uses "position specific" statistical analysis of the amino-acid residues in the non-transmembrane regions of every membrane protein in the SwissProt database. It is based on a stable statistical algorithm, without integrating empirical observations or arbitrarily optimizing the results. The success levels are quite satisfactory for standard protein sets with known structures taken from the literature (100% for a sample of 80 eukaryotic proteins), and for the whole SwissProt as well (95.43% in eukaryotic proteins). In most cases they are higher than those achieved by the empirical Positive Inside rule (the most common method nowadays). The program may freely be used through the Internet, at the address **http://o2.db.uoa.gr/orienTM** utilizing any navigation tool (e.g. Netscape, Internet Explorer).

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΜΙΑ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΜΕ ΠΟΛΥΜΕΣΑ ΓΙΑ ΤΑ ΦΥΤΑ ΠΟΥ ΣΥΜΒΙΩΝΟΥΝ ΣΤΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Λιόπα-Τσακαλίδη Α.[1] και Κ. Μποβίλας[2]

[1]ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Πάτρας, Τ.Θ. 5149, 26004 Πάτρα
[2]Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Μηχανικών Ηλεκτρονικών Υπολογιστών & Πληροφορικής, Εργαστήριο Γραφικών, Πολυμέσων & Γεωγραφικών Συστημάτων Πληροφοριών, 26500 Ρίο, Πάτρα

Η παρούσα εφαρμογή πολυμέσων έχει σαν σκοπό να πληροφορήσει τους χρήστες σχετικά με τα κυριότερα φυτά που συμβιώνουν στις καλλιέργειες στον ελλαδικό χώρο. Συγκεκριμένα παρουσιάζεται αναλυτικά ένα παράδειγμα για το Νομό Αχαίας. Το ταξίδι του χρήστη στον κόσμο των αγριόχορτων των καλλιεργειών του Νομού αρχίζει από τη *βασική οθόνη* του τίτλου. η οποία περιλαμβάνει το χάρτη του Νομού, τις καλλιέργειες του, τα αγριόχορτα, τους τρόπους αντιμετώπισης των ζιζανίων και μια βάση δεδομένων (για εισαγωγή, ενημέρωση και διαγραφή των δεδομένων). Ο χρήστης έχει την δυνατότητα να επιλέξει τα περιεχόμενα της αρεσκείας του μέσα από ένα σύνολο από *ενότητες* που τον οδηγούν από το γενικό στο ειδικό.
Το πληροφοριακό σύστημα που είναι εμπλουτισμένο με αρκετό φωτογραφικό υλικό, είναι σχεδιασμένο με απλό και λειτουργικό τρόπο βασισμένο σε μεγάλη σειρά δεδομένων, τα οποία έχουν σκοπό να ικανοποιήσουν τις απαιτήσεις των χρηστών στο γνωστικό πεδίο της συμβιωτικής φυσικής χλωρίδας σε καλλιεργούμενη γεωργική γη.
Τέλος, είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι το σύστημα έχει την δυνατότητα να συμπληρωθεί με τα παραπάνω στοιχεία για όλο τον Ελλαδικό χώρο.

AN EDUCATIONAL APPROACH BY THE USE OF MULTIMEDIA FOR PLANTS COHABITING WITHIN CULTIVATIONS

Liopa-Tsakalidis A.[1] & K. Bovilas[2]

[1]N.AG.RE.F - Plant Protection Institute of Patras, P.O. Box 5149, 26004 Patras
[2]University of Patras, Department of Computer Engineering & Informatics, Graphics, Multimedia and Geographical Information Systems Laboratory, 26500 Rio, Patras

The multimedia application presented aims to inform users on the main plants, which cohabit in cultivations within the Greek territory. In particular a case study from Achaia county is being presented analytically. User's trip inside the world of weeds in cultivations of the county starts from the *basic menu screen,* which includes a map of the County, its cultivations, the weeds, the manners for confronting imps and a data base (for input, updating and deletion of data). The user has the ability of selecting the contents of his preference among a total of units, which guide him from the general to the specific.
The informational system, which is enhanced with adequate photographic material, is designed on a simple and operative manner, based on a large sequence of data, and intending to satisfy the users' requirements on the field of cohabiting natural flora in cultivated agricultural land. Concluding, it is important to point out that the system has the ability to be complemented by the respective data from all over Greece.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΟΙ ΚΟΙΝΩΝΙΕΣ ΤΩΝ ΔΙΑΤΟΜΩΝ ΣΤΑ ΥΔΡΟΘΕΡΜΙΚΑ ΠΕΔΙΑ ΤΗΣ ΝΗΣΟΥ ΜΗΛΟΥ

Λούβρου Ι. και Α. Οικονόμου-Αμίλλη

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Πανεπιστημιόπολη, 157 84 Αθήνα

Το νότιο Αιγαίο είναι ολιγότροφη θαλάσσια περιοχή σε σχέση με άλλες της Μεσογείου, οι δε διακυμάνσεις άνθρακα και θρεπτικών από υδροθερμικές περιοχές του ηφαιστειακού τόξου παίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγικότητά του. Η βιοποικιλότητα των οικοσυστημάτων αυτών είναι περιορισμένη.

Ποικίλες αναπτύξεις φυκών συλλέχθηκαν και καλλιεργήθηκαν από τα γεωθερμικά πεδία του κόλπου του Παλαιοχωρίου (νήσος Μήλος). Μελετήθηκαν κυρίως κοινωνίες διατόμων γύρω από μία τυπική υποθαλάσσια ανάβλυση βάθους 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 σε όλες τις ζώνες (κυανοφύκη παρατηρήθηκαν μόνο στην καστανού χρώματος ζώνη).

Προσδιορίσθηκαν 193 taxa ανήκοντα σε 50 διαφορετικά γένη διατόμων. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται και είδη με περιορισμένη εξάπλωση στον κόσμο (π.χ. το είδος *Diplomenora cocconeiformis* (Schmidt) Blaze έχει μέχρι σήμερα βρεθεί μόνο στο νότιο ημισφαίριο και στις ακτές του Μεξικού και της Καλιφόρνιας).

Ταξινομικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν αρκετά είδη διατόμων που εξετάζονται και με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM). Τα μορφολογικά τους γνωρίσματα ενθαρρύνουν την περιγραφή έξι (6) νέων για την επιστήμη ταξινομικών μονάδων (2 είδη *Diploneis*, 3 είδη *Navicula*, 1 είδος *Opephora*). Προτείνεται επίσης η αναθεώρηση του είδους *Navicula cornubiensis* Hendey σε *Biremis cornubiensis* Louvrou et Economou-Amilli.

DIATOM ASSEMBLAGES IN HYDROTHERMAL SITES OF MILOS ISLAND (AEGEAN SEA)

Louvrou I. & A. Economou-Amilli

University of Athens, Department of Biology, Sect. of Ecology & Systematics, Panepistimiopolis, 157 84, Athens, Ellas

The southern Aegean is considered to be an oligotrophic marine 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. Biodiversity in such ecosystems is rather low.
Mats of photosynthetic microbial communities were collected and cultured from geothermal fields at Palaeochori Bay (Milos Island, Aegean Sea). The diatom assemblages studied came from a typical vent, at a depth of 7m, with a characteristic pattern of successive yellowish, whitish and brownish zones concentric to the vent outlet. Diatoms were found to be the dominant algal group along the vent, whereas blue-green algae occupied only the brownish zone.
A total of 193 taxa belonging to 50 different diatom genera were identified, including species with restricted global distribution [e.g. *Diplomenora cocconeiformis* (Schmidt) Blaze is reported only in the southern hemisphere and the coasts of Mexico and California].
Several diatom species with taxonomic interest were studied by means of scanning electron microscopy (SEM), encouraging the description of 6 new species for the science (2 *Diploneis*, 3 *Navicula*, 1 *Opephora*). A taxonomic revision is also suggested (*Navicula cornubiensis* Hendey into *Biremis cornubiensis* Louvrou et Economou- Amilli).

ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ CREB ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΗ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΜΟΡΦΙΝΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ HEK-293 ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΟΥΝ ΜΟΝΙΜΑ ΤΟΝ μ-ΟΠΙΟΕΙΔΗ ΥΠΟΔΟΧΕΑ

Μαζαράκου Γ., Μερκούρης* Μ., Μώρου Ε. και Ζ. Γεωργούση

Ινστιούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ «Δ», 153 10 Αγ. Παρασκευή, Αθήνα
*** Παν/μιο του Chicago, Τμήμα Παιδιατρικής, Σικάγο, ΗΠΑ.**

Οι οπιοειδείς υποδοχείς (δ, μ και κ) ανήκουν στην υπεροικογένεια των υποδοχέων, οι οποίοι συζεύγνυνται με G πρωτε?νες. Η ενεργοποίηση των οπιοειδών υποδοχέων έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή της αδενυλικής κυκλάσης και/ή τη ρύθμιση μιας ποικιλίας ιοντικών καναλιών και άλλων συστημάτων τελεστών, με τη μεσολάβηση εξειδικευμένων υπομονάδων των G πρωτεινών, των α ή και βγ. Η αδρανοποίηση της αδενυλικής κυκλάσης αποτελεί ένα πολύπλοκο τρόπο οπιοειδούς ρύθμισης, και περιλαμβάνει τον έλεγχο των επιπέδων έκφρασης διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων (CREB, AP1, c-Jun), αλλά και την τροποποίηση της δράσης μεγάλου αριθμού ενδοκυτταρικών κινασών (MAP-κινάσες, β-ARK-κινάσες), από τις οποίες εξαρτάται και η ρύθμιση του ίδιου του υποδοχέα. Η ικανότητα να παράγονται (τόσο διαφορετικοί) πολλαπλοί δευτερογενείς αγγελιοφόροι, από την ενεργοποίηση του ίδιου του υποδοχέα, με τη μεσολάβηση ξεχωριστών μονοπατιών μετάδοσης μηνύματος, θεωρείται ένα από τα πλέον σημαντικά χαρακτηριστικά που μοιράζεται η υπεροικογένεια αυτή των υποδοχέων. Βασιζόμενοι σε αυτά τα δεδομένα, βρήκαμε ότι παρατεταμένη έκθεση σε μορφίνη κυττάρων HEK-293, τα οποία έχουν επιμολυνθεί και εκφράζουν μόνιμα τον μ-οπιοειδή υποδοχεά, οδηγούν στην υπερευαισθητοποίηση της αδενυλικής κυκλάσης και αυξάνουν τη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα CREB. Δεν είναι ακόμη διευκρινισμένο κατά πόσον αυτή η αύξηση της φωσφορυλίωσης γίνεται με την μεσολάβηση της PKA η της πρωτεινικής κινάσης C. Αντίθετα, παροδική έκθεση σε μορφίνη προκαλεί μείωση της δραστικότητας της αδενυλικής κυκλάσης, με ταυτόχρονη μείωση της φωσφορυλίωσης του μεταγραφικού παράγοντα CREB. Οι μηχανισμοί που κρύβονται πίσω από αυτά τα κυτταρικά μονοπάτια, θα δώσουν την δυνατότητα να μελετηθούν διεξοδικά οι ρυθμιστικές εκείνες διαδικασίες προσαρμογής που εμπλέκονται τα οπιοειδή. Τέτοιου είδους αποτελέσματα, θα είναι καθοριστικά στην επίλυση των μοριακών μηχανισμών της ανοχής και της εξάρτησης.

REGULATION OF CYCLIC AMP RESPONSE ELEMENT-BINDING PROTEIN (CREB) PHOSPHORYLATION UPON CHRONIC EXPOSURE TO MORPHIN IN HEK-293 CELLS, EXPRESSING STABLY, THE μ-OPIOID RECEPTOR

Mazarakou G., Merkouris* M., Morou E. & Z. Georgoussi

Institute of Biology, N.C.S.R. «Demokritos», 15310 Ag. Paraskevi, Athens, Greece
***University of Chicago, Dept. of Pediatrics, Chicago, USA**

The opioid receptors belong to the large superfamily of G protein coupled receptors and modulate a variety of physiological responses in the nervous system. The opioid receptors are classically described as coupling to members of the Giα/Goα family. Activation of opioid receptors results in the inhibition of adenylate cyclase and/or the regulation of a variety of ion channels and other effector systems. A wealth of information has shed light recently about the molecular mechanisms that control the expression of specific genes in the nervous system.

Adenylate cyclase inhibition represents a difficult part in opioid function, and it has been implicated to be involved in the expression levels of many different transcription factors (CREB, AP1, c-Jun) , but also in the modification of the activity of various extracellular signals to cellular changes by regulating the expression of target genes.

In this regard, we were able to observe that chronic morphine treatment of EE-tagged HEK293 cells stably transfected to express the μ-opioid receptor result in a dramatic increase of adenylate cyclase activity; a phenomenon referred as upregulation or superactivation of adenylate cyclase. Elevated levels of cAMP production, activate protein kinase A (PKA), which leads to a subsequent phosphorylation of target proteins such as the cAMP response element binding protein (CREB) and possibly other proteins. In contrast, acute exposure to morphine causes a decrease in adenylate cyclase inhibition and an attenuation of CREB phophorylation. These data provide novel information on the mechanisms through which opiates alter gene expression in specific target neurons and thereby induce tolerance and dependence.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΟΥ ΚΟΛΕΟΠΤΕΡΟΥ *Tenebrio molitor* ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΠΡΟΝΥΜΦΗΣ *

Μακροπούλου Ελ. και Γ. Θεοφιλίδης

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ

Τα έντομα διαθέτουν χαρακτηριστικό ανοιχτό κυκλοφορικό σύστημα με ένα μόνο ραχιαίο αγγείο το οποίο διακρίνεται σε δυο τμήματα: την καρδιά και την αορτή. Η συγκεκριμένη εργασία αποσκοπεί στην διερεύνηση των ηλεκτροφυσιολογικών ιδιοτήτων της καρδιάς στην προνύμφη του ολομετάβολου εντόμου *Tenebrio molitor.* Τα πειράματα περιλαμβάνουν την μεμονωμένη και συνδυασμένη εφαρμογή εξωκυτταρικών και ενδοκυτταρικών τεχνικών. Το ραχιαίο αγγείο της προνύμφης εμφανίζει μια μορφολογικώς αδιαφοροποίητη αορτή και μια καρδιά που οργανώνεται σε οκτώ διακριτά καρδιακά μεταμερίδια. Καρδιακό μεταμερίδιο είναι η περιοχή του ραχιαίου αγγείου που παρεμβάλεται ανάμεσα σε δύο ζεύγη οστιακών βαλβίδων και ορίζεται από ένα ζεύγος πλευρικών μυών. Εξωκυτταρικές καταγραφές με αναρροφητικό ηλεκτρόδιο και ενδοκυτταρικές καταγραφές με μικρο-ηλεκτρόδιο εντοπίζουν βηματοδότες σ' όλο το μήκος του ραχιαίου αγγείου. Η αορτή της προνύμφης παρουσιάζει μεγάλη ικανότητα βιοηλεκτρογένεσης του καρδιακού ρυθμού και μάλιστα υπάρχει ανεξάρτητο βηματοδοτικό σύστημα που ελέγχει την ηλεκτρική δραστηριότητα στην αορτή από αυτό της καρδιάς. Βηματοδοτικά δυναμικά καταγράφονται από κύτταρα τα οποία πιθανώς διατρέχουν κατά μήκος ολόκληρο το αγγείο. Μικρά τεμάχια της αορτής συνεχίζουν να διατηρούν ηλεκτρική δραστηριότητα και μετά την απομόνωση τους από τον υπόλοιπο καρδιακό ιστό. Η συχνότητα και η μορφή των δυναμικών δράσης που καταγράφονται συνεχίζουν να διατηρούνται ακόμη και μετά τον τεμαχισμό του ραχιαίου αγγείου. Αυτόματα δυναμικά δράσης καταγράφονται σχεδόν από κάθε σημείο του ραχιαίου αγγείου.

**** Η παρούσα εργασία χρηματοδοτήθηκε από την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας.***

ELECTROPHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF THE LARVAL HEART OF *Tenebrio molitor* COLEOPTERA)*

Makropoulou El. & G. Theophilidis

Laboratory of Animal Physiology, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

In the open circulatory system of insects the dorsal vessel appears morphological homogeneous and consists of the heart and the anterior aorta. The purpose of this study is to investigate the electrophysiological properties of the dorsal vessel during larval stage in the holometabolous insect *Tenebrio molitor.* This was achieved using single and combined electrophysiological techniques applied *in vitro* preparations which consists of the isolated heart. The larval aorta is a simple tube, without specialization, in comparison to larval heart, which is divided, in eight individual segments. The dorsal vessel between two pairs of ostial valves is referred as heart chamber and is defined from a pair of alary muscles. Extracellural records using glass micropipettes and intracellular records used to investigate the potentials generated by the heart and to locate more accurately the pacemaker positions on the dorsal vessel: the electrical voltage is amplified, displayed in a digital oscilloscope and stored to a computer. The aorta exhibits the property of spontaneous electrical cardiac rhythm. Also, there is an independent pacemaker activity controlling the anterior part of the dorsal vessel. Pacemaker action potentials are demonstrated at scattered sites throughout the myocardium. The anterior vessel disconnected from the posterior heart and cut into pieces continues to exhibit electrical activity. Frequency and other contours of recorded action potentials are still maintained. Pacemaker electrical activity is demonstrated at every myocardial area throughout the entirety of larval dorsal vessel.

**** The General Secretariat of Research and Technology supported Part of this project.***

ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΚΑΙ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΛΑΓΟΥ (*Lepus europaeus*) ΤΗΣ ΗΠΕΙΡΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Μαμούρης Ζ.[1], Σφουγγάρης Α.[2], Σταμάτης Κ.[2], Γιαννακόπουλος Α.[2], Βάρφη Β.[1], Γκούμας Η.[2]

[1]Γενικό Τμήμα και [2]Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πεδίον Άρεως, Βόλος

Μελετήθηκαν 110 λαγοί, από τους οποίους οι 20 προέρχονταν από εκτροφείο, ενώ οι υπόλοιποι 90 συλλέχθηκαν από οκτώ γεωγραφικές περιοχές, τέσσερις της Ηπείρου (n=41) και τέσσερις της Θεσσαλίας (n=49). Δύο διαφορετικές περιοχές του μιτοχονδριακού DNA, που περιελάμβαναν τμήμα της D-loop (1900 βάσεις) και τμήμα της κυτοχρωμικής οξειδάσης Ι (1300 βάσεις), ενισχύθηκαν με τη μέθοδο PCR. Τα προϊόντα ενίσχυσης τεμαχίστηκαν με 10 ενδονουκλεάσες περιορισμού (*Alu*I, *Ase*I, *Ava*II, *Dde*I, *Hae*III, *Hinf*I, *Mbo*I, *Mse*I, *Msp*I, *Taq*I). Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν έντονο πολυμορφισμό, με 60 διαφορετικούς απλότυπους. Κανένας από τους 8 απλότυπους του δείγματος του εκτροφείου δεν βρέθηκε στους φυσικούς πληθυσμούς. Τρία ένζυμα περιορισμού (*Hinf*I, *Mbo*I, *Mse*I) έδωσαν διαγνωστικά πρότυπα ανάμεσα στους εκτρεφόμενους και τους φυσικούς πληθυσμούς. Από τους 52 απλότυπους των φυσικών πληθυσμών, μόνον οι 7 ήταν κοινοί ανάμεσα στις ευρύτερες περιοχές της Ηπείρου και της Θεσσαλίας, ενώ οι υπόλοιποι 45 ήταν μοναδικοί. Μοναδικοί απλότυποι ανιχνεύτηκαν και στις επιμέρους οκτώ γεωγραφικές περιοχές. Σε συγκεκριμένες περιοχές εντοπίστηκαν λαγοί, που ενδεχομένως προέρχονται από απελευθερώσεις προηγουμένων ετών. Συμπερασματικά 1. Για αρκετά χρόνια δεν θα πρέπει να υπήρξε δραστική μείωση του αριθμού των ατόμων των συγκεκριμένων πληθυσμών, 2. Η γονιδιακή ροή ανάμεσα στους πληθυσμούς θα πρέπει να είναι αρκετά περιορισμένη, 3. Τα άτομα του εκτροφείου, προέρχονται από διαφορετικό γενετικό απόθεμα από αυτό των περιοχών που μελετήθηκαν. Επομένως, μαζικές, ανεξέλεγκτες απελευθερώσεις πιθανώς να αλλοιώσουν τη γενετική δομή των φυσικών πληθυσμών, 4. Θα πρέπει να υπάρξει διαρκής παρακολούθηση της γενετικής σύστασης των πληθυσμών σε περιοχές με συνεχείς απελευθερώσεις.

**** Η έρευνα χρηματοδοτείται από το Υπουργείο Γεωργίας***

PRELIMINARY RESULTS AND MANAGEMENT VALUE OF THE GENETIC IDENTIFICATION OF REARED AND NATURAL POPULATIONS OF THE BROWN HARE (*Lepus europaeus*) FROM IPIROS AND THESSALY

Mamuris Z.[1], Sfougaris A.[2], Stamatis C.[1], Giannakopoulos A.[1], Varfi V.[2], Goumas E.[1]

[1]Department of Applied and Theoretical Sciences and [2]Department of Agriculture, University of Thessaly, Pedion Areos, Volos

A total of 110 brown hares, 20 reared and 90 from eight different sampling sites in Ipiros (n=41) and Thessaly (n=48) were examined. Two different regions of mtDNA, that include segments of the D-loop (1900bp) and the cytochrome oxidase I (1300) were amplified and the amplification products were digested with 10 restriction endonucleases (*Alu*I, *Ase*I, *Ava*II, *Dde*I, *Hae*III, *Hinf*I, *Mbo*I, *Mse*I, *Msp*I, *Taq*I).
The results showed a great polymorphism, with 60 different haplotypes. None of the 8 haplotypes from the reared population was found in the natural populations. Three restriction enzymes (*Hinf*I, *Mbo*I, *Mse*I) gave diagnostic profiles between the reared and the natural populations. Only 7 out of 52 haplotypes were common between Ipiros and Thessaly. Unique haplotypes were also found within each separate region. In conclusion: 1. The results suggested that for several years there has not been a drastic decrease in the size of the studied populations. 2. There must be very low levels of gene flow between the studied samples. 3. The reared population belongs to a different genetic stock from that of the natural populations. Therefore, massive, uncontrolled releases could alter the genetic structure of the natural populations. 4. A genetic monitoring is necessary in regions where releases of reared individuals are frequent.

**** This research is funded by the Ministry of Agriculture***

ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Fusarium sp.* ΣΤΟ ΕΝΗΛΙΚΟ ΤΟΥ ΟΜΟ-ΠΤΕΡΟΥ *Aphis nerii.* ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ, ΦΩΤΟΝΙΚΗ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ

Μαραζιώτη Κ., Καλιάφας Α., Χρυσάνθης Γ., Κωτσόπουλος Β.

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών 26500 Ρίο, Πάτρα

Οι αφίδες αποτελούν σοβαρούς εχθρούς των γεωργικών καλλιεργειών και η παρούσα εργασία εντάσσεται στα πλαίσια ερευνητικής προσπάθειας για βιολογικό έλεγχο των εντόμων αυτών. Εστιάζεται στη μελέτη της δράσης του μύκητα *Fusarium sp.*στην αφίδα *Aphis nerii*, ώστε να διευκολυνθεί η μεθόδευση παρασκευής εύχρηστων μυκητολογικών παρασκευασμάτων για αποδοτική χρήση στη γεωργία. Ιστολογικές και κυτταρολογικές τεχνικές χρησιμοποιήθηκαν για παρατήρηση των ιστών μολυσμένων αφίδων. Μελετήθηκε επίσης η τύχη του πρωτεϊνικού περιεχομένου του εντόμου πριν και μετά τη μόλυνση, με SDS-ηλεκτροφόρηση πολυακρυλαμιδίου. Τέλος, χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) για τον εντοπισμό των σημείων εισόδου του μύκητα στο έντομο. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων επιβεβαίωσαν ότι ο μύκητας αποτελεί ισχυρό αφιδοπαθογόνο. Προσβάλλει όλους τους μαλακούς ιστούς εκτός από το επιδερμίδιο και το έντομο συρρικνώνεται και καλύπτεται ολόκληρο από πυκνή μυκηλιακή μάζα. Η γενικευμένη ιστόλυση πιστοποιήθηκε και βιοχημικά αφού παρατηρήθηκε ολοκληρωτική αποικοδόμηση του συνόλου των πρωτεϊνών του εντόμου από τον μύκητα μετά την 4η μέρα μόλυνσης. Παρατήρηση των μολυσμένων εντόμων με ΗΜ σάρωσης έδειξε αυξημένη συγκέντρωση υφών του μύκητα σε φυσικά ανοίγματα (σιφώνια) καθώς και στις αρθρώσεις του εξωσκελετού. Οι τελευταίες δείχνουν να αποτελούν θέσεις μειωμένης ανθεκτικότητας του επιδερμιδίου και έτσι εμφανίζονται ιδιαίτερα ευάλωτες στη δράση του μύκητα. Συμπερασματικά, η συστηματική μελέτη των προσβλημένων εντόμων με ΗΜ σάρωσης εντόπισε τα φυσικά ανοίγματα, τις αρθρώσεις του εξωσκελετού καθώς και τους ειδικούς σχηματισμούς, appressoria, σαν τα κύρια σημεία προσβολής του εντόμου από το μύκητα.

PATHOGENICITY OF THE FUNGUS *Fusarium sp.* ON THE ADULT HOMOPTERA *Aphis nerii.* AN APPROACH USING ELECTROPHORESIS, PHOTONIC AND ELECTRONIC MICROSCOPY

Marazioti C., Kaliafas A., Chrysanthis G., Kotsopulos B.

Department of Biology, University of Patras 26500 Rion, Patras

Aphids are serious enemies for agricultural cultivations and the present work is a part of the reaserch for biological control of these insects. The work is focused on the pathogenicity of the fungus *Fusarium sp.* on the insect *Aphis nerii*, in order to help in the production of an effective biological insecticide. The tissues of the infected aphids were observed by using histological and cellular techniques. The polyacrylamide SDS-electrophoresis was also used to study the pattern of the total proteins, before and after the infection. Finally, in order to locate the parts where the fungi were entering the insect, the scanning electron microscopy (SEM) was used. The results from the above experiments confirmed that the fungi is a powerfull pathogen towards aphids. In the beginning, the insect shrinks and gradually is fully covered by thick hyphae mass of the fungus. Histological observations showed that the fungus infects and destroys all the insect tissues, exept the cuticle. The general histolysis of the tissues was also detected biochemically and was found that all the proteins has been degradated four days after the infection. Observation of the infected insects in the SEM, showed increased concentration of hyphae in the natural openings (siphons) as well as in the joints of the exoskeleton. The latest is sensitive parts of the cuticle and that is why they are so impressionable. In conclusion, the detailed research with the SEM identified as main parts of fungal entrance into the insects the natural openings, the joints of the exoskeleton and some special formations of the fungus, the appressoria.

ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΓΙΓΑΝΤΙΑΙΩΝ ΝΕΥΡΩΝΩΝ ΣΤΑ ΣΤΟΜΑΤΙΚΑ ΓΑΓΓΛΙΑ ΤΟΥ ΓΑΣΤΕΡΟΠΟΔΟΥ *Helix lucorum**

Μαράτου Ειρ. και Γ. Θεοφιλίδης

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Το νευρικό σύστημα των Μαλακίων αποτελεί κλασικό μοντέλο νευροφυσιολογικών μελετών. Το νευρικό σύστημα του χερσαίου σαλιγκαριού *Helix lucorum* απαρτίζεται από 6 ζεύγη γαγγλίων τα στοματικά, τα εγκεφαλικά, τα τοιχωματικά, τα ποδικά, τα κεραϊκά, τα πλευρικά και ένα μονήρες γάγγλιο, το κοιλιακό. Ένα από τα καλύτερα μελετημένα νευρωνικά δίκτυα είναι το νευρωνικό δίκτυο που ρυθμίζει την πρόσληψη τροφής και γενικότερα τη θρέψη στα Γαστερόποδα. Το νευρωνικό αυτό δίκτυο απαρτίζεται από νευρώνες των οποίων τα σώματα εντοπίζονται κυρίως στα εγκεφαλικά και τα στοματικά γάγγλια. Στα στοματικά γάγγλια των σαλιγκαριών εντοπίζονται οι γιγαντιαίοι νευρώνες B_1, B_2, B_3 και B_4 Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο ρόλος των γιγαντιαίων νευρώνων B_1, B_2, και B_3. Τα χαρακτηριστικά των νευρώνων αυτών είναι το σχετικά μεγάλο μέγεθος (80μm) και η διπολική μορφή. Η τυπική μορφή των διπολικών νευρώνων των μαλακίων είναι δύο άξονες μεγάλης διαμέτρου, που εκφύονται από κοντινά σημεία. Συνήθως, ο ένας από τους δύο άξονες διασχίζει το σύνδεσμο, που ενώνει τα δύο γάγγλια ενός ζεύγους, και εισέρχεται σε ένα περιφερικό νεύρο. Με αυτό τον τρόπο εξασφαλίζεται αμφίπλευρη διπολική διανομή του άξονα στα περιφερικά νεύρα.
Από το κάθε στοματικό γάγγλιο ξεκινούν οκτώ νεύρα που νευρώνουν όργανα του πεπτικού κυρίως συστήματος. Δύο από τα νεύρα αυτά ρυθμίζουν τη λειτουργία των σιελογόνων αδένων και του σιελοφόρου αγωγού. Οι νευρώνες B_1 και B_2 έχει διαπιστωθεί ότι δίνουν άξονες τόσο στο ομόπλευρο όσο και στο ετερόπλευρο σιελογόνο νεύρο. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η μορφολογία, η φυσιολογία και ο ρόλος των νευρώνων αυτών στη ρύθμιση της λειτουργίας του σιελογόνου αδένα.

Η παρούσα εργασία χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας.

MORPHOLOGY AND FUNCTION OF THE GIANT NEURONS IN THE BUCCAL GANGLIA OF THE GASTROPOD *Helix lucorum**

Maratou E. & G. Theophilidis

Laboratoty of Animal Physiology, Department of Biology, School of Science, Aristotle University of Thessaloniki

The neural system of the Mollusca constitutes a classic model of neurophysiological studies. The neural system of the terrestrial snail *Helix lucorum* consists of 6 pairs of ganglia; the buccal, the celebral,, the parietal, the pedal, the tentacular, the pleural and the solitary visceral ganglion. The central pattern generator (CPG) that regulates the feeding pattern of the snails is a thoroughly studied neural network. This neural network comprises of neurons whose somata are located in the buccal ganglia. In the buccal ganglia of snails lie the somata of the giant neurons B , B_2, B_3, B_4, whose morphology and activity was studied in the present research. The characteristics of these neurons are the large size (80μ) and the bipolar form. The conventional bipolar form has two axons rising close to each other. More typically one of these axons crosses the comissure to establish a bilaterally symmetrical distribution of the axon in the peripheral nerves.
From each buccal ganglion derive eight nerves that innervate mainly organs of the gut. Two of these nerves regulate the function of the salivary duct and salivary nerve. We have conclude that the neurons B1 and B_2 are bipolar and give axons that run both in the lateral and the contralateral nerve. In the present study it has been clarified the morphology, the physiology and the role of these neurons in the regulation of the function of the salivary gland.

**** The General Secretariat of Research and Technology supported Part of this project.***

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΠΥΡΕΘΡΟΕΙΔΩΝ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΩΝ ΣΤΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΟΥ *Helix lucorum**

Μαράτου Ειρ. και Γ. Θεοφιλίδης

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Α.Π.Θ.

Τα πυρεθροειδή εντομοκτόνα έχουν δράση νευροτοξινών στα θηλαστικά και στα έντομα. Έχει διαπιστωθεί ότι ο πρώτος στόχος των πυρεθροειδών εντομοκτόνων είναι τα τασεοεξαρτώμενα κανάλια Na^+ των νευρώνων. Η τροποποιητική δράση των πυρεθροειδών πιθανόν να μην περιορίζεται στα συγκεκριμένα κανάλια και να έχει και άλλα κανάλια-στόχους. Τέτοιοι στόχοι έχουν βρεθεί να είναι κανάλια Ca^{2+} , νικοτινικοί υποδοχείς της ακετυλοχολίνης, καθώς και ο υποδοχέας του GABA. Παρόλα αυτά ο ακριβής μηχανισμός δράσης των εντομοκτόνων αυτών δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί.
Στην παρούσα εργασία μελετάται η επίδραση των πυρεθροειδών εντομοκτόνων στη δράση ενός κινητικού νευρώνα που εντοπίζεται στα στοματικά γάγγλια του Γαστερόποδου *Helix lucorum*. Τα γάγγλια του *Helix* έχουν χρησιμοποιηθεί σε αρκετές μελέτες της δράσης των πυρεθροειδών γιατί διαθέτουν γιγαντιαίους, εύκολα αναγνωρίσιμους νευρώνες, οι οποίοι επιτρέπουν τη μελέτη σε επίπεδο ενός κυττάρου. Ο κινητικός αυτός νευρώνας έχει χαρακτηριστικό πρότυπο αυτόματης δραστηριότητας: δίνει σειρές (ή δέσμες) δυναμικών δράσης σε τακτά χρονικά διαστήματα. Μελέτη της φυσιολογίας του συγκεκριμένου νευρώνα απέδειξε ότι η λειτουργία του εξαρτάται από την παρουσία Na^+ και Ca^{2+} και ότι το πρότυπο της δραστηριότητάς του τροποποιείται από την παρουσία πυρεθροειδών εντομοκτόνων (deltamethrin, permethrin, fenvelerate σε συγκεντρώσεις 10, 1, 0.1 εως και 0.01μM). Η παρουσία πυρεθροειδών στο διάλυμα εμποτισμού έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της διάρκειας των σειρών δυναμικών, αύξηση της συχνότητας εμφάνισής τους και, όπως παρατηρήθηκε με ενδοκυτταρικές καταγραφές αυξάνει την ουδώ της μεμβράνης του νευρώνα.

**** Η παρούσα εργασία χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας.***

EFFECT OF PYRETHROID INSECTICIDES ON THE NEURAL SYSTEM OF THE SNAIL *Helix lucorum**

Maratou E. & G. Theophilidis

Laboratoty of Animal Physiology, Department of Biology, School of Science, Aristotle University of Thessaloniki

Pyrethroid insecticides are neurotoxic to mammals and insects. Detailed neurophysiological studies have suggested that the major molecular target of pyrethroids are voltage gated Na^+ channels. It has also been reported that pyrethroids modify the gating kinetics of Ca^{2+} channels, nicotinic receptors of ACh and GABA receptors. The exact action has not yet been clarified. The ganglia of the Mollusca is a widely used *in vitro* model for toxicological studies.

The present study is an attempt to investigate the action of pyrethroid insecticides on the pacemaker activity of an efferent neuron which is located in the buccal ganglia of the gastropod *Helix lucorum*. The specific efferent neuron innervates the salivary duct.

It has a characteristic pacemaker activity; it fires in bursts or trains of action potentials. The study of the physiology has proved that it's activity depends on the presence of Na^+ and Ca^{2+} and that the pyrethroids (deltamethrin, permethrin, fenvalerate in concentrations 10, 1, 0.1 even 0.01 μM) modify the firing pattern. The presence of pyrethroids in the bath solution diminishes the interburst period, increases the sequence of firing, decreases the duration or burst and, as it has been observed by intracellular recording, raise the threshold of the neuronal membrane.

This study has been financed by the Ministry of Industry, Energy and Technology.

ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΑΜΦΙΒΛΗΣΤΡΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑ

Μαργέτης Π.Ι.[1], Αντωνέλου Μ.Χ.[1], Παπασιδέρη Ι.Σ.[1], Κολιόπουλος Ι.Ξ.[2] και Λ.Χ. Μαργαρίτης[1]

[1]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784 Αθήνα
[2]Οφθαλμολογική Κλινική Πανεπιστημίου Πατρών, Πάτρα.

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια ασθένεια με μεγάλη ποικιλία κλινικών μορφών. Έχουν γίνει ήδη πολλές προσπάθειες να συσχετισθεί με βιοχημικές και δομικές μεταβολές στα ερυθροκύτταρα. Η αιτία των μεταβολών φαίνεται ότι είναι το υψηλό επίπεδο της γλυκόζης τόσο στον ορό όσο και στο εσωτερικό των κυττάρων. Η γλυκοζυλίωση και οι οξείδωση των πρωτεϊνών είναι οι συνέπειες της αυξημένης ποσότητας γλυκόζης.

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν οι μεταβολές στις ερυθροκυτταρικές πρωτεΐνες δώδεκα ασθενών με διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (ΔΑ). Το ηλεκτροφορητικό πρότυπο των πρωτεϊνών της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης των ασθενών έδειξε μικρές ή καθόλου διαφορές στις κύριες πρωτεΐνες της μεμβράνης, π.χ. σπεκτρίνη, ζώνη 3 ή ζώνη 4,1 αλλά κάποιες άλλες, όπως η ακτίνη και η ζώνη-8, είναι ποσοτικά διαφοροποιημένες σε ορισμένα δείγματα. Παράλληλα, η εξέταση των γλυκοπρωτεϊνών έδειξε ποιοτικές και ποσοτικές αλλαγές σε ορισμένες ζώνες. Σε όλα τα διαβητικά δείγματα παρατηρήθηκε μία ή περισσότερες αποκλίσεις, ωστόσο οι αλλοιώσεις αυτές είναι μη ειδικές. Επίσης, εξετάστηκε η ανθεκτικότητα των κύριων πρωτεϊνών της μεμβράνης από ενδογενείς πρωτεάσες, συγκρίνοντας την πρωτεόλυση της σπεκτρίνης και της ζώνης 3 σε διαβητικά και φυσιολογικά δείγματα. Οι πρωτεΐνες των ασθενών με ΔΑ πρωτεολύθηκαν με πιο αργούς ρυθμούς σε σχέση με αυτές των φυσιολογικών ατόμων. Η σταθερότητα της σπεκτρίνης και της ζώνης 3 στα διαβητικά δείγματα μπορεί να εξηγηθεί εξαιτίας της αυξημένης γλυκοζυλίωσης, που πιθανά αποκρύβει θέσεις–στόχους των πρωτεολυτικών ενζύμων ή μειώνει την ενζυμική ενεργότητα των ενδογενών πρωτεασών.

RED CELL MEMBRANE PROTEINS IN PATIENTS WITH DIABETIC RETINOPATHY

Margetis P.I.[1], Antonelou M.H.[1], Papassideri I.S.[1], Koliopoulos I.X.[2] & L.H. Margaritis[1]

[1]University of Athens, Department of Biology, Division of Cell Biology and Biophysics, Panepistimiopolis 15784, Athens
[2]University of Patras, Medical School, Clinic of Opthalmology, Patras 26110

Diabetes mellitus (DM) is a disease which has many types and forms. It has been made many efforts to associate diabetes mellitus with biochemical, functional or conformational alterations in red cells. The cause of all kind of these alterations seems to be the high levels of glucose in serum and inside the cells. Glycosylation and oxidative damages in proteins are the effects of increased quantity of glucose. In this study we have tried to find out alterations of membrane proteins in patients with diabetic retinopathy. SDS gel electrophoresis in red cell membrane proteins of twelve patients shows small or no differences in basic membrane components, such as spectrin, band 3 or band 4.1, but some other membrane proteins (like actin and band 8) were significantly different in some samples, although they are not following a specific electrophoretic pattern. We used PAS staining to detect glycoproteins and we observed qualitive and quantitive alterations in some bands but also without a stable pattern. In all the diabetic subjects one or more alterations were observed compared to the normal pattern, but these alterations are non specific. Finally, we examined proteolytic stability of the major membrane proteins by endogenous proteases comparing spectrin and band 3 digestion of diabetic and normal subjects. The proteins of patients with diabetic retinopathy were self digested slower than in normal subjects. The stability of spectrin and band 3 in diabetic subjects can be explained because of increased protein glycosylation which can hide restriction sites of endogenous proteases or decrease enzymatic activity of proteases.

ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΖΥΜΟΜΥΚΗΤΩΝ ΓΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ

Μάρκος Σ., Κολοκυθάς Ε., Καλιάφας Α., Κεφαλιακού Μ.

Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας
Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών 26500 ΡΙΟ ΠΑΤΡΑ

Ο εντοπισμός και η απομόνωση στελεχών μικροοργανισμών που εμφανίζουν αυξημένη παραγωγικότητα σε αλκοόλη, αλλά ταυτόχρονα αλκοολοανθεκτικότητα, ψυχροφιλία ή ωσμοφιλία, ενδιαφέρουν ιδιαίτερα το τομέα της παραγωγής βιομηχανικής αλκοόλης. Στη Συλλογή του εργαστηρίου προστέθηκαν πρόσφατα δύο νέα μεταλλαγμένα στελέχη ζυμών, τα ΑΧΜΥ-4* και ΑΧΝΕ-7*. Τα στελέχη αυτά, που προέκυψαν από τη δράση UV ακτινοβολίας σε στελέχη ζυμών, επαναταυτοποιήθηκαν με API 20 C AMX δοκιμασία και κατετάγησαν στο είδος *S.cerevisiae* με πιστότητα >90%. Σύγκριση της ηλεκτροφορητικής εικόνας του ολικού εκχυλίσματος πρωτεϊνών μεταξύ των μεταλλαγμένων και μη στελεχών παρουσιάζει ορισμένες χαρακτηριστικές διαφορές. Επιπλέον τα μεταλλαγμένα στελέχη εμφανίζουν μικρότερη παραγωγή βιομάζας και μεγαλύτερη ευαισθησία σε αντιμυκητιακούς παράγοντες σε σχέση με τα αρχικά.
Τα μεταλλαγμένα στελέχη δοκιμάστηκαν σε αντιδραστήρα ζύμωσης πρότυπων σακχαρούχων διαλυμάτων αλλά και σακχαρούχων πρώτων υλών (μελάσα). Τα αποτελέσματα κατέγραψαν βελτίωση της παραγωγικότητας τους σε αιθανόλη σε σχέση με τα αρχικά στελέχη. Η μεταξύ τους σύγκριση δείχνει ότι η χρήση του ΑΧΝΕ-7* μειώνει το χρόνο ζύμωσης κατά 30-45% ενώ αυξάνει την παραγωγή αιθανόλης κατά 6-8%. Παρουσία δε οργανικού φορέα και σε υψηλόβαθμα σακχαρούχα διαλύματα το ίδιο στέλεχος εμφανίζει αυξημένη ωσμοφιλία και αλκοολοανθεκτικότητα με ταυτόχρονη μείωση του αζύμωτου σακχάρου κατά 50%. SEM ηλεκτρονιογραφίες πιστοποιούν εκτεταμένη κάλυψη του οργανικού φορέα με ακινητοποιημένα κύτταρα του στελέχους.

Όχι ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΒΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΑ ΚΕΝΤΡΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΗΣ ΑΥΤΟΜΑΤΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *Tenebrio molitor* *

Μάρκου Θ. και Γ. Θεοφιλίδης

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54006 Θεσσαλονίκη

Τα έντομα διαθέτουν χαρακτηριστικό ανοικτό κυκλοφορικό σύστημα με κύριο όργανο άντλησης το ραχιαίο αγγείο. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση των ηλεκτροφυσιολογικών ιδιοτήτων του ραχιαίου αγγείου, καρδιάς και αορτής στο κολεόπτερο *Tenebrio molitor* και ο εντοπισμός του κύριου βηματοδότη, των κυττάρων δηλαδή που επιβάλουν το ρυθμό τους στο υπόλοιπο μυοκάρδιο και καθορίζουν τον καρδιακό παλμό.
Το ραχιαίο αγγείο μορφολογικά είναι ένας συνεχής σωλήνας που διακρίνεται σε δυο τμήματα: την καρδιά και την αορτή. Η καρδιά οργανώνεται σε έξι μεταμερίδια, καθένα από τα οποία ορίζεται από ένα ζεύγος πλευρικών μυών. Εξωκυτταρικές καταγραφές με αναρροφητικό ηλεκτρόδιο και ενδοκυτταρικές με μικροηλεκτρόδιο αποδεικνύουν την ύπαρξη δυο βηματοδοτών. Στο στόμιο του καρδιακού σωλήνα, κοντά στο σημείο σύνδεσης του με την αορτή εντοπίζονται κύτταρα με χαρακτηριστικά βηματοδότη, που προκαλούν τη διέγερση της αορτής. Αυθόρμητη δραστηριότητα παρουσιάζουν επίσης όλα τα καρδιακά μεταμερίδια. Έτσι το δεύτερο βηματοδοτικό κέντρο περιλαμβάνει το σύνολο των μυοκαρδιακών κυττάρων που διευθετούνται κατά μήκος της καρδιάς και έχουν την ικανότητα να παράγουν αυτόματα δυναμικά δράσης. Ο ιοντικός μηχανισμός του βηματοδότη και η συμβολή του ασβεστίου σε αυτόν διερευνήθηκε με τη χρήση του χηλικού παράγοντα EGTA, το οποίο δεσμεύει τα ελεύθερα ιόντα Ca^{+2}. Μείωση της εξωκυτταρικής συγκέντρωσης Ca^{+2} οδηγεί σε απώλεια τόσο της ηλεκτρικής, όσο και της μηχανικής δραστηριότητας του ραχιαίου αγγείου, ενισχύοντας την άποψη οτι το κύριο εκπολωτικό ρεύμα στα βηματοδοτικά μυοκαρδιακά κύτταρα είναι ρεύμα ασβεστίου.

**** Η συγκεκριμένη εργασία χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας στα πλαίσια του προγράμματος ΠΕΝΕΔ***

PACEMAKER CELLS GENERATING THE INTRINSIC MYOGENIC ACTIVITY OF THE DORSAL VESSEL IN *Tenebrio molitor*

Markou T. & G. Theophilidis

Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University, 54006 Thessaloniki, Greece

The dorsal vessel, heart and aorta, constitute the major pulsating organ of the open circulatory system in insects. The present study is an attempt to investigate in detail the electrophysiological properties of the dorsal vessel of *Tenebrio molitor* and to locate the exact position of the main pacemaker cell; the cell which has an inherent rate of discharge, that drives the discharge of the other myocardial cells.
The dorsal vessel in *Tenebrio molitor* is a simple tube and is commonly divided into two portions: the posterior heart and the anterior aorta. The heart shows evidence of segmentation by the presence of six pairs of alary muscle. Extracellular and intracellular recordings were obtained in order to study the unique properties of the myocardial action potentials. The electrophysiological records strongly suggest the existence of two pacemaker sites. The anterior pacemaker is located at the mouth of the main heart tube near its junction with the aorta, while the posterior site comprises the striated muscle fibers running longitudinally and radially throughout the heart. The role of calcium in electrogenesis and mechanogenesis was investigated by extracellular administration of EGTA. Elimination of Ca^{+2} causes loss of both electrical and mechanical activity indicating calcium cation as the major carrier of inward current in pacemaker cells.

**** The General Secretariat of Research and Technology supported Part of this project.***

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΥΜΒΑΛΛΟΥΝ ΣΤΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΣΥΓΚΥΤΙΩΝ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΕΡΠΗ ΑΠΛΟ 1, ΣΤΕΛΕΧΟΣ S , HSV-1 (S)

Μιχαηλίδου Γ., Σιβροπούλου Α. και Μ. Αρσενάκης

Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη 54006

Το στέλεχος S του ιού έρπη απλού τύπου 1 (HSV-1) είναι προϊόν τυχαίας μεταλλαξιγένεσης που προέκυψε κατά τη διαδοχική ανακαλλιέργεια του πρότυπου στελέχους HSV-1 (F). Η μετάλλαξη αυτή οδηγεί σε αλλαγή της μορφολογίας των ιικών πλακών από "άγριου τύπου" σε συγκυτιακές (syn). Σε προηγούμενες μελέτες μας η συγκυτιακή μετάλλαξη χαρτογράφηθηκε στο κωδικόνιο 817 του γονιδίου που κωδικοποιεί τη γλυκοπρωτεΐνη B (gB), και οδηγεί σε αλλαγή ενός αμινοξέος από λευκίνη (Leu) σε προλίνη (Pro). Επιπλέον η προσθήκη μονοκλωνικών αντισωμάτων ενάντια στις ιικές γλυκοπρωτεΐνες B και D, αναστέλλει τον σχηματισμό συγκυτίων σε κύτταρα μολυσμένα με το στέλεχος S.
Η εργασία αυτή εστιάστηκε στη μελέτη των κυτταρικών και ιικών παραγόντων που συμβάλλουν στο σχηματισμό των συγκυτίων. Η ποσότητα της gB που εντοπίστηκε στον πυρήνα μολυσμένων με το στέλεχος S κυττάρων είναι μεγαλύτερη απο ότι σε κύτταρα μολυσμένα με το στελέχος F. Επιπλέον διαπιστώθηκε ότι στα μολυσμένα κύτταρα οι γλυκοπρωτεΐνες B και D σχηματίζουν έτερο-ολιγομερή σύμπλοκα. Το δεδομένο αυτό σε συνδυασμό με την αναστολή του φαινοτύπου syn στην παρουσία αντι-gB και αντι-gD αντισωμάτων δείχνει την συμμετοχή των δύο αυτών ιικών γλυκοπρωτεϊνών (gB και gD) στο σχηματισμό συγκυτίων. Είναι γνωστό ότι η θειϊκή ηπαρίνη που βρίσκεται στις μεμβάνες των κυττάρων αποτελεί τον αρχικό υποδοχέα σύνδεσης του ιού στα κύτταρα. Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι η παρουσία της θειϊκής ηπαρίνης αναστέλλει τον syn φαινότυπο του στελέχους S. Τέλος, απομονώθηκε υψηλής και χαμηλής πυκνότητας θειϊκή ηπαρίνη από κύτταρα Vero και διαπιστώθηκε ότι η gB του S συνδέεται μόνο με την ενδοκυτταρική χαμηλής πυκνότητας θειϊκή ηπαρίνη.

FACTORS INVOLVED IN SYNCYTIUM FORMATION INDUCED BY HERPES SIMPLEX VIRUS 1, STRAIN S, HSV-1 (S)

Mihailidou G., Sivropoulou A. & M. Arsenakis

Laboratory of General Microbiology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki 54006, Greece

The S strain of herpes simplex virus 1 (HSV-1) is the product of a spontaneous random mutagenic event that occurred during continued passage of the prototype strain F and exhibits a syncytial (syn) plaque phenotype. Previously we had shown that the syn mutation in strain S maps in codon 817 of the viral glycoprotein B (gB) gene, and leads to a single amino acid substitution from leucine (Leu) to proline (Pro). Monoclonal antibodies specific for the viral glycoproteins B and D, inhibit syn formation in HSV-1 (S) infected cells.

The present study focused on the cellular and viral factors involved in syn formation. The amounts of gB that localizes in the nucleus of HSV-1 (S) infected cells is higher than those in HSV-1 (F) infected cells. In addition hetero-oligomers containing gB and gD were identified in HSV-1 (S) infected cells, and this taken together with the inhibition of the syn phenotype by anti-gB and anti-gD antibodies, underlines the involvement of these two viral glycoproteins in syn formation. It is well known that heparan sulfate located on cell membranes acts as the initial cell receptor for attachment of herpes simplex virus 1. Addition of heparan sulfate to HSV-1 (S) infected cells inhibits syn formation. High and low density heparan sulfate were isolated from Vero cells and the gB of HSV-1 (S) was shown to asssociate only with the low density endocellular heparan sulfate.

ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ: ΔΙΑΤΟΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Μοντεσάντου Β. και Στ. Τσίλλερ

Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784 Αθήνα

Η παρούσα εργασία αποτελεί μέρος της μελέτης "Οικολογική ποιότητα των επιφανειακών υδάτων, έλεγχος, ταξινόμηση αποδεκτών και τεχνογνωσία εφαρμογής οικολογικών κριτηρίων ποιότητας" που χρηματοδοτείται από το ΥΠΕΧΩΔΕ, στο πλαίσιο διαμόρφωσης Εθνικού Δικτύου ποιότητας υδάτων της Ελλάδας. Σκοπός της μελέτης είναι η ανάπτυξη συστήματος για την εκτίμηση της οικολογικής ποιότητας των υδατικών πόρων -με την εξεύρεση κατάλληλων βιολογικών δεικτών- και η εφαρμογή της σχετικής Νομοθεσίας της Ευρωπαϊκής Ενωσης.
Η παρούσα εργασία αναφέρεται σε προκαταρκτικά δεδομένα και παρουσιάζει βιολογικούς δείκτες βασισμένους στα επιλιθικά διάτομα των ποταμών Καλαμά και Αχέροντα, στο υδατικό διαμέρισμα της Ηπείρου καθώς επίσης και των ποταμών Αλφειού και Πηνειού, στο υδατικό διαμέρισμα της δυτικής Πελοποννήσου. Σε κάθε υδατικό διαμέρισμα, ο ποταμός με την υψηλότερη οικολογική ποιότητα χρησιμοποιείται ως σύστημα αναφοράς.
Κατά την πρώτη δειγματοληψία (φθινόπωρο 1998), προσδιορίστηκαν 147 taxa διατόμων. Υπολογίστηκαν 11 διατομικοί δείκτες καθώς επίσης και οι δείκτες Shannon και Pielou με το λογισμικό OMNIDIA. Τα επικρατούντα είδη ήταν: *Achnanthes minutissima, Amphora pediculus, Cymbella microcephala* και *Gomphonema olivaceum* var. *olivaceum.* Σύμφωνα με τις βιοκοινωνίες των διατόμων, τα νερά και των 4 ποταμών εκτιμώνται ως καλά οξυγονωμένα. Ως προς το επίπεδο τροφικότητας, ο Πηνειός θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως μεσο-εύτροφος και οι άλλοι 3 ως εύτροφοι. Ως προς τη σαπροβιότητα, ο Πηνειός θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως «ολιγοσαπρόβιος», ο Αχέροντας ως «άλφα-μεσοσαπρόβιος» και οι Καλαμάς και Αλφειός ως «βήτα-μεσοσαπρόβιοι». Η σχετικά χαμηλή οικολογική ποιότητα των Καλαμά και Αλφειού, κυρίως στον μέσο ρου τους, φάνηκε και από τους δείκτες IPS, Sladeθek,CEE, Shannon και Pielou.

