

Ekofizioloski procesi endemicne vrste- *Ramonda serbica*

Mentor: prof.dr. Danka Cakovic

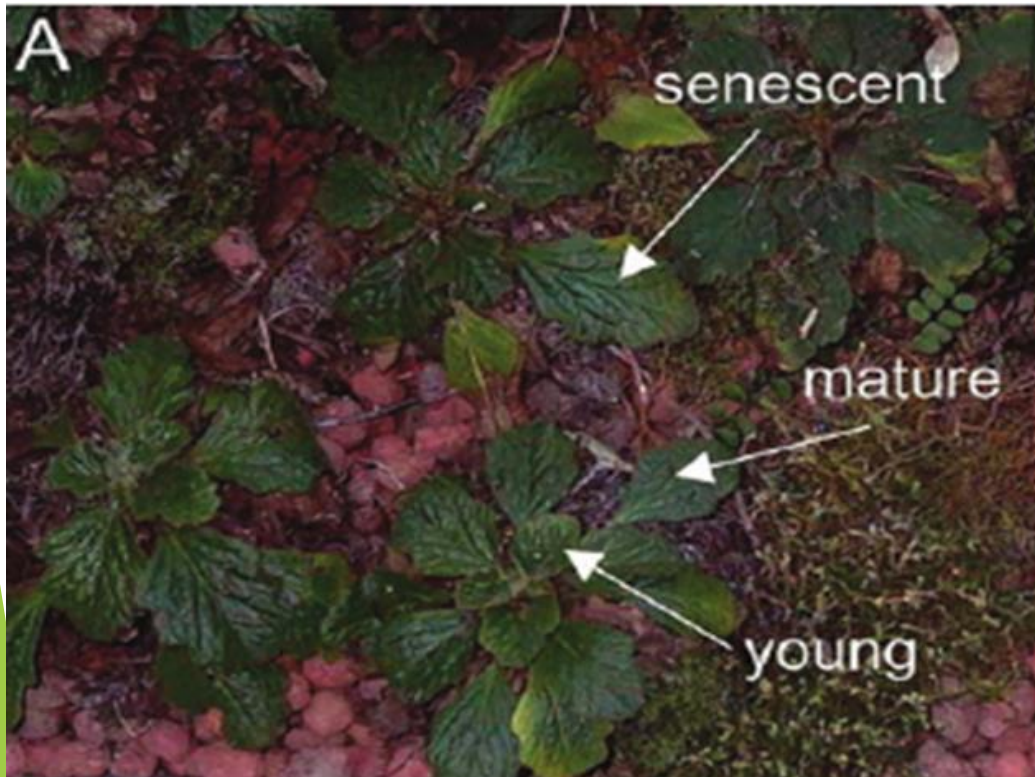
Student: Jaramaz Marijana 10/19

Ramonda serbica

- endemska i reliktna vrsta na Balkanskom poluostrvu
- visegodisnja zimzelena zeljasta biljka
- listovi u prizemnoj rozeti, romboidni, nazubljeni, sa braonkastim dlakama
- ljubicasta boja cvijeta sa zutom osnovom i ljubicastim prasicima
- pripada porodici *Gesneriaceae* (*Ramonda myconi*, *Ramonda nathaliae*, *Ramonda serbica*)
- brdski i planinski region, pukotine uglavnom sjeverno eksponiranih stijena
- *Ceterachi-Ramondaetum serbicae*, *Musco-Ramondaetum*..



- Srpska ramonda je poznata jos i kao “cvijet feniks”
- mogućnost da se iz stanja anabioze ponovo vrata u život posjeduje veoma malo biljaka cvjetnica
- promjene tokom ciklusa dehidracije i rehidracije kako bi biljka nakon ponovnog nanosenja vode aktivirala svoje fizioloske funkcije



- Svojstva lipidne strukture celijske membrane u listovima koji su izolovani iz biljke *Ramonda serbica* pri procesima dehidratacije I rehidratacije (Quartacci et al., 2002)

- ❑ prezivljavaju teske zivotne uslove aktiviranjem mehanizama adaptacije
- ❑ stanje mirovanja duze od 3 mjeseca, a za 8 sati mogu vratiti punu biolosku aktivnost
- ❑ sastav i organizacija lipida plazma membrane su kljucni za unutar celijski metabolizam, jer mnoge vitalne aktivnosti celija poticu iz membrane
- ❑ ocuvanjem membrane biljke mogu da prezive tokom anabioze
- ❑ cilj ove studije je bio da se ispita sastav lipida u membranama koje su izolovane iz listova *Ramonda serbicae*, kao i da se utvrde promjene tokom ciklusa dehidratacije i rehidratacije kako bi biljka nakon ponovnog nanosenja vode aktivirala svoje fizioloske funkcije

