



ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

## **ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΓΕΩΡΓΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΜΕΤΡΙΑΣΜΟ ΚΑΙ  
ΤΗΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΣΤΗΝ ΚΛΙΜΑΤΙΚΗ ΑΛΛΑΓΗ»**

**ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΣΟΥΛΟΣ**

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών  
"Εφαρμοσμένη Επιστήμη και Τεχνολογία στη Γεωπονία"**

ΙΟΥΛΙΟΣ 2020

***ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ***

Λουλακάκης Κωνσταντίνος, Καθηγητής

***ΜΕΛΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ***

Λουλακάκης Κωνσταντίνος, Καθηγητής

Δραγασάκη Μαγδαληνή, Επίκουρη Καθηγήτρια

Τραντάς Εμμανουήλ, Επίκουρος Καθηγητής

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών “Εφαρμοσμένη Επιστήμη και Τεχνολογία στη Γεωπονία”, του Τμήματος Γεωπονίας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Ελληνικού Μεσογειακού Πανεπιστημίου.

Μετά την επιτυχή ολοκλήρωση της εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Λουλακάκη για την άψογη συνεργασία, την καθοδήγηση και την υπομονή που επέδειξε καθ’ όλη την διάρκεια της συγγραφής. Επιπλέον, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στο σύνολο του ακαδημαϊκού προσωπικού του Μεταπτυχιακού Προγράμματος, για την μεταλαμπάδευση της επιστημονικής γνώσης και την διεύρυνση του γνωστικού μου ορίζοντα. Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την σύζυγο μου για την παρατεταμένη στήριξη και κατανόηση.

## Περιεχόμενα

1. Κλιματική Αλλαγή .....	1
1.1. Ανθρωπογενείς εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου .....	1
1.2. Μεταβολή του παγκόσμιου κλίματος .....	10
2. Επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής .....	14
2.1. Επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην παγκόσμια οικονομία .....	14
2.2. Επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην ανθρώπινη υγεία και ασφάλεια .....	15
2.3. Επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην γεωργία .....	19
3. Η συμμετοχή της γεωργίας στην δημιουργία του φαινομένου της κλιματικής αλλαγής ..	24
4. Βιοτεχνολογία και γεωργία, ιστορικό πλαίσιο .....	28
5. Θεσμικό πλαίσιο για τους ΓΤΟ .....	33
5.1. Θεσμικό πλαίσιο στις ΗΠΑ και σε άλλες χώρες .....	36
5.2. Θεσμικό πλαίσιο στην ΕΕ και στην Ελλάδα .....	38
6. Μείωση των εισροών στην γεωργία μέσω της επίτευξης ανθεκτικότητας σε εχθρούς, ασθένειες και ζιζανιοκτόνα .....	45
7. Μείωση των εισροών στην γεωργία μέσω του περιορισμού της χρήσης συνθετικών λιπασμάτων .....	51
7.1. Μείωση των εισροών αζώτου .....	52
7.1.1. Σύνθεση της νιτρογενάσης στα κυτταρικά οργανίδια των φυτών .....	55
7.1.2. Ενίσχυση της υφιστάμενης αλληλεπίδρασης μεταξύ μη ψυχανθών φυτών και ριζόβιων βακτηρίων .....	59
7.1.3. Δημιουργία αζωτοδεσμευτικών φυματίων σε μη ψυχανθή φυτά .....	62
7.2. Μείωση των εισροών φωσφόρου .....	64
7.2.1. Τροποποίηση του μεταβολικού μηχανισμού του φωσφόρου .....	66
7.2.2. Προσαρμογή στην ανεπάρκεια φωσφορικών υποστρωμάτων .....	67
8. Αύξηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης και της αφομοίωσης του άνθρακα .....	71

8.1. C3, C4 και CAM φωτοσύνθεση .....	72
8.2. Τροποποίηση των δομικών παραγόντων των φωτεινών αντιδράσεων .....	79
8.2.1. Επέμβαση στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων από το PSII στο PSI.....	79
8.2.2. Τροποποίηση του φωτοσυλλεκτικού μηχανισμού .....	81
8.2.3. Διεύρυνση του εύρους απορρόφησης της φωτεινής ακτινοβολίας.....	83
8.3. Αύξηση της απόδοσης των σκοτεινών αντιδράσεων .....	85
8.3.1. Αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων του κύκλου Calvin-Benson .....	85
8.3.1.1. Καρβοξυλάση-οξυγενάση της 1,5-διφωσφορικής ριβουλόζης .....	86
8.3.1.2. Φωσφατάση της 1,7-διφωσφορικής σεδοεπτουλόζης .....	89
8.3.1.3. Μη ρυθμιζόμενα ένζυμα του κύκλου Calvin-Benson .....	91
8.3.2. Βελτίωση του φωτοαναπνευστικού μηχανισμού.....	93
8.3.3. Μεταφορά του C4 φωτοσυνθετικού μηχανισμού σε C3 φυτά .....	95
9. Εγκλιματισμός και αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις .....	99
9.1. Συμβατοί Οσμωλύτες.....	100
9.1.1. Προλίνη .....	101
9.1.2. Βεταΐνη της Γλυκίνης.....	104
9.2. Φυτικές Ορμόνες .....	108
9.2.1. Αμπισισικό οξύ .....	109
9.2.2. Ιασμονικό οξύ .....	112
9.3. Πρωτεΐνες και μεταγραφικοί παράγοντες θερμικής καταπόνησης .....	114
9.4. Διαθέσιμες εμπορικές εφαρμογές.....	117
9.4.1. Διαγονιδιακό καλαμπόκι DroughtGard™ .....	118
9.4.2. Διαγονιδιακό ζαχαροκάλαμο NXI-1T™, NXI-4T™ και NXI-6T™.....	120
9.4.3. Διαγονιδιακή Σόγια HB4™ .....	121
10. Συζήτηση .....	122
Βιβλιογραφία .....	124

## Περίληψη

Η παγκόσμια δημογραφική και οικονομική ανάπτυξη, η οποία προέκυψε ως αποτέλεσμα της Βιομηχανικής Επανάστασης και του νέου μοντέλου παραγωγής και κατανάλωσης, αύξησε σημαντικά την χρήση των φυσικών πόρων, τις ενεργειακές απαιτήσεις και την καύση των ορυκτών καυσίμων. Η βιομηχανία, οι μεταφορές, η γεωργία, η παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας και η κάλυψη των αναγκών θέρμανσης αποτελούν τους οικονομικούς τομείς που βαρύνονται με την κύρια ευθύνη της μεγάλης αύξησης των ανθρωπογενών εκπομπών αερίων θερμοκηπίου (ΑΘ), η οποία προκαλεί την άνοδο της παγκόσμιας επιφανειακής θερμοκρασίας καθώς και άλλες διαφοροποιήσεις στο παγκόσμιο κλίμα.

Η γεωργία χαρακτηρίζεται από την συνεισφορά της στην αύξηση της έντασης του φαινομένου της κλιματικής αλλαγής, εξαιτίας των υψηλών εκπομπών ΑΘ που σχετίζονται με διάφορες γεωργικές δραστηριότητες και πρακτικές ή με αλλαγές στη χρήση της γης. Ταυτόχρονα, η γεωργία είναι άμεσα εξαρτώμενη από τις κλιματολογικές συνθήκες και ως άμεσος αποδέκτης των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής, είναι εκτεθειμένη στην αυξημένη θερμοκρασία, στην εκδήλωση ακραίων κλιματολογικών φαινομένων, στην διαφοροποίηση των προτύπων βροχόπτωσης και στην μεταβολή της εποχικότητας. Καθώς απαιτείται η εφαρμογή των κατάλληλων πολιτικών μετριασμού της κλιματικής αλλαγής και των μέτρων προσαρμογής στις επιπτώσεις της, η γεωργία βρίσκεται αντιμέτωπη με την πρόκληση της κάλυψης των αυξανόμενων παγκόσμιων διατροφικών αναγκών. Ταυτοχρόνως, οι συμβατικές μέθοδοι γενετικής βελτίωσης και οι τεχνολογίες και καλλιεργητικές πρακτικές που οδήγησαν στην Πράσινη Επανάσταση, δεν μπορούν να ανταποκριθούν στις απαιτήσεις του προσεχούς μέλλοντος. Υπό αυτές τις συνθήκες, απαιτείται ο σχεδιασμός και η εφαρμογή καινοτόμων τεχνολογιών στην γεωργία, με στόχο την μεγιστοποίηση της αγροτικής παραγωγής, την μείωση των εισροών και την προσαρμογή στις νέες κλιματολογικές συνθήκες.

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί μία βιβλιογραφική ανασκόπηση ενός πλήθους βιοτεχνολογικών εφαρμογών και πεδίων έρευνας στην γεωργία, που σχετίζονται έμμεσα ή άμεσα με τον μετριασμό και την αντιμετώπιση των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής. Συγκεκριμένα, εκτιμάται η συμβολή των υφιστάμενων εμπορικών εφαρμογών στην μείωση των εκπομπών ΑΘ, ως έμμεσο όφελος από τον περιορισμό της χρήσης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Επιπλέον, αξιολογείται η δυνατότητα μείωσης των εισροών συνθετικών λιπασμάτων, η χρήση των οποίων οδηγεί στην μεγάλη αύξηση του ενεργειακού αποτυπώματος και του αποτυπώματος άνθρακα των καλλιεργειών. Ακόμα, διερευνάται η αξιοποίηση της αύξησης της ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης του CO<sub>2</sub> στην άνοδο της καλλιεργητικής απόδοσης, μέσω της τροποποίησης των δομικών στοιχείων του φωτοσυνθετικού μηχανισμού. Τέλος, εξετάζεται η εκμετάλλευση των ενδογενών μηχανισμών αντοχής στην αβιοτική καταπόνηση, με στόχο την προσαρμογή των καλλιεργειών στις δυσμενείς κλιματολογικές μεταβολές και την αποδοτικότερη χρήση των υδατικών αποθεμάτων.

## **Abstract**

The global financial and demographic growth that followed the Industrial Revolution and the new model of production and consumption, increased the use of natural resources, the energy demand and the burning of fossil fuels. Industry, transport, agriculture, electricity and heat production are the economic sectors that are mainly responsible for the rapid increase of the anthropogenic greenhouse gas (GHG) emissions, which cause the rise of the global surface temperature and other changes in Earth's climate.

Agriculture contributes a significant share of the GHG emissions through various activities and practices or changes in land use. On the other hand, agriculture is highly dependent on climatic conditions and is exposed to rising temperatures, extreme weather events and changes in rainfall patterns and seasonality, as a result of climate change. While the appropriate mitigation policies and adaptation measures must be implemented, agriculture has to deal with the food demands of the continuously rising global population. At the same time, the conventional breeding methods and the technologies and practices that led to the Green Revolution, have largely reached their potential. Under these circumstances, there is a need for innovative technologies that can maximize the agricultural production, reduce the resource inflows and provide the appropriate adaptations to the new climatic conditions.

The present study is a bibliographic research on biotechnology applications in agriculture, which are directly or indirectly related to mitigation and adaptation to the impacts of climate change. Specifically, the contribution of the major commercial biotechnological applications, on the decrease of GHG emissions as an indirect benefit due to the limited use of plant protection products, is being evaluated. Furthermore, we examine the reduction in the synthetic fertilizers inflows that increase the carbon and energy footprints of the agricultural products, as well as the capitalization of the increased CO<sub>2</sub> atmospheric concentrations through various modifications of the key structural elements



and mechanisms of photosynthesis. Moreover, we look into the exploitation of the endogenous mechanisms of abiotic stress tolerance, in order to adapt to the adverse climatic conditions and increase water use efficiency (WUE).

## **1. Κλιματική Αλλαγή**

Σύμφωνα με την Διακυβερνητική Επιτροπή για την Κλιματική Αλλαγή, ο όρος “κλιματική αλλαγή” αναφέρεται στην μεταβολή του κλίματος, η οποία μπορεί να εξακριβωθεί μέσω των διαφοροποιήσεων της μέσης τιμής ή/και της παραλλακτικότητας των παραμέτρων του. Οι συγκεκριμένες διαφοροποιήσεις παραμένουν για μεγάλο χρονικό διάστημα, το οποίο συνήθως υπερβαίνει την διάρκεια μερικών δεκαετιών (IPCC, 2014a).

Τα αίτια της κλιματικής αλλαγής είναι ποικίλα και περιλαμβάνουν ένα πλήθος φυσικών ενδογενών διεργασιών και εξωτερικών πιέσεων, όπως η μεταβολή του ηλιακού κύκλου, οι ηφαιστειακές εκρήξεις καθώς και οι μακροχρόνιες ανθρωπογενείς αλλαγές στην σύνθεση της ατμόσφαιρας ή την εδαφική χρήση. Σύμφωνα με την Σύμβαση – Πλαίσιο των Ηνωμένων Εθνών για την Κλιματική Αλλαγή, η κλιματική αλλαγή ορίζεται ως η μεταβολή του κλίματος, η οποία αποδίδεται άμεσα ή έμμεσα στην ανθρώπινη δραστηριότητα που τροποποιεί την σύνθεση της παγκόσμιας ατμόσφαιρας και διακρίνεται από την φυσική κλιματική μεταβλητότητα που καταγράφεται μεταξύ συγκρίσιμων χρονικών περιόδων. Οι συνεχιζόμενες και συσσωρευμένες ανθρωπογενείς εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου, οι οποίες οφείλονται κυρίως στον αυξανόμενο ανθρώπινο πληθυσμό, στην οικονομική δραστηριότητα, στην ενεργειακή κατανάλωση, στον τρόπο ζωής, στην χρήση της γης, στην τεχνολογία και στην κλιματική πολιτική, επιδρούν στην μεταβολή των παγκόσμιων κλιματολογικών συνθηκών και την αύξηση της μέσης θερμοκρασίας της εδαφικής και υδάτινης επιφάνειας (IPCC, 2014a).

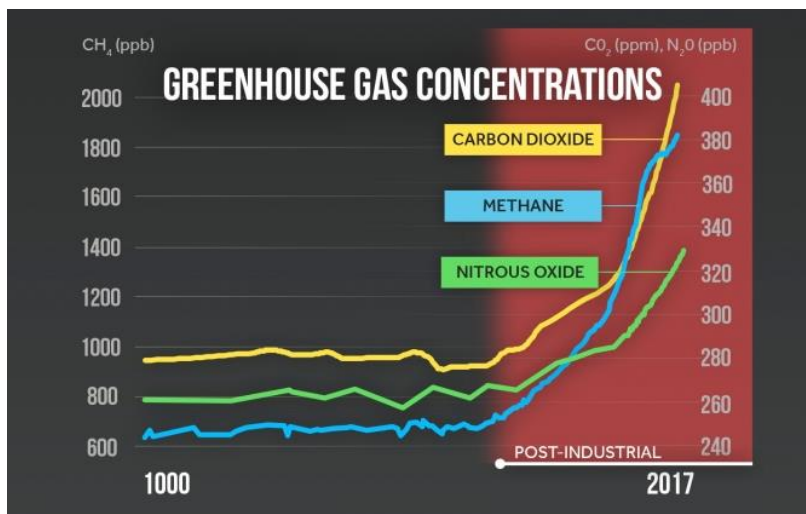
### **1.1. Ανθρωπογενείς εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου**

Η παρουσία των αερίων του θερμοκηπίου (ΑΘ) στην ατμόσφαιρα της Γης, είναι απαραίτητη για την εξασφάλιση των κατάλληλων θερμοκρασιακών συνθηκών και την συντήρηση των εδαφικών και υδατικών οικοσυστημάτων, καθώς αποτελούν ένα φυσικό

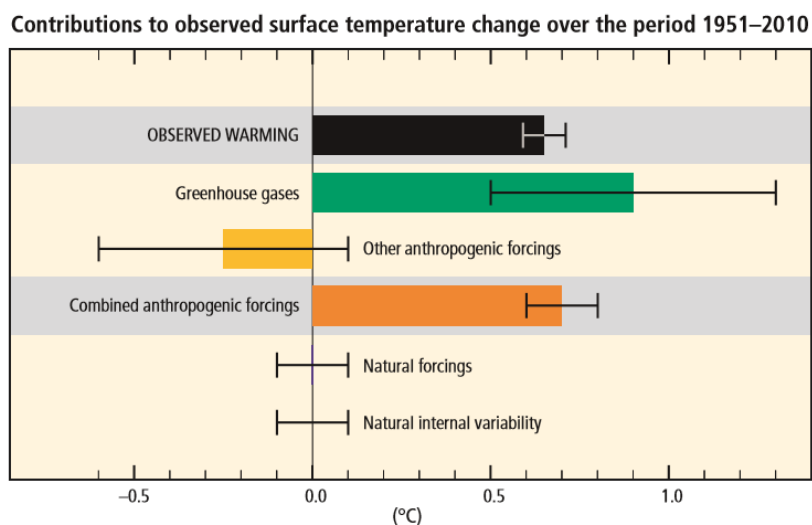
σύστημα ελέγχου της θερμοκρασίας. Οι κλιματολογικές συνθήκες καθορίζονται από την συνεχή ροή της ενέργειας που προέρχεται από τον ήλιο. Η ηλιακή ακτινοβολία διαπερνά την ατμοσφαίρα, θερμαίνει την επιφάνεια του πλανήτη και ένα μέρος της εκπέμπεται ξανά στην ατμόσφαιρα υπό μορφή υπέρυθρης ακτινοβολίας. Στην συνέχεια, ένα ποσοστό της υπέρυθρης ακτινοβολίας απορροφάται από τα αέρια του θερμοκηπίου και επανεκπέμπεται προς όλες τις κατευθύνσεις, διατηρώντας την μέση επιφανειακή επιφάνεια του πλανήτη στα επιθυμητά επίπεδα. Ωστόσο, η άνοδος της ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης των ΑΘ, η οποία οφείλεται σε ένα πλήθος ανθρώπινων δραστηριοτήτων, οδηγεί στον εγκλωβισμό σταδιακά μεγαλύτερου ποσού ενέργειας. Οι ανθρωπογενείς εκπομπές των ΑΘ έχουν αυξηθεί σημαντικά μετά την προβιομηχανική εποχή και πλέον παρουσιάζονται υψηλότερες από ποτέ, κυρίως λόγω της μεγάλης ανόδου του παγκόσμιου πληθυσμού και την αντίστοιχης μεγέθυνσης της παγκόσμιας οικονομικής δραστηριότητας (εικόνα 1). Οι επιπτώσεις της αύξησης των ατμοσφαιρικών συγκεντρώσεων των ΑΘ καθώς και των υπολοίπων ανθρωπογενών δράσεων, ενδέχεται να αποτελούν συνδυαστικά το κύριο αίτιο της παρατηρούμενης παγκόσμιας θερμοκρασιακής αύξησης (εικόνα 2), (IPCC, 2013).

Τα ΑΘ διαφοροποιούνται ως προς τις πηγές εκπομπής, την ατμοσφαιρική τους συγκέντρωση, την διάρκεια παραμονής στην ατμόσφαιρα και το δυναμικό παγκόσμιας θέρμανσης (ΔΠΘ, πίνακας 1), (IPCC, 2007).

Το διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) αποτελεί το κύριο ΑΘ που εκλύεται κατά τις ανθρωπογενείς δραστηριότητες, το ΔΠΘ του είναι το σημείο αναφοράς για τον καθορισμό της τιμής του συγκεκριμένου δείκτη για τα υπολοίπα ΑΘ και η φυσική του παρουσία στην ατμόσφαιρα οφείλεται στον βιοχημικό κύκλο του άνθρακα. Η αύξηση της ατμοσφαιρικής του συγκέντρωσης είναι περίπου ίση με 43% σε σχέση με την προ-βιομηχανική εποχή και σχετίζεται με την παραγωγή του κατά την καύση των ορυκτών καυσίμων σε τομείς όπως η ενέργεια, οι μεταφορές και η βιομηχανία, καθώς και με την δυσμενή ανθρωπογενή επίδραση στην ικανότητα των φυσικών του δεξαμενών να το απομακρύνουν από την ατμόσφαιρα.



**Εικόνα 1.** Μεταβολή της ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης των CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O και CH<sub>4</sub> από την προ-βιομηχανική εποχή μέχρι σήμερα (<https://www.climatecentral.org/>)



**Εικόνα 2.** Εκτιμώμενη συμβολή φυσικών (φυσικές πιέσεις και φυσική εσωτερική κλιματική μεταβλητότητα) και ανθρωπογενών παραγόντων (εκπομπές αερίων θερμοκηπίου, άλλες ανθρωπογενείς πιέσεις όπως η ψυκτική επίδραση των αερολυμάτων και η επίδραση της αλλαγής της χρήσης της γης, συνδυασμένες ανθρωπογενείς πιέσεις), στην μεταβολή της επιφανειακής θερμοκρασίας κατά την περίοδο 1951 – 2010 (IPCC, 2014d).

Το μεθάνιο (CH<sub>4</sub>) είναι ένα ακόμα σημαντικό ΑΘ, το οποίο παράγεται από φυσικές πηγές όπως οι υδροβιότοποι και η αποσύνθεση της βιομάζας. Οι απώλειες κατά την διαρροή και μεταφορά των ορυκτών καυσίμων, οι αγροτικές και οι κτηνοτροφικές δραστηριότητες είναι οι κύριες ανθρωπογενείς αιτίες αύξησης της ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης του CH<sub>4</sub>. Ο χρόνος παραμονής του CH<sub>4</sub> στην ατμόσφαιρα είναι πολύ μικρότερος σε σχέση με το CO<sub>2</sub> αλλά η συνεισφορά του στο φαινόμενο του θερμοκηπίου είναι σημαντική, καθώς διαθέτει πολύ μεγαλύτερο ΔΠΘ.

Το υποξείδιο του αζώτου (N<sub>2</sub>O) αποτελεί μέρος της ατμοσφαιρικής σύνθεσης εξαιτίας της συμμετοχής του στο κύκλο του αζώτου. Ωστόσο, η συγκέντρωση του έχει υπερδιπλασιαστεί σε σχέση με την προβιομηχανική εποχή, ως αποτέλεσμα της χρήσης των συνθετικών λιπασμάτων στην γεωργία, της καύσης της βιομάζας, της διαχείρισης των οργανικών αποβλήτων και διαφόρων βιομηχανικών δραστηριοτήτων. Ο χρόνος ζωής του N<sub>2</sub>O είναι μεγάλος και πριν απορροφηθεί από κάποια δεξαμενή ή καταστραφεί μέσω διαφόρων χημικών αντιδράσεων, παραμένει στην ατμόσφαιρα για σημαντικό χρονικό διάστημα. Επιπλέον, το N<sub>2</sub>O παρουσιάζει πολύ μεγάλο ΔΠΘ.

Οι χλωροφθοράνθρακες (CFCs), οι υδροχλωροφθοράνθρακες (HCFCs), οι βρωμοφθοράνθρακες (halons) και τα άλλα φθοριούχα αέρια συνθέτουν μία ομάδα αδρανών, άφλεκτων, άοσμων και μη τοξικών ΑΘ, τα οποία δεν διαθέτουν φυσικές πηγές έκλυσης και απελευθερώνονται στην ατμόσφαιρα εξαιτίας των ανθρώπινων δραστηριοτήτων. Οι CFCs και HCFCs χρησιμοποιούνταν ευρέως ως ψυκτικά υγρά και προωθητικά αέρια, αλλά σταδιακά αντικαταστάθηκαν από άλλα φθοριούχα αέρια σύμφωνα με το Πρωτόκολλο του Μόντρεαλ, όπως οι υδροφθοράνθρακες (HFCs), λόγω της συνεισφοράς τους στην λέπτυνση της στιβάδας του όζοντος. Η ατμοσφαιρική συγκέντρωση των φθοριούχων αερίων κατά τις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα ήταν μηδενική αλλά η χρήση τους σε διάφορα βιομηχανικά προϊόντα ή διαδικασίες, αύξησαν σταδιακά την ατμοσφαιρική τους συγκέντρωση. Οι συγκεκριμένες ενώσεις παραμένουν στην ατμόσφαιρα για εκατοντάδες ή και χιλιάδες χρόνια, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις η

απομάκρυνση τους πραγματοποιείται μόνο μετά την καταστροφή τους από την ηλιακή ακτινοβολία στα ανώτερα ατμοσφαιρικά στρώματα. Το ΔΘΠ των φθοριούχων αερίων είναι πάρα πολύ μεγάλο και οι περιορισμένες ατμοσφαιρικές τους συγκεντρώσεις καθορίζουν δυσανάλογα την παγκόσμια θερμοκρασιακή άνοδο.

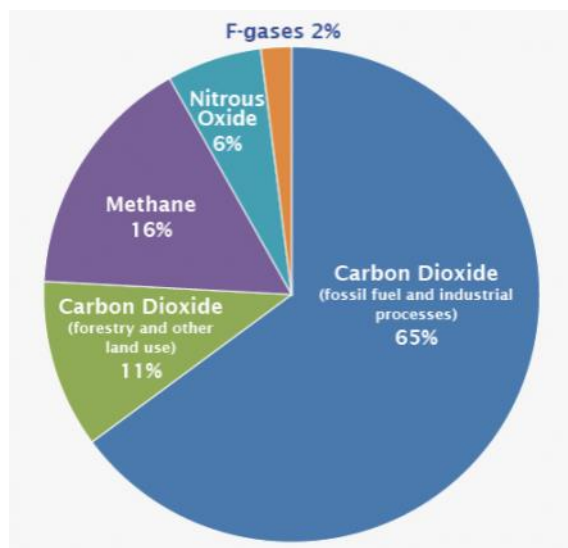
**Πίνακας 1.** Χρόνος παραμονής στην ατμόσφαιρά και Δυναμικό Παγκόσμιας Θέρμανσης των κυριότερων αερίων του θερμοκηπίου ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ) και ενδεικτικών αερίων που ελέγχονται από το Πρωτόκολλο του Μόντρεαλ ( $\text{CCl}_3\text{F}$  και  $\text{CCl}_2\text{F}_2$ ), HFCs ( $\text{CHF}_3$  και  $\text{CH}_2\text{F}_2$ ) και υπερφθοριωμένων αερίων ( $\text{NF}_3$ ,  $\text{SF}_6$ ,  $\text{CF}_4$ ), (IPCC, 2007).

Αέριο	Χρόνος Ζωής (έτη)	ΔΠΘ (20 έτη)	ΔΠΘ (100 έτη)	ΔΠΘ (500 έτη)
Διοξείδιο του άνθρακα ( $\text{CO}_2$ )	Μεταβάλλεται	1	1	1
Μεθάνιο ( $\text{CH}_4$ )	12	72	25	7,6
Υποξείδιο του αζώτου ( $\text{N}_2\text{O}$ )	114	289	298	153
CFC-11 ( $\text{CCl}_3\text{F}$ )	45	6730	4750	1620
CFC-12 ( $\text{CCl}_2\text{F}_2$ )	100	11000	10900	5200
HFC-23 ( $\text{CHF}_3$ )	270	12000	14800	12200
HFC-32 ( $\text{CH}_2\text{F}_2$ )	4,9	2330	675	205
Τριφθοριούχο άζωτο ( $\text{NF}_3$ )	3200	16300	22800	32600
Εξαφθοριούχο θείο ( $\text{SF}_6$ )	740	12300	17200	20700
PFC-14 ( $\text{CF}_4$ )	50000	5210	7390	11200

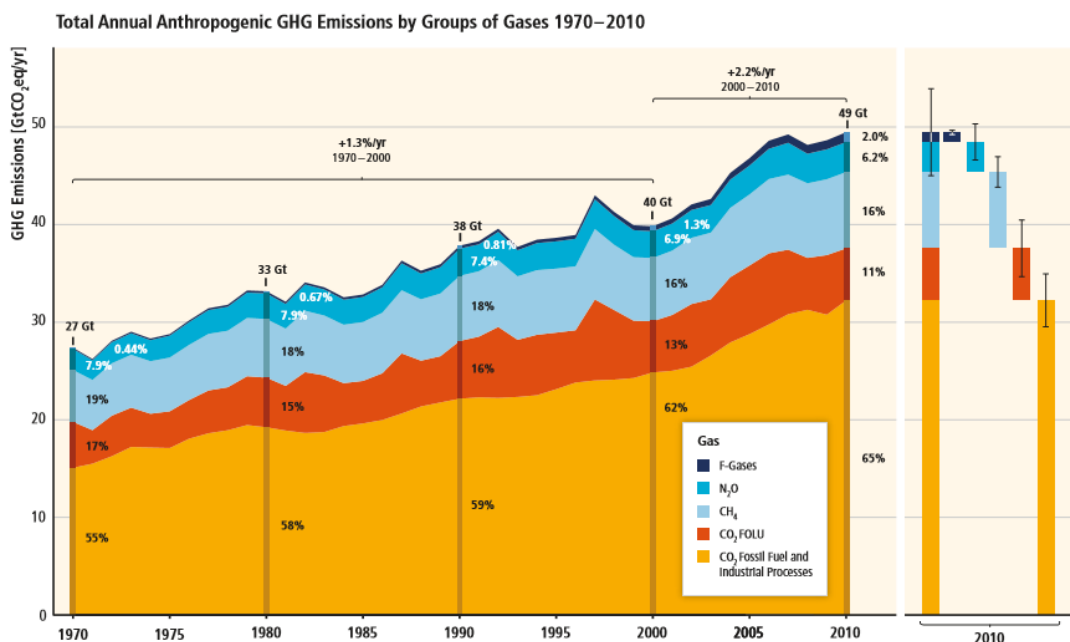
Οι υδρατμοί είναι το πλέον άφθονο ΑΘ στην ατμόσφαιρα. Οι ανθρώπινες δραστηριότητες ασκούν πολύ μικρή επιρροή στην ατμοσφαιρική συγκέντρωση των υδρατμών, κυρίως μέσω της άρδευσης και της αποδάσωσης, συνεπώς δεν θεωρούνται ως ανθρωπογενές ΑΘ. Ωστόσο, η άνοδος της παγκόσμιας θερμοκρασίας εξαιτίας των ανθρωπογενών εκπομπών των υπολοίπων ΑΘ, οδηγεί στην αύξηση της εξάτμισης του νερού και την παραμονή των υδρατμών στην ατμόσφαιρα, δημιουργώντας έναν βρόγχο

κατά τον οποίο η παγκόσμια θέρμανση δημιουργεί φαινόμενα που αυξάνουν την ένταση της.

Το όζον ( $O_3$ ) είναι ένα ακόμα ΑΘ, το οποίο αν και δεν εκλύεται άμεσα από τις ανθρώπινες δραστηριότητες, αποτελεί δευτερογενή ρύπο που παράγεται στην ατμόσφαιρα κατά την φωτοχημική αντίδραση του ηλιακού φωτός με διάφορους πρωτογενείς αέριους ρύπους, όπως τα οξείδια του αζώτου και οι πτητικές οργανικές ενώσεις. Η συγκέντρωση του τροποσφαιρικού  $O_3$  καθορίζεται από την σύνθεση του μέσω των φωτοχημικών αντιδράσεων στην τροπόσφαιρα και την στρατόσφαιρα, κατά τις οποίες το  $O_3$  σχηματίζεται από το  $O_2$  που εκλύεται από την βιόσφαιρα. Η συγκεκριμένη διαδικασία εξισορροπεί την απώλεια του  $O_3$  λόγω της διάσπασης του κατά την απορρόφηση της υπέρυθρης ακτινοβολίας. Ωστόσο, η παρουσία των πρωτογενών ρύπων δεν αυξάνει τα επίπεδα του  $O_3$ , καθώς η άνοδος των συγκεντρώσεων των halons, των CFCs και των HCFCs, μεταξύ άλλων, δρα καταστρεπτικά στα μόρια του  $O_3$ . Οι συγκεκριμένοι ρύποι είναι υπεύθυνοι για την μείωση της μέσης τροποσφαιρικής συγκέντρωσης του  $O_3$  κατά 3% στο διάστημα 1979-2014.



**Εικόνα 3.** Ποσοστιαίες ανθρωπογενείς εκπομπές αερίων θερμοκηπίου κατά το έτος 2010 (IPCC, 2014a)

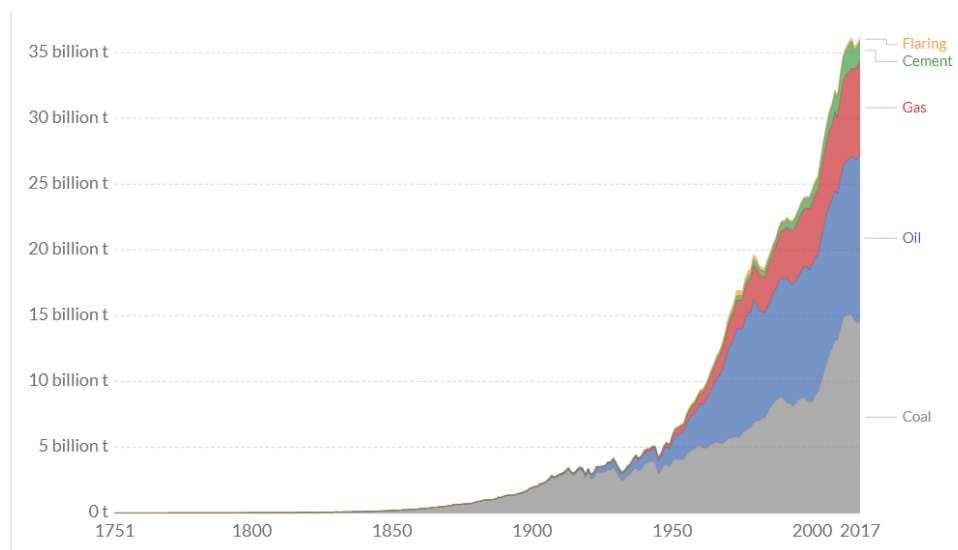


**Εικόνα 4.** Ετήσια ανθρωπογενής εκπομπή αερίων θερμοκηπίου κατά το χρονικό διάστημα 1970 – 2010. Στο συγκεκριμένο γράφημα περιλαμβάνονται οι εκπομπές CO<sub>2</sub> λόγω της καύσης ορυκτών καυσίμων και διαφόρων βιομηχανικών δραστηριοτήτων, CO<sub>2</sub> λόγω δασοκομικών δραστηριοτήτων και άλλων χρήσεων της γης (CO<sub>2</sub> - FOLU), CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O και φθοριούχων αερίων (F gases) που περιλαμβάνονται στο Πρωτόκολλο του Μόντρεαλ (IPCC, 2014a).

Οι ανθρωπογενείς εκπομπές ΑΘ παρουσιάζουν συνεχώς ανοδική τάση, ενώ κατά την χρονική περίοδο 1750 – 2011 οι συσσωρευμένες εκπομπές CO<sub>2</sub>, εκτιμήθηκαν ίσες με 2040 ± 310 GtCO<sub>2</sub>. Το 40% των συγκεκριμένων εκπομπών έχει απομακρυνθεί από την ατμόσφαιρα και έχει ενσωματωθεί στην φυτική βιομάζα, στο έδαφος και στα ύδατα των ωκεανών. Η μισή περίπου ποσότητα των ανθρωπογενών ΑΘ, εκλύθηκε στο διάστημα 1970 – 2010. Κατά την συγκεκριμένη χρονική περίοδο, η εκπομπή των ΑΘ συνέχισε να αυξάνεται, ενώ ο μεγαλύτερος ρυθμός αύξησης καταγράφηκε κατά την δεκαετία 2000 – 2010, παρόλα τα μέτρα και τις πολιτικές μετριασμού του φαινομένου. Συγκεκριμένα, το

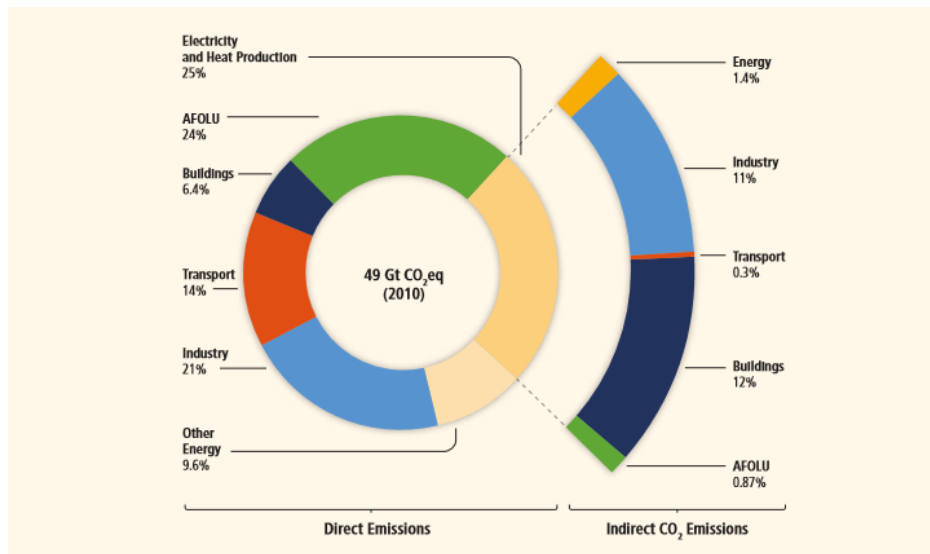


ύψος των ετήσιων εκπομπών κατά το 2010, εκτιμήθηκε ίσο με  $49 \pm 4.5 \text{ GtCO}_2\text{-eq/yr}$  (εικόνα 4). Οι εκπομπές  $\text{CO}_2$  που οφείλονται στην χρήση των ορυκτών καυσίμων και σε ένα πλήθος βιομηχανικών δραστηριοτήτων, συμμετείχαν κατά 78% στην αύξηση των συνολικών εκπομπών στην περίοδο 1970 – 2010, ενώ ανάλογη είναι και η συμβολή τους στην αύξηση των εκπομπών της περιόδου 2000 – 2010. Η συνεισφορά της πληθυσμιακής αύξησης κατά την δεκαετία 2000 – 2010, παρέμεινε σταθερή σε σχέση με το διάστημα 1970 – 2000, σε αντίθεση με την συμβολή του ρυθμού οικονομικής ανάπτυξης, η οποία αυξήθηκε σημαντικά. Η άνοδος της κατανάλωσης του γαιάνθρακα και των υπόλοιπων ορυκτών καυσίμων για την κάλυψη των παγκόσμιων ενεργειακών αναγκών (εικόνα 5), είχε αρνητική επίδραση στην επίτευξη του στόχου της απεξάρτησης από την χρήση τους (IPCC, 2014a).



**Εικόνα 5.** Ετήσιες παγκόσμιες εκπομπές  $\text{CO}_2$ , ανά τύπο ορυκτού καυσίμου για την χρονική περίοδο 1751 – 2017 (<https://ourworldindata.org/>).

Greenhouse Gas Emissions by Economic Sectors



**Εικόνα 6.** Ετήσια ποσοστιαία ανθρωπογενής εκπομπή αερίων θερμοκηπίου (GtCO<sub>2</sub>eq/yr), ανά οικονομικό τομέα για το έτος 2010. Οι εκπομπές του αγροτικού και δασοκομικού τομέα, καθώς και άλλων χρήσεων γης (AFOLU) αποτελούν πολύ σημαντικό μέρος των συνολικών εκπομπών (IPCC, 2014a).

Οι οικονομικοί τομείς διαφοροποιούνται ως προς την συνεισφορά τους στην εκπομπή των ανθρωπογενών ΑΘ (εικόνα 6). Η καύση των ορυκτών καυσίμων με στόχο την παραγωγή ενέργειας και θερμότητας, αποτελεί την ανθρώπινη δραστηριότητα που είναι υπεύθυνη για την έκλυση του 25% της συνολικής παγκόσμιας ποσότητας ΑΘ. Ανάλογη είναι και η συμβολή του αγροτικού και δασοκομικού τομέα, ο οποίος καταναλώνει σημαντικούς πόρους για την παραγωγή των κύριων εισροών (πχ λιπάσματα, φυτοφάρμακα), χωρίς να προσμετράται η ποσότητα του CO<sub>2</sub> που απομακρύνεται από την ατμόσφαιρα μέσω της ενσωμάτωσης του στην φυτική βιομάζα και το έδαφος. Η συγκεκριμένη ποσότητα υπολογίζεται ίση με το 20% των εκπομπών του τομέα. Οι βιομηχανικές δραστηριότητες εκπέμπουν το 21% των ανθρωπογενών ΑΘ, κυρίως μέσω της καύσης ορυκτών καυσίμων για την κάλυψη των ενεργειακών απαιτήσεων των

παραγωγικών τους δράσεων. Ένα μέρος των εκπομπών οφείλεται σε διάφορες χημικές και μεταλλουργικές διεργασίες και στην επεξεργασία των ορυκτών. Οι εκπομπές που προκύπτουν μέσω της κατανάλωσης της ηλεκτρικής ενέργειας από την βιομηχανία, κατατάσσονται στον τομέα της ενέργειας. Οι μεταφορές παράγουν το 14% των εκπομπών ΑΘ εξαιτίας της χρήσης ορυκτών καυσίμων, καθώς το 95% των ενεργειακών τους αναγκών καλύπτεται μέσω της καύσης βενζίνης και πετρελαίου. Οι εκπομπές των κτιριακών υποδομών αφορούν την κατανάλωση των ενεργειακών πόρων για τις ανάγκες θέρμανσης και καθημερινής διαβίωσης, χωρίς να υπολογίζεται η καταναλισκόμενη ηλεκτρική ενέργεια, σε αντιστοιχία με το τομέα της βιομηχανίας. Τέλος, οι υπόλοιπες εκπομπές ΑΘ παράγονται κατά τις δραστηριότητες του τομέα της ενέργειας που δεν σχετίζονται άμεσα με την παραγωγή ενέργειας ή θερμότητας, όπως η άντληση ή η εξαγωγή των ορυκτών καυσίμων καθώς και η διύλιση, η επεξεργασία και η μεταφορά τους (IPCC, 2014a)

## 1.2. Μεταβολή του παγκόσμιου κλίματος

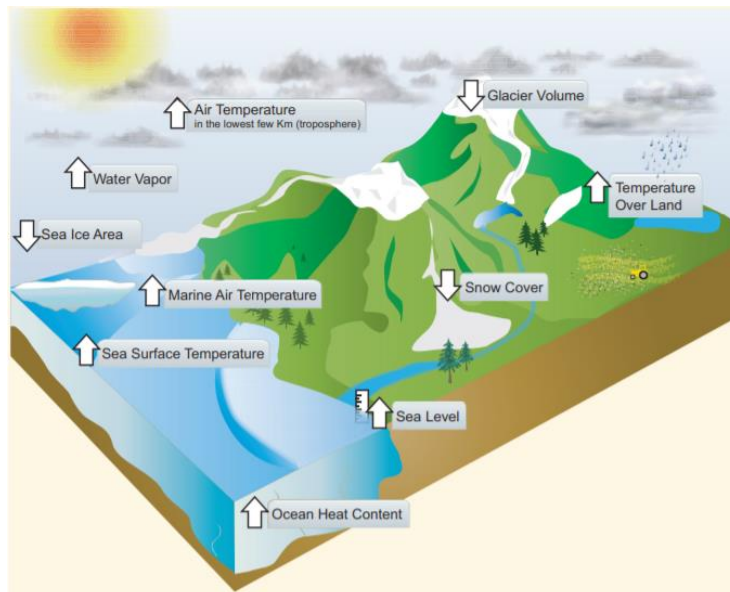
Σε κάθε μία από τις τρεις τελευταίες δεκαετίες, η μέση τιμή της θερμοκρασίας στην επιφάνεια του πλανήτη υπήρξε διαδοχικά μεγαλύτερη σε σχέση με τις αντίστοιχες μετρήσεις κατά τις δεκαετίες μετά το 1850. Το χρονικό διάστημα από το 1983 μέχρι και το 2012, υπήρξε πιθανώς η θερμότερη τριακονταετής περίοδος των τελευταίων 1400 ετών στο Βόρειο ημισφαίριο, για το οποίο μπορούν να γίνουν ασφαλέστερες εκτιμήσεις. Η παγκόσμια μέση συνδυασμένη τιμή της θερμοκρασίας της επιφάνειας του εδάφους και των ωκεανών, παρουσίασε αύξηση 0,85 °C κατά την περίοδο από το 1880 μέχρι το 2012 (IPCC, 2013). Οι επιπτώσεις της ανόδου της θερμοκρασίας, οι οποίες μπορεί να είναι είτε αρνητικές είτε επωφελείς, παρουσιάζουν ποιοτική και ποσοτική διαφοροποίηση σε τοπικό και σε ευρύτερο γεωγραφικό επίπεδο αλλά έχουν παγκόσμιο αντίκτυπο. Η κλιματική αλλαγή είναι ένα παγκόσμιο φαινόμενο, το οποίο εκφράζεται διαφορετικά σε κάθε γεωγραφική περιοχή και οι επιπτώσεις του συνδέονται με τις ιδιαιτερότητες των φυσικών

συστημάτων. Αναλόγως, οι τοπικές διαφοροποιήσεις επηρεάζουν τόσο το παγκόσμιο φυσικό κλιματικό σύστημα, όσο και τα οικονομικά, κοινωνικά και πολιτικά συστήματα τα οποία αποκτούν όλο και πιο παγκοσμιοποιημένη διάσταση (IPCC, 2014c).

Η άνοδος της θερμοκρασίας, επιδρά στον παγκόσμιο υδρολογικό κύκλο, μεταβάλλοντας παραμέτρους όπως η εξάτμιση και η βροχόπτωση. Καθώς η τάση των κορεσμένων ατμών του ατμοσφαιρικού αέρα αυξάνεται συναρτήσει της θερμοκρασίας, καταγράφεται ανάλογη αύξηση της συγκέντρωσης των υδρατμών στην ατμόσφαιρα. Η άνοδος της τροποσφαιρικής σχετικής υγρασίας κατά 3,5% σε σχέση με το 1970, συνάδει με την αύξηση της θερμοκρασίας στο συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (IPCC, 2013). Έτσι, ενώ οι μεταβολές των κατακρημνίσεων και της εξάτμισης δεν είναι εύκολο να υπολογιστούν, διάφορα μοντέλα δείχνουν ότι οι τιμές των παραμέτρων θα παρουσιάσουν αξιόλογη άνοδο έως το τέλος του 21<sup>ου</sup> αιώνα (Roderick et al, 2014). Επιπλέον, η μεταβολή της αλατότητας των επιφανειακών υδάτων των ωκεανών αποτελεί ισχυρή ένδειξη που επαληθεύει την συγκεκριμένη τάση. Η άνοδος της αλατότητας από το 1950, επιβεβαιώνει την αύξηση της εξάτμισης σε σχέση με την βροχόπτωση, σε συμφωνία με την παρατηρούμενη αύξηση των ατμοσφαιρικών υδρατμών. Η αύξηση της θερμοκρασίας και της εξάτμισης των επιφανειακών υδάτων, έχει ως αποτέλεσμα την μεταβολή της συχνότητας στην εμφάνιση φαινομένων βροχόπτωσης υψηλής έντασης. Συνολικά, ο αριθμός των συμβάντων ακραίων κατακρημνίσεων έχει αυξηθεί από το 1951, αν και αυτή η τάση αφορά συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές. Έτσι, μέχρι το τέλος του 21ου αιώνα αναμένεται μείωση των συνολικών ή των ακραίων κατακρημνίσεων σε κάποιες περιοχές, καθώς και η μεταβολή τους σε εποχική βάση. Αναλόγως, άλλες περιοχές θα αντιμετωπίσουν αύξηση της ετήσιας βροχόπτωσης και της συχνότητας των φαινομένων υψηλής έντασης (IPCC, 2013).

Τα ύδατα των ωκεανών απορροφούν το μεγαλύτερο μέρος της πλεονάζουσας ενέργειας, σε ποσοστό που ξεπερνά το 90% για την περίοδο 1971-2010, αυξάνοντας την θερμοκρασία των ανώτερων στρωμάτων τους. Η άνοδος της θερμοκρασίας της

ατμόσφαιρας και των ωκεανών επάγει την αύξηση του όγκου των υδάτων, την σταδιακή απώλεια της μάζας των παγετώνων και το λιώσιμο των ορεινών πάγων, με αποτέλεσμα την άνοδο της μέσης στάθμης των θαλάσσιων υδάτων κατά 0,19 μέτρα στο χρονικό διάστημα 1901-2010. Κατά τα τελευταία 30 χρόνια, η μάζα των παγετώνων της Γροιλανδίας, της Ανταρκτικής και των υπολοίπων περιοχών του πλανήτη συρρικνώνεται, ενώ περιορίζεται και η κάλυψη της Αρκτικής θάλασσας με πάγο. Αναλόγως, μειώνεται και η κάλυψη των περιοχών του Βόρειου ημισφαιρίου με χιόνι κατά την άνοιξη. Ως αποτέλεσμα, η συνεχιζόμενη αύξηση της στάθμης των υδάτων θα επιφέρει σημαντικά προβλήματα στις παράκτιες περιοχές, οι οποίες θα αντιμετωπίσουν την υποχώρηση των ακτογραμμών, την διάβρωση των εδαφών και την υποβάθμιση των καλλιεργούμενων εκτάσεων και των αποθεμάτων γλυκού νερού λόγω αυξημένης αλατότητας (IPCC, 2013).