ECOLOGICAL QUALITY OF RUNNING WATERS OF GREECE: DIATOMIC INDICES

Montesantou B. & St. Ziller

University of Athens, Faculty of Biology, Department of Ecology & Taxonomy, Panepistimiopolis, 157 84 Athens

The present study is part of the project "Ecological Quality of Surface Waters: control, classification and know-how for the application of water quality criteria", which has been funded by the Ministry of Environment, in the frame of the preparation of the National Network of water control in Greece. The study aims to develop a system able to estimate the ecological quality of water resources using the adequate biological indices and the application of the related legislation of the European Union.
The present study refers to the preliminary data and presents biological indices based on epilithic diatoms from the rivers Kalamas and Acheron, in the hydrological department of Epirus, as well as from the rivers Pinios and Alphios in the hydrological department of Western Peloponnisos. In each hydrological department, the river with the higher ecological quality is used as reference system.
During the first sampling period (autumn 1998), 147 taxa of diatoms have been recorded. Using the OMNIDIA software, 11 diatomic indices have been calculated, together with Shannon diversity index and Pielou evenness. The dominant species were: *Achnanthes minutissima, Amphora pediculus, Cymbella microcephala* and *Gomphonema olivaceum* var. *olivaceum.* Based on the diatom assemblages, we could characterize the waters of the four studied rivers as well oxygenated. As far as the trophic status is concerned, Pinios could be characterized as meso-eutrophic and the others as eutrophic. Pinios could be also characterized as «oligosaprobic», Acheron as «alpha-mesosaprobic», though Kalamas and Alphios as «beta-mesosaprobic». The relatively low ecological quality of Kalamas and Alphios, mainly at their middle reaches, was also shown from the indices IPS, Sladeθek, CEE, Shannon and Pielou.

ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΠΡΙΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ: ΣΥΖΕΥΞΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Μουδριανάκης Ε.

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784 - Αθήνα

Το ενεργειακό δυναμικό όλων των μορφών κυτταρικής ζωής απορρέει, εν κατακλείδι, από ελάχιστους θεμελιώδεις νόμους φυσικοχημείας που αρχικώς περιγράφουν πολυφασικά συστήματα είτε με εμφανείς (real) είτε μόνο με απλές λειτουργικές (virtual) διαχωριστικές επιφάνειες (*μεσοεπιφάνειες*). Η κατανομή των διεσπαρμένων φάσεων (ιόντα, μικρομόρια, μεγαλομόρια, κ.λ.π.) μέσα στο μέσον διασποράς, καθορίζει το κατά τόπο ***χημειοδραστικό* δυναμικό** του πολυφασικού συστήματος. Η τάσις προς εξισορρόπηση των πολλαπλών τοπικών δυναμικών παρέχει την δύναμη επιτέλεσης βιολογικού έργου. Οι βιολογικές μεμβράνες διαδραματίζουν κατά το πλείστον (αλλά όχι πάντοτε) τον ρόλο του ρυθμιστή του μετασχηματισμού του κυτταρικού ενεργειακού δυναμικού. Οι κανόνες και οι κώδικες που διέπουν τα φαινόμενα αυτά είναι αρχαιότεροι και γενικότεροι των κανόνων του γονιδιώματος και, στην ουσία, διέπουν και αυτό το ίδιο το γονιδίωμα.
Θα παρουσιάσουμε μια ανάλυση των αρχών δημιουργίας πολλαπλών χημειοδραστικών δυναμικών μέσα στο πολυφασικό σύστημα του κυττάρου. Επίσης θα αναλυθούν παραδείγματα εφαρμογών στον κυτταρικό μεταβολισμό, στις διακυτταρικές επικοινωνίες, στην διαφοροποίηση, στην κινητικότητα, κ.λ.π.
Οι νόμοι δημιουργίας και χρήσης του χημειοδραστικού δυναμικού των βιολογικών συστημάτων διέπουν όλα τα φαινόμενα μελέτης της πειραματικής Βιολογίας.

Proceedings of 21th Panhellenic Conference of EEBE
Galissas – Syros Island, May 28-31, 1999

ENERGY COUPLING IN BIOLOGICAL SYSTEMS: THE VITAL FORCE RESPONSIBLE FOR METABOLISM, DIFFERENTIATION AND MOVEMENT

Moudrianakis E.

University of Athens, Department of Biology, Division of Cell Biology and Biophysics, Panepistimiopolis 15784, Athens

ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΥΞΗΣΗΣ ΣΤΑ ΨΑΡΙΑ

Μούτου Κ.Α.[1], McCarthy I.D. [2] και D.F. Houlihan[3]

[1]Τμήμα Γεωπονίας ΦΖΠ, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πεδίον Άρεως, 38334 Βόλος
[2] Div. of Environmental and Evol. Biology, Univ. of Glasgow, University Field Station, Rowardennan, Glasgow G63 0AW, UK
[3]Department of Zoology, University of Aberdeen, Tillydrone Avenue, Aberdeen AB3 2TN, UK

Τα τελευταία χρόνια, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη των ιεραρχιών που αναπτύσσονται σε ομάδες ψαριών στις οποίες τα κυρίαρχα ψάρια διατηρούν αυξημένη πρόσβαση στην τροφή και κατά συνέπεια σταθερά υψηλότερη κατανάλωση τροφής σε σχέση με τα υποτελή. Καθώς οι ιεραρχίες επηρεάζουν την ατομική κατανάλωση τροφής και διαφοροποιούν το ρυθμό αύξησης μιας ομάδας ψαριών, ο κατάλληλος χειρισμός των κοινωνικών δομών για την επίτευξη ομοιόμορφης κατανάλωσης τροφής και αύξησης θα είχε σημαντικά αποτελέσματα για την οικονομία των ιχθυοκαλλιεργειών.

Η ανάπτυξη ιεραρχιών μελετήθηκε σε ομάδες ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss)* κάτω από διαφορετικά τροφικά επίπεδα (0,25-0,5-1,0 και 1,5% ΒΣ/ημέρα). Η ισχύς των ιεραρχιών προσδιορίστηκε με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της ατομικής κατανάλωσης τροφής με τη μέθοδο της Χ-ραδιογραφίας για μια περίοδο 74 ημερών. Η ισχύς των ιεραρχιών μειώθηκε με την αύξηση του τροφικού επιπέδου. Η πιο ισχυρή ιεραρχία παρατηρήθηκε στην ομάδα 0,25% και είχε σημαντικές επιπτώσεις στην κατανομή της τροφής μεταξύ των ατόμων της ομάδας, τη διακύμανση στην ατομική κατανάλωση τροφής και στο ρυθμό αύξησης από μέρα σε μέρα, καθώς και στον τραυματισμό των πτερυγίων.

Η κοινωνική οργάνωση άλλαξε με την προσθήκη στην τροφή του αντιβιοτικού φλουμεκίνη. Η φλουμεκίνη σε υψηλή συγκέντρωση (12mg/kg τροφής) είχε αρνητική επίδραση τόσο στη γεύση όσο και στα επίπεδα κατανάλωσης τροφής. Η διακύμανση στην ατομική κατανάλωση τροφής και ρυθμό αύξησης ήταν μεγαλύτερη για υψηλή συγκέντρωση φλουμεκίνης, πιθανώς εξαιτίας της υποβάθμισης της γεύσης και της θρεπτικής αξίας της τροφής. Αξιοσημείωτο είναι ότι για χαμηλή συγκέντρωση φλουμεκίνης (1,2mg/kg τροφής), ο ρυθμός αύξησης των υποτελών παρέμεινε ο ίδιος, σε αντίθεση με αυτόν των κυρίαρχων ψαριών που μειώθηκε.

INDIVIDUAL BASED STUDY OF CONSUMPTION-GROWTH RELATIONSHIPS IN FISH

Moutou K.A.[1], McCarthy I.D. [2] & D.F. Houlihan[3]

[1]Dept of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Pedion Areos 38334 Volos, Ellas
[2] Div. of Environmental and Evol. Biology, Univ. of Glasgow, University Field Station, Rowardennan, Glasgow G63 0AW, U.K.
[3]Department of Zoology, University of Aberdeen, Tillydrone Avenue, Aberdeen AB3 2TN, U.K.

Over the last years it has been considerable interest in the study of dominance hierarchies established in groups of fish, where dominant individuals obtain preferential access to food and maintain higher feeding rates compared with the subordinates. Since the dominance hierarchies affect biological parameters such as food consumption and growth depensation, manipulation of social conditions to promote uniformity of feeding opportunity and growth performance can have considerable economic ramifications in commercial aquaculture.

The development of dominance hierarchies was studied in groups of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)* fed different ration levels (0.25, 0.5, 1.0 and 1.5%BW/day). Dominance hierarchies were assessed from repeated measurements of individual food consumption using X-radiography over a period of 74 days. The feeding data indicated that the strength of social hierarchy weakened with increasing ration. The strongest hierarchy was established in the 0.25% group with significant effects on the inter-individual disparity of meal sizes, variation of individual daily consumption and growth performance as well as severity of fin damage.

Social organization was altered by the addition of the antibacterial flumequine to the diet in a dose-related manner. Flumequine at a high concentration (12mg/kg food) had a deleterious effect on palatability and consumption rates. The inter-individual variability in consumption and growth rates increased with increasing flumequine concentration in the diet, probably as a result of dose-related deterioration in the palatability and nutritional value of the diet. Interestingly, in the group fed on the low flumequine (1.2mg/kg food) concentration diet, specific growth rate (SGR) was significantly lower only for the dominants whereas SGR of subordinates remained unaffected.

ΜΙΚΡΟΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΕΜΒΡΥΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟ *Pistacia lentiscus* L.

Μπανίλας Γ., Γαζής Φ., Μπούζα Λ. & Π. Χατζόπουλος

Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 118 55 Αθήνα

Το *P. lentiscus* (κν. σχίνος) είναι ένα αειφυλλο-σκληρόφυλλο είδος καλά προσαρμοσμένο σε Μεσογειακού τύπου οικοσυστήματα. Εμφανίζει ιδιαίτερη ανθεκτικότητα στις πυρκαγιές και γι' αυτό το λόγο παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για αναδασώσεις. Η παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού στα είδη του γένους *Pistacia* με παραδοσιακές μεθόδους κρίνεται χρονοβόρα και με μικρή αποδοτικότητα. Η *in vitro* αναγέννηση του σχίνου με βιοτεχνολογικές μεθόδους θα βοηθούσε στη γρήγορη παραγωγή μεγάλου αριθμού επιλεγμένων στελεχών. Τα είδη του *Pistacia* όμως, έχουν αποδειχθεί ιδιαίτερα δύστροπα ως προς την ιστοκαλλιέργεια και ιδιαίτερα τη σωματική εμβρυογένεση. Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται η *in vitro* αναγέννηση του σχίνου με μικροπολλαπλασιασμό και σωματική εμβρυογένεση. Ως αρχικό φυτικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν έκφυτα διαφόρων αναπτυξιακών σταδίων. Με καλλιέργεια ωρίμων εμβρύων σε διάφορα θρεπτικά μέσα παρουσία κυτοκινινών (BA, 2iP) σε συνδυασμό με την αυξίνη ΙΑΑ επιτεύχθηκε επαγωγή επιγενών οφθαλμών από κάλλο και ανάπτυξη μασχαλαίων οφθαλμών σε βλαστούς, με μέγιστο ποσοστό 14% των εμβρύων που καλλιεργήθηκαν. Ένα μεγάλο ποσοστό (67%) των βλαστών αυτών ριζοβόλησε μετά από μικρής χρονικής διάρκειας εμβολιασμό σε ΙΒΑ. Σωματικά έμβρυα αναπτύχθηκαν από κοτυληδόνες και υποκοτύλια νεαρών αρτιβλάστων σε μέσα που περιείχαν κυτοκινίνη (BA ή Kin). Ο τύπος και η συγκέντρωση των φυτοαυξητικών ρυθμιστών και το είδος του εκφύτου επηρέασαν σημαντικά το ποσοστό σωματικής εμβρυογένεσης που έφθασε το 25%. Η επαγωγή σωματικής εμβρυογένεσης με την χρήση κυτοκινινών είναι σπάνια στα ξυλώδη φυτά, όπου έχει επιτευχθεί κυρίως με τη χρήση της αυξίνης 2,4-D. Αυτή είναι η πρώτη αναφορά σε σωματική εμβρυογένεση είδους *Pistacia* από ιστούς σε ένα τέτοιο στάδιο ανάπτυξης.

MICROPROPAGATION AND SOMATIC EMBRYOGENESIS OF *Pistacia lentiscus* L.

Banilas G., Gazis F., Bouza L. & P. Hatzopoulos

Lab. of Molecular Biology, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, 11855 Athens

P. lentiscus (mastic tree) is a hard-leaved evergreen plant species well adapted to Mediterranean type ecosystems. It was found to be one of the lowest fire hazards with a high resprouting coefficient therefore it posseses major economic and ecological interest for reforestation. Propagation of *Pistacia* species by conventional methods is time-consuming and has a low yield. *In vitro* regeneration with biotechnological methods would provide adequate superior clonal planting material. However, *Pistacia* species are strogly recalcitrant to *in vitro* culture and especially to somatic embryogenesis. In this paper, *in vitro* regeneration of mastic tree through micropropagation and somatic embryogenesis is presented. Explants from different physiological stages were used. When mature embryos were cultured on different media with cytokinins (BA, 2iP) in combination with the auxin IAA, adventitious buds were induced on callus and auxillary buds were developed into shoots at an optimal of 14% of the embryos cultured. A high percentage of shoots rooted after a pulse-treatment on IBA. Somatic embryos were formed from cotyledons and hypocotyls derived from young seedlings when cultured on media with cytokinin (BA or Kin). The type as well as the concentration of plant growth regulators significantly affected the percentage of somatic embryogenesis that reached up to 25%. Induction of somatic embryogenesis with cytokinins is not common with woody species, where it has resulted predominantly from the use of the auxin 2,4-D. This is the first report on somatic embryogenesis in *Pistacia* from tissues at a such developmental stage.

ΤΟ ΠΕΡΙΦΥΤΟ ΤΟΥ ΧΛΩΡΟΦΥΚΟΥΣ *Halimeda* tuna (ELLIS & SOLANDER) LAMOUROUX

Μπελεγράτη Μ.Ρ., Μπίτης Ι. και Α. Οικονόμου-Αμίλλη

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα

Εξετάστηκε η εποχιακή κατανομή των επιφυτικών μακροφυκών (ροδοφύκη, φαιοφύκη, χλωροφύκη) και μικροφυκών (διάτομα) που αναπτύσσονται στο χλωροφύκος *Halimeda tuna* (Ellis & Solander) Lamouroux, κατά τη χρονική περίοδο Φεβρουαρίου 1998 - Οκτωβρίου 1998 σε δύο βάθη (4m και 7m) της θαλάσσιας υποπαράλιας ζώνης των Δικαστικών (Ανατολική Αττική).

Συνολικά προσδιορίστηκαν είκοσι taxa μακροφυκών και 165 taxa μικροφυκών. Τα μακροφύκη κατελάμβαναν συγκεκριμένες θέσεις στο θαλλό του χλωροφύκους, ενώ τα μικροφύκη ήταν διασκορπισμένα σε όλη την επιφάνεια του θαλλού. Παρατηρήθηκε ευκρινής εποχιακή διαδοχή όλων των ομάδων φυκών και ασαφής διαφοροποίηση της χλωριδικής τους σύνθεσης ανά βάθος.

Η στατιστική ανάλυση κοινωνιών των διατόμων (ανάλυση ομαδοποίησης) ανέδειξε δύο μεγάλες ομάδες, το χειμερινό / εαρινό σμήνος και το θερινό / φθινοπωρινό σμήνος. Η επιφυτική σύνθεση των διατόμων φαίνεται να καθορίζεται περισσότερο από τις εποχιακές διακυμάνσεις παρά από τις διαφοροποιήσεις παραμέτρων ανά βάθος.

Η ποικιλότητα ειδών των διατόμων ήταν υψηλή, γεγονός που αποδίδεται τόσο στη σταθερότητα υποστρώματος ενός αέναου ξενιστή όσο και στην ευνοϊκή - για επιφυτική ανάπτυξη - επιφανειακή του δομή.

Η αφθονία ειδών όλων των μακροφυκών ήταν μέγιστη την άνοιξη, ενώ η αφθονία (και ποικιλότητα) των διατόμων ήταν μέγιστη το καλοκαίρι. Φαίνεται ότι η προηγηθείσα ανάπτυξη των μακροφυκών διαφοροποιεί το σύνηθες - λόγω υπεροχής θρεπτικών - εαρινό πρότυπο ανάπτυξης των διατόμων.

THE PERIPHYTON OF THE CHLOROPHYTE *Halimeda tuna* (Ellis & Solander) Lamouroux

Belegratis M.R., Bitis I. & A. Economou-Amilli

University of Athens, School of Biology, Department of Ecology & Systematics, Panepistimiopolis 15784 Athens - Ellas

The seasonal and vertical distribution of macroalgal (rhdophytes, phaeophytes, chlorophytes) and microalgal (diatoms) epiphytic assemblages growing on the chlorophyte *Halimeda tuna* (Ellis & Sollander) Lamouroux was studied at Dikastika (East Coast of Attica, Greece) from February to October 1998.
In total, twenty(20) macroalgal and 165 taxa of diatom were identified during the study period.
Epiphytes showed a distinct seasonality and an obscure vertical differentiation in algal species. Each macroalgal epiphyte had a distinct position on *Halimeda tuna*, whereas diatoms were equally distributed over the host surface.
Community cluster analysis showed two major groups, the winter/spring cluster and the summer/autumn cluster. Epiphytic composition seems to be more affected by the season's than by the vertical profile's variability.
Species diversity of diatoms was high, due to both the relatively stable habitat provided by the perennial host and to the favorable surface structure for epiphytic growth. Macroalgal species diversity was highest during spring, whereas diatom abundance was highest during summer. It seems that nutrient availability during spring is less important for epiphytic diatom growth than the existence of a suitable place to attach.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΧΑΣΜΟΦΥΤΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *CAMPANULA* ΣΤΟΝ ΟΛΥΜΠΟ

Μπλιώνης Γ.[1], Κοκκίνη Σ.[2] και Δ. Βώκου[1]

[1]Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας ΑΠΘ
[2]Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής και Φυτογεωγραφίας, Τμήμα Βιολογίας ΑΠΘ

Δύο χασμόφυτα του γένους *Campanula* απαντούν στον Όλυμπο με διαφορετική υψομετρική διανομή: το *C. oreadum*, ενδημικό του Ολύμπου, στην αλπική ζώνη και το *C. versicolor* στα χαμηλά υψόμετρα. Μελετήσαμε δημογραφικά, αναπαραγωγικά, φαινολογικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά των δύο αυτών ειδών σε επιλεγμένους πληθυσμούς τους. Το *C. versicolor*, παρότι είδος χαμηλών υψομέτρων, ανθίζει αργότερα από το *C. oreadum*. Η ανθική μορφολογία του (ανοιχτή στεφάνη) αποκλίνει από την τυπική για το γένος (καμπανοειδής στεφάνη). Αυτή η διαφορά αντανακλάται στη σύνθεση της επικονιαστικής του πανίδας, η οποία περιλαμβάνει κυρίως *Apis mellifera*, *Xylocopa* sp. και δίπτερα. Οι κλιματικές συνθήκες επηρεάζουν την ανθική περίοδο των πληθυσμών και των δύο ειδών καθώς και τη μέση διάρκεια ζωής των ανθέων τους. Ο λόγος της αρσενικής / θηλυκής φάσης των ανθέων διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ειδών, αλλά δεν παρουσίασε ενδοειδικές διαφορές ούτε μεταξύ των ετών ούτε μεταξύ υψομέτρων και ως εκ τούτου φαίνεται ότι αποτελεί σταθερό χαρακτήρα τους. Το *C. oreadum* βρέθηκε να παράγει μεγαλύτερους καρπούς (κάψες) με λιγότερα αλλά βαρύτερα σπέρματα από το *C. versicolor*. Μάλιστα, η παραγωγή καρπών ανά άτομο ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στον πληθυσμό του μεγαλύτερου υψομέτρου. Φύεται σε ικανούς αριθμούς ακόμη και στα πιο ευκολοπρόσιτα σημεία και δεν φαίνεται πως αντιμετωπίζει σοβαρούς κινδύνους. Οι πληθυσμοί της *C. versicolor* αντίθετα, είναι σπάνιοι, περιλαμβάνουν λιγοστά άτομα και υπόκεινται σε σοβαρές απώλειες, που οφείλονται κυρίως στη βόσκηση. Άτομα αυτού του είδους φύονται και σε ανθρωπογενή περιβάλλοντα, όπως τοίχοι σπιτιών στο Λιτόχωρο. Αυτά τα άτομα χαρακτηρίζονται από υπέρμετρη αύξηση και μεγαλύτερη κατανομή βιομάζας στα υπέργεια φυτικά τμήματα, αντίθετα απ' ότι ισχύει για τα φυτά που απαντούν στους φυσικούς, ορεινούς βιότοπους του είδους.

CAMPANULA CHASMOPHYTES ON MT OLYMPOS

Blionis G.J.[1], Kokkini S.[2] & D. Vokou[1]

[1]Department of Ecology, School of Biology AUTH
[2]Institute of Systematic Botany and Phytogeography, School of Biology AUTH

Two *Campanula* chasmophytes, i.e. *C. oreadum* and *C. versicolor*, occur on Mt Olympos with distinct altitudinal ranges (in the alpine zone and at low altitudes, respectively). The two species were studied with respect to population spatial patterns, energy allocation and reproductive performance related to flower phenology, pollination, fruit and seed set. *C. versicolor*, the lowland species, flowers later than the alpine *C. oreadum*. Its flower morphology (open flowers) diverges from the characteristic one of the genus (tube or bell type corolla). This difference is reflected in the composition of its pollinating fauna with honeybees, carpenter bees, and flies making the majority of its pollinators. Climatic conditions affected the flowering period and the flower life span of both species. However, the flower male/female phase ratio, which differed considerably between the two species, remained almost unchanged thus constituting a species-specific character. *C. oreadum* produces larger capsules with fewer but heavier seeds than *C. versicolor*; capsule production per individual was highest at the highest altitude. While the local endemic, *C. oreadum*, grows in good numbers even in very accessible sites and seems to face no serious risks, *C. versicolor* populations on Mt Olympos are scarce and of low size and suffer serious losses particularly due to grazing pressure. Individuals of this species grow also on anthropogenic habitats, such as walls of the village, at the foot of the mountain. They are characterised by excessive growth allocating more biomass to the above ground structures, opposite to what holds true at the mountain habitats.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΜΕΛΙΣΣΑΣ *Apis mellifera*: ΙΣΟΕΝΖΥΜΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

Μπουγά Μ.[1], Κίλιας Γ.[1], Χαριζάνης Π.[2] και Σ. Αλαχιώτης[1]

[1]Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα.
[2]Εργαστήριο Σηροτροφίας-Μελισσοκομίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν πληθυσμοί μελισσών από έξη διαφορετικές περιοχές που αντιστοιχούν σε υποτιθέμενες φυλές που υπάρχουν στην Ελλάδα και Κύπρο. Οι περιοχές που μελετήθηκαν ήταν η Ικαρία, Κάσος, Κύθηρα, Μακεδονία, Φθιώτιδα και Κύπρος. Σκοπός της έρευνας ήταν να μελετηθεί η γενετική δομή των πληθυσμών αυτών ,να διαπιστωθεί τυχόν διαφοροποίηση τους, να εκτιμηθεί η έκταση της ανάμιξης των φυλών λόγω μετανάστευσης (μετακινήσεων και αγοροπωλησιών) και να ερευνηθούν οι φυλογενετικές τους σχέσεις. Για την ανάλυση αυτή, που έγινε με ηλεκτροφορήσεις αμύλου, συλλέχθηκαν 100 περίπου ενήλικες εργάτριες από κάθε πληθυσμό, που προέρχονταν όμως από διαφορετικές βασίλισσες, οι οποίες μεταφέρθηκαν ζωντανές στο εργαστήριο, ομογενοποιήθηκαν και φυλάχτηκαν στους -20 ^{0}C. Τα ενζυμικά γονιδιακά συστήματα που εξετάστηκαν ήταν τα: a-GPDH, ADH, MDH, ESTERASES, SOD, ALDOX, LAP, ACPH, ALK και ME. Τα 10 αυτά συστήματα αντιστοιχούν σε 11 υποθετικούς γενετικούς τόπους. Από αυτούς, ο Adh-1 είναι διαγνωστικός για τον πληθυσμό της Κύπρου όπου επίσης παρατηρείται πολυμορφισμός στην a-Gpdh, ενώ όλοι οι υπόλοιποι ελλαδικοί πληθυσμοί είναι μονομορφικοί. Στους γενετικούς τόπους: Mdh-1, Est-3, Sod, Acph, Alk, και ME παρατηρούνται επίσης πολυμορφισμοί σε όλους σχεδόν τους πληθυσμούς. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων γίνεται με τα προγράμματα BIOSYS-1 και PHYLIP για να προσεγγισθούν οι σχέσεις μεταξύ των πληθυσμών και να κατασκευασθούν τα πιθανά φυλογενετικά δένδρα.

GENETIC STRUCTURE AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS IN GREEK HONEYBEE POPULATIONS *Apis mellifera*: ISOENZYMIC APPROACH

Bouga M.[1], Kilias G.[1], Harizanis P.[2] & S. Alahiotis[1]

[1]Division of Genetics, Cell Biology and Development, Department of Biology, University of Patras, Patras, Greece
[2]Laboratory of Sericulture - Apiculture, Agricultural University of Athens, Athens, Greece

In this study honeybee populations from six different areas of Greece and Cyprus (Ikaria, Kassos, Kythira, Phthiotida, Macedonia and Cyprus) were studied, which may correspond to different races.
The aim of this research was to study the genetic structure of these populations, to estimate the gene flow because of migratory beekeeping and commercial breeding and to examine their phylogenetic relationships, using starch gel electrophoresis on different enzymic systems.
Each sample was composed of about 100 adult workers from each population, taken from different queens which were transported to the laboratory alive, homogenized and stored at -20 ^{O}C. They were studied 10 enzymic systems that were a-GPDH, ADH, MDH, ESTERASES, SOD, ALDOX, LAP, ACPH, ALK and ME which correspond at 11 hypothetical genetic loci. ADH-1 locus is found to be diagnostic for Cyprus population. a-Gpdh locus is polymorphic in Cyprus population and monomorphic in other Greek populations. Mdh-1, Est-3, Sod, Acph, Alk and ME loci are polymorphic in almost all other populations. For data processing the programs BIOSYS-1 and PHYLIP are being applied.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΜΕΛΕΤΗ ΔΥΟ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΤΟΥ mtDNA ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΜΕΛΙΣΣΑΣ *Apis mellifera*

Μπουγά Μ.[1], Χαριζάνης Π.[2], Κίλιας Γ.[1] και Σ. Αλαχιώτης[1]

[1]Τομέας Γενετικής, Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα
[2]Εργαστήριο Σηροτροφίας - Μελισσοκομίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν πληθυσμοί μελισσών από έξη διαφορετικές περιοχές, που αντιστοιχούν σέ υποτιθέμενες φυλές που υπάρχουν στην Ελλάδα και Κύπρο. Οι περιοχές που μελετήθηκαν ήταν η Ικαρία, Κάσος, Κύθηρα, Μακεδονία, Φθιώτιδα και Κύπρος. Σκοπός της έρευνας ήταν να μελετηθεί η γενετική δομή των πληθυσμών αυτών, να διαπιστωθεί τυχόν διαφοροποίηση τους, και να ερευνηθούν οι φυλογενετικές τους σχέσεις. Από κάθε περιοχή συλλέχθηκαν 15 περίπου ενήλικες εργάτριες οι οποίες προήλθαν από διαφορετικές βασίλισσες, μεταφέρθηκαν ζωντανές στο εργαστήριο και φυλάχτηκαν στους -80 ^{0}C.
Από τα άτομα αυτά απομονώθηκε ολικό DNA και στη συνέχεια με τη βοήθεια της PCR πολλαπλασιάστηκαν τα τμήματα των γονιδίων του μιτοχονδριακού DNA 16s rDNA (965 bp) και CO I (1028 bp)και δοκιμάσθηκαν 25 ένζυμα περιορισμού. Θέσεις αναγνώρισης για το τμήμα του 16s rDNA βρήκαν επτά ένζυμα ενώ για το τμήμα του CO I οκτώ. Τα ένζυμα περιορισμού Sau3AI και SspI αποκάλυψαν πολυμορφισμούς για το τμήμα του 16s rDNA, στους πληθυσμούς Φθιώτιδας και Κυθήρων αντίστοιχα. Τα ένζυμα BstuI, XhoI, StyI και NcoI αποκάλυψαν πολυμορφισμούς για το τμήμα του CO I στο πληθυσμό της Φθιώτιδας, ενώ το BclI στο πληθυσμό της Κάσου. Επίσης το NcoI είναι διαγνωστικό για το πληθυσμό της Μακεδονίας σε σχέση με όλους τους άλλους πληθυσμούς πλήν της Φιώτιδας. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων γίνεται με τη βοήθεια των υπολογιστικών προγραμμάτων REAP και PHYLIP. Με τα προγράμματα αυτά, θα εκτιμηθεί η απλοτυπική ποικιλότητα, θα υπολογισθούν οι συντελεστές νουκλεοτιδικών αποκλίσεων μεταξύ των πληθυσμών και θα κατασκευασθούν τα πιθανά φυλογενετικά δένδρα.

STUDY OF TWO mtDNA GENES IN GREEK HONEYBEE POPULATIONS *Apis mellifera*

Bouga M.[1], Kilias G.[1], Harizanis P.[2] & S. Alahiotis[1]

[1]Division of Genetics, Cell Biology and Development, Department of Biology, University of Patras, Patras, Greece
[2]Laboratory of Sericulture - Apiculture, Agricultural University of Athens, Athens, Greece

In this study honeybee populations from six different areas of Greece and Cyprus (Ikaria, Kassos, Kythira, Phthiotida, Macedonia and Cyprus) were studied which may correspond to different races.
The aim of this research was to study the genetic structure of these populations and examine their phylogenetic relationships.
Each sample composed of about 15 adult workers from each population, taken from different queens which were transported to the laboratory alive, and stored at -80 ^{O}C. Total DNA was extracted and two mitochondrial genes, 16s rDNA (965 bp) and COI (1028 bp) were amplified using PCR. Twenty-five restricted enzymes were tested. Seven enzymes recognized sites for 16s rDNA gene and eight for COI. Polymorphism was revealed in 16s rDNA using Sau3AI restricted enzyme in Phthiotida population, as well as in Kythira, using SspI restricted enzyme. Polymorphism was also detected for COI gene using the following restricted enzymes: BstuI, XhoI, StyI and NcoI in Phthiotida, BclI in Kassos. NcoI is also diagnostic for Macedonia population in relation with the other populations, except Phthiotida. For data processing the programs REAP and PHYLIP are being applied

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΕΣ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΣΤΑ ΨΑΡΙΑ *L.cephalus* και *B. Peloponnesious*. ΙΙ) Κινητικές ιδιότητες και δομή του ενζυμικού μορίου

Μπουκουβάλα Ε., Ι. Κωσταρόπουλος, Π. Οικονομίδης και Α.Ι. Παπαδόπουλος

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων και Εργαστήριο Ιχθυολογίας Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, ΑΠΘ

Με σκοπό την αναλυτική μελέτη του ενζυμικού συστήματος αποτοξίνωσης των τρανσφερασών της γλουταθειόνης στα ποταμίσια ψάρια της πατρίδας μας απομονώσαμε το ένζυμο από το ήπαρ του *B. peloponnesious* και του *L. cephalus* με χρήση χρωματογραφίας συγγένειας. Στο απομονωμένο ένζυμο μελετήθηκαν οι κινητικές ιδιότητες (Km_{GSH}, Km_{CDNB} και Vmax) καθώς και για το *B.peloponnesious* η εξειδίκευση που εκφράζει αυτό έναντι συγκεκριμένων υποστρωμάτων. Διαπιστώθηκε ότι η τρανσφεράση της γλουταθειόνης στο *B.peloponnesious* παρουσιάζει σημαντικά μεγαλύτερη αγχιστεία και για τα δύο υπόστρωματα από αυτή του *L. cephalus* αν και η Vmax παρουσιάζει υψηλότερη τιμή στο δεύτερο είδος. Προσδιορίστηκαν τα μοριακά βάρη των ενζύμων και από τα δύο είδη με χρήση χρωματογραφίας μοριακής διήθησης σε συνδυασμό με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης και διαπιστώθηκε ότι για μεν το *L.cephalus* το μοριακό βάρος είναι 33150 d ενώ για το *B. peloponnesious* είναι 35750 d. Και στα δύο είδη το μόριο είναι ετεροδιμερές με υπομονάδες μοριακού βάρους στην μεν πρώτη περίπτωση 17450 και 15700 ενώ στη δεύτερη 21500 και 14250 αντίστοιχα. Μετά απο ισοηλεκτρική εστίαση σε εύρος pH 8-10.5 διαπιστώθηκε ότι για μεν το *L.cephalus* εμφανίστηκαν τρεις ισοενζυμικές μορφές (με αντίστοιχα pIs 8.6, 8.5, 8.3) ενώ για το *B. peloponnesious* δύο (με αντίστοιχα pIs 8.5, 8.4). Τα αποτελέσματα της ισοηλεκτρικής εστίασης διαφοροποιούνται από αυτά της χρωματογραφίας εστιασμού σύμφωνα με την οποία στο *L.cephalus* υπάρχουν δύο ισοενζυμικές μορφές (με αντίστοιχα pIs 8.8 και 9.3) ενώ στο *B. peloponnesious* μία (με pI 8.65). Με όλα τα παραπάνω διαπιστώνεται ότι η οικογένεια των τρανσφερασών της γλουταθειόνης είναι πολύ διαφορετική στα δύο είδη ψαριών που εξετάστηκαν αν και συλλέχτηκαν στο ίδιο περιβάλλον.

GLUTATHIONE S TRANSFERASE IN FRESH WATER FISH *L. cepahlus* AND *B. peloponnesious. II)* Kinetic properties and structure of the enzymic molecule

Boukouvala E., Kostaropoulos I., Oikonomides P. & A.I. Papadopoulos

Laboratory of Animal Physiology, Laboratory of Ichthyology, School of Biology, Faculty of Sciences, ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI

For the purpose of the analytical study of the detoxification enzymatic system of glutathione S-transferases in the fresh water fish of our homeland we isolated the enzyme from the liver of *B. peloponnesious* and *L. cephalus* using affinity chromatography (GSH conjugated Epoxy-activated Sepharose 6B).

We studied the kinetic properties of the isolated enzymes (Km_{GSH}, Km_{CDNB} and Vmax) as well as the specificity towards certain substrates for the one isolated from *B. peloponnesious.* We found that GST in *B. peloponnesious* exhibits higher affinity for both substrates than the one of the *L. cephalus* even though Vmax value is higher for the second species.

We also calculated the molecular weight of the enzymes from both species using Gel Filtration Chromatography in combination with SDS-PAGE. The m.w. of *L. cephalus* was 33150 d while for *B. peloponnesious* it was 35750 d. In both species the enzymic molecule was found to be heterodimeric with subunit molecular weight of 17450 and 15700 for the first and 21500 and 14250 for the second. After IF at pH range 8-10.5 three isoenzymes were found for *L. cephalus* (pIs 8.6 ,8.5 and 8.3) and two for *B. peloponnesious* (8.5 and 8.4). The results from IF were different from those obtained after chromatofocusing at pH range 8.0-11.0 where two isoenzymes were found in the case of *L. cephalus* with pIs 9.3 and 8.8 and one for *B. peloponnesious* with pI 8.65.

From our results it becomes evident that the GST family is very different in the two species although they were collected from the same site.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΣΤΑ ΤΡΟΦΟ-ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΩΟΘΥΛΑΚΙΟΥ ΤΗΣ *Drosophila melanogaster*

Νέζης Ι.Π., Στραβοπόδης Δ. και Λ.Χ. Μαργαρίτης

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα 15784

Η απόπτωση ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, είναι μια εξελικτικά συντηρημένη, ενεργητική και γενετικά ελεγχόμενη διαδικασία, κατά την οποία κύτταρα που δεν είναι πλέον αναγκαία για τον οργανισμό, μπορεί να αυτοκαταστραφούν μέσω ενός πολύ καλά σχεδιασμένου προγράμματος κυτταρικής αυτοκτονίας. Η εκτέλεση αυτού του προγράμματος θανάτου σχετίζεται με χαρακτηριστικές μορφολογικές αλλαγές. Μελετήθηκε η απόπτωση στα τροφοκύτταρα του ωοθυλακίου της *Drosophila melanogaster* κατά την διάρκεια των σταδίων 10 έως 14 της ωογένεσης, μέσω φωτονικής και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας. Παρατηρήθηκαν μορφολογικές αλλαγές, όπως συμπύκνωση του πυρήνα και του κυτταροπλάσματος, θρυμματισμός του κυττάρου σε αποπτωτικά σωμάτια, αλλοιώσεις στην εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού. Συγκεκριμένα η απόπτωση φαίνεται να αρχίζει στο στάδιο 11Β, σε εκείνα τα τροφοκύτταρα που συνορεύουν με το ωοκύτταρο. Στη συνέχεια στα στάδια 12 και 13, η πλειοψηφία των τροφοκυττάρων παρουσιάζει τις παραπάνω μορφολογικές αλλαγές, και στο στάδιο 14 τα αποπτωτικά σωμάτια στα οποία έχουν θρυμματιστεί τα τροφοκύτταρα, έχουν περιέλθει μέσω φαγοκύτωσης στα γειτονικά τους θυλακοκύτταρα.

**** Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την Επιτροπή Ερευνών του Πανεπιστημίου Αθηνών***

MORPHOLOGICAL STUDY OF APOPTOSIS IN NURSE CELLS OF *Drosophila melanogaster* FOLLICLES

Nezis I.P., Stravopodis D. & L.H. Margaritis

University of Athens, Department of Biology, Division of Cell Biology and Biophysics, Panepistimiopolis, Athens 15784, Greece

Apoptosis or programmed cell death, is an evolutionarily conserved, active and genetically regulated process, where cells that are no longer needed, have the ability to self-destruct by activation of a cell suicide program. The execution of this death program is associated with characteristic morphological changes. We have studied apoptosis in nurse cells of *Drosophila melanogaster* follicles during stages 10-14 of oogenesis, by means of conventional light and electron microscopy. Morphological changes such as condensation of nucleus and cytoplasm, fragmentation of the dying cell into apoptotic bodies, alterations in the outer mitochondrial membrane and reorganisation of cytoskeleton, were observed. Apoptosis seems to begin at stage 11B in nurse cells that are in close proximity to the oocyte. Consequently at stages 12 and 13, the majority of nurse cells exhibit the previous morphological changes and finally at stage 14 the apoptotic corpses are observed in follicle cells cytoplasm, after phagocytosis.

**** This work is supported by the Special Researvh Account of the University of Athens***

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

Η ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΩΝ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΓΕΩΜΕΤΡΙΚΗ ΕΠΟΧΗ

Νερούτσος Α.Α., Μανώλης Σ.Κ. Παναγιάρης Γ.Η.*
και Κ. Ζαφειράτος

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας,
Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα
*** Τμήμα Συντ. Αρχαιοτήτων & Έργων Τέχνης, ΤΕΙ Αθήνας,**
Αγ. Σπυρίδωνος Αιγάλεω, Αθήνα

Η αξιολόγηση της θεραπείας των καταγμάτων κατά τη διάρκεια των αρχαίων χρόνων δεν παρέχει μόνο αξιόλογες πληροφορίες για τις συνθήκες υγιεινής του πληθυσμού, αλλά λειτουργεί και ως μια ένδειξη του πολιτισμικού επιπέδου των.

Ο Angel, ο οποίος ήταν ο πρώτος που μελέτησε εξαντλητικά κατάγματα σε σκελετούς από τη Νεολιθική περίοδο και την εποχή του Χαλκού, στη χώρα μας, είχε καταλήξει στο συμπέρασμα ότι οι άρρενες υπόκειντο σε κατάγματα των μακρών οστών και του κρανίου, λόγω της εμπλοκής τους σε πολεμικές ενέργειες και γεωργικές ή άλλες δραστηριότητες (π.χ. κυνήγι). Ακόμη είχε επισημάνει ότι τα θηλυκά είχαν μεγαλύτερο μέσο όρο ζωής από τους άρρενες.

Στην παρούσα εργασία εστιάζουμε την προσοχή μας στην αξιολόγηση των τρόπων θεραπείας και την αποτελεσματικότητά τους στη θεραπεία καθώς και στις αιτίες. Τα οστά που παρουσιάζουν κατάγματα και μελετήθηκαν περιλαμβάνουν περιπτώσεις αυξανόμενης δυσκολίας όσον αφορά θεραπεία ακόμη και με τα σύγχρονα μέσα που περιλαμβάνουν χειρουργική επέμβαση και αντιβιοτικά.

Η επιτυχημένη αποκατάσταση που παρατηρήθηκε σε σκελετούς της Πρωτογεωμετρικής Ιωλκού και της Γεωμετρικής Βίτσας (Ήπειρος) απαιτεί μια σαφή γνώση που εμείς σήμερα αποκαλούμε Ορθοπεδική και δείχνει τον υψηλό βαθμό προτεραιότητας που είχαν αυτές οι κοινωνίες όσον αφορά στη ιατρική φροντίδα και βοήθεια.

Τελικά, είναι σημαντικό να τονίσουμε ότι οι εμφανείς ιατρικές (ορθοπεδικές στην προκειμένη περίπτωση) γνώσεις η των αρχαίων Ελλήνων α) εμφανίζονται τουλάχιστον από τη Γεωμετρική περίοδο, β) είναι γνωστές ακόμη και σε απομακρυσμένες περιοχές της ελληνικής περιφέρειας, όπως είναι η Βίτσα στη Ήπειρο και γ) και φαίνεται ότι συνέχισε ως μια πρώτης προτεραιότητας κοινωνική συνεισφορά, παρόλες τις ανακατατάξεις που συνέβησαν στην ελληνική χερσόνησο κατά το μεταβατικό διάστημα μεταξύ της εποχής του Χαλκού και της Γεωμετρικής περιόδου (εποχής του Σιδήρου).

THE TREATMENT OF FRACTURES IN GEOMETRIC ELLAS

Neroutsos A.A., Manolis S.K. Panagiaris G.E.* & C.S. Zafeiratos

Dept of Animal & Human Physiology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 157 84 Athens - Ellas
*** Dept of Antiquity & Art Conservation, Technological Inst. of Athens, Ag. Spyridonos, Egaleo Athens - Ellas**

The evaluation of fracture management during ancient times not only provides valuable information about health conditions of population, but serves as well as an indication of their civilisation and social welfare levels.
Angel who was first to study extensively fractures of skeletons from Neolithic and Bronze Age Era in Ellas, had concluded that male were more prone to long bone and skull fractures, due to their involvement with warfare and hunting activities. He also stimulated that female had a longer life span than men.
The present study is focused on the evaluation of treatment modes and their efficiency in healing as well as on the causative mechanism.
The fractured bones studied include cases of increased difficulty as regards treatment even with modern facilities and means including surgical measures and antibiotics. The successful treatment observed at the Protogeometric Iolkos and Geometric Vitsa skeletons requires a certain knowledge of what we call now Orthopaedics and shows the high degree of priority that those communities had as regards medical care and welfare.
Finally, it is important to note that this obvious knowledge of Medicine among Ancient Ellenes [Greeks] : a) Has been mastered from the Geometric Times (Iron Age) at least, b) It is evidenced even at the most remote areas of Ellenic inhabited areas as in the case of Vitsa in Epirus and, c) It seems that continued to present as a highly rated social priority in spite all reshuffling that occurred at the Ellenic territorial ground at large, by the end of Bronze Age and the beginning of Iron Age.

ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΥΠΕΡ-ΟΞΕΙΔΑΣΩΝ ΣΤΑ ΕΙΔΗ *Segestidea novaguineae* (ORTHOPTERA) ΚΑΙ *Stichotrema dallatorreanum* (STREPSIPTERA)

Ντουρούπη Τ.[1], Κωνσταντή Ο.Α.[1], Kathirithamby J.[2] και Λ.Χ. Μαργαρίτης[1]

[1]Τομ. Βιολ. Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784, Αθήνα
[2]Dept. of Zoology, Oxford University, Oxford, U.K.

Η σχέση ξενιστή (*Segestidea novaguineae*) και παρασίτου (*S.dallatorreanum*) αποτελεί ένα ενδιαφέρον και σύνθετο σύστημα μελέτης, καθώς το παράσιτο εξαρτάται απόλυτα από το ζωντανό ξενιστή για την επιβίωσή του. Υπεροξειδική ενεργότητα ανιχνεύθηκε σε τομές φωτονικού και ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης μετά από χρώση με διαμινοβενζιδίνη και H_2O_2 ωοθυλακίων του εντόμου *S. novaguineae* . Η υπεροξειδάση του χορίου έχει μελετηθεί ιδιαίτερα στα Δίπτερα και θεωρείται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη σκλήρυνση του χορίου με το σχηματισμό δεσμών δι- και τρι- τυροσίνης, στην παρουσία των οποίων μπορεί να αποδοθεί ο ενδογενής φθορισμός που παρατηρήθηκε στο χόριο του *S. novaguineae*. Με τη χρήση εκκινητών ειδικών για υπεροξειδάσες θηλαστικών και εντόμων, σε αντιδράσεις αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε γενωματικό DNA από τον ξενιστή και από το παράσιτο, απομονώθηκαν ζώνες, των οποίων ο προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας αποκάλυψε υψηλή ομοιότητα με αλληλουχίες υπεροξειδασών εντόμων και συγκεκριμένα με τον κλώνο cDmPO που έχει απομονωθεί από cDNA βιβλιοθήκη εμβρύων *Drosophila melanogaster* και με την υπεροξειδάση του είδους *Aedes aegypti* (κουνούπι).

Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από τη Royal Society και το Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών ως πρόγραμμα συνεργασίας στον Καθ. Λ.Χ. Μαργαρίτη και στην Dr. Jeyaraney Kathirithamby. Ευχαριστούμε την Oil Palm Research Association, Papua New Guinea, για τα δείγματα των εντόμων.

HISTOCHEMICAL AND MOLECULAR EVIDENCE OF PEROXIDASE ACTIVITY IN *Segestidea novaguineae* (ORTOPTERA) AND *Stichotrema dallatorreanum* (STREPSITERA)

Douroupi T.[1], Konstandi O.A.[1], Kathirithamby J.[2] & L.H. Margaritis[1]

[1]Div. Of Cell Biology & Biophysics, Dept. of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens, Ellas
[2]Dept. of Zoology, Oxford University, Oxford, U.K.

The system of host (*Segestidea novaguineae*) and parasite (*Stichotrema dallatorreanum*) is a complicated and interesting one, since the parasite depends totally on the living host for its survival. Peroxidase activity was detected in light and TEM sections of *S. novaguineae* follicles stained with diaminobenzidine and H_2O_2. Chorion peroxidase has been studied in Diptera and is considered to play a crucial role in chorion hardening via the formation of di- and tri- tyrosine bonds. The endogenous fluorescence observed in the chorion may also be attributed to the presence of such bonds. Mammalian and insect specific primers were used in PCR reactions on host and parasite genomic DNA. Sequencing of PCR products revealed high similarities to insect peroxidases and specifically to the cDmPO clone, isolated from a *Drosophila melanogaster* embryonic cDNA library and the *Aedes aegypti* (mosquito) peroxidase.

This work was supported by a Royal Society and National Hellenic Research Foundation collaborative project grant to Prof. Lukas H. Margaritis and Dr. Jeyaraney Kathirithamby. We thank the Oil Palm Research Association, Papua New Guinea for the insect specimens.

ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Urtica dioica*

Ντουρούπη Τ. και Λ.Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής,Τμήμα Βιολογίας, Παν/μιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα

Οι υπεροξειδάσες είναι ένζυμα που περιέχουν αίμη ως προσθετική ομάδα και ανάγουν το H_2O_2 οξειδώνοντας διάφορα υποστρώματα. Στα φυτά οι υπεροξειδάσες παίζουν ρόλο στο σχηματισμό του κυτταρικού τοιχώματος (παραγωγή λιγνίνης, σουβερίνης και σχηματισμός δεσμών μεταξύ των πολυμερών) , στην άμυνα του φυτού ενάντια σε παθογόνα, στη βιοσύνθεση αιθυλενίου κ.α. Η παρατήρηση με φωτονικό και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ιστών *Urtica dioica* (τσουκνίδα) μετά από χρώση με διαμινοβενζιδίνη και H_2O_2 αποκάλυψε ότι η υπεροξειδική ενεργότητα εντοπίζεται κυρίως στο επίπεδο του τονοπλάστη και στα διαστήματα μεταξύ των κυτταρικών τοιχωμάτων. Με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα SDS- πολυακρυλαμίδης και χρώση με o-dianisidine εντοπίζεται ζώνη ~50kD, ενώ μετά από ηλεκτροφόρηση ισοηλεκτρικής εστίασης ανιχνεύεται ζώνη στην όξινη περιοχή του πηκτώματος.
Στην προσπάθεια απομόνωσης του ενζύμου χρησιμοποιήθηκαν χρωματογραφικές τεχνικές (διαφορική κατακρήμνιση με ακετόνη και θειϊκό αμμώνιο, χρωματογραφίες ιοντοανταλλαγής και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, χρωματογραφία Con-A-Sepharose). Με τη χρήση εκκινητών ειδικών για φυτικές υπεροξειδάσες σε αντιδράσεις αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και RT-PCR (αντίστροφη μεταγραφή και PCR) απομονώθηκαν ζώνες των οποίων ο προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας αποκάλυψε υψηλή ομοιότητα με αλληλουχίες φυτικών υπεροξειδασών. Επίσης με τη χρήση RT-PCR γίνεται προσπάθεια να ανιχνευθεί υπεροξειδάση επαγόμενη από πρόκληση πληγής σε αρτίβλαστα 5 ημερών.

Το ερευνητικό έργο χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα TMR NoERB4061PL970047 στον Καθ. Λ. Χ. Μαργαρίτη.

BIOCHEMICAL AND MOLECULAR DATA ON *Urtica dioica* PLANT PEROXIDASES

Douroupi T. & L.H. Margaritis

Div. of Cell Biology & Biophysics, Dept. of Biology, Univerity of Athens, Panepistimiopolis, 157 84, Athens - Ellas

Peroxidases are heme containing enzymes that reduce H_2O_2 and oxidize various substrates. Plant peroxidases are involved in the cell wall formation (lignification, suberization and polymer cross-linking), in plant pathogen defense, in ethylene biosynthesis etc.
Light and TEM micrographs of *Urtica dioica* (stinging nettle) tissues, stained with diaminobenzidine and H_2O_2 revealed that peroxidase activity is mainly detected at the tonoplast level and in the between cell wall spaces. SDS-PAGE and o-dianisidine staining reveals a band of ~50kD whereas isoelectric focusing shows peroxidase activity in the acidic region of the gel.
Acetone and ammonium sulfate fractionation, anion/cation exchange, hydrophobic interactions and Con-A-Sepharose chromatographies were used in an attempt to purify the enzyme .
Plant peroxidase specific primers were used in PCR and RT-PCR reactions. Sequencing of PCR products revealed high similarities to other plant peroxidases. In an attempt to detect any wound induced peroxidase, we are using RT-PCR on wounded 5-day-old *Urtica dioica* seedlings.

This work was supported by TMR Research Network proposal NoERB4061PL970047 to Prof. Lukas H. Margaritis.