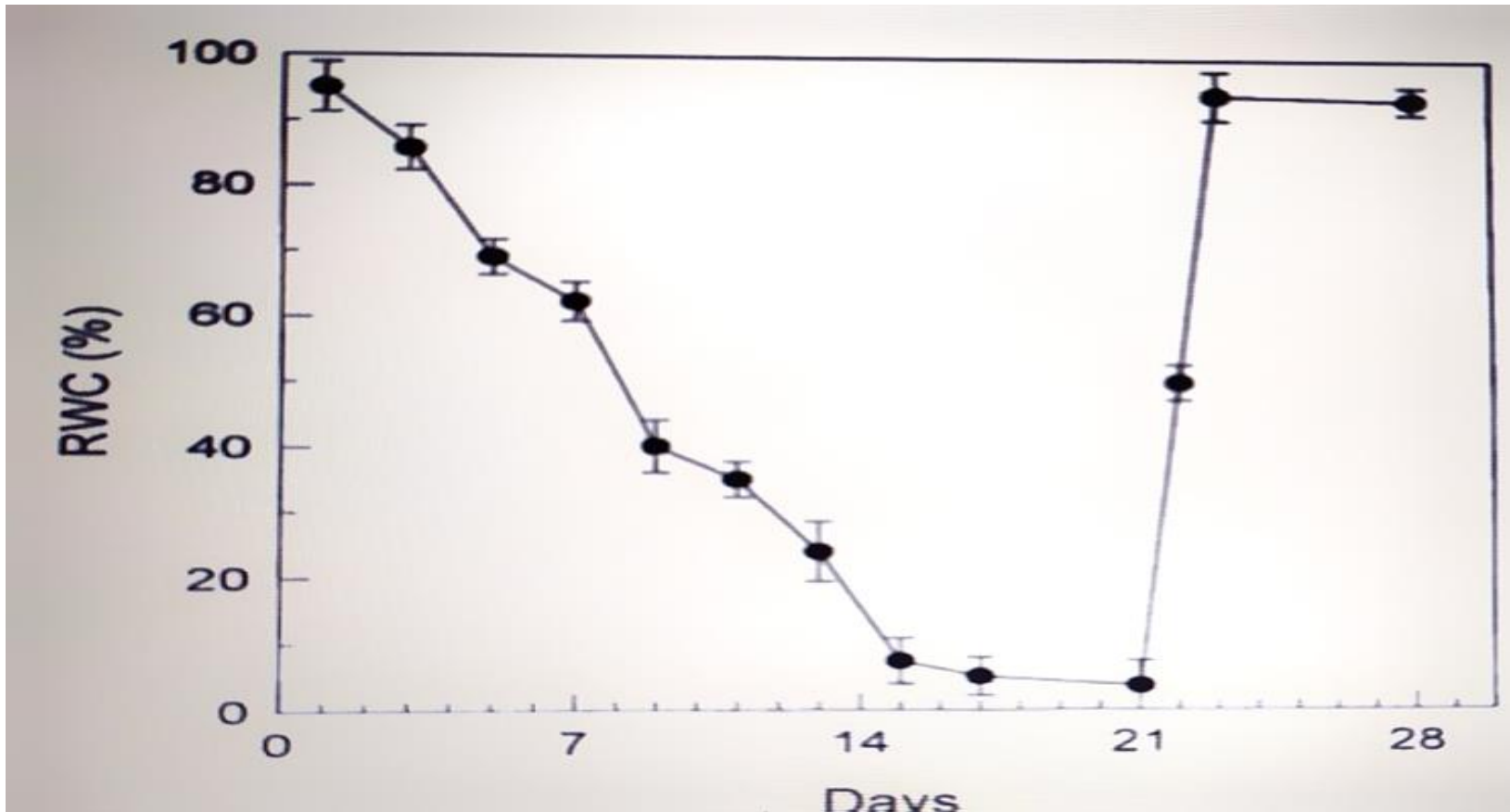
Uzorci biljke su sakupljeni iz svog prirodnog stanista na jugoistoku Srbije, koje karakterisu visoke temperature tokom ljeta na tim kamenitim padinama a biljke ostaju u stanju anabioze tokom ovih nepovoljnih uslova