**Εικόνα 7.** Ανεξάρτητη ανάλυση ενός πλήθους μεταβλητών του κλιματικού συστήματος, οι οποίες αναμένεται να διαφοροποιηθούν λόγω της αύξησης της θερμοκρασίας (IPCC, 2013).

Οι μεταβολές στον βιοχημικό κύκλο του άνθρακα εξαιτίας των ανθρώπινων δραστηριοτήτων που οδηγούν στην αύξηση της ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης του CO<sub>2</sub>, έχουν ως αποτέλεσμα την οξίνιση των επιφανειακών υδάτων των ωκεανών. Η απορρόφηση του CO<sub>2</sub> ευθύνεται για την αύξηση του pH κατά 0,1 από την αρχή της βιομηχανικής εποχής, σε αντιστοιχία με την αύξηση της συγκέντρωσης των ιόντων υδρογόνου κατά 26%. Η διαφοροποίηση της οξύτητας σε μεγαλύτερα βάθη, εξαιτίας του ανθρωπογενούς CO<sub>2</sub> και διαφόρων φυσικών και βιολογικών διεργασιών, συμβαίνει με πιο αργούς ρυθμούς (IPCC, 2013).

Η κλιματική διαφοροποίηση αναμένεται να επηρεάσει τα οικοσυστήματα σε παγκόσμιο επίπεδο. Ένας μεγάλος αριθμός χερσαίων και θαλάσσιων ειδών θα βρεθεί αντιμέτωπο με την αυξημένη πιθανότητα της εξαφάνισης, ειδικά στην περίπτωση της εκδήλωσης πολλαπλών παραγόντων πίεσης, όπως η ρύπανση, η υπερεκμετάλλευση των φυσικών πόρων και η γενικότερη διαφοροποίηση του ενδιαιτήματος. Η προσαρμογή στις διαμορφούμενες κλιματικές συνθήκες θα οδηγήσει στην διαφοροποίηση των γεωγραφικών ορίων εξάπλωσης και την χρονική μετατόπιση της αναπαραγωγικής περιόδου, ενώ τα είδη που διαθέτουν περιορισμένες ικανότητες προσαρμογής θα περιοριστούν πληθυσμιακά και γεωγραφικά. Η μετατόπιση των γεωγραφικών ζωνών εξάπλωσης αρκετών φυτικών και ζωικών ειδών έχει γίνει ήδη αντιληπτή ενώ η εισβολή ξενικών ειδών σε περιοχές με μεγαλύτερο γεωγραφικό πλάτος, διευρύνει τα διαειδικά φαινόμενα ανταγωνισμού. Η οξίνιση των υδάτων των ωκεανών επιδρά στα θαλάσσια οικοσυστήματα, ειδικά στις περιοχές των πόλων και στους κοραλλιογενείς υφάλους, επηρεάζοντας την φυσιολογία, την συμπεριφορά και την δυναμική των πληθυσμών ενός μεγάλου αριθμού οργανισμών, θέτοντας σε κίνδυνο τις αλιευτικές δραστηριότητες. Ο κίνδυνος εξαφάνισης ή υποβάθμισης των δασικών οικοσυστημάτων εξαιτίας της θερμοκρασιακής αύξησης και της ξηρασίας, συνιστά απειλή για την βιοποικιλότητα, την αποθήκευση του άνθρακα, την ποιότητα των υδάτων και τις σχετικές οικονομικές δραστηριότητες (IPCC, 2014b).

## **2. Επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής**

### **2.1. Επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην παγκόσμια οικονομία**

Η αύξηση της παγκόσμιας θερμοκρασίας, ασκεί μεγάλη επιρροή στην δυναμική ενός πλήθους χημικών, βιολογικών και οικολογικών διεργασιών. Αντιστοίχως, ένας αυξανόμενος αριθμός ερευνών υποδεικνύει ότι η μεταβολή των κλιματολογικών συνθηκών επηρεάζει την λειτουργία και την οικονομική δραστηριότητα των σύγχρονων ανθρώπινων κοινωνιών. Η οικονομική παραγωγικότητα και η αποτελεσματικότητα με την οποία μετασχηματίζονται η εργασία, το κεφάλαιο, η ενέργεια και οι υπόλοιποι φυσικοί πόροι σε αγαθά και υπηρεσίες, καθορίζουν την ατομική και κοινωνική ευημερία και το βιοτικό επίπεδο. Η θερμοκρασιακή αύξηση επιδρά στην απόδοση των αγροτικών και μη αγροτικών δραστηριοτήτων, τόσο στις αναπτυσσόμενες όσο και στις ανεπτυγμένες χώρες. Στην περίπτωση που δεν εφαρμοστούν οι κατάλληλες πολιτικές προσαρμογής και μετριασμού των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής, αναμένεται σημαντική μείωση στο μέσο παγκόσμιο ατομικό εισόδημα μέχρι το τέλος του 21ου αιώνα, καθώς και διεύρυνση της ανισότητας στην παγκόσμια κατανομή του (Burke et al, 2015).

Ενώ το κύριο μέρος της οικονομικής δραστηριότητας είναι συγκεντρωμένο σε ένα περιορισμένο αριθμό ανεπτυγμένων χωρών, οι αρνητικές επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην παγκόσμια οικονομία οφείλονται στην ευπάθεια των ευάλωτων αναπτυσσόμενων χωρών. Οι αναπτυσσόμενες οικονομίες είναι περισσότερο εκτεθειμένες στην κλιματικές μεταβολές εξαιτίας της διάρθρωσης της οικονομία τους, η οποία εξαρτάται από την αγροτική παραγωγή και τους υδατικούς πόρους. Αντιθέτως, οι ανεπτυγμένες χώρες διαθέτουν μεγάλο εύρος οικονομικών δραστηριοτήτων σε τομείς όπως η βιομηχανία και οι υπηρεσίες, οι οποίοι επηρεάζονται λιγότερο από την μεταβολή των κλιματικών συνθηκών. Επιπλέον, πολλές αναπτυσσόμενες χώρες ανήκουν σε γεωγραφικές περιοχές με θερμότερο κλίμα και τα τοπικά οικοσυστήματα ήδη λειτουργούν στο ανώτατο ανεκτό όριο διαφόρων κλιματικών παραμέτρων. Επιπροσθέτως, οι αναπτυσσόμενες οικονομίες χαρακτηρίζονται

από περιορισμένη ικανότητα προσαρμογής στην κλιματική αλλαγή, εφόσον δεν διαθέτουν σύγχρονη τεχνολογία ή την οικονομική δυνατότητα να την αποκτήσουν, καθώς και τους απαιτούμενους πόρους για τον σχεδιασμό και εγκατάσταση υποδομών μεγάλης κλίμακας (Tol et al, 2018).

Οι πολιτικές προσαρμογής και μετριασμού των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής απαιτούν ιδιαίτερο οικονομικό κόστος και διαθέτουν παγκοσμιοποιημένα και τοπικά χαρακτηριστικά, όπως στην περίπτωση της επιβολής φορολογικών αντικινήτρων που σχετίζονται με τις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου, καθώς και του σχεδιασμού και της χρηματοδότησης των κατάλληλων στρατηγικών ενίσχυσης των ευάλωτων οικονομικών τομέων και κοινωνιών, με την ανάλογη αναδιανομή των απαιτούμενων πόρων (IPCC, 2014b).

## **2.2. Επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην ανθρώπινη υγεία και ασφάλεια**

Η υγεία του ανθρώπινου πληθυσμού επηρεάζεται από τις διακυμάνσεις των καιρικών προτύπων, καθώς και από άλλες πτυχές της κλιματικής αλλαγής. Οι συγκεκριμένες επιδράσεις ενδέχεται να είναι είτε άμεσες και να οφείλονται σε διαφοροποιήσεις στην συχνότητα και ένταση των ακραίων καιρικών φαινομένων, είτε έμμεσες και να σχετίζονται με ένα πλήθος οικολογικών διαταραχών που οφείλονται στην κλιματική αλλαγή ή με κοινωνικές αποκρίσεις στην κλιματική αλλαγή (IPCC, 2014b).

Συνοπτικά, οι μεταβολές του κλίματος ασκούν σαφείς επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία, οι οποίες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής:

**α)** άμεσες επιπτώσεις, οι οποίες σχετίζονται κυρίως με την συχνότητα των ακραίων καιρικών φαινομένων, όπως οι υψηλές θερμοκρασιακές τιμές, η ξηρασία και οι έντονες βροχοπτώσεις.



**β)** επιπτώσεις που συνδέονται με τα φυσικά συστήματα, όπως η γεωγραφική και πληθυσμιακή εξάπλωση βιολογικών φορέων μολυσματικών ασθενειών, οι ασθένειες που μεταδίδονται μέσω του νερού και η αέρια ρύπανση.

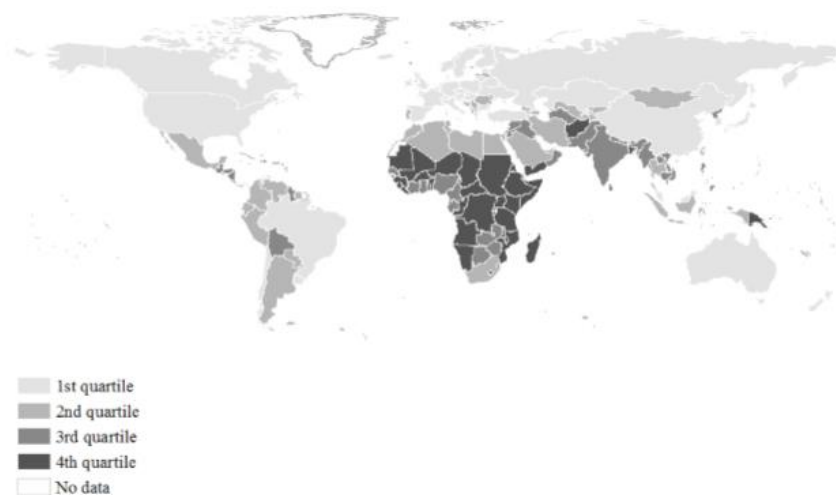
**γ)** επιπτώσεις που σχετίζονται έντονα με τα ανθρώπινα συστήματα, όπως ο υποσιτισμός, οι συνθήκες και η δυνατότητα για εργασία, καθώς και το ψυχολογικό στρες (IPCC, 2014b).

Ενώ η διαθεσιμότητα των αποδείξεων σχετικά με τις έμμεσες επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής είναι επαρκείς, οι μελέτες για τις άμεσες επιπτώσεις είναι σχετικά περιορισμένες και δεν έχουν ποσοτικοποιηθεί ικανοποιητικά. Εντούτοις, η επίδραση της μεταβλητότητας και της μέσης τιμής της θερμοκρασίας στην ανθρώπινη υγεία θεωρείται αποδεδειγμένη. Η συχνότερη εμφάνιση ακραίων καιρικών φαινομένων αυξάνει την πιθανότητα εκδήλωσης φυσικών καταστροφών (πλημμύρες, δασικές πυρκαγιές, ανεμοθύελλες), οι οποίες επιφέρουν αρνητικές συνέπειες στην υγεία των ανθρώπινων κοινωνιών σε τοπικό επίπεδο (Franchini and Mannucci, 2015). Η αύξηση της συχνότητας εμφάνισης ακραίων θερμοκρασιακών τιμών και η υψηλή διακύμανση της θερμοκρασίας, οδηγούν στην άνοδο της θνησιμότητας των ασθενών που πάσχουν από χρόνιες παθήσεις και στην υποβάθμιση του βιοτικού τους επιπέδου (Basu and Ostro, 2008). Αναλόγως, η υγεία των ανθρώπων που εργάζονται χειρωνακτικά σε εξωτερικούς χώρους και σε συνθήκες περιβάλλοντος, διατρέχει υψηλότερο κίνδυνο (Ebi and Mills, 2013). Επιπλέον, η αύξηση της υπεριώδους ακτινοβολίας σε συνδυασμό με την άνοδο της θερμοκρασίας, συνδέονται με υψηλή πιθανότητα εκδήλωσης ορισμένων τύπων νεοπλασματικών δερματικών ασθενειών και οφθαλμολογικών παθήσεων (van der Leun et al., 2008). Η μείωση της θνησιμότητας και της συχνότητας των παθήσεων που ευνοούνται από τις χαμηλές θερμοκρασίες, στις περιοχές με μεγάλο γεωγραφικό πλάτος, δεν αναμένεται να εξισορροπήσει τις αρνητικές συνέπειες της ανόδου της θερμοκρασίας στις ευπαθείς περιοχές του πλανήτη (Franchini and Mannucci, 2015).

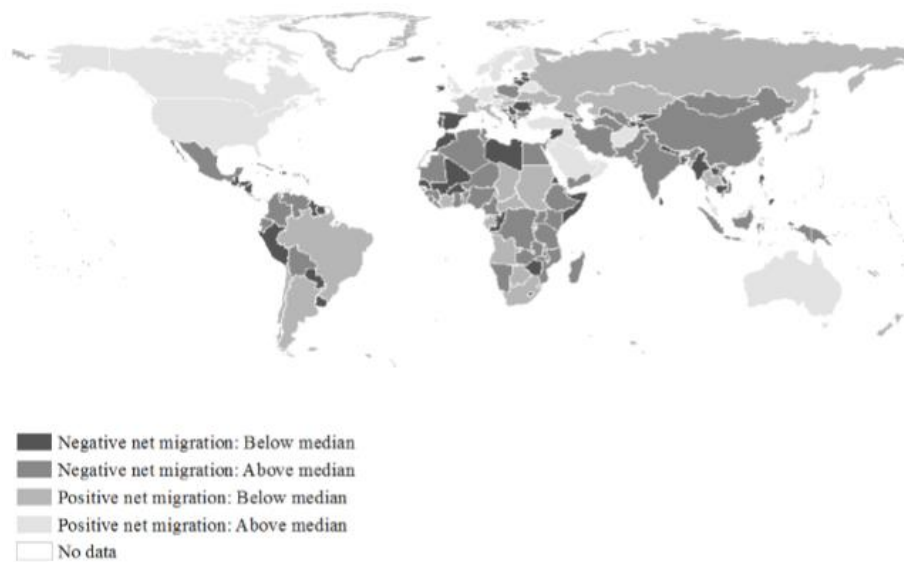
Η επίδραση της κλιματικής αλλαγής στην ανθρώπινη υγεία συνδέεται με την κοινωνιο-οικονομική κατάσταση, καθώς η υγεία των ανθρώπων σε οικονομικά ασθενέστερες χώρες και περιοχές είναι περισσότερο ευάλωτη στις ακραίες καιρικές συνθήκες (Malik et al., 2012,) χωρίς να παραβλέπεται το γεγονός ότι οι επιπτώσεις του φαινομένου είναι σημαντικές και για την υγεία των πληθυσμών των πλουσιότερων χωρών (World Bank, 2010). Σε κάποιες περιοχές, υπάρχει διασύνδεση της εθνικότητας και της φυλετικής καταγωγής με την επικινδυνότητα της έκθεσης στα ακραία καιρικά φαινόμενα (Basu and Ostro, 2008), λόγω της κοινωνικής και οικονομικής διαστρωμάτωσης. Αναλόγως, το σύστημα δημόσιας υγείας και οι κοινωνικές υποδομές, καθορίζουν τις επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην ανθρώπινη υγεία. Οι πληθυσμοί που δεν έχουν επαρκή πρόσβαση σε ιατρική περίθαλψη και στις απαραίτητες υπηρεσίες δημόσιας υγείας, επηρεάζονται αναλόγως από την κλιματική μεταβλητότητα. Καθώς ένας σημαντικός αριθμός μολυσματικών ασθενειών παρουσιάζει εποχική διακύμανση στα φαινόμενα έξαρσης, η οποία σχετίζεται με τις ακραίες θερμοκρασιακές τιμές, ενώ η έξαρση άλλων μολυσματικών ασθενειών συνδέεται άμεσα με την διακύμανση της βροχόπτωσης, η πρόσβαση σε ποιοτικές υπηρεσίες υγειονομικής περίθαλψης θα αποκτά σταδιακά αυξανόμενη σημασία, εφόσον η συχνότητα εμφάνισης ακραίων κλιματολογικών φαινομένων αναμένεται να αυξηθεί σε παγκόσμιο επίπεδο (IPCC, 2014b).

Καθώς η μεταβολή των καιρικών προτύπων συχνά επιδρά αρνητικά στο μέσο επίπεδο διαβίωσης των ανθρώπινων κοινωνιών, η σχέση μεταξύ της κλιματικής αλλαγής και της μετανάστευσης αναμένεται να ισχυροποιηθεί σε πολλά σημεία του πλανήτη, λόγω της περαιτέρω υποβάθμισης των οικοσυστημάτων, του περιορισμού των φυσικών πόρων, της αρνητικής επίδρασης στην πρωτογενή αγροτική και κτηνοτροφική παραγωγή και των σχετιζόμενων κοινωνικο-οικονομικών και γεωπολιτικών πιέσεων. Ουσιαστικά, η μετανάστευση των ανθρώπινων πληθυσμών αποτελεί μία στρατηγική προσαρμογής στις επιπτώσεις ενός πλήθους πιέσεων, όπως το φαινόμενο της κλιματικής αλλαγής, οι οποίες απειλούν την επιβίωσή τους. (IOM, 2015). Οι κλιματικές μεταβολές θα οδηγήσουν σταδιακά στον εκτοπισμό μεγαλύτερου αριθμού ανθρώπων, καθώς και στον γεωγραφικό εγκλωβισμό

μεγάλων πληθυσμιακών ομάδων (McMichael et al, 2012). Στις κλιματικά λιγότερο ευπαθείς χώρες (εικόνα 8), καταγράφεται αρνητική σχέση μεταξύ της κλιματικής ευπάθειας και της διεθνούς μετανάστευσης (εικόνα 9), καθώς οι μεταναστευτικές ροές κατευθύνονται σε χώρες ίδιας ή μικρότερης ευπάθειας. Αντιθέτως, στις κλιματολογικά ευπαθείς χώρες, εμφανίζονται φαινόμενα μετανάστευσης προς χώρες λιγότερο ευπαθείς στις κλιματολογικές μεταβολές αλλά και πολύ περιορισμένα μεταναστευτικά ρεύματα, γεγονός που υποδηλώνει ότι στο μέλλον ίσως απαιτηθούν στοχευμένες παρεμβάσεις σε αυτές τις περιοχές για την αποφυγή μεγάλης κλίμακας ανθρωπιστικών κρίσεων (Grecequet et al, 2017).



**Εικόνα 8.** Κλιματική ευπάθεια ανά χώρα για το έτος 2010. Οι ανοιχτόχρωμες αποχρώσεις υποδηλώνουν μικρή ευπάθεια ως προς τις κλιματολογικές μεταβολές λόγω του φαινομένου της κλιματικής αλλαγής, σε αντίθεση με τις σκουρόχρωμες περιοχές, οι οποίες είναι περισσότερο ευπαθείς (Grecequet et al, 2017).



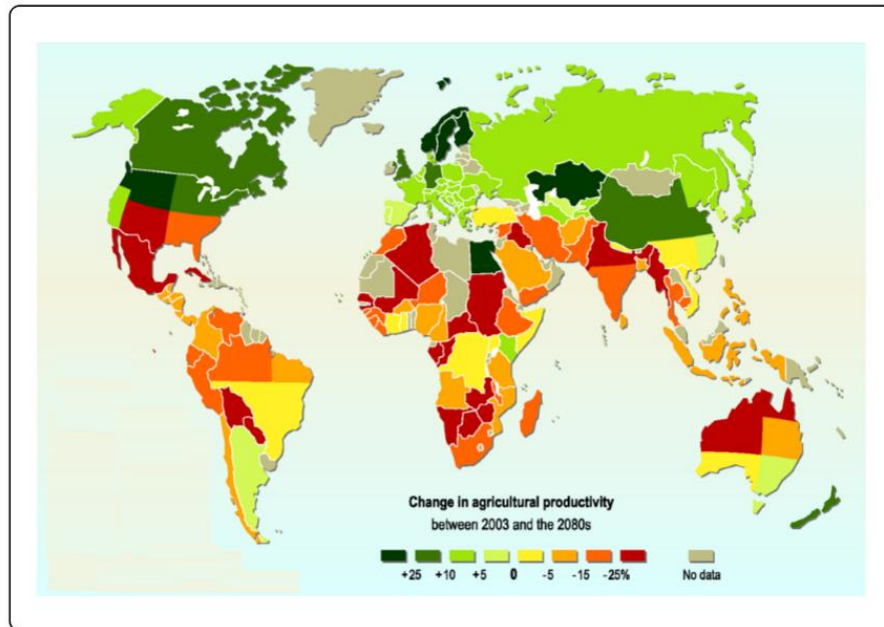
**Εικόνα 9.** Καθαρός ρυθμός μετανάστευσης (η διαφορά μεταξύ των εισερχόμενων και εξερχόμενων μεταναστευτικών ροών) κατά το χρονικό διάστημα 2010 – 2015. Οι αρνητικές (σκουρόχρωμες αποχρώσεις) και θετικές (ανοιχτόχρωμες αποχρώσεις) τιμές του καθαρού ρυθμού μετανάστευσης υποδηλώνουν πληθυσμιακές μειώσεις και αυξήσεις λόγω του φαινομένου της μετανάστευσης, αντιστοίχως (Grecequet et al, 2017).

### 2.3. Επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην γεωργία

Η γεωργία αποτελεί μία οικονομική δραστηριότητα η οποία είναι έντονα εξαρτώμενη από τις καιρικές και κλιματολογικές συνθήκες. Η επιτυχής άσκηση της αγροτικής δραστηριότητας και η επίτευξη των απαιτούμενων στόχων σε επίπεδο παραγωγής και οικονομικής κερδοφορίας, προϋποθέτει την ύπαρξη κατάλληλων συνθηκών θερμοκρασίας, εδαφικής και ατμοσφαιρικής υγρασίας, ηλιοφάνειας, επάρκειας θρεπτικών συστατικών, καθώς και βιολογικών διεργασιών οι οποίες εξαρτώνται άμεσα από τις επικρατούσες κλιματολογικές συνθήκες (Vuren et al, 2009).

Η κλιματική αλλαγή επιδρά στην παγκόσμια αγροτική παραγωγή, επηρεάζοντας κύριες παραμέτρους όπως οι μέσες και μέγιστες τιμές της θερμοκρασίας και τα επίπεδα της βροχόπτωσης. Ως αποτέλεσμα των συγκεκριμένων διαφοροποιήσεων, αναμένεται η αύξηση της συχνότητας πλημμυρικών φαινομένων και περιόδων παρατεταμένης ξηρασίας, η αύξηση της διάβρωσης της αγροτικής γης, η μείωση της επιφάνειας των καλλιεργήσιμων εδαφών λόγω της ανόδου της στάθμης των θαλάσσιων υδάτων, η διαφοροποίηση της πληθυσμιακής πυκνότητας και γεωγραφικής διάδοσης σημαντικών εχθρών και ασθενειών ενός μεγάλου πλήθους καλλιεργήσιμων φυτικών ειδών μεγάλης οικονομικής σημασίας, η μεταβολή της διάρκειας και η χρονική μετατόπιση της καλλιεργητικής περιόδου, καθώς και η διαφοροποίηση της θρεπτικής αξίας των αγροτικών προϊόντων (Yohannes, 2015).

Οι επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στην γεωργία, διαφοροποιούνται ποιοτικά και ποσοτικά σε τοπικό και ευρύτερο γεωγραφικό επίπεδο. Συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές αναμένεται να ευνοηθούν από τις κλιματικές μεταβολές, σε αντίθεση με άλλες περιοχές, στις οποίες η απόδοση ενός αριθμού οικονομικά σημαντικών καλλιεργειών θα μειωθεί. Η αύξηση της μέσης θερμοκρασίας έχει ως αποτέλεσμα την άνοδο της καλλιεργητικής απόδοσης στις περιοχές με μεγάλο γεωγραφικό πλάτος και εύκρατο ή ψυχρότερο κλίμα, καθώς οδηγεί στην επικράτηση ηπιότερων κλιματολογικών συνθηκών κατά την ψυχρή περίοδο, με αποτέλεσμα την επιμήκυνση της καλλιεργητικής περιόδου, την εισαγωγή νέων καλλιεργούμενων ειδών και την αύξηση των υπαίθριων καλλιεργειών, περιορίζοντας το περιβαλλοντικό αποτύπωμα των ενεργοβόρων θερμοκηπιακών καλλιεργειών και της μεταφοράς των αγροτικών προϊόντων. Αντίθετα, η αύξηση της θερμοκρασίας και της βροχόπτωσης στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές με χαμηλό γεωγραφικό πλάτος, θα οδηγήσει σε μείωση της αγροτικής παραγωγής, καθώς οι υψηλές θερμοκρασιακές τιμές και η διαθεσιμότητα του νερού κατά την θερμή περίοδο αποτελούν ήδη σημαντικούς περιοριστικούς παράγοντες (IPCC, 2007).



**Εικόνα 10.** Αναμενόμενη επίδραση της κλιματικής αλλαγής στην αγροτική παραγωγή ανά γεωγραφική περιοχή (Cline, 2007).

Σε επίπεδο φυσιολογίας, πολλά καλλιεργούμενα φυτικά είδη αντιδρούν θετικά στην αύξηση της ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης CO<sub>2</sub> και στην ταυτόχρονη άνοδο της θερμοκρασίας, υπό την προϋπόθεση της επικράτησης των βέλτιστων συνθηκών υγρασίας, διαθεσιμότητας θρεπτικών συστατικών, ηλιοφάνειας κτλ. Ειδικότερα, στην περίπτωση των C3 φυτών, οι αυξημένες συγκεντρώσεις CO<sub>2</sub> οδηγούν στην άνοδο του φωτοσυνθετικού ρυθμού, καθώς η σχετικά χαμηλή διαθεσιμότητα του CO<sub>2</sub> στο περιβάλλον του ενζύμου καρβοξυλάση-οξυγενάση της 1,5-διφωσφορικής ριβουλόζης (Rubisco), καθορίζει την απόδοση του κύκλου Calvin-Benson και την ένταση της φωτοαναπνοής. Η άνοδος της διάχυσης του CO<sub>2</sub> στους χλωροπλάστες μέσω των στοματίων, συμβάλλει στην αύξηση της καρβοξυλίωσης που πραγματοποιείται μέσω της Rubisco και μειώνει την οξυγονωτική της

δράση. Η αύξηση του φωτοσυνθετικού ρυθμού σε συνδυασμό με την μείωση της φωτοαναπνοής, βελτιώνει και την απόδοση της χρήσης του ύδατος (WUE), η οποία ορίζεται ως η αναλογία του προσλαμβανόμενου άνθρακα (ξηρή βιομάζα) προς την υδατική απώλεια εξαιτίας της διαπνοής. Το αποτέλεσμα των συγκεκριμένων επιδράσεων της ανόδου των ατμοσφαιρικών συγκεντρώσεων CO<sub>2</sub> στην φυσιολογία, είναι η άνοδος την καλλιεργητικής απόδοσης για πολλά φυτικά είδη μεγάλης οικονομικής σημασίας. Επιπλέον, η συνεργιστική δράση της αύξησης του CO<sub>2</sub>, της θερμοκρασίας και την ηλιακής ακτινοβολίας, βελτιώνει την αντοχή ορισμένων φυτικών ειδών στην θερμική καταπόνηση (Bisbis et al, 2018).

Η άνοδος της θερμοκρασίας και της έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας, επάγουν την φυτική ανάπτυξη και την αύξηση της καλλιεργητικής απόδοσης, αλλά σε περίπτωση υπέρβασης των μέγιστων ανεκτών ορίων παρατηρείται το φαινόμενο της φωτοπαρεμπόδισης, κατά το οποίο καταγράφεται αρνητική επίδραση στους συγκεκριμένους δείκτες. Αντιστοίχως, η μεγάλη θερμοκρασιακή άνοδος οδηγεί στην αύξηση της διαπνοής λόγω της ανάγκης για δροσισμό, αυξάνοντας αναλόγως τις υδατικές απαιτήσεις της καλλιέργειας. Επιπλέον, τα φαινόμενα ξηρασίας δρουν συνδυαστικά με την αυξημένη θερμοκρασία και οδηγούν στο κλείσιμο των στοματίων, ειδικότερα στην περίπτωση των C<sub>3</sub> φυτών, με στόχο τον περιορισμό των υδατικών απωλειών, συμβάλλοντας έτσι στην μείωση του φωτοσυνθετικού ρυθμού και της αγροτικής παραγωγής (Bisbis et al, 2018).

Σε επίπεδο φαινολογίας, η θερμοκρασία αποτελεί έναν καθοριστικό παράγοντα για την εξέλιξη των διαφόρων σταδίων ανάπτυξης του φυτού, καθώς κατευθύνει αρκετές χημικές διεργασίες που καθορίζουν τον ρυθμό της φυτικής ανάπτυξης και την διάρκεια της καλλιέργειας. Κατά τον κύκλο ζωής, τα καλλιεργούμενα φυτά διέρχονται από αρκετά φαινολογικά στάδια, η διάρκεια των οποίων εξαρτάται και από την θερμοκρασία. Η παγκόσμια υπερθέρμανση ενδέχεται να επιταχύνει την εξέλιξη πολλών καλλιεργειών καθορισμένης ανάπτυξης, μειώνοντας την περίοδο της φωτοαφομοίωσης και τον χρόνο

συγκομιδής, κάτι που μπορεί μεν να είναι επιθυμητό λόγω της προώμισης της παραγωγής και της φύτευσης περισσότερων γενεών στην περίπτωση των φυτών με μικρό κύκλο ζωής, αλλά συχνά υποβαθμίζει τα επίπεδα παραγωγής και την ποιότητα των αγροτικών προϊόντων και αυξάνει τον κίνδυνο από τους ανοιξιότικους παγετούς. Σε κάποιες περιπτώσεις φυτικών ειδών, η αυξημένη πρόωρη ανάπτυξη οδηγεί στην μείωση του μεγέθους των σπόρων, της βιομάζας και της καλλιεργητικής απόδοσης. Τα φυτά που χαρακτηρίζονται από ακαθόριστη ανάπτυξη, σε αντίθεση με τα φυτά καθορισμένης ανάπτυξης, παρουσιάζονται λιγότερο ευπαθή στην αύξηση της ταχύτητας της φαινολογικής ανάπτυξης και ενδέχεται να ωφεληθούν από την κλιματική αλλαγή, καθώς η άνθηση τους ρυθμίζεται από την διάρκεια της φωτοπεριόδου ή είναι ανεξάρτητη τόσο από την φωτοπερίοδο, όσο και από την θερμοκρασία (Bisbis et al, 2018).

Η κλιματική αλλαγή επιφέρει διάφορες επιπτώσεις και στην ποιότητα ενός αριθμού τροφίμων που παράγονται από αρκετά C3 και C4 φυτά. Η αύξηση της θερμοκρασίας επάγει την διαφοροποίηση ενός πλήθους ποιοτικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, μέσω μεταβολών σε παραμέτρους όπως η συγκέντρωση και σύνθεση των σακχάρων, των οξέων και των ελαίων και η συνεκτικότητα των φρούτων και καρπών. Επιπλέον, η άνοδος της θερμοκρασίας επηρεάζει την περιεκτικότητα ορισμένων αγροτικών προϊόντων σε αντιοξειδωτικές ουσίες, σε κάποιες περιπτώσεις θετικά ενώ σε άλλες μειώνοντας την συγκέντρωσή τους. Η διαφοροποίηση των κλιματικών μεταβλητών επιδρά στην συγκέντρωση και ποιότητα των δευτερογενών μεταβολιτών, όπως οι φαινολικές ενώσεις, τα τερπενοειδή, τα λιπαρά οξέα και τα αλκαλοειδή, επηρεάζοντας τα οφέλη και την προστατευτική δράση των φρούτων και λαχανικών στην ανθρώπινη υγεία. Η αύξηση της ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης του CO<sub>2</sub>, ενώ αυξάνει την βιομάζα και τα επίπεδα παραγωγής πολλών καλλιεργειών, συνήθως επιδρά αρνητικά στην θρεπτική αξία των βρώσιμων φυτικών οργάνων και καρπών. Η μείωση της συγκέντρωσης των βιταμινών και ανόργανων στοιχείων, εντείνει την εκδήλωση του φαινομένου της “κρυφής πείνας”, κατά την οποία η κάλυψη των θερμιδικών αναγκών δεν συνοδεύεται από την απαραίτητη πρόσληψη επαρκών ποσοτήτων θρεπτικών συστατικών μέσω της τροφής (Leisner, 2020).



Μία ακόμα επίδραση της κλιματικής αλλαγής, σχετίζεται με τις αλλαγές στην σύνθεση της ατμόσφαιρας και την παγκόσμια ή τοπική αύξηση της συγκέντρωσης επικίνδυνων ρύπων, όπως το O<sub>3</sub>, το οποίο θεωρείται ως τοξικός αέριος ρυπαντής για τα φυτά. Σε αρκετές περιοχές, η τοπική ατμοσφαιρική συγκέντρωση του όζοντος έχει αυξηθεί από την εποχή της βιομηχανικής επανάστασης (Booker et al, 2009). Καθώς το O<sub>3</sub> εισέρχεται στους φυτικούς οργανισμούς μέσω των στοματίων, εμπλέκεται σε έντονα οξειδωτικές βιοχημικές διαδικασίες, οι οποίες καταλήγουν στον σχηματισμό ελεύθερων ριζών, στην καταστροφή ενός πλήθους κυτταρικών δομών και στην μείωση της διαθεσιμότητας και δραστηριότητας του ενζύμου Rubisco. Οι επιπτώσεις των συγκεκριμένων δράσεων εκδηλώνονται μέσω ενός αριθμού μακροσκοπικών συμπτωμάτων, όπως ο αποχρωματισμός, η εμφάνιση νεκρωτικών κηλίδων και η πρόωρη αποκοπή των φύλλων, καθώς και μέσω της μείωσης του φωτοσυνθετικού ρυθμού, της φυτικής ανάπτυξης και της απόδοσης της καλλιέργειας (Leisner, 2020).

### **3. Η συμμετοχή της γεωργίας στην δημιουργία του φαινομένου της κλιματικής αλλαγής**

Η γεωργία είναι ένας από τους κύριους αποδέκτες των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής, αλλά ταυτοχρόνως και μία από τις ανθρώπινες δραστηριότητες που χαρακτηρίζονται από την συνεισφορά τους στην δημιουργία και αύξηση της έντασης του φαινομένου. Ο υπερτριπλασιασμός της παγκόσμιας αγροτικής παραγωγής από το 1960 μέχρι και σήμερα, ο οποίος οφείλεται στην ανάπτυξη ενός αριθμού καινοτόμων τεχνολογιών και γεωργικών πρακτικών, επέφερε αξιοσημείωτο κόστος στο φυσικό περιβάλλον. Η αύξηση στην απόδοση της αγροτικής δραστηριότητας συνοδεύτηκε από μεταβολές στην χρήση σημαντικού τμήματος της εδαφικής επιφάνειας του πλανήτη, την αποψύλωση τεράστιων δασικών εκτάσεων, την μείωση των υπόγειων υδατικών αποθεμάτων, τον περιορισμό της βιοποικιλότητας και την ρύπανση του εδάφους και του

νερού λόγω της εκτεταμένης χρήσης συνθετικών λιπασμάτων και φυτοπροστατευτικών χημικών ενώσεων (FAO, 2017). Η μετατροπή των δασικών εκτάσεων σε καλλιεργήσιμη γη, ευθύνεται για το 80% της συνολικής αποδάσωσης. Αντιστοίχως, το 70% της παγκόσμιας κατανάλωσης νερού σχετίζεται με την κάλυψη των υδατικών αναγκών της γεωργίας (Raman, 2017). Ταυτόχρονα, οι αγροτικές δραστηριότητες ευθύνονται για την έκλυση μεγάλου ποσοστού των συνολικών εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου.

Οι γεωργικές πρακτικές που συνδέονται με την διαχείριση των σημαντικότερων εισροών στην γεωργία, είναι υπεύθυνες για την εκπομπή μεγάλων ποσοτήτων διαφόρων ΑΘ. Σε αντίθεση με άλλες δραστηριότητες όπως η βιομηχανία και οι μεταφορές, στις οποίες το κυρίαρχο ΑΘ είναι το CO<sub>2</sub>, οι κύριες εκπομπές της γεωργίας είναι το CH<sub>4</sub> και το N<sub>2</sub>O. Συγκεκριμένα, οι εκπομπές των ΑΘ, εξαιρουμένου του CO<sub>2</sub>, που οφείλονται στις αγροτικές δραστηριότητες, αποτελούν το 12 % των συνολικών ανθρωπογενών εκπομπών ΑΘ παγκοσμίως (Van Meijl et al. 2017). Αντιστοίχως, το ποσοστό των συγκεκριμένων εκπομπών επί του συνόλου των ανθρωπογενών εκπομπών, εξαιρουμένου του CO<sub>2</sub>, είναι ίσο με 48% (εικόνα 11, US EPA, 2019). Η έκλυση του CO<sub>2</sub> οφείλεται κυρίως στις διαδικασίες παραγωγής των εισροών (πχ συνθετικά λιπάσματα), οι οποίες αν και συνδέονται με τον αγροτικό τομέα, θεωρούνται έμμεσες εκπομπές και κατατάσσονται επίσημα σε κατηγορίες όπως η βιομηχανία, η ενέργεια, τα χημικά και οι μεταφορές, σύμφωνα με την Σύμβαση – Πλαίσιο των Ηνωμένων Εθνών για την Κλιματική Αλλαγή. Οι έμμεσες εκπομπές του CO<sub>2</sub> εξαρτώνται από την διαχείριση των καλλιεργειών, η οποία καθορίζει και το ύψος των εισροών και μπορεί να είναι πολύ σημαντικές (HLPE, 2012).

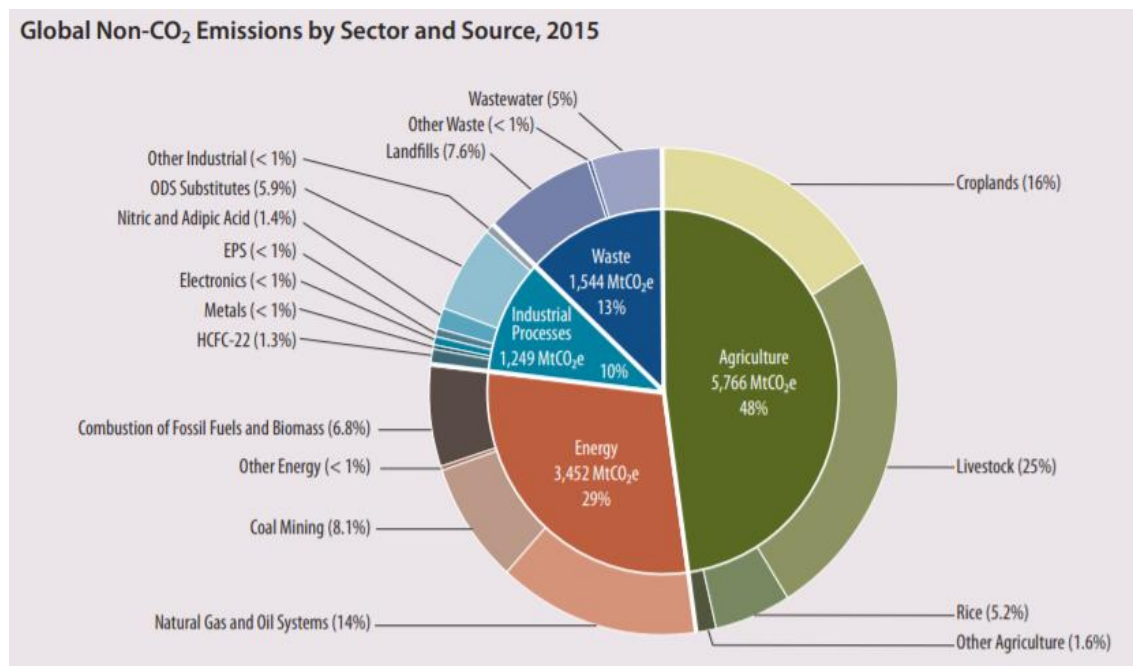
Οι εκπομπές του CH<sub>4</sub> στην γεωργία, αποτελούν το 50% των συνολικών ανθρωπογενών εκπομπών CH<sub>4</sub> και οφείλονται κυρίως στην αναερόβια ζύμωση της οργανικής ύλης στις πλημμυρισμένες καλλιέργειες ρυζιού, καθώς και στην εντερική ζύμωση των κτηνοτροφικών ζώων και στην χρήση της κοπριάς (IPCC, 2007). Καθώς παρατηρείται αύξηση της συνολικής έκτασης των αρδευόμενων καλλιεργειών ρυζιού, η άνοδος των εκπομπών CH<sub>4</sub> που οφείλονται στην συγκεκριμένη δραστηριότητα αναμένεται να είναι

περιορισμένη κατά τα επόμενα χρόνια. Αντιθέτως, η άνοδος του βιοτικού επιπέδου στις αναπτυσσόμενες χώρες οδηγεί στην αύξηση της κατανάλωσης κρέατος και γαλακτοκομικών προϊόντων και στην μεγέθυνση της κτηνοτροφικής δραστηριότητας. Οι εκπομπές του  $N_2O$  οφείλονται στην χρήση της κοπριάς και των αζωτούχων λιπασμάτων, τα οποία είναι απαραίτητα για την διατήρηση της υψηλής παραγωγικότητας των καλλιεργειών και την μεγιστοποίηση της παραγωγής ανά μονάδα εδαφικής επιφάνειας (Van Meijl et al. 2017). Οι εκπομπές του  $N_2O$  σχετίζονται με τις μεθόδους παραγωγής των αζωτούχων λιπασμάτων, κατά τις οποίες το συγκεκριμένο αέριο παράγεται ως ενδιάμεση ένωση ή παραπροϊόν των χημικών αντιδράσεων, καθώς και με το φαινόμενο της απονιτροποίησης, μετά την εφαρμογή των συνθετικών λιπασμάτων στις καλλιέργειες. Επιπλέον, το  $N_2O$  εκλύεται και εξαιτίας της απώλειας του αζώτου από τις καλλιεργήσιμες εκτάσεις. Έτσι, οι αγροτικές δραστηριότητες είναι υπεύθυνες για το 60% των συνολικών εκπομπών  $N_2O$ , παγκοσμίως (IPCC, 2007).

Μία άλλη συνεισφορά της γεωργίας στο φαινόμενο της κλιματικής, οφείλεται στην αλλαγή της χρήσης της γης με στόχο την διεύρυνση της αγροτικής δραστηριότητας, η οποία περιορίζει την συνολική έκταση των λιβαδιών και των δασικών εκτάσεων. Η υποβάθμιση των φυσικών οικοσυστημάτων μέσω της μετατροπής τους σε καλλιεργήσιμα εδάφη, οδηγεί στην απώλεια φυτικής βιομάζας, η οποία ισοδυναμεί με την έκλυση μεγάλων ποσοτήτων  $CO_2$  στην ατμόσφαιρα. Τα εδαφικά οικοσυστήματα αποτελούν τεράστιες δεξαμενές άνθρακα, ο οποίος μετακινείται μεταξύ του εδάφους και της ατμόσφαιρας υπό την μορφή  $CO_2$ . Έτσι, η κάθε μεταβολή στην εδαφική αποθήκευση του άνθρακα ή στον ρυθμό ανταλλαγής του μεταξύ της ατμόσφαιρας και των εδαφικών οικοσυστημάτων, διαφοροποιεί την ατμοσφαιρική συγκέντρωση του  $CO_2$ . Το ισοζύγιο των εισροών και εκροών μεταξύ των σταθερών οικοσυστημάτων και της ατμόσφαιρας είναι σχεδόν ισορροπημένο αλλά η μεταβολή της χρήσης της γης μεταβάλλει την συγκεκριμένη ισορροπία. Επιπλέον, μετά την αλλαγή της χρήσης, τα νέα αγροτικά εδάφη χάνουν το 50% του αρχικού ενσωματωμένου οργανικού άνθρακα από το επιφανειακό εδαφικό στρώμα, σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα, η διάρκεια του οποίου εξαρτάται από τις τοπικές

κλιματολογικές συνθήκες. Γενικότερα, σε εύκρατο κλίμα η απώλεια του συγκεκριμένου ποσοστού του οργανικού άνθρακα πραγματοποιείται σε 25-50 χρόνια, ενώ στο τροπικό κλίμα σε 5-10 χρόνια, χωρίς την εφαρμογή των κατάλληλων εδαφοβελτιωτικών πρακτικών. (HLPE, 2012).

Ο στόχος της μείωσης των εκπομπών του CH<sub>4</sub> και του N<sub>2</sub>O είναι ιδιαίτερα σημαντικός, καθώς τα δύο συγκεκριμένα αέρια διαθέτουν υψηλό ΔΠΘ σε σχέση με το CO<sub>2</sub>. Ωστόσο, ο περιορισμός της απώλειας της βιομάζας και της εδαφικής ενσωμάτωση του άνθρακα είναι επίσης επιβεβλημένος, καθώς το CO<sub>2</sub> χαρακτηρίζεται από τον αυξημένο χρόνο παραμονής στην ατμόσφαιρα σε σχέση με το CH<sub>4</sub> και το N<sub>2</sub>O, συνεπώς συνεισφέρει στο φαινόμενο του θερμοκηπίου για μεγαλύτερη χρονική περίοδο (HLPE, 2012).



**Εικόνα 11.** Ετήσια ποσοστιαία εκπομπή αερίων του θερμοκηπίου (GtCO<sub>2</sub>eq/yr), εξαιρουμένου του CO<sub>2</sub>, ανά οικονομικό τομέα και δραστηριότητα για το έτος 2005 (US EPA, 2019)

#### 4. Βιοτεχνολογία και γεωργία, ιστορικό πλαίσιο

Η γεωργία αποτελεί μία σχετικά πρόσφατη δραστηριότητα στην ιστορία του ανθρώπινου είδους, η οποία καθόρισε την ανάπτυξη του πολιτισμού σε βάθος χιλιετιών. Η γνωστή ρήση του Αριστοτέλη “*πασῶν τῶν ἐπιστημῶν μήτηρ τε και τροφός Γεωργία ἐστί*”, αντικατοπτρίζει την συμβολή της γεωργίας όχι μόνο στην ανθρώπινη επιβίωση, αλλά και στην γενικότερη βελτίωση του επιπέδου διαβίωσης και στην διαμόρφωση της σύγχρονης δημογραφίας. Η μετάβαση του ανθρώπου από το στάδιο του κυνηγού και τροφοσυλλέκτη στο στάδιο του γεωργού, αποτέλεσε μία διαδικασία που διήρκεσε μεγάλο χρονικό διάστημα και αναπτύχθηκε ανεξάρτητα και με μεγάλη χρονική απόκλιση σε αρκετά σημεία του πλανήτη. Κατά τα αρχικά στάδια της υιοθέτησης των πρώιμων γεωργικών πρακτικών και της εξημέρωσης των αυτοφυών φυτικών ειδών, οι άνθρωποι επέλεξαν συνειδητά ή ασυνείδητα τους βέλτιστους φαινότυπους μέσα από την βιολογική δεξαμενή του φυσικού περιβάλλοντος στο οποίο διαβιούσαν. Ακολουθώντας, μέσα σε ένα διάστημα χιλιετιών, ο άνθρωπος δημιούργησε έναν μεγάλο αριθμό νέων ποικιλιών στα καλλιεργούμενα είδη, μέσω της επιλεκτικής αναπαραγωγής. Οι βελτιωμένοι γονότυποι, οδήγησαν στην παραγωγή φυτών τα οποία χαρακτηρίζονταν από υψηλότερη παραγωγικότητα, μεγαλύτερη αντοχή σε εχθρούς, ασθένειες και ακραίες κλιματολογικές συνθήκες, μικρότερο κύκλο ζωής και παραγωγή προϊόντων ανώτερης ποιότητας σε σχέση με τους άγριους προγόνους τους. Ωστόσο η έλλειψη βασικών γνώσεων γενετικής, καθυστέρωσε την δημιουργία βελτιωμένων ποικιλιών, καθώς η μεταβίβαση των κληρονομούμενων χαρακτηριστικών από τις επιλεγμένες γονεϊκές σειρές ήταν απρόβλεπτη και τυχαία.