ΝΕΑ ΤΕΧΝΙΚΗ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ ΣΤΙΣ ΑΦΙΔΕΣ

Ξένου-Κοκολέτση Μ. και Χρ. Χριστιάς

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 26500 Ρίο, Πάτρα

Η μελέτη της διατροφής των αφίδων και ο τρόπος επεμβάσεως σε αυτή εμφανίζει μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον και έχει αποτελέσει αντικείμενο πολλών μελετών τα τελευταία χρόνια. Οι αφίδες απομυζούν τα απαραίτητα για την ανάπτυξή τους θρεπτικά συστατικά από τους ηθμοσωλήνες του φλοιώματος των φυτών ξενιστών. Γι' αυτό το λόγο η μελέτη της επιδράσεως ουσιών στην επιβίωση των εντόμων απαιτεί ένα σύστημα βιοδοκιμών που προσομοιάζει με το φύλλο. Σχεδόν όλοι οι ερευνητές χρησιμοποιούν τεχνητές δίαιτες συνήθως εγκλεισμένες ανάμεσα σε δύο τεντωμένες μεμβράνες Parafilm. Τα αποτελέσματα τα οποία προκύπτουν με τις παραπάνω τεχνικές είναι αξιόπιστα μόνο στην περίπτωση που η χημική σύσταση της δίαιτας είναι παρόμοια με τη σύσταση του χυμού του φλοιώματος. Η νέα τεχνική που προτείνεται, εκμεταλλεύεται το φύλλο για να μελετήσει την επίδραση μίας ουσίας στην επιβίωση των εντόμων. Σύμφωνα με αυτή την τεχνική τα φύλλα εμβαπτίζονται σε υδατικό διάλυμα της προς εξέταση ουσίας. Ακολουθεί εφαρμογή κενού προς απομάκρυνση του αέρα που υπάρχει στο δοχείο, το διάλυμα και τα μεσοκυττάρια διαστήματα των φύλλων. Εφόσον απομακρυνθεί όλη η ποσότητα του αέρα, αυξάνεται απότομα η πίεση έτσι ώστε ο μεσοκυττάριος χώρος των φύλλων να γεμίσει με το διάλυμα. Ένας αριθμός αφίδων μεταφέρεται πάνω στα εμποτισμένα φύλλα τα οποία στη συνέχεια τοποθετούνται σε τρυβλία Petri που έχουν επιστρωθεί με υγρό διηθητικό χαρτί και κλείνονται με μονωτική ταινία. Τα έντομα διατηρούνται σε θερμοκρασία 25°C και φωτοπερίοδο με 14 ώρες φωτός και τοποθετούνται σε φρέσκα φύλλα κάθε δύο ημέρες. Με το σύστημα αυτό έχει βρεθεί ότι η αφίδα *Aphis nerii* εμφανίζει μικρότερη θνησιμότητα και υψηλότερο ρυθμό αναπαραγωγής σε σύγκριση με έντομα που αναπτύσσονται σε μη εμποτισμένα φύλλα. Η ανάπτυξη και η αναπαραγωγή των αφίδων είναι αποτελεσματικότερη όταν ο εμποτισμός γίνει με υδατικό διάλυμα γλυκόζης 2.5% ή 5%. Η μέθοδος εμποτισμού έχει εφαρμοστεί επιτυχώς σε φύλλα *Nicotiana tabacum, Nerium oleander* και *Ligustrum sp.*. Το νέο αυτό σύστημα μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τη μελέτη της επίδρασης διαφόρων ουσιών όπως εντομοκτόνα, αυξητικοί παράγοντες, ορμόνες θρεπτικά συστατικά κ.λ.π. στην επιβίωση και ανάπτυξη των απομυζητικών εντόμων, διατηρώντας τα στο περιβάλλον του φυσικού τους ξενιστή.

NEW TECHNIQUE FOR BIOASSAY ON APHIDS

Xenou-Kokoletsi M. & Chr. Christias

University of Patras, Department of Biology, 26500 Rio, Patra

Studies on the aphid nutrition and especially the development of artificial diets show great economic interest and have become the subject of many studies in recent years. Aphids obtain the necessary nutrients from the sieve tubes in the phloem tissues of the plant hosts. For this reason the study of the influence of several substances on the survival of the insects demands a bioassay system which is similar to plant leaves. Almost all researchers are using artificial diets, usually enclosed between two membranes of stretched Parafilm. The results derived from such techniques are reliable only when the chemical composition of the diets is similar to the composition of the phloem' s sap. A new technique had been developed in order to study the effect of specific compounds on aphid growth, fecundity and survival. This technique involved dipping of leaves of a particular aphid host in a solution of the desired compound contained in a vacuum flask. The flask was then connected to vacuum pump for 20 minutes. Under these conditions the air of the intercellular spaces of the palisade and spongy parenchyma of the leaves was removed and replaced by the solution. A number of aphids was then transferred on the soaked leaves which were placed in Petri dishes lined with wet filter paper at the bottom and closed with insulating tape. The insects were kept at 25° C and a photoperiod of 14h light/10h dark and were provided with fresh leaves every two days. Following the treatment the leaves acquired a characteristic water soaked appearance. This treatment did not affect either the leave or the development of the aphid colony on them. Aphids grown on leaves soaked with 2.5% and 5.0% glucose had higher growth rates and increased fecundity as compared to controls. The technique worked well for leaves of host plants as *Nicotiana tabacum*, *Nerium oleander* and *Ligustrum sp.*. This new system can be used successfully for the study of the influence of several substances such as toxins, growth factors, hormones, special nutrients e.t.c. on the growth and survival of sucking insects, maintaining them in the environment of their natural host.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΟΞΙΝΩΝ ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟ ΜΥΚΗΤΑ *Alternaria alternata*

Ξένου-Κοκολέτση Μ. και Χρ. Χριστιάς

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 26500 Ρίο, Πάτρα

Είδη εντομοπαθογόνων ατελών μυκήτων παράγουν μία ή περισσότερες τοξικές ουσίες όταν καλλιεργηθούν σε διάφορα υποστρώματα. Αν και οι τοξίνες δεν αποτελούν τον αποκλειστικό παράγοντα θανάτωσης του εντόμου, παίζουν έναν αναμφισβήτητα σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του μύκητα. Το εντομοπαθογόνο στέλεχος του μύκητα *Alternaria alternata* προσβάλλει το έντομο *Aphis nerii* με μηχανική πίεση και ενζυμική λύση του εξωσκελετού με χιτινάσες και πρωτεάσες. Η παρούσα εργασία σκοπό είχε την ανίχνευση τοξινών στο υγρό καλλιέργειας του μύκητα. Φυτοπαθογόνα στελέχη της *Alternaria alternata* είναι γνωστό ότι παράγουν ουσίες των οποίων τόσο το ακατέργαστο εκχύλισμα όσο και η καθαρή τους μορφή παρουσιάζει τοξικότητα στους ιστούς του ξενιστή. Το συγκεκριμένο εντομοπαθογόνο στέλεχος που μελετήθηκε και απομονώθηκε απ΄ ευθείας από μολυσμένα νεκρά έντομα, βρέθηκε ότι όταν αναπτύσσεται σε υγρό θρεπτικό υλικό πλούσιο σε γλυκόζη και ανόργανα άλατα παράγει μία ή περισσότερες τοξικές ουσίες. Οι τοξίνες εκχυλίστηκαν από το θρεπτικό μέσο σε κατάλληλο pH με μεθανόλη και το οργανικό εκχύλισμα εξατμίστηκε μέχρι ξηρού. Το ξηρό υπόλειμμα διαλυτοποιήθηκε σε νερό και εμποτίστηκε σε φύλλα *Nerium oleander* με εφαρμογή κενού. Στη συνέχεια τα εμποτισμένα φύλλα χρησιμοποιήθηκαν για τη διατροφή των αφίδων. Από την παραπάνω βιοδοκιμή παρατηρήθηκε ότι έντομα που αναπτύσσονται σε φύλλα εμποτισμένα με το τοξικό διάλυμα αρχικά εμφανίζουν δυσκολία στην κίνησή τους, δεν αναπαράγονται και τελικά πεθαίνουν. Η διαδικασία της νέκρωσης συνοδεύεται από τον χαρακτηριστικό μεταχρωματισμό του εντόμου από κίτρινο σε πορτοκαλόχρουν, κεραμιδί και τελικά σκούρο μαύρο. Συγκεκριμένα το 50% των εντόμων πεθαίνει μετά από 60 ώρες ενώ μετά από διάστημα 5 ημερών η θνησιμότητα φτάνει το 100%. Η παρουσία αυτών των τοξικών μορίων στο υγρό καλλιέργειας του μύκητα εμφανίζει μεγάλο ενδιαφέρον διότι ανοίγει νέους ορίζοντες για την παρασκευή σκευάσματος τοξινών το οποίο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τον βιολογικό έλεγχο των αφίδων. Αυτή βέβαια η παρασκευή προϋποθέτει τον τελικό προσδιορισμό της χημικής δομής των τοξινών με αναλυτικές τεχνικές όπως HPLC, NMR, GC/MS κ.λ.π.

ISOLATION OF TOXINS FROM THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Alternaria alternata*

Xenou-Kokoletsi M. & Chr. Christias

University of Patras, Department of Biology, 26500 Rio, Patra

Species of entomopathogenic fungi imperfecti when cultured under various conditions have been reported to produce one or more substances toxic to insects. Although such toxins are probably not the exclusive killing factor, they undoubtedly play some role in the overall lethal action of the insect-attacking fungi. The entomopathogenic strain of the fungus *Alternaria alternata* penetrates the insect *Aphis nerii* with mechanical pressure and enzymatic lysis of the integument with chitinases and proteases. The aim of the present work was to isolate toxins from the fungus' culture medium. Phytopathogenic strains of *Alternaria alternata* have been reported to produce substances toxic to the host's tissues. The specific entomopathogenic strain was isolated from infected dead insects. The present study showed that when this strain was cultured in a medium rich in glucose and inorganic salts, produced one or more toxic substances. The toxin(s) were extracted from the culture medium at the right pH with methanol and the organic phase was evaporated to dryness. The residue was dissolved in water and leaves of *Nerium oleander* were soaked in it under vacuum. Insects were then allowed to feed on toxin soaked leaves. Insects feeding on the toxic solution at first showed a difficulty in the movement, they did not reproduce and finally they died. The killing process was accompanied by the characteristic color change from yellow to orange, indian red and finally to dark black. Specifically, 50% of the insects died after 60 hours, while the mortality reached 100% after 5 days. The detection of toxic substances in the culture medium of *Alternaria alternata* and their subsequent isolation in pure form can be exploited for the biological control of aphids. It is important that the determination of the identity and the chemical structure of the toxin(s) with analytical techniques such as HPLC, NMR, GC/MS e.t.c. should be attempted.

ΕΙΝΑΙ Η β-ΠΤΥΧΩΤΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ Η ΜΟΡΙΑΚΗ ΣΤΕΡΕΟΔΙΑΤΑΞΗ ΠΟΥ ΥΠΑΓΟΡΕΥΕΙ ΤΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΤΟΥ ΕΛΙΚΟΕΙΔΟΥΣ ΔΕΡΜΑΤΙΟΥ;

Οικονομίδου Β.Α.[1], Willis J.H.[2] και Σ.Ι. Χαμόδρακας[1]

[1] Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 84
[2] Department of Cellular Biology, University of Georgia, Athens, GA 30602, USA

Πάνω από εκατό πλήρεις ακολουθίες πρωτεϊνών δερματίου είναι σήμερα διαθέσιμες, αλλά ακόμα δεν έχουν γίνει τυπικές αναλύσεις σχετικά με το πώς οι πρωτεΐνες αυτές πιθανόν σχετίζονται με την ελικοειδή αρχιτεκτονική του δερματίου ή τον τρόπο με τον οποίο αλληλεπιδρούν με τη χιτίνη. Ένα «πακέτο» προγραμμάτων πρόβλεψης δευτεροταγούς δομής (Hamodrakas, 1988), το οποίο συνδυάζει έξι διαφορετικούς αλγορίθμους, χρησιμοποιήθηκε στο παρελθόν για την πρόβλεψη της δευτεροταγούς δομής των πρωτεϊνών του χορίου των μεταξοσκωλήκων, καθώς και σε άλλες εφαρμογές, με επιτυχία.
Πειραματικά αποτελέσματα επιβεβαίωσαν τη χρησιμότητά του (Hamodrakas, 1992 και αναφορές εκεί). Το ίδιο «πακέτο» χρησιμοποιήθηκε για την πρόβλεψη της δευτεροταγούς δομής 8 πρωτεϊνικών ακολουθιών «σκληρού» δερματίου και 19 «μαλακού». Οι προβλέψεις δευτεροταγούς δομής περιορίστηκαν σε μια συντηρητική περιοχή 68 αμινοξικών καταλοίπων, η οποία αρχίζει με αφθονία υδρόφιλων καταλοίπων και τελειώνει με μια εξελικτικά, ιδιαίτερα συντηρητική περιοχή 33 καταλοίπων η οποία πρωτο-αναγνωρίστηκε από τους Rebers & Riddiford. (1988). Οι προβλέψεις έδειξαν κυριαρχία της β-πτυχωτής επιφάνειας εαι στις δύο κατηγορίες των ακολουθιών, με 4 διαφορετικούς κλώνους στις πρωτείνες του «σκληρού» δερματίου και 3 στις πρωτείνες του 'μαλακού'. Και στις δυο περιπτώσεις η τυροσίνη και η φαινυλαλανίνη βρέθηκαν να καταλαμ-βάνουν την ίδια πλευρά των προβλεπόμενων β-πτυχωτών επιφανειών, σε εξαιρετικά ευνοϊκές θέσεις για ισχυρές αλληλεπιδράσεις με τους δακτυλίους των σακχάρων της χιτίνης. Προτείνουμε ότι η β-πτυχωτή επιφάνεια υπαγορεύει το σχηματισμό του ελικοειδούς δερματίου.

IS β-PLEATED SHEET THE MOLECULAR CONFORMATION WHICH DICTATES FORMATION OF HELICOIDAL CUTICLE?

Iconomidou V.A.[1], Willis J.H.[2] & S.J. Hamodrakas[1]

[1] Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 84, Greece
[2] Department of Cellular Biology, University of Georgia, Athens, GA 30602, USA

Over 100 sequences for cuticular proteins are now available, but there have been no formal analyses of how these sequences might contribute to the helicoidal architecture of cuticle or to the interaction of these proteins with chitin. A secondary structure prediction scheme (Hamodrakas, 1988) that combines six different algorithms predicting α-helix, β-strands and β-turn/loops/coil has been used to predict the secondary structure of chorion proteins and experimental confirmation has established its utility. We have used this same scheme with eight cuticular protein sequences associated with «hard» cuticles and nineteen from «soft» cuticles. Secondary structure predictions were restricted to a conserved 68 amino acid region that begins with a preponderance of hydrophilic residues and ends with a 33 amino acid consensus region first identified by Rebers and Riddiford (1988). Both classes of sequences showed a preponderance of β-pleated sheet, with four distinct strands in the proteins from "hard" cuticles and three from "soft".
In both cases, tyrosine and phenylalanine were found on hydrophobic faces within a sheet, an optimal location for interaction with chitin. We propose that this β-sheet dictates formation of helicoidal cuticle.

ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΗΣ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΧΟΡΙΟΥ ΤΟΥ ΙΧΘΥΟΣ *Dentex dentex* ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ATR-IR ΚΑΙ FT-RAMAN

Οικονομίδου Β.Α.[1], Χρυσικός Γ.[2], Γκιώνης Β.[2], Γιακουμέλου Α.[1], Γαλανόπουλος Β.[3] και Σ.Ι. Χαμόδρακας[1]

[1] Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 84
[2] Ινστιτούτο Θεωρητικής & Φυσικής Χημείας, Ε.Ι.Ε., Αθήνα
[3] Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο

Η ανάπτυξη των αυγών στους τελεόστεους ιχθύες επιτυγχάνεται στο εσωτερικό ενός σκληρού και σύνθετου κελύφους (χορίου), το οποίο συνίσταται από πρωτεϊνικά συστατικά, τα οποία οργανώνονται σε μια δομή που παίζει σημαντικούς φυσιολογικούς ρόλους (Hamodrakas, 1992).

Αυτή η πολύπλοκη δομή είναι ένα ελικοειδές σύμπλοκο πρωτεϊνικών ινιδίων σε πρωτεϊνική μήτρα. Οι ελικοειδείς δομές είναι αυτοσυγκροτούμενα βιολογικά ανάλογα χοληστερικών υγρών κρυστάλλων. Είναι σημαντικό να καθοριστεί σε τέτοιες περιπτώσεις ο μοριακός μηχανισμός της αυτοσυγκρότησης. Μερικά χρόνια πριν, πειραματικές μελέτες μας, χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία laser-Raman και υπερερύθρου όπως και περίθλαση ακτίνων-Χ, σε άθικτα χόρια του τελεόστεου ιχθύος *Salmo gairdneri*, επιβεβαίωσαν ότι η β-πτυχωτή επιφάνεια είναι η μοριακή στερεοδιάταξη η οποία υπαγορεύει την οργάνωση των πρωτεϊνικών μακρομορίων σε ινίδια, και των ινιδίων σε πρωτεϊνικό κέλυφος με ελικοειδή αρχιτεκτονική.

Αυτή η μελέτη παρουσιάζει ηχηρές πειραματικές ενδείξεις χρησιμοποιώντας φασματο-σκοπία ATR-IR και FT-Raman, ότι η στερεοδιάταξη της β-πτυχωτής επιφάνειας κυριαρχεί και στις πρωτε?νες του κελύφους ενός άλλου τελεόστεου ιχθύος, του *Dentex dentex* (συναγρίδας).

Hamodrakas, S.J. (1992) In: Case ST editor. *Results and Problems in Cell Differentiation,* Vol. 19, Ch. 6. Berlin: Springer, 115-186

SECONDARY STRUCTURE STUDIES OF CHORION PROTEINS OF THE TELEOSTEAN FISH Dentex dentex UTILIZING ATR-IR AND FT-RAMAN SPECTROSCOPY

Iconomidou V.A.[1], Chryssikos G.[2], Gionis V.[2], Giakoumelou A.[1], Galanopoulos V.[3] & S.J. Hamodrakas[1]

[1] Faculty of Biology, Dept of Cell Biology & Biophysics, University of Athens, Athens 157 84
[2] Inst. of Theoretical & Phys. Chemistry, N.H.R.F., Athens, 11635
[3] Faculty of Biology, University of Crete, Heraklion

Teleost fishes develop mature eggs enclosed in a hard and complex eggshell (chorion), formed by protein components, organised in a structure which plays essential biological roles (Hamodrakas, 1992). This complex strucrure is a helicoidal composite of protein fibers in a protein matrix. Helicoidal structures are self-assembling biological analogues of cholesteric liquid crystals. Therefore, it is important to determine in such cases the molecular mechanisms of self-assembly. Some years ago, experimental studies, utilizing laser-Raman and infrared spectroscopy as well as X-ray diffraction on intact chorions of the teleostean fish *Salmo gairdneri,* confirmed that β-pleated sheet is the molecular conformation which dictates the organisation of protein macromolecules into fibrils, and of fibrils into a proteinaceous eggshell with a helicoidal architecture (Hamodrakas *et al.*, 1986). This study provides sound experimental evidence from ATR-IR and FT-Raman spectroscopy, that the β-pleated sheet conformation also predominates in the eggshell proteins of another teleostean fish, the *Dentex dentex.*

Hamodrakas, S.J. (1992) In: Case ST editor. *Results and Problems in Cell Differentiation,* Vol. 19, Ch. 6. Berlin: Springer, 115-186

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

PRED-TMR2: ΕΝΑ ΙΕΡΑΡΧΙΚΟ ΝΕΥΡΩΝΙΚΟ ΔΙΚΤΥΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΚΑΙ ΜΙΑ ΝΕΑ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ

Pasquier C., Προμπονάς Β.Ι., Παλαιός Γ.Α., Χαμόδρακας Ι.Σ., και Σ.Ι. Χαμόδρακας

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 84, Ελλάς

Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται ένα απλό και ταχύ Νευρωνικό Δίκτυο (ΝΝ) ιεραρχικής τοπολογίας feed-forward, περιορισμένου αριθμού νευρώνων, το οποίο ταξινομεί πρωτεΐνες σε δύο κατηγορίες από τις ακολουθίες τους μόνο: σε διαμεμβρανικές πρωτεΐνες (ΤΜ) και μη-διαμεμβρανικές. Με χρήση πληροφορίας που περιέχεται σε 11 πρωτεϊνικές ακολουθίες μόνο, επιτεύχθηκε ταυτοποίηση με επιτυχία 100%, 155 ΤΜ πρωτεϊνών αξιόπιστης τοπολογίας, που συλλέχθηκαν από αρκετά άρθρα στη βιβλιογραφία. Σε ένα δείγμα 995 σφαιρικών πρωτεϊνών, το ΝΝ ταξινομεί ορθά 98% από αυτές. Η μέθοδος εφαρμόσθηκε σε όλη τη SwissProt με επιτυχία 94%, καθώς και σε ORF's αρκετών πλήρων γονιδιωμάτων. Παράλληλα, αναπτύχθηκε μια νέα μέθοδος (PRED-TMR) πρόγνωσης των θέσεων διαμεμβρανικών τμημάτων, από την ακολουθία και μόνο. Η κλασσική υδροφοβική ανάλυση βελτιώνεται με την επισήμανση πιθανών άκρων ΤΜ τμημάτων, επιτρέποντας ταυτόχρονα τον αποκλεισμό περιοχών υψηλής υδροφοβικότητας, αν δεν έχουν διευθετήσεις που σηματοδοτούν έναρξη ή λήξη, και την αποδοχή ΤΜ περιοχών χαμηλής σύστασης σε υδροφοβικά κατάλοιπα. Η ακρίβεια της μεθόδου σε 101 μη ομόλογες ΤΜ πρωτεΐνες αξιόπιστης τοπολογίας, είναι συγκρίσιμη με αυτή γνωστών μεθόδων και μειώνεται ελαφρά μόνο, κατά την εφαρμογή της μεθόδου σε όλες τις ΤΜ πρωτεΐνες της SwissProt. Οι δύο μέθοδοι ενοποιήθηκαν σε ένα πακέττο (PRED-TMR2), που είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί στην ταυτοποίηση της λειτουργίας πρωτεϊνών, που προκύπτουν από ανάλυση νέων γονιδιωμάτων, ιδιαίτερα των ORF's που αντιστοιχούν σε πρωτεΐνες άγνωστης λειτουργίας. Το PRED-TMR2 είναι ελεύθερα προσβάσιμο μέσω του Διαδικτύου στη διεύθυνση **http://o2.db.uoa.gr/PRED-TMR2.**

PRED-TMR2: AN HIERARCHICAL NEURAL NETWORK TO CLASSIFY PROTEINS AS TRANSMEMBRANE AND A NOVEL METHOD TO PREDICT TRANSMEMBRANE SEGMENTS

Pasquier C., Promponas V.J., Palaios G.A., Hamodrakas J.S. & S.J. Hamodrakas

Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens, Athens 157 84, Greece

This work presents a simple and fast artificial Neural Network (NN) with an hierarchical feed-forward topology and limited number of neurons, which classifies proteins into two classes, from their sequences alone: the membrane protein class and the non-membrane one. By using only information contained in 11 protein sequences, the method was able to identify with 100% accuracy 155 membrane proteins with reliable topologies collected from several papers in the literature. Applied to a test set of 995 globular, water-soluble proteins, the NN classifies correctly 98% of them. The method was also applied to the whole SwissProt database with 94% success and on ORF's of several complete genomes. We also developed a new method (PRED-TMR) that predicts the location of transmembrane (TM) domains in proteins from their sequence alone. A standard hydrophobicity analysis is refined with the detection of potential edges of TM regions. This allows both to discard highly hydrophobic regions not delimited by clear start and end configurations and to confirm putative TM segments not distinguishable by their hydrophobic composition. The accuracy of PRED-TMR obtained on a test set of 101 non homologous TM proteins with reliable topologies compares well with that of other popular existing methods. Prediction accuracy slightly decreased when PRED_TMR was applied to all TM proteins of SwissProt. The two methods were integrated in a package (PRED-TMR2), which can be used for the functional assignment and analysis of newly sequenced genomes and, especially, those ORF's that correspond to proteins with unknown function. A WWW server running PRED-TMR2 is available at **http://o2.db.uoa.gr/PRED-TMR2.**

WINPBM: ΕΝΑ ΠΑΚΕΤΟ ΒΙΟΜΟΡΙΑΚΗΣ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΩΝ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΓΙΑ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΥΣ ΜΙΚΡΟΫΠΟΛΟΓΙΣΤΕΣ

Παλαιός Γ.Α., Προμπονάς Β.Ι., Χαμόδρακας Ι.Σ. και Σ.Ι. Χαμόδρακας

Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 84

Το WinPBM (Personal Biomolecular Modeller για Windows) αναπτύχθηκε για να δημιουργεί, να προβάλει και να μεταχειρίζεται δομές μικρών μορίων, πρωτεϊνών αλλά και DNA, σε IBM συμβατούς υπολογιστές κάτω από το λειτουργικό σύστημα Windows 95 ή νεώτερα. Έχει αναπτυχθεί χρησιμοποιώντας γλώσσες προγραμματισμού Delphi 3 και FORTRAN. Η εισαγωγή των δεδομένων στο πρόγραμμα γίνεται είτε από PDB (Brookhaven Data Bank) αρχεία είτε από τον αλγόριθμο CREATE μέσω του οποίου ο χρήστης μπορεί να δημιουργήσει πολυπεπτιδικές αλυσίδες σε εκτεταμένη μορφή (φ, ψ = 180°). Ο χρήστης έχει την δυνατότητα να επέμβει στην τριτοταγή δομή της πρωτεΐνης αλλάζοντας τις γωνίες φ, ψ κάποιων ή όλων των αμινοξικών καταλοίπων. Το WinPBM χειρίζεται μέχρι και 6 διαφορετικά μόρια, ο συνολικός αριθμός ατόμων των οποίων δεν πρέπει να ξεπερνά τα 10000. Η αναπαράσταση (δισδιάστατη ή τρισδιάστατη) του μορίου γίνεται με την μορφή σκελετικού, χωροπληρωτικού ή Cα μοντέλου και με την μορφή δίσκων ή κορδέλας. Όλοι οι χειρισμοί (μεγέθυνση, σμίκρυνση, περιστροφή, μετακίνηση, επιλογή ατόμων) γίνονται με την χρήση ποντικιού και των αντίστοιχων pull-down menus του προγράμματος. Ακόμα, ο αλγόριθμος ENERGY που είναι προσαρμοσμένος στο πρόγραμμα μπορεί να υπολογίζει την αλλαγή της ενέργειας ενός μορίου ή ενός ζευγαριού μορίων, είτε με περιστροφές για συγκεκριμένους δεσμούς για ένα μόνο μόριο, ή επιπρόσθετα με μετακινήσεις και περιστροφές ανάμεσα σε ένα ζευγάρι μορίων.

WINPBM: A MOLECULAR GRAPHICS AND ENERGY CALCULATION SOFTWARE PACKAGE UNDER WINDOWS-95 FOR PC's

Palaios G.A., Promponas V.J., Hamodrakas J.S. & S.J. Hamodrakas

Department of Cell Biology and Biophysics, Faculty of Biology, University of Athens, Athens 157 84, Greece

WinPBM (Personal Biomolecular Modeller for Windows) was developed to create, display and manipulate structures of small molecules, proteins and DNA, in IBM-compatible personal computers, under Windows-95 or later versions of this popular operating system. It was written utilising the Delphi 3 and FORTRAN programming languages. Data input is made either by choosing existing PDB (Brookhaven Data Bank) files or by the CREATE utility, which enables a user to create polypeptide chains in an extended form (φ, ψ = 180). The user has the ability to interfere with the tertiary structure of the protein, altering at will the φ, ψ angles of some or all of the residues. WinPBM manipulates up to 6 different molecules at a time. The only restriction is that the total number of atoms to be displayed should not exceed 10000. Two or Three Dimensional (2D or 3D) representations of a molecule can be made in the form of skeletal, space-filling, ribbon or Cα models as well as 2 or 3D disks respectively. Specific views of displayed molecules can be saved as image files, that can be manipulated by drawing programs. A great variety of manipulations (Zooming in and out, rotating around bonds, vectors or axes, movement, distance calculations) are made using an ordinary mouse or after activating the equivalent pull-down menus of the program. In addition, the ENERGY algorithm, which is a part of the package, may be used to calculate the conformational energy of a molecule or a pair of molecules (with an obvious application in drug-receptor systems), rotating around user-defined bonds in the former case, or moving and rotating a pair of molecules in the latter.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

Η ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΦΥΤΡΩΣΗΣ ΣΤΑ ΣΠΕΡΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΑΝΤΖΟΥΡΑΝΑΣ (*Origanum majorana* L.)

Παναγιωτόπουλος Π. και Κ.Α. Θάνος

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784, Αθήνα

Η μαντζουράνα (*Origanum majorana* L.), ένα σημαντικό αρωματικό και φαρμακευτικό φυτό, καλλιεργείται σε σχετικά ευρεία κλίμακα (κυρίως στην Κεντρική Ευρώπη) και αντιμετωπίζει σοβαρό πρόβλημα διαθεσιμότητας πολλαπλασιαστικού υλικού (σπερμάτων), δεδομένου ότι η δυτικοασιατική προέλευση του είδους δεν 'επιτρέπει' την ολοκλήρωση της καρποφορίας κάτω από τις ψυχρές φθινοπωρινές συνθήκες της κεντροευρωπαϊκής ζώνης. Για το λόγο αυτό και στα πλαίσια ευρύτερου ερευνητικού προγράμματος της Ευρωπαϊκής Ένωσης (FAIR3 CT96 1914) διερευνάται η φυτρωτικότητα των 'σπερμάτων' (καρύων) διαφόρων καλλιεργητικών ποικιλιών της μαντζουράνας που έχουν υποβληθεί σε ένα φάσμα καλλιεργητικών συνθηκών στον Ευρωπαϊκό νότο (Β. και Ν. Ιταλία).

Χρησιμοποιούνται σπέρματα από πολυάριθμες σποροµερίδες που ανήκουν σε 5 διαφορετικές καλλιεργητικές ποικιλίες μαντζουράνας. Το μέσο βάρος σπέρματος κυμαίνεται από 0.17 – 0.26 mg αν και σε αρκετές σποροµερίδες παρατηρούνται σημαντικά μειωμένες τιμές (ακόμα και 0.05 mg) που αποδίδονται σε αδυναμία κανονικής ανάπτυξης του εμβρύου. Το βάρος μάλιστα ενός δείγματος σπερμάτων συσχετίζεται ισχυρά (και ευθύγραμμα) με τη φυτρωτικότητά του.

Το θερμοκρασιακό εύρος της φύτρωσης προσεγγίζει εκείνο του 'Μεσογειακού-τύπου': άριστη φύτρωση στους 15 και 20 °C, αν και σημαντικό ποσοστό εξακολουθεί να φυτρώνει στους 25 °C. Το τάχος της φύτρωσης είναι, αντίθετα, αρκετά υψηλό και η φύτρωση ολοκληρώνεται συνήθως σε 7-10 d (T_{50}: ~2-3 d). Η επίδραση τέλος του φωτός φαίνεται πως είναι μάλλον αμελητέα καθώς δεν διαπιστώνονται σημαντικές διαφορές στα τελικά ποσοστά φύτρωσης κάτω από διαφορετικά καθεστώτα φωτισμού.

PHYSIOLOGY OF SEED GEMINATION IN MARJORAM (*Origanum majorana* L.)

Panayiotopoulos P. & C.A. Thanos

Dept of Botany, Faculty of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 15784, Greece

Marjoram (*Origanum majorana* L.), an important aromatic and medicinal plant, is relatively largely cultivated (particularly in the central European region) but it faces a serious availability problem of multiplication material ('seeds', i.e. nutlets). The origin of the species is placed in Western Asia and marjoram seems to be adapted to relatively warm and dry conditions; this fact may account for the inability of the species to complete its reproductive cycle (and produce sound seeds) under the cool autumn temperatures of the central European zone. To tackle this problem, and within the context of a wider project financed by the European Union (FAIR3 CT96 1914), we investigate the germinability of seeds from various marjoram cultivars grown under various cultivation regimes in the European south (N. and S. Italy).

Numerous seedlots from 5 different marjoram cultivars are used. Average seed weight ranges between 0.17 and 0.26 mg although significantly lower values are obtained in several cases (as low as 0.05 mg). These extremely low values are attributed to an arrested embryo development; moreover, seedlot average weight is strongly (and linearly) correlated to its germinability.

The temperature range of germination seems to follow a pattern close to the 'Mediterranean' one. Optimal germination is observed at 15 - 20 °C, although a considerable percentage can still germinate at 25 °C. On the other hand, germination rate is relatively fast and in most cases germination is complete within 7-10 d (T_{50}: ~2-3 d). Finally, the influence of light seems to be negligible (if any); no significant differences in final germination levels are observed under various and contrasting types of light regimes.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΗ ΙΟΝΙΖΟΥΣΑΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΕ ΖΩΝΤΑΝΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

Παναγόπουλος Δ.Ι., Μεσσήνη-Νικολάκη Ν. και Λ.Χ. Μαργαρίτης

Τομέας Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 157 84 Αθήνα

Η μη ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, (της οποίας η συχνότητα δεν υπερβαίνει την μέγιστη συχνότητα του ορατού φωτός), δεν προκαλεί ιονισμό στα μόρια και άτομα της ύλης. Γι` αυτό και μέχρι λίγες δεκαετίες πριν, θεωρούνταν ακίνδυνη για τους ζωντανούς οργανισμούς. Όμως τις τελευταίες δεκαετίες, συσσωρεύονται όλο και περισσότερες ενδείξεις για σοβαρότατες επιδράσεις της στη ζωντανή ύλη. Σε αντίθεση με την ιονίζουσα, οι μηχανισμοί δράσης της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στα κύτταρα, δεν μας είναι γνωστοί. Δεν υπάρχει κάποιο επιβεβαιωμένο, κοινά αποδεκτό βιοφυσικό - βιοχημικό μοντέλο επίδρασής της στην ζωντανή ύλη. Ωστόσο διάφορα μοντέλα έχουν προταθεί διεθνώς τα τελευταία δέκα χρόνια. Η παρουσίασή μας περιλαμβάνει: α) Σύντομη επισκόπηση των πειραμάτων και μελετών που έχουν γίνει διεθνώς στο συγκεκριμένο θέμα, β) Αναφορά στα πειράματα επίδρασης μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας διαφόρων συχνοτήτων που πραγματοποιούμε, χρησιμοποιώντας ένα πρότυπο πειραματόζωο, την μύγα *Drosophila Melanogaster* και γ) Σύντομη περιγραφή θεωρητικού βιοφυσικού μοντέλου που επεξεργαζόμαστε, για την επίδραση της ακτινοβολίας αυτής σε κύτταρα. Στις φωτογραφίες που θα παρουσιασθούν, παρατηρούνται σαφείς κυτταρικές - μορφολογικές αλλοιώσεις σε αυγά του παραπάνω εντόμου, διαφόρων σταδίων ανάπτυξης, από τις ωοθήκες θηλυκών εντόμων, που εκτέθηκαν για χρονικό διάστημα 24 ή 48 ωρών, σε μαγνητικά πεδία εντάσεων της τάξης των 10 Gauss και σε ηλεκτρικά πεδία εντάσεων της τάξης των 100 KV / m. Πάντως, το πρόβλημα της επίδρασης μη ιονίζουσας ΗΜΑ σε βιομόρια, κύτταρα και ζωντανούς οργανισμούς γενικά, αναδεικνύεται σε πολυσύνθετο, καθώς στα μέχρι σήμερα παρατηρημένα φαινόμενα, δεν φαίνεται να υπάρχει γραμμική σχέση μεταξύ δόσης και απόκρισης, αλλά αντίθετα φαίνεται να υπάρχουν κάποιες περιοχές -"παράθυρα"- συχνότητας, έντασης και χρονικής διάρκειας έκθεσης, έξω από τις οποίες, δεν παρατηρείται επίδραση.

**** Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την Επιτροπή Ερευνών του Πανεπιστημίου Αθηνών***

EFFECTS OF NON IONIZING ELECTROMAGNETIC RADIATION ON LIVING ORGANISMS

Panagopoulos D.I., Messini-Nikolaki N. & L.H. Margaritis

Department of Cell Biology & Biophysics, School of Biology, University of Athens Panepistimiopolis 157 84 Athens - Ellas

Non-ionizing Electromagnetic Radiation, (the frequency of which, does not exceed the maximum frequency of visible light), does not ionize molecules and atoms. That`s why, until few decades ago, it wasn't considered as dangerous for the living organisms. Nevertheless, during the last decades, more and more evidence is accumulated, about serious effects on living matter.

In contrary to ionizing, the action mechanisms of non-ionizing electromagnetic radiation on cells, are yet unknown. There isn't any proven, commonly accepted biophysical - biochemical model for its action on living matter, although some models have been proposed the last ten years.

Our presentation includes: a) Brief survey of experiments and studies that have been carried out until now internationally on this subject. b) Description of the experiments we do in our laboratory, using the fly Drosophila Melanogaster. c) Brief description of theoretical, biophysical model we are working out, for the action of the above radiation on cells.

In the photographs that will be presented, morphological distortions can be clearly seen, on Drosophila Melanogaster eggs of different developmental stages, from the ovaries of female flies, which were radiated for 24 or 48 hours in 10 Gauss, 50 Hz magnetic field and in electric field of 100 KV/m.

In conclusion, the subject seems to be very complicated. Phenomena that have been observed until now internationally, do not seem to have a simple dose - response relationship. In many experiments, "windows" of frequency, intensity and length of exposure have been observed. Effects visible inside such "windows", disappear for both higher and lower values of the parameters.

**** This work is supported by the Special Researvh Account of the University of Athens***

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΓΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟΥ TPA (12-O-TETRADECANOYLPHORBOL-13-ACETATE) ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ SERTOLI, *IN VITRO,* ΜΕ ΣΑΡΩΤΙΚΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

Παναγοπούλου Ε.[1], Κουλούκουσα Μ.[1], Βολουδάκης Γ.[2], Μπαλτατζή Ε.[2], Κίττας Χρ.[1], Μαρίνος Ε.[1]

[1]Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή, Εργαστ. Ιστολογίας & Εμβρυολογίας
[2]Τμήμα Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας - Κυτταρικής Βιολογίας Ερευνητικού Κέντρου Ογκολογίας «Γ. Παπανικολάου», Νοσοκομείο «Άγιος Σάββας», Αθήνα

Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης του συγκαρκινογόνου TPA στην μορφολογία κυττάρων Sertoli από όρχεις αρουραίων *in vitro,* με τη χρήση σαρωτικού ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. Τα κύτταρα Sertoli απομονώνονται από όρχεις αρουραίων ηλικίας 20 ημερών και καλλιεργούνται σε ειδικές στρογγυλές καλυπτρίδες για 4 ημέρες. Το TPA προστίθεται στο τέλος της καλλιέργειας για 8 ώρες σε τελική συγκέντρωση 10^{-6} Μ. Μετά το τέλος της καλλιέργειας τα κύτταρα μονιμοποιούνται σε γλουταραλδεύδη 2,5% σε ρυθμιστικό διάλυμα κακοδυλικού νατρίου 0,05Μ για 1 ώρα και φωτογραφίζονται σε μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεως. Κατόπιν αφυδατώνονται, ξηραίνονται και παρατηρούνται σε σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Στο επίπεδο του φωτομικροσκοπίου τα κύτταρα Sertoli φαίνονται καλά απλωμένα στο υπόστρωμα και πολλά από αυτά παρουσιάζουν μεγάλες κυτταροπλασματικές προσεκβολές. Αντίθετα τα κύτταρα στα οποία έχει επιδράσει το TPA εμφανίζονται μικρότερα και με μικρότερες κυτταροπλασματικές προσεκβολές. Στο επίπεδο του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου τα κύτταρα ελέγχου είναι επίπεδα και καλά προσκολλημένα στο υπόστρωμα ενώ συγχρόνως συνδέονται μεταξύ τους με την δημιουργία ενός εκτενούς δικτύου κυτταρικών προσεκβολών. Τα κύτταρα στα οποία έχει επιδράσει TPA χάνουν την επίπεδη μορφολογία τους και σε αρκετά το σχήμα γίνεται πιο στρογγυλό. Τα κύτταρα αυτά φαίνονται να 'ανασηκώνονται' και να περιορίζεται η επιφάνεια επαφής τους με το υπόστρωμα. Τα αποτελέσματα είναι συμβατά με παρατηρήσεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης, εξηγούν προηγούμενες μορφομετρικές μετρήσεις και δείχνουν ότι πράγματι το TPA επηρεάζει την φυσιολογική μορφολογία των κυττάρων Sertoli *in vitro.*

STUDY OF THE EFFECT OF THE TUMOR PROMOTER TPA (12-O-TETRADECANOYLPHORBOL-13-ACETATE) ON THE MORPHOLOGY OF SERTOLI CELLS IN VITRO USING SCANNING MICROSCOPY

Panagopoulou E.[1], Kouloukoussa M.[1], Voloudakis G.[2], Voloudaki-Baltatzi E.[2], Kittas Chr.[1], Marinos E.[1]

[1]University of Athens, Medical School, Lab. of Histology and Embryology
[2]Dept of Electron Microscopy and Cell Biology, Research Center of Oncology "G. Papanikolaou", Saint Savvas Hospital, Athens

The purpose of the study is to examine the effect of the tumor promoter TPA on the morphology of cultured Sertoli cells from immature rats, using scanning electron microscopy. The cells are cultured for 4 days on round coverslips and TPA is added at the end of the culture period for 8hrs at a concentration of 10^{-7} M. At the end of the culture , the cells are fixed in 2,5% glutaraldehyde in 0,05M cacodylate buffer for 1hr and are photographed on a phase contrast microscope. For electron microscopy, the cells are dehydrated, dried and observed with a scanning electron microscope.
At the light microscope level, Sertoli cells are well spread and many of them exhibit very long cytoplasmic extensions. On the contrary, the cells that are treated with TPA are smaller with shorter cytoplasmic extensions.
At the electron microscope level, the control cells are flat and well attached to the substratum forming a complex network of cytoplasmic extensions. Addition of TPA resulted in cytoplasmic retraction and reduction of the area of cell contact with the substratum and "rounding up" of many of the cells.
The results are in agreement with observations made transmission electron microscope, explain previous morphometric analysis and support the conclusion that TPA causes significal morphological changes in Sertoli cell monolayers.

ΟΔΟΝΤΙΚΗ ΑΝΘΡΩΠΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΜΕΣΟΛΙΘΙΚΗΣ ΕΠΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Παναγιωτοπούλου Ειρ., Παπαγιαννοπούλου Κ., Πατσιώρα Ι. και Σ.Κ. Μανώλης

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

Οι διαστάσεις της μύλης των μόνιμων δοντιών είναι άγνωστες για την Μεσολιθική εποχή στην Ελλάδα. Αυτή η εργασία περιγράφει τις μετρήσεις της μύλης των μόνιμων δοντιών και τους δείκτες ενός ελληνικού Μεσολιθικού δείγματος το οποίο αποτελείται μόνο από τέσσερα άτομα (2 άρρενα και 2 θήλεα). Αυτά τα δεδομένα συγκρίθηκαν με τα δεδομένα μεγέθους δοντιού διάφορων Μεσολιθικών δειγμάτων της Ευρώπης. Από τις συνολικές τιμές της μασητικής επιφάνειας των μόνιμων δοντιών των δύο αρρένων και των δύο θηλέων του ελληνικού φαίνεται ότι είναι όμοια με τα Ιταλικά δείγματα.

Η συνολική μασητική επιφάνεια του ελληνικού δείγματος (από το Σπήλαιο του Φράγχθι) είναι η μεγαλύτερη από τα άλλα ευρωπαϊκά δείγματα, γεγονός που δείχνει ότι έχουν ένα σχετικά μεγαλύτερο μέγεθος δοντιών. Το μεγάλο μέγεθος δοντιών στο Φράγχθι ερμηνεύεται ως μια βιολογική προσαρμογή.

Οι οδοντικοί δείκτες ερμηνεύονται πιθανώς καλλίτερα ως ενδείξεις του μασητικού στρες και της διαφορικής μείωσης μεγάθους των δοντιών. Οι τρίτοι γομφίοι (φρονιμίτες) δείχνουν μια μικρή μείωση μεγέθους της μύλης, αλλά οι δεύτεροι γομφίοι δεν έχουν μειωθεί σε μέγεθος σε σχέση με άλλα ευρωπαϊκά δείγματα.

Ο δείκτης πλάτους των τομέων (κοπτήρων) του δείγματος της Θεόπετρας συγκρινόμενος με άλλους ευρωπαϊκούς πληθυσμούς μπορεί να μαρτυρά μια μικτή γενετική καταγωγή ή ένα παρόμοιο διατροφικό στρες σε γενετικά διαφορετικούς πληθυσμούς. Ακόμη το δείγμα της Θεόπετρας δείχνει ομοιότητες με εκείνο του Φράγχθι, αν και είναι μεγαλύτερο σε μέγεθος.

**** Αυτή η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την Επιτροπή Ερευνών του Πανεπιστημίου Αθηνών***

DENTAL ANTHROPOLOGY OF THE HELLENIC MESOLITHIC

Panayiotopoulou E., Papayiannopoulou K., Patsiora I. & S.K. Manolis

Dept of Human and Animal Physiology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens, Ellas

Permanent dental crown dimensions are largely unknown for the Hellenic Mesolithic. This paper describes permanent tooth crown measurements and indices for a Hellenic Mesolithic sample which is consisted from 4 individuals (two males and two females. These data are compared with tooth size data for Mesolithic European populations. In summed cross-sectional area the Hellenic Mesolithic males and females) permanent teeth are most similar to Italian samples.
The Hellenic Mesolithic (males of Franchthi Cave) total crown area is larger than the figure of the other European samples, indicating a relatively large size of the Frachthi dentition. Large tooth size at Franchthi, is interpreted as a biological adaptation. Dental indices are perhaps better interpreted as indicators of masicatory stress and differential dental reduction. Maxillary and mandibular third molars show minimal reduction in crown size, but mandibular second molar teeth are not restrictly reduced in size in relation to other European samples.
The Incisor Breadth Index of Theopetra individual compared to other European samples, may indicate mixed genetic ancestry or similar dietary stressess in genetically different populations. Theopetra female individual has also similarities with the Franchthi cave female, but larger in size.

**** This work is supported by the Special Researvh Account of the University of Athens***

ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ ΣΤΟ ΗΠΑΡ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ ΜΕΤΑΛΛΟ-ΘΕΙΟΝΕΙΪΝΩΝ ΚΑΙ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΣΤΟ ΒΑΤΡΑΧΟ *Rana ridibunda*

Παπαδημητρίου Ε. και Ν. Λουμπουρδής

Εργαστήριο Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη 54006

Ο χαλκός (Cu) είναι ένα μέταλλο απαραίτητο για τους ζωντανούς οργανισμούς όταν η συγκέντρωσή του βρίσκεται σε φυσιολογικά επίπεδα. Όταν όμως αποβαίνει τοξικός είναι απαραίτητη η απομάκρυνσή του. Για το σκοπό αυτό κρίσιμο ρόλο φαίνεται πως παίζουν τόσο η γλουταθειόνη (GSH) όσο και χαμηλού μοριακού βάρους πρωτε?νες, οι μεταλλοθειονε?νες (Mts).
Στο βάτραχο *Rana ridibunda* χορηγήθηκαν δυο συγκεντρώσεις του μετάλλου (50 και100 ppm) για 5, 15 και 30 ημέρες. Υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις των επιπέδων των Mts και της GSH στο ήπαρ καθώς και η συγκέντρωση του Cu στο συγκεκριμένο ιστό. 'Ιδιες μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν και σε ζώα που είχαν τοποθετηθεί σε καθαρό νερό και αποτελούσαν την ομάδα των μαρτύρων. Η συγκέντρωση του Cu αυξάνει στο ήπαρ καθώς αυξάνει η διάρκεια της έκθεσης στο μέταλλο (στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών στις 5, 15 και 30 ημέρες). Τα επίπεδα των Mts αυξάνουν λόγω της βιοσυσσώρευσης, χωρίς όμως οι διαφορές με τους μάρτυρες να είναι στατιστικά σημαντικές. Στατιστικά σημαντικές διαφορές όμως είχαμε μεταξύ των μαρτύρων και των ομάδων των 50 και 100 ppm στις 15 και στις 30 ημέρες όσον αφορά στα ετίπεδα της GSH. Φαίνεται επομένως πως οι Mts δεν αποτελούν την κύρια οδό αποτοξίνωσης για το Cu όπως συμβαίνει με άλλα μέταλλα (π.χ. Cd) ενώ σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει η GSH.

COPPER ACCUMULATION IN LIVER AND HEPATIC METALLO-THIONEIN AND GLUTATHIONE LEVELS IN THE FROG *Rana ridibunda*

Papadimitriou E. & N.S. Loumbourdis

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

Copper (Cu) is a trace element essential for living organisms when its concentration does not exceed the normal levels. However, high Cu intake stimulates the homeostatic mechanisms in order to maintain it in nontoxic levels. Low molecular weight proteins, metallothioneins (Mts), and glutathione (GSH), seemed to play an important role for the regulation of metals such as Cu present in most of the organisms.

Frogs were exposed to two different concentrations of the metal 50 and 100 ppm for 5, 15 and 30 days. We estimated the accumulation of the Cu in liver and also the hepatic levels of Mts and GSH. 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 during the exposure of animals. The increase of Cu concentration in each exposure group was statistically significant. The concentration of hepatic Mts was also increased but the differences compared to the control values were not statistically significant. However the increase of GSH concentration became statistically significant after the fifth day of exposure (differences between the control groups and the groups of 50 and 100 ppm). It seems that Mts play not a critical role in Cu homeostasis as in other metals (e.g. Cd) in comparison to GSH.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΥ *DELTAMETHRIN* ΚΑΙ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΟΥ *PROCHLORAZ* ΣΤΗ ΜΕΛΙΣΣΑ: ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ *

Παπαευθυμίου Χ. και Γ. Θεοφιλίδης

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η επίδραση ενός πυρεθροειδούς εντομοκτόνου, του *deltamethrin* και ενός μυκητοκτόνου, του *prochloraz*, στην απομονωμένη καρδιά της μέλισσας, έντομο στο οποίο έχει ήδη αναφερθεί συνεργιστική δράση των δυο παραπάνω αγροχημικών παραγόντων με την μέθοδο του LD_{50} .Η μυογενής καρδιά της μέλισσας οργανώνεται σε πέντε μεταμερείς χώρους και υπό *in vitro* συνθήκες εμποτισμού το κύριο πρότυπο λειτουργίας της εμφανίζεται ως δέσμες συσπάσεων-βηματοδοτικών δυναμικών δράσης, που διαχωρίζονται από μεσοδιαστήματα απουσίας της ηλεκτρομηχανικής δραστηριότητας. Η ουσία *deltamethrin* (1 μΜ) κατά τα πρώιμα στάδια της επίδρασης της (5-10 λεπτά) αύξησε τη δύναμη σύσπασης, ενώ αργότερα προκάλεσε μια σημαντική μείωση τόσο στη δύναμη όσο και στη συχνότητα σύσπασης. Επιπρόσθετα το μεσοδιάστημα της δέσμης συσπάσεων αυξήθηκε. Τα πιο σημαντικά αποτελέσματα του χορηγηθέντος *prochloraz* (1 μΜ) ήταν η απώλεια της ικανότητας σύσπασης, η οποία παρατηρήθηκε ως σημαντική αύξηση στο μεσοδιάστημα της δέσμης και πτώση στη δύναμη σύσπασης. Όταν πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονη χορήγηση των δυο προηγούμενων φαρμάκων (1 μΜ *deltamethrin* και 1 μΜ *prochloraz*) η καρδιά επηρεάστηκε κατά ένα πλέον δραστικότερο τρόπο, που περιελάμβανε έντονες διακυμάνσεις της δύναμης και συχνότητας. Επιπρόσθετα σημειώθηκε απώλεια της ικανότητας σύσπασης για μεγαλύτερα συγκριτικά μεσοδιαστήματα χρόνου. Η αντενέργεια της καρδιάς στο μίγμα αποτελεί ένδειξη πιθανής συνέργειας της *deltamethrin* και του *prochloraz* σε μεβρανικό επίπεδο, επί καναλιών Ca^{2+} και ασβεστιοεξαρτώμενων ΑΤΡασών που ευθύνονται για την μυογενή φύση της καρδιακής λειτουργίας.

**** Η συγκεκριμένη εργασία χρηματοδοτήθηκε ευ μέρει από το πρόγραμμα ΠΛΑΤΩΝ.***

CARDIOTOXIC EVALUATION OF INSECTICIDE DELTAMETHRIN AND FUNGICIDE PROCHLORAZ IN HONEYBEE. ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY *

Papaefthimiou C. & G. Theophilidis

Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University, 54006, Thessaloniki, Greece

The effects of a potent pyrethroid insecticide *deltamethrin* and of fungicide *prochloraz* were examined using an in vitro preparation the semi-isolated heart of honeybee, since in the bees, an insect of agronomical and ecological importance has been reported synergistic action of these two agrochemical compounds.
The heart of honeybee is organized in five cardiac chambers and its heartbeat is myogenic in origin. Under *in vitro* perfusion, the main pattern of heart activity appears as bursts of contractions and pacemaker-like action potentials, both of witch are separated of intervals and during these interburst periods of time the electromechanical activity is absent. *Deltamethrin* (1μM) immediately after its administration increased the isometric force of contraction, while later on, caused a significant decrease not only in force but also in internal frequency of the heart beating. In addition to those actions *deltamethrin* increased the burst interval. The most prominent effect of administrated *prochloraz* was the loss of contraction capability and observed as a significant increase in burst interval and a downfall in force. When *prochloraz* and *deltamethrin* were administrated together (1μM and 1μM respectively) the heart was affected in a more drastic way, that concluded intense changes in frequency and force. Moreover, heart contraction ability was abolished for much longer time intervals.
The heart's reaction to the mixture suggests a possible mechanism of synergy between *deltamethrin* and *prochloraz* in membranic level, especially upon Ca^{2+} channels and calcium dependent ATPases, which are responsible for the myogenic function of the heart.