□ Postupak:

- biljke su aklimatizovane 2 nedelje i navodnjavanje prije pocetka eksperimenta
- dehidrirane 3 nedelje
- rehidracija - 1 nedelja redovnog navodnjavanja (biljke prskane vodom sto je simuliralo padavine)

- **Promjene u listovima biljke *Ramonda serbica* tokom procesa dehidratacije i rehidratacije:**

- nakon dehidratacije i zadržavanja vode u trajanju od tri nedelje, relativni kapacitet vode u hidratizovanim biljkama smanjen je sa 97% na vrijednost od 3,6% u isusenim biljkama. Nakon rehidratacije relativni kapacitet vode je vratio približnu vrijednost (93,8%)



- kolicina lipida plazme membrane kao i sve ostale osusene komponente listova smanjile su svoje vrijednosti za $\frac{1}{4}$ u odnosu na hidratizovane listove.
Nakon rehidracije lipidne masti u liscu su obnovljene i priblizno dostigle vrijednost lipidnih masti hidratizovanih listova
- vrijednost lipida i proteina nakon dehidracije se smanjio sa 3,5 na 2,1 ali nakon rehidracije je ponovo dostigao vrijednost od 3,1
- odnos fosfolipida se smanjio sa vrijednosti 0.54 na vrijednost 0.43, a nakon rehidracije dostigao vrijednost od 0.56
- kolicina fosfolipida je opala sa 30,6% na 25,8% nakon dehidracije
- acilirani sterilni glikozidi su smanjeni tokom dehidracije sa vrijednosti 5,1 na 2,0 i opet obnovljeni nakon navodnjavanja
- fosfatidilholin i fosfatidiletanolamin su fosfolipidi koji su bili najzastupljeniji u hidratizovanim listovima, a nakon dehidracije njihova vrijednost se smanjila za 50 % ali su se vratili na kontrolni nivo

	Hydrated	Dehydrated	Rehydrated
PL	0.32 b (30.6)	0.06 a (25.8)	0.29 b (31.3)
FS	0.59 b (56.2)	0.14 a (60.1)	0.52 b (55.8)
ASG	0.05 b (5.1)	0.01 a (2)	0.05 b (5.8)
SG	0.02 a (1.5)	tr (1.2)	0.02 a (1.7)
CER	0.07 b (6.6)	0.03 a (10.9)	0.05 a (5.4)
Total content	1.05 b	0.24 a	0.93 b
PL/FS	0.54 b	0.43 a	0.56 b
Lipid/protein	3.5 b	2.1 a	3.1 b

- nivo sitosterola se stalno smanjivao
- kampesterol se znacajno smanjio pri dehidraciji, a nakon rehidracije premasio kontrolnu vrijednost
- nivo stigmasterola se smanjivao
- holesterol se povecao tokom dehidracije na cak duplo vecu vrijednost nego u hidriranim biljkama

	Hydrated	Dehydrated	Rehydrated
Cholesterol	13.8 a	28.0 b	13.5 a
Campesterol	22.6 b	14.8 a	33.8 c
Stigmasterol	8.8 a	8.0 a	7.4 a
Sitosterol	54.8 b	49.2 a	45.3 a
More planar/less planar	0.57 a	0.75 b	0.90 c

✓ U ovom eksperimentu pokazano je da se *R. serbica* brzo oporavila nakon rehidracije bez ubrzavanja fizioloskog starenja. Brz oporavak nakon rehidracije lipidnog sastava plazma membrane ukazuje na vaznost efikasnih mehanizama koji su nakon ponovnog navodnjavanja (rehidracije) neophodni za popravljjanje plazma membrane i njeno ponovno normalno funkcionisanje.