Η θεμελίωση των βασικών αρχών που διέπουν την κληρονομικότητα των χαρακτηριστικών στους φυτικούς οργανισμούς, οι οποίες αναγνωρίστηκαν και διατυπώθηκαν για πρώτη φορά από το βοτανολόγο και μοναχό Gregor Mendel κατά τον 19<sup>ο</sup> αιώνα και έγιναν ευρέως γνωστές στην επιστημονική κοινότητα στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα, οδήγησε στην αλματώδη πρόοδο της γεωργίας και την δημιουργία πολλών νέων

ποικιλιών με βελτιωμένα χαρακτηριστικά. Η επιτυχής ανεύρεση και διασταύρωση γονοτύπων με συγκεκριμένα φαινοτυπικά πλεονεκτήματα, καθώς και η ανάπτυξη και χρήση των συνθετικών λιπασμάτων, των φυτοπροστατευτικών προϊόντων και των συστημάτων άρδευσης, επέτρεψαν την εκτεταμένη διάδοση των μονοκαλλιεργειών βελτιωμένων ποικιλιών και οδήγησαν στο φαινόμενο της Πράσινης Επανάστασης. Ως αποτέλεσμα, η αγροτική παραγωγή παρουσίασε πρωτόγνωρη αύξηση κατά τις δεκαετίες 1940, 1950 και 1960 παγκοσμίως, επιλύοντας ή μετριάζοντας τοπικά και υπερτοπικά επισιτιστικά ζητήματα, ενώ η δομή της παγκόσμιας οικονομίας άλλαξε ριζικά, καθώς οι νέες τεχνολογίες επέτρεψαν την αποδέσμευση ενός τεράστιου ποσοστού του ανθρώπινου δυναμικού που απασχολούνταν στον γεωργικό τομέα και την ενασχόληση του με άλλες οικονομικές δραστηριότητες.

Καθώς η ανθρωπότητα βίωσε μεγάλες αλλαγές στο βιοτικό επίπεδο κατά τον 20<sup>ο</sup> και 21<sup>ο</sup> αιώνα, οι οποίες οφείλονται κυρίως στην πρόοδο των φυσικών επιστημών, της μηχανικής, της ιατρικής, της τεχνολογίας και της γεωργίας, μία από τις συνέπειες των επιτευγμάτων του σύγχρονου ανθρώπινου πολιτισμού, είναι και η πρωτοφανής άνοδος του ρυθμού αύξησης του πληθυσμού. Κατά τα μέσα του 21<sup>ου</sup> αιώνα, ο αριθμός των ανθρώπων θα ξεπεράσει τα 9,8 δισεκατομμύρια, ενώ στα τέλη του 21<sup>ου</sup> αιώνα ο ανθρώπινος πληθυσμός θα φτάσει τα 11,2 δισεκατομμύρια, δημιουργώντας μεγάλες προκλήσεις για την διατήρηση του αυξημένου μέσου επιπέδου διαβίωσης (FAO, 2018). Οι φυσικοί πόροι όπως το νερό, η τροφή και τα ορυκτά καύσιμα, καταναλώνονται με μεγαλύτερο ρυθμό σε σχέση με την ικανότητα των ανθρώπινων και φυσικών συστημάτων να τους αναπληρώσουν. Επιπροσθέτως, η λανθασμένη διαχείριση των παγκόσμιων πόρων και οι αθροιζόμενες επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής, οδηγούν σταδιακά στην αύξηση της πίεσης για την εξεύρεση λύσεων στο άμεσο μέλλον, με στόχο την κάλυψη των αυξανόμενων διατροφικών αναγκών. Ο ετήσιος ρυθμός ανόδου της παγκόσμιας αγροτικής παραγωγής παρουσιάζει μεγάλη μείωση κατά τον 21 αιώνα, σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή κατά το δεύτερο μισό του 20<sup>ου</sup> αιώνα (Glass-O'Shea, 2011). Πλέον, έχει διαφανεί πως οι γεωργικές πρακτικές των τελευταίων δεκαετιών δεν μπορούν να ανταποκριθούν στις απαιτήσεις του προσεχούς

μέλλοντος, καθώς μία νέα Πράσινη Επανάσταση δεν φαντάζει εφικτή, συνεπώς η πίεση για την ανακάλυψη και εφαρμογή καινοτόμων τεχνολογιών και πρακτικών στην γεωργία γίνεται σταδιακά εντονότερη.

Μία από τις πλέον ελπιδοφόρες τεχνολογίες, η οποία μπορεί να συνεισφέρει στην ανταπόκριση της γεωργίας στις προκλήσεις της πληθυσμιακής αύξησης και της κλιματικής αλλαγής, είναι η βιοτεχνολογία. Η εφαρμογή της συγκεκριμένης τεχνολογίας στην γεωργία, αξιοποιεί τις αρχές και τις τεχνικές της γενετικής μηχανικής και αποσκοπεί στην δημιουργία τροποποιημένων γονοτύπων με βελτιωμένα ή νέα επιθυμητά χαρακτηριστικά. Ουσιαστικά, αποτελεί την συνέχιση της μακρόχρονης πρακτικής του ανθρώπου με νέα μέσα και τεχνικές, οι οποίες επιτρέπουν την επιτάχυνση της γενετικής βελτίωσης σε σχέση με τις παραδοσιακές συμβατικές μεθόδους, καθώς και την μεταφορά της γενετικής πληροφορίας μεταξύ ειδών που δεν μπορούν να διασταυρωθούν.

Οι βάσεις για την γέννηση της βιοτεχνολογίας, τέθηκαν κατά την ανακάλυψη του μοντέλου της διπλής έλικας του DNA από τον βιολόγο James Watson και τον φυσικό Francis Crick το 1954 και την σύνθεση του Κεντρικού Δόγματος της Βιολογίας το 1958, το οποίο εκφράζει την ροή της πληροφορίας από το γενετικό υλικό στις πρωτεΐνες, μέσω των βιολογικών διεργασιών της μεταγραφής και της μετάφρασης (Raman, 2017). Η πρώτη δημιουργία γενετικά τροποποιημένου οργανισμού πραγματοποιήθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1970, εφαρμόζοντας τις αρχικές βιοτεχνολογικές τεχνικές για τον ανασυνδυασμό βακτηριακών πλασμιδίων και την εισαγωγή τους σε βακτηριακά στελέχη *E. coli*. Ακολούθως, η παραγωγή ανθρώπινης ινσουλίνης με την χρήση γενετικά τροποποιημένων βακτηρίων *E. coli*, οδήγησε στην κυκλοφορία του πρώτου εμπορικού προϊόντος που προήλθε μέσω της χρήσης της βιοτεχνολογίας και ώθησε στην εφαρμογή των νέων μοριακών τεχνικών στο αγροτικό τομέα (Glass-O'Shea, 2011). Η επιτυχής δημιουργία του πρώτου διαγονιδιακού φυτού πραγματοποιήθηκε εργαστηριακά το 1983, ενώ το 1994 δόθηκε η πρώτη άδεια για την κατανάλωση τροφίμων που παράγονται από γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των

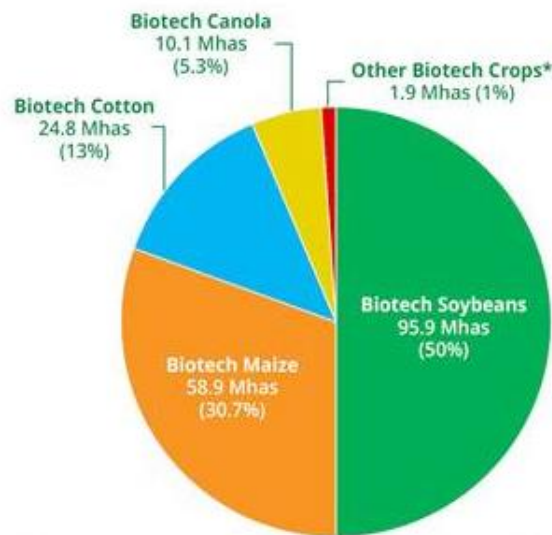
ΗΠΑ, σε ποικιλία τομάτας που είχε τροποποιηθεί γενετικά με στόχο την βελτίωση της μετασυλλεκτικής διαχείρισης του καρπού. Κατά τα έτη 1995 και 1996, πραγματοποιήθηκε η εμπορική διάδοση αρκετών διαγονιδιακών φυτών όπως το καλαμπόκι, το βαμβάκι, η πατάτα, η κανόλα και η σόγια, τα οποία είχαν υποστεί γενετικές τροποποιήσεις για την επίτευξη ανθεκτικότητας σε εντομολογικούς εχθρούς, την αντοχή σε ζιζανιοκτόνα και την αυξημένη παραγωγικότητα (Raman, 2017).

Έκτοτε, κατά τα τελευταία 25 χρόνια η τεχνολογία των γενετικά τροποποιημένων φυτικών οργανισμών βρίσκει ευρεία εφαρμογή στην γεωργία, σε ένα μεγάλο αριθμό χωρών (εικόνα 12) και θεωρείται ως η πλέον αναπτυσσόμενη τεχνολογία του γεωργικού τομέα. Κατά το χρονικό διάστημα 1996 – 2018, η επιφάνεια των τροποποιημένων καλλιεργειών υπερεκατονταπλασιάστηκε και από τα 1,7 εκατομμύρια εκτάρια αυξήθηκε στα 191,7 εκατομμύρια εκτάρια ετησίως. Οι πλέον διαδεδομένες καλλιέργειες γενετικά τροποποιημένων φυτών αφορούν κυρίως 4 είδη, το καλαμπόκι (*Zea mays*), την σόγια (*Glycine max*), το βαμβάκι (*Gossypium spp*) και την κανόλα (*Brassica napus*) (Εικόνα 13), ενώ το 2016, το ποσοστό των εκτάσεων στις οποίες καλλιεργήθηκαν γενετικά τροποποιημένες ποικιλίες των συγκεκριμένων ειδών, αντιστοιχούσε στο 48% του συνόλου της εδαφικής επιφάνειας που δεσμεύτηκε για την καλλιέργεια συμβατικών και γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών τους. Εκτός από τα 4 αυτά είδη, η χρήση της βιοτεχνολογίας έχει επεκταθεί και σε έναν αριθμό φυτικών ειδών αξιολογής ή μεγάλης οικονομικής σημασίας, όπως το ζαχαρότευτλο (*Beta vulgaris*), η παπάγια (*Carica papaya*), η μηδική (*Medicago sativa*), η κολοκύθα (*Cucurbita spp*), η μηλιά (*Malus domestica*), η πατάτα (*Solanum tuberosum*) και η μελιτζάνα (*Solanum melongena*), (ISAAA, 2018).





**Εικόνα 12.** Οι χώρες με την μεγαλύτερη επιφάνεια γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών κατά το 2018 (ISAAA, 2018).



**Εικόνα 13.** Ετήσια παγκόσμια καλλιεργούμενη επιφάνεια ανά ΓΤ φυτικό είδος και ανάλογο ποσοστό επί του συνόλου των συμβατικών και ΓΤ καλλιεργειών ανά είδος (ISAAA, 2018).

## 5. Θεσμικό Πλαίσιο για τους ΓΤΟ

Η διεθνής νομοθεσία που διέπει την καλλιέργεια των ΓΤ φυτών, διαφέρει ως προς την αυστηρότητα και την προσέγγιση των σχετικών ρυθμιστικών πλαισίων. Ουσιαστικά, σε διεθνές επίπεδο κυριαρχούν 2 διακριτές προσεγγίσεις. Το πλέον αυστηρό κανονιστικό καθεστώς βασίζεται στην Αρχή της Προφύλαξης και εφαρμόζεται κυρίως στην Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ). Σε άλλες χώρες όπως οι Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ), στις οποίες η καλλιέργεια των ΓΤ φυτών είναι ευρέως διαδεδομένη, ο ακρογωνιαίος λίθος του ρυθμιστικού πλαισίου είναι η Αρχή της Κατ' ουσίαν Ισοδυναμίας.

## **Η Αρχή της Προφύλαξης**

Η Αρχή της Προφύλαξης, η οποία χαρακτηρίζει το Ευρωπαϊκό νομοθετικό πλαίσιο για την χρήση των ΓΤΟ και καθοδηγεί τα θεσμικά όργανα της ΕΕ κατά την λήψη των σχετικών αποφάσεων, αναφέρεται στο άρθρο 191 της Συνθήκης για τη Λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης και στοχεύει στην διασφάλιση της προστασίας του περιβάλλοντος και της υγείας των ανθρώπων, των φυτών και των ζώων (Lofstedt, 2014). Η Αρχή της Προφύλαξης αρχικά αναγνωρίστηκε στον Παγκόσμιο Χάρτη για την Φύση, μετά την έγκριση από την γενική Συνέλευση των Ηνωμένων Εθνών, το 1982. Στην συνέχεια, συμπεριλήφθηκε σε διάφορες διεθνείς συμβάσεις που σχετίζονται με την προστασία του περιβάλλοντος, ενώ κατοχυρώθηκε στην Διάσκεψη του Ρίο και στο Πρωτόκολλο της Καρθαγένης για την Βιοασφάλεια. Ουσιαστικά αποτελεί μία προληπτική προσέγγιση, σύμφωνα με την οποία η έλλειψη σαφών επιστημονικών στοιχείων σχετικά με τους ΓΤΟ ή η απουσία των κατάλληλων μέσων και εργαλείων για την απόκτηση τους, οδηγεί στην απαγόρευση ή τον περιορισμό των ΓΤΟ, μέχρι την παροχή ικανοποιητικών αποδείξεων για την ασφάλεια τους για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Η Αρχή της Προφύλαξης διέπει την διαδικασία της αδειοδότησης στην ΕΕ, κατά την οποία αξιολογείται και διαχειρίζεται ο πιθανός κίνδυνος από την χρήση των ΓΤΟ. Υπό το πρίσμα της συγκεκριμένης Αρχής, το βάρος της απόδειξης και η συγκέντρωση των απαραίτητων επιστημονικών αποδείξεων αφορούν αποκλειστικά τον αιτώντα και όχι την ρυθμιστική αρχή. Η προσφυγή στην Αρχή της Προφύλαξης, δίνει την δυνατότητα στα Κράτη-Μέλη (Κ/Μ) της Ευρωπαϊκής Ένωσης να απαγορεύουν μονομερώς την απελευθέρωση, διακίνηση και εμπορία των ΓΤ οργανισμών στην επικράτεια τους. Κατά την εφαρμογή της Αρχής, τα προτεινόμενα μέτρα πρέπει να είναι ανάλογα με το επιδιωκόμενο επίπεδο προστασίας ενώ οι συγκρίσιμες καταστάσεις πρέπει να αντιμετωπίζονται ισότιμα, με ανάλογη συνέπεια (EUR-lex, 2000).

### **Η Αρχή της Κατ' ουσίαν Ισοδυναμίας**

Σύμφωνα με την Αρχή της Κατ' ουσίαν Ισοδυναμίας, η οποία διατυπώθηκε για πρώτη φορά από τον Οργανισμό Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης, η αξιολόγηση της ασφάλειας ενός προϊόντος, μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω της σύγκρισης με κάποιο υφιστάμενο και αποδεκτό πρότυπο. Ουσιαστικά, σύμφωνα με την Αρχή, το ιστορικό της ασφαλούς χρήσης ενός συμβατικού φυτού, αποτελεί ικανοποιητικό κριτήριο για την αξιολόγηση της επικινδυνότητας ενός ΓΤΟ που προέρχεται από το συγκεκριμένο φυτό. Ενώ η Αρχή της Κατ' ουσίαν Ισοδυναμίας αποτελεί δομικό στοιχείο των ρυθμιστικών πλαισίων αρκετών χωρών, έχει δεχτεί κριτική καθώς θεωρείται ότι δεν βασίζεται σε ένα στέρεο επιστημονικό υπόβαθρο, αλλά αποτελεί πολιτική επιλογή που κατευθύνεται από συγκεκριμένα οικονομικά και επιχειρηματικά συμφέροντα (Μπάλιας, 2011).

### **Το Πρωτόκολλο της Καρθαγένης**

Το πρωτόκολλο της Καρθαγένης για την Βιοασφάλεια, υπεγράφη το 2000 στο Μόντρεαλ από ένα μεγάλο πλήθος χωρών, θεσπίζοντας το νομικό καθεστώς που διέπει το διεθνές εμπόριο των ΓΤΟ. Ουσιαστικά αποτελεί το πρώτο διεθνές ρυθμιστικό πλαίσιο σχετικά με την ασφαλή ανάπτυξη, μεταφορά, διαχείριση και χρήση ΓΤΟ, με στόχο της προστασία της βιοποικιλότητας και την ανθρώπινη υγεία. Ενώ η απελευθέρωση των ΓΤΟ στο περιβάλλον σε αρκετές χώρες, είχε πραγματοποιηθεί αρκετά χρόνια πριν την υπογραφή του Πρωτοκόλλου, η θεσμοθέτηση του καθυστέρησε λόγω της αντίδρασης των ΗΠΑ, οι οποίες μέχρι και σήμερα δεν αποτελούν μέλος της συγκεκριμένης διεθνούς συμφωνίας. Εκτός από τις ΗΠΑ, κάποιες από τις σημαντικότερες χώρες ως προς την ανάπτυξη και χρήση ΓΤΟ, όπως ο Καναδάς, η Αργεντινή και η Αυστραλία, δεν δεσμεύονται από τις διατάξεις του Πρωτοκόλλου. Έτσι, για τις συγκεκριμένες χώρες ισχύει το δίκαιο του

Παγκόσμιου Οργανισμού Εμπορίου (ΠΟΕ) και οι κανόνες των διμερών σχέσεων μεταξύ των κρατών.

Όπως αναφέρεται στο άρθρο 1, το Πρωτόκολλο της Καρθαγένης συμβαδίζει με την Αρχή της Προφύλαξης και αποσκοπεί στον διασυνοριακό έλεγχο της μεταφοράς των ΓΤΟ, αναγνωρίζοντας το κυριαρχικό δικαίωμα των κρατών που έχουν υπογράψει την σύμβαση να απορρίπτουν την παρουσία των ΓΤΟ εντός των συνόρων τους. Ουσιαστικά, μαζί με την αναγνώριση και εφαρμογή της Αρχής της Προφύλαξης, το Πρωτόκολλο της Καρθαγένης αναγνωρίζει την ιδιαίτερη φύση των ΓΤΟ, υιοθετώντας της διαδικασία συμφωνίας κατόπιν πρότερης ενημέρωσης. Επιπλέον, λαμβάνει υπόψιν τις πιθανές κοινωνικές και οικονομικές επιπτώσεις που επιφέρει η χρήση των ΓΤΟ, ιδιαίτερα στις χώρες του τρίτου κόσμου (Μπάλιας, 2011). Η Ελλάδα αποτελεί ένα από τα πρώτα μέλη του Πρωτοκόλλου, το οποίο ενσωματώθηκε στο Ελληνικό δίκαιο το 2004 (ΦΕΚ 51/Α/18-02-2004).

### **5.1. Θεσμικό πλαίσιο στις ΗΠΑ και σε άλλες χώρες**

Κατά την έντονη ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας στις αρχές της δεκαετίας του '80 και μετά από τους σχετικούς προβληματισμούς για τις πιθανές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον, θεσπίστηκε στις ΗΠΑ το 1986 το Συντονισμένο Πλαίσιο Ρυθμίσεων για τη Βιοτεχνολογία (CFRB). Σύμφωνα με το συγκεκριμένο πλαίσιο, δεν απαιτείται κάποιο ιδιαίτερο κανονιστικό καθεστώς για την ρύθμιση της χρήσης και ελευθέρωσης των ΓΤΟ στο περιβάλλον, ενώ οι διαδικασίες ελέγχου και έγκρισης τους εποπτεύονται από τους φορείς που εγκρίνουν και τα μη ΓΤ τρόφιμα και καλλιέργειες. Σε αντίθεση με την ΕΕ, το ρυθμιστικό πλαίσιο των ΗΠΑ δεν προβλέπει την δημιουργία νέων θεσμών και διαδικασιών ελέγχου και έγκρισης των ΓΤΟ. Οι ρυθμιστικές αρχές ελέγχουν τα προϊόντα που παράγονται με την χρήση βιοτεχνολογικών μεθόδων, χρησιμοποιώντας τυποποιημένες δοκιμές για την αξιολόγηση χαρακτηριστικών όπως η τοξικότητα και η

παρουσία αλλεργιογόνων παραγόντων, χωρίς να λαμβάνονται υπόψιν οι διαδικασίες και τεχνολογίες παραγωγής.

Για την εφαρμογή των υφιστάμενων γενικών διατάξεων είναι υπεύθυνες τρεις Ομοσπονδιακές Υπηρεσίες:

Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος (EPA). Η EPA εφαρμόζει τις διατάξεις “Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA)” και “Toxic Substances Control Act (TSCA)”, κυρίως στην περίπτωση ΓΤ καλλιεργειών που παρουσιάζουν αντοχή στην δράση ζιζανιοκτόνων δραστικών ή περιέχουν ενσωματωμένα γονίδια για την παραγωγή εντομοκτόνων ουσιών.

Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA). Η συγκεκριμένη υπηρεσία εφαρμόζει τις διατάξεις “Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FFDCA)”, ελέγχοντας την ασφάλεια των τροφίμων και των ζωοτροφών που παράγονται από την χρήση ΓΤΟ.

Υπηρεσία Ελέγχου Υγείας Φυτών και Ζώων (APHIS). Η υπηρεσία APHIS, η οποία ανήκει στο Υπουργείο Γεωργίας (USDA), εφαρμόζει τις διατάξεις “Federal Plant Protection Act (PPA)”, αξιολογώντας την επικινδυνότητα των διαγονιδιακών καλλιεργειών για το περιβάλλον.

Ουσιαστικά, ο έλεγχος των πιθανών επιπτώσεων από την χρήση των ΓΤΟ στο περιβάλλον ασκείται από την EPA, οι πιθανές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία ελέγχονται από την FDA ενώ η APHIS εποπτεύει την διερεύνηση των επιπτώσεων στην γεωργία (Μπάλιας, 2011). Μέχρι πρόσφατα, το ρυθμιστικό πλαίσιο των ΗΠΑ δεν προέβλεπε την σήμανση των προϊόντων που παράγονται μέσω της χρήσης ΓΤΟ. Εν τούτοις, η μεταβολή του ρυθμιστικού πλαισίου κατά το 2016, καθιστά υποχρεωτική την σήμανση των σχετικών προϊόντων. Οι συγκεκριμένες διατάξεις, οι οποίες εκδόθηκαν από την Υπηρεσία

Προώθησης Αγροτικών Προϊόντων (AMS) του Υπουργείου Γεωργίας, προβλέπουν την εφαρμογή της υποχρεωτικής σήμανσης στις αρχές του 2022 (Grossman, 2019).

Εκτός από τις ΗΠΑ, αρκετές χώρες οι οποίες αποτελούν σημαντικούς παραγωγούς, εξαγωγείς ή/και εισαγωγείς αγροτικών προϊόντων που παράγονται από διαγονιδιακά φυτά, έχουν θεσπίσει ρυθμιστικά πλαίσια που βασίζονται στην Αρχή της Κατ' Ουσίαν Ισοδυναμίας. Η Αργεντινή και ο Καναδάς, οι οποίοι αποτελούν αντιστοίχως την τρίτη και τέταρτη χώρα σε επιφάνεια καλλιεργούμενων εκτάσεων ΓΤΟ (ISAAA, 2018), ακολουθούν διαδικασίες για τον έλεγχο του προϊόντος και όχι της διαδικασίας παραγωγής, σε αντιστοιχία με την περίπτωση των ΗΠΑ. Ταυτόχρονα, οι δύο χώρες έχουν υπογράψει το Πρωτόκολλο της Καρθαγένης αλλά δεν το έχουν κυρώσει στις εθνικές τους νομοθεσίες. Άλλες χώρες όπως η Ιαπωνία, η οποία αποτελεί σημαντικό εισαγωγέα ΓΤ προϊόντων, έχουν θεσπίσει ρυθμιστικό πλαίσιο που επιτρέπει την καλλιέργεια διαγονιδιακών φυτών, αλλά εξαιτίας των αντιδράσεων την κοινής γνώμης δεν έχει επιτευχθεί η καλλιέργεια ΓΤ φυτών για την παραγωγή βρώσιμων προϊόντων. Έτσι, ενώ έχει αδειοδοτηθεί ένας μεγάλος αριθμός διαγονιδιακών εφαρμογών, καλλιεργούνται μόνο ΓΤ φυτά για καλλωπιστική χρήση.

## **5.2. Θεσμικό Πλαίσιο στην Ευρωπαϊκή Ένωση και στην Ελλάδα**

Το θεσμικό πλαίσιο της ΕΕ για τους ΓΤΟ, αποτελεί το πλέον αυστηρό και πολύπλοκο νομοθετικό πλαίσιο παγκοσμίως (Davison and Ammann, 2017). Η περιορισμένη διάδοση των γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών στην ΕΕ, τόσο σε επίπεδο συνολικής καλλιεργούμενης επιφάνειας, όσο και σε επίπεδο αριθμού Κ/Μ που επιτρέπουν την καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων φυτών εντός της επικράτειας τους, αντανακλά την αυστηρότητα του Ευρωπαϊκής νομοθεσίας. Η παρουσία των ΓΤΟ περιορίζεται στην καλλιέργεια του καλαμποκιού MON810, το οποίο παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε εντομολογικούς εχθρούς μέσω της παραγωγής της βακτηριακής τοξίνης του Βάκιλου της

Θουριγγίας. Η έκταση που χρησιμοποιήθηκε για την συγκεκριμένη δραστηριότητα κατά το 2018 ήταν ίση με 120,990 εκτάρια και παρουσιάστηκε περιορισμένη κατά 8% σε σχέση με το 2017 (ISAAA, 2018), ενώ το 95% της αγροτικής επιφάνειας βρίσκεται στην Ισπανία. Μικρές εκτάσεις καλλιεργούνται στην Πορτογαλία, την Τσεχία, την Ρουμανία και την Σλοβακία (Davison and Ammann, 2017). Η καλλιέργεια του MON810 έχει απαγορευτεί στην Ελλάδα, μέσω της ΥΑ 9769/121592/2013 (ΦΕΚ 2566 Β/11-10-2013), σε αντιστοιχία με την προηγούμενη απαγόρευση της καλλιέργειας της ΓΤ πατάτας Amflora, μέσω της ΥΑ 317/51441/2012 (ΦΕΚ 1567/Β/08-05-2012).

Η θεμελίωση του νομοθετικού πλαισίου της ΕΕ σχετικά με τους ΓΤΟ, πραγματοποιήθηκε το 1990, με την υιοθέτηση των Κοινοτικών Οδηγιών 90/219/ΕΟΚ και 90/220/ΕΟΚ, οι οποίες ενσωματώθηκαν στον Ελληνικό δίκαιο μέσω των ΚΥΑ 95267/1893/1995 (ΦΕΚ 1030/Β/14-12-1995) και ΚΥΑ 88740/1883/1995 (ΦΕΚ 1008/Β/11-12-1995) αντιστοίχως. Η έκδοση τους στηρίχθηκε στην Αρχή της Προφύλαξης, με σκοπό τον έλεγχο και τον περιορισμό των πιθανών αρνητικών επιπτώσεων της χρήσης των ΓΤΟ, χωρίς να απαγορεύεται η ερευνητική δράση στον τομέα της βιοτεχνολογίας και η δυνατότητα της αξιοποίησής τους, στην περίπτωση που αποδειχτεί η ασφάλεια και χρησιμότητα των ΓΤΟ και των προϊόντων τους, με επιστημονικό τρόπο. Ακολούθως, η Οδηγία 90/219/ΕΟΚ τροποποιήθηκε με την 1998/81/ΕΚ, ενώ η Οδηγία 90/220/ΕΟΚ από την Οδηγία 2001/18/ΕΚ.

Το σύγχρονο Νομοθετικό πλαίσιο της ΕΕ, αποτελείται από ένα πλήθος Οδηγιών και Κανονισμών, το οποίο μεταξύ άλλων ελέγχει την καλλιέργεια των γενετικά τροποποιημένων οργανισμών και την διάθεση των προϊόντων τους στα Κ/Μ της ΕΕ.



- Οδηγία 2001/18/EK

Η συγκεκριμένη Οδηγία, η οποία έχει ενσωματωθεί στο Ελληνικό δίκαιο με την ΚΥΑ 38639/2017/2005 (ΦΕΚ 1334/Β/21-09-2005), συνέθεσε μαζί τον Κανονισμό 1829/2003/EK τον πυρήνα του κανονιστικού πλαισίου της ΕΕ για την έγκριση της καλλιέργειας και χρήσης των ΓΤΟ ως σπόρων σποράς ή άλλου τύπου φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού, για εμπορικούς ή πειραματικούς σκοπούς.

Σύμφωνα με την Οδηγία, η εξατομικευμένη αξιολόγηση κινδύνου της χρήσης των ΓΤΟ (risk assessment), αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την ενεργοποίηση της διαδικασίας έγκρισης σχετικά με την διάθεση τους στην αγορά της ΕΕ. Συνοπτικά, η Οδηγία 2001/18/EK, αποδεχόμενη την Αρχή της Προφύλαξης, καθορίζει τις πολιτικές αξιολόγησης των κινδύνων για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον, που μπορεί να προκύψουν από την καλλιέργεια των ΓΤΟ και την κατανάλωση των προϊόντων τους. Η αξιολόγηση βαρύνει τον κατασκευαστή ή εισαγωγέα, ο οποίος μετά την ολοκλήρωση της, καταθέτει τα στοιχεία στην Αρμόδια Αρχή του Κ/Μ της ΕΕ, στην επικράτεια του οποίου πρόκειται να πραγματοποιηθεί η ελευθέρωση του ΓΤΟ. Εφόσον η Αρμόδια Αρχή γνωμοδοτήσει θετικά, μετά και από την σύμφωνη γνώμη της Ευρωπαϊκής Επιτροπής ή των Κ/Μ, ο ΓΤΟ ή το προϊόν μπορεί να κυκλοφορήσει ελεύθερα στο Κ/Μ. Στην περίπτωση που εκφραστούν τεκμηριωμένες αντιρρήσεις, η απόφαση λαμβάνεται από το Ευρωπαϊκό Συμβούλιο ή την Ευρωπαϊκή Επιτροπή, μετά από τις συμβουλές των αρμόδιων επιστημονικών επιτροπών. Κατά την αξιολόγηση του κινδύνου από την χρήση των ΓΤΟ, συνεκτιμούνται οι πιθανές επιπτώσεις τόσο στο φυσικό περιβάλλον, όσο και στην ανθρώπινη κοινωνία.

- Κανονισμός 1829/2003/EK

Ο Κανονισμός 1829/2003/EK εναρμονίζεται με τις βασικές αρχές και παραμέτρους της Οδηγίας 2001/18/EK και αποσκοπεί στην προστασία της ζωής και υγείας του ανθρώπου,

των ζώων και του φυσικού περιβάλλοντος, καθώς και στην καλή λειτουργία την αγοράς και στην προάσπιση του συμφέροντος των καταναλωτών. Μέσω της θεσμοθέτησης του Κανονισμού 1829/2003/ΕΚ, εισάγεται μία ενιαία διαδικασία έγκρισης της χρήσης ενός ΓΤΟ, ως πρώτη ύλη στην παραγωγή τροφίμων ή ζωοτροφών, καθώς και ως συστατικό σε προϊόντα που προορίζονται για την ανθρώπινη ή ζωική διατροφή. Τα προϊόντα που λαμβάνονται από ζώα που τρέφονται με ΓΤ τροφές ή έχουν υποβληθεί σε αγωγή με ΓΤ φάρμακα, δεν υπόκεινται στις απαιτήσεις έγκρισης και επισήμανσης του Κανονισμού.

- Κανονισμός 1830/2003/ΕΚ

Ο Κανονισμός 1830/2003/ΕΚ προστατεύει το δικαίωμα του καταναλωτή σχετικά με την ελεύθερη επιλογή ή αποφυγή των ΓΤ προϊόντων. Για τον συγκεκριμένο σκοπό, καθιστά υποχρεωτική την ιχνηλασιμότητα και την σήμανση των προϊόντων που περιέχουν ή αποτελούνται από ΓΤΟ, παρακολουθώντας τις πιθανές επιπτώσεις στο περιβάλλον και την υγεία των ανθρώπων και των ζώων και εφαρμόζοντας τα κατάλληλα μέτρα διαχείρισης των παρουσιαζόμενων κινδύνων. Η ιχνηλασιμότητα και η σήμανση των προϊόντων εφαρμόζονται στο σύνολο των σταδίων διάθεσης στην αγορά και αποτελεί ευθύνη του φορέα διακίνησης.

- Κανονισμός 1946/2003/ΕΚ

Ο Κανονισμός 1946/2003, ευθυγραμμίζεται με τις κατευθυντήριες αρχές του Πρωτοκόλλου της Καρθαγένης που κυρώθηκε στην Ελληνική νομοθεσία με τον Νόμο 3233/2004 (ΦΕΚ 51/Α/18-02-2004). Ο στόχος του Κανονισμού είναι η ρύθμιση της ακούσιας διασυνοριακής μεταφοράς των ΓΤΟ, καθώς και της εξαγωγής τους σε τρίτες χώρες.

Η Οδηγία 2001/18/EK και οι σχετικοί Κανονισμοί, ενώ στοχεύουν στην προστασία του φυσικού περιβάλλοντος και της ανθρώπινης υγείας από την χρήση των ΓΤΟ, σεβόμενοι το δικαίωμα του καταναλωτή στην πληροφόρηση και την ελεύθερη επιλογή, δεν παρέχουν ικανοποιητική ευελιξία και θεσμική κάλυψη στα Κ/Μ που δεν επιθυμούν την καλλιέργεια ΓΤΟ στην επικράτεια τους. Σύμφωνα με το συγκεκριμένο θεσμικό πλαίσιο, η αδειοδότηση των ΓΤΟ προς καλλιέργεια, αποτελεί αποκλειστική ευθύνη της Ευρωπαϊκής Επιτροπής και της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (ΕΑΑΤ). Η μονομερής απαγόρευση των ΓΤΟ από αρκετά Κ/Μ, μεταξύ των οποίων και η Ελλάδα, βασίστηκε στις ρήτρες διασφάλισης της Οδηγίας 2001/18/EK, της Οδηγίας 2002/53/EK και του Κανονισμού 1829/2003/EK. Για τον ίδιο σκοπό, άλλα Κ/Μ χρησιμοποίησαν την Συνθήκη για τη Λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Σε όλες τις περιπτώσεις, αξιοποιήθηκε η δυνατότητα των Κ/Μ να περιορίζουν ή να απαγορεύουν προσωρινά την χρήση ή την πώληση του ΓΤΟ εντός της επικράτειας τους, εφόσον προκύψουν νέα ή πρόσθετα στοιχεία ή επιστημονικά δεδομένα που να αποδεικνύουν την επικινδυνότητα των ΓΤΟ. Καθώς η χρήση των συγκεκριμένων ρητρών χαρακτηρίζεται από την ΕΑΑΤ ως αβάσιμη, αφού η ίδια Αρχή έχει εισηγηθεί θετικά για την ασφάλεια της χρήσης των ΓΤΟ, αρκετά Κ/Μ εξέφρασαν την δυσαρέσκεια τους για την περιορισμένη δυνατότητα του καθορισμού της καλλιέργειας ΓΤΟ εντός των συνόρων τους και αιτήθηκαν την δυνατότητα της μονομερούς απαγόρευσης της καλλιέργειας ΓΤΟ, η χρήση των οποίων έχει αδειοδοτηθεί από την ΕΕ. Το αποτέλεσμα των συγκεκριμένων διαβουλεύσεων ήταν η υιοθέτηση της Οδηγίας 2015/412/ΕΕ.

- Οδηγία 2015/412/ΕΕ

Η Οδηγία 2015/412/ΕΕ, ενσωματώθηκε στο Ελληνικό δίκαιο μέσω της ΚΥΑ 2775/128098/2017 (ΦΕΚ 4287/Β/29-11-2017) και τροποποιεί βασικά άρθρα της Οδηγίας 2001/18/EK, τα οποία καθορίζουν την έγκριση και διάθεση των ΓΤΟ στην ΕΕ. Η

καινοτομία της νέας Οδηγίας έγκειται στην παροχή της δυνατότητας στα Κ/Μ, να απαγορεύουν την καλλιέργεια ΓΤΟ στο σύνολο της επικράτειας τους ή σε μέρος αυτής. Τα μέτρα απαγόρευσης στηρίζονται σε διαφορετικούς λόγους και όχι στην επικινδυνότητα, καθώς αυτή εξετάζεται κατά την προαπαιτούμενη εξατομικευμένη ανάλυση κινδύνου για έγκριση της ελευθέρωσης στο περιβάλλον, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία. Επιπλέον, κατοχυρώνεται νομικά η εμπειρική επιβεβαίωση της αποτελεσματικότερης αντιμετώπισης των ΓΤΟ σε επίπεδο χώρας, αν και τα ζητήματα διάθεσης και εισαγωγής ΓΤΟ καθορίζονται σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία. Η νέα Οδηγία προβλέπει την υποχρεωτική συνεργασία μεταξύ των γειτονικών κρατών και την θέσπιση των κατάλληλων μέτρων, για την αποφυγή της διασυννοριακής μόλυνσης μεταξύ ενός Κ/Μ που καλλιεργεί ΓΤΟ και ενός άλλου το οποίο απαγορεύει την καλλιέργεια του.

Η Οδηγία 2015/412/ΕΕ παρέχει την δυνατότητα της υποβολής αιτήματος στα Κ/Μ, για την εξαίρεση του συνόλου ή μέρους της επικράτειας τους από το γεωγραφικό πεδίο εφαρμογής της έγκρισης του ΓΤΟ. Το συγκεκριμένο αίτημα πρέπει να κατατεθεί μέσα σε 45 μέρες από την κυκλοφορία της έκθεσης αξιολόγησης ή την παραλαβή της γνώμης της ΕΑΑΤ, καθώς και να κοινοποιηθεί από την Επιτροπή στα υπόλοιπα Κ/Μ και να δημοσιοποιηθεί σε ηλεκτρονικά μέσα. Στην περίπτωση που το Κ/Μ δεν αναπροσαρμόσει ή επιβεβαιώσει το γεωγραφικό πεδίο της αίτησης του εντός 30 ημερών από την ημερομηνία ανακοίνωσης του αιτήματος του, θεωρείται ότι συναινεί στην αναπροσαρμογή του γεωγραφικού πεδίου εφαρμογής της κοινοποίησης/αίτησης.

Τα μέτρα περιορισμού ή απαγόρευσης της καλλιέργειας ΓΤΟ που μπορούν να θεσπιστούν από ένα Κ/Μ, πρέπει να είναι εναρμονισμένα με το Ευρωπαϊκό δίκαιο και να βασίζονται σε στόχους περιβαλλοντικής ή γεωργικής πολιτικής ή άλλους επιτακτικούς λόγους όπως οι επιπτώσεις σε κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο, ζητήματα πολεοδομίας, χωροταξίας και γεωγραφίας και η χρήση της γης. Πριν από την θέσπιση των μέτρων, το Κ/Μ πρέπει να κοινοποιήσει σχέδιο των μέτρων καθώς και το αιτιολογικό υπόβαθρο στην Επιτροπή, τουλάχιστον 75 μέρες πριν την ολοκλήρωση της διαδικασίας έγκρισης. Μετά

την πάροδο του συγκεκριμένου χρονικού διαστήματος, το Κ/Μ μπορεί να θεσπίσει τα μέτρα, είτε με την μορφή που προτάθηκαν, είτε περιλαμβάνοντας τις τροποποιήσεις της Επιτροπής, οι οποίες δεν έχουν δεσμευτικό χαρακτήρα. Τα μέτρα πρέπει να κοινοποιηθούν στην Επιτροπή, στα υπόλοιπα Κ/Μ, στον κάτοχο της έγκρισης καθώς και στους υπόλοιπους ενδιαφερόμενους. Η Οδηγία 2015/412/ΕΕ παρέχει την δυνατότητα της ανάκλησης των μέτρων περιορισμού ή απαγόρευσης, μέσω της αντίστοιχης αίτησης στην Αρμόδια Αρχή, ώστε να επανενταχθεί μέρος ή το σύνολο της επικράτειας του στο γεωγραφικό πεδίο εφαρμογής της έγκρισης, ακολουθώντας την οριζόμενη διαδικασία. Η Αρμόδια Αρχή και το Κ/Μ, πρέπει να ενημερώσουν την Επιτροπή και τα υπόλοιπα Κ/Μ, σχετικά με την ανάκληση των μέτρων.

Η ΚΥΑ 2775/128098/2017 (ΦΕΚ 4287/Β/29-11-2017), η οποία περιλαμβάνει τις διατάξεις της Οδηγίας 2015/412/ΕΕ και τις ενσωματώνει στο Ελληνικό νομοθετικό πλαίσιο, θεσμοθετεί και την υποχρεωτική εφαρμογή της διαδικασίας εξαίρεσης του συνόλου της επικράτειας της Ελλάδας από την καλλιέργεια ΓΤΟ. Η συγκεκριμένη θεσμοθέτηση πραγματοποιήθηκε συνεκτιμώντας ένα πλήθος γεωμορφολογικών, κοινωνικό-οικονομικών και περιβαλλοντικών χαρακτηριστικών και ιδιαιτεροτήτων της χώρας, καθώς και τα χαρακτηριστικά της αγροτικής παραγωγής και τις κατευθύνσεις της γεωργικής παραγωγής. Η υποχρεωτική εφαρμογή της διαδικασίας εξαίρεσης μπορεί να αποφευχθεί ακολουθώντας συγκεκριμένη διαδικασία η οποία απαιτεί ιδιαίτερη τεκμηρίωση. Η ουσιαστική απόρριψη της καλλιέργειας ΓΤΟ από την ΚΥΑ 2775/128098/2017, έρχεται σε οριακή ασυμβατότητα με την Οδηγία 2015/412/ΕΕ, καθώς η δυνατότητα κατάθεσης αιτήματος για εξαίρεση αντικαθίσταται από την υποχρεωτική εξαίρεση, ενώ η επιλογή της εξαίρεσης μέρους της επικράτειας δεν είναι διαθέσιμη. Εν τούτοις, το συγκεκριμένο θεσμικό πλαίσιο καθιστά σαφή την άποψη του νομοθέτη και αντανακλά την πολιτική αποκλεισμού των ΓΤΟ από την Ελληνική επικράτεια.

## **6. Μείωση των εισροών στην γεωργία, μέσω της επίτευξης ανθεκτικότητας σε εχθρούς, ασθένειες και ζιζανιοκτόνα**

Κατά την σχετικά σύντομη ιστορία της ανάπτυξης και διάδοσης των ΓΤ καλλιεργειών, έχει επιχειρηθεί ο ανασυνδυασμός της γενετικής πληροφορίας σε μεγάλο αριθμό φυτικών ειδών, στοχεύοντας σε ποικίλα και διακριτά αποτελέσματα. Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε σημαντικούς εχθρούς, ασθένειες και ιούς, η αύξηση της παραγωγικότητας, η αντοχή στην δράση χημικών ενώσεων με ζιζανιοκτόνες ιδιότητες, η παραγωγή γεωργικών προϊόντων ανώτερης ποιότητας και η προσαρμογή σε αβιοτικούς παράγοντες όπως οι ακραίες θερμοκρασιακές τιμές, η υψηλή αλατότητα και τα φαινόμενα ξηρασίας, αποτέλεσαν κάποιους από τους βασικότερους στόχους της γεωργικής βιοτεχνολογίας, ειδικότερα κατά τον σχεδιασμό των τροποποιημένων φυτικών γονοτύπων την πρώτης γενιάς. Κατά την εξέλιξη της συγκεκριμένης τεχνολογίας, προστέθηκαν νέοι φιλόδοξοι στόχοι, όπως η παρέμβαση στο γενετικό υλικό των φυτικών οργανισμών για την παραγωγή φαρμακευτικών ουσιών, μονοκλωνικών αντισωμάτων, εμβολίων και βιοκαυσίμων (ISAAA, 2018).

Ενώ το πεδίο έρευνας διευρύνεται σταδιακά και ο αριθμός των γεωργικών βιοτεχνολογικών εφαρμογών αυξάνεται συνεχώς, οι κύριες γενετικές τροποποιήσεις που βρίσκουν γενικευμένη εμπορική χρήση είναι σχετικά περιορισμένες (Kamle et al, 2017) και αποσκοπούν μεμονωμένα ή συνδυαστικά:

**α)** στην επίτευξη ανθεκτικότητας σε δραστικές ουσίες που περιέχονται σε έναν μεγάλο αριθμό ευρέως φάσματος ζιζανιοκτόνων σκευασμάτων και χρησιμοποιούνται σε ένα πλήθος καλλιεργειών, όπως το βαμβάκι, το καλαμπόκι, η σόγια, η κανόλα, το ζαχαρότευτλο και η μηδική. Οι συγκεκριμένες εφαρμογές επιτρέπουν την χρήση ψεκασμών καλύψεως στις καλλιέργειες, με στόχο την καταπολέμηση των πλατύφυλλων και αγρωστωδών ζιζανίων, με ταυτόχρονη προστασία των καλλιεργειών από την επιβλαβή

δράση των χρησιμοποιούμενων δραστικών ουσιών. Οι εφαρμογές που χρησιμοποιούνται συχνότερα στην γεωργία, προσδίδουν ανθεκτικότητα για δύο εμπορικές ζιζανιοκτόνες δραστικές ευρέως φάσματος, την γλυφοσάτη και την γλυφοσινάτη (Brookes and Barfoot, 2018).

Η γλυφοσάτη αποτελεί ένα μη εκλεκτικό οργανοφωσφορικό ζιζανιοκτόνο, η δράση του οποίου οφείλεται στην αναστολή της λειτουργίας της 5-ενολοπυροσταφυλοσικιμικής-3-φωσφορικής συνθάσης. Το συγκεκριμένο ένζυμο συμμετέχει στα βιοχημικά μονοπάτια σύνθεσης των αρωματικών αμινοξέων τρυπτοφάνη, τυροσίνη και φαινυλαλανίνη, συνεπώς η αναστολή της δράσης του οδηγεί στον σταδιακό θάνατο ενός μεγάλου εύρους φυτικών ειδών, όπως τα μονοετή πλατύφυλλα και αγρωστώδη ζιζάνια, τα οποία ανταγωνίζονται τα καλλιεργούμενα φυτά. Η γλυφοσάτη εφαρμόζεται μεταφυτρωτικά, απορροφάται από τα φύλλα και ελάχιστα από το ριζικό σύστημα και χαρακτηρίζεται από την συστηματική της κίνηση εντός των φυτικών οργάνων, η οποία οδηγεί στο θάνατο των μεριστωματικών ιστών. Μετά την εμπορική διάθεση της γλυφοσάτης, τα σκευάσματα που περιλαμβάνουν την συγκεκριμένη δραστική ουσία απέκτησαν σε σύντομο χρονικό διάστημα το μεγαλύτερο μερίδιο στην αγορά των ζιζανιοκτόνων. Μεγάλο μέρος της χρήσης της, σχετίζεται με την εφαρμογή της στις διαγονιδιακές καλλιέργειες ανθεκτικών στην γλυφοσάτη φυτών, οι οποίες αποτελούν τις πιο διαδεδομένες γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες παγκοσμίως (Duke, 2018).

Η γλυφοσινάτη είναι μία φυσική οργανοφωσφορική χημική ένωση, η οποία χρησιμοποιείται στην γεωργία ως ένα ευρέως φάσματος μεταφυτρωτικό ζιζανιοκτόνο επαφής, με περιορισμένη συστηματική κίνηση. Η συγκεκριμένη δραστική ουσία παράγεται από αρκετά εδαφικά στελέχη του βακτηριακού Γένους *Streptomyces*. Η δράση της συνίσταται στην αναστολή της λειτουργίας της γλουταμινικής συνθετάσης, η οποία είναι υπεύθυνη για την παραγωγή του αμινοξέως γλουταμίνη και την αποτοξίνωση της αμμωνίας. Το αποτέλεσμα της δράσης της γλυφοσινάτης είναι η συσσώρευση μεγάλων

συγκεντρώσεων αμμωνίας και οξαιθανικού οξέως εντός των φυτικών οργανισμών, οδηγώντας σταδιακά στην νέκρωση των κυτταρικών μεμβρανών (Aulakh and Jhala, 2015).

Η ανθεκτικότητα στην δράση των ανωτέρω ζιζανιοκτόνων ουσιών, επιτυγχάνεται μέσω της ενσωμάτωσης της κατάλληλης γενετικής πληροφορίας στο γενετικό υλικό των καλλιεργούμενων φυτικών ειδών. Η ευρεία χρήση της συγκεκριμένης τεχνολογίας έχει οδηγήσει στην διαφοροποίηση της σύνθεσης του προφίλ των δραστικών ουσιών και σκευασμάτων που χρησιμοποιούνται στις καλλιέργειες ως ζιζανιοκτόνα. Έτσι, η παραδοσιακή χρήση ενός μεγάλου αριθμού δραστικών ουσιών με ως επί το πλείστον εκλεκτική δράση, έχει αντικατασταθεί από την εφαρμογή ενός ή δύο ζιζανιοκτόνων ευρέως φάσματος, συνδυαστικά με περιορισμένο αριθμό δραστικών ουσιών με συμπληρωματική δράση (Brookes and Barfoot, 2018).