**** Part of this study has been financed by the Platon program.***

ΟΙ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΒΕΝΖΟ[α]ΠΥΡΕΝΙΟΥ ΣΕ ΗΠΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Παπαζαφείρη Π.[1], Μετσίνη Α.[1], Ζαράνη Φ.[2] και Α. Κάππας[2]

[1]Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη 15784 Αθήνα
[2]Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος

Οι πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες είναι περιβαλλοντικοί ρύποι με δράση έναρξης, ανάπτυξης και επέκτασης του καρκίνου. Ο μηχανισμός με τον οποίο προκαλούν την έναρξη της καρκινογένεσης θεωρείται ο μεταβολισμός τους σε ενεργά προιόντα που ενώνονται ομοιοπολικά με το DNA. Οι μηχανισμοί με τους οποίους προκαλούν την ανάπτυξη και την επέκταση του καρκίνου έχουν μελετηθεί πολύ λίγο.

Σκοπός της εργασίας μας είναι η ανίχνευση μερικών σημαντικών αλλοιώσεων που προκαλεί ένας πολυκυκλικός υδρογονάνθρακας : το βενζο[α] πυρένιο (BaP), σε ηπατικά κύτταρα τα οποία μεταβολίζουν παρόμοιες ουσίες. Συγκεκριμένα καταγράφηκαν: 1)Η συγκέντρωση του ασβεστίου στο κυτταροδιάλυμα και στις ενδοκυττάριες αποθήκες, καθώς και η κινητοποίηση του αποθηκευμένου ασβεστίου, με φθορισμομετρία των κυττάρων με Fura-2. 2)Η παραγωγή προιόντων προσθήκης στο DNA, δηλαδή η χημική μετατροπή των βάσεων, μετά τον πλήρη τεμαχισμό του DNA και τον διαχωρισμό των νουκλεοτιδίων σε χρωματογραφία λεπτής στιβάδας. 3)Η επαγωγή της έκφρασης των ογκογονιδίων myc και fos με την τεχνική της ανάλυσης των μεταγράφων (Nothern blots). Η επώαση των κυττάρων με το BaP για μικρά χρονικά διαστήματα (2-24 ώρες) δεν επηρεάζει την βιωσιμότητα, ούτε την μορφολογία των κυττάρων. Αντίθετα, προκαλεί την παραγωγή ενός τουλάχιστον προιόντος προσθήκης που ανιχνεύεται μετά από επώαση 6 μόλις ωρών. Επίσης προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου, καθώς και μεγαλύτερη κινητοποίηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου που φαίνεται να οφείλεται σε μηχανισμούς που εξαρτώνται από την παραγωγή της τριφωσφορικής ινοσιτόλης. Τέλος προκαλεί αύξηση των μεταγράφων myc και fos. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η καρκινογόνος δράση του BaP στηρίζεται και στην επίδρασή του σε μηχανισμούς κυτταρικής σηματοδότησης.

EFFECTS OF BENZO[a]PYRENE ON HEPATIC CELLS

Papazafiri P.[1], Metsini A.[1], Zarani F.[2] & A. Kappas[2]

[1]Dept of Animal & Human Physiology, School of Biology, University of Athens
[2]Institute of Biology, ΕΚΕΦΕ Demokritos

Polycyclic hydrocarbons are enviromental pollutants with complete carcinogenic action, capable of tumor initiation, promotion and progression. The mechanism by which polycyclic hydrocarbons cause the initiation of carcinogenesis is believed to be their metabolism to reactive intermediates that bind covalently to DNA .The mechanisms by which they cause tumor promotion and progression are less well studied .

The aim of our studies is to detect some important alterations that a polycyclic hydrocarbon, benzo[a]pyrene (BaP), causes on hepatic cells (Chang liver cells) which can metabolize similar substancies. In particular, we have recorded :

1) Cytoplasmatic and intracellular calcium concentration, and mobilization of calcium from intracellular stores, by fluorimetry of the cells with Fura–2.

2) Production of DNA adducts, that is the chemical alteration of the nucleotides, after complete digestion of DNA into deoxyribonucleotides-3'-monophosphates, labeling of the nucleotides with ^{32}P in the presense of T4 kinase and their separation onto thin layer chromatography.

3) Induction of myc and fos oncogenes expression, using Nothern blot analysis.

Incubation of hepatic cells with BaP, for short periods of time (2-24 h) does not affect the viability or the cell morphology. On the contrary, BaP causes the production of at least one adduct, which is detectable after 6 hours of incubation. It also results in an increase of intracellular calcium, cytosolic and stored, as well as in a higher mobilization of the intracellular calcium, which seems to depend on mechanisms that involve production of inositol trisphosphate. These changes can be detected only 4 hours after the additiont of BaP.We also noticed an increase in the trascription of myc and fos, which is also very early detectable (6h). These results show that the carcinogenic action of BaP does not rely on the cytogenetic alterations only, but may interact or synergize with other growth promoting and cell signalling pathways.

ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ β-ΓΛΥΚΟΣΙΔΑΣΗΣ ΤΩΝ ΚΡΥΣΤΑΛΛΩΝ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ 1.13 ΤΟΥ *Bacillus thuringiensis*

Παπαλαζαρίδου Α., Σιβροπούλου Α.και Σ. Κολιάης

Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονική 54006

Το σποριογόνο βακτήριο *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) παράγει ενδοκυτταρικά πρωτεϊνικά έγκλειστα, τους κρυστάλλους, οι οποίοι εμφανίζουν ειδική εντομοκτόνο δράση (Δίπτερα, Κολεόπτερα ή Λεπιδόπτερα). Προηγούμενες μελέτες μας έδειξαν ότι στους κρυστάλλους και τους σπόρους του *Bt* στελέχους 1.13 ανιχνεύεται ένα πολυπεπτίδιο μοριακού μεγέθους 140 KDa το οποίο εμφανίζει δράση β-γλυκοσιδάσης.

Η παρούσα εργασία στοχεύει στην μελέτη των ιδιοτήτων της β-γλυκοσιδάσης των κρυστάλλων του *Bt* στελέχους 1.13. Το ένζυμο αυτό υδρολύει ένα ευρύ φάσμα υποστρωμάτων στα οποία περιλαμβάνονται β-γλυκοζίτες (β-glycosides) β- ή α-συνδεδεμένους δισακχαρίτες και πολυσακχαρίτες. Το ένζυμο αυτό παρουσιάζει ικανοποιητικά επίπεδα δραστικότητας σε τιμές pH και θερμοκρασίας που κυμαίνονται από 4 έως 5.5 και από 25°C έως 50°C αντίστοιχα, ενώ η βέλτιστη δραστικότητα εμφανίζεται σε pH 5 και θερμοκρασία 40°C. Στη θερμοκρασία αυτή (40°C) το ένζυμο παραμένει σχετικά σταθερό αφού η δραστικότητα του μειώνεται κατά 25%, 50% και 58% μετά από επώαση του για 5, 12 και 72 ώρες αντίστοιχα στη θερμοκρασία αυτή. Η ενζυματική δραστικότητα αυξάνεται μέχρι και 50% με την προσθήκη χαμηλών συγκεντρώσεων (1-10% κ.β.) γλυκόζης, που είναι το τελικό προϊόν της υδρόλυσης, ενώ ελαττώνεται σταδιακά με την προσθήκη υψηλότερων συγκεντρώσεων γλυκόζης. Επιπλέον πλήρως απομονωμένοι κρύσταλλοι ή σπόροι του στελέχους αυτού, όπως επίσης και β-γλυκοσιδάση που προέρχεται από αμύγδαλα εμφανίζουν ισχυρή δοσοεξαρτώμενη εντομοκτόνο δράση ενάντια στις προνύμφες του εντόμου *Drosophila melanogaster*.

PROPERTIES OF β-GLUCOSIDASE PRESENT IN THE CRYSTALS OF *Bacillus thuringiensis*. STRAIN 1.13

Papalazaridou A., Sivropoulou A. & S. Koliais

Laboratory of General Microbiology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki 54006, Greece

The spore forming bacterium *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) produces intracellular proteinaceous inclusions, the crystals, exhibiting highly specific insecticidal activity (Diptera, Coleoptera, Lepidoptera). Previously, we showed the presence of a 140 KDa polypeptide in the crystals and in the spores of the *Bt* strain 1.13, that exhibits β-glucocidase enzymatic activity.
The present study focused on the properties of β-glucocidase present in the crystals of the *Bt* strain 1.13. The enzyme hydrolyses a wide range of substrates including aryl-β-glycosides, α- or β-linked disaccharides and polysaccharides. The enzyme shows considerable levels of enzymatic activity over a range of pH and temperature values between 4 to 5.5 and 25°C to 40°C respectively, while it's optimum activity develops at pH 5 and 40°C. Enzyme activity remained relatively stable and upon incubation at 40°C for 5, 12 and 72 h showed decreases of 25%, 50% and 58% respectively. Enzymatic activity was increased up to 50% by addition of low concentrations (1-10% w/v) of glucose, the end product of hydrolysis, while it gradually decreased by the addition of higher glucose concentrations (>10%). Finally, purified crystals and spores of the *Bt* 1.13 strain as well as β-glucosidase purified from almonds exhibit dose-dependent high levels of insecticidal activity against larvae of *Drosophila melanogaster*.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΣΕ Η/Υ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟ MONTE-CARLO ΤΗΣ ΑΝΑΔΙΠΛΩΣΗΣ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ FKBP

Παπανδρέου Ν.[1] και J. Chomilier[2]

[1]Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα.
[2]Equipe systemes moleculaires et biologie structurale, Laboratoire de Mineralogie et Cristallographie, Universites Paris VI et Paris VII, CNRS UMRC7590, case 115, 4, place Jussieu, 75252 PARIS cedex 05, France.

Παρουσιάζουμε προσομοιώσεις Monte-Carlo της αναδίπλωσης της ανθρώπινης πρωτεΐνης FKBP. Αναπαριστούμε την πρωτεΐνη σαν μία αλληλουχία σημείων σ' ένα απλό κυβικό πλέγμα και θεωρούμε μόνο τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ πλησιέστερων γειτόνων που δεν είναι διαδοχικοί στην μακρομοριακή αλυσίδα. Μελετήσαμε την εξέλιξη της δομής της πρωτεΐνης, της ενέργειας και της διαμέτρου της σε συνάρτηση με τον χρόνο. Ξεκινώντας από διαφορετικές μη αναδιπλωμένες, εκτεταμένες μορφές, καταλήγουμε σε συμπαγείς σφαιροειδείς μορφές με έναν υδρόφοβο πυρήνα εάν η θερμοκρασία ξεπερνά μία κρίσιμη τομή T_c, ενώ κάτω από την T_c η πρωτεΐνη «παγώνει» σε μη συμπαγείς μορφές υψηλής ενέργειας. Στην περιοχή θερμοκρασιών όπου είναι δυνατή η αναδίπλωση, όλες οι ενδιάμεσες καταστάσεις που μελετήθηκαν ανήκουν σε δύο δομικές ομάδες, όπου η διαδικασία περνά τον περισσότερο χρόνο. Κατά την διάρκεια της αναδίπλωσης, η πρωτεΐνη αποτελείται από τρία και στη συνέχεια δύο συμπαγή τεμάχια, τα οποία χωρίζονται σε θέσεις που χωρίζουν στοιχεία της δευτεροταγούς δομής της πραγματικής πρωτεΐνης. Μελετώντας την αναδίπλωση μίας πρωτεΐνης της ίδιας οικογένειας που παρουσιάζει 24% ταυτότητα με το FKBP, βρήκαμε ότι ο αριθμός και κατά συνέπεια η θέση των τεμαχίων εξαρτώνται από την αλληλουχία των αμινοξέων.

LATTICE MONTE-CARLO SIMULATIONS ON THE FOLDING OF THE HUMAN PROTEIN FKBP

Papandreou N.[1] & J. Chomilier[2]

[1]Genetics Laboratory, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 118 55 Athens, Greece
[2]Equipe systemes moleculaires et biologie structurale, Laboratoire de Mineralogie et Cristallographie, Universites Paris VI et Paris VII, CNRS UMRC7590, case 115, 4, place Jussieu, 75252 PARIS cedex 05, France

Monte-Carlo simulations of folding of the human protein FKBP are presented. The protein is confined in a simple cubic lattice and only nearest-neighbour interactions are considered. The evolution of protein structure, energy and diameter is followed over time. Starting from different extended conformations, compact globular forms with a hydrophobic core are reached above a critical temperature T_c, while below T_c the protein "freezes" into high-energy, non-compact states. In the temperature range of folding, all the recorded intermediate states belong to two structural groups, where the process spends most of its time, separated by relatively fast transitions. During folding, the protein is successively composed of three and two compact fragments, whose separation occurs at loop positions. From comparisons performed on a domain of the family sharing 24% identity with FKBP, it appears that the number of fragments and therefore their location, are sequence-dependent.

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΣΕ Η/Υ ΤΗΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ (MHC) ΤΑΞΗΣ ΙΙ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Παπανδρέου Ν.[1], Cohen H.[2], Heike O.[3], Bach J-M. [2], Jung G.[3], Ηλιόπουλος Η.[1], van Endert P.[2], Παπαδόπουλος Γ.[4]

[1]Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής, Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα
[2]Unite de Recherche de l'INSERM U25, Hopital Necker,161 rue de Sevres, 75743 Paris cedex 15, France
[3]Institute of Organic Chemistry, University of Tubingen, Auf den Morgenstelle 18, 72076 Tubingen, Germany
[4]Εργαστήριο Βιοχημείας και Βιοφυσικής, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τ.Ε.Ι. Ηπείρου, 47100 Άρτα

Οι πρωτε?νες MHC τάξης ΙΙ δεσμεύουν αντιγονικά πεπτίδια, που στη συνέχεια αναγνωρίζονται από βοηθητικά Τ-λεμφοκύτταρα, ενεργοποιώντας την ανοσοαπόκριση. Η πειραματικά υπολογισμένη κρυσταλλοδομή του συμπλόκου της πρωτεΐνης DR1 με ένα πεπτίδιο του ιού της Γρίππης (1) είναι το σημείο εκκίνησης της εργασίας μας. Με βάση αυτή την δομή, υπολογίσαμε τις δομές των συμπλόκων των πρωτεϊνών DR1 και DR5 (πρωτεΐνη παρόμοια με την DR1) με δύο πεπτίδια από την ανθρώπινη πρωτεΐνη GAD, ένα αυτοαντιγόνο στον διαβήτη τύπου Ι. Μελετήθηκε ιδιαίτερα η επίδραση των μεταλλάξεων των πεπτιδίων στην σταθερότητα των συμπλόκων. Οι υπολογισμοί μας συγκρίθηκαν με αποτελέσματα πειραμάτων δέσμευσης πεπτιδίων (2).
Πραγματοποιώντας τις απαιτούμενες μεταλλάξεις στην αρχική δομή του DR1, εισάγοντας ένα πεδίο δυνάμεων που περιγράφει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ατόμων και ελαχιστοποιώντας την ολική ενέργεια, καταλήξαμε στις νέες δομές. Χρησιμοποιήσαμε το πρόγραμμα προσομοίωσης QUANTA με το πεδίο δυνάμεων CHARMm σε υπολογιστή Silicon Graphics Indigo 2. Οι σταθερές σύνδεσης που υπολογίσαμε είναι σε λογική συμφωνία με τα πειράματα δέσμευσης και δείχνουν ότι μοναδικές μεταλλάξεις σε ορισμένες θέσεις των πεπτιδίων αλλάζουν δραματικά τη σταθερότητα των συμπλόκων και μπορούν συνεπώς να επηρεάσουν την διαδικασία αναγνώρισης.

NUMERICAL SIMULATIONS OF SELF AND ANTIGEN PEPTIDE BINDING TO CLASS II MHC PROTEINS OF THE IMMUNE SYSTEM

Papandreou N.[1], Cohen H.[2], Heike O.[3], Bach J-M.[2], Jung G.[3], Eliopoulos E.[1], van Endert P.[2], Papadopoulos G.[4]

[1]Genetics Laboratory, Department of Agricultural, Biotechnology, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 118 55 Athens, Greece
[2]Unite de Recherche de l'INSERM U25, Hopital Necker,161 rue de Sevres, 75743 Paris cedex 15, France
[3]Institute of Organic Chemistry, University of Tubingen, Auf den Morgenstelle 18, 72076 Tubingen, Germany
[4]Laboratory of Biochemistry and Biophysics, School of Agricultural Technology, Technological Educational Institute of Epirus, 47100 Arta, Greece

Class II MHC proteins bind antigen peptides, which are subsequently recognised by helper T cells, leading to cellular and humoral response. The experimentally determined crystal structure of the MHC-II protein DR1 complexed with an influenza virus peptide (1) is the reference point of our study. Starting from this structure, we calculated the structures of complexes formed by DR1 and DR5 (a protein very similar to DR1) with two peptides derived from the human protein GAD, an autoantigen in type I diabetes. The effect of single mutations on complex stability was particularly studied. Our calculations were compared to results of peptide binding experiments (2). By operating the appropriate mutations on the experimental structure, introducing a force field to account for the different interatomic interactions and minimising the total energy, we obtained the calculated new structures. We used the QUANTA simulation program with the CHARMm force field, on a Silicon Graphics Indigo 2. The calculated binding constants, generally in reasonable agreement with experimental results, show that single mutations at certain peptide positions have dramatic effects on the peptide-protein affinity and may therefore affect the recognition process.

References 1) Lawrence J.Stern et al, Nature 1994, vol 368, 215-221.
2) Peter van Endert et al, unpublished results.

ΔΟΜΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΗΣ ΤΡΙΑΖΙΝΗΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΔΙΥΔΡΟΦΟΛΙΚΗ ΑΝΑΓΩΓΑΣΗ (DHFR) ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΑΠΟ ΗΠΑΡ ΜΟΣΧΟΥ

Παπανδρέου Ν.Χ.[1], Παπανικολάου Ι.[3], Πετράτος Κ.[3], Βυζά Αικ.[2], Περράκης Α.[4] και Σ.Ι. Χαμόδρακας[1]

[1]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Παν/μιο Αθηνών, Αθήνα 157 84
[2]Τομέας Φαρμ. Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 15784
[3]Ι.Μ.Β.Β., Ι.Τ.Ε., Ηράκλειο, Κρήτη
[4]EMBL-Grenoble Outstation, France

Η Διυδροφολική Αναγωγάση (DHFR) ανάγει το 7,8-διυδροφολικό οξύ σε 5,6,7,8-τετραυδροφολικό, το οποίο εμπλέκεται στη βιοσύνθεση της θυμίνης. Αναστολή της δράσης της DHFR οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο. Αναστολείς της DHFR χρησιμοποιούνται ως αντιβακτηριακά και αντικαρκινικά φάρμακα. Δύο ανάλογοι αναστολείς, τριαζίνες με αντικατάσταση πεντανίου και εξανίου αντίστοιχα, κρυσταλλώθηκαν και δεδομένα συλλέχθηκαν σε διακριτικότητα 0.7 Α. Η τριαζίνη με αντικατάσταση πεντανίου, ομάδα συμμετρίας χώρου C2/c και παραμέτρους στοιχειώδους κυψελίδας a=28.59A, b=6.33E, c=18.20E, a=?=90^0, ß=105.23^0, βελτιστοποιήθηκε σε συντελεστή R=0.0649, ενώ η τριαζίνη με αντικατάσταση εξανίου, ομάδα συμμετρίας $P2_1/c$ και παραμέτρους στοιχειώδους κυψελίδας a=12.83A, b=7.40E, c=17.08E, a=?=90^0 ß=93.95^0 σε συντελεστή R=0.0655. Κατά την προσπάθεια βελτιστοποίησης του πρωτοκόλλου απομόνωσης DHFR από ήπαρ μόσχου για δοκιμές συγκρυστάλλωσης με αναστολείς, διαπιστώθηκε ότι το ένζυμο εμφανίζει 4 ισομορφές που δεν είναι ίδιες με αυτές που αναφέρονται στην βιβλιογραφία.

CRYSTAL STRUCTURES OF TWO ANTIFOLATES OF THE TRIAZINE GROUP, INHIBITORS OF THE ENZYME DIHYDROFOLATE REDUCTASE (DHFR) AND PROPERTIES OF THE ENZYME FROM BOVINE LIVER

Papandreou N.Ch.[1], Papanikolau I.[3], Petratos K.[3], Vyza E.[2], Perrakis A.[4] & S.J. Hamodrakas[1]

[1]Dept. of Cell Biology and Biophysics, University of Athens, Athens 15784, Greece
[2]Dept of Parmaceutical Chemistry, University of Athens, Athens 157 84, Greece
[3]IMBB, ITE, Heraclion, Crete, Greece
[4]EMBL-Grenoble Outstation, France

Dihydrofolate Reductase is the enzyme responsible for the nicotinamide dependent reduction of 7,8-dihydrofolate to 5,6,7,8-tetrahydrofolate, an essential reaction in the biosynthesis of thymidine required for cellular replication. Depletion of the enzyme pool leads to cellular death. Inhibitors of DHFR are being used as antibacterial and anticancer drugs. Two analogous inhibitors, pentane and hexane-substituted triazines, were crystallized and data were collected to a resolution of 0.7E. Initial processing was performed with DENZO and the structures solved and refined with SHELX-97. The pentane-substituted triazine, space group C2/c and unit cell parameters a=28.59E, b=6.33E, c=18.20E, a=?=90^0, ß=105.23^0, was refined to a final R factor of 0.0649, whereas the hexane-substituted triazine, space group $P2_1/c$ and unit cell parameters a=12.83E, b=7.40E, c=17.08E, a=?=90^0 ß=93.95^0 to a final R factor of 0.0655. During the refinement of the purification protocol of bovine DHFR, for co-crystallization with the inhibitors, four isoenzymes were identified which bear no relation with those mentioned in the literature.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΕΙΔΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚ. Mugilidae ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΡΙΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΟΥ mtDNA

Παπασωτηρόπουλος Β.[1], Κλώσσα-Κίλια Ε.[2], Κίλιας Γ.[1] & Σ. Αλαχιώτης[1]

Πανεπιστήμιο Πάτρας, Τμήμα Βιολογίας
[1]Τομέας Γενετικής Βιολογίας Κυττάρου & Ανάπτυξης
[2] Τομέας Βιολογίας Ζώων

Η οικογένεια Mugilidae αποτελείται από είδη με μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση που ταυτόχρονα εμφανίζουν οικονομικό και εξελικτικό ενδιαφέρον. Η μελέτη αφορά πέντε είδη τα οποία απαντώνται στη λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου και είναι τα εξής : M. cephalus, L. aurata, L. saliens, L. ramada και C. labrosus. Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκαν οι πολυμορφισμοί τμήματος της CO I μεγέθους περίπου 430 bp, με χρήση PCR και περιοριστικών ενζύμων. Από τα περιοριστικά ένζυμα που χρησιμοποιήθηκαν, δέκα βρήκαν θέσεις αναγνώρισης ενώ οκτώ από αυτά, τα Hae III, Hinf I, Dde I, BstN I, Aci I, Pvu II, Bgl I και Rsa I έδωσαν διαειδικούς όσο και ενδοειδικούς πολυμορφισμούς. Ο προσδιορισμός των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των πέντε ειδών βασίστηκε στα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα που είχαν προκύψει από τη μελέτη των πολυμορφισμών άλλων δύο γονιδιακών τμημάτων του mt DNA, των 12s r DNA και 16s r DNA. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια των υπολογιστικών προγραμμάτων REAP και PHYLIP.
Με τα προγράμματα αυτά, εκτιμήθηκε η απλοτυπική ποικιλότητα, υπολογίσθηκαν οι συντελεστές νουκλεοτιδικών αποκλίσεων μεταξύ των ειδών και κατασκευάστηκαν με διάφορες μεθόδους προσέγγισης τα πιθανά φυλογενετικά δένδρα. Από τα δένδρα αυτά φαίνεται ότι το πιο απομακρυσμένο είδος είναι το Mugil cephalus γεγονός που επιβεβαιώνει προηγούμενη μελέτη μας, βασισμένη σε ισοενζυμική ανάλυση.

Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την ΓΓΕΤ (πρόγραμμα ΠΕΝΕΔ 95)

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS IN THE Mugilidae FAMILY USING THREE mt-DNA GENES

Papasotiropoulos B.[1], Klossa-Kilia E.[2], Kilias G.[1] & S. Alahiotis[1]

[1]Division of Genetics, Cell Biology and Development
[2]Division of Animal Biology
Department of Biology, University of Patras

The Mugilidae family (grey mullets) includes a sufficient number of species with great economical importance, which also shows great evolutionary interest. In this study 5 species of this family which are encountered in the Mesologgi lagoon were studied. The species are : Mugil cephalus, Liza ramanda, Liza saliens, Liza aurata and Chelon labrosus. Polymorphisms of the COI mitochondrial gene (430bp) were studied, using PCR method and digestion with restriction enzymes. Twenty restriction enzymes were tested, restriction sites were found by ten of them, while eight of these (HaeIII, Hinf I, Dde I, BstN I, Aci I, Pvu II, Bgl I & Rsa I) showed inter- and intra-specific polymorphisms. The definition of the phylogenetic relations between these five species is based on the results of this research in combination with those of our previous study of 12s rDNA and 16s rDNA mitochondrial genes. The haplotypic variance and the coefficient of nucleotide divergence were estimated using the statistical programs REAP and PHYLIP, while the phylogenetic trees were constructed. The results show that there is a great distance between M. cephalus and other species, which is in accordance with our previous results based on the study of protein polymophisms.

**** This research is financed by the Greek government.***

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΧΡΟΝΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΒΙΟΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ ΙΖΗΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΣΥΡΣΗ ΜΕ ΜΗΧΑΝΟΤΡΑΤΑ ΣΕ ΔΥΟ ΓΕΙΤΟΝΙΚΟΥΣ ΚΟΛΠΟΥΣ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΑΛΙΕΥΤΙΚΗ ΠΙΕΣΗ

Παπασπύρου Σ.[1], Κορμάς Κ.[1], Θεσσαλού-Λεγάκη Μ.[1], Ζενέτου Α.[2]

[1]Τομέας Ζωολογίας - Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 157 84, Πανεπιστημιόπολη, Αθήνα.
[2]Εθνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών, Αγιος Κοσμάς, 16604, Ελληνικό, Αθήνα

Οι επιπτώσεις των αλιευτικών εργαλείων της μηχανότρατας στο βενθικό οικοσύστημα μελετήθηκαν σε σε δύο γειτονικούς κόλπους: το Ν. Ευβοϊκό Κόλπο, με ιλυώδες ίζημα, όπου η αλιεία με μηχανότρατα είναι απαγορευμένη (σταθμός U) και τον Κόλπο των Πεταλιών, με ιλυώδη άμμο, ο οποίος αλιεύεται εντατικά (σταθμός Τ). Στο σταθμό Τ, η χλωροφύλλη *a* και οι φαιοφυτίνες εμφάνισαν γενκά πολύ υψηλότερες τιμές και ταχύτερη μείωση με το βάθος του ιζήματος, ιδιαίτερα το καλοκαίρι. Το οργανικό υλικό (ΟΥ) και οργανικός άνθρακας (ΟΑ) ήταν σημαντικά υψηλότερα στον U από ότι στον Τ ακολουθώντας την κοκκομετρική σύσταση του ιζήματος. Το ΟΥ έδειξε να αυξάνεται στατιστικά σημαντικά μετά από πειραματική σύρση, πιθανόν λόγω αποκάλυψης βαθύτερων στρωμάτων, ενώ οι άλλες παράμετροι δεν εμφάνισαν κάποια σαφή απόκριση. Το ΟΥ ελαττώθηκε στη συνέχεια και στις δύο περιοχές πιθανόν διότι οι καλοκαιρινές συνθήκες ευνοούν τους ρυθμούς αποικοδόμησης/χρήσης σε σχέση με το ρυθμό εισόδου/παραγωγής νέου υλικού. Αντίθετα, ο ΟΑ αυξήθηκε το καλοκαίρι. Η χλωροφύλλη *a* στην επιφάνεια οφείλεται πιθανότατα σε *επι τόπου* παραγωγή που διευκολύνεται από τα διαυγέστερα νερά στον Τ. Οι τιμές για τις φαιοφυτίνες δείχνουν ότι αυτές συσσωρεύονται στο ίζημα και αποικοδομούνται με πιο αργό ρυθμό.

TEMPORAL VARIATIONS OF SEDIMENT BIOTIC PARAMETERS AFTER AN EXPERIMENTAL TRAWLING IN TWO NEIGHBOURING BAYS WITH AND WITHOUT ACCESS TO DEMERSAL FISHING

Papaspyrou S.[1], Kormas K.[1], Thessalou-Legaki M.[1], Zenetos A.[2]

[1] Department of Zoology - Marine Biology, School of Biology, Univ. of Athens, 157 84 Panepistimiopolis, Athens, Greece
[2] National Center of Marine Research, Aghios Kosmas, 16604 Hellinikon, Greece

Otter trawling effects on the benthic ecosystem were investigated in two neighbouring areas: South Evvoikos Gulf, with silty sediment, where trawling is prohibited (station U) and Petalioi Gulf, with silty sand, which is intensely trawled (station T). In station T, chl *a* and phaeopigments showed in general much higher values decreasing significantly with depth, especially in summer months. On the contrary, organic matter (OM) and organic carbon (OC) were significantly higher in U than in T following grain size distribution. Experimental trawling resulted in a statistically significant increase of OM in both areas possibly due to the exposure of deeper sediment layers, while the other parameters did not show any clear response. Thereafter OM decreased in time in both areas, suggesting that summer conditions favour decomposition/use rates in the sediment as opposed to input/production rates. OC showed an increase in time in both stations. Chl *a* of the top sediment layer could represent *in situ* primary production which is enhanced in T by the more transparent waters. Phaeopigments accumulate in the sediment and decay more slowly than chl *a.*

ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΣΤΑ ΑΡΣΕΝΙΚΑ ΑΤΟΜΑ ΤΗΣ *Drosophila melanogaster* ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΜΟΝΟ ΟΜΟΖΥΓΩΝ ΚΑΙ ΟΧΙ ΕΤΕΡΟΖΥΓΩΝ *hobo* ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ

Παυλικάκη Χ. και Γ. Γιαννόπουλος

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Γενετικής Βιολογίας Κυττάρου και Ανάπτυξης, Πάτρα

Από προηγούμενες μελέτες έχει βρεθεί ότι το *hobo* στέλεχος *23.5Δ MRF* προκαλεί ανασυνδυασμό στα αρσενικά άτομα της *Drosophila melanogaster* (κανονικά δεν συμβαίνει) με συχνότητα 2,07% (Stamatis et al. 1981). Το στέλεχος *23.5Δ MRF* φέρει περισσότερες από 100 *hobo* ενθέσεις και γι' αυτό η μελέτη του μηχανισμού πρόκλησης ανασυνδυασμού στα αρσενικά από τα *hobo* στοιχεία, καθίσταται αδύνατη. Θεωρήσαμε λοιπόν, ενδιαφέρον να ελέγξουμε αν ομόζυγες ενθέσεις, καθώς και ετρερόζυγες, μπορούν να προκαλέσουν ανασυνδυασμό στα αρσενικά, παρουσία *hobo* τρανσποσάσης. Κατά τη διάρκεια μιας μελέτης που αφορούσε τη μετάθεση της δομής *haω1* από τα στελέχη *23.5Δ/CyL*^{4} και *Mrh12/Cy),* απομονώσαμε δύο διαφορετικές ενθέσεις *haω1* με οπίσθιο πρότυπο έκφρασης στο μάτι που χαρτογραφήθηκαν στη θέση 86C. Με μια από τις δύο που συμβολίζεται *kk13* και με κατάλληλες διασταυρώσεις με τα στελέχη *rucuca,* (*ru h thr st cu sr e*^{s} *ca*) και το *HBL1 (Cy)* (Calvi et al 1991), προέκυψαν τα στελέχη *h tr st kk13 e*^{s} *ca* και *HBL1(Cy);kk13.*

Με κατάλληλες διασταυρώσεις αυτών των στελεχών, παρουσία *hobo* τρανσποσάσης, παρατηρήθηκε ανασυνδυασμός στα αρσενικά, με συχνότητα 0,93%, μόνο όταν το *kk13* βρισκόταν σε ομοζυγωτία. Τα άτομα από ανασυνδυασμό εμφανίστηκαν σε ομάδες που περιελάμβαναν και τους δύο συμπληρωματικούς φαινοτύπους. Όλα τα άτομα από ανασυνδυασμό έφεραν την ένθεση *kk13*. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η *hobo* τρανσποσάση προκαλεί ανασυνδυασμό μόνο όταν υπάρχουν ενθέσεις *hobo* σε ομοζυγωτία. Τα αποτελέσματα αυτά δεν φαίνεται να συμφωνούν με ανάλογα που υπάρχουν για το στοιχείο *P* όπου παρατηρείται ανασυνδυασμός και σε ομόζυγα και σε ετερόζυγα *P* στοιχεία, παρουσία *P* τρανσποσάσης (Sved et al. 1995). Οι διαφορές αυτές ενδεχομένως να οφείλονται σε διαφορετικούς μηχανισμούς μετάθεσης των δύο στοιχείων.

INDUCTION OF MALE RECOMBINATION BY HOMOZYGOUS BUT NOT HETEROZYGOUS *hobo* ELEMENTS IN *Drosophila melanogaster*

Pavlikaki H. & G. Yannopoulos

University of Patras, Department of Biology, Division of Genetics, Cell and Developmental Biology, Patra, Greece

It has previously been shown that *23.5 MRF hobo* strain induces male recombination in *Drosophila melanogaster* (Stamatis et al. 1981) in frequencies 2,07% (male recombination, normally, does not occur in *Drosophila melanogaster).* The *23.5 MRF hobo* strain has more than one hundred *hobo* insertions so it is impossible to investigate the mechanism of *hobo* male recombination with such a strain. So we thought of interest to test if a homologous and a single *hobo* insertions are enough for the induction of male recombination in the presence of *hobo* transposase. During a study concerning the action of the natural *hobo* strains *23.5 MRF* and *Mr-h12/Cy* on the mobilization of the *H(w+), (haw1)*, we had isolated two *haw1* insertions with posterior restricted pigmentation pattern in the eye. Both of them are localized to 86C site. By using one of them, designated as *kk13,* as well as, the multimarker laboratory strain *rucuca (ru h thr st cu sr* e^s *ca)* and the *HBL1 (Cy)* that produces *hobo* transposase (Calvi et al. 1991) we established the strains *h thr st kk13* e^s *ca* and *HBL1(Cy);kk13*.

When these strains appropriately crossed, we observed male recombination, in the presence of *hobo* transposase, only when *kk13* was at homologous sites but not in the presence of a single *kk13,* at a frequency 0,93%. The recombinants appeared in clusters, had the reciprocal phenotypes and all had the *kk13* insertion. These results indicate that for the *hobo* male recombination two homologous *hobo* insertions are needed. The present findings are not in agreement with those found with the *P* transposable element where male recombinatiom was observed both with single and homologous *P* insertions in the presence of available *P* transposase (Sved et al. 1995). These differences might be attributed to different mechanism of trasposition between the two families.

ΔΟΜΙΚΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ neuralized ΤΟΥ ΠΟΝΤΙΚΟΥ

Παυλόπουλος Η.Κ.[1,2], Κοκκινάκη Μ.[1,2], Κουτέλου Ε.[1] , Τζίτζικας Ν.[1], Δελιδάκης Χ.[1,2] και Ν.Κ. Μοσχονάς[1,2]
7

[1]Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης Ηράκλειο
[2]Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας (ΙΤΕ), Ηράκλειο

Στα πλαίσια της ταυτοποίησης και λειτουργικής διερεύνησης νέων γονιδίων της χρωμοσωμικής περιοχής q24-q25 μελετήθηκε το ομόλογο του γονιδίου neuralized (neur) της *Drosophila melanogaster*. Το neur ανήκει στην κατηγορία των νευρογόνων γονιδίων, εκφράζεται στους νευροβλάστες και συμμετέχει στη διαδικασία της πλευρικής καταστολής κατά τη νευρογένεση στη *Drosophila*. Το γονίδιο στον άνθρωπο εντοπίζεται σε μια περιοχή όπου χαρτογραφούνται αναπτυξιακές ανωμαλίες (εκτρωδακτυλία τύπου 111, σύνδρομο νεφρικής ανεπάρκειας), νευρολογικές παθήσεις (μερική επιληψία, παρεγκεφαλιδονωτιαία αταξία) καθώς και διάφορες μορφές καρκίνου. Προκειμένου να διερευνηθεί ο βιολογικός ρόλος του neur. στα θηλαστικά απομονώθηκε το ομόλογο γονίδιο στο ποντίκι.
Μελέτη της γενωμικής οργάνωσης του neur. έδειξε ότι έχει μέγεθος, περίπου, 10 kb, και αποτελείται από 5 εξόνια και 4 ιντρόνια. Πειράματα υβριδισμού in situ σε τομές εμβρύων ποντικού καθώς και σε ολόκληρα έμβρυα στα αναπτυξιακά στάδια E9.5-E17.5 έδειξαν υψηλά επίπεδα έκφρασης του γονιδίου στις χόνδρινες δομές των σκελετικών στοιχείων και ιδιαίτερα στα αναπτυσσόμενα άκρα, γεγονός που υποδηλώνει την ενδεχόμενη συμμετοχή του neuralized στη χονδρογένεση. Ο υποκυτταρικός εντοπισμός της πρωτε?νης NEUR έγινε μέσω παροδικής έκφρασης σε κύτταρα θηλαστικών σειρών κατασκευών *GFP/Neur*. που κωδικοποιούν για την αντίστοιχη χιμαιρική πρωτε?νη. Παρατηρήθηκε ότι η πρωτε?νη εντοπίζεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Η περιοχή που είναι υπεύθυνη για τον κυτταρικό εντοπισμό της πρωτε?νης οριοθετείται στα 220 αμινοξέα που βρίσκονται στο αμινοτελικό της άκρο. Δείξαμε ότι στην ίδια θέση εντοπίζεται και το ομόλογο πολυπεπτίδιο της *Drosophila melanogaster*. Σε προκαταρκτικά πειράματα ετερόλογης κατευθυνόμενης υπερέκφρασης του γονιδίου neur. του ποντικού στη *Drosophila* και συγκεκριμένα στα κύτταρα που γειτνιάζουν στους νευροβλάστες, παρατηρήθηκε ενδεχόμενη συμμετοχή του NEUR στην ωρίμανση του υποδοχέα NOTCH ή/και του δεσμευτή του, DELTA. Οι δύο αυτές ρυθμιστικές πρωτε?νες συνιστούν βασικούς παράγοντες της εμβρυϊκής ανάπτυξης, από τα ασπόνδυλα μέχρι τα θηλαστικά. Τα παραπάνω στοιχεία αποτελούν σημαντικές ενδείξεις ότι έχουμε απομονώσει ένα νέο γονίδιο που, ενδεχομένως, παίζει σημαντικό ρόλο στην εμβρυϊκή ανάπτυξη των άκρων των θηλαστικών.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF MOUSE neuralized GENE

Pavlopoulos E.K.[1,2], Kokkinaki M.[1,2], Koutelou E.[1], Tzitzikas M.[1], Delidakis Ch.[1,2] & N.K. Moschonas[1,2]

[1]University of Crete, Biology Dpt., Heraklion
[2]Institute of Molecular Biology and Biotechnology (FORTH), Heraklion

Searching for new genes within the chromosomal region 10q24-q25, we have studied the homologue of Drosophila melanogaster neuralized gene. Neur is one of the so-called neurogenic genes and is expressed in neuroblasts, participating in lateral inhibition process during early neurogenesis in Drosophila. The human homologue is located at 10q24-q25 region, in which developmental and neurological disorders (eg. split hand and foot type III, partial epilepsy, spinocerebelar ataxia) and several types of cancer are mapped. To investigate the role of neuralized gene in mammals, we have cloned the mouse homologue of neur. Genomic organization analysis and determination of the exon/intron sequence boundaries showed that the gene is about 10Kb and consists of 5 exons and 4 introns. The in situ expression of Neur was studied in tissue sections and whole embryos of mouse developmental stages ranging from E9.5 to E17.5d. The gene showed a predominant uniform expression in the cartilaginous skeletal precursors and especially in the developing limbs. For the subcellular localization of the protein, we transiently expressed, in mammalian cell lines, the chimeric protein GFP/NEUR. By fluoresenscence microscopy, we observed that the protein is located in the ER. Analysis of various trancated GFP/NEUR constructs suggested that the region which is responsible for the association with ER is included within the first N-terminal 220 amino acids. The same observation was, also, done with the Drosophila neur homologue. Preliminary results from targeted overexpression of mouse Neur into the heterologous system of D. melanogaster and specifically in neuroblast-neighboring cells (epidermoblasts), indicated a possible interaction of NEUR with NOTCH or/and its ligand, DELTA. These proteins are major factors of embryonic development in all organisms, from invertebrates to mammals. Our data strongly suggest that we have identified a novel gene with a significant role in mammalian limb morphogenesis.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΓΟΝΟΤΟΞΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΡΟ?ΟΝΤΩΝ ΣΥΖΕΥΞΗΣ ΚΙΝΟΝΩΝ ΜΕ ΑΜΙΝΟΞΕΑ ΚΑΙ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Παχατουρίδης Χρ.[1], Ιακωβίδου Ζ.[2], Μυόγλου Ε.[2], Μουρελάτος Δ.[2], Κότσης Α.[2], Παπαγεωργίου Β.Π.[1] και Μ. Λιακοπούλου-Κυριακίδου[1]

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
[1]Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Τομέας Χημείας
[2]Ιατρικό Τμήμα, Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας

Οι κινόνες παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον λόγω του σημαντικού τους ρόλου σε συγκεκριμένες κυτταρικές λειτουργίες. Οι κινοπρωτε?νες είναι μια μεγάλη κατηγορία οξειδοαναγωγικών πρωτε?νών που απαντούν τόσο σε βακτήρια όσο και σε ανώτερους οργανισμούς.

Στην εργασία αυτή μελετήσαμε την κυτταροστατική και κυτταρογενετική δράση μιας σειράς νέων προ?όντων σύζευξης κινονών με αλειφατικά αμινοξέα και ορισμένα δι- και τριπεπτίδια. Παρασκευάστηκαν οι αντίστοιχες αμινοκινόνες (2-αμινο-1,4-βενζοκινόνη, 2-αμινο-1,4-ναφθοκινόνη και 2-αμινο-5,8-διυδροξυ-ναφθοκινόνη) και στη συνέχεια συζεύχθηκαν μέσω της αμινομάδας με τα κατάλληλα προστατευμένα αμινοξέα και πεπτίδια (μέθοδος DCCI ή DIC). Η συχνότητα των SCEs (Sister Chromatid Exchanges) αποτελεί ένα ευαίσθητο δείκτη των βλαβών του DNA ή και των επιδιορθωτικών του μηχανισμών (κυτταρογενετική δράση). Ο προσδιορισμός του PRI (Proliferation Rate Index) αποτελεί ευαίσθητο δείκτη κυτταροτοξικότητας. Η μελέτη αυτών των παραμέτρων σε φυσιολογικά λεμφοκύτταρα ανθρώπου άπεδειξε ότι η αυξημένη συχνότητα των SCEs που συνοδεύεται από εντυπωσιακή πτώση του PRI παρουσία της αμινοναφθοκινόνης είναι δοσοεξαρτώμενη (αντινεοπλα-σματική δράση). Η αμινοναφθαζαρίνη προκαλεί ηπιότερες ανεπιθύμητες βλάβες στο DNA, ενώ η αμινοβενζοκινόνη δεν επιδρά. Τα προ?όντα σύζευξης της αμινοναφθοκινόνης προκαλούν σχετικά μικρότερες βλάβες απ' ό,τι η μητρική ένωση στο DNA. Όμως διατηρούνται σε υψηλά επίπεδα πιθανώς και λόγω της μη κινητοποίησης επιδιορθωτικών μηχανισμών. Παράλληλα η εμφάνιση μικρότερης κυτταροστατικότητας ενθαρρύνει ουσιαστικά τη συνέχιση της έρευνας και σε άλλα βιολογικά συστήματα.

GONOTOXIC EFFECT OF COUPING PRODUCTS OF QUINONES WITH AMINO ACIDS AND PEPTIDES IN HUMAN LEMPOCYTES

Pachatouridis Ch.[1], Iakovidou Z.[2], Mioglou E.[2], Mourelatos D.[2], Kotsis A.[2], Papageorgiou V.P. [1] & M. Liakopoulou-Kyriakides[1]

Aristotle University of Thessaloniki
[1]Dept. of Chem. Engineering, Section of Chemistry
[2]Dept. of Medicine, Laboratory of General Biology

Quinones are of signi5cant interest due to their important role inspeci5c cellular functions. Quinoproteins are a big class of oxyredutactive proteins occuring in bacteria and other organisms.
In this work, the cytostatic and cytogenetic effect of a series of new products from coupling quinones and aliphatic amino acids and some di- and tripeptides were investigated.
The correspodent aminoquinones were first prepared (2-amino-1,4-benzoquinone, 2-amino- 1,4-naphthoquinone, 2-amino-5,8-diydroxy-naphthoquinone) and coupled through their amino group with the properly protected amino acids and peptides cDCCI or DIC method). The frequency of SCEs (Sister Chromatid Exchanges) is a sensitive index of the DNA damage or its repair mechanisms (cytogenetic effect). The determination ofPRI (proliferation Rate Index) is also a sensitive index of cytotoxicity. The study of the above parameters in human lemphocytes showed increased SCEs values followed from a significant decrease of PRI values in the presence of aminonaphthoquinone which is dose dependent (antineoplastic action). Aminonaphthazarin causes smaller damages in DNA whereas aminobenzoquinone does not have any effect. The coupling products of aminonaphthoquinone cause relatively less damages to DNA in respect to the mother compound but remain in high levels, possibly because of non activation of its repair mechanisms.
These data in combination with lower cytotoxicity encourage continuation of this research to other biological systems as well.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΟΔΟΝΤΙΚΗ ΑΝΘΡΩΠΟΛΟΓΙΑ ΔΥΟ ΠΡΟΪΣΤΟΡΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΝΗΣΟΥ ΕΥΒΟΙΑΣ

Πετρουτσά Ε., Μπελτέ Ε. και Σ.Κ. Μανώλης

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων & Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη, 157 84 Αθήνα

Αν και υπάρχει πληθώρα ανθρώπινου σκελετικού υλικού από όλες τις πολιτισμικές φάσεις της Ελληνική προϊστορίας, οι ανθρωπολογικές μελέτες είναι σχετικά λίγες, ενώ οι μελέτες των δοντιών είναι ελάχιστες. Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της οδοντολογικής εξέτασης δύο προϊστορικών αρχαιολογικών θέσεων. Η πρώτη θέση είναι το νεκροταφείο του σπηλαίου των Θαρρουνίων κι έχει χρονολογηθεί στην ύστερη Νεολιθική περίοδο, ενώ η δεύτερη θέση, το νεκροταφείο της Μάνικας, ανήκει στην επόμενη πολιτισμική περίοδο, την Πρώιμη Εποχή του Χαλκού.

Από τη μελέτη των δοντιών προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

Α) Μετρικά δεδομένα: φαίνεται τα Θαρρούνια έχουν μικρότερη ευρωστία από τη Μάνικα, που ακολουθεί το γενικό πρότυπο της Νεολιθικής στην Ευρώπη. Υποθέτουμε ότι αυτή η διαφοροποίηση των Θαρρουνίων πρέπει να οφείλεται σε σημαντικό βαθμό στην επίδραση του φυσικού ορεινού περιβάλλοντος (διαφορο-ποιημένη και πτωχότερη διατροφή) και / ή σε μικρότερη σωματική διάπλαση (Sciulli, 1977).

Β) Στοματική υγιεινή: Είναι εκπληκτικό το γεγονός ότι ο πληθυσμός της Μάνικας παρουσιάζει πολύ χαμηλό ποσοστό τερηδόνας σε σχέση με τα Θαρρούνια (4,5 προς 10 %, αντίστοιχα). Όσον αφορά στη προ-θανάτια απώλεια δοντιών φαίνεται ότι οι νεολιθικοί κάτοικοι (Θαρρούνια) έχαναν περισσότερα δόντια (εξαγωγές), παρά στην ΠΕ Μάνικα. Σχετικά με τη φθορά της μασητικής επιφανείας των δοντιών, έχουμε μια ομοιόμορφη κατανομή. Όμως στα Θαρρούνια η μεγαλύτερη φθορά εμφανίζεται στους προγομφίους, ενώ στη Μάνικα είναι ομοιόμορφα κατανεμημένη (στα εμπρόσθια και οπίσθια δόντια). Η εμφάνιση φθοράς στα εμπρόσθια δόντια μπορεί να συνδεθεί με χρηστική λειτουργικότητα (ως εργαλείων). Είναι μια πιθανή ερμηνεία, αφού η Μάνικα είναι παραθαλάσσια θέση και η χρηστική λειτουργικότητα των δοντιών θα μπορούσε να είχε σχέση με τις αλιευτικές εργασίες (ράψιμο δικτύων κλπ.).

DENTAL ANTHROPOLOGY OF THE TWO PREHISTORIC POPULATIONS FROM THE EUBOEA ISLAND (ELLAS)

Petroutsa E., Belte E. & S.K. Manolis

Department of Human and Animal Physiology, School of Biology, National & Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens, Ellas

Although there is a plethora of human skeletal remains coming from the entire cultural phases of the Hellenic prehistory, the anthroplogical studies are few, while the dental studies are sparse.
In this paper we present the results of the dental examination of two prehistoric archaeological sites. The first is the cemetery of Tharrounia coming from the cave with the same name, and has been dated in the Late Neolithic period, while the second site, the Manika cemetery, which has been dated to the next cultural period, the Early Bronze Age (EBA).
The dental study revealed the following results:

A) Dental Metrics: it seems that the inhabitants of Tharrounia Cave are less in robusticity in comparison to the Manika people. The later have the same model of the European Neolithic in robustness. We suppose that the differentiation of Tharrounia Cave is significantly affected by the mountainous environment (adaptative responces) (various and poor dietary habits) and/or in the smaller physical appearance (sort stature) (Sciulli, 1977).

B) Oral hygiene: It is interesting that the Manika population presents vey low incidence of caries compared to Tharrounia inhabitants (4,5 vs 10 % respectively). As regards the ante-mortem tooth loss, seems that the Neolithic inhabitants of Tharrounia Cave, lost much more teeth that the EBA Manika. The incidence of tooth wear is canonical distributed. Nevertheless, in the case of Tharrounia Cave the premolars present the greater tooth wear, whereas in Manika Cemetery the tooth wear is normally distributed in the anterior and posterior teeth. The incidence of wear in the posterior teeth is the result of masticatory processes, but the incidenc of tooth wear in the anterior teeth could be connected with a paramasticatory use (Molnar, 1971). This is a possible interpretation, since Manika is a site by the sea, and the paramasticatory use of the teeth could be related to fishing (net stitching etc).