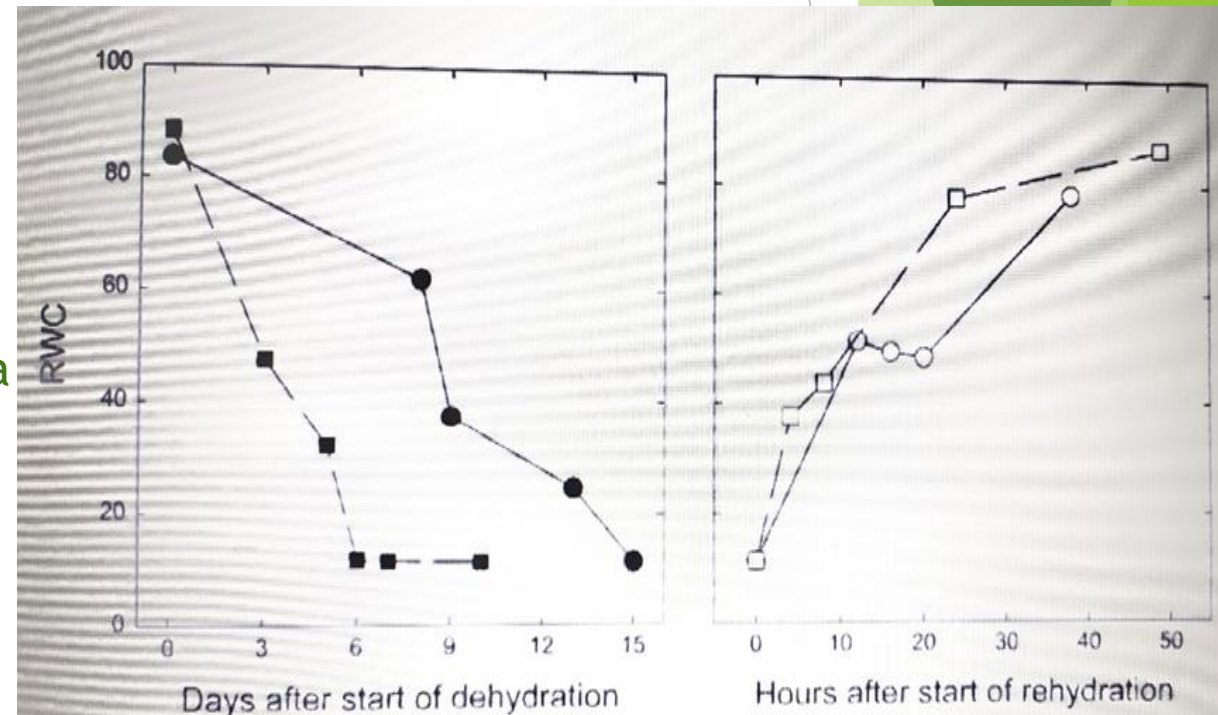
- **Fotohemijska efikasnost Fotosistema II, sadržaja zeaksantina i antioksidanata u biljci Ramonda serbica tokom dehidratacije i rehidratacije (Augusti et al., 2001)**

- U ovom eksperimentu proučavane su promjene fotohemijske efikasnosti, neradijativno-energetska disipacija i sadržaj antioksidanata i zeaksantina u biljci Ramonda serbica tokom procesa dehidratacije i rehidratacije
- Biljke su izložene mnogim nepovoljnim uslovima životne sredine koji im ometaju rast i preživljavanje, kao što su susa, nepovoljna temperatura, veliko zračenje..
- Kada je biljka izložena prekomjernoj energiji (nastala usled velikog zračenja) može biti štetna i može izazvati fotoinhibiciju reaktivnih centara Fotosistema II.
- Prije početka eksperimenta biljke su aklimatizovane u plasteniku i navodnjavane radi postizanja optimalnog stanja biljke
- Podvrgnute su procesu dehidratacije

- Promjene u listovima biljke *Ramonda serbica* tokom dehidracije i rehidracije:

- dehidracija je uzrokovala veliki pad relativnog kapaciteta vode
- vrijednosti redukovano askorbata i glutationa su snazno porasli kada je RKV dostigao vrijednost ispod 40% (do te vrijednosti RKV nisu pokazivali promjene)
- komponenta ksantofilijskog ciklusa, kao i nefotohemijaska komponenta pokazale su nagli porast pa zatim i pad pri vrlo niskom relativnom kapacitetu vode
- kada je ponovo doslo do navodnjavanja, sve ove vrijednosti su se vratile na kontrolne
- istrazivanja su pokazala da zeaksantin ima ulogu u rasprisanju suvisne energije pod stresnim uslovima. i pokazao je nagli porast tokom dehidracije

- Nakon sto je postignut minimalni relativni kapacitet vode biljke su se ponovo zalijevale i analizirala se vrijednost pigmenata askorbata i glutationa sve dok se ponovo ne postignu hidratizovani uslovi
- Ustanovljeno je da sadrzaj pigmenata i antioksidanata zavisi od relativnog kapaciteta vode
- Nakon ponovnog navodnjavanja biljke su pokazale brz oporavak