**β)** στην προστασία από βασικούς εντομολογικούς εχθρούς σημαντικών καλλιεργειών όπως το βαμβάκι, η σόγια, το καλαμπόκι και η μηδική. Οι κύριες εμπορικές εφαρμογές αξιοποιούν την τοξίνη που παράγεται από τον Βάκιλο της Θουριγγίας (Bt), εκμεταλλευόμενες την εντομοκτόνο δράση που παρουσιάζει. Η τοξίνη Bt αποτελεί ένα φυσικό εντομοκτόνο υπό μορφή κρυσταλλικής πρωτεΐνης (CryI), το οποίο σχηματίζεται κατά την βακτηριακή σποριογένεση. Αρχικά, οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες βρίσκονται συσσωματωμένες υπό την μορφή παρασπορικού κρυστάλλου, ο οποίος προσλαμβάνεται μέσω της τροφής από τους εντομολογικούς εχθρούς. Στην συνέχεια ο κρύσταλλος διασπάται στο αλκαλικό περιβάλλον του πεπτικού συστήματος των εντόμων, πρώτα στα επιμέρους κρυσταλλικά διπεπτίδια και ακολούθως σε πολυπεπτιδικές αλυσίδες, οι οποίες αποτελούν την προτοξίνες. Μετά την ενεργοποίηση της, η τοξίνη Bt διέρχεται μέσω της περιτροφικής μεμβράνης και προσδένεται σε συγκεκριμένους υποδοχείς της μεμβράνης των επιθυλιακών κυττάρων στο μέσο έντερο, οδηγώντας στην λύση των κυττάρων και στον θάνατο του εντόμου. (Palma et, 2014).



Η μεταφορά και ενσωμάτωση της γενετικής πληροφορίας που κωδικοποιεί για την παραγωγή της τοξίνης του Βάκιλου της Θουριγγίας στο γενετικό υλικό των καλλιεργούμενων φυτικών ειδών, μέσω του πρωτοκόλλου μετασχηματισμού με την χρήση του *Agrobacterium tumefaciens*, οδηγεί στην έκφραση της τοξίνης στους φυτικούς ιστούς και στην καταπολέμηση ενός μεγάλου αριθμού εντομολογικών εχθρών της καλλιέργειας. Η τοξίνη έχει θανατηφόρες επιδράσεις σε ένα πλήθος επιζήμιων εντόμων, ενώ φαινομενικά δεν ασκεί κάποια επιβλαβή δράση στον άνθρωπο και τα υπόλοιπα θηλαστικά (Palma et, 2014). Ως αποτέλεσμα, για την επιτυχή φυτοπροστασία των γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών χρειάζονται σαφώς μικρότερες ποσότητες και περιορισμένη χρήση φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων, ειδικά σε καλλιέργειες όπως το βαμβάκι, στις οποίες παραδοσιακά εφαρμόζονται συχνοί συμβατικοί χειρισμοί με εντομοκτόνα για την αντιμετώπιση των εντομολογικών εχθρών.

Σε παγκόσμιο επίπεδο, η εξάπλωση των συγκεκριμένων βιοτεχνολογικών εφαρμογών έχει σημαντική συνεισφορά στην μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων που σχετίζονται με την χρήση ζιζανιοκτόνων και εντομοκτόνων χημικών ενώσεων στην γεωργία. Στο χρονικό διάστημα 1996 – 2016, η χρήση των εντομοκτόνων στις καλλιέργειες ΓΤ φυτών έχει περιοριστεί κατά 8,2% σε σχέση με τις αντίστοιχες καλλιέργειες των μη τροποποιημένων συμβατικών ποικιλιών. Αντιστοίχως, οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις που οφείλονται στην εφαρμογή των ανωτέρω φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων έχουν μειωθεί κατά 18,4%. Η χώρα που παρουσίασε τα μεγαλύτερα περιβαλλοντικά οφέλη ως προς τις επιπτώσεις της χρήσης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων ήταν οι ΗΠΑ, καθώς η μείωση της χρήσης των εντομοκτόνων ήταν ίση με 54%. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα σχετίζονται με την ευρεία διάδοση των ΓΤ καλλιεργειών στις ΗΠΑ, καθώς αυτές αποτελούν το 80% του συνόλου των ΓΤ και συμβατικών καλλιεργειών των 4 κύριων τροποποιημένων καλλιεργούμενων φυτικών ειδών, ενώ κατά τις προηγούμενες δεκαετίες ο μόνος τρόπος προστασίας από τους εχθρούς και τα ζιζάνια ήταν η εκτεταμένη χρήση εντομοκτόνων και ζιζανιοκτόνων αντιστοίχως (Brookes and Barfoot, 2018).

Η διάδοση της χρήσης των σχετικών βιοτεχνολογικών εφαρμογών επάγει την μείωση των εισροών στις καλλιέργειες, μέσω του περιορισμού του αριθμού των ψεκασμών και της κατανάλωσης ορυκτών καυσίμων που απαιτούνται για την μεγιστοποίηση της προστασίας των καλλιεργειών, καθώς και των πόρων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή των δραστικών ουσιών. Ως αποτέλεσμα, το 2016 οι εκπομπές CO<sub>2</sub> που συνδέονται με την χρήση εντομοκτόνων και ζιζανιοκτόνων στις ΓΤ καλλιέργειες, παρουσίασαν μείωση κατά 2,945 εκατομμύρια κιλά, κυρίως λόγω της αντίστοιχης πτώσης στην κατανάλωση των ορυκτών καυσίμων (πίνακας 2). Επιπλέον, η εφαρμογή τεχνικών περιορισμένης ή μηδενικής άρωσης, που δύναται να εφαρμοστεί σε ΓΤ καλλιέργειες με αντοχή στα ζιζανιοκτόνα, εκτός από την μείωση της χρήσης ορυκτών καυσίμων, οδηγεί στην βελτίωση της ποιότητας του εδάφους και στην μείωση των εκπομπών αερίων θερμοκηπίου λόγω της αύξησης της ποσότητας άνθρακα που παραμένει στο έδαφος. Η ποσότητα του άνθρακα που συγκρατείται στο έδαφος λόγω της περιορισμένης ή μηδενικής άρωσης, υπολογίζεται ίση με 6,586 εκατομμύρια κιλά και ισοδυναμεί με 24,171 εκατομμύρια κιλά CO<sub>2</sub> που δεν ελευθερώθηκαν στην ατμόσφαιρα (πίνακας 3). Οι συγκεκριμένες μέθοδοι άρωσης δεν μπορούν να εφαρμοστούν σε συμβατικές καλλιέργειες χωρίς την αυξημένη χρήση ζιζανιοκτόνων, συνεπώς τα οφέλη από την μειωμένη χρήση καυσίμων λόγω του περιορισμού της άρωσης περιορίζονται ή αναιρούνται εξαιτίας των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου που οφείλονται στη αύξηση της εφαρμογής των ζιζανιοκτόνων δραστικών ουσιών. Αθροιστικά, το κέρδος της δέσμευσης του άνθρακα στο έδαφος για το 2016, υπολογίζεται σε 27,116 εκατομμύρια κιλά CO<sub>2</sub> που δεν ελευθερώθηκαν στην ατμόσφαιρα και ισοδυναμεί με την απόσυρση περίπου 16,745 εκατομμύρια οχημάτων από την κυκλοφορία (πίνακες 2, 3). Η περαιτέρω εδραίωση της χρήσης των ΓΤ καλλιεργειών και η βιοτεχνολογική επίτευξη της ανθεκτικότητας σε εχθρούς και ασθένειες και της αντοχής σε ζιζανιοκτόνα, θα οδηγήσει στην μεγέθυνση της αγροτικής παραγωγής και στην μείωση της εκπομπής αερίων του θερμοκηπίου ανά καλλιεργούμενη έκταση (Brookes and Barfoot, 2018).

**Πίνακας 2.** Μείωση της κατανάλωσης ορυκτών καυσίμων σε διάφορες καλλιέργειες ΓΤ φυτών και η αντίστοιχη μείωση των εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα (Brookes and Barfoot, 2018).

Crop/trait/country	Fuel saving (million litres)	Permanent carbon dioxide savings arising from reduced fuel use (million kg of carbon dioxide)	Permanent fuel savings: as average family car equivalents removed from the road for a year (‘000s)
US: GM HT soybean	202	533	329
Canada: GM HT soybeans	18	47	29
Argentina: GM HT soybean	265	709	440
Brazil GM HR soybean	191	509	314
Bolivia, Paraguay, Uruguay: GM HT soybean	66	175	108
US: GM HT maize	156	416	257
Canada: GM HT maize	7	19	12
Canada: GM HT canola	72	192	118
Global GM IR cotton	16	42	26
Brazil IR maize	37	100	62
Us/Canada/Spain/South Africa: IR maize	5	12	7
South America: IR soybeans	71	190	117
<b>Total</b>	<b>1,106</b>	<b>2,945</b>	<b>1,819</b>

**Πίνακας 3.** Αύξηση των ποσοτήτων άνθρακα που αποθηκεύτηκαν στο έδαφος σε διάφορες καλλιέργειες ΓΤ φυτών (Brookes and Barfoot, 2018).

Crop/trait/country	Additional carbon stored in soil (million kg of carbon)	Potential additional soil carbon sequestration savings (million kg of carbon dioxide)	Soil carbon sequestration savings: as average family car equivalents removed from the road for a year (‘000s)
US: GM HT soybean	782	2,871	1,773
Canada: GM HT soybeans	68	249	154
Argentina: GM HT soybean	1,958	7,187	4,438
Brazil GM HR soybean	1,407	5,163	3,188
Bolivia, Paraguay, Uruguay: GM HT soybean	484	1,776	1,097
US: GM HT maize	1,608	5,903	3,645
Canada: GM HT maize	15	54	33
Canada: GM HT canola	264	968	598
Global GM IR cotton	0	0	0
Brazil IR maize	0	0	0
Us/Canada/Spain/South Africa: IR maize	0	0	0
South America: IR soybeans (included in HT soybeans above)	0	0	0
<b>Total</b>	<b>6,586</b>	<b>24,171</b>	<b>14,926</b>

## **7. Μείωση των εισροών στη γεωργία μέσω του περιορισμού της χρήσης συνθετικών λιπασμάτων**

Η αύξηση της αγροτικής παραγωγής από την έναρξη της Πράσινης Επανάστασης μέχρι και σήμερα, οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην χρήση των συνθετικών λιπασμάτων, τα οποία καλύπτουν τις θρεπτικές ανάγκες των σύγχρονων καλλιεργειών. Η εφαρμογή των συνθετικών λιπασμάτων είναι απαραίτητη για την αξιοποίηση των πλεονεκτημάτων και της αυξημένης παραγωγικής δυνατότητας των βελτιωμένων καλλιεργειών. Η κάλυψη των διατροφικών αναγκών του σημερινού παγκόσμιου πληθυσμού, εξαρτάται άμεσα από την συγκεκριμένη τεχνολογία, καθώς χωρίς την εφαρμογή της θα ήταν ανέφικτη η συντήρηση του μισού ανθρώπινου πληθυσμού (Lez et al, 2016). Ταυτόχρονα, η εξάρτηση της αγροτικής παραγωγής από την συνθετική λίπανση, επιφέρει την όξυνση σημαντικών περιβαλλοντικών προβλημάτων, όπως η ρύπανση και η οξίνιση των χερσαίων και υδατικών οικοσυστημάτων, η δημιουργία φαινομένων ευτροφισμού και η απελευθέρωση χημικών ενώσεων που συμμετέχουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου και στην κλιματική αλλαγή (πίνακας 4). Έτσι, η μείωση των αντίστοιχων εισροών στις καλλιεργούμενες εκτάσεις, πρέπει να αποτελέσει κύριο στόχο κατά το προσεχές μέλλον, ώστε να περιοριστεί η γενικότερη συνεισφορά της γεωργίας στην μεταβολή του παγκόσμιου κλίματος, χωρίς να υπάρξουν επιπτώσεις στην παραγωγικότητα των αγροτικών εκτάσεων και σημαντικές μεταβολές στην παγκόσμια χρήση της γης.

**Πίνακας 4.** Μέση κατανάλωση πρώτων υλών και ενεργειακών πηγών και εκπομπές κατά την παραγωγή και εφαρμογή σύνθετων λιπασμάτων συνολικού βάρους 300 Kg (Hasler et al, 2015).

	Unit	17-5-13			15-15-15		
		Min	Average	Max	Min	Average	Max
<b>Resources</b>							
Phosphate rock	kg	15.9	32.0	45.8	59.9	61.2	63.7
Potash salt	kg	72.4	92.2	111.9	83.5	91.6	139.9
Hard coal	MJ	200.9	211.5	238.8	173.8	176.7	180.7
Oil	MJ	272.4	286.6	232.1	237.0	240.4	245.1
Natural gas	MJ	1613.3	1721.6	2004.3	1403.3	1485.7	1671.0
Diesel	MJ	18.7	32.8	42.2	44.2	53.9	65.3
<b>Emission to air</b>							
CO <sub>2</sub>	kg	260.2	240.0	299.8	218.5	282.9	312.6
NO <sub>x</sub>	kg	2.369	2.692	2.886	1.070	1.172	1.337
N <sub>2</sub> O	kg	0.848	1.556	2.001	0.358	0.932	1.557
CO	kg	0.165	0.218	0.250	0.208	0.238	0.268
SO <sub>x</sub>	kg	0.463	0.520	0.716	0.937	1.095	1.434
CH <sub>4</sub>	kg	0.208	0.234	0.260	0.164	0.251	0.292
NH <sub>3</sub>	g	-	19.6	39.1	-	81.7	163.2
<b>Emission to water</b>							
NO <sub>3</sub> -N	kg	0.359	0.436	0.482	0.459	0.504	0.581
N to water	g	0.274	3.9	22.7	0.546	4.9	23.7
P to water	mg	0.231	0.955	1.917	0.786	4.3	6.9

### 7.1. Μείωση των εισροών αζώτου

Το άζωτο αποτελεί ένα από τα κυριότερα και απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία και σημαντικό περιοριστικό παράγοντα της φυτικής ανάπτυξης, ενώ αντιπροσωπεύει το 2% της φυτικής ξηρής μάζας που εισάγεται στην τροφική αλυσίδα. Ταυτόχρονα, ενώ βρίσκεται σε αφθονία στο περιβάλλον, αποτελώντας το 80% της ατμόσφαιρας υπό μορφή N<sub>2</sub>, χαρακτηρίζεται από χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα (Santi et al, 2013). Λόγω της σταθερότητας του τριπλού δεσμού μεταξύ των δύο ατόμων N, το N<sub>2</sub> δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, καθώς μόνο κάποιοι προκαρυωτικοί οργανισμοί διαθέτουν την ικανότητα της δέσμευσης των μοριακού αζώτου μέσω του ενζυμικού συστήματος της νιτρογενάσης (Oldroyd and Dixon, 2014). Έτσι, τα φυτά καλύπτουν τις θρεπτικές τους ανάγκες μέσω της απορρόφησης του αζώτου από το έδαφος,

προσλαμβάνοντας το ως νιτρικό ανιόν ( $\text{NO}_3^-$ ) η αμμωνιακό κατιόν ( $\text{NH}_4^+$ ) (Santi et al, 2013).

Η παραγωγή των αζωτούχων λιπασμάτων αποτελεί την πλέον ενεργοβόρα διαδικασία που σχετίζεται με την γεωργία, καθώς δαπανά μεγάλες ποσότητες ορυκτών καυσίμων, ενώ αναμένεται να είναι υπεύθυνη για την κατανάλωση του 2% της ετήσιας συνολικής ενέργειας μέχρι το 2050 (Rogers and Oldroyd, 2014). Η ποσότητα της ενέργειας που απαιτείται για την παρασκευή των αζωτούχων λιπασμάτων, είναι έξι φορές μεγαλύτερη σε σχέση με την περίπτωση των φωσφορικών και των καλιούχων λιπασμάτων (Santi et al, 2013), ενώ το κόστος της αζωτούχου λίπανσης αποτελεί το 60% του συνολικού κόστους για την αγορά των λιπασμάτων που καλύπτουν τις θρεπτικές ανάγκες για τα 3 βασικά στοιχεία (N, P, K), (Curatti and Rubio, 2014). Η παρασκευή τους πραγματοποιείται μέσω της μεθόδου Haber-Bosch, η οποία χρησιμοποιεί το αέριο μοριακό  $\text{N}_2$  με στόχο την βιομηχανική σύνθεση αμμωνίας. Μέσω της συγκεκριμένης μεθόδου, παράγονται ετησίως 120 εκατομμύρια μετρικοί τόνοι αμμωνίας, εκ' των οποίων το 80% χρησιμοποιείται υπό την μορφή λιπάσματος στην γεωργία. Οι βιομηχανικές δραστηριότητες που σχετίζονται με την μέθοδο Haber-Bosch, καταναλώνουν το 3% του παγκόσμιου φυσικού αερίου και συμβάλλουν αναλόγως στις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου και στην αύξηση της έντασης του φαινομένου της κλιματικής αλλαγής (Lez et al, 2016).

Ένα μεγάλο μέρος των αζωτούχων λιπασμάτων που εφαρμόζονται στις καλλιέργειες, δεν αξιοποιείται από τα φυτά και διαχέεται στο περιβάλλον. Το 40% αυτής της ποσότητας επιστρέφει στην ατμόσφαιρα υπό μορφή  $\text{N}_2$ , μέσω της διαδικασίας της απονιτροποίησης. Έτσι, ενώ το συγκεκριμένο γεγονός περιορίζει την έκταση της περιβαλλοντικής ρύπανσης, ταυτόχρονα αντιπροσωπεύει την τεράστια απώλεια ενέργειας που προκύπτει από την βιομηχανική δραστηριότητα της μεθόδου Haber-Bosch, η οποία ισοδυναμεί με το 1% της παγκόσμιας ετήσιας ενεργειακής κατανάλωσης. Επιπλέον, η απονιτροποίηση οδηγεί στην παραγωγή μικρότερων ποσοτήτων  $\text{N}_2\text{O}$ , το οποίο αποτελεί ένα σημαντικό αέριο του θερμοκηπίου με πολύ μεγαλύτερο δυναμικό θέρμανσης του κλίματος σε σχέση με το  $\text{CO}_2$ .

Το υπόλοιπο ποσοστό διαχέεται στο εδαφικό, ατμοσφαιρικό και υδατικό περιβάλλον, κυρίως ως ανοιγμένες μορφές ( $\text{NH}_3$  και  $\text{NH}_4^+$ ), ανόργανες οξειδωμένες μορφές ( $\text{NO}_x$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  και  $\text{NO}_3^-$ ) και οργανικές ενώσεις (ουρία, αμίνες, πρωτεΐνες). Η διαφυγή τους στα υδατικά οικοσυστήματα οδηγεί στην δημιουργία φαινομένων ευτροφισμού και στην πληθυσμιακή αύξηση τοξικών αλγών και κυανοβακτηρίων, μεταβάλλοντας την βιοποικιλότητα και υποβαθμίζοντας την ποιότητα των υδάτων (Curatti and Rubio, 2014). Στην περίπτωση των αναπτυσσόμενων χωρών, καταγράφεται μεγάλη απόκλιση στην παραγωγικότητα των καλλιεργειών σε σχέση με τις ανεπτυγμένες χώρες, κυρίως λόγω της περιορισμένης παραγωγής και εφαρμογής συνθετικών λιπασμάτων, καθώς οι καλλιεργητές δεν μπορούν να καλύψουν το οικονομικό κόστος της χρήσης τους (Rogers and Oldroyd, 2014).

Οι συνέπειες της χρήσης των αζωτούχων λιπασμάτων στην ρύπανση του περιβάλλοντος, στην κλιματική αλλαγή και στον περιορισμό της αγροτικής παραγωγής των αναπτυσσόμενων χωρών λόγω του αυξημένου κόστους, έχουν οδηγήσει στην προσπάθεια ανεύρεσης εναλλακτικών λύσεων για την κάλυψη των θρεπτικών αναγκών των καλλιεργειών. Μία εξεταζόμενη περίπτωση, αποτελεί η βιοτεχνολογική αξιοποίηση της συμβιωτικής αζωτοδέσμευσης, η οποία είναι υπεύθυνη για το ένα τέταρτο της συνολικής ποσότητας αζώτου που δεσμεύεται στον πλανήτη. Κατά τον συγκεκριμένο τύπο συμβίωσης, ένας αριθμός φυτικών ειδών που ανήκουν κυρίως στα ψυχανθή, έχει αναπτύξει συμβιωτικές σχέσεις με αζωτοδεσμευτικά βακτήρια, τα οποία ανήκουν σε 2 μεγάλες ομάδες που δεν σχετίζονται φυλογενετικά. Συγκεκριμένα, ένας αριθμός βακτηρίων ανήκει στην ομάδα των ριζόβιων, η οποία περιλαμβάνει εκατοντάδες είδη  $\alpha$ - και  $\beta$ -πρωτεοβακτηρίων που συνδέονται κυρίως με ψυχανθή, ενώ τα υπόλοιπα βακτήρια κατατάσσονται στο γένος *Frankia* των Ακτινοβακτηρίων και δημιουργούν συμβιωτικές σχέσεις με ένα ευρύτερο φάσμα ξενιστών (Masson-Boivin and Sachs, 2018). Η συμβίωση αυτού του τύπου χαρακτηρίζεται από την δημιουργία φυματίων στο ριζικό σύστημα των φυτών και την μεταφορά ενεργειακών πηγών και θρεπτικών συστατικών από τα φυτικά κύτταρα, με στόχο την αξιοποίηση τους από τα βακτήρια και την παραγωγή αμμωνίας

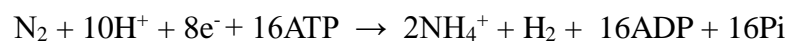
μέσω του ενζυμικού συστήματος της νιτρογενάσης. Ακολούθως, το μεγαλύτερο μέρος της αμμωνίας μεταφέρεται στα φυτικά κύτταρα και πρωτονιώνεται σε αμμωνιακά ιόντα, τα οποία αποτελούν υπόστρωμα κυρίως για την παραγωγή ασπαραγίνης και γλουταμίνης.

Η βιοτεχνολογική επίτευξη της βιολογικής αζωτοδέσμευσης, μέσω της αξιοποίησης του συστήματος της νιτρογενάσης στην γεωργία, μπορεί να πραγματοποιηθεί με διαφορετικές και διακριτές προσεγγίσεις.

### 7.1.1. Σύνθεση της νιτρογενάσης στα κυτταρικά οργανίδια των φυτών

Το ενζυμικό σύμπλοκο της νιτρογενάσης, αποτελείται από 2 μεταλλοπρωτεΐνες, την ετεροδιμερή δινιτρογενάση ή σιδηρο-μολυβδαίνο-πρωτεΐνη (MoFe) και την ομοδιμερή αναγωγάση της δινιτρογενάσης ή σιδηρο-πρωτεΐνη (Fe). Η δινιτρογενάση δρα ως ενεργό κέντρο για την αναγωγή του N<sub>2</sub>, ενώ η αναγωγάση της δινιτρογενάσης είναι υπεύθυνη για την ενεργοποίηση των ηλεκτρονίων που μεταβιβάζονται στην δινιτρογενάση.

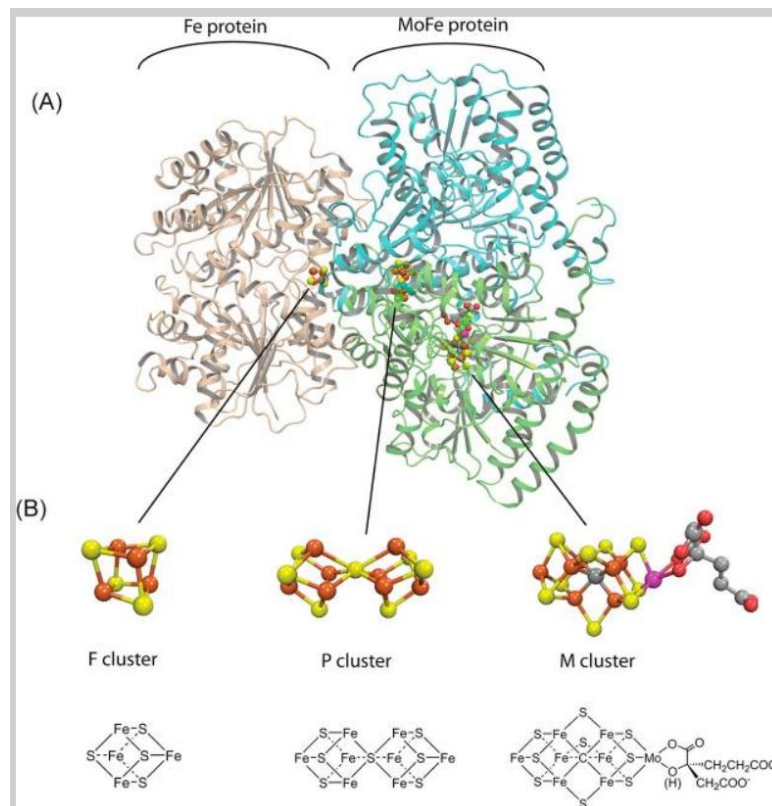
Η νιτρογενάση καταλύει την μετατροπή του N<sub>2</sub> σε NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση (Hoffman et al, 2014), καταναλώνοντας ιδιαίτερα υψηλά ποσά ενέργειας:



Η σύνθεση και λειτουργία της νιτρογενάσης, ρυθμίζεται μέσω της έκφρασης των γονιδίων nif (nitrogen fixation), τα οποία εδράζονται σε ένα ή περισσότερα συνμεταφραζόμενα οπερόνια. Τα γονίδια nif, ο αριθμός των οποίων ποικίλει ανά είδος και συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 10 και 20, είναι υπεύθυνα για την σύνθεση των υπομονάδων που αποτελούν το πρωτεϊνικό σύμπλοκο και των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην ρύθμιση της βιοσύνθεσης, στην μεταφορά μετάλλων κτλ. Η ομάδα των γονιδίων nif αποτελείται από τα δομικά



γονίδια, που κωδικοποιούν την αναγωγή της δινιτρογενάσης (*nifH*) και τις υπομονάδες  $\alpha$  και  $\beta$  της δινιτρογενάσης (*nifDK*), καθώς και τα υπόλοιπα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την σύνθεση διαφόρων πρωτεϊνών που καθορίζουν την συναρμολόγηση και ωρίμανση του συμπλόκου, την μεταφορά των ηλεκτρονίων και την είσοδο των συμπαραγόντων (Allen et al, 2017).



**Εικόνα 14.** Δομή του συμπλόκου της Νιτρογενάσης. A: Σύμπλοκο δινιτρογενάσης: ομοδιμερές της αναγωγής της δινιτρογενάσης (γκρι), υπομονάδα  $\alpha$  της δινιτρογενάσης (πράσινο), υπομονάδα  $\beta$  της δινιτρογενάσης (μπλε). B: Διάφορες μη πρωτεϊνικές ομάδες (Hoffman et al, 2014).

Η δράση του πρωτεϊνικού συμπλόκου, καθώς και αρκετών πρωτεϊνικών και μη πρωτεϊνικών δομών που σχετίζονται με την λειτουργία του, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στην παρουσία του οξυγόνου. Έτσι, η δέσμευση του αζώτου μπορεί να πραγματοποιηθεί κάτω από συνθήκες αναερόβιου ή προστατευμένου από το οξυγόνο περιβάλλοντος. Τα αζωτοδεδεσμευτικά βακτήρια χωρίζονται σε υποχρεωτικά αναερόβια, προαιρετικά αναερόβια και υποχρεωτικά αερόβια. Στην περίπτωση των προαιρετικά αναερόβιων βακτηρίων, η δέσμευση του αζώτου πραγματοποιείται μόνο σε αναερόβιες συνθήκες. Αντίστοιχα, τα υποχρεωτικά αερόβια βακτήρια έχουν αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς για την προστασία της νιτρογενάσης από την παρουσία του οξυγόνου (Buren and Rubio, 2018).

Οι δύο ενδοκυτταρικές περιοχές που θεωρούνται καταλληλότερες για την έκφραση της νιτρογενάσης, είναι τα πλαστίδια και τα μιτοχόνδρια. Η περίπτωση των πλαστιδίων παρουσιάζει τα εξής πλεονεκτήματα: α) η παρουσία μηχανισμών μεταγραφής και μετάφρασης προκαρυωτικού τύπου, επιτρέπει την χρήση βακτηριακών υποκινητών και ευνοεί την έκφραση γονιδίων που είναι οργανωμένα σε οπερόνια β) η θέση του πλαστιδιακού γονιδιώματος είναι ιδιαίτερα επωφελής, εξαιτίας της υψηλής απόδοσης του ομόλογου ανασυνδυασμού γ) τα επίπεδα της γονιδιακής έκφρασης και της πρωτεϊνικής συσσώρευσης που μπορούν να επιτευχθούν, είναι υψηλά δ) η παροχή ικανοποιητικών ποσοτήτων ATP συμβάλει στην κάλυψη των υψηλών ενεργειακών απαιτήσεων της αζωτοδέσμευσης ε) η κυτταροπλασματική (μητρική) κληρονομικότητα διασφαλίζει την μη μετάδοση των ανασυνδυασμένων γονιδίων μέσω των γυρεοκόκκων. Ωστόσο, η υψηλή συγκέντρωση του οξυγόνου κατά την διάρκεια της ημέρας λόγω της αναπνευστικής δραστηριότητας, θα οδηγούσε στην μετουσίωση της νιτρογενάσης και στην επανασύνθεση της κατά τις βραδυνές ώρες, με ανάλογη αύξηση του ενεργειακού κόστους (Curatti and Rubio, 2014). Πράγματι, ο ανασυνδυασμός του γενετικού υλικού των χλωροπλαστών από φυτά καπνού, μέσω της εισαγωγής του γονιδίου *nifH*, που κωδικοποιεί την σύνθεση της αναγωγάσης της δινιτρογενάσης, συνοδεύτηκε από την πολύ περιορισμένη δραστηριότητα της μεταλλοπρωτεΐνης σε συνθήκες περιορισμένου οξυγόνου (Ivleva et al, 2016).

Η μιτοχονδριακή μήτρα θεωρείται η καταλληλότερη ενδοκυτταρική τοποθεσία για την αναδίπλωση και δράση του συμπλόκου της νιτρογενάσης, καθώς χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενζύμων που καταναλώνουν το οξυγόνο, προσφέροντας προστασία από την δυσμενή επίδραση του. Ταυτόχρονα, αποτελεί την κύρια περιοχή της σύνθεσης ενός πλήθους μεταλλοενζύμων, εξασφαλίζοντας την παρουσία πρωτεϊνικών παραγόντων που ενδέχεται να συμβάλλουν στην αυξημένη λειτουργικότητα των πρωτεϊνών *nif* (Allen et al, 2017). Επιπλέον, το περιβάλλον των μιτοχονδρίων παρέχει την απαραίτητη ενέργεια υπό μορφή ATP καθώς και την αναγωγική ισχύ που απαιτείται για την καταλυτική δραστηριότητα της νιτρογενάσης (Curatti and Rubio, 2014).

Ενώ η λειτουργική έκφραση του ενζυμικού συμπλόκου στο μιτοχονδριακό περιβάλλον, αποτελεί αντικείμενο της βιοτεχνολογικής έρευνας εδώ και αρκετά έτη, η επίτευξη του συγκεκριμένου στόχου προσκρούει σε σημαντικά εμπόδια. Εκτός από την ευαισθησία του ενζύμου στη παρουσία οξυγόνου, ο σχετικά μεγάλος αριθμός των γονιδίων *nif* και η πολυπλοκότητα του οπερονίου στο οποίο εδράζονται, δυσκολεύει το εγχείρημα. Επιπλέον, καθώς ο μετασχηματισμός του μιτοχονδριακού γενετικού υλικού δεν είναι ακόμα εφικτός, η σύνθεση της νιτρογενάσης στα μιτοχόνδρια προϋποθέτει την ενσωμάτωση του συνόλου των γονιδίων *nif* στο πυρηνικό DNA και την μεταφορά των εκφραζόμενων πρωτεϊνών στην μιτοχονδριακή μήτρα. Εν τούτοις, τα αποτελέσματα ενός αριθμού πρόσφατων ερευνών, υποδεικνύουν ότι ο στόχος της βιολογικής δέσμευσης του αζώτου μέσω της ενσωμάτωσης της γενετικής πληροφορίας που κωδικοποιεί για την έκφραση και λειτουργία της νιτρογενάσης, στο γονιδίωμα των φυτικών οργανισμών, είναι εφικτός. Μέσω της χρήσης ευκαρυωτικών κυττάρων διαφόρων ζυμών, τα οποία εξασφαλίζουν την εξοικονόμηση χρόνου και πόρων και αποτελούν ικανοποιητικό μοντέλο για την μελέτη της σύνθεσης, στοχοποίησης και επεξεργασίας πολλών προϊόντων που κωδικοποιούνται από τα γονίδια *nif*, έχει επιτευχθεί η έκφραση και η μεταφορά πρωτεϊνών *nif* στα μιτοχόνδρια (Pérez-González et al, 2017) και η σύνθεση νιτρογενάσης με αξιόλογη δραστηριότητα (López-

Torrejón et al, 2016). Επιπλέον, η περιορισμένη διαλυτότητα ορισμένων *nif* πρωτεϊνών στο μιτοχονδριακό περιβάλλον φυτών και ζυμών, μπορεί να αντιμετωπιστεί με την συνδυαστική επιλογή *nif* πρωτεϊνών, ποικίλης βιολογικής προέλευσης (Buren and Rubio, 2018). Επιπρόσθετως, έχει επιτευχθεί η μεμονωμένη ή αθροιστική μεταφορά των *nif* πρωτεϊνών στην μιτοχονδριακή μήτρα φυτικών κυττάρων, όπως στην περίπτωση του φυτού *Nicotiana benthamiana* και την μεταφορά των 16 *nif* πρωτεϊνών του διαζωτροφικού βακτηρίου *Klebsiella pneumoniae* (Allen et al, 2017). Έτσι, διαφαίνεται ότι έχει μειωθεί η απόσταση που μας χωρίζει από την ολοκλήρωση ενός μεγάλου βιοτεχνολογικού επιτεύγματος.

### **7.1.2. Ενίσχυση της υφιστάμενης αλληλεπίδρασης μεταξύ μη ψυχανθών φυτών και ριζόβιων βακτηρίων**

Οι φυτικοί οργανισμοί αλληλεπιδρούν με τους μικροοργανισμούς που διαβιούν στο έδαφος με ποικίλους τρόπους, οι οποίοι σε αρκετές περιπτώσεις στηρίζονται στην αμοιβαία επωφελή σχέση. Έτσι, ενώ η συμβιωτική αζωτοδέσμευση μέσω της δημιουργίας φυματίων, αποτελεί σχεδόν αποκλειστικό προνόμιο των ψυχανθών φυτών, άλλες μορφές επωφελούς αλληλεπίδρασης αφορούν την μεγάλη πλειοψηφία των φυτικών ειδών, μεταξύ των οποίων και καλλιεργήσιμα είδη σημαντικής οικονομικής σημασίας.

Οι σχέσεις που αναπτύσσονται μεταξύ των εδαφικών βακτηρίων και των φυτών, σχετίζονται με τις οργανικές εκκρίσεις του ριζικού συστήματος, οι οποίες καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό το είδος και την ένταση της αλληλεπίδρασης. Η συμβιωτική παρουσία των βακτηρίων μπορεί να περιοριστεί στην ριζόσφαιρα, να επεκταθεί στην επιφάνεια του ριζικού συστήματος ή να αναπτυχθεί ενδοφυτικά. Η επιβίωση των συγκεκριμένων βακτηρίων δεν εξαρτάται άμεσα από τις φυτικές εκκρίσεις, γι' αυτό και μπορούν να διαβιούν ελεύθερα στο έδαφος. Ωστόσο, η εκμετάλλευση των οργανικών ριζικών εκκρίσεων ευνοεί την ανάπτυξη τους (Mus et al, 2016). Η επιφανειακή εγκατάστασή τους

στο ριζικό σύστημα αυξάνει την πρόσβαση στα θρεπτικά υποστρώματα, ενώ η ενδοφυτική ανάπτυξη μεγιστοποιεί την πρόσληψη των οργανικών ενώσεων με ταυτόχρονη αποφυγή του ανταγωνισμού από τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς που διαβιούν στο έδαφος και την ριζόσφαιρα. Τα φυτά, ωφελούνται από την αλληλεπίδραση άμεσα (έκκριση φυτοορμονών, δέσμευση του βιολογικού αζώτου, διαλυτοποίηση μετάλλων) ή έμμεσα (ανοσοποίηση έναντι διασυστηματικών ή επιφανειακών φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών, βελτίωση συνθηκών ανάπτυξης) (Rosenblueth et al, 2018).

Γενικότερα, η συμβολή της βιολογικής αζωτοδέσμευσης στην ανάπτυξη των μη ψυχανθών φυτών δεν θεωρείται ιδιαίτερα αξιόλογη, εξαιτίας της περιορισμένης έκκρισης αζωτούχων ενώσεων από τα διαζωτροφικά βακτήρια. Έτσι, τα φυτά αφομοιώνουν πολύ μικρό μέρος από τα συγκεκριμένα θρεπτικά υποστρώματα, ενώ η κύρια παραγόμενη ποσότητα χρησιμοποιείται για την κάλυψη των βακτηριακών αναπτυξιακών και λειτουργικών αναγκών. Επιπλέον, σε κάποιες περιπτώσεις οι μικροοργανισμοί διαθέτουν περιορισμένες ικανότητες αζωτοδέσμευσης ενώ και η συμβιωτική σχέση είναι περιορισμένη (Rosenblueth et al, 2018).

Η αύξηση της βιολογικής αζωτοδεσμευτικής ικανότητας των ριζόβιων βακτηρίων και η εκμετάλλευση της από τα μη ψυχανθή φυτικά είδη, μπορεί να επιτευχθεί μέσω των κατάλληλων βιοτεχνολογικών παρεμβάσεων στο γενετικό τους υλικό. Η στοχευμένη αντικατάσταση ή σίγαση ορισμένων ρυθμιστικών στοιχείων και γονιδίων, που περιορίζουν την παραγωγή και έκκριση των αζωτούχων ενώσεων στα διαζωτροφικά βακτήρια, οδήγησε στην διατήρηση του επιθυμητού επιπέδου παραγωγής των καλλιεργειών σε συνθήκες περιορισμένης συνθετικής λίπανσης (Bageshwar et al, 2017) και την επίτευξη ικανοποιητικής φυτικής ανάπτυξης κατά την μηδενική εφαρμογή συνθετικών λιπασμάτων (Ambrosio et al, 2017).

Μία διαφορετική προσέγγιση με αντίστοιχο στόχο, εστιάζει στην μεταφορά της γενετικής πληροφορίας που κωδικοποιεί την σύνθεση και δράση της νιτρογενάσης, από

διαζωτροφικά βακτήρια με αυξημένη ικανότητα βιολογικής αζωτοδέσμευσης, σε βακτήρια που αλληλεπιδρούν με ένα πλήθος καλλιεργειών μη ψυχανθών φυτών, αλλά δεν διαθέτουν χαρακτηριστικά ανάλογης έντασης. Παραδειγματικά, η μεταφορά του γενετικού τμήματος “X940” από το διαζωτροφικό βακτήριο *Pseudomonas stutzeri* A1501, στο βακτήριο *Pseudomonas protegens* Pf-5, το οποίο αναπτύσσει αμοιβαία επωφελή σχέση με το ριζικό σύστημα καλλιεργούμενων φυτών όπως το καλαμπόκι και το σιτάρι, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της φυτικής βιομάζας, της περιεκτικότητας των φυτικών ιστών σε άζωτο και της καλλιεργητικής απόδοσης. Καθώς το διαγονιδικό βακτήριο *Pseudomonas protegens* Pf-5 X940 διαβιεί στην επιφάνεια της ρίζας, η μεταφορά της συγκεκριμένης γενετικής πληροφορίας σε ενδοφυτικά βακτηρία ενδέχεται να ασκήσει ακόμα μεγαλύτερη θετική επίδραση στην αύξηση της αγροτικής παραγωγής με ταυτόχρονο περιορισμό της αζωτούχου λίπανσης (Fox et al, 2016).

Οι τεχνικές προκλήσεις κατά την εφαρμογή των συγκεκριμένων σχεδιασμών είναι σχετικά περιορισμένες, σε σχέση με τις υπόλοιπες βιοτεχνολογικές μεθόδους που στοχεύουν σε αντίστοιχα αποτελέσματα. Ταυτόχρονα, η χρήση των ανωτέρω εφαρμογών μπορεί να επιτραπεί και στις χώρες που δεν επιτρέπεται η καλλιέργεια ΓΤ φυτών, καθώς η γενετική τροποποίηση των καλλιεργούμενων ειδών δεν είναι απαραίτητη. Ωστόσο, η επιλογή των κατάλληλων μικροοργανισμών αποτελεί κύρια προτεραιότητα, όχι μόνο γιατί καθορίζει την επίτευξη των επιθυμητών στόχων, αλλά και επειδή αρκετά βακτήρια που αναπτύσσουν επωφελείς αλληλεπιδράσεις με καλλιεργούμενα φυτά, επιδεικνύουν παθολόγο δράση έναντι του ανθρώπινου οργανισμού και διαφόρων ζωικών ειδών κτηνοτροφικού ενδιαφέροντος (Rosenblueth et al, 2018).

### 7.1.3. Δημιουργία αζωτοδεσμευτικών φυματίων σε μη ψυχανθή φυτά

Η δημιουργία φυματίων στα ψυχανθή, αποτελεί μία διαδικασία διακριτών σταδίων, τα οποία ελέγχονται και καθορίζονται από ένα πλήθος βιοχημικών διεργασιών και γενετικών παραγόντων. Η επίτευξη της συμβιωτικής σχέσης των ριζόβιων βακτηρίων με τα ψυχανθή φυτά, έχει ως αφετηρία την έκκριση δευτερογενών μεταβολιτών από το φυτικό ριζικό σύστημα. Η πρόσληψη των συγκεκριμένων χημικών ενώσεων που ανήκουν στην οικογένεια των φλαβονοειδών, από τα ριζόβια βακτήρια, οδηγεί στην ενεργοποίηση των σχετικών μεταγραφικών παραγόντων, η οποία επάγει την μεταγραφή των βακτηριακών σηματοδοτικών παραγόντων φυματοποίησης *nod* (*nodulation*) γονιδίων. Η έκφραση των γονιδίων *nod* έχει ως αποτέλεσμα την έναρξη της μορφογένεσης των φυματίων, μέσω της δημιουργίας των κατάλληλων συνθηκών για την μόλυνση της ριζικής επιδερμίδας από τα συμβιωτικά αζωτοδεσμευτικά βακτήρια και της εκκίνηση της κυτταρικής διαίρεσης στον φλοιό της ρίζας. Τα βακτήρια εισέρχονται από τα ριζικά τριχίδια και μολύνουν τα φυτικά κύτταρα, μέσω του μολυσματικού νηματίου, το οποίο εκτείνεται μέχρι το φλοιώδες παρέγχυμα της ρίζας (Rogers and Oldroyd, 2014).

Μετά από την είσοδο στα κύτταρα του ριζικού συστήματος, τα βακτήρια διαφοροποιούνται αποβάλλοντας το κυτταρικό τους τοίχωμα και αυξάνονται σε μέγεθος, σχηματίζοντας ενδοκυτταρικές δομές με αζωτοδεσμευτική δράση, οι οποίες ονομάζονται βακτηριοειδή. Τα βακτηριοειδή χωρίζονται από το κυτταρόπλασμα μέσω της φυτικής προέλευσης περιφρακτικής μεμβράνης, δημιουργώντας το συμβιώσωμα. Η συνεχής διαίρεση των φυτικών κυττάρων και των βακτηριοειδών, οδηγεί στην δημιουργία των φυματίων (Rogers and Oldroyd, 2014). Η ανάπτυξη των συγκεκριμένων οργάνων, η οποία βασίζεται στην συμβιωτική σχέση ψυχανθούς φυτού – αζωτοδεσμευτικού βακτηρίου, εκφράζει την αμοιβαία επωφελή σχέση των δύο οργανισμών. Κατά την διαφοροποίηση του ριζόβιου βακτηρίου σε βακτηριοειδές, παρατηρούνται σημαντικές αλλαγές στον μεταβολισμό του αζώτου, καθώς αναστέλλεται η αφομοίωση της παραγόμενης αμμωνίας, η οποία διοχετεύεται στα φυτικά κύτταρα υπό μορφή  $\text{NH}_4^+$  ή/και  $\text{NO}_3$  (Mus et al, 2016).

Κατά την απουσία του ριζικού συστήματος των ψυχανθών, η αζωτοδεσμευτική ικανότητα των βακτηρίων περιορίζεται εξαιτίας της ενέργειας που απαιτείται για την βιολογική δέσμευση του αζώτου. Η παραγωγή υψηλών ποσών ενέργειας προϋποθέτει την παρουσία οξυγόνου, το οποίο απενεργοποιεί το ενζυμικό σύστημα της νιτρογενάσης. Αντιθέτως, μέσω της δημιουργίας του φυματίου, περιορίζεται η επιβλαβής δράση του οξυγόνου, λόγω της περιορισμένης ελεύθερης διάχυσης του στον κεντρικό ιστό, εξαιτίας του φυσικού εμποδίου των παρεγχυματικών κυττάρων. Επιπλέον, η παρουσία της φυτικής πρωτεΐνης ψυχανθαιμοσφαιρίνη, η οποία δεσμεύει το μοριακό οξυγόνο και μπορεί να αποτελέσει πολύ μεγάλο ποσοστό της ολικής πρωτεΐνης των φυματίων, καλύπτει την αναπνευστική δραστηριότητα των βακτηριοειδών χωρίς να επηρεάζει την δράση της νιτρογενάσης. Έτσι, η παροχή των κατάλληλων ενεργειακών πηγών από τα φυτικά κύτταρα στα βακτηριοειδή, οδηγεί στην βιολογική δέσμευση του αζώτου και την κάλυψη μεγάλους μέρους των θρεπτικών αναγκών των ψυχανθών (Heldt, 1999).

Η ανάπτυξη φυματίων σε ευρέως καλλιεργούμενα μη ψυχανθή φυτά όπως τα σιτηρά, αποτελεί μεγάλη πρόκληση καθώς θα οδηγούσε στην αύξηση της αγροτικής παραγωγής, μειώνοντας ταυτόχρονα το καλλιεργητικό κόστος και την περιβαλλοντική επιβάρυνση λόγω του περιορισμού της χρήσης των λιπασμάτων. Ταυτόχρονα, αποτελεί μία πολύ σύνθετη διαδικασία, καθώς απαιτεί την τροποποίηση διαφόρων βιοχημικών διεργασιών για τις οποίες δεν υπάρχει ακόμα ολοκληρωμένη εικόνα σχετικά με το βιολογικό και γενετικό τους υπόβαθρο (Masson-Boivin and Sachs, 2018). Η αναπαραγωγή του συγκεκριμένου προτύπου συμβίωσης, προϋποθέτει την γενετική τροποποίηση των φυτών με στόχο την αναγνώριση των παραγόντων nod, την οργανογένεση των ριζικών φυματίων, την επαγωγή της βακτηριακής μόλυνσης και την καθιέρωση του κατάλληλου περιβάλλοντος για την προστασία της δραστηριότητας της νιτρογενάσης, εντός του φυματίου (Rogers and Oldroyd, 2014).



Η υφιστάμενη γενετική πληροφορία που σχετίζεται με τον σχηματισμό των μυκορριζών, μπορεί να αποτελέσει ικανό υπόβαθρο για την οικοδόμηση της σχέσης μεταξύ αζωτοδεσμευτικών βακτηρίων και ριζικού συστήματος. Ενώ η αζωτοδεσμευτική συμβίωση και η δημιουργία φυματίων, περιορίζεται σχεδόν αποκλειστικά στα ψυχανθή, η αλληλεπίδραση μυκήτων και φυτών που εκδηλώνεται μέσω της δημιουργίας των μυκορριζών στο ριζικό σύστημα, απαντάται στην μεγάλη πλειοψηφία των μελών του φυτικού βασιλείου. Η συγκεκριμένη συμβιωτική σχέση, έχει ανάλογα χαρακτηριστικά με την αζωτοδεσμευτική αλληλεπίδραση βακτηρίων και ψυχανθών, καθώς προσφέρει αμοιβαία οφέλη στους συνεργαζόμενους οργανισμούς. Κατά τον σχηματισμό της μυκόρριζας, αναπτύσσεται ένα δίκτυο νηματίων στην ριζόσφαιρα, μέσω του οποίου επεκτείνεται η ακτίνα πρόσβασης του ριζικού συστήματος σε εδαφική υγρασία και σε θρεπτικά στοιχεία. Αντιστοίχως, ο μύκητας ωφελείται μέσω της παροχής οργανικών ενώσεων, όπως σάκχαρα, αμινοξέα και βιταμινές.