ΜΟΡΙΑΚΗ, ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΩΝ ΣΕ ΕΚΤΕΘΕΙΜΕΝΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ

Πιπεράκης Σ.Μ.[1], Μονογιούδης Ε.[2], Χανιωτάκης Γ.[1], Καρκάσελη Ε.[2], Σαρηκάκη Ε.[2]

[1]Εργαστήριο Επιδιορθωτικών Μηχανισμών DNA, Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, Αττική
[2]Κέντρο Υγείας Νέας Μάκρης, Αττική

Στη παρούσα μελέτη, η οποία αποτελεί τμήμα ενός γενικότερου προγράμματος χρηματοδοτούμενου από την Ευρωπαϊκή Ένωση με την συμμετοχή της Ελλάδος, της Ισπανίας, της Πολωνίας και της Ουγγαρίας, διερευνάται σε πανευρωπαϊκό επίπεδο το μέγεθος της επίδρασης των εντομοκτόνων σε διάφορους εκτεθειμένους πληθυσμούς. Οι επιπτώσεις αυτές μετρώνται σε χρωμοσωμικό επίπεδο αλλά και σε επίπεδο βλαβών του DNA.
Το εργαστήριο μας, το οποίο συντονίζει αυτή την έρευνα, μετρά τις βλάβες στο DNA των συμμετεχόντων πληθυσμών με την τεχνική του comet assay η οποία είναι μια ευαίσθητη και γρήγορη μέθοδος ανίχνευσης θραυσμάτων στην αλυσίδα του DNA. Οι θραύσεις αυτές αποκαλύπτονται μετά από ηλεκτροφόρηση του πυρηνικού DNA. Τα θραύσματα κατά την ηλεκτροφόρηση οδεύουν γρηγορότερα προς την άνοδο δίδοντας την εντύπωση «κομητών» οι οποίοι παρατηρούνται σε μικροσκόπιο φθορισμού μετά από χρώση με φθορίζουσα χρωστική. Στην συνέχεια, η εκτίμηση των εμφανιζομένων θραυσμάτων γίνεται είτε με την κατάταξη των κομητών σε πέντε διαφορετικές τάξεις (0,1,2,3,4) βάσει της έντασης φθορισμού της ουράς τους, είτε μετρώντας το μήκος της ουράς με ειδικό προσοφθάλμιο φακό ή τέλος πρόσφατα με σύστημα ανάλυσης εικόνας συνδεδεμένο με ηλεκτρονικό υπολογιστή που έχει κατάλληλο πρόγραμμα ανάλυσης.
Στη παρούσα εργασία αναφέρονται προκαταρτικά αποτελέσματα από εκτεθειμένους πληθυσμούς σε σύγκριση με αντίστοιχους μάρτυρες.
Οι παραπάνω πληθυσμοί επιλέγηκαν με τη χρήση λεπτομερούς ερωτηματολογίου το οποίο περιελάμβανε ερωτήσεις σχετικές με την υγεία, τις διατροφικές συνήθειες, τον τόπο διαμονής, την ηλικία, τις συνήθειες, την ενασχόληση σε θερμοκήπια με εντομοκτόνα κλπ. Σε αυτούς μετρήθηκαν : Α) Οι βλάβες στο DNA τους. Β) Η αντιοξειδωτική προστασία. Γ) Γ. Η επιδιορθωτική ικανότητα, και Δ) Η προστατευτική δράση αντιοξειδωτικών παραγόντων (βιταμίνης C)

MOLECULAR, EPIDEMIOLOGICAL STUDY ON THE EFFECTS OF PESTICIDES ON EXPOSED POPULATIONS

Piperakis S.M.[1], Monogiudis E.[2], Haniotakis G.[1], Karkaseli H.[2], Sarikaki E.[2]

[1]DNA Repair Laboratory, Institute of Biology, NCSR Demokritos, Attiki
[2]Health Center of N. Makri, Attiki

In the present study which is part of a European program financed by E.U. with the participation of Greece, Spain, Poland and Hungary the effects of pesticides in exposed populations is examined. These effects are measured in chromosomal as well as in DNA level. Our laboratory which coordinates this program studies the DNA damage of the participating populations with the comet assay technique which is a sensitive and rapid method for the detection of DNA breaks (1,2,3). These breaks migrate faster towards the anode giving thus the impression of "comets" which can be observed under a fluorescence microscope after staining with a fluorescent DNA binding stain. Evaluation of the induced breaks can be done either by visually scoring the comets according to 5 predefined categories (0,1,2,3,4) based on the fluorescence intensity of the "comet tail", by measuring the length of the tail with a use of a special eyepiece lens or lately using an image analysis system connected to a computer with a suitable program. In this study we present preliminary results from exposed populations in comparison to controls. With the use of a detailed questionnaire containing questions on health, lifestyle, diet, age, occupation in greenhouses etc. the suitable populations were selected. In these populations we measured :
A. DNA damage. B Antioxidant protection. C. DNA repair efficiency. D Protection by antioxidant agents (vitamin-C).

1. Visvardis E.E., Tassiou A.M. and Piperakis S.M. (1997) Study of DNA damage induction and repair capacity of fresh and cryopreserved lymphocytes exposed to H2O2 and γ-irradiation with the alkaline comet assay. Mutation Res. 383, 71-80.
2. Piperakis S.M., Visvardis E.E., Sagnou M. and Tassiou A.M. (1998) Effects of smoking and aging on oxidative DNA damage of humans lymphocytes. Carcinogenesis 19, 695-698.
3. Piperakis S.M., Visvardis E.E. and Tassiou A.M. (1999) Comet assay for nuclear DNA damage. Methods in Enzymology 300, 184-194.

CAST: ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΛΥΠΛΟΚΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΑΚΟΛΟΥΘΙΩΝ

Προμπονάς Β.Ι.[1], Τσόκα Σ.[2], Ουζούνης Χ.[2] και Σ.Ι. Χαμόδρακας[1]

[1]Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 84, Ελλάς
[2]The European Bioinformatics Institute, EMBL Outstation Wellcome Trust Genome Campus Cambridge, Cambridge CB10 1SD, UK

Στις μέρες μας, πρωτεϊνικές ακολουθίες προσδιορίζονται με αυξανόμενο ρυθμό και η πειραματική ανάλυση τους θεωρείται πρακτικά ανέφικτη. Υπολογιστικές 'Μέθοδοι Σύγκρισης', για τον χαρακτηρισμό της λειτουργίας, βασίζονται σε υπάρχουσες ομοιότητες προς πρωτεΐνες γνωστής λειτουργίας και στη θεμελιώδη αρχή ότι όμοιες ακολουθίες προέρχονται από ένα κοινό πρόγονο. Στις προφανείς περιπτώσεις υψηλής ομολογίας, γίνεται αξιόπιστη πρόγνωση. Στην αντίθετη περίπτωση οδηγούμαστε συχνά σε λανθασμένους χαρακτηρισμούς, κυρίως γιατί υπάρχουν περιοχές 'χαμηλής πολυπλοκότητας' κατά μήκος των ακολουθιών, όπου παρατηρείται ασυνήθιστα υψηλή εμφάνιση συγκεκριμένων αμινοξικών καταλοίπων. Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται μια απλή μέθοδος προσδιορισμού και φιλτραρίσματος τέτοιων περιοχών, μειώνοντας σημαντικά την πιθανότητα ανίχνευσης 'ψευδών ομοιοτήτων' στις αχανείς βάσεις δεδομένων πρωτεϊνικών ακολουθιών. Θεωρούμε πως ένα τμήμα μιας ακολουθίας παρουσιάζει χαμηλή πολυπλοκότητα, εφόσον εμφανίζει υψηλή ομολογία προς εκφυλισμένες υποθετικές ακολουθίες αποτελούμενες από ένα μόνο κατάλοιπο (ομοπολυμερή). Έλεγχος των 20 δυνατών περιπτώσεων (1 ανά κατάλοιπο) γίνεται με χρήση Mutation Matrix, ώστε να δίνεται ένας αριθμητικός δείκτης σε κάθε περιοχή. Αυτή με τον υψηλότερο φιλτράρεται, αντικαθιστώντας τα κατάλληλα κατάλοιπα με Χ, που είναι ουδέτερο σε αναζητήσεις ομολογιών. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται όσο ο δείκτης υπερβαίνει ένα προκαθορισμένο κατώφλι. Εφαρμογή της μεθόδου σε αρκετές πρωτεΐνες έδειξε πως με το φιλτράρισμα υπήρξε μεγαλύτερη επιτυχία σε αναζητήσεις ομολογίας. Ο αλγόριθμος CAST υλοποιήθηκε σε μια εφαρμογή για Η/Υ σε γλώσσα προγραμματισμού C και η χρήση του θα είναι σύντομα δυνατή μετά από αίτηση στους συγγραφείς.

CAST: A COMPUTATIONAL METHOD OF COMPLEXITY ANALYSIS IN PROTEIN SEQUENCES

Promponas V.J.[1], Tsoka S.[2], Ouzounis C.[2] & S.J. Hamodrakas[1]

[1]Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Biophysics, University of Athens, Athens 157 01, Greece
[2]The European Bioinformatics Institute, EMBL Outstation Wellcome Trust Genome Campus Cambridge, Cambridge CB10 1SD, UK

Nowadays, new protein sequences are being determined in an increasing rate, therefore experimental analysis for most of them should be considered as unfeasible. A functional assignment can be obtained '*In Silico*' by sequence comparison methods, based on existing similarities to proteins of known functions and the fundamental hypothesis that similar sequences result from a common origin. In the obvious cases of high homology, reliable predictions are achieved, while in cases of weaker similarity we are often mislead to erroneous functional characterization. A main reason for that is the occurrence of 'low-complexity' segments along sequences, where an unusual high presence of one or more residue types is observed. In this work we present a simple method to detect and filter the residues causing Composition Bias, reducing significantly the probability of false similarity 'hits' throughout vast sequence databases. Composition Biased regions are defined as segments highly similar to degenerate hypothetical sequences composed by a single amino acid type (homopolymers). Examination of all 20 possible cases (1 per residue type) is carried out utilizing a Mutation Matrix, to assign a score to each region. Then, the top-scoring segment is filtered (masked), by substitution of the proper amino acids with X-es, which are treated as neutral by sequence comparison methods. The procedure above is repeated as long as the top-score exceeds a predefined threshold. Application of this method in several protein sequences revealed that after masking there was higher success in similarity searches. The CAST algorithm has been implemented in a computer program written in C and will soon be available for use upon request from the authors.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΖΩΟΠΛΑΓΚΤΟΥ ΠΑΡΑΚΤΙΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Ράμφος Α.[1], Κουτσικόπουλος Κ.[1], Φραγκοπούλου Ν.[1], Μαχιάς Α.[2], Σωμαράκης Σ.[2], Σώρρα Β.[1] και Ι. Λυκάκης[1]

[1]Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας
[2]Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης (ΙΘΑΒΙΚ), Ηράκλειο, Κρήτη

Στα πλαίσια αλιευτικής και οικολογικής μελέτης του γαύρου, δείγματα μεσοζωοπλαγκτού συλλέχθηκαν με το πλαγκτονικό δίχτυ WP_2 το καλοκαίρι του 1998 από τις θαλάσσιες περιοχές του Πατραϊκού Κόλπου, του Κορινθιακού Κόλπου και του Ιονίου Πελάγους. Η μέση συνολική πυκνότητα του ζωοπλαγκτού στον Πατραϊκό ήταν 1163 άτ./m^3, στον Κορινθιακό 1320 άτ./m^3 και στο Ιόνιο παρουσιάστηκε ιδιαίτερα χαμηλή με 481άτ/m^3. Τα κωπήποδα ήταν η κυρίαρχη ομάδα με σχετικές πυκνότητες που κυμαίνονταν από 50% έως 90% με εξαίρεση το μεγαλύτερο μέρος του Κορινθιακού Κόλπου όπου επικράτησαν τα κλαδοκεραιωτά (*Penilia spp*) με σχετική πυκνότητα από 44% έως 70%. Αξιοσημείωτες είναι οι ομοιότητες ανάμεσα στις βιοκοινωνίες των κωπηπόδων του Κορινθιακού και του Ιονίου όπου επικράτησαν κυκλοποειδή κωπήποδα (*Oithona spp.*) με έντονη και την παρουσία των αρπακτικοειδών (*Oncaea spp.*), ενώ στον Πατραϊκό που βρίσκεται μεταξύ των περιοχών αυτών κυρίαρχα ήταν τα καλανοειδή κωπήποδα (*Paracalanus parvus*, *Clausocalanus spp.*, *Ctenocalanus vanus* και *Temora stylifera.*). Οι διαφορές αυτές δεν φαίνεται να βασίζονται σε σημαντική υδρολογική διαφοροποίηση και οφείλονται στα βασικά τοπογραφικά χαρακτηριστικά και στους μηχανισμούς εμπλουτισμού των περιοχών.

ZOOPLANKTON COMPARATIVE STUDY IN COASTAL AREAS OF CENTRAL GREECE

Ramfos A.[1], Koutsikopoulos C.[1], Fragopoulou N.[1], Machias A.[2], Somarakis S.[2], Sorra V.[1] & J. Likakis[1]

[1]University of Patras, Department of Biology
[2]Institute of Marine Biology Crete, Heraklion, Crete

During a study of the anchovy stock in western Greek waters mesozooplankton was collected with a WP_2 net in Korinthiakos Gulf, Patraikos Gulf and Ionian Sea. In Patraikos Gulf the mean density of total zooplankton was 1163 ind/m^3, in Korinthiakos 1320 ind/m^3 and in the Ionian Sea was significantly lower 481 ind/m^3. Copepods dominated (50% -85%) in the sampled area except from the central area of Korinthiakos Gulf, where cladocerans (*Penilia spp.*) had a high contribution in the total zooplankton (44%-70%). Similarity was observed between Korinthiakos Gulf and Ionian Sea copepod species composition. In both areas Cyclopoids (*Oithona spp.*) and Harpacticoids (*Oncaea spp.*) were the most abundant copepods. In Patraikos Gulf the abudant copepods were the Calanoids (*Paracalanus parvus*, *Clausocalanus spp.*, *Ctenocalanus vanus* and *Temora stylifera*). Zooplankton communities in Korinthiakos Gulf and Ionian Sea showed a pelagic character. In contrast, Patraikos Gulf, which is situated between these two areas, revealed a rather neritic zooplankton community. These differences are not likely to be supported by the hydrological structure and thus they could be resulted by the fundamental topographic characters and the enrichment mechanisms of these areas.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟ ΚΑΘΕΣΤΩΣ ΤΟΥ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (Dicentrarhus labrax) ΣΤΗ ΛΙΜΝΟΘΑΛΑΣΣΑ ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ-ΑΙΤΩΛΙΚΟΥ

Ρογδάκης Ι.[1] και Π. Κασπίρης[2]

[1]Ιχθυοκαλ/γητικό Κέντρο Αχελώου ΑΕ, Νεοχώρι Μεσολογγίου, 30001
[2]Εργ. Ζωολογίας, Τμ. Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται τα αποτελέσματα μελέτης της διατροφής του λαβρακιού (*D. labrax*) στη λιμνοθάλασσα Μεσολογγίου-Αιτωλικού, τόσο των ατόμων που αναπτύσσονται σε αυτήν, όσο και των νεαρών ιχθυδίων (γόνου) την εποχή της «εσόδευσης». Το λαβράκι είναι θηρευτής που βρίσκεται ψηλά στη τροφική αλυσίδα και ως εκ τούτου η διατροφή του εξαρτάται από την διαθεσιμότητα των θηραμάτων του, προσδίδοντας έτσι στη μελέτη της διατροφής του είδους ιδιαίτερη σημασία για την παραγωγική διαχείριση της λιμνοθάλασσας Μεσολογγίου-Αιτωλικού. Εξετάσθηκαν 464 στομάχια λαβρακιών από την λ/θ, στη διάρκεια ενός έτους τα οποία είχαν αλιευθεί με δίχτυα και είχαν μήκος από 80 έως 800mm. Ο μέσος συντελεστής κενού στομαχιού προσδιορίσθηκε σε 38.1%, με τις μεγαλύτερες τιμές την περίοδο αναπαραγωγής και τις μικρότερες την αρχή της άνοιξης. Ο βαθμός πληρότητας του στομαχιού βρέθηκε για το 70% του δείγματος πάνω από 2% τη θερινή περίοδο, ενώ τη χειμερινή περίοδο το 50% του δείγματος παρουσιάζει βαθμό πληρότητας κάτω από 1%. Τα πλέον προτιμούμενα θηράματα του λαβρακιού της λ/θ Μεσολογγίου-Αιτωλικού είναι τα καβούρια και οι γαρίδες Palaemon. Ακολουθούν τα ψάρια με επικρατέστερα τα κεφαλοειδή και τις αθερίνες. Το διατροφικό καθεστώς μεταβάλλεται με την κλάση μεγέθους από τα μικρότερου μεγέθους καρκινοειδή προς τα μεγαλύτερα και τα ψάρια, επιβεβαιώνοντας την αρχή, να προτιμάται το θήραμα που «ανταποκρίνεται» στο μέγεθος του θηρευτή σε σχέση με την διαθεσιμότητα του. Παράλληλα, την ίδια περίοδο, μελετήθηκε η διατροφή του γόνου από δείγμα 96 ιχθυδίων (μεγέθους 17-60 mm). Το δείγμα του γόνου αλιεύθηκε με δίχτυ παραλίας την περίοδο της εμφάνισής του στις ακτές, όταν επιδιώκεται η είσοδος του στη λ/θ (εσόδευση). Η τροφοληψία, την περίοδο αυτή της ζωής των ψαριών, χαρακτηρίζεται ως ιδιαίτερα έντονη. Ο συντελεστής διατροφής προσδιορίσθηκε από 0-15.4% με μέση τιμή 10.4%. Αναλύοντας την ένταση τροφοληψίας που εκφράζεται με τον συντελεστή κενού, ανά μήνα και ανά κλάση μεγέθους, διαπιστώνεται μείωση της με το μέγεθός των ατόμων και προς το τέλος της περιόδου της εποχιακής εμφάνισης του γόνου στις ακτές, πιθανόν λόγω δυσκολίας του οργανισμού να ικανοποιηθεί από τα διαθέσιμα θηράματα την εποχή αυτή στις ακτές, συνδέοντας έτσι την ένταση της τροφοληψίας με την είσοδο του γόνου στη λιμνοθάλασσα. Τα κυριάρχα θηράματα που συνθέτουν την διατροφή των ιχθυδίων βρέθηκαν ότι είναι κυρίως μικρά καρκινοειδή με την ακόλουθη σειρά συχνότητας (Fn>10%), Κωπήποδα>Αμφίποδα>Μυσίδες> προνύμφες δεκαπόδων>ναύπλιοι καρκινοειδών, ενώ αξιόλογη είναι η παρουσία των πολυχαίτων. Από τα θηράματα αυτά, η σειρά προτίμησης είναι κωπήποδα >πολύχαιτοι >αμφίποδα >ναύπλιοι καρκινοειδών >προνύμφες δεκαπόδων >μυσίδες. Αναλύοντας την σύνθεση του διατροφικού καθεστώτος του γόνου ανά μήνα και ανά κλάση μεγέθους, εντοπίζονται σαφείς διαφοροποιήσεις, που συνδέονται κυρίως με το μέγεθος των θηραμάτων σε σχέση με το μέγεθός των ιχθυδίων και την εποχή.

FOOD AND FEEDING OF SEA-BASS (Dicentrarhus labrax) FROM LAGOON OF MESSOLOGHI-ETOLICO.

Rogdakis Y.[1] and P. Kaspiris[2]

[1]Aquaculture Centre of Acheloos S.A., Neochori Messologhi 30001
[2]Zoological Laboratory, Dept. of Biology, University of Patras, 26500 Patras Greece

In this study are presented the results of the study concerning the nutrition of the *D. labrax* in the lagoon of Mesolonghi - Aitoliko, as much of the fish which grow in the lagoon, as of the young fish (fry), which are in a high position in the food chain and therefore their nutrition depends on the availability of prey, placing in that way, great importance on the productive management of the pre-mentioned lagoon. A namber of 464 *D. labrax* stomachs belonging to fish caught in the lagoon (with nets) during one year were examined and they measured from 80 to 800 mm. The mean coefficient of empty stomach was determined at 38.1% with the highest values at the reproduction period, and the lowest at the beginning of the spring. The degree of the stomach fullness was more than 2% for the 70% of the sample in the summer period, while in the winter period, 50% of the sample had a degree of fullness below 1%. The most preferred prey of the *D. labrax* of the lagoon were the crabs and the prawns Palaemon. After these followed the fish belonging to the Mugilidae and the fish *Atherina sp.* The nutritional regimen altered depending on the size of the fish, starting with the Crustacean having the smallest size, going on with those with bigger size and finally the biggest fish, assuring the principle of the prey preference, which responds to the size of the predator, according to its availability. In the same period was studied the fry nutrition in a sample of 96 fingerlings. The sample was caught with a shore net at the period of its appearance at the coasts,when they aim at entering the lagoon. The food intake, in this period, is considered to be intensive. The nutrition coefficient was determined from 0 - 15.4% with a mean value 10.4%. Analyzing the food intake, which is expressed as the emptiness coefficient per month and class of size, we notice a reduction as the size of the individuals increases and towards the end of the appearance season of fry at the coasts, probably because of a difficulty of the body to be satisfied with the available prey in this season at the coasts, linking in this way the food intake with the entrance of the fry in the lagoon. The dominant prey, which are comprised in fry nutrition are mainly small Crustaceans in the following order of frequency (Fn>10 %) : Copepods > Amphipods > Mysids > Decapod pronymphs > Crustacean nauplii, while considerable is the presence of the polychaets. From this prey the order of preference is :
Copepods> Polychaets> Amphipods> Crustacean nauplii> Decapods pronymphs> Mysids
Analyzing the synthesis of the nutritional regimen of the fry per month and per class of size, we can find clear differences, which are mainly connected to the size of the prey in respect to the size of the individuals and the season.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΙΔΗΡΟΥ ΣΤΗΝ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ *Chlamydia psittaci*

Ρουμπελάκη Μ., Καίσαρ Μ. και Ε. Βρετού

Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Pasteur

Τα χλαμύδια είναι παθογόνα ενδοκυτταρικά βακτήρια, με ένα μοναδικό βιολογικό κύκλο που περιλαμβάνει την διείσδυση των μολυσματικών Στοιχειωδών Σωματιδίων (ΣΣ) στο κύτταρο ξενιστή, την μεταβολή τους σε μη μολυσματικά Δικτυωτά Σωμάτια (ΔΣ) και την επαναμεταβολή των τελευταίων σε ΣΣ, μετά από πολλαπλασιασμό και διχοτόμηση. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η μελέτη της επίδρασης ιόντων σιδήρου στη μολυσματικότητα των χλαμυδίων αποβολής. Κατά την πειραματική διαδικασία, έγινε επιμόλυνση επιθηλιακών κυττάρων (HAK) και ινοβλαστών (McCoy) με *C. psittaci*. Η έλλειψη σιδήρου επιτεύχθηκε με την χρήση των χηλικών παραγόντων, desferoaxamine mesylate (Desferal), 1,2-dimethyl-3-hydroxypyridin-4-one (L1) και 1,2-diethyl-3-hydroxypyridin-4-one (CP94). Παράλληλα, έγινε χρήση αναστολέα της δράσης των χηλικών παραγόντων ($FeCl_3$) καθώς και μελέτη της δράσης του $FeCl_3$ στα χλαμύδια χωρίς την παρουσία χηλικού παράγοντα. Ακολούθησε μελέτη της μολυσματικότητας των *C. psittaci*, που είχαν αναπτυχθεί σε περιβάλλον με ανεπαρκή παροχή σιδήρου, με επανακαλλιέργειά τους. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε μετά από μονιμοποίηση, χρώση των εγκλείστων και φωτογράφηση των καλλιεργειών με τη βοήθεια του προγράμματος Η/Υ, *Image-Pro Plus*®. Τα αποτελέσματα έδειξαν, για πρώτη φορά, ότι η απουσία σιδήρου προκαλεί μείωση έως και καταστολή της μολυσματικότητάς των *C. psittaci*. Ενδεικτικά, ο CP94 προκάλεσε τη μεγαλύτερη καταστολή της χλαμυδιακής ανάπτυξης (99,3%), ακολούθησε ο L1 (98,3%) και τέλος ο Desferal (60,8%), σε συγκέντρωση 100μM. Η αυξημένη συγκέντρωση σιδήρου δεν φάνηκε να έχει τοξική δράση στο σύστημα. Αυξανόμενη συγκέντρωση χηλικών μετατόπιζε το μέγιστο της κατανομής των εγκλείστων προς μικρότερα μεγέθη. Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι θα ήταν δυνατή η καταστολή της χλαμυδιακής λοίμωξης *in vivo* με δέσμευση των ιόντων σιδήρου, στοχεύοντας την προστασία των ζώων από αυτούς τους παθογόνους μικροοργανισμούς.

THE EFFECT OF IRON ON THE INFECTIVITY OF *Chlamydia psittaci*

Roubelakis M., Kaisar M. & E. Vretou

Department of Biotechnology, Hellenic Pasteur Institute

Chlamydia are obligate intracellular bacterial pathogens, with a characteristic development cycle. The infectious Elementary Bodies (EB) attach to and enter the host cell. After this, the transformation of EB to noninfectious Reticulate Bodies (RB) takes place. RB divide by binary fission within vesicles, named inclusions and Chlamydia condense back to infectious EB. Methods for curing the animals are based on antibiotics or vaccines, but the results are not satisfactory and new methods are needed for this purpose. This study focuses on the effect of the iron on the infectivity of *C. psittaci* (ovine abortion strain) and on the examination of the iron-regulation of these bacteria. The experiments were done in two different cell lines, mouse fibroblasts (McCoy) and epithelial cells (HAK). Iron restriction was caused by using Desferal, 1,2-dimethyl-3-hydroxypyridin-4-one (L1) and 1,2-diethyl-3-hydroxypyridin-4-one (CP94). Parallel cultures included ferric chloride ($FeCl_3$) in the medium in the presence or absence of the chelating agents, as controls. The effect of the chelators on the infectivity of *Chlamydia psittaci* and their progeny was tested by subculturing the microorganisms in fresh McCoy cell monolayers and count the inclusions with a light microscope. In addition, photographs were taken and were analyzed by using the *Image-Pro Plus*®software. For the first time a reduction of the progeny *C. psittaci* infectivity, caused by iron limitation was observed. The chelating agents Desferal, L1 and CP94, at 100μM concentration, reduced the infectivity of *C. psittaci* progeny by 60,8%, 98,3% and 99,3% respectively. CP94 caused the biggest reduction of Chlamydial growth, followed by L1 and Desferal. In parallel, the increased concentration of iron was not toxic to the system. The quantitative analysis of the size and number of the inclusions, indicated that the presence of chelating agents shifted the distribution of the inclusions to smaller sizes. The results all together are encouraging for a possible application of the chelating agents *in vivo*, in order to protect animals from these pathogens.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΚΛΙΝΗ: Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΗΣ ΜΕΓΑΛΗΣ ΕΛΛΑΔΟΣ

Σαμόλη Ε., Ξυλάς Α. και Ι. Σούρδης

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 118 55

Στην εξελικτική βιολογία μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι μεταβολές των γονιδιακών συχνοτήτων στο χώρο. Τα κλινή είναι μια ειδική περίπτωση βαθμιαίας μεταβολής των γονιδιακών συχνοτήτων στο χώρο. Υπάρχουν πολλά είδη κλινών στην φύση όπου τόσο η αναγνώριση όσο και η ερμηνεία τους συνιστούν ένα μείζον πρόβλημα. Τα κλινή εμφανίζονται επίσης στους ανθρώπινους πληθυσμούς και έχουν πραγματοποιηθεί πολλαπλές προσπάθειες για την ερμηνεία και την μελέτη τους.
Στην Ιταλία υπάρχουν πολλές περιπτώσεις όπου οι γονιδιακές συχνότητες διαφέρουν σημαντικά στο βόρειο και νότιο τμήμα της χώρας. Ο Piazza ήταν ο πρώτος που παρουσίασε ένα κλινές από το νότο προς το βορρά της χερσονήσου αναλύοντας ένα μεγάλο αριθμό γενετικών τόπων, σαν πιθανή εξήγηση του οποίου πρότεινε ότι είναι ο ελληνικός αποικισμός της Σικελίας και της νοτίου Ιταλίας.(Μεγάλη Ελλάδα). Ωστόσο αυτή η εξήγηση παραμένει ένα αμφιλεγόμενο ζήτημα για τους επιστήμονες επειδή δεν γνωρίζουν πολλά για το μέγεθος τόσο του ιθαγενούς όσο και του προερχομένου από μετανάστευση πληθυσμού ,κατά την εποχή της εγκατάστασής του και δεν υπάρχουν αναλυτικά εργαλεία για την εξέταση της υπόθεσης της δημιουργίας και διατήρησης του κλινούς για τόσο μεγάλο χρονικό διάστημα.
Τελέσαμε πειράματα εξομοίωσης προκειμένου να εξετάσουμε την δημιουργία και την διατήρηση του κλινούς υπό διαφόρους παραμέτρους που περιελάμβαναν το αρχικό μέγεθος του πληθυσμού και το ρυθμό μετανάστευσής τους. Από την άλλη πλευρά ερευνήθηκαν φυλογενετικώς δείγματα από διάφορες τοποθεσίες της Ελλάδος και της Ιταλικής χερσονήσου.

CLINES: THE MAGNA GRAECIA CASE

Samoli E., Xylas A. & I. Sourdis

Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos, Arhens 118 55

In evolutionary biology of great interest are the spatial variations of gene frequency. Clines is a special form of gradual change of gene frequency in space. There are many types of clines in nature and both their identification and explanation is a major problem. Clines appear also in human populations and there have been several attempts for their explanation and study.

In Italy there are many cases where gene frequencies are significantly different in the south and north part of the country. Piazza was the first who demonstrated a cline from south to north of the peninsula by analyzing a large number of genetic loci. As a possible explanation he proposed that it is the Greek colonization of Sicily and south Italy (Magna Graecia).

However this explanation remains a controversial issue for the scientists because little is known about the size of the local and immigrant populations at the time of settlement and there are no analytical tools to test the hypothesis of the creation and maintenance of the cline for such a long period of time.

We performed simulation experiments to examine the creation and maintenance of the cline under various parameters concerning the initial population sizes and their migration rates. On the other hand we compared phylogeneticaly genetic samples from various locations of Greek and Italian peninsulas.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΑΡΧΑΙΟ DNA

Σαμόλη Ε. και Ι. Σούρδης

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 118 55

Πρόσφατες επιτυχείς προσπάθειες στην εξαγωγή αρχαίου DNA από μουσειακά είδη, από οστά και διατηρημένους ιστούς σε θέσεις ταφής ανθρώπων και από φυτικά δείγματα έχουν αυξήσει την προοπτική της ανάγνωσης ακολουθιών από εξαφανισμένα είδη όπου τα οργανικά υπολείμματα δεν έχουν ακόμη αντικατασταθεί Παρά το ότι αυτού του είδους το DNA είναι γενικώς υποβαθμισμένο σε μικρά κομμάτια και υπόκεινται σε χημικές αλλοιώσεις λόγω παρέλευσης μεγάλων χρονικών διαστημάτων έως την ανεύρεσή τους, όσο και από έντονες μικροβιακές προσβολές, οι αρχαίες ακολουθίες DNA τελικώς απομονώθηκαν με κλωνοποίηση ή μέσω της ενίσχυσής τους με την μέθοδο PCR .Σε αυτές τις περιπτώσεις οι παραγόμενες ακολουθίες μπορούν να συγκριθούν με τα είδη που έχουν εκλείψει για την εκτίμηση των φυλογενετικών σχέσεων.
Διερευνούμε τις τεχνικές προκειμένου να χρησιμοποιήσουμε τα αρχαία κομμάτια ώστε να βελτιώσουμε τις υπάρχουσες μεθόδους φυλογενετικής ανάλυσης καθώς και πιστοποίησης της γενετικής ταυτότητας των.

ANCIENT DNA

Samoli E. & I. Sourdis

Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos, Arhens 118 55

Until recently, the study of evolutionary genetics has relied largely on extrapolation of information from living organisms to reconstruct past history. The discovery that DNA can be recovered from the remains of extinct animals has provided a new source of primary evidence to add to the genetic information gained from extant species. Recent successes in extracting ancient DNA from museum skin specimens, from bones and preserved tissues in human burial sites and from plant specimens have raised the prospect of reading DNA sequences from extinct species where the organic remains have not been replaced yet. Although such DNA's are generally degraded to small fragments and are subject to the chemical decay and gross microbial contamination, ancient DNA sequences have been obtained by cloning or by PCR amplification .In these cases the derived sequences can be compared to extant species for estimation of phylogenetic affiliation.
We are investigating the techniques of using the ancient extracts in order to improve the existing methods of phylogenetic analysis and identification of samples.

ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ 10q23.3-q25.1 ΚΑΙ 10q26.3-qtel ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΕΥΘΥΝΟΝΤΑΙ ΓΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Σαραφίδου Θ.[1], Πασπαράκη Α.[1], Σαρρή Κ.[2], Κοκκινάκη Μ.[1], Καραδήμα Γ.[2], Γρηγοριάδου Μ.[2], Γυφτοδήμου Γ.[2], French L.[3], Petersen M.[2], Deloukas P.[3] και Ν.Κ. Μοσχονάς[1]

[1]Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης IMBB-FORTH, Ηράκλειο
[2]Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού, Τμήμα Γενετικής, Αθήνα
[3]The Sanger Center, Hinxton, U. K.

Η περιοχή 10q23.3-q25.1 του ανθρώπου, ενοχοποιείται για διάφορες μορφές καρκίνου, αναπτυξιακές ανωμαλίες και νευροεκφυλιστικά σύνδρομα. Σκοπός μας είναι η κατασκευή ενός πυκνού, υψηλής διάκρισης γονιδιωματικού χάρτη της παραπάνω χρωμοσωμικής περιοχής. Για την κατασκευή του χάρτη έχουν απομονωθεί περισσότεροι από 2000 γενωμικοί κλώνοι BAC, χρησιμοποιώντας ως ανιχνευτές περίπου 300 STSs της περιοχής. Βάσει του μέσου μήκους των ενθεμάτων των BACs (170kb) και του φυσικού μήκους (περίπου 20Mb) της περιοχής, υπολογίζονται 90 περίπου, επικαλυπτόμενοι κλώνοι/Mb και μέση υπερκάλυψη της περιοχής, κατά 15 φορές. Η γονιδιακή πυκνότητα εκτιμάται σε ένα γονίδιο/80-100kb. Με σύγκριση των προτύπων περιορισμού εφαρμόζοντας το υπολογιστικό πρόγραμμα FPC και βάσει του περιεχομένου των κλώνων σε STSs, έχουν ήδη κατασκευαστεί επιμέρους ομάδες αλληλοεπικαλυπτόμενων κλώνων (contigs) με διακριτική ικανότητα περίπου 3kb. Το υπό κατασκευή ενιαίο contig (~20Mb), θα αξιοποιηθεί για την πλήρη νουκλεοτιδική αλληλούχιση και θα συνεισφέρει στη μελέτη της χρωμοσωμικής οργάνωσης και ανάλυσης όλων των γονιδίων της περιοχής. Αντίστοιχα, για την χαρτογράφηση της περιοχής 10q26.3-qtel, έχουν απομονωθεί 350 BACs με 50 STSs ως ανιχνευτές. Η περιοχή αυτή διερευνάται για την παρουσία γονιδίου/ων υπεύθυνων για το φαινότυπο ψυχοκινητικής καθυστέρησης και σωματικής δυσμορφίας που παρουσιάζει βρέφος με καρυότυπο 46,XX,inv(9qh),10qs *de novo*. Η λεπτομερής γονοτύπηση της περιοχής έγινε με 21 μικροδορυφορικούς δείκτες σε δείγματα DNA της οικογένειας. Το *de novo* ελλειμματικό χρωμόσωμα προέρχεται από τον πατέρα, η χρωμοσωμική θραύση βρίσκεται κοντά στον δείκτη αναφοράς D10S217 (~549cR), και το αναδιαταγμένο τμήμα είναι > 3.5 Mb. Παράλληλα, ανιχνεύτηκε κυτταρογενετικά, μετατόπιση στην τελομερική περιοχή του 10q, ακροκεντρικού χρωμοσωμικού υλικού που μετέχει στην οργάνωση του πυρηνίσκου (δορυφοριοποιημένο χρωμόσωμα 10). Ο φαινότυπος μπορεί να οφείλεται στη μερική μονοσωμία του 10qtel, ή τριπλασιασμό της περιοχής των αντίστοιχων γονιδίων rRNA ή σε φαινόμενο γονιδιωματικής αποτύπωσης. Η μοριακή ανάλυση αυτής της ενδιαφέρουσας χρωμοσωμικής αναδιάταξης θα βοηθήσει στη λειτουργική διερεύνηση των γονιδίων της περιοχής 10qtel και ευρύτερα, στην κατανόηση της γονιδιωματικής της οργάνωσης.

GENOMIC ANALYSIS OF HUMAN CHROMOSOMAL REGIONS 10q23.3-q25.1 AND 10q26.3-qtel FOR THE IDENTIFICATION OF DISEASE-RELATED GENES

Sarafidou Th.[1], Pasparaki A.[1], Sarri C.[2], Kokkinaki M.[1], Karadima G.[2], Gregoriadou M.[2], Gyftodimou J.[2], French L.[3], Petersen M.[2], Deloukas P.[3], & N.K. Moschonas[1]

[1]Dept. of Biology, U. of Crete/IMBB-FORTH Heraklion
[2]Dept. of Genetics, Inst. of Child Health, Athens, GR.
[3]The Sanger Center, Hinxton, U.K.

Human chromosomal region 10q23.3-q25.1 is well-known to contain a significant number of disease-loci associated with various types of cancer, developmental abnormalities and neurological diseases. In order to facilitate the isolation of disease-related genes, a well-supported physical and expression map as well as the complete sequence of the region, is needed. For this purpose, a collection of more than 2000 BACs have been isolated, until now, by probing a genomic BAC library with more than 300 STSs mapped to 10q23.3-q25.1. Based on the average BAC insert size (~170 kb) and the physical length (~20Mb) of the region, we estimate a 15-fold coverage achieved already, and a density of about 90 BACs/Mb, resulting in a gene frequency of about one gene/80-100kb. We have constructed a number of high resolution BAC contigs by comparative fingerprinting using the powerful FPC software. The ultimate construction of a unified contig of the region, and the precise assignment of all available STSs, will lead to the determination of a sequence-ready set of overlapping clones and provide a framework for the functional analysis of biologically important genes. Similarly, for the 10q26.3-qtel region, 350 BACs have been isolated so far, using as probes, 50 STSs mapped therein. Our purpose is the localization of gene(s) responsible for a clinical phenotype associated with psychomotor retardation and dysmorphic features diagnosed in a child with karyotype 46,XX,inv(9qh),10qs *de novo*. Extensive genotyping in DNA samples of the family has been performed, using 21 microsatellite markers mapped to this region. The analysis suggested that the chromosomal deletion is of paternal origin, it covers a region of more than 3,5 Mb, with a chromosomal breakpoint adjacent to framework marker D10S217 (chrom. position: 549cR). Cytogenetic analysis revealed an acrocentric chromosome translocation at 10qtel, involving part of the nucleolus organizer region (satellited 10q). The phenotypic effects might be explained by partial monosomy or trisomy of the chromosomes involved in the translocation, a ribosomal gene position effect, or genomic imprinting. The exact molecular characterization of this rearrangement with the definition of the genes involved, will clarify the mechanisms of the chromosomal rearrangement and enable the genotype-phenotype correlation of the 10q subtelomeric region.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ Ca^{2+} ΣΤΗΝ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΤΩΝ ΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΩΝ ΤΗΣ ΙΝΟΣΙΤΟΛΗΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ α_1-ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΣΕ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΡΔΙΑΣ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ

Σερασκέρης Στ. και Α. Λάζου

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της εξωκυτταρικής ($[Ca^{2+}]_{εξ.}$) και της ενδοκυτταρικής ($[Ca^{2+}]_{εσ.}$) συγκέντρωσης Ca^{2+} στην υδρόλυση των φωσφολιπιδίων της ινοσιτόλης (PI) που προκαλείται ύστερα απο διέγερση των α_1-αδρενεργικών υποδοχέων, σε απομονωμένα μυοκύτταρα καρδιάς αρουραίου. Το ποσοστό υδρόλυσης των PI, μετά από διέγερση με αδρεναλίνη (100μM), αυξανόταν με την αύξηση της συγκέντρωσης του εξωκυτταρικού Ca^{2+} από 0-1mM (8.11± 0.6 φορές στο 1mM σε σχέση με το μάρτυρα). Σε πειράματα στα οποία τα μυοκύτταρα επωάζονταν αρχικά με BAPTA-AM (10μM) για 15', έτσι ώστε η $[Ca^{2+}]_{εσ}$ να παραμένει σταθερή ανεξάρτητα από την $[Ca^{2+}]_{εξ.}$, το πρότυπο της απόκρισης στην αδρενεργική διέγερση μεταβλήθηκε. Συγκεκριμένα η υδρόλυση των PI παρουσίασε αύξηση (5.44 ± 0.17 φορές) σε 1μM $[Ca^{2+}]_{εξ}$ παρέμεινε όμως στα ίδια επίπεδα στις μεγαλύτερες $[Ca^{2+}]_{εξ.}$(4.95 ± 0.51 φορές σε 1mM $[Ca^{2+}]_{εξ}$). Επίσης μελετήθηκε η επίδραση δισθενών κατιόντων (Co^{++}, Ni^{++}) στην υδρόλυση των PI ύστερα απο διέγερση με αδρεναλίνη (100 μM) σε $[Ca^{2+}]_{εξ}$ 1mM. Παρατηρήθηκε μείωση της υδρόλυσης των PI η οποία έφτασε το 53.75 % ± 12.62 και 54.25 % ± 13.15 για το Ni^{++} και το Co^{++} αντίστοιχα. Μείωση στην υδρόλυση των PI παρατηρήθηκε επίσης ύστερα από επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων νιφεδιπίνης, που είναι ανταγωνιστής των L-τύπου καναλιών Ca^2 (0.1 μM : 100 % -3.4 mM:26.67±5.25%). Αντίθετα επίδραση της ιονοφόρου ουσίας ιονομυκίνης (0.1 μM - 10 μM) προκάλεσε αύξηση της υδρόλυσης των PI (10μM : 78.95 % ± 15.05).

Συμπερασματικά, φαίνεται οτι η υδρόλυση των PI που προκαλείται από α_1- αδρενεργική διέγερση, επηρεάζεται από το Ca^{2+}, γεγονός που μπορεί να οφείλεται είτε στην άμεση επίδρασή του στους α_1-αδρενεργικούς υποδοχείς είτε στη μεταβολή της δραστικότητας της φωσφολιπάσης C.

THE ROLE OF Ca^{2+} IN PHOSPHOINOSITIDE HYDROLYSIS AFTER a_1-ADRENERGIC STIMULATION IN ISOLATED RAT CARDIAC MYOCYTES

Seraskeris S. & A. Lazou

Laboratory of Animal Physiology, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

In the present study we examined the effects of extra- and intracellular concentration of Ca^{2+} (hereafter mentioned as $[Ca^{2+}]_{ex}$ and $[Ca^{2+}]_{in}$ respectively) in PI hydrolysis caused by α_1-adrenergic stimulation, in isolated rat cardiac myocytes. The percentage of PI hydrolysis after stimulation with adrenaline (100 μM) increased as the concentration of $[Ca^{2+}]_{ex}$ raised from 0 to 1 mM (8.11±0.6 fold compared with control at 1mM).When the myocytes were incubated initially with BAPTA-AM (10 μM) for 15 min., in order to buffer $[Ca^{2+}]_{in}$, the pattern of response to adrenergic stimulation was altered.Specifically PI hydrolysis increased (5.44±0.17 fold) at 1 μM $[Ca^{2+}]_{ex}$ but remained at the same level at higher $[Ca^{2+}]_{ex}$ (4.95±0.51 fold at 1mM).We also examined the effect of bivalent cations (Ni^{2+} and Co^{2+}) on PI hydrolysis after stimulation with adrenaline (100 μM) at $[Ca^{2+}]_{ex}$ 1mM.Significant reduction of PI hydrolysis was observed that reached 53.75 % ± 12.62 and 54.25%±13.15 for Ni^{2+} and Co^{2+} respectively. Reduction in PI hydrolysis was also observed after treatment with different concentrations of nifedipin, an L-type calcium chanel antagonist (0.1 μM:100% - 3.4 mM:26.67 % ±5.25).In contrast, treatment with ionomycin (0.1 μM-10 μM), resulted in significant increase of PI hydrolysis (10 μM:78.95% ±15.05 compared with control).

In conclusion it appears that PI hydrolysis induced by α_1-adrenergic stimulation is affected by Ca^{2+} .This effect might be through direct action of Ca^{2+} on α_1-adrenergic receptors or through alteration of phospholipase C activity.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΠΡΟΤΥΠΑ ΕΠΟΧΙΑΚΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΩΝ ΚΑΙ ΣΚΛΗΡΟΦΥΛΛΙΑΣ ΣΤΗ ΔΑΦΝΗ (*Laurus nobilis*)

Σινάκου Ζ.Κ., Βώκου Δ.

Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας ΑΠΘ

Στόχος της εργασίας ήταν η μελέτη της χρονικής διακύμανσης της συγκέντρωσης δευτερογενών μεταβολιτών στα φύλλα του αρωματικού φυτού *Laurus nobilis* σε σχέση με την εκάστοτε επένδυση βιομάζας σ' αυτά. Η μελέτη έγινε σε 22 άτομα, ηλικίας 2-3 ετών, που φυτεύτηκαν τον Ιούνιο 1996, στο Αγρόκτημα Δασολογίας ΑΠΘ (περιοχή αεροδρομίου Θεσσαλονίκης). Οι δειγματοληψίες έγιναν από Σεπτέμβριο 1996 έως Ιανουάριο 1998 με στόχο την εκτίμηση τόσο της συγκέντρωσης των αιθερίων ελαίων και των φαινολικών ουσιών όσο και του δείκτη σκληροφυλλίας (SLM). Η απόδοση σε αιθέρια έλαια προσδιορίστηκε με απόσταξη σε συσκευή Clevenger και εκφράζεται ως ml ανά 100 g ξηρού βάρους. Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και εκφράζεται ως γραμμοϊσοδύναμα ταννικού οξέος α) ανά μονάδα βάρους, ΤΑΕ g^{-1} ξηρού βάρους και β) ανά μονάδα επιφάνειας φυτικού ιστού, ΤΑΕ cm^{-2}. Ο SLM εκφράζεται ως βάρος ανά μονάδα επιφάνειας ξηρού ιστού, g dm^{-2}. Τέλος, εξετάστηκαν οι μορφολογικές διαφορές των φύλλων των μελετούμενων ατόμων. Τα 22 άτομα παρουσιάζουν εντυπωσιακά όμοιο πρότυπο χρονικής μεταβολής τόσο της συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών όσο και του SLM ενώ διαφοροποιούνται ενμέρει ως προς τα αιθέρια έλαια. Χαρακτηριστική για τις φαινολικές ουσίες είναι η κορύφωση που εμφανίζεται το Μάρτιο και η ακόλουθη πτώση με ελάχιστα το Μάϊο. Αντίστροφα, ο SLM μεγιστοποιείται το Μάϊο, μειώνεται απότομα τον Ιούνιο και σταθεροποιείται σε ενδιάμεσες τιμές σε όλο το χειμώνα. Τα περισσότερα άτομα εμφανίζουν υψηλότερες τιμές αιθερίων ελαίων το καλοκαίρι. Με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων τους, τα 22 άτομα διακρίνονται σε τρεις ομάδες. Δεν προκύπτει ίδια διάκριση όταν λαμβάνονται υπόψη τα φυτοχημικά γνωρίσματα. Οι έντονες μεταβολές του SLM και της συγκέντρωσης φαινολικών εμφανίζονται πριν και κατά την έκπτυξη των νέων φύλλων και την ανθοφορία και πιθανόν συνδέονται με τα φαινόμενα αυτά - γεγονός που βρίσκεται υπό διερεύνηση.

PATTERNS OF SEASONAL CHANGE OF SECONDARY METABOLITES AND SCLEROPHYLLY IN SWEET BAY LEAVES (*Laurus nobilis*)

Sinakou Z.K., Vokou D.

Department of Ecology, School of Biology AUTH

The aim of this work was the study of the temporal variation of the concentration of secondary metabolites in sweet bay leaves and of the parallel biomass allocation in them. For this study, 22 individuals were sampled and analyzed separately. These individuals, aged 2-3 years, were planted in June 1996, in the Nursery of the Silviculture Laboratory of AUTH (close to Thessaloniki airport). Sampling took place from September 1996 to January 1998; essential oil content, total phenolics content and specific leaf mass (SLM) were estimated. Essential oil yield was estimated after distillation in a Clevenger apparatus and is expressed in ml g^{-1} of dry weight. Total phenolics were estimated by use of the Folin-Ciocalteu method and their content is expressed in tannic acid equivalents a) per gram of leaf dry weight (TAE g^{-1}) and b) per unit of leaf area (TAE cm^{-2}). SLM, defined as weight per unit area is expressed in g dm^{-2}. The morphological differences of the individuals and of their leaves were also examined. Noticeable is the remarkable similarity in both the pattern of temporal change of the leaf phenolic content and of SLM in each one of the 22 individuals studied. They differ regarding their essential oil content. Nevertheless, most individuals present high values in summer. Phenolics content, high in March, decreases to minima in May, whereas SLM maximizes in May, decreases abruptly in June and stabilizes in intermediate values in winter. On the basis of their morphological characters, the 22 individuals can be divided into three groups; morphology based groups are not chemically homogeneous. Abrupt changes of SLM and total phenolics appear before and during emergence of new leaves and flowering and are possibly related to these processes – which is under current investigation.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Coniothyrium minitans*

Σκόπα Χρ. και Χρ. Χριστιάς

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 26500 Ρίο, Πάτρα

Ο μύκητας *Coniothyrium minitans* είναι γνωστό μυκοπαθογόνο, το οποίο έχει συνδεθεί άμεσα με τον παρασιτισμό των σκληρωτίων και κατ' επέκταση τον έλεγχο της ασθένειας που προκαλεί το φυτοπαθογόνο *Sclerotinia sclerotiorum*. Περιλαμ-βάνει πάνω από 82 διαφορετικά στελέχη, έχει καταγραφεί σε 29 χώρες και σε όλες τις ηπείρους, εκτός της Νοτίου Αμερικής. Η απομόνωση των περισσοτέρων στελεχών έχει γίνει από σκληρώτια των *S. sclerotiorum* και *S. trifoliorum*. Ο μύκητας *S. sclero-tiorum* είναι διαδεδομένο παθογόνο των λαχανικών, το οποίο προκαλεί εκτεταμένες καταστροφές κάθε χρόνο σε παγκόσμια κλίμακα. Για την απομόνωση παθογόνων των σκληρωτίων του μύκητα *S. sclerotiorum* χρησιμοποιήθηκαν δείγματα χώματος από διάφορες περιοχές της Ελλάδας. Σε δείγματα που προέρχονταν από την περιοχή της Παλαιάς Επιδαύρου (ν. Αργολίδας) και χρησιμοποιώντας ως δόλωμα σκληρώτια του φυτοπαθογόνου, απομονώθηκε ένας αριθμός στελεχών παρασιτικών ως προς αυτά. Μεταξύ αυτών εντοπίστηκαν δύο ιδιαιτέρως αποτελεσματικά, όσον αφορά τον παρασιτισμό των σκληρωτίων, στελέχη, τα οποία ακολούθως προσδιορίστηκε ότι ανήκουν στο είδος *C. minitans*. Τα στελέχη αυτά χαρακτηρίζονται από ταχύ ρυθμό μυκηλιακής αύξησης (1,566 και 1,539 cm/d). Αναπτυσσόμενα σε PDA σχηματίζουν αποικίες σκούρου καφέ χρώματος με επιφανειακά, αλλά και βυθισμένα στο υπόστρωμα, πυκνίδια, τα οποία βρίσκονται διάσπαρτα σε όλη την έκταση της αποικίας. Τα αγενή σπόρια που σχηματίζονται εντός των πυκνιδίων, τα πυκνιδιοσπόρια έχουν μεγέθη που ποικίλουν ευρέως μεταξύ τους. Συγκρινόμενα με τα πυκνιδιοσπόρια των ήδη γνωστών στελεχών του είδους φαίνεται ότι είναι τα μεγαλύτερα που έχουν παρατηρηθεί . Το μήκος τους είναι 6,23 και 8,00 μm αντίστοιχα, ενώ το πλάτος τους 5,67 και 7,42 μm. Κατά τον παρασιτισμό των σκληρωτίων του μύκητα *S. sclerotiorum* τα στελέχη αυτά είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά προκαλώντας εκτεταμένες βλάβες και εμποδίζοντας την βλάστησή τους. Σύντομα στην επιφάνεια των σκληρωτίων παρατηρούνται πυκνίδια, ενώ ακολουθεί ο παρασιτισμός του εσωτερικού των σκληρωτίων που έχει ως αποτέλεσμα τη δραστική αλλαγή του σχήματος, του μεγέθους και της εξωτερικής επιφάνειάς τους. Από την μελέτη των φυσικών χαρακτηριστικών και της συμπεριφοράς των απομονωθέντων στελεχών έναντι του ξενιστή τους (*S. sclerotiorum*) προκύπτει ότι πρόκειται για νέα, μη καταγεγραμμένα στελέχη, τα οποία αν και ομοιάζουν ιδιαίτερα, παράμετροι όπως το μέγεθος των πυκνιδιοσπορίων και η ταχύτητα εξέλιξης του παρασιτισμού, υποδηλώνουν ότι πιθανά είναι διαφορετικά μεταξύ τους. Αυτή είναι η πρώτη φορά που εντοπίζεται στην Ελλάδα το μυκοπαθογόνο *Coniothyrium minitans*.

ISOLATION OF THE HYPERPATHOGEN FUNGUS *Coniothyrium minitans*

Skopa Chr. & Chr. Christias

University of Patras, Department of Biology, 26500, Rion, Patras, Greece

The fungus *Coniothyrium minitans* is a well known mycopathogen which has been directly related with sclerotium parasitism and therefore control of the disease caused by the plant pathogen *Sclerotinia sclero-tiorum*. It consists of more than 82 isolates and has been recorded in 29 countries on all continents, except South America. Most isolates were re-covered from sclerotia of S. *sclerotiorum* and *S. trifoliorum*. The fungus *Sclerotinia sclerotiorum* is a widespread pathogen of vegetables causing serious losses in crop production every year universally. For the isolation of pathogens of *S. sclerotiorum* sclerotia, soil samples have been used from several regions of Greece. In samples from Palaea Epidaurus (Argolis) and using sclerotia of the plant pathogen as baits, a number of isolates were obtained. Among them two especially aggressive fungi, with regard to sclerotium parasitism, were isolated and identified as *Coniothyrium minitans*. These *C. minitans* isolates exhibited high growth rates measured as linear hyphal extension (1,566 and 1,539 cm/d). In PDA cultures they formed dark brown colonies with superficial and immersed pycnidia, which are dispersed all over the colony. The pycni-diospores, asexual spores which are formed inside pycnidia, have sizes which vary widely. Compared to known isolates, pycnidiospores seemed to be the biggest ever observed, with length 6,23 and 8,00 μm and width 5,67 and 7,42 μm respectively. Both isolates were particularly effective in parasitising *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia and caused extensive damage and prevented germination. It took only a short time for pycnidia to be observed on sclerotia surface while the ensuing parasitism of the interior resulted in drastic changes of shape, size and external surface. From the study of physical characteristics and behavior of the isolates towards their host (*S. sclerotiorum*) it appears that they are new, as yet unrecorded isolates. In spite the resemblance between them, parameters like pycnidiospore size and virulence, indicate that they are possibly different. This is the first time that *Coniothyrium minitans* is recorded from Greece.

ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΠΟΛΥΠΛΑΚΟΦΟΡΩΝ ΜΑΛΑΚΙΩΝ (POLY-PLACO-PHORA, MOLLUSCA) ΣΕ ΑΠΟΙΚΙΕΣ ΤΗΣ ΓΟΡΓΟΝΙΑΣ *Eunicella singularis* (ESPER, 1794) (GORGONACEA, ANTHOZOA)

Σκούφας Γ.[1], Καραχλέ Π.[2] και M. Poulicek[1]

[1]Laboratoire d'Ecologie Animale et d'Ecotoxicologie, Universitι Liege, Institut de Zoologie, 22 quai Van Beneden, B-4020 Liege, Belgique
[2]Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 540 06 Θεσσαλονίκη

Άμεσο αποτέλεσμα της νέκρωσης των αποικιών των γοργονιών αποτελεί η αρχή της διαδοχής και η εγκατάσταση των επιβιοτών επάνω σε αυτές. Αν και έχουν παρατηρηθεί πολλά είδη γοργονιών καλυμμένα με επιβιότες, εντούτοις είναι σπάνιες οι εργασίες οι οποίες αφορούν στη μελέτη αυτού του οικολογικού φαινομένου. Στα πλαίσια της παρούσας έρευνας συλλέχθηκαν με αυτόνομη κατάδυση, τυχαία, 60 αποικίες της γοργονίας *Eunicella singularis* με εποχικές δειγματοληψίες κατά τη διάρκεια ενός έτους (15 αποικίες / εποχή) στον κόλπο της Καβάλας. Πραγματοποιήθηκε διαλογή των επιζώων και των επιφύτων, ενώ παράλληλα μετρήθηκαν και τα βιομετρικά χαρακτηριστικά των αποικιών (ολικό μήκος, ολική επιφάνεια, ολικό ξηρό βάρος των ζωντανών και των νεκρών κλώνων της αποικίας). Τα πολυπλακοφόρα τα οποία αναγνωρίστηκαν ανήκουν στα είδη: *Lepidochitona monterosatoi* Kaas & Van Belle, 1981 (1 νεαρό άτομο στα δείγματα του φθινοπώρου), *Chiton olivaceus* Spengler, 1797 (1 νεαρό άτομο στα δείγματα του χειμώνα) and *Acantochitona fascicularis* (Risso, 1826) (1 νεαρό άτομο στα δείγματα της άνοιξης). Η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη αναφορά παρουσίας της συγκεκριμένης κλάσης Μαλακίων σε αποικίες γοργονιών. Από τις άλλες κλάσεις των Μαλακίων για τις οποίες υπάρχουν αναφορές, τα Δίθυρα και τα Γαστερόποδα αποτελούν δύο από τις κυρίαρχες ομάδες επιβιοτών. Από τις παρατηρήσεις της έρευνας αυτής δε διαφαίνεται άμεση τροφική σχέση μεταξύ των αποικιών της γοργονίας και των Πολυπλακοφόρων. Οι παραπάνω παρατηρήσεις συγκλίνουν στην άποψη ότι τα μικροενδιαιτήματα που σχηματίζει η επιχλωρίδα και η επιπανίδα των γοργονιών προσφέρουν καταφύγιο και υπόστρωμα εγκατάστασης για μια μεγάλη ποικιλία επιβιοτών μεταξύ των οποίων και τα Πολυπλακοφόρα.

PRESENCE OF THE POLYPLACOPHORA MOLLUSCA ON GORGONIAN COLONIES OF *Eunicella singularis* (ESPER, 1794) (GORGONACEA, ANTHOZOA)

Skoufas G.[1], Karachle P.[2] & M. Poulicek[1]

[1]Laboratoire d'Ecologie Animale et d'Ecotoxicologie, Universitι Liege, Institut de Zoologie, 22 quai Van Beneden, B-4020 Liege, Belgique
[2]Department of Zoology, Faculty of Biology, Aristotle University, 540 06 Thessaloniki, Greece

The partial necrosis of gorgonian colonies leads to settlement of various kinds of epibionts that succeed in a determined sequence. Even if many gorgonian species have long been observed to be covered by epibionts, studies concerning this ecological phenomenon are scarce. The framework of this study includes seasonal random sampling in Kavala bay 60 colonies of the gorgonian *Eunicella singularis* over a one-year period (15 colonies each season). Sorting of the epiflora and epifauna was carried out, while biometric characters of the colonies were measured (total branch length,. total colony surface area and total dry weight of the denuded and not denuded branchs). Polyplacophora of the following species that were identified: *Lepidochitona monterosatoi* Kaas & Van Belle, 1981 (1 juvenile from autumn samples), *Chiton olivaceus* Spengler, 1797 (1 juvenile from winter samples) and *Acantochitona fascicularis* (Risso, 1826) (1 juvenile from spring samples). The presence of this class of Mollusca is here reported for the first time on gorgonian colonies whereas Bivalvia and Gastropoda are among the dominant groups of epibionts, and very frequently observed. Observations do not imply direct trophic interactions between the colonies and Polyplacaphora but only indicates that the microenvironment constituted by epifaunal and epifloral cover probably offer shelter and substrate for a great variety of other epibionts, such as Polyplacophora.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ

Μπουγιούκος Κ. & Ι. Σούρδης

Εργαστήριο Γενετικής, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 118 55

Τουλάχιστον από την εποχή του Δαρβίνου το θέμα της συνεργασίας προβληματίζει τους βιολόγους. Κατά την τελευταία δεκαετία το πλήθος της θεωρητικής βιβλιογραφίας (στην Βιολογία, Ανθρωπολογία, Κοινωνιολογία, οικονομικά, Τεχνητή Νοημοσύνη, Θεωρία Παιγνίων κ.λπ.) έχει αυξηθεί σημαντικά. Παρ' όλα αυτά, η γνώσεις μας γύρω από τις διάφορες πλευρές της εξέλιξης της συνεργασίας, είναι σε τέτοιο στοιχειώδες επίπεδο που δεν μας επιτρέπει να εφαρμόσουμε συνεργατικές διαδικασίες σε εφαρμογές της Εξελικτικής Υπολογιστικής.

Σε πειράματα Εξελικτικής Υπολογιστικής διερευνάται η απόδοση μερικών γενετικών αλγορίθμων κάτω από διάφορες υποθέσεις συνεργατικής συμπεριφοράς. Οι κατηγορίες της συνεργασίας που διερευνώνται είναι η αμοιβαιότητα, η επιλογή ομάδας, η επιλογή συγγενών και ο αμοιβαίος αλτρουισμός.

Ως βασικό πρότυπο για την εξέλιξη της συνεργασίας στα πειράματα αυτά χρησιμοποιείται το Επαναλαμβανόμενο Δίλημμα του Φυλακισμένου με διάφορους τύπους στρατηγικών συμπεριφοράς.

EVOLUTION OF COOPERATION AND EVOLUTIONARY COMPUTATION

Bouyioukos K. & J. Sourdis

Laboratory of Genetics, Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos, Arhens 118 55

The problem of cooperation has intrigued biologists since at least the times of Darwin. In the last decade, the amount of theoretical literature (Biology, Anthropology, Sociology, Economics, Artificial Intelligent, Game theory etc.) on various aspects of the evolution of cooperation increased considerably. Nevertheless, our understanding of the evolution of cooperation is at such an elementary stage as to implement cooperative processes in applications of Evolutionary Computation.

Evolutionary computational experiments are conducted to investigate the performance of a series of genetic algorithms under various hypotheses of cooperative behavior. The investigated categories of cooperation are mutualism, group selection, kin selection and reciprocal altruism.

In these experiments, the Iterated Prisoner's Dilemma is widely used as a standard model for the evolution of cooperation. Pure, probabilistic and mixed strategies are also used with stochastic effects included in the models.

Ο ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ *a* ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΝΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΙΕΣΗ ΣΠΑΡΓΗΣ ΤΩΝ ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Σταματάκης Κ., Λαδάς Ν.Π., Αλυγιζάκη-Ζορμπά Αικ., Παπαγεωργίου Γ.Χ.

Ινστιτούτο Βιολογίας Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. Δημόκριτος, Αγία Παρασκευή 15310, Αθήνα.

Ο φθορισμός της χλωροφύλλης *a* (Chl *a*) ανταποκρίνεται ποσοτικά στην αύξηση του κυτταρικού όγκου και της κυτταρικής σπαργής κατά την είσοδο NaCl σε κύτταρα κυανοβακτηρίων (*Synechococcus* sp. PCC 7942). Τα κύτταρα εισάγουν Na^+ και Cl^- με παθητική συμμεταφορά και εξάγουν ενεργητικά Na^+ , με αντιμεταφορείς Na^+ /H^+ της κυτταρικής μεμβράνης (ΚΜ). Η εισαγωγή του NaCl προκαλεί αύξηση της οσμωτικότητας και της πιέσεως σπαργής των κυττάρων. Σύμφωνα με Πίνακα 1, συνθήκες οι οποίες, α) μειώνουν το ATP στο κύτταρο (έλλειψη φωτός), β) αδρανοποιούν την δράση της ATP-ασης (βαναδικό-Na) ή γ) αποσβένουν το ΔpH+Δψ στις δύο πλευρές της ΚΜ, παρεμποδίζουν την έξοδο Na^+ και αυξάνουν την πίεση σπαργής.

(1). Papageorgiou GC and Alygizaki-Zorba A, Biochim Biophys Acta (1997) 1335: 1-4.
(2). Papageorgiou GC, Alygizaki-Zorba A, Ladas N and Murata N. Physiol Plantarum (1998) 103: 215-224.

Πίνακας 1. Πίεση σπαργής κυττάρων του *Synechococcus* sp. PCC 7942 σε διάφορες συνθήκες.

Συνθήκες/ Προσθήκες	Εγκλιματισμός	NaCl, M	Πίεση Σπαργής[1],
___	Φώς	0.0	0.198 Osm kg^{-1}
___	Σκότος	0.4	0.248 Osm kg^{-1}
___	Φώς	0.4	0.226 Osm kg^{-1}
Έλλειψη φωτός[2]	Σκότος	0.4	0.266 Osm kg^{-1}
CCCP, 20 μM	Σκότος	0.4	0.284 Osm kg^{-1}
Na-Vanadate, 1μM	Σκότος	0.4	0.293 Osm kg^{-1}
NH_4Cl	Σκότος	0.4	0.306 Osm kg^{-1}

[1] Οι πιέσεις σπαργής των κυττάρων μετρήθηκαν φθορισμομετρικά από την ελάττωση του φθορισμού της Chl *a*, που παρατηρείται όταν κυανοβακτήρια αιωρηθούν σε υπερ-οσμωτικό μέσο (σορβιτόλη) βλ. (1). Η ανταπόκριση του φθορισμού της Chl *a* στην εξωτερική οσμωτικότητα μελετήθηκε για κύτταρα που εγκλιματίστηκαν στο φώς, ή γιά κύτταρα πού διογκώθηκαν μετά την προσθήκη 0.4 M NaCl. [2] Κύτταρα αναπτύχθηκαν σε συνθήκες έλλειψης φωτός (16 ώρες πρίν την συλλογή τους).

NaCl/H_2O FLUXES IN CYANOBACTERIA ARE SENSED BY CHLOROPHYLL *a* FLUORESCENCE.

Stamatakis K., Ladas N.P., Alygizaki-Zorba A., Papageorgiou G.C.

Institute of Biology NSRC Demokritos Ag. Paraskevi 15310, Athens, Greece

Chlorophyll (Chl) *a* fluorescence responds to NaCl-induced volume changes of *Synechococcus* sp. PCC7942 cells quantitatively (1,2). Cells import Na^+ and Cl^- passively and export Na^+ actively, in exchange for protons against ΔpH *via* Na^+/H^+ antiporters located in plasma membranes (PM). NaCl concentration upshocks induce increases in cytoplasmic osmolality and cell turgor threshold. According to Table 1, treatments that depress cytoplasmic ATP (light starvation), block ATPase activity (Na-vanadate), or collapse ΔpH + Δψ across the PM (CCCP, NH_4Cl) suppress Na^+ efflux and increase the cell turgor threshold.

Table 1. Turgor Thresholds of *Synechococcus* sp. PCC 7942 after Various Treatments

Treatment	Acclimation	NaCl, M	Turgor threshold[1]
None	Light	0.0	0.198 Osm kg^{-1}
None	Dark	0.4	0.248 Osm kg^{-1}
None	Light	0.4	0.226 Osm kg^{-1}
None (light-starved)[2]	Dark	0.4	0.266 Osm kg^{-1}
CCCP, 20 μM	Dark	0.4	0.284 Osm kg^{-1}
Na-vanadate, 1μM	Dark	0.4	0.293 Osm kg^{-1}
NH_4Cl	Dark	0.4	0.306 Osm kg^{-1}

[1]Turgor thresholds were measured fluorimetrically by suppressing Chl *a* fluorescence of *Synechococus* sp. PCC 7942 cells with the impermeable osmoticum sorbitol and plotting the fraction of suppressed fluorescence against the inverse osmolality of the suspension medium (Boyle-van t' Hoff plot). To make Chl *a* fluorescence responsive to the external osmolality, the cells were either light-acclimated, or they were swollen by exposing them to 0.4 M NaCl. [2] Cells that had been deprived of light for 16 h before harvesting.

1. Papageorgiou GC and Alygizaki-Zorba A, Biochim Biophys Acta (1997) 1335: 1-4.
2. Papageorgiou GC, Alygizaki-Zorba A, Ladas N and Murata N. Physiol Plantarum (1998) 103: 215-224.

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΑΣΙΜΩΝ ΑΛΙΕΥΤΙΚΩΝ ΕΡΓΑΛΕΙΩΝ: ΠΟΣΟΣΤΙΑΙΑ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΑΠΟ ΠΑΡΑΓΑΔΙΑ ΚΑΙ ΔΙΧΤΥΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Στεργίου Κ.Ι.[1], Μουτόπουλος Δ.Κ.[1], Οικονομίδης Π.Σ.[1], Erzini K.[2] και P.G. Lino[2]
[1] Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Ζωολογίας Α.Π.Θ., Θ. 134, 54006 Θεσσαλονίκη
[2]Universidade do Algarve, Unidae de Ciencias e Tecnologias dos Recursos Aquaticos (UCTRA), Campus de Cambelas, 8000 Faro, Portugal

Σκοπός της μελέτης ήταν να συγκρίνει και να αξιολογήσει την ποσοστιαία σύνθεση σε είδη που αλιεύθηκαν με απλά δίχτυα και παραγάδια την περίοδο Σεπτέμβριος 1997-Σεπτέμβριος 1998 στις Κυκλάδες. Πραγματοποιήθηκαν 44 δειγματοληψίες με απλά δίχτυα (μέγεθος ματιού: 22, 24, 26 και 28mm) και παραγάδια (μέγεθος αγκιστριού: 11, 12, 13 και 15). Χρησιμοποιήθηκαν 1000m διχτύων από κάθε μέγεθος ματιού και 250 αγκίστρια από κάθε διαφορετικό μέγεθος παραγαδιού. Οι δειγματοληψίες και με τα δυο αλιευτικά εργαλεία γίνονταν την ίδια ημέρα και στην ίδια περιοχή, σε βάθη που κυμαίνονταν από 4-90m. Η πόντιση των αλιευτικών εργαλείων γίνονταν μία με τρεις ώρες πριν την ανατολή ή τη δύση του ηλίου, ενώ η ανάδυσή τους μία με δύο ώρες μετά την ανατολή ή τη δύση του ηλίου. Τα στοιχεία (αριθμός ατόμων συνολικού αλιεύματος που πιάστηκε ανά αλιευτικό εργαλείο) μετασχηματίστηκαν χρησιμοποιώντας τη διπλή ρίζα. Με βάση το συντελεστή Bray-Curtis κατασκευάστηκε ο πίνακας ομοιότητας μεταξύ όλων των δυνατών ομάδων δειγμάτων και στη συνέχεια έγινε ομαδοποίησή τους με την ανάλυση ταξινόμησης και τη διαβάθμιση σε πολλές διαστάσεις. Αλιεύτηκαν 4745 άτομα που ταξινομήθηκαν σε 72 είδη ψαριών, 3 είδη καρκινοειδών και 4 είδη κεφαλοπόδων. Από τα 79 είδη, 37 πιάστηκαν και με τα δύο εργαλεία, 33 μόνο με δίχτυα και 9 μόνο με παραγάδια. Τα δίχτυα αλίευσαν 70 είδη (3669 άτομα), 11 από τα οποία αντιπροσώπευαν το 77% του αλιεύματος των διχτυών. Τα παραγάδια αλίευσαν 46 είδη (1076 άτομα) από τα οποία 13 αντιπροσώπευαν το 89% του αλιεύματος των παραγαδιών. Από τα αποτελέσματα της εφαρμογής των δύο παραπάνω πολυμεταβλητών αναλύσεων προκύπτει ένας σαφής διαχωρισμός των δύο αλιευτικών εργαλείων Για κάθε αλιευτικό εργαλείο επίσης, η ταξινόμηση των ομάδων δειγμάτων φαίνεται ότι ανταποκρίνεται περισσότερο στην εποχικότητα και λιγότερο στο μέγεθος του αλιευτικού εργαλείου. Τέλος, η ποικιλότητα σε είδη ήταν μεγαλύτερη στα δίχτυα από ότι στα παραγάδια, ενώ το αντίθετο ίσχυε για την κανονικότητα,

COMPARATIVE FIXED GEAR STUDIES: CATCH COMPOSITION OF LONGLINES AND GILL NETS IN THE AEGEAN SEA (CYCLADES; NAXOS ISLAND), HELLAS

Stergiou K.I.[1], Moutopoulos D.K.[1], Economidis P.S.[1], Erzini K.[2] & P.G. Lino[2]

[1]Aristotle University of Thessaloniki, Faculty of Biology, Department of Zoology, Laboratory of Ichthyology, Box 134, Thessaloniki 54006, Hellas
[2]Universidade do Algarve, Unidade de Ciencias e Tecnologias dos Recursos Aquaticos (UCTRA), Campus de Cambelas, 8000 Faro, Portugal

The aim of this study was to evaluate and compare the species composition of the gill net and longline catches in the coastal waters of Naxos Island (Cyclades). Overall, 44ofishing trials were carried over a one-year period, with four different mesh sizes (bar length: 22, 24, 26 and 28 mm) and four different hooks sizes ("Mustad" round bentspade, sizes 1 1>12>13>15). 1000m of each mesh size and 250 hooks of each size, were used. Fishing with both gears occurred on the same day and in the same general area, at depths ranging generally from 4 to 90 m. The gears were fished one to three hours either before sunrise or sunset and hauled one to two hours after sunrise or sunset. Data (catchnumbers of all species per gear used) was transformed using the double square root transformation. The similarity matrix (based on the Bray-Curtis coefficient) was subjected to both clustering (group-average linking) and multi-dimensional scaling. Overall, 4745 specimens were caught, belnging to 72 fish species, 3 crustacean speciesand 4 cephalopod species. Of the ttal 79 species, 37 were caught by bth gears, 9 were caught only by hooks and 33 only by gill nets. Gill nets caught 70 species (3669individuals) of which 11 species accounted for 77% of the total catch. Hooks caught 46 species (1076 individuals) of which 13 species accounted for 89% of the total catch. The results of multivariate analyses were in agreement and showed a clear separation of the two gears, with lower level groups generally corresponding to seasons rather than to gear size. Diversity was higher for gill nets than for longlines whereas the opposite was true of evenness.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΣΗΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ: Ο ΚΑΘΟΡΙΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ JAK ΚΑΙ STAT ΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΣΤΙΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΠΛΗΘΟΥΣ ΚΥΤΟΚΙΝΩΝ

Στραβοπόδης Δ.Ι., Παργάνας Ε., Teglund S., Wang D. & J.N. Ihle

St. Jude Children's Research Hospital, Department of Biochemistry, Memphis, TN., U.S.A.
Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD., U.S.A.

Οι κυτοκίνες επιτελούν το πλειοτροπικό βιολογικό τους έργο δια μέσου ειδικών αλληλεπιδράσεων με τους ομοειδείς διαμεμβρανικούς τους υποδοχείς. Κάθε μέλος της υπεροικογένειας των υποδοχέων των κυτοκινών συνδέεται στερεοδιατακτικά με ένα ή και περισσότερα από τα τέσσερα μέλη της οικογένειας των *Janus* κινασών τυροσίνης (Jaks), με ακριβή και ειδικό τρόπο. Η επακόλουθη, από την κυτοκίνη επαγόμενη, συσσωμάτωση των υπομονάδων του μεμβρανικού υποδοχέα οδηγεί στην εκλεκτική φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση των *JAK* μοριακών σηματοδοτών. Ο καθοριστικός ρόλος των *JAK2* και *JAK3* στους μηχανισμούς μετάδοσης σήματος των κυτοκινών καταδείχθηκε ξεκάθαρα με πειράματα γονιδιακής διάρρηξης και δημιουργία μεταλλαγμένων ποντικών τα οποία στερούνται ύπαρξης των αντίστοιχων γονιδίων. Μερικά από τα καλύτερα χαρακτηρισμένα μοριακά υποστρώματα των *JAK* κινασών τυροσίνης, είναι τα μέλη της οικογένειας των *STAT* (Signal Transducers and Activators of Transcription) μεταγραφικών παραγόντων. Γενετικές κατασκευές κυτταρικών σειρών μόνιμης υπερέκφρασης, είτε διαφορετικών μεταλλαγών του υποδοχέα της Ερυθροποιητίνης, είτε καρβοξυ-τελικά ακρωτηριασμένων *STAT5* cDNAs, απέδειξαν ότι οι *STAT5* μοριακοί σηματοδότες δεν επηρεάζουν την Epo-εξαρτώμενη κυτταρική αύξηση μυελοειδικών γραμμών και δεν επεμβαίνουν άμεσα στη ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης. Ο *in vivo* βιολογικός ρόλος κάθε μέλους της *STAT* πρωτεϊνικής οικογένειας (1, 3, 4, 5A / 5B, 6) περιγράφεται και καταδεικνύεται μέσω της ανάλυσης των φαινοτύπων των μεταλλαγμένων ποντικών, τα οποία στερούνται ύπαρξης των αντίστοιχων γονιδίων.

MOLECULAR GENETICS OF CYTOKINE SIGNALING: THE DECISIVE ROLE OF THE JAK AND STAT GENE PRODUCTS IN THE BIOLOGICAL FUNCTIONS OF SPECIFIC CYTOKINES

Stravopodis D.J., Parganas E., Teglund S., Wang D. & J.N. Ihle

St. Jude Children's Research Hospital, Department of Biochemistry, Memphis, TN., U.S.A.
Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD., U.S.A.

Cytokines exert their pleiotropic biological functions through the specific interactions with their cognate transmembrane receptors. Each member of the Cytokine Receptor Superfamily associates with one or more of the four Mammalian *Janus* kinases (Jaks), in a precise distinct manner and ligand induced receptor aggregation results in their activation. The critical roles for the *JAK2* and *JAK3* family members are demonstrated by gene disruption experiments and creation of mice that genetically lack each gene. Among the best-characterized substrates of *JAK* kinases are the members of the Signal Transducer(s) and Activators of Transcription (*STAT*(s)) family of transcription factors. Upon cytokine treatment of the cells, the *STAT* proteins become tyrosine phosphorylated, which consists an absolute requirement for reciprocal dimerization, nuclear translocation and transcriptional activation of the cytokine responsive, immediately early target genes. *STAT5* (*5A* and *5B*), while initially identified as a Prolactin-induced *STAT* family member, is activated in the response to a variety of cytokines and especially to Epo (Erythropoietin), IL-2, IL-3 (IL: Interleucin) and GH (Growth Hormone). Construction of stable cell lines overexpressing either different Erythropoietin receptor mutants or Carboxy-terminally truncated *STAT5* cDNAs demonstrated that the *STAT5* proteins do not affect the Epo-dependent cell growth of the myeloid lineages and are not directly involved in the control of cell proliferation. The *in vivo* biological role of each *STAT* family member (1, 3, 4, 5A / 5B, 6) is clearly demonstrated by the phenotype of mice lacking one or more of these genes.

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΠΕΜΠΤΟΥ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟΥ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΠΕΣΤΡΟΦΑ

Σφυρόερα Γ.[1], Sunyer O.J.[2], Λάμπρης Ι.Δ.[2], Ζαρκάδης Ι.Κ.[1]

[1]Εργ. Γεν. Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Πατρών, Ρίο Πάτρα
[2]Laboratory of Protein Chemistry, Dept. of Pathology, School of Medicine, University of Pennsylvania, USA

Το σύστημα του Συμπληρώματος αποτελείται από μία ομάδα διαλυτών πρωτεϊνών και υποδοχέων περισσότερων από 30, η οποία παίζει έναν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του ξενιστού εναντίον μολύνσεων και σε διάφορες ανοσορυθμιστικές διαδικασίες. Το σύστημα του Συμπληρώματος λειτουργεί σε τρείς διαφορετικές οδούς ενεργοποίησης, κλασική, εναλλακτική και οδό λεκτίνης. Σ' όλες τις οδούς η C5 κονβερτάση κόβει το C5 μόριο και πυροδοτεί τη διαμόρφωση του συμπλόκου MAC. Η πρωτεΐνη C5 είναι δομικά ομόλογη του τρίτου συστατικού του Συμπληρώματος C3 και η αλληλεπίδρασή τους είναι αναγκαία για την ενεργοποίηση του Συμπληρώματος. Η εναλλακτική οδός είναι εξελικτικά προγενέστερη της κλασικής. Τα C3, C4 και C5 μόρια φαίνεται να έχουν εξελιχθεί από ένα κοινό προγονικό μόριο, μέσω γονιδιακού διπλασιασμού, αλλά η ακριβής καταγωγή τους παραμένει προς διευκρίνιση. Το μόριο C5 έχει απομονωθεί και η πρωτοταγής του δομή έχει ανακοινωθεί μόνο στον άνθρωπο και στον ποντικό. Η εναλλακτική οδός ενεργοποίησης πρωτοεμφανίζεται στους ιχθείς. Η κλωνοποίηση του πέμπτου συστατικού του Συμπληρώματος C5 στην πέστροφα θα δώσει πληροφορίες για την εξέλιξη, την καταγωγή και την λειτουργία του μορίου και του Συμπληρώματος. Έχουμε απομονώσει την πρωτεΐνη C5 από ορό πέστροφας χρησιμοποιώντας πολυκλωνικό αντίσωμα εναντίον του C5 μορίου. Θα παρουσιασθούν δεδομένα που αφορούν τη δομή της πρωτεΐνης, καθώς και την κλωνοποίηση cDNA κλώνου για το γονίδιο C5, από cDNA βιβλιοθήκη ήπατος πέστροφας.

[3] Υποστηρίζεται από το Ερευνητικό Πρόγραμμα "Κ.Καραθεοδωρή", Πανεπιστήμιο Πάτρας

CLONING OF FIFTH COMPONENT OF COMPLEMENT IN TROUT

Sfyroera G[1], Sunyer O.J.[2], Lambris J.D.[2], Zarkadis I.K.[1]

[1]Laboratory of Biology, School of Medicine, University of Patras, Rion Patras
[2]Laboratory of Protein Chemistry, Dept. of Pathology, School of Medicine, University of Pennsylvania, USA

The Complement system consists of a complex group of more than 30 soluble proteins and receptors that plays an important role in host defense against infection and in various immunoregulatory processes. The Complement system is divided into three different pathways of activation termed the classical, alternative and lectin pathway. In all pathways the C5 convertase cleaves the fifth component of Complement C5 and initiate the self-assembly of the membrane attack complex (MAC). The C5 protein is structural homolog of C3 and interactions among them are essential for the activation of the system. The alternative pathway is evolutionary older than classical and it seems that the last one appeared after diverged in fish. C5 molecule has been isolated and reported the primary structure only in mammals (human, mouse). It is postulated that C3, C4 and C5 evolved from a common ancestor by gene dublication. The mammalian genes encoding for C3 and C5 are located on different chromosomes. Since fishes are the first vertebrates in which C5 may have appeared, the cloning of C5 gene is essential to an understanding of their evolution, origin and function. We have isolated trout C5 protein by using polyclonal antibody against trout C5. Using degenerated oligonucleotides from partial peptide sequence, we have isolated PCR fragment related to C5 gene. This fragment used as probe for screening a trout liver cDNA library.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΟΔΙΚΩΝ ΡΕΥΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΠΑΤΡΑΪΚΟΥ ΚΟΛΠΟΥ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΟΥ ΖΩΟ ΚΑΙ ΙΧΘΥΟΠΛΑΓΚΤΟΥ

Σώρρα Β., Κουτσικόπουλος Κ., Φραγκοπούλου Ν., Λυκάκης Ι.

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 26500, Ρίο, Πάτρα

Τα ανοδικά ρεύματα είναι ένα φυσικό φαινόμενο υψίστης σημασίας για την παραγωγικότητα των οικοσυστημάτων. Ο Πατραϊκός Κόλπος είναι ένα σχεδόν κλειστό οικοσύστημα που τους καλοκαιρινούς μήνες εμφανίζει διαφορά θερμοκρασίας 0.5-4°C μεταξύ της νότιας και βόρειας πλευράς του με πιο κρύα τα επιφανειακά νερά της βόρειας πλευράς. Η παραπάνω διαφορά θερμοκρασίας συνδέεται με Δ.ΝΔ ανέμους, γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη ανοδικών ρευμάτων. Σε δειγματοληψίες που έγιναν κοντά στο στενό Ρίου-Αντιρρίου κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (1997 & 1998), καταγράφηκαν κατακόρυφα προφίλ θερμοκρασίας που εντοπίζουν στον Πατραϊκό Κόλπο δύο σαφείς υδρολογικές δομές: Δ.ΝΔ ανέμους που προκαλούν ανοδικά ρεύματα και αναμιγνύουν την υδάτινη στήλη στη βόρεια πλευρά της περιοχής μελέτης και Β.ΒΑ ανέμους οι οποίοι εξαιτίας και της γενικότερης κυκλοφορίας στο στενό αναμιγνύουν τα επιφανειακά νερά της νότιας πλευράς κατεβάζοντας το θερμοκλινές σε μεγαλύτερο (30-35m) από το συνήθες βάθος (15-20m). Παράλληλα συλλέχθηκαν δείγματα ζωοπλαγκτού και ιχθυοπλαγκτού στα οποία έγινε ποσοτική και ποιοτική ανάλυση. Η κατανομή (μέση συνολική πυκνότητα 1345άτ/m^3) και η σύσταση (κωπήποδα 46-82%) του ζωοπλαγκτού ήταν ομοιόμορφη στις δύο πλευρές της περιοχής μελέτης. Αντίθετα, στο ιχθυοπλαγκτό εμφανίστηκαν τάσεις διαφοροποίησης που συνδέονται με τις υδρολογικές δομές. Αυγά και προνύμφες μικρών πελαγικών ψαριών όπως ο γαύρος, ήταν σε κάθε περίπτωση αφθονότερα στην πλευρά του Κόλπου με τα πιο ζεστά επιφανειακά νερά. Το μικρό πλάτος (11km) του Πατραϊκού Κόλπου στο σημείο μελέτης ευνοεί λόγω διάχυσης την ομοιογενή κατανομή του ζωοπλαγκτού αλλά όχι και αυτή του ιχθυοπλαγκτού, καθώς οι γεννήτορες αντιδρούν άμεσα στις αλλαγές των φυσικών παραμέτρων (θερμοκρασίας).

INFLUENCE OF THE UPWELLING CURRENTS IN THE PATRAIKOS GULF TO THE ZOO AND ICHTYHOPLANKTON DISTRIBUTION

Sorra V., Koutsikopoulos C., Fragopoulu N., Lykakis I.

University of Patras, Dep. of Biology, 26500, Rion, Patras, Greece

Upwellings are physical mechanisms of great importance for marine ecosystems productivity. Upwelling currents are frequently observed in the Patraikos Gulf (Western Greece), which is an almost enclosed ecosystem. In summer 1997 and 1998 a difference of 0.5-4°C in surface temperature between the north and southern part was recorded, with the northern part usually colder. This difference was observed under the influence of W.SW winds which induce intensive upwellings.

The study of temperature vertical profiles revealed the existence of two distinct hydrological structures. The W.SW winds, usually occuring in summer, induce upwelling in the northern part while the N.NE winds in relation to the general circulation, mix the surface layers of the southern side moving the thermocline from its usual mean depth of 10-20m to deeper layers (30-35m). In the studied area, in summer period, the mean density of the total zooplankton was 1345 ind/m^3 and copepods were the dominant group (46-82%). Between these two sectors, no significant differences both in density and species composition of the zooplankton were found. This can be attributed to the limited width of the Gulf in this area and thus diffusion and horizontal mixing can mask the potential differences provoked by the upwelling. In contrary, fish eggs and larvae like anchovy were always more abundant in the warmer area whatever its position (north or south). This can be explained by the rapid reaction of the spawners to the environmental changes.

ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΤΗΣ D-[U-^{14}C]-ΓΛΥΚΌΖΗΣ ΣΕ ΠΡΩΤΟΠΛΑΣΤΕΣ ΧΑΡΟΥΠΙΑΣ (*Ceratonia siliqua* L.) ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΤΟΙΧΩΜΑΤΩΝ

Σωτηρίου Π.[1], Fry S.C. [2] και Κ. Γκανή-Σπυροπούλου[1]

[1]Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 157 84,
[2]The Edinburgh Cell Wall Group, The University of Edinburgh, King's Buildings, Mayfield Road, Edinburgh EH9 3JH, UK

Πρωτοπλάστες που απομονώθηκαν από υποκοτύλια χαρουπιάς συνθέτουν νέο κυτταρικό μετά από 24 ώρες καλλιέργειας. Η μελέτη των συστατικών μονοσακχαριτών των αναγεννημένων κυτταρικών τοιχωμάτων έγινε με τη χρήση D-[U-^{14}C]-γλυκόζης. Μετά από διαφορετικά χρονικά διαστήματα καλλιέργειας (1,5, 24, 48, 64, 88, και 112 ώρες) απομονώθηκαν τα κυτταρικά τοιχώματα καθώς και οι πολυσακχαρίτες που εκκρίθηκαν στο διάλυμα καλλιέργειας. Οι τελευταίοι διαχωρίστηκαν σε δυο κλάσματα, ένα με μεγάλο μοριακό βάρος και ένα με μικρότερο. Οι πολυσακχαρίτες αυτοί καθώς και οι πολυσακχαρίτες των κυτταρικών τοιχωμάτων υδρολύθηκαν με TFA και προσδιορίστηκε η κατανομή της ραδιενέργειας στα προϊόντα της υδρόλυσης. Το κυριότερο ραδιενεργό μονομερές των πολυσακχαριτών των κυτταρικών τοιχωμάτων ήταν η γλυκόζη. Από τους εξωκυτταρικούς πολυσακχαρίτες, αυτοί με μεγάλο μοριακό βάρος έχουν πολύ ραδιενέργεια στη γαλακτόζη και την αραβινόζη ενώ αυτοί με μικρότερο μοριακό βάρος περιέχουν μεγάλη ραδιενέργεια στη γλυκόζη και τη γαλακτόζη.

D-[U-^{14}C]-GLUCOSE INCORPORATION IN CAROB (*Ceratonia siliqua* l.) PROTOPLASTS DURING CELL WALL REGENERATION

Sotiriou P.[1], Fry S.C.[2] & C. Ganis-Spyropoulos[1]

[1]Institute of General Botany, Dept of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, Athens 157 84
[2] The Edinburgh Cell Wall Group, The University of Edinburgh, King's Buildings, Mayfield Road, Edinburgh EH9 3JH, UK

Protoplasts isolated from carob hypocotyls regenerated cell walls within 24 h of culture. The constituents of the regenerated cell walls were studied using D-[U-^{14}C]-glucose. After various hours of culture (1,5, 24, 48, 64, 88, and 112 h) were isolated the cell wall polysaccharides as well as the polysaccharides secreted in the culture medium. The later were divided into two fraction, one of high molecular weight and another of lower molecular weight. These polysaccharides as well as the cell wall ones were hydrolyzed with TFA and the distribution of radioactivity in their constituent monomers was determined. The predominant radioactive monomer of cell wall polysaccharides was glucose. The highest radioactivity was determined in galactose and arabinose of the high molecular weight secreted polysaccharides while in the lower molecular weight ones glucose and galactose had the highest radioactivity.

ΤΑ ΑΜΙΝΟΞΕΑ F245 ΚΑΙ K248 ΤΟΥ ΕΚΤΟΥ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ (TM6) ΕΙΝΑΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΤΗΣ ΠΡΟΛΙΝΗΣ (PrnB) ΤΟΥ *Aspergillus nidulans*

Ταβουλάρης Σ.Ν. και Β. Σοφιανοπούλου

Ινστιτούτο Βιολογίας, Ε.ΚΕ.Φ.Ε. «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή, 15310, Αθήνα.

Η μεταφορά της προλίνης στον *A. nidulans* πραγματοποιείται μέσω του προϊόντος του γονιδίου *prnB* (PrnB) το οποίο ανήκει σε μία καλά προσδιορισμένη οικογένεια μεταφορέων αμινοξέων μέλη της οποίας έχουν εντοπισθεί σε προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Προσεγγίζουμε τη σχέση δομής-λειτουργίας της πρωτεΐνης PrnB με τη μελέτη γενετικά απομονωμένων στελεχών που φέρουν μεταλλαγές στο γονίδιο *prnB* καθώς και *in vitro* μεταλλαγμένων στελεχών στα οποία έχουν αντικατασταθεί επιλεγμένα αμινοξέα της πρωτεΐνης PrnB. Στη παρούσα εργασία παρουσιάζουμε τη μελέτη σε μοριακό και λειτουργικό επίπεδο του γενετικά απομονωμένου στελέχους (*prnB119*) και τη κατασκευή και λειτουργική μελέτη τριών *in vitro* μεταλλαγμένων στην πρωτεΐνη PrnB στελεχών του *A. nidulans*. Η μεταλλαγή *prnB119* έχει σαν αποτέλεσμα την αντικατάσταση του αμινοξέως F248 της PrnB από μία L. Γενετικές μελέτες και μελέτες πρόσληψης προλίνης στο στέλεχος *prnB119* υποδεικνύουν ότι πιθανά η συγκεκριμένη μεταλλαγή εμπλέκεται στη μετατροπή της PrnB σε πρωτεΐνη ικανή να μεταφέρει ιόντα K^+ μειώνοντας ταυτόχρονα την πρόσληψη προλίνης. Στα *in vitro* μεταλλαγμένα στελέχη αντικαταστάθηκε το K245, που είναι το μοναδικό θετικά φορτισμένο αμινοξύ στο TM6 της πρωτεΐνης PrnB, από τα αμινοξέα R, L ή E. Μελέτες πρόσληψης προλίνης στα στελέχη του *A. nidulans* που φέρουν τις παραπάνω μεταλλαγές δείχνουν ότι η παρουσία θετικά φορτισμένου αμινοξέος στο TM6 είναι απαραίτητη για την φυσιολογική λειτουργία της πρωτείνης PrnB και υποδεικνύουν ότι τα παραπάνω αμινοξέα εμπλέκονται έμμεσα ή άμεσα την πρόσδεση και τη μεταφορά της προλίνης. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι το TM6 και ειδικότερα τα αμινοξέα K245 και F248 που είναι συντηρημένα στους μεταφορείς προλίνης του *A. nidulans* και του *Saccharomyces cerevisiae*, είναι καθοριστικά για τη μεταφορά της προλίνης.

AMINO ACID RESIDUES F248 AND K245 LOCATED IN TRANSMEMBRANE DOMAIN 6 (TM6) ARE CRITICAL FOR THE PROPER FUNCTIONING OF THE PROLINE TRANSPORTER (PrnB) OF *A. nidulans*

Tavoularis S.N. & V. Sophianopoulou

Institute of Biology NCSR "Demokritos, Aghia Paraskevi, Athens, Greece

In the filamentous fungus *Aspergillus nidulans* proline transport is mediated by the product of the *prnB* gene (PrnB) which belongs to a dinstict family of amino acid transporters conserved in prokayotes and eukaryotes. Our on-going studies concern structure-function relationships in PrnB approached by the analyses of a number of genetically isolated and *in vitro* constructed PrnB mutations.
In the present work we present the molecular and functional analyses of the genetically isolated strain (*prnB119*) and the construction and functional analyses of three PrnB mutant strains in which mutations were constructed by *in vitro* oligonyucleotide-directed mutagenesis and introduced by targeted integration into the *prn* genomic locus of A. nidulans. Mutation *prnB119* results in the substitution of the amino acid F248 of PrnB for L248. Genetic and kinetic analyses of an *A. nidulans* strain carrying the above mutation suggest that this amino acid substitution might convert PrnB into a protein capable of transporting K^+ ions with a simultaneous decrease in the efficiency of proline uptake. The *in vitro* constructed mutations substitute K245, the only charged amino acid residue within a putative transmembrane segment (TM6) of the PrnB protein, for R, E or L. Kinetic analyses of *A. nidulans* strains carrying the above mutations revealed the importance of the presence of a positively charged residue in the hydrophobic environment of TM6 for proper functioning of PrnB and suggests that the amino acid residues involved might directly or indirectly affect proline binding and transport. These results show that TM6, and in particular amino acid residues K245 and F248 which are conserved in the proline transporters of *A. nidulans* and *Saccharomyces cerevisiae*, are critical for proline transport.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ ΜΕ ΛΟΓΙΣΜΙΚΟ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΕΙΚΟΝΑΣ

Τάφας, Τ. & Θ. Γεωργακόπουλος

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Πανεπιστημιόπολη, 157 84 Αθήνα

Η εκτίμηση της αύξησης πληθυσμού μικροφυκών σε καλλιέργεια γίνεται με πλειάδα εμέσων και αμέσων μεθόδων. Η άμεση και ακριβέστερη μέθοδος είναι η απευθείας μικροσκοπική μέτρηση της αφθονίας των κυττάρων. Πρόκειται για επίπονη και χρονοβόρα διαδικασία και γι'αυτό χρησιμοποιούνται ευρέως έμεσες προσεγγιστικές μέθοδοι, όπως η μέτρηση ξηρού βάρους ή συγκέντρωσης χλωροφύλλης, που όμως δεν επιτρέπουν την καταγραφή μικροσκοπικών χαρακτηριστικών των κυττάρων. Προκειμένου να παρακαμφθούν τα παραπάνω μειονεκτήματα αναπτύξαμε μέθοδο μικροσκοπικής μέτρησης των κυττάρων με επεξεργασία εικόνας από ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Χρησιμοποιούμε μικροσκόπιο εφοδιασμένο με έγχρωμη κάμερα τύπου CCD, συνδεδεμένη με σύστημα ψηφιοποίησης εικόνας σε ηλεκτρονικό υπολογιστή με λειτουργικό σύστημα MICROSOFT WINDOWS '95. Αναπτύξαμε λογισμικό σε περιβάλλον MICROSOFT C++ με βιβλιοθήκη επεξεργασίας εικόνας MATROX IMAGING LIBRARY Ver. 2.1.

Το λογισμικό εκτελεί τις εξής εργασίες (1) προσλαμβάνει εικόνα μέσω της κάμερας με μορφή RGB (Red, Green, Blue), (2) επεξεργάζεται τα διάφορα επίπεδα της εικόνας έτσι ώστε να ανιχνευθεί η παρουσία ενδιαφερόντων περιοχών, (3) συλλέγει δεδομένα μορφολογίας για τις περιοχές αυτές (4) απορρίπτει αυτές που δεν ικανοποιούν συγκεκριμένες συνθήκες και δημιουργεί ενδιάμεση εικόνα-μάσκα, (5) χρησιμοποιεί την μάσκα για να συλλέξει στοιχεία χρώματος από την αρχική εικόνα και να επιλέξει τελικά τις ενδιαφέρουσες περιοχές που είναι στη συγκεκριμένη περίπτωση κύτταρα.

Η μέθοδος είναι εξαιρετικά ταχεία και έχει πολύ μεγάλη ικανότητα ανεύρεσης των κυττάρων στις προσλαμβανόμενες εικόνες. Επιπλέον, η συλλογή μορφολογικών αλλά και χρωματικών δεδομένων, επιτρέπει την καταγραφή των φυσιολογικών μεταβολών στα κύτταρα της καλλιέργειας.

QUANTITATIVE MEASUREMENT OF MICRO-ALGAL CULTURES USING IMAGE PROCESSING.

Tafas T. & T. Georgakopoylos

University of Athens, School of Sciences, Faculty of Biology, Department of Ecology and Taxonomy, Panepistimiopolis, GR-157 84 Athens

The measurement of population growth in algal cultures is currently done using a variety of direct and indirect methods. The most accurate and informative direct method is the microscopic measurement of cellular abundance. This is a laborious and time-consuming procedure; for this reason a number of indirect methods are currently in use, e.g. dry weight evaluation, measurement of chlorophyl concentration etc. Although, these methods are very fast they lack the advantage of recording the microscopical characteristics of the cells. In order to by-pass the above disadvantages, we developed a method to measure the culture cell abundance using image analysis

We are using a microscope equipped with a color CCD camera, connected to image acquisition and digitization hardware installed in a personal computer running MICROSOFT WINDOWS '95. We developed image analysis software under MICROSOFT C++ in combination with the image analysis software library MATROX IMAGING LIBRARY Ver. 2.1.

The software performs the following tasks: (1) acquires an image through the camera in RGB format, (2) processes the three image channels so that "regions of interest" (r.o.i.) are located, (3) calculates morphology parameters for the r.o.i.'s found, (4) rejects the r.o.i.'s for which the calculated parameters do not lie within a prespecified range and creats an itermediate image-mask, (5) uses the mask to collect color data from the initial image and finally choose the r.o.i.'s that are actually cells.

The method is extremely fast and has an excellent capability in locating all the cells in the processed images. Furthermore, the collection of morphological as well as color data, allows monitoring of the physiological changes in the cells.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΖΙΤΩΝ ΣΤΗΝ ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ RNase P ΑΠΟ ΤΟ *Dictiostelium discoideum*

Τέκος Α., Τσάγκλα Α., Μποζονέλος Κ. και Δ. Δραΐνας

Εργ. Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500 Πάτρα

Τα αντιβιοτικά παράγονται από μικροοργανισμούς ως προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού. Ο στόχος, για περισσότερα από αυτά, είναι το προκαρυωτικό ριβόσωμα όπου αναστέλλουν την πρωτεϊνική σύνθεση. Η ριβονουκλεάση P (RNase P) είναι η ενδονουκλεάση υπεύθυνη για την ωρίμανση του 5? άκρου των πρόδομων μορίων tRNA. Σε όλους τους οργανισμούς που έχουν μελετηθεί έως τώρα, αυτό το ένζυμο αποτελείται από RNA και πρωτεΐνη. Στα βακτήρια η υπομονάδα RNA της RNase P κάτω από κατάλληλες συνθήκες έχει ενζυμική δραστικότητα *in vitro*. Ο σκοπός της παρούσης εργασίας ήταν να ερευνηθεί η επίδραση των αμινο-γλυκοζιτών (παραμομυκίνη, τομπραμυκίνη, καναμυκίνη, γεντα-μυκίνη, νεομυκίνη) στη βιογένεση του tRNA χρησιμοποιώντας ως πειραματικό σύστημα την RNase P από το *Dictyostelium discoideum*. Το υπόστρωμα για τις δοκιμές της RNase P ήταν ένα ραδιενεργά σημασμένο μεταγράφημα *in vitro* του γονιδίου *SupS1* που κωδικοποιεί το $tRNA^{ser}$ από τον *S. pombe.* Οι ενζυμικές δοκιμές έλαβαν χώρα στους 37°C για 30 min σε 20 μl ρυθμιστικού διαλύματος D (50 mM Tris-HCL pH 7.6, 10 mM NH_4Cl, 5 mM $MgCl_2$). Ο διαχωρισμός των προϊόντων των αντιδράσεων έγινε σε αποδιατακτικό πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου με ηλεκτροφόρηση. Οι αμινογλυκοζίτες ανέστειλαν τη δραστικότητα της RNase P, δείχνοντας ότι αυτές οι χημικές ενώσεις ίσως δρουν απ' ευθείας στη βιογένεση του tRNA. Η RNase P είναι ένα χρήσιμο πειραματικό σύστημα για μελέτη *in vitro* της βιολογικής δράσης των αμινογλυκοζιτών και μπορεί να διαλευκάνει περαιτέρω το μηχανισμό δράσης αυτών των αντιβιοτικών σε μοριακό επίπεδο.

Ευχαριστίες: Η παρούσα εργασία υποστηρίχθηκε εν μέρει από την Επιτροπή Ερευνών Πανεπιστημίου Πατρών, πρόγραμμα "Κ. Καραθεοδωρής".

EFFECT OF AMINOGLYCOSIDES ON RNase P ACTIVITY FROM *Dictiostelium discoideum*

Tekos A., Tsagla A., Bozonelos C. & D. Drainas

Dept of Biochemistry, School of Medicine, University of Patras, 26500 Patras

Antibiotics are produced by micro-organisms as products of secondary metabolism. The prokaryotic ribosome is the target for most of them where they inhibit protein synthesis at several stages. Ribonuclease P (RNase P) is the endonuclease responsible for maturation of 5' termini of tRNA precursors. In all organisms so far investigated, this enzyme is composed of both RNA and protein. *In vitro*, RNA subunits of bacterial enzymes are catalytically active in the absence of protein. The purpose of the present study was to investigate the possible effect of aminoglycosides (paramomycin, tobramycin, gentamycin, kanamycin, neomycin), on tRNA biogenesis using the RNase P of *Dictyostelium discoideum* as an experimental system. The substrate for RNase P assays was an *in vitro* ^{32}P labeled transcript of the *S. pombe* $tRNA^{ser}$ gene *SupS1*. Enzyme assays were carried out in 37°C for 30 min in 20 μl buffer D (50 mM Tris-HCL pH 7.6, 10 mM NH_4Cl, 5 mM $MgCl_2$). Reaction products were resolved on denaturing 10% polyacrylamide/8M urea gels and visualized by autoradiography. Aminoglycosides revealed a dose-dependent inhibition of RNase P activity, indicating that these compounds may have a direct effect on tRNA biogenesis. RNase P is a valuable experimental system for the *in vitro* study of the biological activity of aminoglycosides and may provide more insight into the mechanisms of their action at the molecular level.

Acknowledgements: This work was supported in part by the Research Committee of Patras University, program "K. Karatheodoris" .

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΦΥΣΙΟΛΑΤΡΙΚΟΣ ΤΟΥΡΙΣΜΟΣ ΣΤΑ ΑΡΧΑΙΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΤΗΣ ΟΡΕΙΝΗΣ ΝΑΥΠΑΚΤΙΑΣ : Η ΑΕΙΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΑΙ Η ΣΥΝΔΕΣΗ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΙ ΠΟΛΙΤΙΣΤΙΚΗΣ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΑΣ ΣΤΗ ΠΡΑΞΗ

Τζανουδάκης Δ.[1] και Λ. Παπαλεωνίδας-Πούντζας[2]

[1]Τομέας Βιολογίας Φυτών,Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πάτρας, 26500 Πάτρα
[2]Σχολή Διοίκησης και Οικονομίας ΤΕΙ Μεσολογγίου Νέα Κτίρια 30200 Μεσολόγγι

Με δεδομένη την ανάγκη σύνδεσης της βασικής έρευνας με την παραγωγική διαδικασία παραμένει απορίας άξιον πως μια επιστήμη αιχμής, όπως η βιολογία και η μεγαλύτερη βιομηχανία της χώρας, ο τουρισμός, δεν έχουν συνδεθεί μέχρι σήμερα στο βαθμό που πρέπει. Σε μια χώρα όπως η Ελλάδα με μια μοναδική πολιτιστική και ιστορική κληρονομιά και ταυτόχρονα, την σημαντικότερη βιολογική ποικιλότητα στην Ευρωπαϊκή ένωση, είναι κρίμα τα στοιχεία αυτά να μην έχουν συνδεθεί μεταξύ τους και να μην προβάλλονται στο βαθμό που πρέπει. Στο πλαίσιο μιας τέτοιας προσπάθειας έγινε καταγραφή και διάνοιξη των παλαιών ιστορικών μονοπατιών της περιοχής Άνω Χώρας Ναυπακτίας και ταυτόχρονα απογραφή και περιγραφή των σημαντικών στοιχείων της βιολογικής ποικιλότητας (χλωρίδα, τύποι βλάστησης και βιοτόπων), που συναντά κανείς κατά την διάρκεια μιας πεζοπορίας σε αυτά. Για την καλύτερη πληροφόρηση των επισκεπτών έχει εκδοθεί σχετικό ενημερωτικό φυλλάδιο. Στόχοι τέτοιων προγραμμάτων είναι: **1.** Η απογραφή και ανάδειξη της πολιτιστικής και φυσικής κληρονομιάς των διαφόρων περιοχών του Ελληνικού χώρου. **2.** Η πληροφόρηση των τοπικών πληθυσμών για την πολιτιστική και περιβαλλοντική αξία τέτοιων στοιχείων καθώς και την δυνατότητα της σωστής διαχείρησής τους σύμφωνα με την αρχή της αειφορίας. **3.** Η δημιουργία κινήτρων για την ανάπτυξη ήπιων μορφών τουρισμού σε παραμελημένες μέχρι σήμερα περιοχές του Ελληνικού χώρου. **4.** Η ποιοτική αναβάθμιση του τουριστικού ρεύματος και η συμμετρικότερη κατανομή του σε όλες τις περιοχές της Ελλάδος. **5.** Η επιμήκυνση της τουριστικής περιόδου και η αύξηση της αποδοτικότητας των υφισταμένων υποδομών.