- **Zaključak:**

- ✓ Hlorofil-florescentna analiza je pokazala da listovi biljke *R. serbica* prolaze kroz fotohemijsku aktivnost tokom dehidratacije, da u biljci djeluje nekoliko fotoprotektivnih mehanizama
- ✓ Smatra se da se doprinosom ne-fotohemijske komponente zajedno sa askorbatom, glutationom i zeaksantinom štiti od fotooksidacije i fotoinhibicije
- ✓ Askorbat i glutation odgovaraju na visak energije, ali i pružaju zaštitu od početka rehidratacije kada je fotosintezna još uvijek neaktivna
- ✓ zeaksantin ima veliku ulogu u prelaznim vrijednostima relativnog kapaciteta vode (20-40%)
- ✓ Zeaksantin se zadržava u dehidriranom listu a to može biti presudno za posredovanje neradijacionog raspršivanja energije, sprečavanja oštećenja dehidratacijom, i vraćanje neaktivnih centara Fotosistema II u kompetentnu formu

- Efekat giberelicne kiseline i kalijum nitrata na klijanje sjemena *Ramonde serbicae* (Gashi et al., 2012)

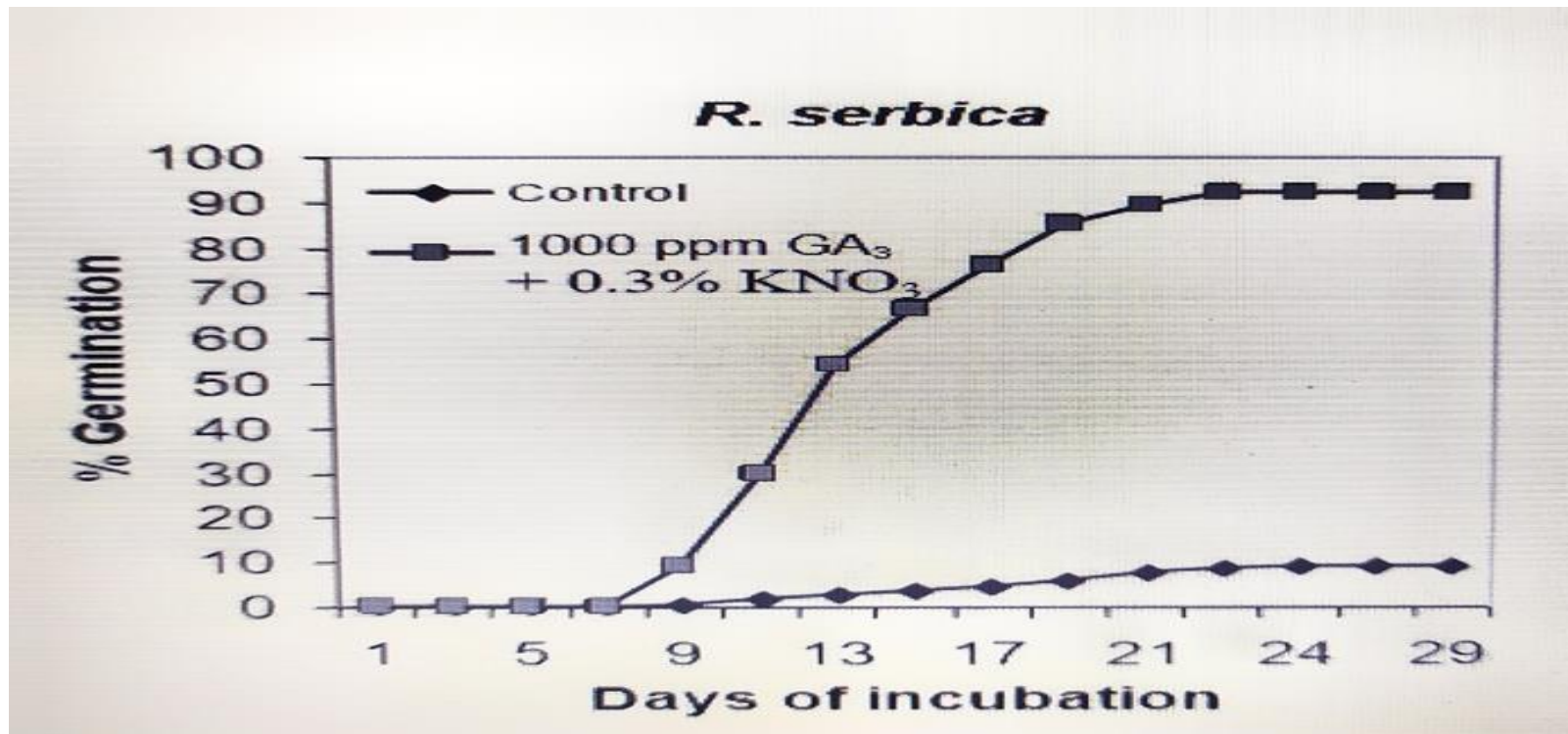
- Postupak:

- Cijelo sjeme je dezinfikovano etanolom 70% u trajanju od 3 minuta i destilizovanom i sterilizovanom vodom isprano 3 puta prije eksperimenta. Sjeme je podijeljeno u 4 grupe za testiranje
- Sjeme prve grupe je potopljeno u destilovanu vodu (kontrolno sjeme);
- Sjemenke druge grupe su testirane sa razlicitim koncentracijama kalijum nitrata(0,1%,0,2%,0,3%) u trajanju od 24 h.;
- Sjemenke trece grupe su smjestene u tikvice koje sadrze 250, 500 i 1000 ppm giberelicne kiseline u trajanju od 24 h;
- Sjeme cetvrte grupe je podijeljeno u vodenim rastvorima sa kombinacijama razlicitih koncentracija giberelicne kiseline i kalijum nitrata.

- Eksperiment je sproveden cetiri puta sa 100 sjemenki koje su kljale u Petrijevim soljama
- 16h svjetlosti / 8h mraka

Treatment	FGP	MGT	GRI	CGRI
Control (H ₂ O)	9.26 ^g	17.14 ^h	2.79 ^h	30.24 ⁱ
KNO ₃ (0.1)	10.37 ^g	16.78 ^{fg}	3.25 ^h	31.54 ^{gh}
KNO ₃ (0.2)	9.63 ^g	16.59 ^{fg}	3.12 ^h	32.37 ^{fgh}
KNO ₃ (0.3)	8.89 ^g	16.27 ^{ef}	2.96 ^h	33.46 ^{efg}
GA ₃ (250)	58.15 ^f	16.48 ^{fg}	18.36 ^g	31.58 ^{gh}
GA ₃ (500)	68.40 ^e	16.15 ^{def}	23.90 ^f	34.99 ^{c-f}
GA ₃ (1000)	71.85 ^{d_e}	16.23 ^{ef}	24.64 ^f	34.33 ^{c-g}
GA ₃ (250) + KNO ₃ (0.1)	75.93 ^{cd}	15.60 ^{cde}	25.90 ^f	34.11 ^{d-g}
GA ₃ (250) + KNO ₃ (0.2)	82.15 ^{bc}	15.18 ^c	30.10 ^{de}	36.85 ^{a-d}
GA ₃ (250) + KNO ₃ (0.3)	85.93 ^{ab}	14.79 ^{abc}	31.48 ^{cd}	36.65 ^{a-e}
GA ₃ (500) + KNO ₃ (0.1)	75.70 ^{cd}	14.99 ^{bc}	28.44 ^e	37.58 ^{abc}
GA ₃ (500) + KNO ₃ (0.2)	91.81 ^a	15.26 ^c	33.74 ^{bc}	36.76 ^{a-d}
GA ₃ (500) + KNO ₃ (0.3)	89.26 ^{ab}	14.17 ^a	34.71 ^{ab}	38.90 ^{ab}
GA ₃ (1000) + KNO ₃ (0.1)	87.37 ^g	15.39 ^{cd}	31.53 ^{cd}	36.14 ^{b-e}
GA ₃ (1000) + KNO ₃ (0.2)	82.22 ^{bc}	15.01 ^{bc}	30.79 ^{de}	37.32 ^{a-d}
GA ₃ (1000) + KNO ₃ (0.3)	92.26 ^a	14.22 ^{ab}	36.70 ^a	39.82 ^a

- istraživanja su pokazala da kalijum nitrat i giberelini pospješuju klijanje sjemena i omogućavaju klijanje sjemena kada nisu zadovoljeni uslovi spoljasnje sredine
- Giberelin stimulise klijanje sjemena putem sinteze amilaze
- Na osnovu eksperimenta koji su izvršili i analize dobijenih rezultata, utdjeno je da je najbolji nacin da se poveca procenat klijanja za sjeme *R. serbicae* 24-casovna obrada sa 1000ppm giberelicne kiseline u kombinaciji sa razlicitim koncentracijama KNO_3 , i u tom slucaju klijanje sjemena ce se pospjesiti do 90% i vise



❖ Hvala na paznji!