Η μυκορριζική συμβίωση εμφανίστηκε πολύ παλαιότερα από την συμβίωση των ψυχανθών με τα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια, η οποία θεωρείται ότι προέκυψε εξελικτικά από την πρώτη. Καθώς ένας αριθμός βιοχημικών παραγόντων, οδών σηματοδότησης, υποδοχέων και γονιδίων συμβίωσης αποτελούν τμήμα μίας κοινής συμβιωτικής οδού η οποία ενεργοποιείται σε ριζόβιες, ακτινορριζικές και σε μυκορριζικές συμβιώσεις, ο ανασυνδυασμός του υφιστάμενου μοριακού μηχανισμού στα μη ψυχανθή φυτά, ενδέχεται να αποτελέσει σημαντικό βήμα για την επίτευξη του σχηματισμού των φυματίων και της βιολογικής αζωτοδέσμευσης στα επιθυμητά φυτικά είδη (Mus et al, 2016, Taiz and Zeiger, 2017).

## **7.2. Μείωση των εισροών φωσφόρου**

Ο φώσφορος αποτελεί ένα από τα πλέον απαραίτητα μακροστοιχεία και καθοριστικό παράγοντα για την ανάπτυξη των φυτικών οργανισμών, αποτελώντας δομικό στοιχείο του

DNA, RNA και των φωσφολιπιδίων και διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο σε μεγάλο αριθμό μεταβολικών μονοπατιών. Ωστόσο, ενώ βρίσκεται σε αφθονία στον φλοιό της Γης, η εδαφική του συγκέντρωση είναι σχετικά χαμηλή, εξαιτίας της ανομοιόμορφης γεωγραφικής διασποράς των επιφανειακών αποθεμάτων του. Έτσι, θεωρείται ως μη ανανεώσιμος πόρος, καθώς οι διαθέσιμες εδαφικές αποθήκες είναι περιορισμένες (Ryan et al, 2012). Σε συνθήκες επάρκειας αζωτούχων πηγών, η μειωμένη πρόσληψη του φωσφόρου αποτελεί τον σημαντικότερο περιοριστικό παράγοντα για την αύξηση της φυτικής βιομάζας, λόγω του σχηματισμού σταθερών μορφών που περιορίζουν την βιοδιαθεσιμότητα του. Ουσιαστικά, τα ορθοφωσφορικά αποτελούν την μόνη χημική μορφή του φωσφόρου που μπορεί να αφομοιωθεί από τους αυτότροφους οργανισμούς (Loera-Quezada et al, 2015). Για την επίτευξη της βέλτιστης ανάπτυξης και την μεγιστοποίηση της απόδοσης των καλλιεργειών, η εφαρμογή των συνθετικών φωσφορούχων λιπασμάτων αποτελεί μία παγιωμένη τακτική στην γεωργία κατά τις τελευταίες δεκαετίες, αντικαθιστώντας την παραδοσιακή χρήση οργανικών εδαφοβελτιωτικών υποστρωμάτων (κυρίως κοπριά) (Schoumans et al, 2015). Ως αποτέλεσμα, η απορρόφηση του φωσφόρου από τα καλλιεργούμενα φυτά, αυξήθηκε από 2 έως 3 φορές σε σχέση με το διάστημα πριν από την Πράσινη Επανάσταση (Ryan et al, 2012).

Η παραγωγή και χρήση της φωσφορούχου λίπανσης, οδηγεί στην δημιουργία περιβαλλοντικών προβλημάτων, όπως ο ευτροφισμός στα υδατικά οικοσυστήματα και η έκλυση αερίων που αυξάνουν την ένταση του φαινομένου της κλιματικής αλλαγής. Οι εκπομπές των αερίων του θερμοκηπίου, σχετίζονται με τις μεθόδους παραγωγής. Η κύρια μέθοδος στηρίζεται στην επεξεργασία των φωσφορικών πετρωμάτων, μέσω της χημικής αντίδρασης που προκύπτει από την προσθήκη θειικού οξέως, κατά την οποία παράγεται σημαντική ποσότητα CO<sub>2</sub> ως παραπροϊόν (Hasler et al, 2015). Αναλόγως, η θερμική μέθοδος χαρακτηρίζεται από τις υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις και την κατανάλωση μεγάλης ποσότητας ορυκτών καυσίμων, σε αντιστοιχία με την διαδικασία μεταφοράς και εφαρμογής των λιπασμάτων στις καλλιεργήσιμες εκτάσεις.

Ταυτόχρονα, η κλιματική αλλαγή αναμένεται να επιφέρει σημαντικές διαφοροποιήσεις στα πρότυπα εφαρμογής της φωσφορικής λίπανσης. Η μεταβολή των κλιματικών παραμέτρων θα επηρεάσει τον κύκλο του φωσφόρου άμεσα ή έμμεσα, μέσω των αλλαγών στις τιμές της θερμοκρασίας και της εδαφικής υγρασίας, ενώ οι φωσφορικές απώλειες από το έδαφος και η ρύπανση των υδατικών οικοσυστημάτων εξαρτώνται από την χρονική εκδήλωση και την ένταση της βροχόπτωσης (Schoumans et al, 2015). Επιπλέον, η εξάντληση των φωσφορικών αποθεμάτων και η αύξηση της τιμής των συνθετικών λιπασμάτων (Ryan et al, 2012), εντείνουν την ανάγκη για το περιορισμό της εξάρτησης της γεωργίας από τα φωσφορικά λιπάσματα και τον σχεδιασμό σχετικών βιοτεχνολογικών εφαρμογών.

### **7.2.1. Τροποποίηση του μεταβολικού μηχανισμού του φωσφόρου**

Η υψηλή περιεκτικότητα των εδαφών σε υδατοδιαλυτά ορθοφωσφορικά ( $\text{PO}_4^{-3}$ ,  $\text{HPO}_4^{-2}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^{-}$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την διατήρηση της παραγωγικότητας των καλλιεργειών, καθώς αποτελούν τις μόνες χημικές μορφές φωσφόρου που μπορούν να αφομοιωθούν από τα φυτά και να καλύψουν επαρκώς τις θρεπτικές τους ανάγκες. Εν τούτοις, η εδαφική συγκέντρωση των ορθοφωσφορικών περιορίζεται λόγω της αλληλεπίδρασης τους με διάφορους εδαφικούς παράγοντες και της μετατροπής τους σε μη αφομοιώσιμες οργανικές μορφές, εξαιτίας της βιολογικής δραστηριότητας ποικίλων βακτηριακών μικροοργανισμών. Επιπλέον, η ανταγωνιστική δράση των ζιζανίων εντείνει την μείωση της διαθεσιμότητας των ορθοφωσφορικών για τις καλλιέργειες (Ryan et al, 2012). Έτσι, ενώ η ποσότητα των ορθοφωσφορικών που εφαρμόζονται στο έδαφος μέσω των ανόργανης λίπανσης είναι μεγάλη, το ποσοστό που αξιοποιείται από τα καλλιεργούμενα φυτά κυμαίνεται μεταξύ 20 – 30% (López-Arredondo and Herrera-Estrella, 2012). Καθώς η αντικατάσταση της χρήσης των ορθοφωσφορικών δεν είναι εφικτή χωρίς την απώλεια μεγάλου μέρους της αγροτικής παραγωγής, η γενετική τροποποίηση των καλλιεργειών με στόχο την αξιοποίηση διαφορετικών μορφών

φωσφόρου, μπορεί να μειώσει την απαιτούμενη ποσότητα συνθετικής λίπανσης, προσδίδοντας ταυτόχρονα σημαντικό πλεονέκτημα έναντι των υπολοίπων φυτικών ειδών που δρουν ανταγωνιστικά ως προς τις πηγές των θρεπτικών συστατικών.

Τα φωσφονικά, τα οποία αποτελούν μία ανηγμένη μορφή φωσφόρου ( $\text{PO}_3^{-3}$ ), παρουσιάζουν συγκριτικά πλεονεκτήματα σε σχέση με ορθοφωσφορικά εξαιτίας της υψηλότερης διαλυτότητας, της μειωμένης αντίδρασης με τους εδαφικούς παράγοντες και την ανικανότητα των περισσοτέρων μικροοργανισμών να τα χρησιμοποιήσουν ως θρεπτικό υπόστρωμα. Ωστόσο, καθώς τα φυτά δεν μπορούν να τα μεταβολίσουν, η πολύ περιορισμένη χρήση τους στην γεωργία βασίστηκε στην ικανότητα τους να περιορίζουν την φυτική ανάπτυξη και να δρουν φυτοπροστατευτικά. Έτσι, τα πιθανά οφέλη από την εφαρμογή των φωσφονικών στις καλλιέργειες, προκύπτουν από την ευρέως φάσματος μη εκλεκτική ζιζανιοκτονο δράση, την αναστολή την ανάπτυξης ορισμένων παθογόνων μικροοργανισμών και την ενεργοποίηση συγκεκριμένων βιοχημικών αμυντικών μηχανισμών (López-Arredondo and Herrera-Estrella, 2012).

Σε αντίθεση με τα φυτά και τους περισσότερους μικροοργανισμούς, μία μικρή ομάδα βακτηρίων διαθέτει την ικανότητα της παραγωγής ορθοφωσφορικών μέσω της οξειδωσης των φωσφονικών. Η αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο οξειδοοξειδοκτάση των φωσφονικών, κατά την οποία το χρησιμοποιούμενο συνένζυμο  $\text{NAD}^+$  ανάγεται σε  $\text{NADH}$ . Ο βακτηριακός μεταβολισμός των φωσφονικών προϋποθέτει την μεταφορά τους μέσω της κυτταρικής μεμβράνης για την παραγωγή των ορθοφωσφορικών, με στόχο την ενσωμάτωση του φωσφόρου στις οργανικές κυτταρικές ενώσεις. Η οξειδωση των φωσφονικών εξυπηρετεί την κάλυψη των ενεργειακών και θρεπτικών αναγκών των βακτηρίων. Η μελέτη του συγκεκριμένου βιοχημικού μονοπατιού πραγματοποιήθηκε αρχικά στο βακτηριακό στέλεχος *Pseudomonas stutzeri* WM88. Η γενετική πληροφορία για την σύνθεση του ενζύμου εδράζεται στο οπερόνιο *ptxABCDE*. Τα γονίδια *ptxABC* είναι υπεύθυνα για την σύνθεση ενός μεταφορέα φωσφόρου, το γονίδιο *ptxD* κωδικοποιεί την

οξειδορεδουκτάση ενώ το γονίδιο *ptxE* κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα (Loera-Quezada et al, 2015).

Η ενσωμάτωση της γενετικής πληροφορίας που κωδικοποιεί την σύνθεση του συγκεκριμένου ενζύμου, στο γονιδίωμα των επιθυμητών φυτικών ειδών, ενδέχεται να επιφέρει αξιόλογα οικονομικά και περιβαλλοντικά οφέλη, καθώς θα μειώσει την απαιτούμενη χρήση των φωσφορικών λιπασμάτων. Η έκφραση του ενζύμου στα φυτικά κύτταρα και η ταυτόχρονη προσθήκη περιορισμένων ποσοτήτων φωσφονικών στο έδαφος, μπορεί να οδηγήσει σε ικανοποιητική φυτική ανάπτυξη, περιορίζοντας την ανταγωνιστική δράση των ζιζανίων, τα οποία δεν θα μπορούν να αφομοιώσουν την συγκεκριμένη μορφή φωσφορούχου λίπανσης (López-Arredondo and Herrera-Estrella, 2012).

Η απομόνωση του γονιδίου *ptxD* από το βακτηριακό στέλεχος *Pseudomonas stutzeri* WM88 και η ενσωμάτωση του στο γενετικό υλικό φυτών του Γένους *Arabidopsis* και σε φυτά καπνού, επιβεβαίωσε την συγκεκριμένη υπόθεση. Τα διαγονιδιακά φυτά παρουσίασαν ικανοποιητική ανάπτυξη με ταυτόχρονη μείωση των εισροών φωσφόρου μέχρι και 50%, χρησιμοποιώντας ως θρεπτική πηγή τα φωσφονικά. Αναλόγως, διαπιστώθηκε ο περιορισμός της ανάπτυξης ορισμένων διαδεδομένων ζιζανίων σε συνθήκες συγκαλλιέργειας με τα τροποποιημένα φυτά, μετά από την εφαρμογή των φωσφονικών, μειώνοντας την απαιτούμενη χρήση ζιζανιοκτόνων δραστικών ουσιών. Τα φυτά παρουσίασαν μεγάλη αύξηση της βιομάζας υπό την ταυτόχρονη παρουσία των ζιζανίων, σε σχέση με τις συνθήκες λίπανσης με ορθοφωσφορικά. Τα περιβαλλοντικά και οικονομικά οφέλη μεγιστοποιούνται, καθώς απαιτείται μία μόνο εφαρμογή, περιορίζοντας την κατανάλωση των ανάλογων πόρων και των ορυκτών καυσίμων (López-Arredondo and Herrera-Estrella, 2012).

### 7.2.2. Προσαρμογή στην ανεπάρκεια φωσφορικών υποστρωμάτων

Η ανεπάρκεια θρεπτικών υποστρωμάτων στα καλλιεργούμενα εδάφη, αποτελεί συχνό φαινόμενο στην γεωργία, ιδιαίτερα στην περίπτωση των αναπτυσσόμενων χωρών, καθώς το κόστος εφαρμογής της συνθετικής λίπανσης είναι αρκετά υψηλό. Η ταχεία εξάντληση των παγκόσμιων αποθεμάτων φωσφόρου οδηγεί στην περαιτέρω αύξηση της τιμής τους, ενώ καθιστά επιτακτική την ανάγκη για εξεύρεση λύσεων σχετικά με την αποδοτικότερη χρήση τους. Η αξιοποίηση της γενετικής βιοποικιλότητας και των αρχών και τεχνικών της γενετικής μηχανικής, μπορεί να διευρύνει τις δυνατότητες για παραγωγικότερη εκμετάλλευση των διαθέσιμων πόρων, μέσω της αναγνώρισης και του ανασυνδυασμού των κατάλληλων γενετικών υποβάθρων των διαδεδομένων καλλιεργούμενων ειδών.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το ρύζι (*Oryza sativa L.*), το οποίο αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα φυτικά είδη παγκοσμίως, καλύπτοντας μεγάλο μέρος των παγκόσμιων διατροφικών αναγκών. Στην περίπτωση της Ασίας, το οικονομικά ασθενέστερο τμήμα του πληθυσμού προσλαμβάνει το 50 – 80% των απαιτούμενων θερμίδων μέσω της κατανάλωσης ρυζιού. Ταυτόχρονα, στις αναπτυσσόμενες χώρες όπως η Ινδία, η συνεχής άνοδος του παγκόσμιου πληθυσμού εντείνει την πίεση για αύξηση της παραγωγής έως και 32%, μέχρι το 2050. Σε αντίθεση με τις αυξανόμενες διατροφικές απαιτήσεις, το πρόβλημα των υποβαθμισμένων αγροτικών εκτάσεων περιορίζει τις παραγωγικές δυνατότητες των καλλιεργειών ρυζιού, οδηγώντας στην ετήσια μείωση της παραγωγής κατά 0,15%. Μία από τις αιτίες που συμβάλλουν σε αυτό το αποτέλεσμα είναι η ανεπάρκεια φωσφόρου στις καλλιεργούμενες εκτάσεις, καθώς επηρεάζει τις μεταβολικές διεργασίες, την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, την ωριμότητα και την απόδοση της καλλιέργειας. Η μη ικανοποιητική πρόσληψη φωσφόρου προκαλεί διαταραχές στην φυσιολογία και μορφολογία του ρυζιού, όπως ο περιορισμός της ανάπτυξης και του αδελφώματος, ο σχηματισμός λεπτών βλαστών και ο μειωμένος αριθμός κόκκων ανά ανθήλη. Έτσι, ενώ η μειωμένη εδαφική συγκέντρωση ή βιοδιαθεσιμότητα του φωσφόρου χαρακτηρίζει τις περισσότερες περιοχές της Ασίας, η μελέτη του γενετικού υποβάθρου

παραδοσιακών ποικιλιών ρυζιού μπορεί να αναδείξει πιθανές λύσεις για την αύξηση της παραγωγικότητας των καλλιεργούμενων ποικιλιών σε συνθήκες ανεπάρκειας φωσφορικών υποστρωμάτων (Neelam et al, 2017).

Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες ρυζιού της Ασίας (*Oryza sativa L*), κατατάσσονται σε δύο κύρια υποείδη, το *japonica* και το *indica*, τα οποία προέκυψαν από το άγριο ρύζι *O. rufipogon*. Το υποείδος *indica* περιλαμβάνει τις ομάδες ποικιλιών *indica* και *aus* ενώ το υποείδος *japonica* τις ποικιλίες *tropical japonica*, *temperate japonica* καθώς και τις αρωματικές ποικιλίες. Οι πέντε διακριτές ομάδες ποικιλιών διαχωρίζονται γενετικά. Η μελέτη του γονιδιώματος ποικιλιών της ομάδας *aus*, οι οποίες καλλιεργούνται σε φτωχά και υποβαθμισμένα εδάφη της Ινδίας, αποκάλυψε την ύπαρξη ενός αριθμού γονιδίων που επάγουν την ανθεκτικότητα έναντι ενός πλήθους αβιοτικών παραγόντων (Vigueira et al, 2016). Στο γενετικό υλικό της ποικιλίας *Kasalath* που καλλιεργείται σε εδάφη με περιορισμένη συγκέντρωση φωσφόρου, εντοπίστηκε η περιοχή *Pup1*, (phosphorus uptake 1), η οποία απουσιάζει από το γονιδίωμα αναφοράς της ποικιλίας *nipponbare* του υποείδους *japonica*, καθώς από άλλες σημαντικές καλλιεργούμενες ποικιλίες. Η αλληλούχιση της περιοχής *Pup1*, αποκάλυψε την ύπαρξη ενός μεταθετού στοιχείου μεγέθους 90 kb, στο οποίο εδράζεται το γονίδιο *PSTOL1* (phosphorus-starvation tolerance 1). Το συγκεκριμένο γονίδιο κωδικοποιεί την πρωτεϊνική κινάση, η οποία συνδέεται με την ανάπτυξη αντοχής στην έλλειψη φωσφόρου και είναι υψηλά συντηρημένη σε ποικιλίες που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην αβιοτική καταπόνηση (Gamuyao et al, 2012). Αντίθετα, η περιοχή *Pup1* απουσιάζει από το γονιδίωμα των περισσότερων νέων ποικιλιών ρυζιού (Chithrameenal et al, 2018).

Η ενσωμάτωση του γονιδίου *PSTOL1* στο γενετικό υλικό ποικιλιών ρυζιού που επιδεικνύουν μειωμένη ανάπτυξη σε συνθήκες περιορισμένης διαθεσιμότητας φωσφόρου και η υπερέκφραση της πρωτεϊνικής κινάσης, οδήγησε στην δημιουργία μεγαλύτερου ριζικού συστήματος με αυξημένη ξηρή μάζα και στην άνοδο της πρόσληψης P. Η διαφοροποίηση της αρχιτεκτονικής και η αύξηση του μεγέθους και της επιφάνειας του

ρίζικου συστήματος των διαγονιδιακών φυτών, κατά την καλλιέργεια σε εδάφη με χαμηλή συγκέντρωση ή βιοδιαθεσιμότητα φωσφόρου, βελτιώνει την πρόσληψη και άλλων σημαντικών θρεπτικών στοιχείων, όπως το άζωτο και το κάλιο. Έτσι, η διατήρηση και αξιοποίηση της βιοποικιλότητας και των παραδοσιακών ποικιλιών, αποδεικνύεται σύμμαχος στην προσπάθεια κάλυψης των αυξανόμενων διατροφικών αναγκών υπό συνθήκες περιορισμένων φυσικών πόρων και αβιοτικής καταπόνησης, αποτελώντας δεξαμενή πολύτιμης γενετικής πληροφορίας (Gamuyao et al, 2012). Καθώς όλο και περισσότερα προγράμματα γενετικής βελτίωσης χρησιμοποιούν το γονίδιο PSTOL1 για την δημιουργία φυτών με αυξημένη ικανότητα αφομοίωσης φωσφόρου, η διερεύνηση της γενετικής ποικιλομορφίας αναδεικνύει την ύπαρξη ενός πλήθους απλοτύπων και αλληλομόρφων του γονιδίου PSTOL1 και δημιουργεί προσδοκίες για την περαιτέρω αύξηση της συγκεκριμένης ικανότητας στις πλέον παραγωγικές και εμπορικά κυρίαρχες ποικιλίες (Neelam et al, 2017).

## **8. Αύξηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης και της αφομοίωσης του άνθρακα**

Κατά την πολυχιλιετή ιστορία των γεωργικών δραστηριοτήτων του ανθρώπινου είδους, καθώς και κατά την ανάπτυξη των φυτικών οργανισμών στο φυσικό περιβάλλον, οι κύριοι περιοριστικοί παράγοντες είναι η διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών και των υδατικών αποθεμάτων και η πρόσβαση στην φωτεινή ακτινοβολία, οι οποίοι σπανίως βρίσκονται σε επάρκεια. Πλέον, η χρήση των σύγχρονων γεωργικών πρακτικών εξασφαλίζει ότι η κάλυψη των συγκεκριμένων καλλιεργητικών αναγκών είναι ικανοποιητική, αναδεικνύοντας έτσι τον φωτοσυνθετικό μηχανισμό της δέσμευσης του άνθρακα ως βασικό περιοριστικό παράγοντα της φυτικής ανάπτυξης (Mackinder, 2017). Η φωτοσυνθετική απόδοση περιορίζεται εξαιτίας ενός πλήθους παραγόντων, όπως οι μηχανισμοί μεταφοράς των ηλεκτρονίων, η αναγέννηση των μορίων υποδοχής του CO<sub>2</sub>, η ενεργότητα των ενζύμων που πραγματοποιούν την αφομοίωση του άνθρακα και η συγγένεια τους με το CO<sub>2</sub>, η φωτοαναπνευστική διαδικασία και οι περιβαλλοντικές



μεταβλητές όπως η θερμοκρασία και η ατμοσφαιρική συγκέντρωση CO<sub>2</sub> (Ruan et al, 2012). Έτσι, η άνοδος της ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης του CO<sub>2</sub>, το οποίο αποτελεί ένα από τα κύρια αέρια του θερμοκηπίου και συμβάλλει στο φαινόμενο της κλιματικής αλλαγής, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υπόβαθρο για την αύξηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης μέσω της γενετικής τροποποίησης του φωτοσυνθετικού μηχανισμού και την μεγιστοποίηση της καλλιεργητικής απόδοσης. Ταυτόχρονα, η ενσωμάτωση του ατμοσφαιρικού άνθρακα στην βιομάζα αποτελεί μία φιλόδοξη στρατηγική μετριασμού των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής.

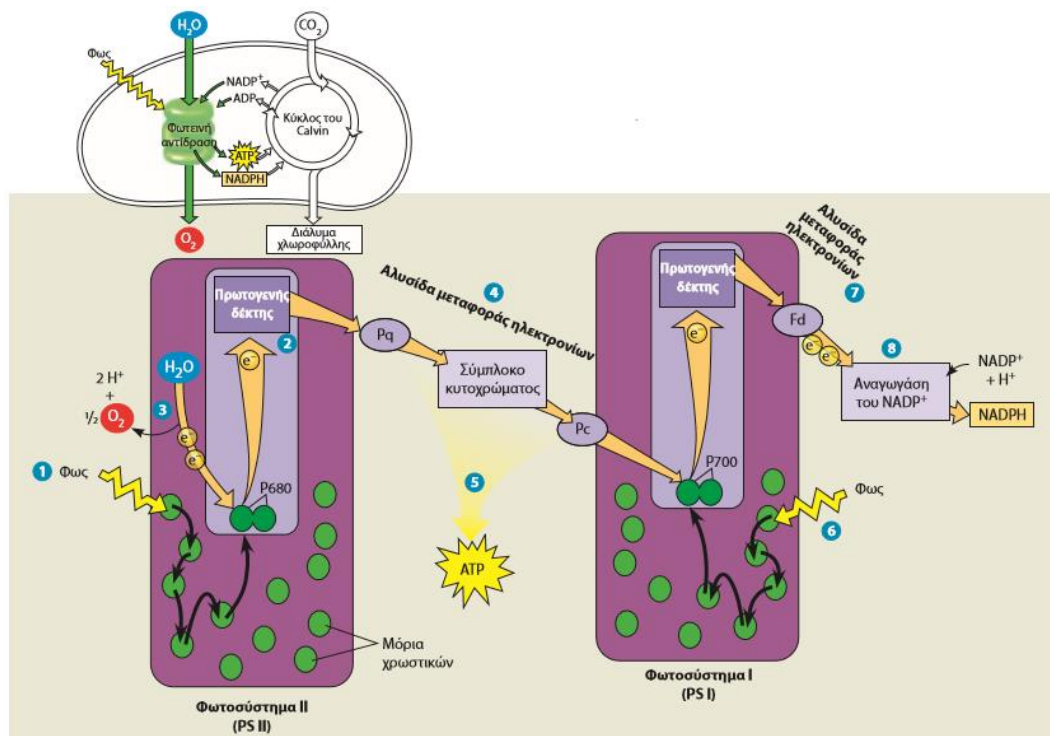
### 8.1. C3, C4 και CAM φωτοσύνθεση

Η φωτοσύνθεση αποτελεί την διαδικασία δέσμευσης και μετασχηματισμού της ηλιακής ακτινοβολίας σε χημική ενέργεια, χρησιμοποιώντας το CO<sub>2</sub> ως πηγή άνθρακα για την σύνθεση των απαραίτητων οργανικών ενώσεων. Η πολύπλοκη ακολουθία των χημικών τύπων της φωτοσύνθεσης, συνοψίζεται από την απλουστευμένη εξίσωση:



Η διαδικασία της φωτοσύνθεσης αποτελείται από 2 διακριτά στάδια, τα οποία περιλαμβάνουν αρκετά επιμέρους βήματα. Κατά το στάδιο των φωτεινών αντιδράσεων, το οποίο πραγματοποιείται στις μεμβράνες των θυλακοειδών των χλωροπλαστών υπό την παρουσία της φωτεινής ακτινοβολίας, οι φωτοσυνθετικές χρωστικές (χλωροφύλλη-a, χλωροφύλλη-b και καροτενοειδή) που απορροφούν σε διαφορετικά μήκη κύματος (εικόνα 19), αποτελούν τους υποδοχείς της φωτεινής ακτινοβολίας και οργανώνονται μαζί με άλλα οργανικά μόρια και πρωτεΐνες, στα συνεργαζόμενα φωτοσυστήματα I και II. Η απορρόφηση των φωτονίων οδηγεί στην διέγερση των χρωστικών και την μη κυκλική ροή ηλεκτρονίων μέσα από τα φωτοσυστήματα I και II (εικόνα 15), καθώς και από τα υπόλοιπα δομικά στοιχεία της θυλακοειδούς μεμβράνης. Μετά την διέγερση τους, οι οξειδωμένες χρωστικές ανάγονται από το H<sub>2</sub>O. Κατά την φωτόλυση του H<sub>2</sub>O, σχηματίζεται O<sub>2</sub> ως

παραπροϊόν της φωτοσύνθεσης, με ταυτόχρονη παραγωγή ενός ζεύγους ηλεκτρονίων και ενός  $H^+$ , τα οποία χρησιμοποιούνται για την αναγωγή του  $NADP^+$  σε  $NADPH$ . Επιπλέον, κατά την διαδικασία της φωτοφωσφορυλίωσης, παράγεται ATP μέσω της προσθήκης μίας φωσφορικής ομάδας στην ADP, ενώ η απαιτούμενη ενέργεια προέρχεται από τον μηχανισμό της χημειόσμωσης. Το  $NADPH$  χρησιμοποιείται σε επόμενα στάδια ως αναγωγικός παράγοντας, ενώ το ATP αποτελεί ένα “ενεργειακό νόμισμα” που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε έναν μεγάλο αριθμό ενδοκυτταρικών αντιδράσεων.



**Εικόνα 15.** Φωτοεπαγόμενη ροή ηλεκτρονίων κατά τις φωτεινές αντιδράσεις και παραγωγή  $NADPH$  και  $ATP$  (Campbell and Reece, 2010).

Η μετατροπή της ηλιακής ενέργειας σε χημική μέσω των φωτεινών αντιδράσεων, χρησιμοποιείται για την αναγωγή του CO<sub>2</sub> με στόχο της αφομοίωση του άνθρακα και την σύνθεση υδατανθράκων κατά το στάδιο των σκοτεινών αντιδράσεων, οι οποίες είναι γνωστές ως φωτοσυνθετικός κύκλος αναγωγής του άνθρακα ή κύκλος Calvin-Benson. Η συγκεκριμένη διαδικασία αποτελείται από 3 επιμέρους φάσεις (Εικόνα 16):

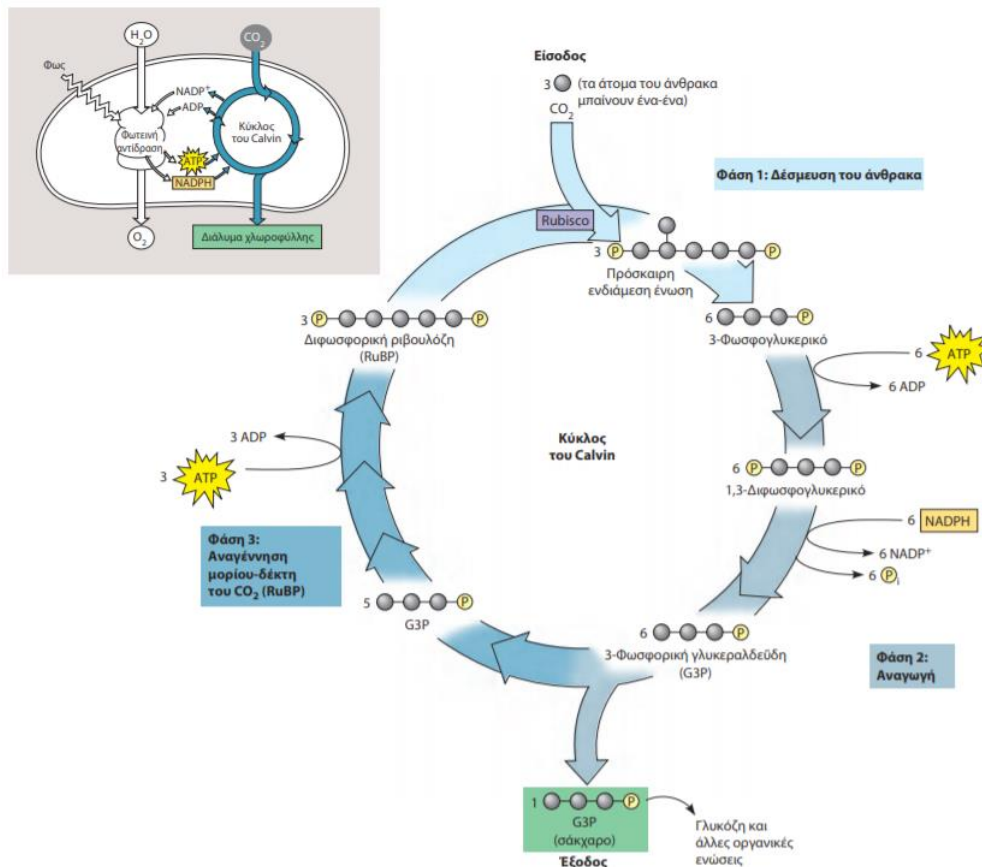
**α) Δέσμευση του άνθρακα.** Το ατμοσφαιρικό CO<sub>2</sub> ενσωματώνεται σε ένα σάκχαρο 5 ατόμων άνθρακα, την 1,5 διφωσφορική ριβουλόζη (RuBP) που προϋπάρχει στους χλωροπλάστες, μέσω της καρβοξυλικής δράσης του ενζύμου Rubisco. Η καρβοξυλίωση της RuBP οδηγεί στον σχηματισμό μίας ενδιάμεσης ασταθούς ένωσης 6 ατόμων άνθρακα, η οποία διασπάται σε 2 μόρια 3-φωσφογλυκερινικού οξέος.

**β) Αναγωγή.** Κατά το συγκεκριμένο στάδιο, στο οποίο καταναλώνεται το μεγαλύτερο ποσοστό της ενέργειας που παράγεται κατά τις φωτεινές αντιδράσεις, τα μόρια του 3-φωσφογλυκερικού οξέος μετατρέπονται σε 1,3-διφωσφογλυκερικό οξύ, αποκτώντας 1 επιπλέον φωσφορική ομάδα που προέρχεται από την ATP. Στην συνέχεια, το 1,3-διφωσφογλυκερικό οξύ λαμβάνει ένα ζεύγος ηλεκτρονίων από το NADPH και ανάγεται σε 3-φωσφορογλυκεριναλδεΐδη (G3P), με την ταυτόχρονη απώλεια μίας φωσφορικής μονάδας.

**γ) Αναγέννηση της RuBP.** Για κάθε 3 άτομα άνθρακα που αφομοιώνονται κατά την πρώτη φάση, παράγονται 6 μόρια G3P στην δεύτερη φάση. Ένα από τα μόρια της G3P θα χρησιμοποιηθεί σε διάφορες μεταβολικές οδούς για την παραγωγή γλυκόζης και άλλων υδατανθράκων, ενώ η αναδιάταξη των υπόλοιπων μορίων G3P μέσω μίας σύνθετης σειράς αντιδράσεων, οδηγεί στην σύνθεση 3 μορίων RuBP.

Συνολικά, η καθαρή σύνθεση ενός μορίου G3P από τον κύκλο του Calvin-Benson, απαιτεί την δαπάνη εννέα μορίων ATP και έξι μορίων NADPH, τα οποία αναγεννώνται στις φωτεινές αντιδράσεις (Campbell and Reece, 2010).

Ενώ η μεγάλη πλειοψηφία των φυτικών ειδών αφομοιώνει τον ατμοσφαιρικό άνθρακα μέσω του κύκλου Calvin-Benson, υπάρχουν 2 βιοχημικές παραλλαγές του φωτοσυνθετικού μηχανισμού, οι οποίες διαφοροποιούνται ως προς την αρχική δέσμευση του  $\text{CO}_2$ , μεταξύ άλλων. Έτσι, η διαδικασία δέσμευσης του άνθρακα μέσω του κύκλου του Calvin-Benson ονομάζεται  $\text{C}_3$  φωτοσύνθεση, καθώς κατά τις φωτεινές αντιδράσεις σχηματίζεται ένα μόριο με 3 άτομα άνθρακα, το 3-φωσφογλυκερινικό οξύ. Αντίστοιχα, στην πρώτη παραλλαγή του φωτοσυνθετικού μεταβολισμού (κύκλος Hatch-Slack ή  $\text{C}_4$  φωτοσύνθεση), το ανάλογο προϊόν είναι μία ένωση με τέσσερα άτομα άνθρακα, το οξαλοξικό οξύ.



**Εικόνα 16.** Ο κύκλος του Calvin - Benson κατά την  $\text{C}_3$  φωτοσύνθεση (Campbell and Reece, 2010).

Στην περίπτωση της CAM φωτοσύνθεσης (μεταβολισμός οξέων τύπου Crassulaceae), η ονομασία σχετίζεται με τη οικογένεια των φυτών στα οποία ανακαλύφθηκε η συγκεκριμένη διεργασία (Ehleringer and Cerling, 2002). Ο C4 φωτοσυνθετικός μηχανισμός απαντάται κυρίως στα Μονοκοτυλήδονα φυτά και σε κάποια σημαντικά καλλιεργούμενα είδη, όπως το καλαμπόκι και το ζαχαρότευτλο. Ο μηχανισμός CAM εντοπίζεται σε ένα πλήθος παχύφυτων και κακτοειδών, καθώς και σε περιορισμένο αριθμό οικονομικά αξιόλογων καλλιεργειών, όπως ο ανανάς. Η ανάπτυξη των φωτοσυνθετικών μηχανισμών C4 και CAM, επιτυγχάνει την αύξηση της συγκέντρωσης του CO<sub>2</sub> στο περιβάλλον της Rubisco.

Κατά την C4 φωτοσύνθεση, η οποία έχει αναπτυχθεί σε περιβάλλοντα με χαμηλή ατμοσφαιρική συγκέντρωση CO<sub>2</sub> ή/και υψηλή θερμοκρασία, στα οποία παρατηρείται αύξηση της φωτοαναπνοής στα C3 φυτά, πραγματοποιείται αποτελεσματική δέσμευση του CO<sub>2</sub>, χωρίς να περιορίζεται η καρβοξυλιωτική δραστηριότητα εξαιτίας των υψηλών συγκεντρώσεων οξυγόνου (Ehleringer and Cerling, 2002). Για την επίτευξη αυτού του σκοπού, η ανατομία των φύλλων των C4 φυτών διαφοροποιείται σε σχέση με τα C3 φυτά, καθώς υπάρχουν 2 διακριτοί τύποι φωτοσυνθετικών κυττάρων. Συγκεκριμένα, στα κύτταρα του μεσοφύλλου πραγματοποιείται η δέσμευση του CO<sub>2</sub> και η ενσωμάτωση του άνθρακα σε οργανικές ενώσεις, ενώ ο κύκλος του Calvin-Benson εντοπίζεται στα κύτταρα του κολεού της δέσμης. Η C4 φωτοσύνθεση αποτελείται από τις εξής φάσεις (εικόνα 17):

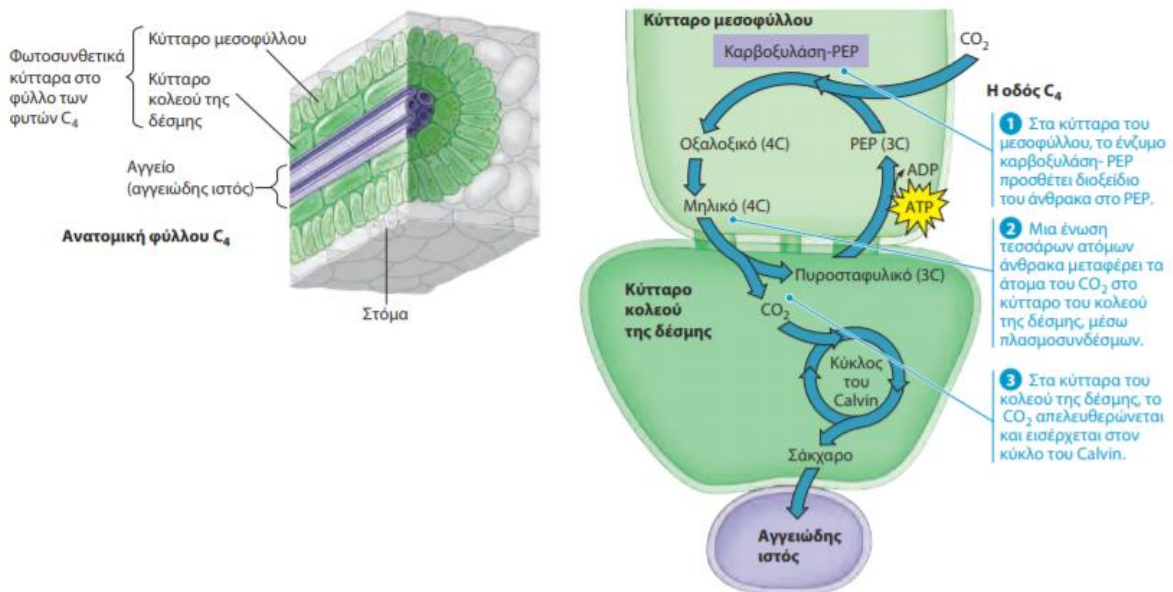
**α) Δέσμευση του άνθρακα.** Η δέσμευση του άνθρακα του CO<sub>2</sub>, πραγματοποιείται στα κύτταρα του μεσοφύλλου από το ένζυμο καρβοξυλάση του φωσφοροένολοπυροσταφυλικού οξέος (καρβοξυλάση-PEP), το οποίο καταλύει την αντίδραση καρβοξυλίωσης του φωσφοενολοπυροσταφυλικού οξέος (PEP). Το αποτέλεσμα της συγκεκριμένης αντίδρασης είναι ο σχηματισμός του οξαλοξικού οξέος, το οποίο μετατρέπεται σε μηλικό ή ασπαραγινικό οξύ. Η καρβοξυλάση-PEP παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερη συγγένεια με το CO<sub>2</sub> και μηδενική συγγένεια με το O<sub>2</sub>, σε σχέση με την

Rubisco. Έτσι, σε συνθήκες αυξημένης θερμοκρασίας και περιορισμένης υγρασίας, κατά τις οποίες καταγράφεται μεγαλύτερη συγκέντρωση  $O_2$  και μικρότερη συγκέντρωση  $CO_2$  στα φύλλα εξαιτίας των μισόκλειστων στοματίων, η καρβοξυλάση-PEP δεσμεύει αποτελεσματικότερα τον άνθρακα σε σχέση με την Rubisco.

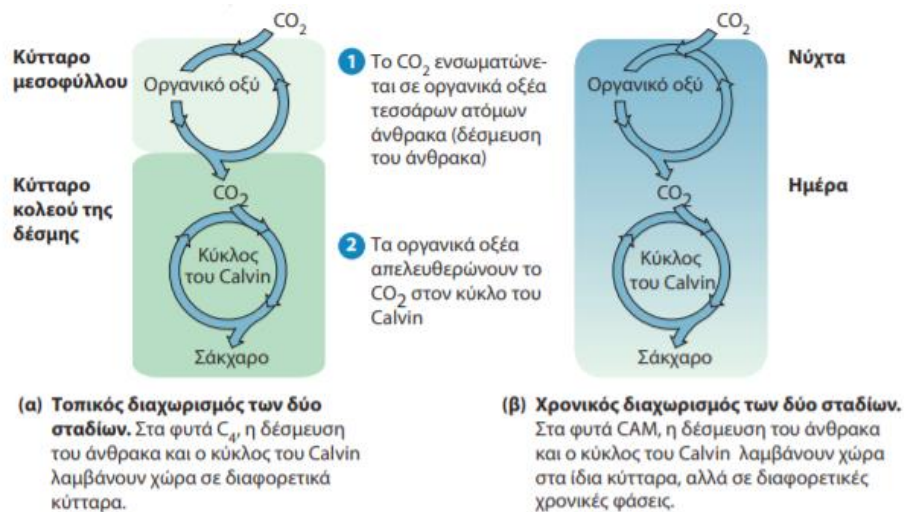
**β) Μεταφορά των  $C_4$  οξέων.** Μετά την ολοκλήρωση της δέσμευσης του  $CO_2$  στα κύτταρα του μεσοφύλλου, πραγματοποιείται η μεταφορά των  $C_4$  οξέων στα κύτταρα του κολεού της δέσμης, μέσω των πλασμοσυνδέσμων.

**γ) Αναγωγή του  $CO_2$  και αναγέννηση του PEP.** Μετά την είσοδο των  $C_4$  οξέων στα κύτταρα του κολεού της δέσμης, πραγματοποιείται η απελευθέρωση του  $CO_2$  και η αναγωγή του σε τριόζη, μέσω της δράσης της Rubisco και του κύκλου του Calvin-Benson. Η απελευθέρωση του  $CO_2$  οδηγεί στην αναγέννηση του πυροσταφυλικού οξέως, το οποίο μεταφέρεται στα κύτταρα του μεσοφύλλου και μετατρέπεται σε PEP, λαμβάνοντας μία φωσφορική ομάδα από το ATP. Η παραγωγή του ATP πραγματοποιείται μέσω της κυκλικής ροής ηλεκτρονίων, καθώς τα κύτταρα του μεσοφύλλου διαθέτουν μόνο το φωτοσύστημα I (Campbell and Reece, 2010).

Ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός των CAM φυτών είναι προσαρμοσμένος στις ξηρές και θερμές συνθήκες των ερημικών και ημιορημικών περιοχών και συνήθως συνοδεύεται από κατάλληλες μορφολογικές μεταβολικές των φύλλων και των βλαστών, τα οποία περιέχουν κύτταρα με μεγάλα χυμοτόπια. Σύμφωνα με την συγκεκριμένη φωτοσυνθετική προσέγγιση, τα στομάτια παραμένουν κλειστά κατά την διάρκεια της ημέρας και ανοίγουν την νύχτα. Έτσι, ενώ επιτυγχάνεται η διατήρηση του υδατικού δυναμικού, εμποδίζεται η είσοδος του  $CO_2$  μέσω των στοματίων κατά την διάρκεια της ημέρας. Η πρόσληψη του  $CO_2$  και η δέσμευση του άνθρακα πραγματοποιείται την νύχτα και οδηγεί στον χρονικό διαχωρισμό της ενσωμάτωσης του στα οργανικά οξέα και της παραγωγής υδατανθράκων μέσω του κύκλου Calvin-Benson (Εικόνα 18).



Εικόνα 17. Ανατομία C<sub>4</sub> φύλλου και η φωτοσυνθετική οδός C<sub>4</sub> (Campbell and Reece, 2010).



Εικόνα 18. Σύγκριση της φωτοσύνθεσης στα C<sub>4</sub> και CAM φυτά (Campbell and Reece, 2010).

Μέσω της δράσης της καρβοξυλάσης-PEP, παράγεται οξαλοξικό οξύ το οποίο ανάγεται σε οργανικά οξέα C4 (κυρίως μηλικό οξύ μέσω της μηλικής αφυδρογονάσης) που αποθηκεύονται προσωρινά στο χυμοτόπιο. Κατά την διάρκεια της ημέρας, τα C4 οξέα μεταφέρονται από το χυμοτόπιο στο κυτταρόπλασμα και μετατρέπονται σε πυροσταφυλικό οξύ μέσω της αποκαρβοξυλίωσης, αποδίδοντας CO<sub>2</sub>. Το παραγόμενο CO<sub>2</sub> διαχέεται στους χλωροπλάστες και αφομοιώνεται από τον κύκλο Calvin-Benson. Έτσι, στην περίπτωση των CAM φυτών, το μηλικό οξύ δρα ως αποταμιευτικό μόριο, σε αντίθεση με τα C4 φυτά στα οποία δρα ως άμεσος δότης CO<sub>2</sub>. Επιπλέον, στα CAM φυτά ο διαχωρισμός της δέσμευσης του άνθρακα και του κύκλου Calvin-Benson είναι χρονικός, ενώ στα C4 είναι χωρικός, καθώς πραγματοποιείται σε διαφορετικά κύτταρα (Campbell and Reece, 2010).

## **8.2. Τροποποίηση των δομικών παραγόντων των φωτεινών αντιδράσεων**

### **8.2.1. Επέμβαση στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων από το PSII στο PSI**

Κατά το στάδιο των φωτεινών αντιδράσεων, τα φωτοδιεγερμένα ηλεκτρόνια μεταφέρονται από τον πρωτογενή δέκτη ηλεκτρονίων του φωτοσυστήματος PSII στο φωτοσύστημα PSI, μέσω της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Η συγκεκριμένη αλυσίδα αποτελείται από τον φορέα ηλεκτρονίων πλαστοκινόνη (Pq), την πρωτεΐνη πλαστοκυανίνη (Pc) και ένα σύμπλοκο κυτοχρωμάτων. Καθώς ένα πλήθος ερευνητών υποστηρίζει ότι η απόδοση της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων είναι περιορισμένη (Eva et al. 2019), η αντικατάσταση των δομικών της στοιχείων έχει αποτελέσει στόχο της βιοτεχνολογικής έρευνας.

Το κυτόχρωμα c6 (Cyt c6) είναι ένας διαλυτός οξειοαναγωγικός φορέας χαμηλού μοριακού βάρους, ο οποίος εντοπίζεται στα θυλακοειδή των κυανοβακτηρίων και μερικών ευκαρυωτικών αλγών. Σε συνθήκες μειωμένης επάρκειας χαλκού, κατά τις οποίες δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί η σύνθεση επαρκούς ποσότητας Pc, το Cyt c6 μπορεί να υποκαταστήσει την Pc για την μεταφορά των ηλεκτρονίων. Ενώ η δομή των δύο



πρωτεϊνών διαφέρει σημαντικά, διαθέτουν ανάλογο μοριακό βάρος και αναγωγικές ιδιότητες. Η παρουσία του Cyt c6 εξασφαλίζει την μεταφορά των ηλεκτρονίων από το σύμπλοκο Cyt *b6f* στο φωτοσύστημα PSI, ενώ στην περίπτωση των οξυγονικών φωτοσυνθετικών προκαρυωτικών οργανισμών, λειτουργεί και ως δότης ηλεκτρονίων στο σύμπλοκο της κυτοχρωμικής οξειδάσης των φωτοσυνθετικών μεμβρανών (Howe et al, 2006).