ECOTOURISM IN OLD PATHS OF THE MOUNTAINOUS REGION OF ANCIENT AETOLIA: THE SUSTAINABLE MANAGEMENT AND THE CONNECTION OF OUR NATURAL AND CULTURAL HERITAGE

Tzanoudakis D.[1] & L.Papaleonidas-Pountzas[2]

[1]Division of plant biology, department of Biology, University of Patras. 26500 Patras
[2]School of Management and Economics, Technological Educational Institute of Messolonghi, Nea Ktiria 30200 Messolonghi

Taking into consideration that the connection of basic research and the Universities with the production process is a main social demand it seems quite surprise that in Greece the science of Biology and the largest Greek "industry" of tourism had not being connected yet. This surprise becomes more intense if we consider that Greece is a country with a unique cultural and historical heritage and also a unique biodiversity. In the framework of a pilot programm that concerns the upbringing and the promotion of the cultural and natural heritage of our countryside, there has being maping and cleaning of the old historical paths around the village Ano Chora in the mountains North of Nafpaktos. There also has being done a registration of a biological diversity (flora, vegetation types, biotopes, etc). All the above someone can meet walking these old paths. The basic elements related to the history, the culture and the flora of the paths as well as usefull information (walking distances, descriptions etc) is being edited in a pamphlet. The main goals of programms like this are: **1.** The coding,upbringing and promotion of the cultural and naturll heritage of the diferent regions in Greece. **2.** To aware the population of these regions about the importance of this natural and cultural heritage as well as the ways to make the most out of these values. **3**) The touristic development of the underdeveloped regions of the Greek countryside. **4.** To attract better quality tourists and to distribute them symetrical in different regions of Greece. **5.** The lengthening of the tourist season, trying to make it work throuout the year.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ BREFELDIN A ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΟΥΜΕΝΑ ΗΘΜΟΣΤΟΙΧΕΙΑ ΡΙΖΩΝ ΣΙΤΑΡΙΟΥ

Τιμόλογος Γ.Α., Ελευθερίου Ε.Π.

Τομέας Βοτανικής, Σχολή Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 540 06 Θεσσαλονίκη

Η brefeldin A (BFA) είναι ένας μεταβολίτης, παράγωγο λιπαρών οξέων των μυκήτων ο οποίος επηρεάζει τη δομή και τη λειτουργία της συσκευής Golgi. Μελετήθηκε η επίδραση 200μM BFA για διάφορα χρονικά διαστήματα (2, 4, 8, 16, 32 h) σε διαφοροποιούμενα ηθμοστοιχεία πρωτοφλοιώματος ακρορριζίων σιταριού [*Triticum aestivum* (L.) Thell cv. Vergina] τα οποία παρουσιάζουν έντονη δραστηριότητα της συσκευής Golgi. Στους μάρτυρες, οι συστοιχίες Golgi παράγουν μεγάλο αριθμό κυστιδίων, τα οποία βαθμιαία μετακινούνται προς την περιφέρεια, ενώνονται με την πλασματική μεμβράνη και αποβάλλουν το περιεχόμενό τους συμβάλλοντας έτσι στην ανάπτυξη του κυτταρικού τοιχώματος. Σε βραχύχρονη επίδραση (2, 4 h) η BFA προκαλεί έντονη διόγκωση των κυστιδίων Golgi, τα οποία συγκεντρώνονται σε μεγάλους σωρούς κοντά ή γύρω από τις συστοιχίες Golgi, οι οποίες όμως δεν φαίνεται να επηρεάζονται δομικά. Στις 8 h επίδρασης BFA ο αριθμός των διογκωμένων κυστιδίων φαίνεται ότι περιορίζεται, ενώ εξαφανίζονται οι μεγάλες συναθροίσεις. Σε μεγάλους χρόνους επίδρασης (16, 32 h) οι συστοιχίες Golgi και τα σχετιζόμενα με αυτά κυστίδια εμφανίζουν δομή παρόμοια με το μάρτυρα, αν και ο αριθμός των κυστιδίων φαίνεται μειωμένος. Στα τελευταία διαφοροποιούμενα ηθμοστοιχεία το κυτταρόπλασμα καταλαμβάνεται από μεγάλο αριθμό δομών οι οποίες ορίζονται από απλή μεμβράνη που φέρει ριβοσώματα. Στα κάπως νεώτερα ηθμοστοιχεία οι δομές αυτές έχουν ομαλή και στη συνέχεια έντονα ανώμαλη περίμετρο, ενώ το περιεχόμενό τους δομικά μοιάζει με το κυτταρικό τοίχωμα. Τα δεδομένα αυτά δημιουργούν ερωτηματικά για την προέλευση και τη χημική τους σύσταση. Πιθανόν προέρχονται από το ΕΔ και περιέχουν πρωτεϊνικά ή/και πολυσακχαριτικά συστατικά της θεμελιώδους μάζας του κυτταρικού τοιχώματος, που συγκεντρώνονται λόγω αναστολής της ροής από το ΕΔ προς τα Golgi σε συνδυασμό με ανάδρομη μεταφορά λόγω της επίδρασης της BFA, απαιτείται όμως περαιτέρω μελέτη για τη θεμελίωση οποιασδήποτε ερμηνείας.

A STUDY OF THE EFFECTS OF BREFELDIN A ON THE DIFFERENTIATING SIEVE ELEMENTS IN ROOTS OF WHEAT

Timologos G.A., Eleftheriou E.P.

Department of Botany, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-540 06 Thessaloniki, Greece

The fungal fatty acid derivative brefeldin A (BFA) affects the structure and function of the Golgi apparatus. In the present study the effects of 200 μM BFA on differentiating protophloem sieve elements in root tips of the bread wheat [*Triticum aestivum* (L.) Thell cv. Vergina] treated for 2, 4, 8, 16 and 32 h, were studied by electron microscopy. These specialized cells were selected because during development they present a high activity of Golgi apparatus. In controls, Golgi stacks produce numerous vesicles, which gradually seem to move toward the periphery, where they fuse with the plasma membrane and export their contents thus contributing to the development of the cell wall. In short-term treatments (2, 4 h) BFA causes the swelling of Golgi vesicles, which may accumulate locally in huge numbers close to or around the Golgi stacks. The latter seem to remain structurally unaffected by the drug. Vesicles fusing with the plasma membrane become also swollen. In 8 h treatment with BFA the number of swollen vesicles seems to decline, while local vesicle gatherings disappear. Upon longer treatments (16, 32 h) Golgi stacks and their related vesicles appear structurally similar with controls, though vesicle numbers are reduced. In the last differentiating protophloem sieve elements unusual structures limited by a single membrane bearing ribosomes on the cytoplasmic face abound in the cytoplasm. Initially they have a smooth outline, to become gradually rough. Structurally their content is similar to the cell wall, but their origin and chemical composition are unclear. They presumably originate from the ER and may contain proteinareous and/or polysaccharide components destined for the cell wall matrix, which may accumulate due to inhibition of vesicle flow from ER to Golgi apparatus, maybe in combination with a concomitant retrograde transport of vesicles back to ER. However, further investigation to consolidate conclusions is needed.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΔΥΟ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *SILURUS* (PISCES, SILURIDAE) ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Τριανταφυλλίδης Α.[1], Gyuomard R.[2], Krieg F.[2], Estoup A.[2]

[1]Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ. GR 54006
[2]INRA, Jouy-en-Josas, France

Στην εργασία αυτή ερευνήθηκε η γενετική δομή των ειδών *Silurus glanis* (κ. γουλιανός) και *Silurus aristotelis* (κ. γλανίδι) με ανάλυση του πολυμορφισμού στο επίπεδο του μικροδορυφορικού DNA. Σκοποί της έρευνας ήταν η εκτίμηση του βαθμού ποικιλομορφίας των δύο ειδών, η εύρεση των ενδοειδικών και διαειδικών φυλογενετικών σχέσεων, καθώς και η συμβολή στη διαχείριση και οικονομική εκμετάλλευσή τους. Μελετήθηκαν 6 πληθυσμοί *S. glanis* (Έβρος, Στρυμόνας φυσικός, Στρυμόνας ιχθυοκαλλιέργεια, Αξιός, Αλιάκμονας και Πηνειός) καθώς και τρεις πληθυσμοί του ενδημικού είδους *S. aristotelis* (Τριχωνίδα, Αμβρακία και Βόλβη). Εξετάστηκαν 10 τόποι στο *S. glanis* και 8 στο *S. aristotelis*. Ο βαθμός ετεροζυγωτίας κυμαινόταν από 0,084 ως 0,549 για το *S. glanis* και από 0,562 ως 0,734 στο *S. aristotelis*. Οι τιμές αυτές είναι συγκρίσιμες με τιμές ετεροζυγωτίας για άλλα είδη ψαριών. Στο δένδρο UPGMA που κατασκευάστηκε με βάση τις τιμές της γενετικής απόστασης μεταξύ των ζευγαριών ατόμων, φαίνεται καθαρά ότι τα άτομα ομαδοποιούνται με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση. Για την αποκάλυψη των σχέσεων μεταξύ των πληθυσμών οι γενετικές αποστάσεις που έχουν αναπτυχθεί αποκλειστικά για το μικροδορυφορικό DNA φαίνεται να έδωσαν καλύτερο αποτέλεσμα από τις «κλασικές» γενετικές αποστάσεις, αφού η σχετική θέση των πληθυσμών αντιστοιχεί στη γεωγραφική τους θέση, ενώ και τα επίπεδα αξιοπιστίας είναι όλα υψηλά. Τα αποτελέσματα της μικροδορυφορικής ανάλυσης συμφωνούν με προηγούμενες αναλύσεις στο επίπεδο των ισοενζύμων και του μιτοχονδριακού DNA. Τα υψηλότερα όμως επίπεδα ποικιλομορφίας αποκαλύφθηκαν με τη μικροδορυφορική ανάλυση και συνεπώς αυτή ενδείκνυται για τη μελέτη σε πληθυσμιακό επίπεδο. Οι γενετικές έρευνες μας υποστηρίζουν μια στενή συγγένεια μεταξύ των *S. glanis* και *S. aristotelis*. Ο χρόνος απόκλισης τους από έναν κοινό πρόγονο δεν μπορεί να υπερβαίνει τα 15 εκ. χρ. Επομένως, προτείνεται ότι ο διαχωρισμός των δύο ειδών συνέβη στην Ευρώπη και ότι πρέπει να ανήκουν στο ίδιο γένος.

MICROSATELLITE ANALYSIS OF THE TWO SPECIES OF THE GENUS *SILURUS* (PISCES, SILURIDAE) FROM GREECE

Triantafyllidis A.[1], Guyomard R.[2], Krieg F.[2], Estoup A.[2]

[1]School of Biology, AUTH, GR 54006, Macedonia, Greece
[2]Laboratory of Fish Genetics, INRA, Jouy-en-Josas, F 78352, France

In the present study, the genetic structure of Greek populations of the two European catfish species *Silurus glanis* and *Silurus aristotelis* was examined at ten microsatellite loci cloned in *S. glanis*. The aims of this analysis were to estimate the levels of polymorphism of the species' populations, to retrace the phylogenetic relationships within and between species and to provide guidelines to monitor the management and economical exploitation of the two species. Six *S. glanis* populations (Evros, Strymon Natural, Strymon Hatchery, Axios, Aliakmon and Pineios), as well as three populations of the endemic species *S . aristotelis* (Trichonida, Amvrakia and Volvi) were examined. All loci studied in *S. glanis* and 8 in *S. aristotelis* exhibited polymorphism. Mean values of heterozygosity ranged between 0.084 - 0.549 for *S. glanis* and between 0.562 - 0.734 for *S. aristotelis*. These values compare favorably with data for other fish species, with *S. aristotelis* showing extremely high polymorphism. In the UPGMA dendrogram constructed based on genetic distance values between individuals (not populations), clustering of individuals according to geographic origin is evident. Genetic distances introduced specifically for microsatellites seem to give better results compared to "classical" distances when analysing phylogenetic relationships within species, since the positioning of the populations is concordant with their geography and bootstrap estimates are higher. The results of the microsatellite analysis are in agreement with previous studies at the isozyme and mitochondrial levels. The highest levels of polymorphism were however discovered using microsatellites which supports the use of microsatellites at the population level. Our genetic studies support a close relationship between *S. glanis* and *S. aristotelis*. Time of divergence from a common ancestor is estimated to be less than 15 million years. It is thus proposed that divergence of the two species occurred in Europe and that they should belong to the same genus.

ΚΡΥΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΡΥΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.

Τριανταφυλλίδης, Γ., Πανταζής, Γ., Ξουρή, Γ., Παπαδοπούλου, Κ., Χατζηνικολάου, Ε., Οικονόμου-Αμίλλη, Α. & Τ. Τάφας.

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας και Ταξινομικής, Πανεπιστημιόπολη, 157 84, Αθήνα

Η βιομηχανική καλλιέργεια ειδών μικροφυκών είναι αρκετά δαπανηρή και συχνά απρόβλεπτης απόδοσης, με μη σταθερή ποιότητα. Υπάρχει ανάγκη για εναλλακτικές πηγές μικροφυκών που θα αντικαταστήσουν μερικώς ή πλήρως τα παραγόμενα μικροφύκη π.χ. σε μονάδες υδατοκαλλιέργειας. Η κρυοπροστασία των μικροφυκών μπορεί να αποτελέσει εξαιρετικά πρόσφορη λύση.

Χρησιμοποιήσαμε 4 κρυοπροστατευτικά, μεθανόλη, προπυλική γλυκόλη, πολυβινυλική πυρρολιδόνη (PVP) και δι-μεθυλ-σουλφοξείδιο (DMSO) και είδη μικροφυκών που χρησιμοποιούνται σήμερα στα εκκολαπτήρια: *Isochrysis* aff. *galbana* (T-ISO, LB 2307), *Chlorella minutissima* Fott et Novakova (LB 2341), *C. stigmatophora* Butcher (LB 993), *C. capsulata* Guillard (LB 2074) και *Dunaliella tertiolecta* Butcher. Προσδιορίστηκε η τοξικότητα των κρυοπροστατευτικών στα παραπάνω είδη καθώς και οι τιμές LC50 στο τροχόζωο *Brachionus plicatilis*, και στα καρκινοειδή *Artemia franciscana*, *A. sinica* και *Penaeus japonicus*. Από τα είδη που μελετήθηκαν, οι ναύπλιοι της *Artemia* ήταν οι πιο ανθεκτικοί, ενώ οι προνύμφες της γαρίδας ήταν οι πιο ευαίσθητες. Επίσης μελετήθηκε η ικανότητα διαίρεσης των κυττάρων των μικροφυκών μετά την παραμονή τους σε θερμοκρασίες +4, -20 και -80 °C. Βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στην ικανότητα των διαφόρων ειδών να πολλαπλασιαστούν μετά την απόψυξή τους. Η *C. minutissima* φαίνεται να έχει τη δυνατότητα να ψυχθεί ακόμα και χωρίς κρυοπροστασία, ενώ η *Isochrysis* aff. *galbana* είναι το πλέον ευαίσθητο μικροφύκος.

CRYOPRESERVATION OF MICROALGAE AND TOXICITY OF CRYOPROTECTANTS IN EARLY DEVELOPMENTAL STAGES OF AQUACULTURE ORGANISMS

Triantaphyllidis, G., Pantazis, G., Xouri, G., Papadopoulou, K., Hadzinikolaou, E., Economou-Amilli A. & T. Tafas

University of Athens, School of Sciences, Faculty of Biology, Department of Ecology and Taxonomy, Panepistimioupolis, GR-15784 Athens

Industrial cultivation of microalgal species has a high cost and is often of unpredictable output with no stable quality. There is a need for alternative sources of microalgae that will partially or completely substitute the freshly cultivated microalgae in the hatcheries. Cryopreservation of microalgae is a solution that is becoming more and more popular among aquaculturists. We used 4 cryoprotectants, methanol, propylene glycol, polyvinyl-pyrrolidone (PVP) and dimethylsulphoxide (DMSO); we chose microalgal species that are commonly used in the hatcheries: *Isochrysis* aff. *galbana* (T-ISO, LB 2307), *Chlorella minutissima* Fott et Novακovα (LB 2341), *C. stigmatophora* Butcher (LB 993), *C. capsulata* Guillard (LB 2074) and *Dunaliella tertiolecta* Butcher. We evaluated the toxicity (LC50) of the 4 cryoprotectants for the above species, as well as the LC50 values for the rotifer *Brachionus plicatilis*, and the crustaceans *Artemia franciscana*, *A. sinica* and *Penaeus japonicus*.

The results showed that nauplii of the brine shrimp *Artemia* can tolerate higher concentrations of cryoprotectants compared to rotifers and shrimp larvae. The ability of the microalgal cells to divide after exposure to various concentrations of cryoprotectants at temperatures of +4°C, -20°C και -80°C was also investigated. We found noticeable differences in the ability of the various microalgal species to multiply and re-establish cultures after freezing and thawing. *C. minutissima* has the potential to be cryopreserved without the need of any cryoprotectant whereas *Isochrysis* aff. *galbana* is the most sensitive from the studied species and could only grow after being cryopreserved.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ Η1ο ΣΕ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΒΟΥΤΥΡΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ

Τσάπαλη Δ.Σ., Σέκερη-Παταργιά Κ.Ε. και Θ.Γ. Σουρλίγκα

Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ"
15310 Αγία Παρασκευή, Αττική

Η Η1ο είναι μια ιστόνη του συνδέτου του νουκλεοσώματος που σχετίζεται με την τερματική διαφοροποίηση. Τόσο η δομή και η ρύθμιση του γονιδίου της όσο και οι λειτουργίες τις πρωτείνης στον κυτταρικό κύκλο και την διαφοροποίηση αποτελούν αντικείμενο ευρείας έρευνας. Εκτός από τα cis-ρυθμιστικά στοιχεία που εμπλέκονται στην ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου της Η1ο, πρόσφατα παρατηρήθηκε πως η έκφραση επάγεται από αναστολείς των αποακετυλασών των ιστονών. Η ακετυλίωση των άμινο τελικών ουρών των ιστονών έχει συσχετισθεί με την ενεργοποίηση της γονιδιακής έκφρασης χωρίς να είναι όμως γνωστοί οι μηχανισμοί αυτής της ενεργοποίησης. Στην παρούσα μελέτη τέθηκε το ερώτημα του κατά πόσο η ακετυλίωση των ιστονών μπορεί να επηρεάσει την έκφραση του γονιδίου της Η1ο σε κύτταρα όπου φυσιολογικά δεν ανιχνεύεται η ιστόνη αυτή. Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινα λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος για τα οποία ήταν γνωστό πως δεν συνθέτουν την ιστόνη Η1ο σε ανιχνεύσιμα επίπεδα. Τα κύτταρα επωάστηκαν για 24 ώρες με έναν αναστολέα αποακετυλασών των ιστονών (βουτυρικό νάτριο σε διάφορες συγκεντρώσεις). Εναλλακτικά τα κύτταρα ενεργοποιήθηκαν παρουσία φυτοαιμαγλουτινίνης σε καλλιέργεια για χρονικό διάστημα 72 ωρών απουσία και παρουσία του αναστολέα. Η παρουσία της ιστόνης Η1ο ελέγχθηκε μετά από μεταφορά σε νιτροκυτταρίνες πηκτωμάτων ακρυλαμιδίου-SDS χρησιμοποιώντας για την αναγνώριση της ένα ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως γίνεται επαγωγή του γονιδίου και αύξηση της Η1ο έπειτα από την δράση του αναστολέα. Η μοριακή βάση του γεγονότος αυτού αξίζει να μελετηθεί περαιτέρω. Ο βαθμός ακετυλίωσης των ιστονών φαίνεται να παίζει ρυθμιστικό ρόλο στην έκφραση του γονιδίου, δίνοντας έτσι στην στερεοδιαμόρφωση της χρωματίνης έναν ρόλο ρυθμιστού της γονιδιακής έκφρασης.

SODIUM BUTYRATE INDUCES THE EXPRESSION OF H1° IN HUMAN LYMPHOCYTES

Tsapali D.S., Sekeri-Pataryas K.E. & T.G. Sourlingas

National Centre for Scientific Research, N.C.S.R. "DEMOKRITOS"

H1° is a nucleosomal linker histone associated with terminal differentiation. Not only its structure and the regulation of its gene expression, but also its function during the cell cycle and during differentiation are areas of intense research. It has recently been observed that, aside from the cis-acting H1° regulatory elements, the influence of histone deacetylase inhibitors also induces H1° gene expression. The acetylation of the amino terminal tails of the nucleosomal histones has been related to the activation of gene expression. However the molecular mechanisms by which this is accomplished have as yet to been discerned. The central question of this study is the degree in which the acetylation of histones can or may influence H1° gene expression in cells that normally do not express this protein in detectable amounts. For this reason we used human peripheral blood lymphocytes which are known not to synthesize H1° in detectable amounts. The cells were incubated for 24 hours in the presence of a deacetylase inhibitor (sodium butyrate in different concentrations). Alternatively the cells, in the presence or absence of the inhibitor, were activated in the presence of phytohemaglutinin for 72 hours. H1° detection was accomplished using a specific monoclonal antibody on nitrocellulose membranes after the transfer of SDS- PAGE. The results showed that there is an induction of H1° gene expression after the action of this inhibitor. The molecular basis of this induction is worth studying more intensely. It would seem that histone acetylation plays a regulatory role in H1° expression and confers to the structure of chromatin a regulatory role during gene expression.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ ΚΑΙ ΥΠΕΡΜΟΡΙΑΚΗ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΜΕΜΒΡΑΝΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Τσέκος Ι.

Εργαστήριο Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ., 540 06 - Θεσσαλονίκη

Η κυτταρίνη, μια κρυσταλλική β-1,4-γλυκάνη, είναι το πλέον άφθονο οργανικό μόριο στη βιοσφαίρα, και κεντρικό μόριο στη μορφογένεση των φυτών καθώς και για πολλές βιομηχανίες. Στα περισσότερα φυτά η κυτταρίνη συντίθεται στην πλασματική μεμβράνη από ένα ενζυμικό σύμπλοκο συνδεδεμένο με την πλασματική μεμβράνη, τη συνθάση της κυτταρίνης (γλυκοζυλική τρανσφεράση της β-1,4-D-γλυκάνης), η οποία χρησιμοποιεί από το κυτολύμα ένα σάκχαρο διφωσφορικού νουκλεοζίτου, την ουριδινο-διφωσφορική γλυκόζη (UDP-γλυκόζη) κατά το σχήμα:

UDP-γλυκόζη+[γλυκόζη]$_n$ -------UDP+[γλυκόζη]$_{n+1}$.

Στα ανώτερα φυτά φαίνεται ότι η σαχκαρόζη αποτελεί μια άμεση προβαθμίδα της σύνθεσης της κυτταρίνης με συμμετοχή της συνθάσης της σακχαρόζης, η οποία είναι συνδεδεμένη με την πλασματική μεμβράνη και συνεργάζεται με τη συνθάση της γλυκάνης. Οι τεταμένες αλυσίδες γλυκάνης συζεύγνυνται πολύ ισχυρά διαμέσου υδρογονικών δεσμών ανάμεσα στα υπολειμματικά μόρια γλυκόζης εντός της αλυσίδας και μεταξύ των αλυσίδων κατά πολύ ακριβή τρόπο, ώστε η μικροϊνιδιακή κυτταρίνη είναι σε μεγάλο βαθμό κρυσταλλική.

Πρόσφατες εξελίξεις στις μελέτες κατάψυξης-θραύσης στην υπερμοριακή οργάνωση της πλασματικής μεμβράνης υποστηρίζουν την άποψη ότι οι ροζέτες (σύμπλοκα της συνθάσης της κυτταρίνης με 6 συμμετρικά τοποθετούμενα σωματίδια) στα ανώτερα φυτά και αμφότερα ροζέτες και γραμμικά τερματικά σύμπλοκα στα κατώτερα φυτά είναι οι δομές που συνθέτουν κυτταρίνη και μορφοποιούν μικροϊνίδια. Τα τερματικά σύμπλοκα αντιπροσωπεύουν πολυενζυμικά σύμπλοκα που πολύ πιθανόν συμμετέχουν σε αμφότερα τα στάδια της σύνθεσης της κυτταρίνης, δηλ. τον πολυμερισμό των αλυσίδων γλυκάνης και την κρυστάλλωσή τους.

BIOSYNTHESIS OF CELLULOSE AND SUPRAMOLECULAR ORGANIZATION OF BIOMEMBRANES IN PLANT CELLS

Tsekos I.

Institute of Botany, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54006 Thessaloniki

Cellulose, a crystalline β-1,4-D-glucan, is the most abundant organic molecule in the biosphere and central to plant morphogenesis and to many industries. In most plants cellulose is synthesized within the plasma membrane by cellulose synthase (glycosyl transferase of β-1,4-D-glucan), an enzymic complex associated with the plasma membrane. Cellulose synthase employs from the cytosol uridine diphosphoglucose (UDP-glucose) according to the following reaction:

$$\textbf{UDP-glucose} + [\textbf{glucose}]_n \text{---- } \textbf{UDP} + \{\textbf{glucose}\}_{n+1}.$$

In higher plants it seems that sucrose constitutes an immediate precursor of cellulose synthesis with the participation of sucrose synthase which is in association with the plasma membrane and cooperates with the glucan synthase. The extended β-1,4-glucan chains associate very strongly via both intra- and interchain hydrogen bonding between glucose residues in a manners so precise that microfibrillar cellulose is largely crystalline.

Recent progress in freeze-fracture studies into the supramolecular organization of the plasma membrane supports the view that the rosettes (complexes of six subunits with 6-fold rotational symmetry) in higher plants and both the rosettes and the linear terminal complexes (TCs) in lower plants are the structures that synthesize cellulose and assemble microfibrils. The terminal complexes probably represent multienzyme complexes involved in both steps of cellulose synthesis, glucan chain polymerization and their crystallization.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΥΓΡΟΥ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ *Alternaria alternata* ΚΑΙ *Ulocladium sp.* ΣΤΟΝ ΕΞΩΣΚΕΛΕΤΟ ΤΗΣ ΑΦΙΔΑΣ *Aphis nerii*

Τσιότσιου Β. και Χρ. Χριστιάς

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 26500 Ρίο, Πάτρα

Η προσκόλληση των σπορίων των εντομοπαθογόνων μυκήτων επάνω στον ξενιστή τους, αποτελεί το πρώτο στάδιο της μυκητίασης. Όταν τα σπόρια βλαστήσουν, παράγουν μολυσματικές δομές (απρεσσόρια), οι οποίες, σε συνδυασμό με τα λυτικά ένζυμα που παράγουν οι μύκητες, οδηγούν στη διάτρηση του εξωσκελετού του ξενιστή. Ο μηχανισμός αυτής της διείσδυσης θεωρείται πως είναι συνδυασμός μηχανικής πίεσης και ενζυμικής δραστηριότητας. Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η δράση του πρωτεϊνικού κλάσματος, του υγρού καλλιέργειας των μυκήτων *Alternaria alternata* και *Ulocladium sp.*, επάνω στον εξωσκελετό της αφίδας *Aphis nerii*. Παρατηρήθηκαν σταδιακές δομικές και χρωματικές αλλοιώσεις σαν αποτέλεσμα αυτής της δράσης. Συγκεκριμένα, όταν τοποθετήθηκε στην περιοχή του θώρακα μικροσταγόνα διαλύματος του παραπάνω πρωτεϊνικού κλάσματος, παρατηρήθηκαν ρήγματα στην επιφάνεια του εξωσκελετού της αφίδας, και παράλληλα μια σταδιακή χρωματική μεταβολή του εντόμου από κίτρινο σε κεραμιδί και σκούρο καφέ. Μελέτη με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης έδειξε ότι η δράση του πρωτεϊνικού κλάσματος του υγρού καλλιέργειας του μύκητα *A. alternata* προκαλεί αλλοίωση και δημιουργία οπών στον εξωσκελετό της αφίδας, ενώ το πρωτεϊνικό κλάσμα του υγρού καλλιέργειας του μύκητα *Ulocladium sp.* προκαλεί λείανση του εξωσκελετού, στην περιοχή δράσης του. Διάλυμα εμπορικού σκευάσματος χιτινάσης δεν είχε καμία επίδραση στον εξωσκελετό του εντόμου, διότι η χιτίνη καλύπτεται από λιποπρωτεϊνικό στρώμα. Αντίθετα εμπορικό σκεύασμα πρωτεάσης-Κ καθώς και η συνδυασμένη δράση χιτινάσης και πρωτεάσης-Κ δημιουργούν σημαντική αλλοίωση στον εξωσκελετό του εντόμου, παρόμοια με αυτή που παρατηρήθηκε από τη δράση του πρωτεϊνικού κλάσματος.

EFFECT OF LYTIC ENZYMES, PRODUCED BY THE FUNGI *Alternaria alternata* AND *Ulocladium sp.*, ON THE CUTICLE OF THE APHID *Aphis nerii*

Tsiotsiou V. & Chr. Christias

University of Patras, Department of Biology, Rio Patras 26500,Greece

The attachment of spores of entomopathogenic fungi onto the host insects is the initial event in the establishment of mycosis. Upon contact, the spores germinate and the germlins produce appressoria by means of which the pathogens penetrate the host cuticle and invade the hemocoel. This occurs by a combination of mechanical pressure and enzymatic degradation. In the present study the effect of enzyme preparations, isolated from the culture filtrates of the fungi *Alternaria alternata* and *Ulocladium sp.,* was tested against the cuticle of the aphid *Aphis nerii.* Structural as well as color changes were observed as a result of the action of these enzyme preparations on the aphid's cuticle. Specifically, application of a droplet of each enzyme preparation on the area of thorax, caused cracks and color changes, from yellow to dark brown, on the aphid's cuticle. Scanning electron microscopy confirmed that the enzyme preparation isolated from *A. alternata* damaged the insect's cuticle, while the one isolated from *Ulocladium sp.* caused a kind of smoothening on the cuticle's surface. Similar structural and color changes were not noticed after application of commercial chitinase on the insect's cuticle, since chitin is masked and thus protected by a lipoprotein matrix. Moreover, protease-K, as well as a combination of commercial chitinase and protease-K caused considerable alterations on the aphid's cuticle, similar to those observed after application of the fungal enzyme preparation.

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΧΙΤΙΝΑΣΩΝ ΣΤΟΥΣ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥΣ ΜΥΚΗΤΕΣ *Alternaria alternata* ΚΑΙ *Ulocladium sp.*

Τσιότσιου Β. και Χρ. Χριστιάς

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, 26500 Ρίο, Πάτρα

Οι εντομοπαθογόνοι Δευτερομύκητες προσβάλλουν τους ξενιστές τους μέσω μιας διαδικασίας διείσδυσης στον εξωσκελετό του ξενιστή. Ο μηχανισμός αυτής της διείσδυσης είναι συνδυασμός μηχανικής πίεσης και ενζυμικής λύσης συστατικών του εξωσκελετού. Ο εξωσκελετός των αρθροπόδων αποτελείται από ινίδια χιτίνης εμβυθισμένα σε ένα στρώμα πρωτεΐνης, λιπιδίων και εστέρων, και οι αντίστοιχες αποπολυμεράσες του μύκητα παίζουν ένα πολύ σημαντικό ρόλο στον παρασιτισμό. Προκειμένου ο μύκητας να παρασιτίσει ένα αρθρόποδο, π.χ. έντομο, θα πρέπει πρώτα να παράγει μια σειρά υδρολυτικών ενζύμων (χιτινασών, πρωτεασών, λιπασών, εστερασών). Όταν οι μύκητες *Alternaria alternata* και *Ulocladium sp.* καλλιεργούνται σε στερεό και υγρό θρεπτικό υλικό με μοναδική πηγή άνθρακα τη χιτίνη, παρουσιάζουν ικανοποιητική ανάπτυξη και παράγουν ικανοποιητικό αριθμό σπορίων, γεγονός που αποτελεί ένδειξη ότι οι μύκητες αυτοί μπορούν να διασπούν και να χρησιμοποιούν τη χιτίνη ως πηγή άνθρακα. Στο υγρό καλλιέργειας των δύο μυκήτων ανιχνεύτηκε Ν-ακέτυλο-γλυκοζαμίνη, η οποία είναι το παράγωγο της χιτίνης. Παρατηρήθηκε αυξομείωση της Ν-ακέτυλο-γλυκοζαμίνης στο υγρό καλλιέργειας του κάθε μύκητα σε χρονικό διάστημα 15 ημερών, ενώ παράλληλα ο κάθε ένας μύκητας κατανάλωνε την παραγόμενη Ν-ακέτυλο-γλυκοζαμίνη για να αναπτυχθεί, όπως φαίνεται από τη βαθμιαία αύξηση του ξηρού βάρους του μυκηλίου. Σε εναιώρημα χιτίνης στο οποίο προστέθηκε πρωτεϊνικό κλάσμα, που απομονώθηκε από το υγρό καλλιέργειας των μυκήτων, παρατηρήθηκε πτώση της οπτικής πυκνότητας (OD) σε συνάρτηση με το χρόνο, ενώ ταυτόχρονα παρατηρήθηκε αύ-ξηση της Ν-ακέτυλο-γλυκοζαμίνης. Η παραγωγή της Ν-ακέτυλο-γλυκο-ζαμίνης δηλώνει την ύπαρξη του ενζύμου χιτινάση στο πρωτεϊνικό κλάσμα, που απομονώθηκε από το υγρό καλλιέργειας των μυκήτων *Alternaria alternata* και *Ulocladium sp.* Το πρωτεϊνικό κλάσμα του υγρού καλλιέργειας υδρολύει εναιώρημα χιτίνης σε άγαρ, όπως φαίνεται από τις κυκλικές, διαυγείς ζώνες λύσης, που δημιουργούνται γύρω από πηγάδια στο άγαρ, στα οποία έχει τοποθετηθεί διάλυμα του πρωτεϊνικού κλάσματος. Συνεπώς, οι μύκητες *Alternaria alternata και Ulocladium sp.*, έχουν την ικανότητα να παράγουν χιτινάση.

CHITINASE PRODUCTION BY THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI *Alternaria alternata* AND *Ulocladium sp.*

Tsiotsiou V. & Chr. Christias

University of Patras, Department of Biology, Rio Patras 26500, Greece

Entry into the insect hosts by most entomopathogenic fungi is effected by direct penetration of the host cuticle. This occurs via a combination of mechanical pressure and enzymatic degradation of integument constituents. Insect cuticle is composed mainly of chitin microfibres embedded in a protein matrix, together with lipids and esters. Entomopathogenic fungi produce a range of extracellular enzymes, namely chitinases, proteases, lipases and esterases, that are active against the major components of insect cuticle. These enzymes play a role in pathogenesis.When the fungi *Alternaria alternata* and *Ulocladium sp.* were cultured in a solid or liquid chitin-containing medium, they showed good mycelial growth.This is evidence of their ability to catabolize and utilize chitin as a source of carbon. The culture filtrates contained N-acetyl-glucosamine, which is the principal monomeric constituent of chitin. N-acetyl-glucosamine concentration varied around a mean during a 15-day growth period in the liquid chitin medium. Simultaneously each fungus consumed the N-acetyl-glucosamine produced for growth, as was measured by the gradual increase of the fungal dry weight. A decrease in the optical density (OD) and a simultaneous increase of the rate of N-acetyl-glucosamine production was observed after addition of enzyme preparation in a chitin suspension. The enzyme preparation hydrolyzed chitin in a chitin-agar medium, as this was evidenced by the apparent clear zones of chitin digestion around wells, filled with the enzyme preparation. These results suggest that chitinase is produced by the fungi *Alternaria alternata* and *Ulocladium sp.*

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

Η ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΩΝ ΑΚΟΥΣΤΙΚΩΝ ΟΣΤΑΡΙΩΝ ΣΤΗΝ ΧΡΟΝΙΑ ΜΕΣΗ ΩΤΙΤΙΔΑ

Φερεκύδου Ε., Κανδηλώρος Δ., Φερεκύδης Ε. και Μ. Κοκκίνου

Ωτορινολαρυγγολογική Κλινική Ε. & Κ. Πανεπιστημίου Αθηνών

Στην παρούσα εργασία μελετώνται οι αλλοιώσεις των ακουστικών οσταρίων με την μέθοδο της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης στην χρόνια μέση ωτίτιδα. Ειδικότερα μελετήθηκαν τα οστάρια τα οποία αφαιρέθηκαν κατά την διάρκεια των μικροχειρουργικών επεμβάσεων από 52 ασθενείς με χρόνια μέση πυώδη ωτίτιδα. Εξ αυτών δε οι 38 έπασχαν από χολοστεωματώδη ωτίτιδα. Τα αφαιρεθέντα οστάρια μελετήθηκαν με το χειρουργικό μικροσκόπιο υπό μεγέθυνση 16 Χ και εν συνεχεία υπεβλήθησαν στην προετοιμασία μελέτης στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο σάρωσης αφού καλύφθηκαν με 100 Α * χρυσού. Όπως προκύπτει από τη μελέτη σε όλα τα οστάρια με χολοστεατωματώδη ωτίτιδα ανευρέθησαν μετρίου και μεγάλου βαθμού οστικές αλλοιώσεις συμπεριλαμβανομένου του επιθηλίου και του περιοστέου, ενώ στην μελέτη με το χειρουργικό μικροσκόπιο τα 40% εξ αυτών εφαίνοντο φυσιολογικά.
Τέλος τα αποτελέσματα αυτά συζητιόνται σε σχέση με την διεθνή βιβλιογραφία.

BIOLOGICAL BEHAVIOR OF ACOUSTICAL OSSICLES IN THE CHRONIC OTITIS MEDIA

Ferekidu E., Kandiloros D., Ferekidis E. & M. Kokkinu

E.N.T. Clinic - University of Athens

In this study we analysed the biological changes of acoustic ossicles in chronic otitis media. More specificely the ossicles of 52 patients were reviewed after being removed during microscopical ear surgery.38 patients suffered from cholesteato-mateous otitis.The removed ossicles were observed during the surgery under the surgical microscope with Magnification of 16 X, and again after being plated with 100 A* gold by scanning electron microscope. While 40% of the ossicles studied under simple surgical magnification appeared normal, under scaning electron microscope (SEM) all ossicles with the cholesteatomateous otitis showed a medium to advanced degree of epithelial ,periosteal and osseous degeneration. The resulting data is further discussed in reference to the international literature.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ PRESENILIN-1 ΣΤΗΝ ΠΛΑΓΙΑ ΜΥΑΤΡΟΦΙΚΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Φλωροσκούφη Π., Βασιλόπουλος Δ., Πάνας Μ., Καραδήμα Γ., Petersen M.B., Αλεπόρου-Μαρίνου Β., Παταργιάς Θ.

Νευρολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο

Σε προηγούμενες διεθνείς μελέτες απεδείχθη ότι, μεταλλαγές στο γονίδιο της presenilin-1 (PS-1) συνδέονται με τη νόσο του Alzheimer (AD). Εκτός των μεταλλαγών και κάποιοι πολυμορφισμοί του ιδίου γονιδίου σεσχετίζονται με τη νόσο AD. Ένας τέτοιος πολυμορφισμός ευρίσκεται στο εσόνιο του 3' άκρου του εξονίου 8 (intron-8 polymorphism) του γονιδίου PS-1. Ο πολυμορφισμός αυτός έχει δύο αλλήλιο. Το αλλήλιο 1 που είναι το πιο συχνό και το αλλήλιο 2. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε το ενδεχόμενο συσχέτισης του πολυμορφισμού αυτού και της πλάγιας μυατροφικής σκλήρυνσης (Π.Μ.Σ.). Το υλικό που χρησιμοποιήθηκε αποτελείται από 72 ασθενείς με Π.Μ.Σ. οι οποίοι μελετήθηκαν στην Νευρολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών. Η γονοτύπωση έγινε με μεθόδους μοριακής γενετικής. Τα ευρήματα συγκρίθηκαν με την κατανομή του ιδίου πολυμορφισμού σε δείγμα Ελληνικού πληθυσμού. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά τόσο στην κατανομή των αλληλίων 1 και 2 ($p<0,001$) όσο και των γονοτύπων 1,1 και 2,2 ($p<0,05$). Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν πιθανή συμμετοχή της presenilin στην αιτιοπαθογένεια της ΠΜΣ.

GENOTYPING OF PRESENILINE-1 POLYMORPHISM IN AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

Floroskoufi P., Vassilopoulos D., Panas M., Karadima G., Petersen M.B., Aleporou-Marinou V., Patargias Th.

Department of Neurology of Athens University, Eginitiion Hospital, Greece

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative motor neuron disorder of unknown etiology. Recently, have been shown that there is strong association between Alzheimer's disease (AD) and the Presenilin-1 (PS-1) intron 8 polymorphism alleles.
To determine whether PS-1 intron polymorphism have an influence in other neurodegenerative disorders we studied PS-1 intron polymorphism genotypes in 72 ALS patients (70 sporadic and 2 familial) compared with controls. We also compared PS-1 alleles regarding clinical criteria. The frequency of PS-1 genotypes was statistical different between ALS and controls. The results show an association of the alleles (1,2) ($p<0,001$) and the genotypes (1,1 and 2,2) ($p<0,05$) with ALS. These results suggest that PS-1 intervenes to the pathogenesis of ALS.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ ΣΤΗΝ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΩΛΗΝΙΣΚΩΝ ΣΤΑ ΔΙΑΙΡΟΥΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΑΚΡΟΡΡΙΖΟΥ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *Triticum turgidum*. Ι ΜΙΤΩΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Φραντζιός Γ., Γαλάτης Β., Αποστολάκος Π.

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 15784

Η τοξική δράση του αργιλίου (Al) αποτελεί σημαντικό παράγοντα μείωσης της φυτικής παραγωγής σε όξινα εδάφη. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε με ανοσοσήμανση της σωληνίνης και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο η δράση του Al στα διαιρούμενα κύτταρα ακρορρίζου του φυτού *Triticum turgidum*. Το Al, επηρεάζοντας τους μηχανισμούς οι οποίοι ελέγχουν την οργάνωση του κυτταροσκελετού των μικροσωληνίσκων (ΜΣ), καθώς επίσης και την πορεία πολυμερισμού της σωληνίνης, προκαλεί τις παρακάτω διαταραχές στα μιτωτικά κύτταρα: 1) Επιβραδύνει την αποσυγκρότηση των ΜΣ κατά τη διάρκεια της μίτωσης. 2) Επηρεάζει την πορεία αυτο-οργάνωσης των ΜΣ σε διπολικά συστήματα, με αποτέλεσμα την ανάσχεση δημιουργίας προφασικής και μεταφασικής/αναφασικής ατράκτου. 3) Επάγει τη δημιουργία ατύπων συστημάτων ΜΣ, συμπεριλαμβανομένων και ανωμάλων προ-προφασικών ζωνών ΜΣ, οι οποίες αποτελούνται από περιφερειακές και περιπυρηνικές δέσμες ΜΣ. 4) Αναστέλλει τις κινητικές δραστηριότητες της ατράκτου. 5) Σε παρατεταμένους χρόνους επίδρασης αναστέλλει τη συμπύκνωση της χρωματίνης. Αποτέλεσμα των παραπάνω φαινομένων είναι αφ'ενός μεν οι έντονες διαταραχές της οργάνωσης και λειτουργίας της μιτωτικής συσκευής, αφ'ετέρου δε η ανάσχεση της εισόδου των κυττάρων σε κυτταρικό κύκλο. Τα δεδομένα υποστηρίζουν την άποψη ότι ο κυτταροσκελετός των ΜΣ είναι μία από τις κύριες θέσεις δράσης του Al στα διαιρούμενα κύτταρα ακρορρίζου του φυτού *Triticum turgidum*.

ALUMINIUM EFFECTS ON MICROTUBULE ORGANIZATION IN DIVIDING ROOT-TIP CELLS OF *Triticum turgidum*. I MITOTIC CELLS

Frantzios G., Galatis B., Apostolakos P.

University of Athens, Faculty of Biology, Department of Botany, Athens 15784

Aluminium (Al) phytotoxicity is a major factor limiting crop productivity on acid soils. In this report the effects of Al on dividing root-tip cells of *Triticum turgidum* were investigated with tubulin immunolabeling and electron microscopy. The Al, affecting the mechanisms controlling the organization of microtubule (Mt) cytoskeleton as well as tubulin polymerization, induces the following phenomena in the mitotic cells: (a). Delays the Mt disassembly during the mitosis with the result the persistence of the preprophase Mt bands (PMBs) in late-prophase cells, the presence of the prophase spindle in prometaphase cells and the disturbance of the kinetochore Mt bundle shortening in anaphase cells. (b). Affects the self-organization process of Mts into bipolar systems. This results in the inhibition of prophase and metaphase spindle formation. (c). Induces the formation of atypical Mt systems. They appear in the immunofluorescent specimens as ring-like tubulin aggregations in the cortical cytoplasm of the preprophase/prophase cells, as tubulin bundles in the endoplasm of the prophase and metaphase/anaphase cells, as well as of abnormal PMBs consisting of cortical and perinuclear Mt-bundles. (d). Inhibits the kinetic activities of the mitotic spindle. In addition, chromatin condensation is inhibited in root-tip cells undergone prolonged Al-treatments. The consequence of the above phenomena is the serious disturbance in the organization and function of the mitotic apparatus as well as the inhibition of entrance of the cells in mitosis. The findings of this study show clearly that the Mt cytoskeleton is a target site of Al-toxicity in dividing root-tip cells of *Triticum turgidum*.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

Η ΕΠΑΓΩΓΗ ΚΑΙ Η ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΘΡΑΥΣΕΩΝ ΤΟΥ DNA ΣΕ γ-ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΜΕΝΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΑ ΜΟΝΟΠΥΡΗΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΙΜΑΤΟΣ (PBMC)

Χαβελές Κ.Σ.[1], Βισβάρδης Ε.Ε.[1], Κατσώρχης Θ.[2], Μαργαρίτης Λ.Χ.[2], Σοφιανοπούλου Β.[1] και Ε.Γ. Σιδέρης[1]

[1]ΕΚΕΦΕ "Δημόκριτος", Ινστ. Βιολογίας, Αγ. Παρασκευή, 15310
[2]Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής, Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 84

Το DNA είναι ο κυριότερος στόχος θανατηφόρων αλλοιώσεων που επάγονται από τις ενεργές ρίζες οξυγόνου (ROS) οι οποίες προκύπτουν μέσω ποικίλλων ογειδοαναγωγικών βιοχημικών μονοπατιών κι έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μονόκλωνων και δίκλωνων θραύσεων στο DNA (ssbs and dsbs). Τέτοιου είδους αλλοιώσεις επάγονται από την ιονίζουσα ακτινοβολία και είναι ιδιαίτερα σημαντικές για την σταθερότητα και την ακεραιότητα των DNA μορίων. Στην παρούσα εργασία γίνεται χρήση κατάλληλου *ex vivo* μοντέλου για τη μελέτη των επιπέδων των dsbs σε γ-ακτινοβολημένα περιφερικά μονοπύρηνα κύτταρα αίματος (PBMC), με τη βοήθεια των μεθόδων της Ηλεκτροφορήσεως Παλμικού Πεδίου (PFGE) και της Ηλεκτροφορήσεως Μεμονωμένων Κυττάρων (SCGE). Επί πρόσθετα, με κατάλληλες τροποποιήσεις της μεθόδου PFGE κατέστη δυνατός ο υπολογισμός των επιπέδων των ssbs και τα αποτελέσματα συγκρίνονται με τα αντίστοιχα δεδομένα της αλκαλικής μεθόδου της SCGE. Και οι δύο μεθοδολογίες πιστοποιούν σημαντική αύξηση των επιπέδων των dsbs σε δόσεις μεγαλύτερες των 5 Gy της γ-ακτινοβολίας, ενώ στις χαμηλότερες δόσεις αυξημένα επίπεδα ssbs παρατηρήθηκαν. Η σχέση μεταξύ των επιπέδων ssbs και dsbs καθώς και οι ποιοτικές διαφορές των κατανομών τους αναλύονται συστηματικά. Η χρήση του DMSO ως αδρανοποιητή ελευθέρων ριζών μειώνει την έμμεση δράση της ιονίζουσας ακτινοβολίας και τα επίπεδα των DNA θραύσεων λόγω της άμεσης δράσης υπολογίζονται..

THE INDUCTION AND DISTRIBUTION OF DNA STRAND BREAKS IN γ-IRRADIATED PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS (PBMC)

Haveles K.S.[1], Visvardis E.E.[1], Katsorchis Th.[2], Margaritis L.H.[2], Sophianopoulou V.[1] & E.G. Sideris[1]

[1]NCSR "Demokritos", Inst. of Biology, Aghia Paraskevi, 15310
[2]University of Athens, Department of Biology, Division of Cell Biology & Biophysics, Panepistimiopolis, Athens 157 01

DNA is the principal target for lethal effects of the reactive oxygen species (ROS) produced via various biochemical pathways, leading to DNA single and double strand breaks (ssbs and dsbs). Such lesions are critical concerning the integrity of the DNA molecules and they can be arisen following ionizing radiation. In the present work we have used an *ex vivo* model to study the yield of dsbs of γ-irradiated PBMC, using Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) and Single-Cell Gel Electrophoresis (SCGE). In addition, we have adapted the PFGE technique to evaluate the yield of ssbs and we have compared the results with the corresponding data from the alkaline SCGE. Both methods verify a significant increase at the yield of dsbs at doses higher than 5 Gy of γ-irradiation, while at lower doses an increased yield of ssbs was observed. The relationship between the yield of ssbs and dsbs and the qualitative differences between their distributions were systematically analyzed. Using DMSO as radical scavenger the indirect effects of ionizing radiation were eliminated and the DNA breaks due to direct effects were estimated.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ G6PDH ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗΣ ΟΔΟΥ Entner-Doudoroff ΤΟΥ ΒΑΚΤΗΡΙΟΥ *Z. mobilis*~ ΣΕ ΑΝΟΙΚΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Χάλκου Κ.Ι., Σαββίδης Α.Λ. και Α.Δ. Καραγκούνη

Τομέας Βοτανικής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15784, Αθήνα

Το βακτήριο *Zymomonas mobilis* είναι ο μόνος αναερόβιος οργανισμός που χρησιμοποιεί το μονοπάτι Entner-Doudoroff για να παράγει, ως μοναδικά προϊόντα, αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Τα ένζυμα που συμμετέχουν σε αυτή τη μεταβολική πορεία είναι δυνατό να αποτελούν έως και το 50% της ολικής διαλυτής πρωτε?νης του βακτηριακού κυττάρου.
Κατά τη μελέτη της αύξησης του Z. mobilis CP4 pDS315inaZ σε ανοικτά συστήματα καλλιέργειας με διάλυμα μελάσας, το δεύτερο ένζυμο της γλυκολυτικής οδού, η αφυδρογονάση της 6-ρ γλυκόζης παρουσίασε υψηλότερη ενεργότητα σε τάχη αύξησης $0.04H^{-1}$ και $0.06h^{-1}$ Η G6PDH δρα σε ένα από τα 3 πρώτα στάδια της μεταβολικής οδού Entner-Doudoroff και συμβάλλει στη ρύθμιση της "ροής" των οργανικών ενώσεων και στην παραγωγή αιθανόλης, ελέγχοντας κατά κάποιο τρόπο τη φυσιολογία και βιοχημεία του οργανισμού.