Μέχρι σχετικά πρόσφατα, θεωρούταν πως το Cyt c6 είχε απαλειφθεί από το γονιδίωμα των φυτών κατά την εξελικτική διαδικασία. Εντούτοις, μέσω της γενετικής ανάλυσης εντοπίστηκε η ύπαρξη ενός γονιδίου που κωδικοποιεί μία συγγενή πρωτεΐνη με το Cyt c6, σε ανώτερα φυτικά είδη (Howe et al, 2006). Όμως, ενώ είχε υποθεθεί ότι η συγκεκριμένη πρωτεΐνη θα μπορούσε να αντικαταστήσει την Pc ως προς την δράση της στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, ανάλογα πειράματα σε φυτά τους Γένους *Arabidopsis* έδειξαν ότι η συγκεκριμένη υπόθεση δεν μπορεί να επαληθευτεί. Έτσι, για την αύξηση της απόδοσης της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων στα ανώτερα φυτικά είδη, επιχειρήθηκε η εισαγωγή του γονιδίου Cyt c6 από το άλγος *Porphyra yezoensis* στο φυτό *Arabidopsis thaliana* (Chida et al, 2007).

Ο μετασχηματισμός των φυτικών κυττάρων με την χρήση του *Agrobacterium tumefaciens* και η επιλογή των κατάλληλων πεπτιδίων μεταφοράς, είχαν ως αποτέλεσμα την ταυτόχρονη έκφραση του Cyt c6 και της Pc στους χλωροπλάστες του *A. Thaliana* και την αξιόλογη αύξηση του ύψους των φυτών, του μεγέθους των φύλλων και του μήκους του ριζικού συστήματος, σε σχέση με τα φυτά αγρίου τύπου. Ανάλογη αύξηση παρουσιάστηκε και στην ποσότητα της χλωροφύλλης, της πρωτεΐνης, του ATP, του NADPH και του αμύλου, καθώς και στην ικανότητα αφομοίωσης του CO<sub>2</sub> στα διαγονιδιακά φυτά. Ταυτόχρονα, κατά την έκφραση της Cyt c6, καταγράφηκε σημαντική μείωση στο ποσοστό του αποθέματος της Pc που βρίσκεται σε ανηγμένη κατάσταση. Η παρουσία του Cyt c6 στους χλωροπλάστες επάγει την επιτάχυνση της μεταφοράς των ηλεκτρονίων κατά το

στάδιο των φωτεινών αντιδράσεων, η οποία οδηγεί στην αύξηση της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του CO<sub>2</sub> και της φυτικής ανάπτυξης (Chida et al, 2007).

### 8.2.2. Τροποποίηση του φωτοσυλλεκτικού μηχανισμού

Το κάθε φωτοσύστημα της μεμβράνης των θυλακοειδών, αποτελείται από το πρωτεϊνικό σύμπλοκο του κέντρου αντίδρασης και τα σύμπλοκα φωτοσυλλογής που το περιβάλλουν. Τα σύμπλοκα της φωτοσυλλογής περιλαμβάνουν έναν μεγάλο αριθμό μορίων των φωτοσυνθετικών χρωστικών, τα οποία είναι συνδεδεμένα με πρωτεΐνες, συλλέγουν το ηλιακό φως σε μεγάλη επιφάνεια και απορροφούν αθροιστικά σε ένα ικανοποιητικό εύρος φάσματος. Το σύνολο των συμπλόκων φωτοσυλλογής δρα ως ένα είδος “κεραίας” και μεταφέρει την απορροφούμενη ενέργεια στο σύμπλοκο του κέντρου αντίδρασης, ένα μέρος της οποίας αξιοποιείται από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (Campbell and Reece, 2010).

Καθώς ο ρυθμός απορρόφησης της ηλιακής ενέργειας υπερβαίνει το ρυθμό αξιοποίησης της από την φωτοχημική ροή ηλεκτρονίων, η απόσβεση της πλεονάζουσας ενέργειας πραγματοποιείται κυρίως μέσω των φυσικών και μη φωτοχημικών φαινομένων της επανεκπομπής φωτονίων με τη μορφή φθορισμού και της εκπομπής θερμότητας, για την προστασία της φωτοσυνθετικής συσκευής (Jin et al, 2016, Friedland et al. 2019). Σε συνθήκες υψηλών εντάσεων της ηλιακής ακτινοβολίας, εκδηλώνεται το φαινόμενο της φωτοπαρεμπόδισης, κατά το οποίο ελαττώνεται σημαντικά η φωτοσυνθετική δραστηριότητα. Οι επιπτώσεις του φαινομένου είναι εντονότερες υπό την ταυτόχρονη παρουσία άλλων μορφών αβιοτικής καταπόνησης, όπως οι ακραίες θερμοκρασιακές τιμές και η περιορισμένη υδατική διαθεσιμότητα (Καραμπουρνιώτης, 2003) οι οποίες αποτελούν συχνές εκδηλώσεις του φαινομένου της κλιματικής αλλαγής. Έτσι, η συντήρηση του συγκεκριμένου μεγέθους της “κεραίας” φωτοσυλλογής καταναλώνει αναίτια σημαντικούς

πόρους του φυτικού κυττάρου και παρεμποδίζει την προσαρμογή των φυτών στην μεταβολή των κλιματολογικών παραμέτρων.

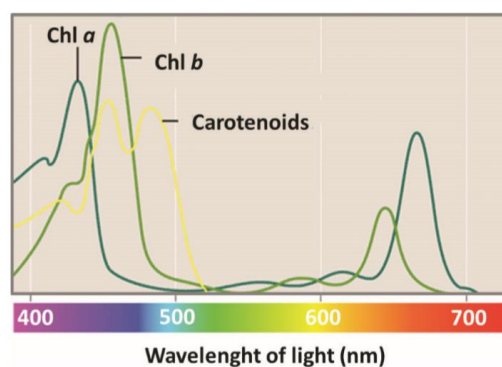
Η μείωση του μεγέθους της “κεραίας” φωτοσυλλογής μπορεί να επιτευχθεί μέσω του περιορισμού της συσσώρευσης της χλωροφύλλης-b. Η συγκεκριμένη χρωστική αποτελεί περίπου την μισή ποσότητα της συνολικής χλωροφύλλης που εντοπίζεται στα σύμπλοκα φωτοσυλλογής, ενώ δεν συμμετέχει στο σύμπλοκο του κέντρου αντίδρασης. Οι αποπρωτεΐνες των συμπλόκων φωτοσυλλογής στις οποίες προσδένεται η χλωροφύλλη και οι υπόλοιπες χρωστικές, συντίθενται στο κυτταρόπλασμα και εισάγονται στους χλωροπλάστες όπου υπό την παρουσία των χρωστικών σχηματίζουν ανάλογα σύμπλοκα. Η μείωση των επιπέδων χλωροφύλλης-b οδηγεί στον περιορισμό της σταθερότητας και την αποδόμηση των συγκεκριμένων πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα την μείωση της διατομής της “κεραίας” φωτοσυλλογής (Hooper et al. 2007).

Η σύνθεση της χλωροφύλλης-b πραγματοποιείται μέσω της δράσης του χλωροπλαστικού ενζύμου οξυγενάση της χλωροφυλλίδης-a, (CAO), το οποίο καταλύει την αντίδραση δύο σταδίων της μετατροπής της χλωροφυλλίδης-a σε χλωροφύλλη-b. Ο περιορισμός της έκφρασης του γονιδίου που κωδικοποιεί την σύνθεση της CAO, μέσω της μετα-μεταγραφικής σίγασης με την τεχνική της RNA παρεμβολής (RNAi), οδήγησε στην αύξηση της αναλογίας χλωροφύλλη-a/χλωροφύλλη-b σε φυτά *Arabidopsis thaliana*. Η μείωση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης-b, είχε ως αποτέλεσμα την ανάλογη μείωση της διατομής της “κεραίας” φωτοσυλλογής, όπως ήταν αναμενόμενο. Η μελέτη της επίδρασης των συγκεκριμένων διαφοροποιήσεων υποδεικνύει ότι η μεταβολή της αναλογίας χλωροφύλλη-a/χλωροφύλλη-b οδηγεί στην διαφοροποίηση της αρχιτεκτονικής της μεμβράνης, της σύνθεσης των συμπλόκων του φωτοσυστήματος PSII, της διαπερατότητας του φυλλώματος από την φωτεινή ακτινοβολία και της φωτοσυνθετικής απόδοσης. Ενώ η μεγάλη μείωση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης-a είχε αρνητικές επιπτώσεις στην φυτική ανάπτυξη, η περιορισμένη μεταβολή της αναλογίας χλωροφύλλη-

a/χλωροφύλλη-b οδήγησε στην βελτίωση της απόδοσης του φωτοσυνθετικού μηχανισμού σε συνθήκες υψηλής έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας σε σχέση με τα φυτά αγρίου τύπου, καθώς και στην άνοδο της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας στο σύνολο του φυλλώματος, εξαιτίας της αύξησης της διαπερατότητας από το ηλιακό φως (Friedland et al. 2019). Ανάλογα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν και στην περίπτωση της μείωσης της ποσότητας της χλωροφύλλης σε φυτά *Nicotiana tabacum* (Kirst et al, 2017) και *Oryza sativa L.* (Gu et al, 2017).

### 8.2.3. Διεύρυνση του εύρους απορρόφησης της φωτεινής ακτινοβολίας

Οι περισσότεροι οξυγονικοί φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, απορροφούν το ορατό φάσμα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, το οποίο ονομάζεται και φωτοσυνθετικά ενεργή ακτινοβολία και αποτελείται από την στενή ζώνη μεταξύ των 400 nm και 700 nm. Στην περίπτωση του φυτικού μηχανισμού φωτοσυλλογής, τα μέγιστα απορρόφησης της χλωροφύλλης-a εντοπίζονται στο κυανό-ιώδες και το ερυθρό φάσμα, ενώ η μικρή δομική διαφορά της χλωροφύλλης-b διαφοροποιεί ελαφρά την απορρόφηση στα μήκη κύματος του κυανού και του ερυθρού. Αντίστοιχα, η ομάδα των καροτενοειδών χρωστικών, η οποία αποτελείται από τα καροτένια και τις ξανθοφύλλες, απορροφούν το φως στα μήκη κύματος του ιώδους, του κυανού και του πράσινου (εικόνα 19), (Campbell and Reece, 2010).



**Εικόνα 19.** Φάσμα απορρόφησης των φωτοσυνθετικών χρωστικών χλωροφύλλη-α, χλωροφύλλη-β και καροτινοειδή (Guidi et al, 2017)

Για μεγάλο χρονικό διάστημα, το όριο απορρόφησης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας των φυτικών φωτοσυστημάτων I και II, το οποίο είναι ίσο με 700 nm and 680 nm, ταυτιζόταν με την μέγιστη τιμή του μήκους κύματος που μπορεί να απορροφηθεί από τους οξυγονικούς φωτοσυνθετικούς οργανισμούς. Εντούτοις, η ανακάλυψη ενός αριθμού αλγών και κυανοβακτηρίων, τα οποία χρησιμοποιούν τις χρωστικές χλωροφύλλη-d, χλωροφύλλη-f και τις φυκομπιλιπρωτεΐνες για την δέσμευση της φωτεινής ακτινοβολίας, διευρύνει το ανώτερο όριο της φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολίας στα 750 nm, καθώς οι συγκεκριμένες χρωστικές απορροφούν στα όρια του υπέρυθρου φάσματος (Nürnberg et al, 2018). Κάποια από τα συγκεκριμένα κυανοβακτήρια, όπως το *Acaryochloris marina*, διαβιούν σε ενδιαιτήματα με περιορισμένη πρόσβαση σε διάφορα μήκη κύματος της ορατής ακτινοβολίας εξαιτίας της απορρόφησης τους από τους υπερκείμενους οργανισμούς, ενώ η ένταση της ακτινοβολίας με μήκος κύματος κοντά στο υπέρυθρο φάσμα είναι υψηλή (Blankenship and Chen, 2013).

Ενώ η χλωροφύλλη-d και η χλωροφύλλη-f παράγονται με την χρήση της χλωροφύλλης-a ως υπόστρωμα, ο ακριβής μηχανισμός της σύνθεσης τους δεν έχει εξακριβωθεί (Chen, 2019). Ωστόσο, η επιτυχής εκτοπική έκφραση του ενζύμου που καταλύει την αντίδραση παραγωγής της χλωροφύλλης-f, οδήγησε στην σύνθεση της χρωστικής σε άλλα είδη κυανοβακτηρίων (Ho et al, 2016). Έτσι, η ολοκλήρωση της αναγνώρισης των βιοχημικών διεργασιών και παραγόντων που καθορίζουν την σύνθεση των συγκεκριμένων χρωστικών, μπορεί να αξιοποιηθεί για την χρήση τους στα σύμπλοκα φωτοσυλλογής των φυτικών χλωροπλαστών, με αποτέλεσμα την αύξηση τους εύρους της φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολίας και της απόδοσης του φωτοσυλλεκτικού μηχανισμού. Ενώ τα πιθανά οφέλη από την μείωση του μεγέθους της “κεραίας” φωτοσυλλογής σχετίζονται με την αύξηση της πιθανότητας μετατροπής ενός φωτονίου σε αποθηκευμένη χημική ενέργεια, η αύξηση του αριθμού των απορροφούμενων φωτονίων

ανά μονάδα διεγερμένης επιφάνειας ενδέχεται να οδηγήσει στην αύξηση της ενέργειας που θα μπορούσε να αποθηκευτεί (Blankenship and Chen, 2013).

### **8.3. Αύξηση της απόδοσης των σκοτεινών αντιδράσεων**

#### **8.3.1. Αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων του κύκλου Calvin-Benson**

Ο κύκλος Calvin-Benson αποτελείται από έναν αριθμό σταδίων, τα οποία ελέγχονται από την δράση των αντίστοιχων ενζυμικών παραγόντων. Ενώ όλα τα ένζυμα είναι απαραίτητα για την ομαλή λειτουργία του κύκλου, η αξιόλογη μείωση της συγκέντρωσης κάποιων εξ'αυτών, όπως η αφυδρογονάση της 3-φωσφορικής γλυκεριναλδεϋδης (GAPάση) και η κινάση της φωσφοριβουλόζης (PRKάση), δεν επιφέρει δυσμενή επίδραση στην φωτοσυνθετική λειτουργία του κύκλου Calvin-Benson. Τα συγκεκριμένα ένζυμα υπάρχουν σε περίσσεια στο περιβάλλον του χλωροπλάστη και δεν αποτελούν περιοριστικό παράγοντα για τον φωτοσυνθετικό μηχανισμό (Ding et al, 2016). Αντιθέτως, οι καταλυτικοί παράγοντες που διαδραματίζουν σημαντικότερο ρόλο στο έλεγχο της ροής του άνθρακα λόγω της δράσης ή των επιπέδων έκφρασης τους, είναι η Rubisco, η φωσφατάση της 1,7-διφωσφορικής σεδοεπτουλόζης (SBPάση), η αλδολάση (FBP) και η τρανσκετολάση (TK). Η άνοδος της ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης του CO<sub>2</sub> στα 550 ppm μέχρι τα μέσα του 21ου αιώνα, δεν θα συνοδευτεί από την θεωρητική αύξηση της αγροτικής παραγωγής κατά 34%, καθώς τα σχετικά πειράματα με την χρήση συστημάτων εμπλουτισμού της ατμόσφαιρας με CO<sub>2</sub> (FACE) σε υπαίθριες καλλιέργειες, υποδεικνύουν ότι η αύξηση θα κυμανθεί σε ποσοστό 15% εξαιτίας των περιορισμών του φωτοσυνθετικού μηχανισμού (Long et al, 2006). Για τον σκοπό αυτό, έχει διερευνηθεί η επίδραση της ενίσχυσης της δραστηριότητας των συγκεκριμένων ενζύμων στην απόκριση του φωτοσυνθετικού μηχανισμού σε επικρατούσες και αυξημένες τιμές της ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης CO<sub>2</sub>.

### 8.3.1.1 Καρβοξυλάση-οξυγενάση της 1,5-διφωσφορικής ριβουλόζης

Η Rubisco αποτελεί την πλέον άφθονη πρωτεΐνη των χλωροπλαστών και το κύριο ένζυμο του κύκλου Calvin-Benson, καταλύοντας της αντίδραση καρβοξυλίωσης της RuBP και την ενσωμάτωση του ατμοσφαιρικού ανόργανου άνθρακα στην φυτική βιομάζα. Ταυτόχρονα, το ένζυμο χαρακτηρίζεται ως ένας πολύ αργός καταλύτης ενώ η καρβοξυλιωτική του δράση περιορίζεται εξαιτίας της συγγένειας του με το O<sub>2</sub>, το οποίο δρα ανταγωνιστικά ως προς το CO<sub>2</sub> και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα από την Rubisco. Έτσι, το ένζυμο λειτουργεί και ως οξυγενάση, καταλύοντας της αντίδραση οξείδωσης της RuBP για την παραγωγή φωσφογλυκολικού οξέως, το οποίο ανακυκλώνεται και εισέρχεται στον κύκλο Calvin-Benson ως 3-φωσφορογλυκερινικό οξύ. Κατά την συγκεκριμένη βιοχημική διαδικασία, η οποία ονομάζεται φωτοαναπνοή, εκλύεται CO<sub>2</sub>, καταναλώνεται ATP και μειώνεται το απόθεμα της RuBP μέχρι και 50%, περιορίζοντας την φωτοσυνθετική απόδοση (Andersson and Backlund, 2008). Σε θερμοκρασία 25 °C, το 25% του CO<sub>2</sub> που αφομοιώνεται κατά την φωτοσύνθεση χάνεται εξαιτίας της φωτοαναπνοής ενώ το ενεργειακό κόστος της ανακύκλωσης ενός μορίου φωσφογλυκολικού οξέως είναι ίσο με 12,5 ATP. Επιπλέον, μεγάλο μέρος των ενεργειακών απωλειών οφείλεται στην αφομοίωση της αμμωνίας που παράγεται κατά την αποκαρβοξυλίωση της γλυκίνης στα μιτοχόνδρια (Betti et al, 2016). Στους φυτικούς οργανισμούς, η Rubisco αποτελείται από 8 μικρές και 8 μεγάλες υπομονάδες, ενώ για την συνένωση των υπομονάδων στους χλωροπλάστες και την δημιουργία του ολοενζύμου, απαιτείται η παρουσία της κατάλληλης συνοδού πρωτεΐνης (chaperone). Το ένζυμο είναι φωτοεπαγόμενο και η καταλυτική του δράση εδράζεται στην μεγάλη υπομονάδα (Andersson and Backlund, 2008).

Για την αύξηση της δραστηριότητας της Rubisco έχουν εξεταστεί αρκετές στρατηγικές. Η υπερέκφραση του ενζύμου στους χλωροπλάστες αποτελεί μία μέθοδο που έχει δώσει αντιφατικά αποτελέσματα. Σε αρκετές περιπτώσεις C3 φυτών όπως το ρύζι, η

υπερέκφραση της Rubisco δεν φαίνεται να αυξάνει την ειδική δραστικότητα ανά μονάδα ενζύμου και την φωτοσυνθετική δραστηριότητα (Suzuki et al 2007, Suzuki et al, 2009). Στην περίπτωση των C4 φυτών, η αύξηση της συγκέντρωσης της Rubisco στους χλωροπλάστες μπορεί να έχει θετική επίδραση στην παραγωγικότητα των καλλιεργειών. Η περιεκτικότητα του ενζύμου στα C4 φυτά είναι σημαντικά μικρότερη σε σχέση με τα C3 φυτά, εξαιτίας της αυξημένης παρουσίας του CO<sub>2</sub> στο περιβάλλον του ενζύμου (Mueller-Cajar et al, 2018). Έτσι η υπερέκφραση της μικρής και της μεγάλης υπομονάδας της Rubisco μαζί με την συνοδό πρωτεΐνη RAF1 (Rubisco assembly factor 1) στο καλαμπόκι, το οποίο αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά C4 φυτά, οδήγησε στην αύξηση της ποσότητας του ενζύμου στους χλωροπλάστες κατά 30% και στην άνοδο της αφομοίωσης του άνθρακα κατά 15%, το οποίο αποτυπώθηκε στην αύξηση της φυτικής βιομάζας (Salesse-Smith et al, 2018). Η αύξηση της δραστικότητας της Rubisco μπορεί να επιτευχθεί και μέσω της ανόδου της συγκέντρωσης των συνοδών πρωτεϊνών, αν και η συγκεκριμένη μέθοδος έχει δώσει επίσης αντιφατικά αποτελέσματα. Η υπερέκφραση του ενζύμου RCA (Rubisco activase), το οποίο αποτελεί συνοδό πρωτεΐνη που ενεργοποιεί την δράση της Rubisco ως καρβοξυλάση ή οξυγενάση, σε φυτά αγγουριού (*Cucumis sativus*), αύξησε την αφομοίωση του CO<sub>2</sub> και την φυτική ανάπτυξη (Bi et al, 2017). Αντιθέτως, η υπερέκφραση της ενεργάσης από φυτά κριθαριού στο καλαμπόκι, οδήγησε στην μείωση της αφομοίωσης του άνθρακα υπό την επικρατούσα συγκέντρωση CO<sub>2</sub> (Fukayama et al, 2012). Γενικότερα, το ένζυμο φαίνεται πως βρίσκεται σε περίσσεια στο περιβάλλον του χλωροπλάστη και η αυξομείωση της συγκέντρωσης του δεν επηρεάζει αξιολογικά την φυτική ανάπτυξη σε συνθήκες μέτριας έντασης της φωτεινής ακτινοβολίας και ήπιων θερμοκρασιακών τιμών. Αντίθετα, σε συνθήκες υψηλής έντασης της ακτινοβολίας και αυξημένης θερμοκρασίας, καταγράφεται μείωση της καρβοξυλικής δράσης της Rubisco και της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας (Sage et al, 2008, Ding et al, 2016), γεγονός που οφείλεται κυρίως στην δράση των συνοδών πρωτεϊνών και υποδεικνύει ότι η κλιματική αλλαγή θα επιφέρει δυσμενείς επιπτώσεις στην παραγωγικότητα των φυτών.



Μία διαφορετική προσέγγιση για την αύξηση της δραστηριότητας της Rubisco, εστιάζει στην βιοτεχνολογική τροποποίηση της δομής του ενζύμου με στόχο την αύξηση της εκλεκτικότητας του ως προς το υπόστρωμα CO<sub>2</sub> και την βελτίωση των κινητικών του χαρακτηριστικών. Ωστόσο, οι συγκεκριμένες προσπάθειες για την δημιουργία μίας αποδοτικότερης Rubisco είναι μέχρι τώρα ανεπιτυχείς. Οι Rubisco της μορφής I, οι οποίες βρίσκονται στα φυτά, στα κυανοβακτήρια και στα πράσινα άλγη, παρουσιάζουν ιδιαίτερη διασύνδεση μεταξύ της ενζυμικής δραστηριότητας και της ταχύτητας της καταλυόμενης αντίδρασης (Bathellier et al, 2018). Έτσι, η αύξηση της εκλεκτικότητας ως προς το CO<sub>2</sub> οδηγεί στην μείωση του ρυθμού ανακύκλωσης (Kcat) του υποστρώματος. Το υπόβαθρο των συγκεκριμένων χαρακτηριστικών της Rubisco σχετίζεται με τις εξελικτικές διεργασίες, καθώς το ένζυμο εξελίχθηκε εν απουσία του οξυγόνου από την ατμόσφαιρα, η οποία δεν περιόριζε την καρβοξυλιωτική του δράση (Erb and Zarzycki, 2018). Μία εναλλακτική επιλογή αποτελεί η αξιοποίηση των Rubisco από κόκκινα άλγη ή κυανοβακτήρια, καθώς τα συγκεκριμένα ένζυμα παρουσιάζουν πολύ μεγάλη εκλεκτικότητα ως προς το υπόστρωμα και αυξημένη καρβοξυλική δράση. Ωστόσο, οι πρόσφατες ανεπιτυχείς προσπάθειες της αντικατάστασης της Rubisco σε φυτά καπνού, με την μικρή και την μεγάλη υπομονάδα της Rubisco από το κόκκινο άλγος *Griffithsia monilis*, επαληθεύει την σημασία της ταυτόχρονης έκφρασης των κατάλληλων συνοδών πρωτεϊνών στην επιτυχή συναρμολόγηση των ενζύμων διαφορετικής βιολογικής προέλευσης στο φυτικό μιτοχονδριακό περιβάλλον (Lin and Hanson, 2018). Μία διαφορετική εκδοχή της συγκεκριμένης πρότασης, αποτελεί η εισαγωγή ενός μηχανισμού συγκέντρωσης CO<sub>2</sub> στους φυτικούς χλωροπλάστες, όπως στην περίπτωση των κυανοβακτηριών. Τα κυανοβακτήρια καταστέλλουν την δράση της οξυγενάσης, συγκεντρώνοντας το CO<sub>2</sub> στο καρβοξύσωμα, το οποίο αποτελεί μία ιδιαίτερη πρωτεϊνική δομή του κυανοβακτηριακού κυτταροπλάσματος. Η δημιουργία των καρβοξυσωμάτων στους φυτικούς χλωροπλάστες είναι μία εν δυνάμει σύνθετη διαδικασία, η οποία περιλαμβάνει την συνδυασμένη έκφραση ενός μεγάλου αριθμού πρωτεϊνών και την αντικατάσταση της φυτικής Rubisco από το αντίστοιχο κυανοβακτηριακό ένζυμο (Betti et al. 2016). Έτσι, ενώ η σύνθεση μίας οργανωμένης καρβοξυσωματικής δομής δεν φαντάζει προς το παρόν εφικτή, η επίτευξη της έκφρασης

περιορισμένου αριθμού πρωτεϊνικών παραγόντων και της σύνθεσης απλούστερων α-καρβοξυσωματικών δομών στα πρότυπα του *Cyanobium marinum* PCC7001 σε φυτά καπνού, με ταυτόχρονη αντικατάσταση της φυτικής Rubisco με αντίστοιχο ένζυμο κυανοβακτηριακής προέλευσης, αποτελεί ένα αξιόλογο βήμα για την εγκατάσταση του συγκεντρωτικού μηχανισμού στα φυτά (Long et al, 2018).

Η πλέον καινοτόμος πρόταση αφορά τον σχεδιασμό και την εγκατάσταση τεχνητών μονοπατιών αφομοίωσης του άνθρακα, όπως οι κύκλοι MOG (Bar-Even et al, 2010) και CETCH (Schwander et al, 2016), στους οποία η χρήση της Rubisco έχει αντικατασταθεί από άλλα ένζυμα που παρουσιάζουν αντίστοιχες καρβοξυλιωτικές ιδιότητες αλλά δεν εμφανίζουν ανάλογη συγγένεια με το O<sub>2</sub>, ως υπόστρωμα. Εντούτοις, η πολυπλοκότητα των συγκεκριμένων κύκλων είναι ανασταλτικός παράγοντας για την επιτυχή εγκατάσταση τους στα φυτικά κύτταρα. Για παράδειγμα, ο μεταβολικός κύκλος CETCH αποτελείται από 17 διαφορετικά ένζυμα, τα οποία προέρχονται από εννέα διαφορετικούς οργανισμούς που ανήκουν και στα 3 Υπερβασίλεια. Έτσι, η ενσωμάτωση των συγκεκριμένων μεταβολικών μονοπατιών, πιθανώς να προϋποθέτει την ανάλογη τροποποίηση διαφόρων ανατομικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών (Erb and Zarzycki, 2018).

### **8.3.1.2. Φωσφατάση της 1,7-διφωσφορικής σεδοεπτουλόζης**

Το ένζυμο φωσφατάση της 1,7-διφωσφορικής σεδοεπτουλόζης (SBPase) καταλύει την μετατροπή της 1,7-διφωσφορικής σεδοεπτουλόζης (SBP) σε 7-φωσφορική σεδοεπτουλόζη (S7P). Η δράση του ενζύμου πραγματοποιείται στο στάδιο του κύκλου του Calvin-Benson που καθορίζει την κατάληξη του αφομοιωμένου άνθρακα, ο οποίος μπορεί είτε να χρησιμοποιηθεί για την αναγέννηση της RuBP είτε να εξαχθεί από τον κύκλο Calvin-

Benson για την σύνθεση των απαιτούμενων υδατανθράκων. Σε αντίθεση με άλλα ένζυμα, η SBPase έχει μοναδικά χαρακτηριστικά ενώ ο ρόλος της υποδεικνύει την σπουδαιότητα του ενζύμου για την ρύθμιση της ροής του άνθρακα στον κύκλο Calvin-Benson. Η δραστηριότητα της SBPase καθορίζεται από παράγοντες όπως το pH και η συγκέντρωση  $Mg^{+2}$  και όπως συμβαίνει και με άλλα ένζυμα του κύκλου Calvin-Benson, ενεργοποιείται μέσω του συστήματος φερεδοξίνης/θειορεδοξίνης ως απόκριση στην φωτεινή ακτινοβολία (Ding et al, 2016). Ο περιορισμός της έκφρασης της SBPase σε συνθήκες υψηλής έντασης της φωτεινής ακτινοβολίας, οδήγησε στην μείωση της απόδοσης του κύκλου Calvin-Benson (Lefebvre et al, 2005), κάτι που υποδεικνύει ότι αποτελεί έναν υπό συνθήκη περιοριστικό παράγοντα της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του άνθρακα.

Η υπερέκφραση του ενζύμου SBPase επάγει την αύξηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης σε έναν αριθμό φυτικών ειδών (Ding et al, 2016). Η υπερέκφραση της SBPase σε φυτά ρυζιού, είχε ως αποτέλεσμα την άνοδο του φωτοσυνθετικού ρυθμού σε συνθήκες θερμικής καταπόνησης (Feng et al, 2007a) και αυξημένης αλατότητας (Feng et al, 2007b). Η εισαγωγή του γονιδίου της SBPase από φυτά *Arabopsis thaliana* στο γονιδίωμα φυτών καπνού, οδήγησε στην αύξηση της δραστηριότητας του ενζύμου, της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας, της συσσώρευσης σουκρόζης και αμύλου, της φυλλικής επιφάνειας και της ανάπτυξης των διαγονιδιακών φυτών, σε ελεγχόμενες συνθήκες φωτεινής ακτινοβολίας και σε επικρατούσα και κορεσμένη συγκέντρωση  $CO_2$  (Lefebvre et al, 2005). Σε υψηλή ατμοσφαιρική συγκέντρωση  $CO_2$ , τα διαγονιδιακά και τα συμβατικά φυτά παρουσίασαν αύξηση της βιομάζας κατά 22% και 13% αντιστοίχως, σε σχέση με τα φυτά που καλλιεργήθηκαν στην επικρατούσα συγκέντρωση  $CO_2$  (Rosenthal et al, 2011). Η αναγνώριση της πρωτεϊνικής αλληλουχίας SISBP (SISBPase) με υψηλή ομολογία σε σχέση με την SBPase του *Arabopsis thaliana*, στο γονιδίωμα της τομάτας και η δημιουργία διαγονιδιακών φυτών με αυξημένη ή περιορισμένη έκφραση της SISBPase, οδήγησε σε ανάλογα αποτελέσματα καθώς και στην αντοχή στην αβιοτική καταπόνηση λόγω χαμηλών θερμοκρασιών, επιβεβαιώνοντας ότι το συγκεκριμένο ένζυμο αποτελεί

αξιόλογο βιοτεχνολογικό στόχο για την άνοδο της απόδοσης του φωτοσυνθετικού κύκλου αναγωγής του άνθρακα σε αυξημένες συγκεντρώσεις CO<sub>2</sub> (Ding et al, 2016). Η μεταβολή της φωτοσυνθετικής απόδοσης δεν είναι ευθέως ανάλογη με την αυξομείωση της ενεργότητας της SBPασης, το οποίο πιθανώς να οφείλεται στις ρυθμιστικές ιδιότητες του κύκλου Calvin-Benson και στον περιορισμό της φωτοσύνθεσης σε άλλο σημείο του κύκλου (Lefebvre et al, 2005).

### 8.3.1.3. Μη ρυθμιζόμενα ένζυμα του κύκλου Calvin-Benson

Η αλδολάση (FBP) αποτελεί ένα από τα 6 μη ρυθμιζόμενα ένζυμα του κύκλου Calvin-Benson και καταλύει την αναστρέψιμη μετατροπή της 3-φωσφογλυκεραλδεΐδης και της φωσφορικής διυδροξυακετόνης σε 1,6-διφωσφορική φρουκτόζη, καθώς και την μετατροπή της 4-φωσφορικής ερυθρόζης και της φωσφορικής διυδροακετόνης σε 1,7-διφωσφορική σεδοεπτουλόζη (Taiz and Zeiger, 2017). Σύμφωνα με μελέτες στις οποίες χρησιμοποιήθηκε η τεχνολογία αντινοήματος και μαθηματικά μοντέλα του μεταβολικού μονοπατιού, τα μη ρυθμιζόμενα ένζυμα μπορούν να ελέγξουν την φωτοσυνθετική ροή του άνθρακα στον κύκλο Calvin-Benson (Zhu et al, 2007, Uematsu et al, 2012). Η υπέρεκφραση της αλδολάσης FBA από φυτά *Arabidopsis*, σε φυτά καπνού (*Nicotiana tabacum L. cv Xanthi*), είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση την ανάπτυξης και της βιομάζας των διαγονιδιακών φυτών, ιδιαίτερα σε συνθήκες υψηλής ατμοσφαιρικής συγκέντρωσης CO<sub>2</sub>. Η αυξημένη συγκέντρωση της FBA οδήγησε στην μείωση του 3-φωσφορογλυκερινικού (3PG) και στην αύξηση της RuBP και των πρόδρομων χημικών ενώσεων στον κύκλο Calvin-Benson, χωρίς την καταγραφή αξιόλογων μεταβολών στην δραστικότητα της Rubisco ή άλλων ενζύμων (Uematsu et al, 2012). Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν από την υπέρεκφραση της αλδολάσης FBA1 σε φυτά *Arabidopsis*, καθώς καταγράφηκε αύξηση της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του άνθρακα και της βιομάζας. Επιπλέον, επιβεβαιώθηκε η θετική συσχέτιση της αφομοίωσης του άνθρακα και των διαφόρων επιπέδων έκφρασης της FBA1, ειδικότερα

σε συνθήκες υψηλής έντασης της φωτεινής ακτινοβολίας (Hatano-Iwasaki and Ogawa, 2012).

Ένα άλλο μη ρυθμιζόμενο ένζυμο του κύκλου Calvin-Benson που ελέγχει την φωτοσυνθετική ροή του άνθρακα είναι η τρανσκετολάση (TK), η οποία καταλύει την μετατροπή της 3-φωσφορικής γλυκεριναλδεΐδης και της 6-φωσφορικής φρουκτόζης ή της 7-φωσφορικής σεδοεπουλόζης σε 5-φωσφορική ξυλουλόζη και σε 4-φωσφορική ερυθρόζη ή σε 5-φωσφορική ριβόζη (Taiz and Zeiger, 2017). Επιπλέον, το ένζυμο συμμετέχει και στον κύκλο των φωσφορικών πεντοζών, λειτουργεί ως ομοδιμερές και για την δράση του απαιτείται η χρήση της πυροφωσφορικής θειαμίνης ως υπόστρωμα. Η αξιολόγηση της επίδρασης της αύξησης της δραστηριότητας του ενζύμου στην φωτοσυνθετική αφομοίωση του άνθρακα, δεν έχει δώσει σαφή αποτελέσματα. Η μικρή μείωση της πλαστιδιακής δραστηριότητας της TK σε φυτά καπνού, οδήγησε στον σημαντικό περιορισμό της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας και των παραγόμενων σακχάρων, γεγονός που επισημαίνει τον πρωτεύοντα ρόλο του ενζύμου στον κύκλο του Calvin-Benson (Henkes et al, 2001). Έτσι, η υπερέκφραση του ενζύμου σε φυτά αγγουριού (*Cucumis sativus* L) είχε ως αποτέλεσμα την αξιολογή αύξηση της φωτοσύνθεσης, του αριθμού των θηλυκών ανθέων, της παραγωγής και της δραστηριότητας άλλων ενζύμων του κύκλου Calvin-Benson, ενώ σε συνθήκες χαμηλών θερμοκρασιών η αρνητική επίδραση στον φωτοσυνθετικό ρυθμό ήταν μικρότερη στα διαγονιδιακά φυτά, σε σχέση με τα φυτά αγρίου τύπου (Bi et al, 2013, Bi et al, 2019). Αντιθέτως, η συνδυασμένη υπερέκφραση της TK και της μικρής υπομονάδας της Rubisco σε φυτά ρυζιού, δεν οδήγησε σε διαφοροποίηση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας σε συνθήκες αυξημένου CO<sub>2</sub> και υψηλής έντασης της ακτινοβολίας (Suzuki et al, 2017). Σύμφωνα με σχετική έρευνα, η υπερέκφραση της TK, πρέπει να συνοδεύεται από ανάλογη επάρκεια της πυροφωσφορικής θειαμίνης (TPP), καθώς η έλλειψη του συγκεκριμένου παράγοντα σε συνθήκες αυξημένης συγκέντρωσης της TK, μπορεί να οδηγήσει σε περιορισμό της φωτοσύνθεσης και άλλων μεταβολικών διεργασιών (Khozaei et al, 2015).

### 8.3.2. Βελτίωση του φωτοαναπνευστικού μηχανισμού

Ενώ η υπερέκφραση της Rubisco δεν επιφέρει την αύξηση της απόδοσης του φωτοσυνθετικού μηχανισμού σε πολλά φυτικά είδη, η ανάλυση των δυναμικών μεταβολικών μοντέλων του φωτοσυνθετικού μεταβολισμού του άνθρακα υποδείκνυε ότι σε κάποιες περιπτώσεις φυτών, ενδέχεται να μην επενδύεται η κατάλληλη ποσότητα πόρων για την βιοσύνθεση της Rubisco και άλλων σημαντικών ενζύμων του κύκλου Calvin-Benson, σε αντίθεση με την περίπτωση του οξειδωτικού φωτοσυνθετικού κύκλου του άνθρακα (κύκλος C2). Όμως, τα αποτελέσματα διαφόρων ερευνούν δείχνουν ότι ο περιορισμός της συγκέντρωσης καθοριστικών ενζύμων της φωτοαναπνευστικής διαδικασίας, επιφέρει την μείωση της καλλιεργητικής απόδοσης (Betti et al, 2016). Έτσι, μία στρατηγική αύξησης της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης του άνθρακα, αποτελεί η αύξηση της ροής του άνθρακα στο φωτοαναπνευστικό μονοπάτι, η οποία μπορεί να περιορίσει την συσσώρευση και την τοξική δράση του 2-φωσφογλυκολικού και του γλυκολικού στους χλωροπλάστες και να επιταχύνει τον ρυθμό επανεισόδου του άνθρακα στον κύκλο Calvin-Benson (South et al, 2018). Πράγματι, η υπερέκφραση των πρωτεϊνικών δομικών στοιχείων του ενζυμικού μιτοχονδριακού συμπλόκου της αποκαρβοξυλάσης της γλυκίνης, GDC-H και GDC-L, σε φυτά *Arabidopsis*, οδήγησε στην αύξηση της φωτοσύνθεσης και της φυτικής ανάπτυξης στην επικρατούσα ατμοσφαιρική συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> (Timm, 2015, Simkin et al, 2017). Επιπλέον, η αύξηση της συγκέντρωσης του GDC-H σε φυτά καπνού περιορίσε την ζημιά του φωτοσυστήματος II σε συνθήκες που επάγουν το φωτοαναπνευστικό στρες (Lopez-Calcano et al, 2018). Αναλόγως, η υπερέκφραση της υδροξυ-μεθυλοτρανσεφάρας της σερίνης, η οποία δρα συνδυαστικά με την αποκαρβοξυλάση της γλυκίνης για την παραγωγή της σερίνης στα μιτοχόνδρια, βελτιώνει την φωτοσυνθετική απόδοση και την παραγωγικότητα σε φυτά ρυζιού, καθώς η σερίνη συμβάλλει στην μεταγραφική ρύθμιση της φωτοαναπνοής (Betti et al, 2016). Έτσι, η βιοτεχνολογική επέμβαση στον ενδογενή φωτοαναπνευστικό μηχανισμό,

σε συνδυασμό με τις ανάλογες ανατομικές τροποποιήσεις για την αύξηση της ανάκτησης του παραγόμενου CO<sub>2</sub> και την διαχείριση των υπολοίπων μεταβολικών διεργασιών που σχετίζονται με την φωτοαναπνοή, μπορεί να συνεισφέρει σημαντικά στην άνοδο της καλλιεργητικής απόδοσης τόσο στις παρούσες όσο και στις μελλοντικές κλιματολογικές συνθήκες (South et al, 2018).

Η εγκατάσταση εναλλακτικών και ενεργειακά οικονομικότερων μεταβολικών μονοπατιών για την ανακύκλωση του 2-φωσφογλυκολικού, αποτελεί μία διαφορετική προσέγγιση με ανάλογη στόχευση. Συνολικά, 2 ξεχωριστά βιοχημικά μονοπάτια έχουν εγκατασταθεί επιτυχώς σε διάφορα φυτικά είδη, επιτυγχάνοντας την αύξηση της φυτικής βιομάζας (Betti et al, 2016). Στην πρώτη περίπτωση, μέσω της εισαγωγής του καταβολικού μονοπατιού από το βακτήριο *Escherichia coli*, το γλυκολικό μετατράπηκε σε γλυκερικό στους χλωροπλάστες των φυτικών ειδών *Arabidopsis thaliana*, *Camelina sativa* και *Solanum tuberosum*, περιορίζοντας τις υπεροξυσωματικές και μιτοχονδριακές αντιδράσεις της φωτοαναπνοής. Μέσω της συγκεκριμένης μεθόδου καταναλώνεται μικρότερη ποσότητα ATP, αποφεύγεται η παραγωγή NH<sub>3</sub> ενώ η απελευθέρωση του CO<sub>2</sub> πραγματοποιείται σε μικρή απόσταση από την Rubisco. Αξιόλογα αποτελέσματα προκύπτουν και από την εισαγωγή μόνο ενός ενζυμικού παράγοντα του καταβολικού μονοπατιού, της αφυδρονάσης του γλυκολικού, η οποία καταλύει την αντίδραση μετασχηματισμού του γλυκολικού σε γλυοξυλικό (Kebeish et al, 2007, Nölke et al, 2014, Dalal et al, 2015). Στην δεύτερη περίπτωση, πραγματοποιήθηκε η εισαγωγή ενός πλήρους καταβολικού κύκλου σε φυτά *Arabidopsis thaliana*, για την αποκαρβοξυλίωση του γλυκολικού στους χλωροπλάστες. Το μονοπάτι περιλαμβάνει την οξειδάση του γλυκολικού, η έκφραση της οποίας πραγματοποιείται φυσιολογικά στα υπεροξεισώματα και είναι υπεύθυνη για την αποκαρβοξυλίωση του γλυκολικού, την συνθάση του μηλικού και μία ενζυμική καταλάση εξαιτίας την παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου. Έτσι, αν και το συγκεκριμένο μεταβολικό μονοπάτι δαπανά μεγαλύτερα ποσά ενέργειας σε σχέση με τον ενδογενή φωτοαναπνευστικό μηχανισμό, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στην

παραγωγή της φυτικής βιομάζας (Maier et al, 2012). Η χρήση άλλων εναλλακτικών μονοπατιών έχει δώσει περιορισμένα αποτελέσματα ή έχει δοκιμαστεί σε μη φυτικούς οργανισμούς. Γενικότερα, ο αριθμός των εναλλακτικών μονοπατιών που έχουν μελετηθεί είναι πολύ περιορισμένος σε σχέση με το πλήθος των μεταβολικών οδών που θα μπορούσαν να βελτιώσουν την φωτοαναπνευστική διαδικασία (South et al, 2018).

### **8.3.3. Μεταφορά του C4 φωτοσυνθετικού μηχανισμού σε C3 φυτά**

Η εισαγωγή του C4 μηχανισμού στα C3 φυτά, αποτελεί ένα πολύ φιλόδοξο βιοτεχνολογικό στόχο, η επίτευξη του οποίου προσκρούει σε σημαντικές δυσκολίες. Εξαιρώντας την περίπτωση των πολύ περιορισμένων C4 φυτικών ειδών που διεκπεραιώνουν την φωτοσυνθετική διαδικασία σε ένα μόνο κυτταρικό τύπο (Sharpe and Offermann, 2014), ο C4 φωτοσυνθετικός μηχανισμός χαρακτηρίζεται από ένα πολύπλοκο συνδυασμό βιοχημικών και ανατομικών εξειδικεύσεων (Ermakova et al, 2019), οι οποίες οδηγούν στην αύξηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης μέσω του περιορισμού της αναπνευστικής δραστηριότητας και της αποδοτικότερης χρήσης των θρεπτικών και υδατικών αποθεμάτων. Η αναπαραγωγή και εγκατάσταση του συγκεκριμένου φωτοσυνθετικού προτύπου στα C3 φυτά, εξαρτάται την επιτυχή εφαρμογή των παρακάτω κύριων σταδίων:

α) Δημιουργία μεγαλύτερων νευρώσεων και αγγείων, η οποία προϋποθέτει την ανάπτυξη του προκάμβιου στα μεριστώματα των νεαρών φύλλων.

β) Αύξηση της αναλογίας των κυττάρων της δέσμης του κολεού, σε σχέση με τα κύτταρα του μεσοφύλλου. Η επιθυμητή αρχιτεκτονική του συγκεκριμένου σχεδιασμού είναι η ομόκεντρη οργάνωση των κυττάρων σε αναλογία 1:1, όπως στην περίπτωση των C4 φυτών του καλαμποκιού και του σόργου.



γ) Τροποποίηση της μορφολογίας των κυττάρων της δέσμης του κολεού. Τα συγκεκριμένα κύτταρα των C4 φυτών είναι ευμεγέθη και διαθέτουν μεγαλύτερο αριθμό χλωροπλαστών σε σχέση με τα αντίστοιχα κύτταρα των C3 φυτών. Επιπλέον, είναι συνδεδεμένα με τα γειτονικά κύτταρα του μεσοφύλλου μέσω των πλασμοσυνδέσμων, διαμέσου των οποίων πραγματοποιείται η ροή των μεταβολιτών.

δ) Σχηματισμός διαφορετικού τύπου χλωροπλαστών στα κύτταρα της δέσμης του κολεού και του μεσοφύλλου. Στην C4 φωτοσύνθεση, οι χλωροπλάστες των κυττάρων της δέσμης του κολεού συσσωρεύουν άμυλο, συχνά κατανέμονται φυγοκεντρικά και περιέχουν πληθώρα θυλακοειδών που δεν σχηματίζουν συσσωματώματα. Οι χλωροπλάστες των κυττάρων του μεσοφύλλου παρουσιάζουν μεγάλες ομοιότητες με τους χλωροπλάστες των C3 φυτών, ενώ δεν περιέχουν άμυλο.

ε) Διαμερισματοποίηση των φωτοσυνθετικών ενζύμων μεταξύ των κυττάρων της δέσμης του κολεού και του μεσοφύλλου, η οποία περιλαμβάνει τον περιορισμό της Rubisco και των περισσότερο ενζύμων του κύκλου Calvin-Benson στα κύτταρα της δέσμης του κολεού (Schuler et al, 2016).

Ενώ ο αριθμός των παραγόντων που απαιτούν ανάλογη τροποποίηση είναι μεγάλος και τα βιοχημικά μονοπάτια που σχετίζονται με τις συγκεκριμένες διεργασίες είναι πολύπλοκα, η συνεχής ανάπτυξη νέων τεχνολογιών στην γενετική μηχανική περιορίζει σταδιακά τις τεχνικές δυσκολίες της επίτευξης του συγκεκριμένου στόχου. Επιπλέον, η ύπαρξη ενός ελπιδοφόρου γενετικού υποβάθρου στον C3 μηχανισμό, ενθαρρύνει την επιστημονική κοινότητα:

α) Τα κύρια ένζυμα του δικυτταρικού μηχανισμού συγκέντρωσης του άνθρακα υπάρχουν ήδη στα C3 κύτταρα. Αρκετά από αυτά εκτελούν άλλες διεργασίες και συμμετέχουν στις λειτουργίες του βασικού μεταβολισμού.

β) Αρκετά χαρακτηριστικά του C4 φωτοσυνθετικού μηχανισμού εντοπίζονται και στα C3 φυτά. Για παράδειγμα, τυπικά C3 φυτά όπως ο καπνός, διαθέτουν μηχανισμό μεταφοράς του άνθρακα στα κύτταρα των στελεχών και των μίσχων που περιβάλλουν το αγγειακό σύστημα, ο οποίος παρουσιάζει μεγάλες ομοιότητες με τον αντίστοιχο μηχανισμό μεταφοράς του άνθρακα στα C4 φυτά.

γ) Η C4 φωτοσύνθεση έχει εξελιχθεί ανεξάρτητα τουλάχιστον 66 φορές σε 18 οικογένειες φυτικών ειδών, το οποίο υποδεικνύει ότι η γενετική μετατροπή των C3 φυτών σε C4 είναι εφικτή, καθώς τα βιοχημικά χαρακτηριστικά της C4 φωτοσύνθεσης πιθανώς εξελίχθηκαν μέσω της τροποποίησης και της αφομοίωσης των C3 γονιδίων στον καινούριο C4 φωτοσυνθετικό μηχανισμό (Schuler et al, 2016).

Τα δεδομένα που προέκυψαν από την γονιδιακή και μεταγραφική ανάλυση κάποιων μελών των Οικογενειών Cleomaceae και Brassicaceae, δείχνουν ότι ο C4 μηχανισμός δεν αναπτύχθηκε λόγω του επαναπροσδιορισμού της λειτουργίας ορισμένων πρωτεϊνών, αλλά εξαιτίας των συμβάντων διπλασιασμού του γονιδιώματος (genome duplication), τα οποία οδήγησαν στην διαφοροποίηση της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Έτσι, πολλά από τα C4 γονίδια ενδέχεται να είναι ήδη οργανωμένα σε ρεγουλόνια (regulons) σε C3 φυτά και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την μετάβαση από τον C3 στον C4 μηχανισμό (Schuler et al, 2016).

Το Διεθνές Πρόγραμμα “ρύζι C4” αποτελεί την πλέον οργανωμένη προσπάθεια μεταφοράς του φωτοσυνθετικού μηχανισμού C4 σε ένα C3 φυτό. Κατά την ίδρυση του προγράμματος το 2008, ο ρόλος ενός μεγάλου αριθμού γονιδίων που κωδικοποιούσαν σημαντικές πρωτεΐνες του C4 μηχανισμού ήταν ήδη επιβεβαιωμένος και η έκφραση κάποιων πρωτεϊνικών παραγόντων είχε ήδη πραγματοποιηθεί στα κύτταρα του μεσοφύλλου σε φυτά ρυζιού (Miyao et al. 2011). Ο στόχος του συγκεκριμένου προγράμματος είναι η εγκατάσταση του δικυτταρικού μηχανισμού C4 σε φυτά ρυζιού και

όχι η συσσώρευση των κύριων παραγόντων του C4 φωτοσυνθετικού μηχανισμού στα κύτταρα του μεσοφύλλου των C3 φυτών. Πράγματι, η διαμερισματοποίηση των φωτοσυνθετικών σταδίων της C4 φωτοσύνθεσης οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης του μηχανισμού (Wang et al, 2016). Κατά τα πρώτα έτη του προγράμματος, οι διαθέσιμες τεχνικές της γενετικής μηχανικής περιόριζαν την αθροιστική μεταφορά των γονιδίων που συνθέτουν τα 5 κύρια βασικά ένζυμα του C4 μηχανισμού, καθώς και των απαραίτητων παραγόντων μεταφοράς. Η επίτευξη του συγκεκριμένου στόχου σε φυτά ρυζιού της ποικιλίας *indica* (*Oryza sativa* var. *Indica*) ήταν μία χρονοβόρος διαδικασία η οποία διήρκησε 6 χρόνια. Επιπλέον, η μη ύπαρξη ενός καλά μελετημένου C4 γενετικού μοντέλου σε αντιστοιχία με το C3 φυτό *Arabidopsis thaliana*, επιβραδύνει την συλλογή και την αξιολόγηση των απαραίτητων γενετικών και βιοχημικών πληροφοριών (Schuler et al, 2016). Ακόμα, ενώ η συγκριτική μελέτη των γονιδιακής έκφρασης μεταξύ των κυττάρων C3 και C4 φυτών, έχει οδηγήσει στον εντοπισμό διαφόρων μεταβολικών μεταφορέων και μεταγραφικών παραγόντων που μπορούν να αξιοποιηθούν για την τροποποίηση του C3 φωτοσυνθετικού μηχανισμού, η εξασφάλιση περισσότερων συγκριτικών δεδομένων είναι αναγκαία (Wang et al, 2017b). Πλέον, η πρόσφατη ανάπτυξη νέων εργαλείων της συνθετικής βιολογίας και η χρήση ποικιλιών με κατάλληλα βιολογικά χαρακτηριστικά, μειώνουν σημαντικά τον χρόνο εφαρμογής των σχεδιασμών του προγράμματος (Ermakova et al, 2019). Ταυτόχρονα, σταδιακά αναγνωρίζεται η συμβολή περισσότερων γονιδίων και μεταγραφικών παραγόντων στην πιθανή ολοκλήρωση των επιθυμητών σταδίων, όπως της ρύθμιση της αφθονίας, της ανάπτυξης και της διαφοροποίησης των χλωροπλαστών και των μιτοχονδρίων στα κύτταρα της δέσμης του κολεού και της αύξησης του αριθμού των πλασμοσυνδέσμων μεταξύ των κυττάρων του μεσοφύλλου και της δέσμης του κολεού (Wang et al, 2017a, Ermakova et al, 2019).

## 9. Εγκλιματισμός και αντοχή στις αβιοτικές καταπονήσεις

Η φυτική ανάπτυξη και η παραγωγικότητα των καλλιεργειών, εξαρτώνται από μία πληθώρα φυσικών και χημικών αβιοτικών παραγόντων, οι οποίοι παρουσιάζουν χρονικές ή/και χωρικές διακυμάνσεις. Οι αποκλίσεις των κύριων αβιοτικών παραμέτρων, όπως η ένταση και διάρκεια του φωτός, η διαθεσιμότητα της εδαφικής υγρασίας, η ατμοσφαιρική συγκέντρωση του CO<sub>2</sub>, η συγκέντρωση και η διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος καθώς και η μέγιστη και η ελάχιστη τιμή της θερμοκρασίας, από το σύνηθες εύρος των διακυμάνσεων τους ή τα βέλτιστα όρια ανάπτυξης, επιφέρουν αρνητικές βιοχημικές και φυσιολογικές επιπτώσεις στα φυτά (Taiz and Zeiger, 2017). Η αβιοτική καταπόνηση καθορίζει τα επίπεδα της αγροτικής παραγωγής, καθώς ευθύνεται για ένα μεγάλο ποσοστό των απωλειών σε συνθήκες αγρού, συγκριτικά με την γενετικά καθοριζόμενη μέγιστη απόδοση κάθε καλλιεργούμενου φυτού. Ταυτόχρονα, οι φυτικοί οργανισμοί χρησιμοποιούν μία ποικιλία μηχανισμών αντίληψης της αβιοτικής καταπόνησης, αντιδρώντας στην ύπαρξη ενός ή περισσότερων παραγόντων καταπόνησης στο περιβάλλον. Αναλόγως, διαθέτουν έναν αριθμό στρατηγικών για την αντιμετώπιση της καταπόνησης (διαφυγή, ανθεκτικότητα και αποφυγή), παρουσιάζοντας αρκετά συχνά ευελιξία στην υιοθέτηση της κατάλληλης στρατηγικής, ανάλογα με το στάδιο του βιολογικού κύκλου (Καραμπουρνιώτης et al, 2012).

Η κλιματική αλλαγή συνεισφέρει στην αύξηση της αβιοτικής καταπόνησης στην γεωργία, κυρίως μέσω της ανόδου της θερμοκρασίας, της μεταβολής της συχνότητας και της έντασης της βροχόπτωσης, η οποία οδηγεί στην υδατική καταπόνηση (ξηρασία ή υποξία/ανοξία), καθώς και της εκδήλωσης φαινομένων υψηλής εδαφικής ιοντικής συγκέντρωσης (αλατότητα), εξαιτίας της ανόδου της στάθμης των θαλάσσιων υδάτων, της υφαλμύρωσης του αποθεμάτων γλυκού νερού στις παραθαλάσσιες περιοχές και των γενικότερων αυξημένων αναγκών άρδευσης. Η σταδιακή συσσώρευση της γνώσης των μοριακών μηχανισμών και του γενετικού υποβάθρου που σχετίζεται με την απόκριση των φυτών στην αβιοτική καταπόνηση, έχει οδηγήσει στην συνεχή αύξηση των ερευνών για

την ανάπτυξη βιοτεχνολογικών εφαρμογών που προσδίδουν αντοχή στις συγκεκριμένες καταπονήσεις, ενώ ένας μικρός αριθμός εφαρμογών έχει ήδη κυκλοφορήσει εμπορικά ή έχει αποκτήσει σχετική άδεια από τις αρμόδιες ρυθμιστικές αρχές κάποιων χωρών.

### 9.1. Συμβατοί Οσμωλύτες

Η σύνθεση και η συσσώρευση ενός αριθμού οσμωτικά ενεργών μεταβολιτών, αποτελεί μία απόκριση και στρατηγική εγκλιματισμού στην ξηρασία, στην αλατότητα και σε άλλες μορφές αβιοτικών καταπονήσεων. Οι συγκεκριμένοι μεταβολίτες αποτελούν μη τοξικά μόρια, τα οποία ονομάζονται και συμβατοί οσμωλύτες, καθώς η συσσώρευση τους δεν επιδρά στον κυτταρικό μεταβολισμό και δεν επιφέρει μεταβολικές δυσλειτουργίες. Η ενεργή αύξηση της συγκέντρωσης τους οδηγεί στην οσμωτική εξισορρόπηση και την διατήρηση της σπαργής, μέσω της μείωσης του οσμωτικού δυναμικού των ιστών και της αύξησης της πρόσληψης νερού. Επιπλέον, οι συμβατοί οσμωλύτες συνεισφέρουν στην προστασία των κυτταρικών μεμβρανών, στην σταθεροποίηση ενζυμικών/πρωτεϊνικών μορίων και στην απομάκρυνση των ενεργών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS). Η ομάδα των οσμωτικά ενεργών ουσιών, αποτελείται από μόρια μικρού μοριακού βάρους και υψηλής διαλυτότητας, όπως ανόργανα ιόντα ( $K^+$ ), οργανικές ενώσεις όπως αμινοξέα (προλίνη), σακχαροαλκοολές (μαννιτόλη, σορβιτόλη, πινιτόλη) και ενώσεις του τεταρτοταγούς αμμωνίου (βεταΐνη της γλυκίνης, βεταΐνη της προλίνης και βεταΐνη της αλανίνης). Οι τύποι των συντιθέμενων συμβατών οσμωλυτών (συνήθως ένας ή δύο), συχνά χαρακτηρίζουν τις φυτικές οικογένειες και αποτελούν ένα πρόσθετο ταξινομικό κριτήριο (Καραμπουρνιώτης et al, 2012, Taiz and Zeiger, 2017).

### 9.1.1. Προλίνη

Η προλίνη αποτελεί ένα από τα πρωτεϊνογενετικά αμινοξέα, χαρακτηρίζεται από την δομική της ακαμψία, έχει σημαντική συνεισφορά στην ρύθμιση της δευτεροταγούς δομής των πρωτεϊνών και είναι απαραίτητη για τον βασικό μεταβολισμό των φυτών. Η συσσώρευση της προλίνης υπό συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης, όπως η υδατική ανεπάρκεια, η αλατότητα, οι ακραίες θερμοκρασιακές τιμές, η παρουσία βαρέων μετάλλων και η υψηλή ένταση της υπεριώδους ακτινοβολίας, αποτελεί μία κοινή φυσιολογική αντίδραση σε ένα μεγάλο αριθμό φυτικών ειδών (Hayat et al, 2012). Το συγκεκριμένο αμινοξύ συμμετέχει στην διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης μέσω της ρύθμισης του οσμωτικού δυναμικού, της σταθεροποίησης διαφόρων υποκυτταρικών δομών (κυτταρικές μεμβράνες, πρωτεΐνες), της ρύθμισης του κυτταροπλασματικού pH και της εξισορρόπησης του οξειδοαναγωγικού δυναμικού, της αύξησης της δραστηριότητας σημαντικών αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και η υπεροξειδάση (POD), της διατήρησης της κατάλληλης αναλογίας  $NADP^+/NADPH$  για τον μεταβολισμό, της προστασίας του φωτοσυνθετικού μηχανισμού μέσω της σταθεροποίησης της μεταφοράς ηλεκτρονίων στο φωτοσύστημα II, καθώς και ως σηματοδοτικός παράγοντας για την ενεργοποίηση άλλων μηχανισμών εγκλιματισμού στην αβιοτική καταπόνηση (Hayat et al, 2012, Kaur and Asthir, 2015).

Στους φυτικούς οργανισμούς, οι πρόδρομες έννοιες για την βιοσύνθεση της προλίνης είναι το L-γλουταμινικό οξύ και η L-ορνιθίνη. Εντούτοις, η βασική πρόδρομη ένωση είναι το L-γλουταμινικό οξύ, καθώς το κύριο ένζυμο του μονοπατιού της L-ορνιθίνης (δέλτα αμινοτρανσφεράση της ορνιθίνης), είναι μειορυθμισμένο (downregulated). Τα ένζυμα που διαδραματίζουν το σημαντικότερο ρόλο στο μονοπάτι της βιοσύνθεσης της προλίνης από το L-γλουταμινικό οξύ είναι η 5-καρβοξυλική συνθετάση της πυρολλίνης (P5CS) και η 5-καρβοξυλική αναγωγή της πυρολλίνης (P5CR). Κατά το συγκεκριμένο μονοπάτι, το L-

γλουταμινικό οξύ ανάγεται μέσω της P5CS σε γλουταμινική ημιαλδεΰδη (GSA), η οποία μετατρέπεται σε 5-καρβοξυλική πυρολλίνη (P5C). Ακολούθως, η P5C ανάγεται μέσω της P5CR, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό της προλίνης. Η ταυτοποίηση των γονιδίων που κωδικοποιούν τα ένζυμα P5CS και P5CR έχει πραγματοποιηθεί σε ένα πλήθος φυτικών ειδών, ενώ στα περισσότερα από αυτά τα φυτικά είδη η P5CS κωδικοποιείται από 2 γονίδια (P5CS1 και P5CS2) και η P5CR από ένα γονίδιο. Κατά την σύνθεση της προλίνης μέσω του εναλλακτικού μονοπατιού της L-ορνιθίνης, η πρόδρομη ένωση μετατρέπεται σε GSA μέσω του ενζύμου δέλτα αμινοτρανσφεράση της ορνιθίνης. Στην συνέχεια, η GSA μετατρέπεται σε P5C και ακολουθεί η σύνθεση της προλίνης μέσω του ενζύμου P5CR (Kishor et al, 2005). Τα ένζυμα των ανωτέρω μονοπατιών βιοσύνθεσης της προλίνης, αποτελούν αξιόλογους στόχους της βιοτεχνολογικής έρευνας για την αύξηση της συσσώρευσης του αμινοξέως στους φυτικούς ιστούς και την επίτευξη του εγκλιματισμού των φυτών στην αβιοτική καταπόνηση.

Η υπερέκφραση του γονιδίου P5CS, έχει οδηγήσει στην αύξηση της αντοχής και στην άνοδο της παραγωγικότητας υπό συνθήκες οσμωτικής καταπόνησης, σε οικονομικά σημαντικές καλλιέργειες όπως το σιτάρι, η πατάτα, το ρύζι και ο καπνός, σύμφωνα με έναν αξιόλογο αριθμό ερευνών (Gosal, et al, 2005, Amini et al, 2015, Singh et al, 2017). Παραδειγματικά, η έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την P5CS1 από φυτά *Arabidopsis thaliana* σε φυτά καπνού, υπό τον υποκινητή CaMV35S, οδήγησε στην αύξηση της συσσώρευσης της προλίνης στα διαγονιδιακά φυτά κατά 1,5 έως 4 φορές σε σχέση με τα συμβατικά φυτά καπνού. Κατά τα πρώτα αναπτυξιακά στάδια και σε συνθήκες υψηλής αλατότητας, τα διαγονιδιακά φυτά παρουσίασαν αυξημένη βιομάζα, ταχύτερη ανάπτυξη και υψηλότερο ρυθμό αύξησης του ριζικού συστήματος (Ibragimova et al, 2015). Αντιστοίχως, η έκφραση του γονιδίου P5CSF129A από το φυτό *Vigna aconitifolia* σε φυτά *Sorghum bicolor*, περιόρισε την μείωση του περιεχομένου της χλωροφύλλης, της δραστηριότητας του φωτοσυστήματος II και της στοματικής αγωγιμότητας, σε συνθήκες υψηλής αλατότητας. Τα διαγονιδιακά φυτά παρουσίασαν μικρότερο περιεχόμενο

μαλονδιαλδεΰδης (MDA) και αυξημένη δραστηριότητα της SOD, της καταλάσης (CAT) και της ρεδοκτάσης της γλουταθειώνης (GR) (Reddy et al, 2015). Αναλόγως, η έκφραση του γονιδίου P5CS από φυτά *Vigna aconitifolia* σε φυτά *Saccharum spp*, αύξησε την συγκέντρωση της προλίνης στα διαγονιδιακά φυτά, μείωσε το περιεχόμενο της MDA και την συσσώρευση του Na<sup>+</sup> στα φύλλα και συνέβαλε στην προστασία του φωτοσυνθετικού μηχανισμού (Guerzoni et al, 2014). Σε αντιστοιχία με το γονίδιο P5CS, η υπερέκφραση του γονιδίου P5CR από φυτά *Triticum aestivum* σε φυτά *Arabidopsis thaliana*, προήγαγε την αντοχή στην αλατότητα αυξάνοντας την συσσώρευση της προλίνης, την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος και την προστασία των αντιοξειδωτικών μηχανισμών (Ma et al, 2008). Στην περίπτωση της δέλτα αμινοτρανσφεράσης της ορνιθίνης, η υπερέκφραση του ενζύμου από το φυτό *Arabidopsis thaliana* σε φυτά *Nicotiana plumbaginifolia*, οδήγησε στην άνοδο της συσσώρευσης της προλίνης, της βιομάζας και του ρυθμού βλάστησης σε συνθήκες οσμωτικής καταπόνησης (Roosens et al, 2002). Επιπλέον, η υπερέκφραση του γονιδίου OsOAT σε φυτά *Oryza sativa*, αύξησε την δραστηριότητα του ενζύμου και την αντοχή των διαγονιδιακών φυτών στην οξειδωτική καταπόνηση. Το περιεχόμενο της γλουταθειώνης, καθώς και άλλως ενζύμων του αντιοξειδωτικού μηχανισμού, παρουσίασε αξιόλογη άνοδο ενώ τα διαγονιδιακά φυτά απέκτησαν ικανοποιητική αντοχή στην οσμωτική και την υδατική καταπόνηση (You et al, 2012).

Εκτός από την de novo σύνθεση της προλίνης, η αναστολή ή ο περιορισμός της αποδόμησης της αποτελεί έναν ακόμα μηχανισμό που συνεισφέρει στην συσσώρευση του συγκεκριμένου αμινοξέος υπό συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης (Kaur and Asthir, 2015). Ενώ η έκφραση των κύριων γονιδίων που κωδικοποιούν τα ένζυμα των μονοπατιών βιοσύνθεσης της προλίνης, αυξάνεται κατά την επικράτηση συνθηκών αβιοτικής καταπόνησης, η μεταγραφή των ενζύμων που εμπλέκονται στον μηχανισμό αποδόμησης, περιορίζεται υπό τις αντίστοιχες συνθήκες. Κατά την διαδικασία αποδόμησης, η προλίνη οξειδώνεται σε P5C από το ένζυμο αφυδρογονάση της προλίνης (PDH), η οποία είναι γνωστή και ως οξειδάση της προλίνης (POX). Ακολούθως, η P5C μετατρέπεται σε



γλουταμινικό οξύ μέσω της αφυδρογονάσης της P5C (P5CDH) (Kishor et al, 2014). Έτσι, καθώς η ισορροπία μεταξύ της βιοσύνθεσης και της αποδόμησης της προλίνης, καθορίζει τον βαθμό του εγκλιματισμού στην οσμωτική καταπόνηση, η μείωση της δραστηριότητας των ενζύμων PDH και P5CDH οδηγεί στην αύξηση της συσσώρευσης του αμινοξέως στους φυτικούς ιστούς. Πράγματι, η μερική σίγαση του γονιδίου PDH σε φυτά καπνού, μέσω της έκφρασης μία ομόλογης περιοχής της PDH από φυτά *Arabidopsis thaliana* σε κατεύθυνση αντινοήματος, υπό τον υποκινητή CaMV35S, αύξησε την συσσώρευση προλίνης και την αντοχή των νεαρών φυτών στην υψηλή θερμοκρασία, την αλατότητα και την υδατική ανεπάρκεια (Kochetov et al, 2004, Kolodyazhnaya et al, 2006, Ibragimova et al, 2012). Στην περίπτωση της P5CDH, ο περιορισμός της δραστηριότητας του ενζύμου μπορεί να επιτευχθεί μέσω της καταστολής του αντίστοιχου γονιδίου, αξιοποιώντας τα φυσικά μικρά παρεμβαλλόμενα RNAs (siRNAs), των οποίων η έκφραση σε φυτά *Arabidopsis thaliana* αποτελεί απόκριση στην αβιοτική καταπόνηση και καθορίζει την συσσώρευση της προλίνης και των ROS (Borsani et al, 2005).

### 9.1.2. Βεταΐνη της Γλυκίνης

Η Βεταΐνη της Γλυκίνης (ΒΓ) αποτελεί έναν από τους εκτενέστερα μελετημένους συμβατούς οσμωλύτες, ο οποίος εντοπίζεται σε έναν μεγάλο αριθμό βακτηρίων, αρχαίων, υδρόβιων ασπόνδυλων, φυτών και θηλαστικών. Όπως και στην περίπτωση άλλων συμβατών οσμωλυτών, η ΒΓ ασκεί προστατευτική δράση έναντι της οσμωτικής καταπόνησης μέσω της οσμωρύθμισης, της σταθεροποίησης των κυτταρικών μεμβρανών και των πρωτεϊνικών μορίων, της προστασίας του φωτοσυνθετικού μηχανισμού και της εξισορρόπησης του οξειδοαναγωγικού δυναμικού. Επιπλέον, η συσσώρευση της ΒΓ στους φυτικούς οργανισμούς υπό συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης, περιορίζει την απώλεια της καλλιεργητικής απόδοσης μέσω της προστασίας των αναπαραγωγικών οργάνων (Giri et al, 2011). Η ικανότητα σύνθεσης της ΒΓ διαφοροποιείται μεταξύ των φυτικών οργανισμών. Η

αβιοτική καταπόνηση επάγει την σύνθεση της ΒΓ σε έναν σημαντικό αριθμό φυτικών ειδών όπως το καλαμπόκι, ενώ άλλα είδη μεγάλης οικονομικής σημασίας, όπως το ρύζι, δεν διαθέτουν την ικανότητα σύνθεσης της ΒΓ σε αξιόλογη ποσότητα, αναφορικά με τις φυσιολογικές διεργασίες. Αντιθέτως, στην περίπτωση των αλοφύτων, τα οποία μπορούν να αναπτύσσονται σε υψηλά επίπεδα εδαφικής αλατότητας, καταγράφεται σύνθεση της ΒΓ χωρίς την επικράτηση συνθηκών αβιοτικής καταπόνησης, για τα συγκεκριμένα είδη (Mäkelä et al, 2019).

Η σύνθεση της ΒΓ πραγματοποιείται μέσω δύο γνωστών βιοσυνθετικών μονοπατιών. Στην πλειοψηφία των βιολογικών συστημάτων, συμπεριλαμβανομένων των φυτικών οργανισμών, η ΒΓ συντίθεται μέσω της οξειδωσης της χολίνης. Κατά το δεύτερο μονοπάτι, το οποίο εντοπίζεται μόνο σε βακτηριακούς οργανισμούς, η σύνθεση της ΒΓ πραγματοποιείται μέσω της μεθυλίωσης της γλυκίνης. Στην περίπτωση του βιοσυνθετικού μονοπατιού οξειδωσης της χολίνης, η οξειδωτική αντίδραση ολοκληρώνεται σε δύο διακριτά στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο πραγματοποιείται η σύνθεση της αλδεΐδης της βεταΐνης μέσω της δράσης του ενζύμου μονοοξυγενάση της χολίνης (CMO) στα φυτά ή του ενζύμου αφυδρογονάση της χολίνης (CDH, το οποίο κωδικοποιείται από το γονίδιο *betA*) στους ζωικούς και βακτηριακούς οργανισμούς. Κατά το δεύτερο στάδιο, η οξειδωση της αλδεΐδης της βεταΐνης σε ΒΓ καταλύεται από το ένζυμο  $\text{NAD}^+$ -εξαρτώμενη αφυδρογονάση της αλδεΐδης της βεταΐνης (BADH). Ακόμα, η σύνθεση της ΒΓ σε κάποια εδαφικά βακτηριακά του Γένους *Arthrobacter*, πραγματοποιείται σε ένα μόνο στάδιο από το ένζυμο οξειδάση της χολίνης, η οποία κωδικοποιείται από το γονίδιο *codA* (Chen and Murata, 2011, Castiglioni et al, 2018). Καθώς τα συγκεκριμένα ένζυμα ρυθμίζουν την απόδοση των μονοπατιών σύνθεσης της ΒΓ, η βιοτεχνολογική αύξηση του περιεχομένου τους στα φυτικά κύτταρα έχει οδηγήσει στην μεγέθυνση της αντοχής αρκετών φυτικών ειδών στην αβιοτική καταπόνηση.

Η υπερέκφραση του ενζύμου CMO από το φυτό *Spinacia oleracea* σε φυτά *Oryza sativa*, είχε ως αποτέλεσμα την αξιόλογη συσσώρευση της ΒΓ κατά 0,29–0,43  $\mu\text{mol}$  ανά γραμμάριο ξηρού βάρους, η οποία οδήγησε στην επίτευξη αντοχής στην αλατότητα και την θερμική καταπόνηση στο στάδιο του νεαρού σποροφύτου. Τα συμβατικά φυτά ρυζιού δεν διαθέτουν την ικανότητα σύνθεσης της ΒΓ, παρόλο που στο γονιδίωμα τους περιέχεται ένα γονίδιο για την CMO, ενώ διαθέτουν 2 γονίδια για την BADH (Shirasawa et al, 2006). Ωστόσο, η υπερέκφραση του γονιδίου CMO από το φυτό *Oryza sativa* (OsCMO), σε φυτά *Nicotiana tabacum*, αύξησε το περιεχόμενο της ΒΓ και την αντοχή στην αλατότητα. Η παρουσία λειτουργικών OsCMO πρωτεϊνών στους ιστούς των διαγονιδιακών φυτών καπνού, σε αντίθεση με την περίπτωση των φυτών ρυζιού αγρίου τύπου στα οποία εντοπίζεται σημαντική ποσότητα κατατμημένων πρωτεϊνών OsCMO υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας, υποδεικνύει ότι η απουσία συσσωρευμένης ΒΓ στο ρυζί δεν οφείλεται σε μη λειτουργικό γονίδιο CMO (Luo et al, 2012). Αναλόγως, η υπερέκφραση του ενζύμου BvCMO από το φυτό *Beta vulgaris* σε φυτά *Nicotiana tabacum*, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της αντοχής των διαγονιδιακών φυτών στην αλατότητα και την ξηρασία (Zhang, 2008). Στην περίπτωση της BADH, η υπερέκφραση του ενζύμου από το φυτό *Atriplex hortensis* σε φυτά *Triticum aestivum*, οδήγησε στην συσσώρευση της ΒΓ και την προστασία του φωτοσυνθετικού μηχανισμού σε συνθήκες αυξημένης θερμοκρασίας και υδατικής καταπόνησης (Wang et al, 2010). Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν και από την υπερέκφραση της BADH από το φυτό *Spinacia oleracea* σε φυτά *Nicotiana tabacum*, υπό συνθήκες θερμικής καταπόνησης (Yang et al, 2005) και υψηλής αλατότητας (Yang et al, 2008).

Σε αντιστοιχία με τα ένζυμα φυτικής προέλευσης CMO και BADH, η υπερέκφραση των βακτηριακών γονιδίων *codA* και *betA* σε ένα ικανοποιητικό αριθμό φυτικών ειδών, έχει οδηγήσει σε ενθαρρυντικά αποτελέσματα σχετικά με την προσαρμογή στην αβιοτική καταπόνηση (Chen and Murata, 2011). Η υπερέκφραση του γονιδίου *codA* από το βακτήριο *Arthrobacter globiformis* σε φυτά *Medicago sativa*, υπό τον υποκινητή SWPA2,

προσέφερε αντοχή στην αλατότητα, διατηρώντας ικανοποιητικό περιεχόμενο χλωροφύλλης και χαμηλές συγκεντρώσεις MDA. Σε συνθήκες ξηρασίας, τα διαγονιδιακά φυτά παρουσίασαν υψηλό υδατικό περιεχόμενο και αυξημένη συσσώρευση ΒΓ και προλίνης (Li et al, 2014). Η υπερέκφραση του ίδιου γονιδίου σε φυτά *Lycopersicon esculentum*, προήγαγε την αντοχή στην αλατοτότητα κατά το στάδιο της βλάστησης των σπόρων και την ανάπτυξης των σποροφύτων. Τα ώριμα φύλλα των διαγονιδιακών φυτών παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις ΒΓ και προλίνης και αυξημένο περιεχόμενο χλωροφύλλης και νερού σε σχέση με τα συμβατικά φυτά, υπό συνθήκες υψηλής αλατότητας και υδατικής καταπόνησης (Goel et al, 2011). Στην περίπτωση των διαγονιδιακών φυτών *Solanum tuberosum*, η υπερέκφραση του γονιδίου *codA* αύξησε την συσσώρευση της ΒΓ, περιόρισε την φθορά των κυτταρικών μεμβρανών σε συνθήκες οξειδωτικής καταπόνησης και ενίσχυσε την αντοχή στην αλατότητα και την υδατική καταπόνηση στο σύνολο των φυτικών ιστών. Τα διαγονιδιακά φυτά παρουσίασαν περιορισμένη μείωση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας σε υψηλές συγκεντρώσεις NaCl, ενώ η φυτική βιομάζα και το υδατικό περιεχόμενο καταγράφηκαν αυξημένα σε σχέση με τα συμβατικά φυτά, σε συνθήκες ξηρασίας (Ahmad et al, 2008). Ακόμα, η υπερέκφραση του γονιδίου *betA* σε φυτά *Gossypium hirsutum*, επέδρασε θετικά στην αντοχή έναντι της υδατικής καταπόνησης, από το στάδιο των νεαρών σποροφύτων μέχρι και την άνθηση. Η συγκέντρωση της ΒΓ στους φυτικούς ιστούς παρουσίασε θετική συσχέτιση με την παρουσία συνθηκών υδατικής καταπόνησης, ρυθμίζοντας το υδατικό περιεχόμενο, προστατεύοντας τον φωτοσυνθετικό μηχανισμό και περιορίζοντας τις απώλειες της φυτικής βιομάζας. Επιπλέον, η συσσώρευση της ΒΓ μείωσε την υπεροξείδωση των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών και την ιοντική διαφυγή (Lv et al, 2007)

Σε αρκετές περιπτώσεις, η συγκέντρωση της χολίνης αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για την επιτυχή αύξηση του περιεχομένου της ΒΓ, μέσω της δημιουργίας διαγονιδιακών φυτών με την χρήση των γονιδίων που κωδικοποιούν τα ένζυμα τα οποία εμπλέκονται στα μονοπάτια βιοσύνθεσης της ΒΓ (Mäkelä et al, 2019). Έτσι, ο συγκεκριμένος περιορισμός

μπορεί να αρθεί μέσω της υπερέκφρασης της φωσφοαιθανολαμίνης N-μεθυλοτρανσφεράσης (PEAMT), η οποία αποτελεί το κύριο ένζυμο του βιοσυνθετικού μονοπατιού της χολίνης στα φυτά. Πράγματι, η υπερέκφραση της PEAMT από το σπανάκι σε φυτά καπνού, σε συνδυασμό με την υπερέκφραση των γονιδίων CMO και BADH, οδήγησε σε πολύ μεγάλη αύξηση του περιεχομένου της ΒΓ σε σχέση με τα διαγονιδιακά φυτά που είχαν τροποποιηθεί γενετικά μόνο με τα γονίδια που κωδικοποιούν τα 2 ένζυμα του βιοσυνθετικού μονοπατιού της ΒΓ (McNeil et al, 2001).

## 9.2. Φυτικές Ορμόνες

Οι ενδογενείς φυτικές ορμόνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της φυτικής ανάπτυξης και στην αντιμετώπιση του αβιοτικού και του βιοτικού στρες, παρεμβαίνοντας σε ένα ευρύ φάσμα προσαρμοστικών αποκρίσεων. Η επικράτηση συνθηκών ξηρασίας και αλατότητας επάγει την αύξηση της συγκέντρωσης αρκετών φυτικών ορμονών, η οποία καθορίζει την ενεργοποίηση των σχετικών μηχανισμών προσαρμογής στην συγκεκριμένη καταπόνηση. Η κυριότερη φυτική ορμόνη είναι το αμπισικό οξύ, ενώ άλλες σημαντικές ορμόνες είναι το ιασμονικό οξύ, οι κυτοκνίνες, το σαλικιλικό οξύ, το αιθυλένιο, οι αυξίνες και οι γιββερελίνες (Ullah et al, 2018).

### 9.2.1 Αμπσισικό οξύ

Το Αμπσισικό οξύ (ABA) αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς βιοχημικούς παράγοντες που επάγουν την αντοχή στην αβιοτική καταπόνηση. Ουσιαστικά, αποτελεί έναν αναστολέα της φυτικής ανάπτυξης, ο οποίος παράγεται και συσσωρεύεται στα φυτικά κύτταρα κάτω από συνθήκες αβιοτικού στρες, όπως η ξηρασία, η αλατότητα και οι ακραίες θερμοκρασιακές τιμές. Η βιοσύνθεση του ABA αποτελεί μία από τις ταχύτερες αποκρίσεις των φυτών στην αβιοτική καταπόνηση. Ταυτόχρονα, οι συγκεντρώσεις του ABA στους ιστούς των φύλλων αυξάνεται μέχρι και 50 φορές σε συνθήκες ξηρασίας, αποτελώντας την δραματικότερη αλλαγή της συγκέντρωσης στο σύνολο των ορμονών που παράγονται ως απόκριση σε ένα περιβαλλοντικό σήμα (Taiz and Zeiger, 2017). Το χαμηλό υδατικό δυναμικό επάγει την παραγωγή των κύριων βιοσυνθετικών ενζύμων που είναι υπεύθυνα για την σύνθεση του ABA. Η παρουσία του ABA ρυθμίζει την έκφραση αρκετών γονιδίων και σηματοδοτεί την εκκίνηση διεργασιών για την προσαρμογή στους περιοριστικούς κλιματικούς παράγοντες. Η σύνθεση του ABA καθορίζει τον περιορισμό της στοματικής αγωγιμότητας με στόχο την μείωση των υδατικών απωλειών, την μείωση της φυλλικής επιφάνειας, την αύξηση της αναλογίας της ξηρής μάζας του υπόγειου προς το υπέργειο τμήμα του φυτού, την σύνθεση αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών και την διατήρηση του οσμωτικού δυναμικού. Ταυτόχρονα, το ABA διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε ένα πλήθος κυτταρικών και φυσιολογικών διεργασιών όπως η ανάπτυξη, ο λήθαργος και η βλάστηση των σπόρων, η φυτική ανάπτυξη και η διαφοροποίηση της αρχιτεκτονικής του ριζικού συστήματος. Οι συγκεκριμένες ιδιότητες του ABA έχουν αποτελέσει αντικείμενο διαφόρων βιοτεχνολογικών ερευνών, με στόχο την περαιτέρω ανάπτυξη της αντοχής των καλλιεργούμενων φυτών στις συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης (Sah et al, 2016).

Η υπερέκφραση των υποδοχέων του ABA αποτελεί μία στρατηγική για την αύξηση της απόκρισης στην παρουσία του και την αποδοτικότερη χρήση των υδατικών αποθεμάτων. Η μεταφορά του σήματος της παρουσίας του ABA καθορίζεται από το

σχετικό αρνητικό ρυθμιστικό μονοπάτι που είναι υψηλά συντηρημένο μεταξύ των φυτικών ειδών. Η αντίληψη της παρουσίας του ABA πραγματοποιείται μέσω των διαλυτών ρυθμιστικών παραγόντων RYR/RCAR (Pyrabactin Resistance/Regulatory Component of ABA Receptor) του υποδοχέα του ABA. Έτσι, η υπερέκφραση των 14 διακριτών PYR παραγόντων σε φυτά *Arabidopsis*, οδήγησε στην αύξηση της ευαισθησίας στην παρουσία του ABA, η οποία συνοδεύτηκε από την διαφοροποίηση της διαχείρισης των υδατικών αποθεμάτων σε συνθήκες αβιοτικού στρες. Ενώ η υπερέκφραση κάποιων RYR/RCAR παραγόντων οδήγησε στον περιορισμό της φυτικής ανάπτυξης, σε άλλες περιπτώσεις (PYL12/RCAR6 και PYL4/RCAR10) καταγράφηκε αμελητέα μείωση της ανάπτυξης των φυτών και σημαντική αύξηση της βιομάζας (39–46% and 32–69%) σε σχέση με την χρήση του υδατικού αποθέματος. Στις συγκεκριμένες σειρές, παρατηρήθηκε μείωση της διαπνοής με ταυτόχρονη διατήρηση του ρυθμού αφομοίωσης του CO<sub>2</sub>, γεγονός που υποδεικνύει ότι η αύξηση της WUE σχετίζεται με την αύξηση της αφομοίωσης του CO<sub>2</sub> σε σχέση με την στοματική αγωγιμότητα (Yang et al, 2016). Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν από την υπερέκφραση του υποδοχέα TaPYL4 σε φυτά *Triticum aestivum* (Mega et al, 2019). Επιπλέον, καθώς το ABA δρα ως αναστολέας της φυτικής ανάπτυξης, ο περιορισμός της έκφρασης του μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αύξηση της καλλιεργητικής απόδοσης σε συνθήκες που δεν παρατηρείται υδατική καταπόνηση. Έτσι, η απενεργοποίηση των ρυθμιστικών παραγόντων RYR1-6 και RYR12 σε φυτά ρυζιού, μέσω της αντικατάστασης με μη λειτουργικούς παράγοντες, οδήγησε στην αύξηση της βιομάζας και της παραγωγής αλλά με ταυτόχρονη μείωση του ληθάργου των σπόρων, της βλάστησης πριν την συγκομιδή (pre harvest sprouting - PHS) και της WUE. Η τριπλή απενεργοποίηση PYL1/4/6, ενώ δεν προσέδωσε αντοχή στην ξηρασία, επέδειξε ανάλογη PHS και αυξημένη απόδοση κατά 25-31% σε σχέση με τα φυτά αγρίου τύπου (Miao et al, 2018). Στην περίπτωση των πρωτεϊνικών υποδοχέων PP2C, οι οποίοι αποτελούν αρνητικούς ρυθμιστικούς παράγοντες, η διαφοροποίηση της αλληλουχίας του αλληλομόρφου *ZmPP2C-A10* σε φυτά καλαμποκιού, περιορίζει τα επίπεδα έκφρασης του και οδηγεί στην μείωση της ευαισθησίας στο ABA, καθιστώντας την συγκεκριμένη ομάδα γονιδίων ως

υποσχόμενο στόχο για την ανάπτυξη ανθεκτικών καλλιεργειών στο αβιοτικό στρες (Xiang et al, 2017).

Εκτός από τους ρυθμιστικούς παράγοντες που συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι του ABA, ένα πλήθος μεταγραφικών παραγόντων καθορίζουν την απόκριση στην παρουσία του ABA και την ρύθμιση της έκφρασης των σχετικών γονιδίων, όπως οι AREBs (ABA-responsive element binding proteins)/ABFs (ABRE binding factors), ABI (ABA insensitive), MYB (myeloblastosis), MYC (myelocytomatosis), NAC (NAM: no apical meristem, ATAF (Arabidopsis transcription activation factor), CUC (cup-shaped cotyledon), ERF (ethylene response factor) και PIF (phytochrome-interaction factor), (Sah et al, 2016, Dejonghe and Cutler, 2019). Παραδειγματικά, η υπερέκφραση του γονιδίου SNAC1 (Stress Responsive NAC1) σε φυτά ρυζιού, η οποία πραγματοποιείται κυρίως στα καταφρακτικά κύτταρα ως απόκριση στην αλατότητα, στο ψύχος, στην υδατική καταπόνηση και στο ABA, οδήγησε στην αύξηση της ανθεκτικότητας σε διάφορες διαβαθμίσεις της υδατικής καταπόνησης. Αντίστοιχα αποτελέσματα προέκυψαν από την έκφραση του συγκεκριμένου γονιδίου στο σιτάρι (Dejonghe and Cutler, 2019). Η υπερέκφραση του γονιδίου ZmPIF1 από το καλαμπόκι, σε φυτά ρυζιού, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των κλειστών στοματίων στα διαγονιδιακά φυτά και την μείωση των υδατικών απωλειών. Τα φυτά παρουσίασαν υπερευαισθησία στο ABA χωρίς την αύξηση των επιπέδων του ενδογενούς ABA και την έκφραση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την βιοσύνθεση του (Gao, 2018). Αναλόγως η υπερέκφραση και συσσώρευση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την σύνθεση των μεταγραφικών παραγόντων ABI3/Viviparous1 (AtRAV2) και bZIP TF (AtABI5) από φυτά *Arabidopsis*, σε φυτά καπνού, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της αντοχής στην υδατική καταπόνηση, της φωτοσυνθετικής αφομοίωσης, της βιομάζας, του μεγέθους του ριζικού συστήματος και της WUE (Mittal et al, 2014). Ανάλογα πλεονεκτήματα προσφέρει και η συσσώρευση γονιδίων που σχετίζονται με την σηματοδοτική διαύλο του ABA και με σχετικούς μεταγραφικούς παράγοντες. Η υπέρκφραση του bZIP TF OsbZIP46CA1 και της OsSAPK6



κινάσης του SnRK2 σε φυτά ρυζιού, οδήγησε στην περαιτέρω αύξηση της βιομάζας, της παραγωγής, του αριθμών των ανθηλών και των κόκκων, σε σχέση με τα φυτά στα οποία πραγματοποιήθηκε υπέρεκφραση των μεμονωμένων γονιδίων, σε συνθήκες μέτριας υδατικής καταπόνησης. Επιπλέον, τα διαγονιδιακά φυτά παρουσίασαν μεγαλύτερη αντοχή στην υψηλή και την χαμηλή θερμοκρασία (Chang et al, 2017).

Η επιγενετική ρύθμιση της απόκρισης στο ABA αποτελεί ένα ακόμα πεδίο της βιοτεχνολογικής έρευνας. Το αβιοτικό στρες μπορεί να προκαλέσει επιγενετικές τροποποιήσεις στο γονιδίωμα, οι οποίες φαίνεται πως αποτελούν έναν σημαντικό μηχανισμό για την απόκριση στην ξηρασία, την αλατότητα, την ζέστη και το κρύο. Έτσι, καθώς το ABA μπορεί να ρυθμίσει την γονιδιακή έκφραση μέσω της μεθυλίωσης του DNA, της ακετυλίωσης των ιστόνων και της σύνθεσης microRNAs που ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση μετα-μεταγραφικά, η μελέτη του συγκεκριμένου βιοχημικού υποβάθρου έχει ήδη οδηγήσει στην αναγνώριση κάποιων επιθυμητών στόχων και στην επιβεβαίωση της χρησιμότητάς τους στην δημιουργία ανθεκτικών φυτών στην αβιοτική καταπόνηση, μέσω της βιοτεχνολογίας (Sah et al, 2016).

### 9.2.2. Ιασμονικό οξύ

Το Ιασμονικό οξύ (JA) και τα ενεργά παράγωγα του (JAs), είναι λιπαρά οξέα τα οποία προέρχονται από τις κυκλοπεντανόνες και ανήκουν στην οικογένεια των οξειδωμένων λιπιδίων, η οποία είναι ευρύτερα γνωστή ως οξυλιπίνες. Οι οξυλιπίνες είναι βιολογικά ενεργά σηματοδοτικά μόρια τα οποία παράγονται είτε μέσω της ενζυμικής δράσης των λιποξυγενασών ή των άλφα-διοξυγενασών, είτε μη ενζυμικά μέσω της αυτοξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Η βιοσύνθεση του JA καθορίζεται από την δράση των ενζύμων που βρίσκονται στα πλαστίδια, στα υπεροξεισώματα και στο κυτταρόπλασμα. Τα

ερεθίσματα του αβιοτικού (και του βιοτικού) στρες ενεργοποιούν τις φωσφολιπάσες της πλαστιδιακής μεμβράνης, επάγοντας την σύνθεση του λινολενικού οξέος, το οποίο αποτελεί πρόδρομη ένωση του JA. Στο κυτταρόπλασμα, τα μεταβολικά μονοπάτια του JA μετασχηματίζουν την φυτική ορμόνη σε περισσότερα από 30 ενεργές και ανενεργές παράγωγες χημικές ενώσεις (Ali and Baek, 2020). Τα JAs βρίσκονται σε αφθονία στα ανώτερα φυτικά είδη. Η συγκέντρωσή τους είναι υψηλή στους αναπαραγωγικούς ιστούς και τα άνθη, ενώ μικρότερες ποσότητες εντοπίζονται στα ώριμα φύλλα και το ριζικό σύστημα. Τα JAs ρυθμίζουν ένα πλήθος σημαντικών διεργασιών της φυτικής ανάπτυξης, όπως η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η βιοσύνθεση των ανθοκυανίνων, η ανάπτυξη των στημόνων, η ωρίμανση των καρπών, η αναστολή της σύνθεσης της Rubisco, το άνοιγμα των στοματιών, η πρόσληψη αζώτου και φωσφόρου και η μεταφορά της γλυκόζης. Ως σηματοδοτικά μόρια, τα JAs ρυθμίζουν την έκφραση πολλών γονιδίων ως απόκριση στο αβιοτικό στρες (ξηρασία, αλατότητα, χαμηλή θερμοκρασία, βαρέα μέταλλα, όζον, τοξικότητα μικροστοιχείων,) και ενεργοποιούν σχετικούς προστατευτικούς μηχανισμούς (Ali and Baek, 2020).

Η έρευνα σχετικά με την δράση του JA, έχει αναδείξει έναν αριθμό γενετικών και βιοχημικών παραγόντων που μπορούν να αποτελέσουν στόχο της βιοτεχνολογικής έρευνας. Όμως, ενώ η βιοτεχνολογική διαφοροποίηση του γενετικού υποβάθρου του ρυθμιστικού μηχανισμού και των μεταγραφικών παραγόντων, που σχετίζονται με την δράση του JA, έχει δώσει θετικά αποτελέσματα στην προσπάθεια επίτευξης της ανθεκτικότητας στο βιοτικό στρες, οι σχετικές έρευνες για την αβιοτική καταπόνηση είναι περιορισμένες. Ωστόσο, έχει πραγματοποιηθεί ο εντοπισμός συγκεκριμένων γονιδίων, ρυθμιστικών και μεταγραφικών παραγόντων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον συγκεκριμένο σκοπό. Η υπέρκφραση του γονιδίου JIOsPR10 (Jasmonic Acid inducible pathogenesis-related class 10), το οποίο σχετίζεται με την άμυνα έναντι της βιοτικής καταπόνησης, σε φυτά ρυζιού, οδήγησε στην αύξηση της αντοχής στην ξηρασία και την αλατότητα (Wu et al, 2016). Αναλόγως, η υπέρκφραση του γονιδίου OsJAZ1 (Jasmonate

ZIM-domain 1), ο οποίος αποτελεί αρνητικό ρυθμιστικό παράγοντα του JA, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της ευαισθησίας στην ξηρασία τόσο στο στάδιο του σποροφύτου, όσο και στο αναπαραγωγικό στάδιο (Fu et al, 2017). Επιπλέον, η υπερέκφραση μερικών ακόμα αρνητικών ρυθμιστικών παραγόντων που ανήκουν στην οικογένεια των πρωτεϊνών TIFY, μείωσε την ευαισθησία στο JA, αύξησε την αντοχή στην αλατότητα και στις υψηλές θερμοκρασιακές τιμές ενώ προήγαγε την φυτική ανάπτυξη, την αύξηση του μεγέθους και του βάρους των κόκκων και την επιμήκυνση της περιόδου της άνθησης, μεταξύ άλλων (Hakata et al, 2017).