STUDY OF THE ENZYME G6PDH OF THE Entner-Doudoroff PATHWAY OF *Z. mobilis* IN CONTINUOUS-FLOW CULTURE

Cbalkou K.J., Savvidis A.L. & A.D. Karagouni

Dept. of Botany, Faculty of Biology, University of Athens,15784, Athens, Greece

Zymomonas mobilis is the only organism using the Entner - Doudoroff pathway anaerobically, to produce ethanol and carbon dioxide as the sole metabolic products. The enzymes that are responsible for this fermentation may compose as much as 50% of the total soluble protein of the bacterial cell.
During the study of growth of *Z mobilis* CP4 pDS3154inaZ in sugar beet molasses in a continuous-flow culture system, the second enzyme of the glycolytic pathway, glucose-6P dehydrogenase, appeared to have higher activity at $0.04h^{-1}$ and $0.06h^{-1}$ dilution rates. Governing one of the first 3 steps of the Entner-Doudoroff pathway, G6PDH, contributes to the regulation of carbon flux and ethanol production, dictating in some way the physiology and biochemistry of the organism.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΣΤΗ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΜΥΚΗΤΑ *Alternaria alternata* ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΗΣ ΑΦΙΔΑΣ *Aphis nerii* (HOMOPTERA, APHIDIDAE)

Χατζήπαπας Π. και Χρ. Χριστιάς

Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας, Εργ. Γεν. Μικροβιολογίας, 26500 Ρίο

Η θερμοκρασία σε συνδυασμό με την υγρασία αποτελούν τους δύο σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν την παθογένεια των παθογόνων μυκήτων. Στην συγκεκριμένη εργασία εξετάστηκε η παθογόνος ικανότητα του στελέχους Α 24k του εντομοπαθογόνου μύκητα *Alternaria alternata* στην αφίδα *Aphis nerii* στις θερμοκρασίες 15-20-25-30-38°C και σταθερή Σχετική Υγρασία 100%. Η επίδραση φαίνεται πως είναι ανάλογη της θερμοκρασίας. Στους 15°C το LT_{50} είναι μεγαλύτερο από 6 ημέρες ενώ στους 30°C είναι περίπου 2 ημέρες. Η διαφορά είναι αναμενόμενη καθώς η ανάπτυξη του μύκητα σε χαμηλή θερμοκρασία είναι περιορισμένη και τα περιθώρια δραστηριοποίησης του αμυντικού μηχανισμού του εντόμου μεγαλύτερα. Η δράση του μύκητα φαίνεται να ευνοείται σε εύρος θερμοκρασιών από 20 έως 30°C καθώς το LT_{50} μειώνεται κατά μία μέρα για κάθε 5°C αύξηση της θερμοκρασίας. Στους 38°C μολυσμένα άτομα και μάρτυρες πέθαναν μετά 24 ώρες σε ποσοστό 100%. Επώαση των μολυσμένων (νεκρών) ατόμων για 72 ώρες στους 25°C και Σ.Υ. 100% δεν έδειξε ανάπτυξη του μύκητα υποδηλώνοντας ότι ο θάνατος προήλθε καθαρά λόγω της πολύ υψηλής θερμοκρασίας και όχι λόγω της δράσης του μύκητα. Η μέγιστη γονιμότητα των αφίδων επιτυγχάνεται στους 25°C και μειώνεται αντίστοιχα στους 20 και 30°C καθώς οι μέτριες τιμές θερμοκρασίας ευνοούν την ανάπτυξή τους. Τα μολυσμένα άτομα εμφανίζουν σημαντικό αριθμό γεννήσεων τις 1-2 πρώτες ημέρες από την μόλυνση. Σαν συμπέρασμα προκύπτει ότι ο συγκεκριμένος μύκητας μπορεί να ελέγξει αποτελεσματικά τις αφίδες σε θερμοκρασία υψηλότερη των 20°C με βέλτιστη αυτή των 30°C που συμπίπτει με το σύνηθες θερμοκρασιακό άριστο των αφίδων στη φύση.

INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE VIRULENCE OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Alternaria alternata* AGAINST THE APHID *Aphis nerii* (HOMOPTERA, APHIDIDAE)

Hatzipapas P. & Chr. Christias

University of Patras, Dept. of Biology, Lab. of General Microbiology,
26 500 Rio, Patras

Temperature and Relative Humidity are the two most important factors which affect the virulence of fungal pathogens. In this work the virulence of the strain A 24k of the entomopathogenic fungus *Alternaria alternata* against the aphid *Aphis nerii* was studied at 5 temperature regimes (15-20-25-30-38°C) and Relative Humidity 100%. The infection was proportional to the increase in temperature. At 15°C, the LT_{50} was greater than 6 days while at 30°C it was about 2 days. The difference appears reasonable because of the limited development of the fungus at low temperature and the increased possibilities for activation of the insect's defensive mechanisms. The influence was greater at temperatures between 20 and 30°C where the decrease in the LT_{50} was 1 day per 5°C increase in temperature. At 38°C, 100% of treated and untreated aphids died after 24 hours. Incubation of dead treated aphids at 25°C and R.H. 100% for 72 hours did not show development of the fungus which means that death was the result of the high temperature. The highest fecundity rate occurred at 25°C. Thereafter it was reduced at 20 and 30°C respectively, as the moderate temperature favors the growth of aphids. Treated aphids also show remarkable fecundity rate even 3 days after infection. As a conclusion we can say that *A. alternata* is able to control aphids effectively at temperature between 20°C and 30°C which coincides with the optimum temperature for the growth of aphids. The highest mortality rate soon after infection was recorded at 30 °C.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΚΡΑΝΙΑΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΣΕ ΑΡΧΑΙΟΥΣ ΚΥΠΡΙΑΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ

Χειλέτης Χ., Μισύρης Δ., Γεωργιακάκης Π., Ζαφειράτος Κ. και Σ.Κ. Μανώλης

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

Οι κρανιακές μετρήσεις είναι το αποτέλεσμα μιας συνεχούς αλληλεπίδρασης μεταξύ του γονοτύπου και του περιβάλλοντος. Αποτελούν ένα συνδυασμό άγνωστων ποσοστών ενός περιβαλλοντικού κι ενός κληρονομικού συστατικού, που μερικές φορές επηρρεάζεται από τη φυσική επιλογή. Αν και οι μετρικοί χαρακτήρες έχουν ένα χαμηλό συντελεστή κληρονομικότητας (H2 = 0.50-0.70) η αξία των σκελετικών μετρήσεων στην αναπαράσταση της δομής ενός παρελθοντικού πληθυσμού είναι αξιοσημείωτη. Παραδοσιακά αυτές οι μετρήσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για να καθορίσουν «φυλετικούς τύπους» οι οποίοι υποτίθεται ότι είναι σταθεροί για μεγάλα χρονικά διαστήματα.
Σε μια πληθώρα μελετών αυτή η άκαμπτη τυπολογική προσέγγιση έχει περιορίσει τη μελέτη των κρανιακών δειγμάτων εστιάζοντας σε μια μονομεταβλητή ανάλυση, περιορίζοντας την εικόνα της ανθρώπινης ποικιλομορφίας. Στις πρόσφατες δεκαετίες έχει εμφανιστεί μια αυξημένη ποσότητα κρανιομετρικών δεδομένων από διάφορα δείγματα Κυπριακών πληθυσμών, τα οποία όμως δεν έχουν αναλυθεί με εξελιγμένες στατιστικές τεχνικές.
Στην παρούσα εργασία αναλύθηκαν τα κρανιακά δεδομένα από διαφορετικούς πληθυσμούς της αρχαίας Κύπρου, σε μια προσπάθεια να εξάγουμε κάποια συμπεράσματα για την ιστορία της Κύπρου.
Η Κύπρος σύμφωνα με τα αρχαιολογικά δεδομένα εποικίστηκε στην πρώιμη Νεολιθική περίοδο (Χοιροκιτία). Έκτοτε παρέμεινε σχετικά απομονωμένη και δέχθηκε κύματα μεταναστών μετά το τέλος της εποχής του Χαλκού. Τα ανθρωπολογικά συμπεράσματα συμφωνούν με τα μέχρι σήμερα αρχαιολογικά δεδομένα.

CRANIAL VARIATION IN ANCIENT CYPRIOT POPULATIONS

Chiletis Ch., Misiris D., Georgiakakis P., Zafiratos C.S. & S.K. Manolis

Department of Human and Animal Physiology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens, Ellas

Skeletal measurements are the product of a continuous interaction between the genotype and the environment. They constitute a combination of unknown proportions of one environmental and one hereditary component, sometimes affected by natural selection. Unlike metrical characters have a low heritability coefficient (H^2 = 0.50-0.70) the value of the skeletal measurements in reconstructing the population structures in the past is considerable. Traditionally, these measurements have been used to define "racial types" which were assumed to be constant over long periods of time. On a plethora of studies this rigid typological approach has limited the study of cranial samples to a univariate focus, restricting the view of the human variation.

In recent decades a growing body of cranio-metric data of different samples from Cyprus has appeared, although these data have not been subjected to an advanced statistical treatment.

In the present study, cranial measurements from different human populations from Cyprus, has been analyzed statistically by Principal Components, in an attempt to draw inferences about the history of the island.

It seems that Cyprus colonized by Neolithic immigrants from Asia Minor or Mainland Ellas (Aegean area), and for the next 6-7 millenia it was isolated. During the late phases of the Bronze Age Era new waves of immigrants invaded the island.

ΠΡΟΤΥΠΑ ΕΠΟΧΙΑΚΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ

Χειμωνοπούλου Θ.Μ., Βώκου Δ.

Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας ΑΠΘ

Τρία είδη της οικογένειας Lamiaceae, εκπρόσωποι φτωχών, ενδιάμεσων και πλούσιων σε αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών, επελέγησαν γι αυτή τη μελέτη και συγκεκριμένα τα *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* (Ευρασιατικό), *Thymus longicaulis* (Υπομεσογειακό) και *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* (Μεσογειακό). Η εργασία είχε ως στόχο την ανίχνευση των προτύπων εποχιακής μεταβολής των αιθερίων ελαίων τους. Ειδικότερα για τη λεβάντα, το πλουσιότερο σε αιθέρια έλαια αρωματικό φυτό, η μελέτη επεκτάθηκε και στην σύγκριση της συγκέντρωσης των αιθερίων ελαίων με τα χαρακτηριστικά αύξησης και φυλλόπτωσης. Οι δειγματοληψίες για το θυμάρι (Βέρμιο) και τη λεβάντα (Χαλκιδική) γίνονταν σε μηνιαία βάση ενώ για το *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* (Βέρμιο) σε εποχιακή και διήρκεσαν από το Νοέμβριο 1997 έως το Νοέμβριο 1998. Η απόδοση σε αιθέρια έλαια προσδιορίστηκε με απόσταξη σε συσκευή Clevenger και εκφράστηκε ως ml/100gr ξηρού βάρους. Φύλλα και ταξιανθίες αναλύθηκαν ξεχωριστά. Και τα τρία φυτά παρουσιάζουν σημαντικές αυξομειώσεις της συγκέντρωσης των αιθερίων ελαίων των φύλλων τους, που όμως δεν συμπίπτουν χρονικά, με το λόγο των υψηλότερων προς τις χαμηλότερες τιμές να είναι 2,5 για το *O. vulgare* subsp. *vulgare* και τη λεβάντα και 8 για το θυμάρι. Επιπλέον, σε όλα οι ταξιανθίες περιέχουν πολύ μεγαλύτερη ποσότητα αιθερίων ελαίων απ' ό,τι τα φύλλα και είναι χαρακτηριστικό ότι η εμφάνισή τους συμπίπτει με μείωση της απόδοσης των φύλλων. Ειδικότερα για τη λεβάντα, το πρότυπο μεταβολής της συγκέντρωσης των αιθερίων ελαίων των ταξιανθιών συμπίπτει με το αυξητικό πρότυπο. Οι ταξιανθίες, λίγο πριν πέσουν έχουν σχεδόν μηδενική συγκέντρωση αιθερίου ελαίου, σε αντίθεση με τα φύλλα, που αρχίζουν να πέφτουν ήδη από τον Απρίλιο και τα οποία συνεχίζουν να έχουν υψηλές αποδόσεις (~ 3ml/100 g).

SEASONAL PATTERNS OF ESSENTIAL OIL YIELD OF AROMATIC PLANTS

Heimonopoulou Th. M., Vokou D.

Department of Ecology, School of Biology AUTH

Three Lamiaceae species, representatives of poor, intermediate, and rich in essential oils aromatic plants were studied, *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* (Eurasiatic), *Thymus longicaulis* (Submediterranean) and *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* (Mediterranean), respectively, with the goal of detecting the pattern of seasonal change of their essential oil yield. For lavender, in particular, the richest of the three aromatic plants, growth and leaf fall features were also studied. Sampling took place every month for thyme (from Mt Vermion) and lavender (from Halkidiki) and seasonally for *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* (from Mt Vermion), from November 1997 to November 1998. Essential oil yield was estimated after distillation in Clevenger apparatus and was expressed in ml/100g dry weight; leaves and inflorescences were analyzed separately. All three aromatic plants were characterized by considerable changes of the amount of essential oil in their leaves. The ratio of the highest to the lowest values was 2.5 for *O. vulgare* subsp. *vulgare* and 8 for thyme. In addition, inflorescences contained higher amounts of essential oils than leaves; it is noticeable that the appearance of flowers was accompanied by a decrease of the essential oil content in leaves. In lavender, the pattern of change of the essential oil content in inflorescences was similar to the growth pattern. Before their fall, inflorescences had almost non-detectable amounts of essential oils whereas the leaves, starting to fall in April, continued to contain large amounts (approximately 3ml/100 g).

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΟΡΓΑΝΩΣΗ, ΕΞΕΛΙΞΗ ΚΑΙ ΕΚΦΡΑΣΗ ΜΙΑΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΑΡΡΕΝΟ-ΕΙΔΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΤΗ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΜΥΓΑ *C. capitata*

Χριστοφίδης Γ., Πανταζοπούλου Τ., Μυλωνάς Σ. και Κ. Κομητοπούλου

Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μα ομάδα γονιδίων που κωδικοποιούν αρρενοειδικά πολυπεπτίδια (MSSP) στη μεσογειακή μύγα απομονώθηκαν και χαρτογραφήθηκαν σε μια χρωμοσωμική περιοχή μήκους 32 kb. Τα γονίδια *msspa1* και *msspa2* κωδικοποιούν συγγενή πολυπεπτίδια τύπου -α ενώ τα *msspβ1*, *β2* και *β3* όμοια πολυπεπτίδια τύπου -β.
Ο κλώνος cDNA ενός νέου γονιδίου που ανήκει στην ομάδα των *mssp* απομονώθηκε με RT-PCR. Το γονίδιο αυτό (*msspγ*) παρουσιάζει απόκλιση από τα *α* και *β* της τάξης του 29% σε νουκλεοτιδικό επίπεδο, και 47% στην προβλεπόμενη αμινοξική τους αλληλουχία. Αρχικά αποτελέσματα έδειξαν την ύπαρξη δύο αντιγράφων των *msspγ* που χαρτογραφούνται στην ίδια περιοχή με τα *msspa* και *β*.
Μελέτη του προτύπου σύνθεσης των μορίων mRNA και των αντίστοιχων πολυπεπτιδίων MSSP με ανάλυση κατά Northern και Western, έδειξε ότι τα γονίδια εκφράζονται κυρίως στο λιπαρό σωμάτιο ενήλικων αρσενικών ατόμων. Ωστόσο χαμηλά επίπεδα mRNA και πολυπεπτιδίων ανιχνεύτηκαν τόσο στο λιπαρό σωμάτιο των θηλυκών όσο και στα κύτταρα του πεπτικού σωλήνα ατόμων και των δύο φύλων.
Εξελικτική μελέτη των γονιδίων *mssp* έδειξε ότι προήλθαν από πρόσφατους διπλασιασμούς και εμφανίζουν ομοιότητα με την ομάδα πρωτεϊνών των εντόμων που δεσμεύουν φερομόνες και άλλα πτητικά μόρια. Ένα ομόλογο γονίδιο απομονώθηκε από το είδος *Ceratitis rosa* και εμφανίζει μεγαλύτερη εξελικτική συγγένεια με το *msspγ*.
Επέκταση της μελέτης των *mssp* και σε άλλους γεωγραφικούς πληθυσμούς της μεσογειακής μύγας, έδειξε την ύπαρξη έντονων πολυμορφισμών, ιδιαίτερα στις περιοχές των εσονίων, οι οποίοι θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες προέλευσης πληθυσμών.

ORGANIZATION, EVOLUTION AND EXPRESSION OF A MALE SPECIFIC GENE FAMILY IN THE MEDFLY *Ceratitis capitata*

Christophides G., Pantazopoulou T., Mylonas S. & K. Komitopoulou

Department of Genetics and Biotechnology, School of Biology, University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens, Ellas

A multigene family consisting of five genes encoding male specific polypeptides (MSSP) was isolated from the medfly. All five *mssp* genes are clustered in a 32 kb genomic region. Two of them, *msspa1* and *msspa2*, encode very closely related MSSP-α polypeptides, , while the other three, *mspβ1*, *β2* and *β3*, encode identical MSSP-β polypeptides,.

A new *mssp* gene (*msspγ*) isolated by RT-PCR shows 29% divergence in nucleotide sequence and 47% divergence in the deduced aminoacid sequence compared with *msspa* και *β*. Preliminary results indicate the presence of two *msspγ* genes located in the same region as the *a* and *β*.

The pattern of mRNA and polypeptide synthesis obtained by Northern blot and Western blot analysis revealed that *mssp* genes are mainly expressed in the fat body of adult males. However, low expression levels were observed in the fat body of adult females and the epithelial cells of the midgut in both sexes.

Phylogenetic analysis suggests that *mssp* genes were originated by recent duplication events. MSSP polypeptides show significant homology with members of insects pheromone and odorant binding protein family. A homologous gene isolated from *Ceratitis rosa* is evolutionary related with *msspγ*.

Extension of the study of *mssp* genes in different geographic populations showed the existence of high polymorphism rate especially among the introns which could be used to establish molecular markers in order to understand the origin of the populations.

Πρακτικά 21ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Β.Ε.
Γαλησσάς Σύρου, 28-31 Μαΐου 1999

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΙΝΗΤΩΝ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ *msspa2* ΚΑΙ *msspβ2* ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΜΥΓΑΣ ΜΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ IN VIVO ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ

Χριστοφίδης Γ.[1], Σαββάκης Χ.[2] και Κ. Κομητοπούλου[1]

[1]Τομέας Γενετικής και Βιοτεχνολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών
[2]Ι.Μ.Β.Β., Ι.Τ.Ε., Ηράκλειο, Κρήτη

Τα γονίδια *mssp* της μεσογειακής μύγας *Ceratitis capitata* που κωδικοποιούν τα αρρενοειδικά πολυπεπτίδια MSSP είναι μέλη μιας πολυγονιδιακής οικογένειας και οργανώνονται σε μια περιοχή 32 kb.
Οι υποκινητές που ρυθμίζουν την έκφραση των αρρενοειδικών γονιδίων μελετήθηκαν με πειράματα *in vivo* μετασχηματισμού, στη μεσογειακή μύγα. Η μελέτη των μετασχηματισμένων στελεχών που προέκυψαν έδειξε ότι, ο υποκινητής του γονιδίου *a2* κατευθύνει την έκφραση του γονιδίου αναφοράς *lacZ* στο λιπαρό σωμάτιο των ενήλικων αρσενικών ατόμων, ενώ ο υποκινητής του *β2* εκφράζει το γονίδιο *lacZ* στα κύτταρα του πεπτικού σωλήνα σε άτομα και των δύο φύλων. Τα cis-ρυθμιστικά στοιχεία που ελέγχουν τη φυλοειδική, ιστοειδική και χρονοειδική έκφραση των δύο γονιδίων εντοπίζονται στις περιοχές από -283 έως +37 για το *msspa2* και -287 έως +37 για το *msspβ2*, ενώ στις περιοχές από -521 έως -284 για το *a2* και -485 έως -288 για το *β2* υπάρχουν στοιχεία που δρούν ως ενισχυτές της μεταγραφής
Με τελικό στόχο τη γενετική διαλογή φύλου, ένα τμήμα του υποκινητή του *msspa2* χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή διαγονιδιακών στελεχών της μεσογειακής μύγας που εκφράζουν το γονίδιο της αλκοολικής αφυδρογονάσης της *D.melanogaster* στα αρσενικά μόνο άτομα. Η έκφραση του ενζύμου σε μεγάλες ποσότητες, αναμένεται ότι θα προσφέρει αυξημένη αντοχή στα αρσενικά άτομα σε έναν τοξικό παράγοντα, την αιθανόλη. Η μέχρι τώρα μελέτη των διαγονιδιακών στελεχών έδειξε ότι το ένζυμο είναι λειτουργικό και στη μεσογειακή μύγα.

FUNCTIONAL ANALYSIS OF THE *msspa2* AND *msspβ2* PROMOTERS BY MINOS-MEDIATED GERMLINE TRANSFORMATION IN THE MEDFLY

Christophides G.[1], Savakis C.[2] & K. Komitopoulou[1]

[1]Department of Genetics and Biotecnology, School of Biology, University of Athens
[2]I.M.B.B., ITE., Heraklion, Crete

The *mssp* genes of the medfly *Ceratitis capitata* encoding the male specific polypeptides MSSP-α and MSSP-β are members of a multigene family clustered in a 32 kb genomic region.

For functional characterization of *mssp* promoters, fragments of *msspa2* and *msspβ2* 5' flanking regions were fused to the reporter gene *lacZ* and the fusions were introduced into *C. capitata* via Minos element mediated germline transformation.

Analysis of the established transgenic lines showed that *msspa2* promoter drives male specific-fat body expression of the reporter gene (*lacZ*), while *msspβ2* promoter directs the expression of *lacZ* in the midgut epithelial cells in both sexes. The cis-regulatory elements controlling sex, tissue and temporal specific expression of the two genes, are located within the promoter regions from -283 to +37 of *msspa2* and from -287 to +37 of *msspβ2*. In addition, regions flanking the previous ones from -284 to -521 of *a2* and -288 to -485 of *β2*, contain elements acting as transcriptional enhancers. The same plasmids were introduced by transformation into the germline of D. melanogaster. Surprisingly, both promoters drive the expression of the *lacZ* in the midgut of adult flies.

In order to establish a genetic sexing strain of the medfly, a 320 bp fragment of *msspa2* promoter, was fused to the *Drosophila* alcohol dehydrogenase gene (*adh*). Expression of *adh* exclusively in medfly adult males might serve to increase their resistance to toxic quantities of ethanol. The study of the transformed lines, so far, revealed that the transgenic enzyme is functional in the medfly.

ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΜΑΚΡΟΦΥΚΗ ΚΑΙ ΘΗΡΕΥΣΗ ΣΤΟ ΒΙΟΤΟΠΟ ΤΗΣ ΑΓΙΑΣ ΤΡΙΑΔΑΣ ΣΤΟΝ ΚΟΛΠΟ ΤΟΥ ΘΕΡΜΑΪΚΟΥ

Χρυσοπολίτου, Β., Τσιρίκα, Α., Τσούκα, Β. και Σ. Χαριτωνίδης

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, 54006 Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Ο ρυθμός αύξησης των ειδών *Ulva rigida*, *Gracilaria verrucosa*, *Dictyota dichotoma* και *Punctaria latifolia* μελετήθηκε σε συνδυασμό με τη θήρευση αυτών, στο πεδίο (βιότοπος Αγίας Τριάδας-Θερμαϊκός Κόλπος), για τη χρονική περίοδο Οκτώβριος 1998-Φεβρουάριος 1999. Έγιναν μετρήσεις της μεταβολής της νωπής βιομάζας μετά από διάστημα μιας εβδομάδας. Χρησιμοποιήθηκαν ειδικά δίχτυα με διαφορετικό άνοιγμα πόρων και δίχτυα-μάρτυρες με άνοιγμα πόρων, τέτοιο που να αποκλείει τη θήρευση. Η μεγαλύτερη αύξηση της νωπής βιομάζας παρατηρήθηκε στα δίχτυα-μάρτυρες και στα τέσσερα είδη, με πρώτο την *P. latifolia*, ενώ ακολουθούν η *G. verrucosa*, η *D. dichotoma* και τέλος η *U. rigida*. Τα αποτελέσματα αυτά συμβαδίζουν με τους εποχιακούς ρυθμούς αύξησης των συγκεκριμένων ειδών. Τα μεγαλύτερα ποσοστά θήρευσης παρατηρήθηκαν στα δίχτυα με τα μεγαλύτερα ανοίγματα πόρων, ενώ διαπιστώθηκε μια σειρά τροφικής προτίμησης των θηρευτών, η οποία είναι: *U. rigida* > *G. verrucosa* > *P. latifolia* > *D. dichotoma*.

MARINE MACROALGAE AND GRAZING IN THE BIOTOPE OF AGIA TRIADA, THERMAIKOS GULF

Chrisopolitou V., Tsirika A., Tsouka V. & S. Haritonidis

Aristotle University of Thessaloniki, Department of Biology, Institute of Botany, 54006 Thessaloniki, Greece

The growth rate of the species *Ulva rigida*, *Gracilaria verrucosa*, *Dictyota dichotoma* and *Punctaria latifolia* has been studied in reference to grazing, in the field (biotope of Agia Triada-Thermaikos Gulf) from October 1998 to February 1999. During the study, changes of wet biomass were measured after a period of a week. In order to study the grazing, special cages with various mesh sizes and similar control-cages with a mesh size, that prevents grazers from entering the cages, were used. The greatest growth rate has been observed in the control-cages for all the species that have been studied, with a maximum value in *P. latifolia*, following *G. verrucosa*, *D. dichotoma* and *U. rigida*. Those results accord with the seasonal growth rates of the specific species. The greater grazing rates were observed in the cages with the larger mesh sizes. There has also been noticed food preference among the grazers, that goes as follow: *U. rigida* > *G. verrucosa* > *P. latifolia* > *D. dichotoma.*

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ PRESENILIN-1 ΣΕ ΔΕΙΓΜΑ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Ψαρρού Ο., Βασιλόπουλος Δ., Πάνας Μ., Καραδήμα Γ., Petersen Μ.Β., Αλεπόρου-Μαρίνου Β., Παταργιάς Θ.

Νευρολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Αιγινήτειο Νοσοκομείο

Η προσπάθεια αυτή αποτελεί μέρος γενικότερης μελέτης με θέμα την κατανομή πολυμορφικών δεικτών των γονιδίων γήρανσης (APOE, PS-1) στον Ελληνικό πληθυσμό. Το γονίδιο της presenilin-1 (PS-1), βρίσκεται στο χρωμόσωμα 14 και υπάρχουν πρόσφατες ενδείξεις ότι μεταλλαγές του γονιδίου συνδέονται με την αιτιοπαθογένεια της νόσου του Alzheimer (AD). Επίσης έχει διαπιστωθεί συσχέτιση μεταξύ κάποιων πολυμορφισμών του γονιδίου PS-1 και της AD. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο πολυμορφισμός που βρίσκεται στο εσόνιο του 3' άκρου του εξονίου 8 (intron-8 polymorphism). Ο πολυμορφισμός αυτός έχει δύο αλλήλια. Το αλλήλιο 1 που είναι το πιο συχνό και το αλλήλιο 2 που δημιουργείται με την αντικατάσταση μιας αδενίνης Α από μια κυττοσίνη C. Σκοπός της παρούσης μελέτης είναι ο καθορισμός της κατανομής των αλληλίων 1 και 2 στον Ελληνικό πληθυσμό. Το υλικό αποτέλεσαν 192 υγιείς Έλληνες εθελοντές αιμοδότες (142 άνδρες και 50 γυναίκες). Η μέση ηλικία ήταν 35,5 $\pm$ 11,3 έτη. Η γονοτύπωση του πολυμορφισμού της PS-1 έγινε με χρήση αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR), πέψη με περιοριστικό ένζυμο και ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης. Οι συχνότητες των αλληλίων 1 και 2 είναι 239 και 145 αντίστοιχα. Τα αποτελέσματά μας δεν φαίνεται να διαφέρουν από τα αντίστοιχα μελετών σε άλλους Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς.

GENOTYPING OF PRESENILINE-1 POLYMORPHISM IN GREEK POPULATIONS

Psarrou O., Vassilopoulos D., Panas M., Karadima G., Petersen M.B., Aleporou-Marinou V., Patargias Th.

Department of Neurology of Athens University, Eginitiion Hospital, Greece

In this work was researched the polymorphism of the aging genes (PS-1, ApoE) in the Greek population.
Mutations in the PS-1 gene on chromosome 14 cause a significant proportion of early-onset, autosomal dominant Alzheimer's disease. Recently have been shown that there is strong association between Alzheimer's disease (AD) and the Presenilin-1 (PS-1) intron 8 polymorphism alleles. The most common allele has an A at nucleotide 16 (allele 1) in the intron 3' to exon 8', whilst the variant allele has 9 C at this position (allele 2). A random sample of 192 individuals (mean age of onset 35,1 years, range 19-60 years).
142 men and 50 women were genotyped and used as a control group. All individuals of this sample were healthy Greek blood donors, visiting the National Blood Bank Center of the Nikea Regional General Hospital.
PS-1 genotypes were determined by polymerase chain reaction (PCR). The restriction enzyme was added to digest the PCR product, and the PS-1 alleles ere separated by electrophoresis on a 4% nusieve-agarose (3/1) gel. The PS-1 allele 1 and 2 frequencies are 239 and 145 corresponding. Our results seem not to be different from other European populations.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ α_{1D} - ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΕ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΑ ΜΥΟΚΥΤΤΑΡΑ ΑΠΟ ΚΑΡΔΙΑ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ

Σερασκέρης Στ. και Α. Λάζου
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τομέας Ζωολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.

Φαρμακολογικές μελέτες σε συνδυασμό με πειράματα μοριακής κλωνοποίησης έδειξαν την ύπαρξη τριών υποτύπων α_1-αδρενεργικών υποδοχέων στην καρδιά των θηλαστικών. Ο κύριος υποτύπος είναι ο α_{1B} ενώ ο α_{1A} εκφράζεται σε μικρότερο βαθμό. Και οι δύο αυτοί υποτύποι διεγείρουν την υδρόλυση των φωσφολιπιδίων της ινοσιτόλης (PI) προκαλώντας την παραγωγή δύο δευτέρων μηνυτόρων, της τριφοσφωρικής ινοσιτόλης και της διάκυλογλυκερόλης. Δεν υπάρχουν, όμως, σαφείς ενδείξεις για την ύπαρξη των α_{1D}-αδρενεργικών υποδοχέων στη καρδιά όπως επίσης και για τον μηχανισμό δράσης τους. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε ο ρόλος των α_{1D}-αδρενεργικών υποδοχέων σε απομονωμένα μυοκύτταρα καρδιάς αρουραίου. Εκτελέστηκαν πειράματα δέσμευσης σε μεμβράνες καρδιακών κυττάρων, ραδιενεργά σημασμένης [^{3}H]-πραζοσινης παρουσία αυξανόμενων συγκεντρώσεων BMY 7378, ενός ειδικού ανταγωνιστή των α_{1D} υποδοχέων. Απο τα πειράματα αυτά προέκυψε μια μονοφασική καμπύλη αναστολής με pIC_{50} 6.515 ± 0.112 . Επίσης μελετήθηκε η πιθανή συμμετοχή των α_{1D}- αδρενεργικών υποδοχέων στην υδρόλυση των φωσφολιπιδίων της ινοσιτόλης (PI). Για το σκοπό αυτό απομονωμένα καρδιακά μυοκύτταρα υποβλήθηκαν σε αδρενεργική διέγερση με αδρεναλίνη παρουσία αυξανόμενων συγκεντρώσεων BMY 7378. Η τιμή της pIC_{50} που προέκυψε ήταν 5.29 ± 0.182. Επιπλέον, η τιμή pA_2 μετά από ανάλυση Schild ήταν 6.08 ± 0.155. Δεδομένου ότι η pK_i του BMY 7378 για τους κλωνοποιημένους α_{1A}, α_{1B} και α_{1D} υποδοχείς είναι 6.1±0.03, 6.2±.001 και 8.2±0.11 αντίστοιχα, τα παραπάνω αποτελέσματα δεν δίνουν ενδείξεις για την ύπαρξη των α_{1D} αδρενεργικών υποδοχέων στα μυοκύτταρα της καρδιάς αρουραίου χωρίς όμως να αποκλείεται και η συμμετοχή τους σε πολύ μικρό ποσοστό το οποίο είναι δύσκολο να ανιχνευτεί.

CHARACTERIZATION OF α_{1D} - ADRENERGIC RECEPTORS IN ISOLATED MYOCYTES FROM RAT HEART

Seraskeris St. & A. Lazou
Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki

Pharmacological studies in combination with molecular cloning experiments identified three distinct subtypes of α_1 - adrenegic receptors in mammalian heart. The main subtype is α_{1B}, with α_{1A} being present in a lesser degree. Action of these two subtypes is mediated by PI hydrolysis followed by the production of two second messengers, inositol triphosphate (IP_3) and diacylglycerol (DAG). Little is known about the expression of α_{1D} and the signal transduction pathway coupled with this subtype in the heart. The aim of the present study was to characterize α_{1D} receptor subtype in isolated rat cardiac myocytes. BMY 7378, a selective antagonist of α_{1D} receptors, inhibited [^{3}H]-prazosin binding to membrane fractions of cardiac cells in a monophasic way with pIC_{50} 6.515 ± 0.112. Furthermore BMY 7378 antagonized the adrenaline induced PI hydrolysis in the same manner with pIC_{50} 5.29 ± 0.182. The pA_2 value from Schild analysis was 6.08 ± 0.155. Taking into account that BMY 7378 affinity (pKi) for the cloned $\alpha_{1A,}$ α_{1B} and α_{1D} subtypes is 6.1±0.03, 6.2±.001 and 8.2±0.11 respectively, these results do not suggest a role for α_{1D} receptors in rat heart myocytes. However, it is possible that these receptors are expressed in such low levels that make their characterization very difficult.

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ
INDEX

Α
Αβράμπου Α., 3,4
Αγγελή Ι.Κ., 1,2
Αγγελόπουλος Κ., 3,4
Αγγελοπούλου Β., 5,6
Αγνάντη Ν.Ι., 39,40
Αλαχιώτης Σ., 131,132,139,140,193, 194,195,196,241,242
Αλεπόρου-Μαρίνου Β., 5,6,315,316, 335,336
Αλυγιζάκη-Ζορμπά Αικ., 279,280
Αμάραντος Ι., 7,8
Αμίλλης Σ., 9,10
Αναγνώστης Α., 11,12
Αναστασιάδου Χρ., 141,142
Ανδριανόπουλος Κ., 13,14
Αντωνέλου Μ.Χ., 15,16,173,174
Αποστολάκος Π., 17,18,83,84, 317,318
Αποστολίδης Α.Π., 19,20, 123,124
Αποστολοπούλου-Μωραΐτου Μ., 85,86
Απτόσογλου Σ.Γ., 21,22
Αργυρός Σ., 65,66
Αρσενάκης Μ., 179,180

Β
Βαλάκος Ε.Δ., 45,46,93,94
Βάρφη, Β., 165,166
Βασάρα Ε., 23,24
Βασιλόπουλος Δ., 315,316, 335,336
Βασιλοπούλου Β., 105,106
Βαφείδης Δ., 141,142
Βέρρας Μ., 25,26
Βικτωράτος Π., 27,28, 29,30
Βισβάρδης Ε.Ε., 31,32, 319,320
Βλάσση Μ., 33,34
Βλάχου Τ., 35,36
Βολουδάκη - Μπαλτατζή Ε.Ε., 39,40,223,224
Βολουδάκης Γ., 223,224
Βοργιάς Κ.Ε., 37,38
Βρετού Ε., 261,262
Βυζά Αικ., 239,240
Βώκου Δ., 191,192,271,272,327,328

Γ
Γαβριήλ-Barry Α., 39,40
Γάγκου Μ.Ε,41,42,143,144
Γαζής Φ., 43,44,187,188
Γαϊτανάκη Κ., 1,2
Γαλάνης Γ., 93,94
Γαλανόπουλος Β., 153,154,213,214
Γαλάτης Β., 17,18,83,84,113, 114,115,116,317,318
Γερμανού Α., 45,46
Γεωργακόπουλος Θ., 293,294
Γεωργιακάκης Π., 325,326
Γεωργίου Β., 47,48
Γεωργούση Ζ., 161,162
Γιακουμέλου Α., 213,214
Γιαννακόπουλος Α., 165,166
Γιαννίτσαρος Α., 49,50
Γιαννόπουλος Γ., 245,246
Γιαννούλια Κ., 51,52
Γκανή-Σπυροπούλου Κ., 289,290
Γκαραμέτση Β., 53,54
Γκιώνης Β., 213,214
Γκούμας, Η., 165,166
Γολεμάτης Β.Χ., 39,40
Γουρζή Π., 25,26,55,56
Γραφάκος Σ., 27,28, 29,30
Γρηγοριάδου Μ., 267,268
Γυφτοδήμου Γ., 267,268

Δ
Δελιδάκης Χ., 247,248
Δημητριάδης Β.Κ., 57,58,63,64

Δημητριάδης Η., 113,114
Δημητρίου Ε., 59,60
Δημόπουλος Ν., 13,14
Δημοπούλου Α., 99,100
Δήμου Ι., 61,62
Διαλλινάς Γ., 9,10
Διαμαντόγλου Σ., 47,48
Δομουχτσίδου Γ., 57,58,63,64
Δούκα Α., 65,66
Δουκάκης Γ., 67,68
Δουρής Β., 69,70
Δραΐνας Δ., 295,296
Δροσοπούλου Ε., 71,72
Δρόσου Α., 73,74

Ε
Ελευθερίου Ε.Π., 75,76,299,300
Ευσταθίου Α., 77,78
Ευστρατίου Μ.Α., 79,80

Ζ
Ζαράνη Φ., 231,232
Ζαρκάδης Ι.Κ., 81,82,285,286
Ζαφειράτος Κ.,201,202,325,326
Ζαχαριάδης Μ., 83,84
Ζαχαριουδάκης Κ., 143,144
Ζαχαροπούλου Α., 25,26,55,56, 133,134
Ζενέτου Α., 243,244
Ζερβού Σ., 49,50
Ζερβουδάκη Σ., 85,86
Ζιώγα Μ., 87,88
Ζωγράφος Μ., 89,90

Η
Ηλιόπουλος Η., 237,238
Ηλιοπούλου-Γεωργουδάκη Ι., 91,92,135,136

Θ
Θάνος Κ.Α., 219,220
Θεολογίδης Γ., 93,94,121,122,163, 164,169,170,171,172,177,178, 229,230
Θεσσαλού-Λεγάκη Μ., 243,244
Θρασυβουλίδης Α., 95,96,97,98
Θωμόπουλος Γ.Ν., 99,100

Ι
Ιακωβίδου Ζ., 249,250

Κ
Καθάριος Π., 91,92
Καΐκας Β., 141,142
Καίσαρ Μ., 261,262
Καλιάφας Α., 167 168,175,176
Καλλιανιώτης Α. 141,142
Καλογιάννη Μ., 67,68
Καλόσακα Κ., 101,102
Καλπαξής Δ.Λ., 7,8,111,112
Καμούτσης Χ., 109,110
Κάμπερ Ε.Φ., 103,104
Κανδηλώρος Δ., 313,314
Κάντζαρης Β., 91,92
Καπόλας Γ., 137,138
Κάππας Α., 231,232
Καραγκίτσου Η., 105,106
Καραγκούνη Α.Α., 321,322
Καραδήμα Γ., 267,268
Καραδήμα Γ., 315,316,335,336
Καρακώτσιος Κλ., 141,142
Καραμπέρης Ε., 107,108, 109,110
Καραχάλιος Π., 111,112
Καραχλέ Π.,275,276
Καρκάσελη Ε., 253,254
Καρυοφύλλης Δ., 113,114, 115,116
Κασπίρης Π., 91,92
Κασπίρης Π.,117,118, 119,120, 259,260
Κατράνα Ε., 57,58

Κατσάνου Β., 121,122
Κατσαρές Β., 123,124
Κατσαρός Χ., 113,114, 115,116
Κατσέλης Γ., 59,60, 125,126
Κατσιώτης Α., 73,74,129,130
Κατσώρης Π., 127,128
Κεφαλιακού Μ., 175,176
Κίλιας Γ., 131,132,139,140,193, 194,195,196,241,242
Κίτσος Μ.-Σ., 141,142
Κίττας Χρ., 223,224
Κλαδάς Ι., 117,118
Κλώσσα-Κίλια Ε., 131,132,241,242
Κοκκινάκη Μ., 247,248,267,268
Κοκκίνη Σ., 191,192
Κοκκίνου Μ., 313,314
Κοκολάκης Γ., 25,26,133,134
Κολιάης Σ., 21,22,233,234
Κολιόπουλος Ι.Ξ., 173,174
Κόλλιας Θ., 135,136
Κολοκυθάς Ε., 175,176
Κομητοπούλου Κ., 329,330, 331,332
Κοντρογιάννη Κ., 35,36
Κοπείκινα Λ.Τ., 103,104
Κορμάς Κ., 53,54,243,244
Κορνάρος Μ., 3,4
Κοτζαμάνης Γ., 137,138
Κότσης Α., 249,250
Κουβάτση Α., 123,124
Κουγιανού-Κουτσούκου Σ., 41,42, 143,144
Κούκου Α, 139,140
Κουκουζίκα Ν., 57,58
Κούκουρας Α., 141,142
Κουλούκουσα Μ., 223,224
Κουσκούτη Α., 143,144
Κουτέλου Ε., 247,248
Κουτσικόπουλος Κ., 257,258,287,288
Κουτσικόπουλος Κ., 61,62
Κραββαρίτη Λ., 145,146
Κωνσταντή Ο.Α., 147,148,203,204
Κώστα Α., 99,100
Κωσταρόπουλος Ι., 197,198
Κώτσης Α., 107,108, 109,110
Κωτσόπουλος Β., 167,168

Λ
Λαδάς Ν.Π., 149,150,279,280
Λαζαρίδου, Μ., 151,152
Λάζου Α., 23,24,77,78,87.88, 269,270,337,338
Λάμνισου Κ., 153,154
Λάμπρης Ι.Δ., 81,82,285,286
Λεκανίδου Ρ., 69,70,145,146
Λιακόπουλος Θ.Δ., 155,156
Λιακοπούλου – Κυριακίδου Μ., 249,250
Λιβαδάρας Γ., 55,56
Λιόπα-Τσακαλίδη Α., 157,158
Λούβρου Ι., 159,160
Λουκάς Μ., 73,74,129,130
Λουμπουρδής Ν., 227,228
Λυκάκης Ι., 61,62,257,258,287,288
Λυμπεράτος Γ., 3,4
Λυμπέρη Π., 95,96,97,98

Μ
Μαβίδης Μ., 141,142
Μαζαράκου Γ., 161,162
Μακροπούλου Ελ., 163,164
Μαμούρης, Ζ., 19,20,165,166
Μανώλης Σ.Κ., 201,202,225,226,251,252, 325,326
Μαραγκού Π., 93,94
Μαραζιώτη Κ., 167,168
Μαράτου Ειρ., 169,170,171,172
Μαργαρίτης Λ.Χ.,15,16,31,32, 147,148,173,174,199,200,203, 204,205,206,221,222
Μαργέτης Π.Ι., 173,174
Μαρίνος Ε., 223,224

Μάρκος Σ., 175,176
Μάρκου Θ., 177,178
Μαυραγάνη-Τσιπίδου Π., 71,72
Μαυρίδου Α., 65,66,79,80
Μαυροειδής Μ., 25,26
Μαχιάς Α., 257,258
Μερκούρης Μ., 161,162
Μεσσήνη-Νικολάκη Ν., 221,222
Μετσίνη Α., 231,232
Μίζη Α., 69,70
Μίνος Γ., 125,126
Μίντζας Α., 25,26,133,134
Μισύρης Δ., 325,326
Μιχαηλίδου Γ., 179,180
Μονογιούδης Ε., 253,254
Μοντεσάντου Β., 181,182
Μοσχονάς Ν.Κ., 247,248,267,268
Μουνδριανάκης Ε., 183,184
Μουρελάτος Δ., 107,108, 109,110, 249,250
Μουτόπουλος Δ.Κ., 281,282
Μούτου Κ.Α., 185,186
Μπαζός Ι., 49,50
Μπάνη Μ., 19,20
Μπανίλας Γ., 187,188
Μπέης Δ., 65,66
Μπέης Ισ., 1,2
Μπελεγράτη Μ.Ρ., 189,190
Μπελτέ Ε., 251,252
Μπίτης Ι., 189,190
Μπλιώνης Γ., 191,192
Μποβίλας Κ., 157,158
Μποζονέλος Κ., 295,296
Μπουγά Μ., 193,194,195,196
Μπουγιούκος Κ., 277,278
Μπούζα Λ., 187,188
Μπουκουβάλα Ε., 197,198
Μυλωνάς Σ., 329,330
Μυόγλου Ε., 249,250
Μώρου Ε., 161,162

Ν
Νάσιος Κ., 137,138
Νέζης Ι.Π., 199,200
Νερούτσος Α.Α.,201,202
Νικολαΐδου Α., 53,54
Νικολαρόπουλος Σ.,107,108
Ντουρούπη Τ.,203,204,205,206

Ξ
Ξένου-Κοκολέτση Μ., 207,208, 209,210
Ξουρή Γ., 303,304
Ξυλάς Α., 263,264

Ο
Οικονομίδης Π., 197,198,281,282
Οικονομίδου Β.Α., 211,212
Οικονομίδου Β.Α., 213,214
Οικονόμου-Αμίλλη Α.,159,160, 189,190,303,304
Ουζούνης Χ., 255,256

Π
Παλαιός Γ.Α., 215,216,217,218
Παναγιάρης Γ.Η., 201,202
Παναγιωτόπουλος Π., 219,220
Παναγιωτοπούλου Ε., 225,,226
Παναγόπουλος Δ.Ι., 221,222
Παναγοπούλου Ε., 223,224
Πάνας Μ., 315,316,335,336
Πανταζής Γ., 303,304
Πανταζοπούλου Τ., 329,330
Παπαγεωργίου Α., 107,108, 109,110
Παπαγεωργίου Β.Π., 249,250
Παπαγεωργίου Γ.Χ., 149,150,279,280
Παπαγιαννοπούλου Κ., 225,226
Παπαδημητρίου Ε., 127,128,133,134, 227,228
Παπαδόπουλος Α.Ι., 11,12,197,198
Παπαδόπουλος Γ., 237,238
Παπαδοπούλου Κ., 303,304

Παπαευθυμίου Χ., 229,230
Παπαζαφείρη Π., 231,232
Παπακωνσταντίνου Κ., 105,106
Παπαλαζαρίδου Α., 233,234
Παπαλεωνίδας-Πούντζας Α., 297,298
Παπανδρέου Ν., 235,236,237,238
Παπανδρέου Ν.Χ., 239,240
Παπανικολάου Ι., 239,240
Παπασιδέρη Ι.Σ., 15,16,173,174
Παπασπύρου Σ., 243,244
Παπασωτηρόπουλος Β., 131,132,241,242
Παργάνας Ε., 283,284
Πασπαράκη Α., 267,268
Παστρουμά Ζ., 3,4
Πάσχος Ι., 89,90
Παταργιάς Θ., 5,6,31,32,315, 316,335,336
Πατσιώρα Ι., 225,226
Παυλικάκη Χ., 245,246
Παυλόπουλος Η.Κ.,247,248
Παφίλης Π., 45,46,93,94
Παχατουρίδης Χρ., 249,250
Περράκης Α., 239,240
Πετράτος Κ., 239,240
Πετρουτσά Ε., 251,252
Πιπεράκης Σ.Μ., 253,254
Πολίτη Ε., 13,14
Ποταμιάνου Α., 103,104
Προμπονάς Β.Ι., 215,216,217, 218,255,256

Ρ
Ράμφος Α., 257,258
Ριζοπούλου Σ., 47,48,137,138
Ρογδάκης Ι., 259,260
Ροδάκης Γ.Κ., 69,70, 145,146
Ρουμπελάκη Μ., 261,262

Σ
Σαββάκης Χ., 55,56,331,332
Σαββίδης Α.Λ., 321,322
Σαμόλη Ε., 263,264,265,266
Σαραφίδου Θ., 267,268
Σαρηκάκη Ε., 253,254
Σαρρή Κ., 267,268
Σέκερη-Παταργιά Κ.Ε., 305,306
Σερασκέρης Σ., 23,24, 77,78, 269,270,337,338
Σερέτη-Λιλικάκη Ε.Χ., 39,40
Σιαπάτης Α, 105,106
Σιβροπούλου Α., 179,180,233,234
Σιδέρης Ε.Γ., 31,32,319,320
Σινάκου Ζ.Κ., 271,272
Σκόπα Χ.,273,274
Σκούρας Ζ.Γ., 71,72
Σκούφας Γ.,275,276
Σούρδης Ι., 263,264,265,266,277,278
Σουρλίγκα Θ.Γ., 305,306
Σουρμελή Σ., 145,146
Σοφιανοπούλου Β. 319,320
Σοφιανοπούλου Β., 291,292,319,320
Σοφιανοπούλου Β., 31,32
Σπούλου Β., 27,28, 29,30
Σπυρόπουλος Σ., 119,120
Σταματάκης Κ., 279,280
Σταμάτης Κ., 19,20,165,166
Σταυρίδης Ι., 103,104
Στεργίου Κ.Ι., 281,282
Στεφάνου Γ., 13,14
Στραβοπόδης Δ., 199,200,283,284
Σφουγγάρης Α., 165,166
Σφυρόερα Γ., 81,82,285,286
Σωμαράκης Σ., 257,258
Σώρρα Β., 257,258,287,288
Σωτηρίου Π., 289,290

Τ
Ταβουλάρης Σ.Ν., 291,292
Τάφας Τ., 293,294,303,304
Τέκος Α., 295,296
Τζανουδάκης Δ., 297,298

Τζίτζικας Ν., 247,248
Τιμόλογος Γ.Α., 299,300
Τριανταφυλλίδης Γ., 303,304
Τριανταφυλλίδης Α., 123,124,301, 302
Τριανταφυλλίδης Κ., 19,20,89,90, 123,124
Τρόντζας Π., 103,104
Τσάγκλα Α., 295,296
Τσάπαλη Δ.Σ., 305,306
Τσέκος Ι., 307,308
Τσερεμέγκλη Ο., 3,4
Τσίλερ Στ., 181,182
Τσιότσιου Β., 309,310,311,312
Τσιρίκα, Α., 151,152,333,334
Τσιρόγλου Ε., 103,104
Τσόκα Σ., 255,256
Τσούκα, Β., 151,152,333,334

Φ
Φερεκύδης Ε., 313,314
Φερεκύδου Ε., 313,314
Φλυτζάνης Κ.Ν., 35,36
Φλωροσκούφη Π., 315,316
Φραγκοπούλου Ν., 257,258,287,288
Φραντζιός Γ., 317,318

Χ
Χαβελές Κ.Σ., 31,32
Χαβελές Κ.Σ., 319,320
Χάλκου Κ.Ι., 321,322
Χαμόδρακας Ι.Σ., 215,216,217,218
Χαμόδρακας Σ.Ι., 155,156,211,212, 213,214,215,216,217,218, 239,240,255,256
Χανιωτάκης Γ., 253,254
Χαριζάνης Π., 193,194,195,196
Χαριτωνίδης Σ., 151,152,333,334
Χατζηνικολάου Ε., 303,304
Χατζήπαπας Π., 323,324
Χατζόπουλος Π., 43,44,51,52,65,66, 187,188
Χειλέτης Χ., 325,326
Χειμωνοπούλου Θ. Μ., 327,328
Χριστιάς Χρ., 101,102,207,208, 209,210,273,274,309,310,311, 312,323,324
Χριστοδούλου Ε., 37,38
Χριστοφίδης Γ., 329,330, 331,332
Χρυσανθακοπούλου Β., 133,134
Χρυσάνθης Γ., 167,168
Χρυσικός Γ., 213,214
Χρυσοπολίτου Β., 333,334

Ψ
Ψαράς Γ., 137,138
Ψαρρού Ο., 335,336

B
Bach J-M., 237,238,
Ballesta J.P.G., 41,42,
Barritault D., 127,128,

C
Caceres C., 55,56,
Caruelle D., 127,128,
Chomilier J., 235,236,
Cohen H., 237,238,
Colledge W.H., 99,100,
Courty J., 127,128,
Crane-Robinson C., 5,6,

D
Deloukas P., 267,268,

E
Erzini K., 281,282,
Estoup A., 301, 302,

F
Fischer-Schliebs E.,75,76,
Franz G., 55,56,

French L., 267,268,
Fry S.C., 289,290,

G
Gubb D., 55,56,
Gyuomard R., 301, 302,

H
Hartley R., 99,100,
Heike O., 237,238,
Hillmer S.,75,76,
Houlihan, 185,186,

I
Ihle J.N., 283,284,
Jung G., 237,238,
Kathirithamby J.,203,204,
Krieg F., 301, 302,
Κατσώρχης Θ., 319,320,

L
Lino P.G., 281,282,
Lδuchli A., 75,76,
Lóttge U., 75,76,

M
McCarthy I.D., 185,186,
Μαργαρίτης Λ.Χ., 319,320,

P
Pasquier C., 155,156,
Pasquier C., 215,216,
Petersen M., 267,268,
Petersen M.B., 315,316,
Petersen M.B., 335,336,
Poulicek M.,275,276,

Q
Quader H., 17,18,

R
Ratajczak R., 75,76,
Richardson S.C., 79,80,
Robinson D., 75,76,
Rodriguez-Gabriel M.A., 41,42,

S
Sarrias M.-R., 81,82
Shori D.K., 99,100
Sunyer O.J., 81,82,285,286

T
Teglund S., 283,284
Thomas J-L., 145,146
Thomaz D., 69,70

U
Ullrich-Eberius C., 75,76

V
van Endert P., 237,238

W
Wang D., 283,284
Wiebauer K., 71,72
Willis J.H., 211,212