### **9.3. Πρωτεΐνες και μεταγραφικοί παράγοντες θερμικής καταπόνησης**

Η έκθεση των φυτικών οργανισμών σε περιβάλλον υψηλών θερμοκρασιών, οδηγεί στον περιορισμό της σύνθεσης των περισσότερων πρωτεϊνικών μορίων, ενώ επάγει την σύνθεση των θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών ή πρωτεϊνών θερμικού σοκ (Heat Shock Proteins, HSPs), με στόχο της επίτευξη της επίκτητης θερμοανθεκτικότητας. Η συγκεκριμένη οικογένεια πρωτεϊνών εντοπίζεται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε ποικίλα στάδια του βιολογικού κύκλου και σε ιστούς που δεν βρίσκονται υπό συνθήκες καταπόνησης, σε διάφορα διαμερίσματα του κυττάρου όπως το κυτταρόπλασμα και ο πυρήνας, σε οργανίδια όπως τα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες, καθώς και στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι HSPs συμμετέχουν στην φυτική ανάπτυξη, στον σχηματισμό και την ωρίμανση των ανθέων και των καρπών, στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και την κονδυλοποίηση (Ul-Haq et al, 2019). Η έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τις HSPs καθορίζεται από τους μεταγραφικούς παράγοντες θερμικής καταπόνησης HSFs (Heat Shock transcription Factors), οι οποίοι ενεργοποιούνται μέσω των μηχανισμών διαβίβασης του σήματος της καταπόνησης και αναγνωρίζουν συγκεκριμένα ρυθμιστικά στοιχεία στο φυτικό γονιδίωμα, τα οποία

περιλαμβάνουν συντηρημένες ακολουθίες. Κατά την επικράτηση αυξημένων θερμοκρασιών, η μεταγραφή των υπεύθυνων mRNAs είναι ταχεία ενώ η σύνθεση ή η αύξηση της συγκέντρωσης των HSPs μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσα σε 30' από την έκθεση στην θερμική καταπόνηση. Η πλειοψηφία των HSPs συμπεριφέρονται ως συνοδές πρωτεΐνες, ενώ ο λειτουργικός τους ρόλος είναι η σταθεροποίηση ευαίσθητων πρωτεϊνών ή πρωτεϊνικών συμπλόκων, η αναδίπλωση ή η χαλάρωση των πολυπεπτιδίων, η μεταφορά πρωτεϊνικών μορίων στο κατάλληλο υποκυτταρικό διαμέρισμα, καθώς και η απόρριψη ή η αποδόμηση τους (Καραμπουρνιώτης et al, 2012, Ul-Haq et al, 2019). Η σύνθεση των HSPs επάγεται και από άλλες μορφές αβιοτικής καταπόνησης, όπως οι συνθήκες υδατικής ανεπάρκειας και η αυξημένη αλατότητα. Οι HSPs κατηγοριοποιούνται κυρίως σύμφωνα με το μοριακό τους βάρος, ενώ η βιοτεχνολογική τους αξιοποίηση έχει δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε ένα πλήθος ερευνών.

Η συνεχής υπερέκφραση της κυτταροπλασματικής θερμοεπαγωγμένης πρωτεΐνης OsHSP20 σε φυτά ρυζιού, υπό τον υποκινητή της ουμπικουιτίνης, οδήγησε στην μεγάλη αύξηση της βλαστικής ικανότητας των σπόρων σε συνθήκες αυξημένης θερμοκρασίας εκτός του εύρους βέλτιστης ανάπτυξης, σε σχέση με τα συμβατικά φυτά. Ο περιορισμός της ανάπτυξης του ριζικού συστήματος και του υπέργειου τμήματος των νεαρών σποροφύτων, ήταν σημαντικά μικρότερος στην περίπτωση των διαγονιδιακών φυτών, ενώ η μείωση του περιεχομένου της χλωροφύλλης ήταν εντονότερη στα συμβατικά φυτά. Η υπερέκφραση της OsHSP20 είχε θετική επίδραση και στην αύξηση της αντοχής στην αλατότητα σε επίπεδο βλαστικής ικανότητας και ανάπτυξης του ριζικού συστήματος (Guo et al, 2020). Αναλόγως, η υπερέκφραση της πρωτεΐνης OsHSP50.2, η οποία ανήκει στην ομάδα των HSP90 και συντίθεται υπό καθεστώς θερμικής και οσμωτικής καταπόνησης, σε φυτά ρυζιού, οδηγεί στην αύξηση της αντοχής στην υδατική ανεπάρκεια και στην ρύθμιση της κυτταρικής ομοιόστασης, πιθανώς μέσω της οσμωτικής ρύθμισης και ως αμυντικός μηχανισμός εξουδετέρωσης των ROS. Συγκεκριμένα, τα διαγονιδιακά φυτά παρουσίασαν αυξημένη δραστηριότητα για την SOD, η οποία αποτελεί ένζυμο - κλειδί για τον

αντιοξειδωτικό μηχανισμό του κύκλου ασκορβικού οξέος - γλουταθειόνης που αποτελεί την σημαντικότερη βιοχημική οδό εξουδετέρωσης των ROS. Επιπλέον, καταγράφηκαν μειωμένες υδατικές απώλειες, περιορισμός της εκροής ηλεκτρολυτών, της συγκέντρωσης MDA και της μείωσης την χλωροφύλλης σε σχέση με τα συμβατικά φυτά, σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης. Ακόμα, η υπερέκφραση της OsHSP50.2 αύξησε την συσσώρευση της προλίνης, συνεισφέροντας στην προστασία από την υδατική καταπόνηση μέσω της ωσμορύθμισης. (Xiang et al, 2018). Γενικότερα, ο αριθμός των ερευνών σχετικά με την επιτυχή βιοτεχνολογική αξιοποίηση των HSPs για την επίτευξη ανθεκτικότητας στην αβιοτική καταπόνηση, παρουσιάζει σταθερή άνοδο, όπως στην περίπτωση της έκφρασης της HmHsp70 από τον μύκητα *Hypsizygus marmoreus* σε φυτά καπνού (Xu et al, 2020), της υπερέκφρασης της OsHsp18.0 σε φυτά ρυζιού (Kuang et al, 2017) και της υπερέκφρασης της LimHSP16.45 από το φυτό *Lilium davidii* (Yang et al, 2020), της PfHSP17.2 από το φυτό *Primula forrestii* (Zhang et al, 2018) και της GmHsp90s από το φυτό *Glycine max* (Xu et al, 2013) σε φυτά *Arabidopsis thaliana*.

Σε αντιστοιχία με τις HSPs, οι HSFs αποτελούν αντικείμενο της βιοτεχνολογικής έρευνας. Η υπέρκφραση του HsfA1d, ο οποίος αποτελεί έναν από τους 21 HSFs που κωδικοποιούνται από το γονιδίωμα του φυτού *Arabidopsis thaliana*, σε φυτά καπνού υπό τον υποκινητή CaMV35S, οδήγησε στον ικανοποιητικό εγκλιματισμό των διαγονιδιακών φυτών στην αυξημένη θερμοκρασία. Η υπέρκφραση του συγκεκριμένου HSF κατά την έκθεση των φυτών σε θερμοκρασία 42°C, περιόρισε την εκροή ηλεκτρολυτών κατά 33,2% και την απώλεια του υδατικού περιεχομένου των φύλλων κατά 33,8 σε σχέση με τα συμβατικά φυτά, ενώ δεν παρατηρήθηκε αξιόλογη μείωση της χλωροφύλλης στους αντίστοιχους ιστούς. Επιπλέον, καταγράφηκε σημαντική αύξηση στην συσσώρευση της προλίνης, τόσο σε θερμοκρασία δωματίου όσο και στους 42°C (Shah et al, 2017). Αναλόγως, η υπερέκφραση του BcHsfA1 από την ποικιλία ‘Suzhouqing’ του φυτικού είδους *Brassica campestris*, η οποία παρουσιάζει υψηλή ανθεκτικότητα στην θερμική καταπόνηση, σε φυτά καπνού υπό τον υποκινητή CaMV35S, ενίσχυσε την αντοχή των

νεαρών φυτωρίων στην υψηλή θερμοκρασία, μέσω της διαφοροποίησης ενός πλήθους φυσιολογικών ή βιοχημικών διεργασιών. Τα διαγονιδιακά φυτά παρουσίασαν αυξημένη δραστηριότητα για τα αντιοξειδωτικά ένζυμα SOD και POD, με αποτέλεσμα την ενίσχυση της προστασίας έναντι των ROS και της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. Επιπλέον, η ελάττωση του περιεχομένου της χλωροφύλλης ήταν περιορισμένη ενώ καταγράφηκε μείωση στην σχετική ηλεκτρική αγωγιμότητα και το περιεχόμενο της MDA και αύξηση στο περιεχόμενο των διαλυτών σακχάρων (Zhu et al, 2018). Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν και από η υπερέκφραση των ZmHsf04 (Jiang et al, 2018) και ZmHsf12 (Li et al, 2019) από φυτά *Zea mays* σε φυτά *Arabidopsis thaliana*.

#### 9.4. Διαθέσιμες εμπορικές εφαρμογές

Οι αβιοτικές καταπονήσεις αποτελούν τον σημαντικότερο περιοριστικό παράγοντα για την άνοδο της καλλιεργητικής απόδοσης και μία πραγματική πρόκληση για την βιοτεχνολογική έρευνα. Η επίδραση των αβιοτικών καταπονήσεων στον αγροτικό τομέα και η αναμενόμενη αύξηση των αρνητικών επιπτώσεων τους εξαιτίας της κλιματικής αλλαγής, έχει οδηγήσει στην μεγάλη και συνεχή άνοδο των κεφαλαίων που επενδύονται στο συγκεκριμένο αντικείμενο και στην εντυπωσιακή αύξηση του αριθμού των σχετικών επιστημονικών δημοσιεύσεων κατά τις τελευταίες δεκαετίες. Εν τούτοις, ο αριθμός των διαθέσιμων εμπορικών βιοτεχνολογικών εφαρμογών είναι πολύ μικρός και υποδεικνύει ότι οι μεταβολικές διεργασίες που προσδίδουν αντοχή στην αβιοτική καταπόνηση δεν είναι επαρκώς κατανοητές. Ωστόσο, ο περιορισμένος αριθμός των εμπορικών εφαρμογών δεν αντιπροσωπεύει την πραγματική συντελούμενη πρόοδο, καθώς ο σχεδιασμός και η δημιουργία διαγονιδιακών καλλιεργειών με μετρήσιμα θετικά αποτελέσματα σε συνθήκες πεδίου, είναι ένα πολύ μεγάλο επίτευγμα που πραγματοποιήθηκε μέσω μικρών και σταθερών βημάτων, ενώ ο αριθμός των εφαρμογών που βρίσκονται στο στάδιο της δοκιμής αυξάνεται αναλόγως (Nuccio et al. 2018).

#### 9.4.1. Διαγονιδιακό καλαμπόκι DroughtGard™

Η ταυτόχρονη έκθεση των οργανισμών σε περισσότερες της μίας καταπονήσεις, αποτελεί μία δεδομένη κατάσταση, όπως συμβαίνει και με την περίπτωση των φυτικών καλλιεργειών. Αναλόγως, η έκφραση ορισμένων γονιδίων που σχετίζονται με τους αμυντικούς μηχανισμούς των φυτών, επάγεται από περισσότερους του ενός παράγοντες καταπόνησης, ενώ οι αμυντικοί μηχανισμοί επηρεάζουν την συμπεριφορά και αντοχή των φυτών έναντι παραγόντων καταπόνησης οι οποίοι συνδέονται ή είναι ασύνδετοι μεταξύ τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η ανταγωνιστική αλληλεπίδραση της υδατικής καταπόνησης και της επικράτησης χαμηλών θερμοκρασιών, η οποία αποτελεί και αυτή μία μορφή υδατικής καταπόνησης. Κατά την διάρκεια του εγκλιματισμού σε ακραίες χαμηλές θερμοκρασίες, παρατηρείται η σύνθεση προστατευτικών πρωτεϊνών, όπως οι COR (Cold Responsive), οι LEA (Late Embryogenesis Abundant), οι αντιπαγετικές πρωτεΐνες AFPs (Antifreeze Proteins) και οι πρωτεΐνες ψυχρού σοκ CSPs (Cold Shock Proteins). Συγκεκριμένα, οι CSPs προσδένονται σε μόρια RNA, ασκώντας προστατευτική δράση στην δευτεροταγή δομή του μορίου και διασφαλίζοντας την απρόσκοπτη μετάφραση των mRNAs σε συνθήκες χαμηλών θερμοκρασιών (Καραμπουρνιώτης et al, 2012).

Η συμβολή των CSPs στην αντιμετώπιση της υδατικής καταπόνησης, αποτέλεσε την θεωρητική βάση για τον σχεδιασμό και την ανάπτυξη της πρώτης διαθέσιμης εμπορικής βιοτεχνολογικής εφαρμογής με ανάλογη στόχευση (Nuccio et al. 2018). Το διαγονιδιακό καλαμπόκι DroughtGard™ της εταιρείας Monsanto, κυκλοφόρησε στην αγορά των ΗΠΑ το 2013 και χαρακτηρίζεται από την έκφραση της πρωτεΐνης ψυχρού σοκ CSPB από το βακτήριο *Bacillus subtilis*, η οποία δρα ως τσαπερόνιο. Η συγκεκριμένη CSP εντοπίζεται στα βακτηριακά κύτταρα, όχι μόνο κατά την επικράτηση χαμηλών θερμοκρασιών αλλά και κατά την παρουσία των βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης και μετά την είσοδο στην στατική φάση, ενώ παρουσιάζει δομικές ομοιότητες με άλλες βακτηριακές CSPs, αποτελούμενη

από 5 αντιπαράλληλους β-κλώνους που συνθέτουν ένα β-βαρέλι. Στην CSPB εντοπίζονται 2 συντηρημένα ριβονουκλεοπρωτεϊνικά μοτίβα, τα οποία υπάρχουν και σε άλλες πρωτεΐνες που προσδένονται σε μόρια RNA (Wang et al, 2015).

Η σύνθεση της CSPB στα διαγονιδιακά φυτά καλαμποκιού επάγει την αύξηση της καλλιεργητικής απόδοσης κατά 6% σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης, σε σχέση με τα φυτά που δεν περιέχουν την ανάλογη γενετική πληροφορία. Η μείωση των διαθέσιμων υδατικών αποθεμάτων οδηγεί στον περιορισμό της φυλλικής επιφάνειας κατά το στάδιο του μεταξώματος, στο οποίο παρατηρείται μεγάλη ευαισθησία στην υδατική καταπόνηση, περιορίζοντας έτσι τις υδατικές απαιτήσεις. Κατά το συγκεκριμένο στάδιο, καταγράφεται αύξηση της ανάπτυξης των σπαδικών και του συνολικού αριθμού των σπόρων ανά φυτό, ενώ μειώνεται η κίνηση των χυμών και το ξηρό βάρος των ιστών των φύλλων. Ταυτόχρονα, η άνοδος της WUE και οι μειωμένες υδατικές απαιτήσεις περιορίζουν την κατανάλωση των εδαφικών υδατικών αποθεμάτων σε βάθος 0,5 m, εξοικονομώντας τους ανάλογους πόρους για τα επόμενα στάδια της καλλιέργειας (Nemali et al, 2015). Επιπλέον, κατά τις υπαίθριες δοκιμές υπό τις τυπικές αγρονομικές πρακτικές, διαπιστώθηκε ότι δεν καταγράφονται διαφοροποιήσεις στην περιεκτικότητα και σύνθεση ενός μεγάλου μεγάλου αριθμού θρεπτικών συστατικών (υδατάνθρακες, αμινοξέα και πρωτεΐνες, βιταμίνες, μέταλλα, λιπαρά οξέα, δευτερογενείς μεταβολίτες κ.α.) στους σπόρους και στα πράσινα μέρη, μεταξύ των διαγονιδιακών και των συμβατικών φυτών (Harrigan et al, 2009). Ακόμα, καθώς το βακτήριο *Bacillus subtilis* αποτελεί έναν μικροοργανισμό με ιστορικό ασφαλούς χρήσης στην παρασκευή τροφίμων και αναγνωρίζεται ως GRAS (Generally Recognized As Safe) από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (U.S. FDA), η κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν την CSPB θεωρείται ότι δεν επιφέρει κινδύνους για την υγεία των ανθρώπων και των σιτιζόμενων ζώων (Wang et al, 2015).



#### 9.4.2. Διαγονιδιακό ζαχαροκάλαμο NXI-1T™, NXI-4T™ και NXI-6T™

Τα διαγονιδιακά φυτά ζαχαροκάλαμου NXI-1T™, NXI-4T™ και NXI-6T™, αναπτύχθηκαν στην Ινδονησία από την εταιρεία PT Perkebunan Nusantara XI (Persero) και έχουν λάβει σχετική έγκριση για την εμπορική διάθεση και καλλιέργεια το 2013, μόνο στην συγκεκριμένη χώρα (ISAAA, 2015). Ο σχεδιασμός των συγκεκριμένων εφαρμογών στοχεύει στην αύξηση της συγκέντρωσης της Βεταΐνης της Γλυκίνης (ΒΓ), η οποία συσσωρεύεται στους χλωροπλάστες και τα πλαστίδια πολλών φυτικών ειδών, ως απόκριση στην ξηρασία και την αλατότητα, συνήθως σε μη ικανοποιητικές συγκεντρώσεις (Peleg et al, 2011). Για το συγκεκριμένο σκοπό, στο γονιδίωμα του ζαχαροκάλαμου εισηχθεί το γονίδιο *betA* από το βακτήριο *Rhizobium meliloti*, που κωδικοποιεί το ένζυμο αφυδρογονάση της χολίνης (CDH). Το συγκεκριμένο ένζυμο συμμετέχει στην παραγωγή της ΒΓ, χρησιμοποιώντας ως πρόδρομη ουσία την χολίνη. Επιπλέον, ως υποκινητής χρησιμοποιήθηκε ο CaMV35S (Suriharto, 2017).

Τα διαγονιδιακά φυτά παρουσιάζουν αυξημένη αντοχή στην ξηρασία και πολύ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ΒΓ στα φύλλα σε σχέση με τα συμβατικά φυτά, αυξάνοντας τον χρόνο εκδήλωσης συμπτωμάτων μάρανσης κατά την επικράτηση συνθηκών υδατικής καταπόνησης σε περιβάλλον θερμοκηπίου. Επιπλέον, στις ίδιες συνθήκες τα διαγονιδιακά φυτά επιδεικνύουν ικανοποιητική αντοχή σε υψηλές συγκεντρώσεις αλατότητας. Κατά τις δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν σε συνθήκες αγρού σε μη αρδευόμενες εκτάσεις, δεν παρατηρήθηκαν αξιολογικές διαφοροποιήσεις στον ρυθμό ανάπτυξης κατά τα αρχικά στάδια της βλαστικής περιόδου. Μετά την έναρξη της ξηρής περιόδου, τα συμβατικά φυτά παρουσίασαν καθυστερημένη ανάπτυξη στους μίσχους και μικρότερα μεσογονάτια διαστήματα, σε αντίθεση με τα διαγονιδιακά φυτά. Η συνολική απόδοση της καλλιέργειας καταγράφηκε σημαντικά αυξημένη στην περίπτωση των διαγονιδιακών φυτών, χωρίς να υπάρξει διαφοροποίηση στην συγκέντρωση της σακχαρόζης (Suriharto, 2017).

### 9.4.3. Διαγονιδιακή Σόγια HB4™

Η διαγονιδιακή σόγια HB4™, αποτελεί μία από τις πλέον πρόσφατα εγκεκριμένες εμπορικές βιοτεχνολογικές εφαρμογές, έχοντας λάβει σχετική αδειοδότηση από τις αρμόδιες αρχές της Αργεντινής, των ΗΠΑ και της Βραζιλίας (ISAAA, 2019). Η συγκεκριμένη εφαρμογή βασίζεται στην ενσωμάτωση της γενετικής πληροφορίας που είναι υπεύθυνη για την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα HB4. Ο HB4 είναι μία τροποποιημένη μορφή του Hahb4, ο οποίος προέρχεται από τον ηλιάνθο (*Helianthus annuus*) και αποτελεί έναν μεταγραφικό παράγοντα με δομικό μοτίβο τύπου “φερμουάρ λευκίνης” (leucine zipper). Η δράση του υποκινητή του γονιδίου που κωδικοποιεί τον HB4, καθορίζεται από την επικράτηση συνθηκών καταπόνησης. Η σύνθεση του HB4 μειώνει την ευαισθησία στο αιθυλένιο, το οποίο ρυθμίζει την φυτική ανάπτυξη υπό συνθήκες αβιοτικής καταπόνησης, διατηρώντας τα επιθυμητά επίπεδα του μεταβολισμού ακόμα και κατά την κρίσιμη αναπαραγωγική περίοδο. Η επιβράδυνση της γήρανσης, πιθανώς συνοδεύεται από την αυξημένη σύνθεση αντιοξειδωτικών και οσμοπροστατευτικών παραγόντων, οι οποίοι συνεισφέρουν στην διατήρηση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας κατά την διάρκεια της υδατικής καταπόνησης (Waltz, 2015).

Η αύξηση της καλλιεργητικής απόδοσης των διαγονιδιακών φυτών είναι σημαντική τόσο κατά την επικράτηση συνθηκών υδατικής καταπόνησης, όσο και υπό συνθήκες υδατικής επάρκειας, συγκριτικά με τα συμβατικά φυτά. Συγκεκριμένα, τα διαγονιδιακά φυτά παρουσιάζουν αυξημένη παραγωγικότητα κατά 14% σε συνθήκες ξηρασίας και κατά 7% σε συνθήκες υδατικής επάρκειας. Σε απόλυτους αριθμούς, η μέση αύξηση της παραγωγής είναι περίπου ίση με 300 κιλά ανά εκτάριο και καλύπτει το αυξημένο κόστος αγοράς των σπόρων της διαγονιδιακής καλλιέργειας, ακόμα και στην περίπτωση της επικράτησης ικανοποιητικών υδατικών συνθηκών κατά την καλλιεργητική περίοδο (Waltz, 2015).

## Συζήτηση

Ο σχεδιασμός και η χρήση βιοτεχνολογικών εφαρμογών, ως μέσο μετριασμού της συνεισφοράς του αγροτικού τομέα στην κλιματική αλλαγή και περιορισμού των επιπτώσεων του φαινομένου στην αγροτική παραγωγή, αποτελεί έναν φιλόδοξο και επίκαιρο στόχο, κάτι που επιβεβαιώνεται από τον συνεχώς αυξανόμενο αριθμό των σχετικών επιστημονικών ερευνών και δημοσιεύσεων. Όμως, η επίτευξη του συγκεκριμένου στόχου προϋποθέτει την ικανοποίηση ενός αριθμού αναγκαίων συνθηκών. Η γεωργική βιοτεχνολογία αποτελεί μία καινοτόμο και σχετικά πρόσφατη τεχνολογία και η επιστημονική κοινότητα είναι ηθικά υποχρεωμένη να διερευνά και να ενημερώνει την κοινωνία και τους αντιπροσώπους της, σχετικά με τα οφέλη, την ορθή χρήση και τους πιθανούς κινδύνους από την ελευθέρωση ΓΤΟ στο περιβάλλον. Ταυτόχρονα, μεταξύ των μελών της επιστημονικής κοινότητας και των υπόλοιπων κοινωνικών ομάδων, καταγράφονται ποικίλες προσεγγίσεις, οι οποίες αντικατοπτρίζονται στις διαφοροποιήσεις των σχετικών νομοθετικών πλαισίων σε εθνικό, υπερεθνικό και παγκόσμιο επίπεδο. Ανάμεσα στις ακραίες θέσεις της σχετικά ανεμπόδιστης εφαρμογής των νέων τεχνολογιών και της καθολικής απαγόρευσης τους, εντοπίζονται ενδιάμεσες απόψεις που τείνουν προς την μία ή την άλλη θέση ή κινούνται συμβιβαστικά μεταξύ των επιστημονικών δεδομένων ή προβληματισμών και των πραγματικών ή άμεσων αναγκών της ανθρώπινης κοινωνίας. Ωστόσο, η αμεσότητα των αναγκών δεν μπορεί να λογίζεται ως ικανή συνθήκη ώστε να υπερκεραστεί ή επιστημονική αβεβαιότητα, ο ηθικός προβληματισμός και η έννοια της κοινωνικής δικαιοσύνης. Η αντικειμενική πληροφόρηση σχετικά με τις πιθανές επιπτώσεις της χρήσης των ΓΤΟ στην βιοποικιλότητα, την οικολογική ισορροπία και την ανθρώπινη υγεία, είναι καθολικό κοινωνικό δικαίωμα, όπως συμβαίνει και στην περίπτωση των αγροτικών πρακτικών και τεχνολογιών της συμβατικής γεωργίας.

Επιπλέον, η επιτυχής ανάπτυξη ΓΤ καλλιεργειών με περιορισμένες ανάγκες σε εισροές, μειωμένο αποτύπωμα άνθρακα και αντοχή στην αβιοτική καταπόνηση, δεν θα επιφέρει τα επιθυμητά αποτελέσματα χωρίς την αντιμετώπιση των ολιγοπωλιακών χαρακτηριστικών

της παγκόσμιας αγοράς. Η κατοχύρωση εμπορικών δικαιωμάτων σε ανασυνδυασμένο γενετικό υλικό αγρονομικού ενδιαφέροντος, σε συνδυασμό με τον συγκεντρωτισμό εξαιτίας της σταδιακής επικράτησης ενός μικρού αριθμού εταιρειών μέσω εξαγορών ή συγχωνεύσεων, έχει ήδη οδηγήσει σε χαρακτηριστικές και πιθανώς μακροχρόνιες αρνητικές συνέπειες σε οικονομικό και κοινωνικό επίπεδο. Η εξάρτηση της παγκόσμιας αγροτικής παραγωγής από έναν περιορισμένο αριθμό ιδιωτικών συμφερόντων, σε συνδυασμό με την εμπορευματοποίηση της επιστημονικής γνώσης και καινοτομίας, αυξάνει τον κίνδυνο της κυριαρχίας των κερδοσκοπικών πρακτικών, της εργαλειοποίησης της επιστήμης και της πολιτικής επιβολής, εις βάρος της κοινωνικής ευημερίας. Αναλόγως, η φοβική αντιμετώπιση των νέων τεχνολογιών, ως αποτέλεσμα της ανεπαρκούς ενημέρωσης και απουσίας του κατάλληλου επιστημονικού υποβάθρου, παρατείνει το καθεστώς ανασφάλειας σχετικά με την αντιμετώπιση των προκλήσεων στην αγροτική παραγωγή. Συμπερασματικά, τα πιθανά οφέλη από την αξιοποίηση της βιοτεχνολογίας στην γεωργία, θα παραμείνουν εν μέρει μία θεωρητική υπόθεση, χωρίς τον σχεδιασμό του κατάλληλου θεσμικού πλαισίου για την διάφανη και επιστημονική αξιολόγηση των βιοτεχνολογικών εφαρμογών και την θέσπιση των κατάλληλων κανόνων στην αγορά, με στόχο την εναρμόνιση με τις αρχές της βιώσιμης ανάπτυξης.

## Αγγλική Βιβλιογραφία

- Ahmad R., Kim M.D., Back K. et al, 2008. Stress-induced expression of choline oxidase in potato plant chloroplasts confers enhanced tolerance to oxidative, salt, and drought stresses. *Plant Cell Reports*, 27, pp 687–698.
- Ali S. and Baek K.H., 2020. Jasmonic Acid Signaling Pathway in Response to Abiotic Stresses in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, p 621.
- Allen R.S., Tilbrook K., Warden A.C., Campbell P.C., Rolland V., Singh S.P., Wood C.C., 2017. Expression of 16 Nitrogenase Proteins within the Plant Mitochondrial Matrix. *Frontiers in plant science*, 8, 287.
- Ambrosio R., Ortiz-Marquez J.C., Curatti L., 2017. Metabolic engineering of a diazotrophic bacterium improves ammonium release and biofertilization of plants and microalgae. *Metab. Eng.* 40, pp 59–68.
- Amini S., Ghobadi C., Yamchi A., 2015. Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 3, pp 44-55.
- Andersson I. and Backlund B, 2008. Structure and function of Rubisco. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46, pp 275-291.
- Aulakh J. and Jhala A., 2015. Comparison of Glufosinate-Based Herbicide Programs for Broad-Spectrum Weed Control in Glufosinate-Resistant Soybean. *Weed Technology*, 29, pp 419-430.
- Bageshwar U.K., Srivastava M., Pardha-Saradhi P., Paul S., Gothandapani S., Jaat R.S., et al., 2017. An environment friendly engineered *Azotobacter* can replace substantial amount of urea fertilizer and yet sustain same wheat yield. *Appl. Environ. Microbiol.*, 83.
- Bar-Even A., Noor E., Lewis N.E., Milo R., 2010. Design and analysis of synthetic carbon fixation pathways. *PNAS USA Journal*, 107, pp 8889-8894.

- Basu R. and B.D. Ostro, 2008: A multicounty analysis identifying the populations vulnerable to mortality associated with high ambient temperature in California. *American Journal of Epidemiology*, 168 , pp 632-637.
- Bathellier C., Tcherkez G., Lorimer G.H., Farquhar G.D., 2018. Rubisco is not really so bad. *Plant Cell & Environment*, 41, pp 705-716.
- Betti M., Bauwe H., Busch F.A., Fernie A.R., 2016. Manipulating photorespiration to increase plant productivity: recent advances and perspectives for crop improvement. *Journal of Experimental Botany*, 67, pp 2977–2988.
- Bi H., Liu P., Ai H., 2017. Overexpression of the rubisco activase gene improves growth and low temperature and weak light tolerance in *Cucumis sativus*. *Physiologia Plantarum*, 161, pp 224-234.
- Bi H., Li F., Wang H., Ai X., 2019. Overexpression of transketolase gene promotes chilling tolerance by increasing the activities of photosynthetic enzymes, alleviating oxidative damage and stabilizing cell structure in *Cucumis sativus* L. *Physiologia Plantarum*, 167, pp 502-515.
- Bisbis M.B., Gruda N., Blanke M., 2018. Potential impacts of climate change on vegetable production and product quality – A review. *Journal of Cleaner Production*, 170, pp 1602-1620.
- Blankenship R.E, Chen M., 2013. Spectral expansion and antenna reduction can enhance photosynthesis for energy production. *Current Opinion in Chemical Biology*, 17, pp 457-461.
- Booker F., Muntifering R., McGrath M., Burkey K., Decoteau D, Fiscus E., Grantz D., 2009. The ozone component of global change: potential effects on agricultural and horticultural plant yield, product quality and interactions with invasive species. *J. Integr. Plant Biol.*, 51, pp. 337-351.
- Borsani O., Zhu J., Verslues P.E., Sunkar R., Zhu J.K., 2004. Endogenous siRNAs derived from a pair of natural cis-antisense transcripts regulate salt tolerance in *Arabidopsis*. *Cell*, 123, pp 1279-1291.

- Brookes G. and Barfoot P., 2018. Environmental impacts of genetically modified (GM) crop use 1996-2016: Impacts on pesticide use and carbon emissions. *GM Crops & Food*, 9, pp 109-139.
- Buren S. and Rubio L.M., 2018. State of the art in eukaryotic nitrogenase engineering. *FEMS Microbiology Letters*, 365.
- Burke M., Hsiang S., Miguel E., 2015. Global non-linear effect of temperature on economic production. *Nature*, 527, pp 235-239.
- Castiglioni P., Bell E., Lund A., Rosenberg A.F., Galligan M., Hinchey B.S., Bauer S., Nelson D.E., Bensen R.J., 2018. Identification of GB1, a gene whose constitutive overexpression increases glycinebetaine content in maize and soybean. *Plant direct*, 2, e00040.
- Chang Y., Nguyen B.H., Xie Y., Xiao B., Tang N., Zhu W., et al, 2017. Co-overexpression of the constitutively active form of OsZIP46 and ABA-activated protein kinase SAPK6 improves drought and temperature stress resistance in rice. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1102.
- Chen T.H. and Murata N., 2011. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant Cell Environment*, 34, pp 1-20.
- Chen M., 2019. Chapter Four - Chlorophylls d and f: Synthesis, occurrence, light-harvesting, and pigment organization in chlorophyll-binding protein complexes. *Advances in Botanical Research*, 90, pp 121-139.
- Chida H., Nakazawa A., Akazaki H., Hirano T., Suruga K. et al, 2007. Expression of the algal cytochrome c6 gene in Arabidopsis enhances photosynthesis and growth. *Plant and Cell Physiology*, 48, pp 948-957.
- Chithrameenal K., Alagarasan G., Raveendran M., Robin S., Meena S., Ramanathan A., Ramalingam J., 2018. Genetic enhancement of phosphorus starvation tolerance through marker assisted introgression of OsPSTOL1 gene in rice genotypes harbouring bacterial blight and blast resistance. *PloS one*, 13, 9.

- Cline W.R., 2007. *Global Warming and Agriculture: Impact Estimates by Country*. Washington: Center for Global Development and Peterson Institute for International Economics.
- Curatti L. and Rubio L.M., 2014. Challenges to develop nitrogen-fixing cereals by direct nif-gene transfer. *Plant Science*, 225, pp 130-137.
- Dalal J., Lopez H., Vasani N.B. et al., 2015. A photorespiratory bypass increases plant growth and seed yield in biofuel crop *Camelina sativa*. *Biotechnology for Biofuel*, 8, p 175.
- Davison J. and Ammann K., 2017. New GMO regulations for old: Determining a new future for EU crop biotechnology. *GM Crops & Food*, 8, pp 13-34.
- Dejonghe W. and Cutler S.R., 2019. Chapter Ten - Abscisic acid as a gateway for the crops of tomorrow. Editor(s): Mitsunori Seo, Annie Marion-Poll. *Advances in Botanical Research*, Academic Press, 92, pp 341-370.
- Ding F., Wang M., Zhang S. et al., 2016. Changes in SBPase activity influence photosynthetic capacity, growth, and tolerance to chilling stress in transgenic tomato plants. *Scientific Reports*, 6.
- Duke S.O., 2018. The history and current status of glyphosate. *Pest Manag. Sci.*, 74, pp 1027-1034.
- Ebi K.L. and Mills D., 2013: Winter mortality in a warming world: a re-assessment. *WIREs Climate Change*, 4, pp 203-212.
- EEA, 2008. *Impact of Europe's Changing Climate —2008 Indicator - based Assessment* Joint EEA-JRC-WHO report. European Environment Agency, Copenhagen.
- Ehleringer J.R. and Cerling T.E., 2002. C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> Photosynthesis. In: Mooney HA, Canadell JG (eds) *The Earth system: biological and ecological dimensions of global environmental change*. Wiley, Chichester, pp 186-190.



- Erb T.J. and Zarzycki J., 2018. A short history of RubisCO: the rise and fall (?) of Nature's predominant CO<sub>2</sub> fixing enzyme. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, pp 100-107.
- Ermakova M., Danila F.R., Furbank R.T., 2019. On the road to C<sub>4</sub> rice: advances and perspectives. *The Plant journal : for cell and molecular biology*.
- Eva C., Oszvald M., Tamas L., 2019. Current and possible approaches for improving photosynthetic efficiency. *Plant Science*, 280, pp 433-440.
- Feng L.L., Wang K., Li Y., Tan Y.P., Kong J., Li H., Li Y.S., Zhu Y.G., 2007a. Overexpression of SBPase enhances photosynthesis against high temperature stress in transgenic rice plants. *Plant Cell Reports*, 26, pp 1635-1646.
- Feng L.L., Han Y.J., Liu G., An B.G., Yang J., Yang G.H., Li Y.S., Zhu Y.G., 2007b. Overexpression of sedoheptulose-1,7-bisphosphatase enhances photosynthesis and growth under salt stress in transgenic rice plants. *Functional Plant Biology*, 34, pp 822-834.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2017. *The future of food and agriculture - Trends and challenges*. Rome. 180 pp.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2018. *The future of food and agriculture: Alternative pathways to 2050*. Rome, 224 pp.
- Fox A.R., Soto G, Valverde C. et al., 2016. Major cereal crops benefit from biological nitrogen fixation when inoculated with the nitrogen-fixing bacterium *Pseudomonas protegens* Pf-5 X940. *Environ Microbiol*. 18, pp 3522-3534.
- Franchini M. and Mannucci P.M., 2015. Impact on human health of climate changes. *European Journal of Internal Medicine*, 26, pp 1-5.
- Friedland N., Negi S., Vinogradova-Shah T., et al, 2019. Fine-tuning the photosynthetic light harvesting apparatus for improved photosynthetic efficiency and biomass yield. *Scientific Reports* , 9, 13028.

- Fu J., Wu H., Ma S., Xiang D., Liu R., Xiong L., 2017. OsJAZ1 attenuates drought resistance by regulating JA and ABA signaling in rice. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2108.
- Fukayama H., Ueguchi C., Nishikawa K., Katoh N., Ishikawa C., Masumoto C., Hatanaka T., Misoo S., 2012. Overexpression of RuBisCO activase decreases the photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation rate by reducing RuBisCO content in rice leaves. *Plant Cell Physiology*, 53, pp 976-986.
- Gamuyao R., Chin J., Pariasca-Tanaka J., et al., 2012. The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. *Nature*, 488, pp 535–539
- Gao Y., Wu M., Zhang M., Jiang W., Ren X., Liang E., et al, 2018. A maize phytochrome-interacting factors protein ZmPIF1 enhances drought tolerance by inducing stomatal closure and improves grain yield in *Oryza sativa*. *Plant Biotechnology Journal*, 16, pp 1375-1387.
- Giri J., 2011. Glycinebetaine and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 6, pp 1746-1751.
- Glass-O'Shea B., 2011. The History and Future of Genetically Modified Crops: Frankenfoods, Superweeds, and the Developing World. 7 *J. Food Law & Policy*, 1, pp 1-33.
- Goel D., Singh A.K., Yadav V., Babbar S.B., Murata N., Bansal K.C., 2011. Transformation of tomato with a bacterial codA gene enhances tolerance to salt and water stresses. *Journal Plant Physiology*. 168, pp 1286-1294.
- Gosal, S.S., Wani S.H., Kang M.S., 2005. Biotechnology and Drought Tolerance. *Journal of Crop Improvement*, 23, pp 19-54.
- Grecequet M., DeWaard J., Hellmann J.J., Abel G.J., 2017. Climate Vulnerability and Human Migration in Global Perspective. *Sustainability*, 9, p 720.

- Grossman M.R., 2019. Labeling Bioengineered Food in the United States: Final Regulations from the US Department of Agriculture. *European Food & Feed Law Review*, 14, pp 142-151.
- Gu J., Zhou Z., Li Z., et al., 2017. Rice (*Oryza sativa* L.) with reduced chlorophyll content exhibit higher photosynthetic rate and efficiency, improved canopy light distribution, and greater yields than normally pigmented plants. *Field Crops Research*, 200, pp 58-70.
- Guerzoni J.T.S., Belintani N.G., Moreira R.M.P., Hoshimo A.A., Domingues D.S., Filho J.C.B., Vieira L.G.E., 2014. Stress-induced  $\Delta$  1 -pyrroline-5- carboxylate synthetase (P5CS) gene confers tolerance to salt stress in transgenic sugarcane. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36, pp 2309-2319.
- Guidi L., Tattini M., Landi M., 2017. How does chloroplast protect chlorophyll against excessive light. *Chlorophyll*, 21.
- Guo L.M., Li J., He J., Liu H., Zhang H.M., 2020. A class I cytosolic HSP20 of rice enhances heat and salt tolerance in different organisms. *Scientific Reports*, 10, 1383.
- Hakata M., Muramatsu M., Nakamura H., Hara N., Kishimoto M., Iida-Okada K., Kajikawa M., Imai-Toki N., Toki S., Nagamura Y., Yamakawa H., Ichikawa H., 2017. Overexpression of TIFY genes promotes plant growth in rice through jasmonate signaling. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 81, pp 906-913.
- Harrigan G.G., Ridley W.P., Miller K.D., Sorbet R., Riordan S.G., Nemeth M.A., Reeves W., Pester T.A., 2009. The forage and grain of MON 87460, a Drought-Tolerant corn hybrid, are compositionally equivalent to that of conventional corn. *Agricultural and Food Chemistry*, 57, pp 9754–9763
- Hasler S., Bröring S., Omta S.W.F., Olf H.W., 2015. Life cycle assessment (LCA) of different fertilizer product types. *European Journal of Agronomy*, 69, pp 41-51.
- Hatano-Iwasaki A. and Ogawa K., 2012. Overexpression of GSH1 gene mimics transcriptional response to low temperature during seed vernalization treatment of *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology*, 53, pp 1195-1203.

- Hayat S., Hayat Q., Alyemeni M.N., Wani A.S., Pichtel J., Ahmad A., 2012. Role of proline under changing environments: a review. *Plant signaling & behavior*, 7, pp 1456–1466.
- Heldt H.W., 1999. *Plant biochemistry and molecular biology* (ed). Oxford, UK: Oxford University Press, pp 278-288.
- Henkes S., Sonnewald U., Badur R., Flachmann R., Stitt M., 2001. A small decrease of plastid transketolase activity in antisense tobacco transformants has dramatic effects on photosynthesis and phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 13, pp 535-51.
- High Level Panel of Experts (HLPE), 2012. *Food security and climate change. A report by the High Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition of the Committee on World Food Security*, Rome 2012.
- Ho M.Y., Shen G., Canniffe D.P., Zhao C., Bryant D.A., 2016. Light-dependent chlorophyll f synthase is a highly divergent paralog of PsbA of photosystem II. *Science*, 353.
- Hoffman B.M., Lukoyanov D., Yang Z.Y., Dean D.R., Seefeldt L.C., 2014. Mechanism of nitrogen fixation by nitrogenase: the next stage. *Chem Rev.* 114, pp 4041–062.
- Hooper J.K., Eggink L.L., Chen M., 2007. Chlorophylls, ligands and assembly of light-harvesting complexes in chloroplasts. *Photosynthesis Research*, 94, 387-400.
- Howe C., Schlarb-Ridley B.G., Wastl J., Purton S., Bendall D.S., 2006. The novel cytochrome c6 of chloroplasts: a case of evolutionary bricolage? *Journal of Experimental Botany*, 57, pp 13–22.
- Ibragimova S.S., Kolodyazhnaya S.Y., Gerasimova S.V., Kochetov A.V., 2012. Partial suppression of gene encoding proline dehydrogenase enhances plant tolerance to various abiotic stresses. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59, pp 88-96.
- Ibragimova S.M., Trifonova E.A., Filipenko E.A., Shymny V.K., 2015. Evaluation of salt tolerance of transgenic tobacco plants bearing the P5CS1 gene of *Arabidopsis thaliana*. *Russian Journal of Genetics*, 51, pp 1181-1188.

- International Organization on Migration (IOM), 2015. *The State of Environmental Migration*; Gemenne, F., Zickgraf, C., Ionesco, D., Eds.; IOM Publications: Geneva, Switzerland.
- International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA), 2018. Brief No. 54, Ithaca, NY.
- IPCC, 2007. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. In Group, ed. S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor, and H.L. Miller. Cambridge and New York: Cambridge University Press.
- IPCC, 2013. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1535 pp.
- IPCC, 2014a: *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Edenhofer, O., R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel and J.C. Minx (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- IPCC, 2014b. *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Field, C.B., V.R. Barros, D.J. Dokken, K.J. Mach, M.D. Mastrandrea, T.E. Bilir, M. Chatterjee, K.L. Ebi, Y .O. Estrada, R.C. Genova, B. Girma, E.S. Kissel, A.N. Levy, S. MacCracken, P .R. Mastrandrea, and L.L. White (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY , USA, 1132 pp.
- IPCC, 2014c. *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Barros, V.R., C.B. Field, D.J.

- Dokken, M.D. Mastrandrea, K.J. Mach, T.E. Bilir, M. Chatterjee, K.L. Ebi, Y .O. Estrada, R.C. Genova, B. Girma, E.S. Kissel, A.N. Levy, S. MacCracken, P .R. Mastrandrea, and L.L. White (eds.]). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY , USA, pp. 688.
- IPCC, 2014d. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.
- Ivleva N.B., Groat J., Staub J.M., Stephens M., 2016. Expression of Active Subunit of Nitrogenase via Integration into Plant Organelle Genome. *PLoS One*, 11.
- Jez J.M., Lee S.G., Sherp A.M., 2016. The next green movement: Plant biology for the environment and sustainability. *Science*, 353, pp 1241-1244.
- Jiang Y., Zheng Q., Chen L., et al, 2018. Ectopic overexpression of maize heat shock transcription factor gene *ZmHsf04* confers increased thermo and salt-stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40, 9.
- Jin H., Li M., Duan S., Fu M., Dong X., Liu B., Feng D., Wang J., Wang, H.B., 2016. Optimization of Light-Harvesting Pigment Improves Photosynthetic Efficiency. *Plant physiology*, 172, pp 1720–1731.
- Kamle M., Kumar P., Patra J.K., Bajpai V.K., 2017. Current perspectives on genetically modified crops and detection methods. *3 Biotech*, 7, p 219.
- Kaur G. and Asthir B., 2015. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia Plantarum*, 59, pp 609–619.
- Kebeish R., Niessen M., Thiruveedhi K., et al., 2007. Chloroplastic photorespiratory bypass increases photosynthesis and biomass production in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Biotechnology*, 25, pp 593-599.
- Khozaei M., Fisk S., Lawson T., Gibon Y., Sulpice R., Stitt M., Lefebvre S.C., Raines C.A., 2015. Overexpression of plastid transketolase in tobacco results in a thiamine auxotrophic phenotype. *The Plant cell*, 27, pp 432–447.

- Kirst H., Gabilly S.T., Niyogi K.K., et al, 2017. Photosynthetic antenna engineering to improve crop yields. *Planta*, 245, pp 1009-1020.
- Kishor P., et al., 2005. Regulation of Proline Biosynthesis, Degradation, Uptake and Transport in Higher Plants: Its Implications in Plant Growth and Abiotic Stress Tolerance. *Current Science*, 88, pp 424–438.
- Kishor P. and Sreenivasulu N., 2014. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? *Plant Cell Environment*, 37, pp 300-311.
- Kochetov A.V., Titov S.E., Kolodyazhnaya Y.S., et al, 2004. Tobacco Transformants Bearing Antisense Suppressor of Proline Dehydrogenase Gene, Are Characterized by Higher Proline Content and Cytoplasm Osmotic Pressure. *Russian Journal of Genetics*, 40, pp 216–218.
- Kolodyazhnaya Y.S., Titov S.E., Kochetov A.V. et al, 2006. Evaluation of salt tolerance in *Nicotiana tabacum* plants bearing an antisense suppressor of the proline dehydrogenase gene. *Russian Journal of Genetics*, 42, pp 212–214.
- Kuang J., Liu J., Mei J., et al, 2017. A Class II small heat shock protein OsHsp18.0 plays positive roles in both biotic and abiotic defense responses in rice. *Scientific Reports* 7, 11333.
- Lefebvre S., Lawson T., Fryer M., Zakhleniuk O.V., Lloyd J.C., Raines C.A., 2005. Increased Sedoheptulose-1,7-Bisphosphatase activity in transgenic tobacco plants stimulates photosynthesis and growth from an early stage in development. *Plant Physiology*, 138, pp 451-460.
- Leisner C.P., 2020. Review: Climate change impacts on food security- focus on perennial cropping systems and nutritional value. *Plant Science*, 293, 110412.
- Li H., Wang Z., Ke Q., Ji C.Y., Jeong J.C., Lee H.S., Lim Y.P., Xu B., Deng X.P., Kwak S.S., 2014. Overexpression of *codA* gene confers enhanced tolerance to abiotic stresses in alfalfa. *Plant physiology and biochemistry*, 85, pp 31–40.

- Li G., Zhang Y., Zhang H., et al, 2019. Characteristics and Regulating Role in Thermotolerance of the Heat Shock Transcription Factor ZmHsf12 from *Zea mays* L.. *Journal of Plant Biology*, 62, pp 329–341.
- Lin M.T. and Hanson M.R., 2018. Red algal Rubisco fails to accumulate in transplastomic tobacco expressing *Griffithsia monilis* RbcL and RbcS genes. *Plant Direct*, 2.
- Loera-Quezada M.M., Leyva-González M.A., López-Arredondo D., Herrera-Estrella L., 2015. Phosphite cannot be used as a phosphorus source but is non-toxic for microalgae. *Plant Science*, 231, pp 124-130.
- Lofstedt P., 2014. The precautionary principle in the EU: Why a formal review is long overdue. *Risk Management*, 16, pp 137–163.
- Long S.P., Ainsworth E.A., Leakey A.D.B., Nösberger J., Ort D.R., 2006. Food for Thought: Lower-Than-Expected Crop Yield Stimulation with Rising CO<sub>2</sub> Concentrations. *Science*, 312, pp 1918-1921.
- Long B.M., Hee W.Y., Sharwood R.E., et al, 2018. Carboxysome encapsulation of the CO<sub>2</sub>-fixing enzyme Rubisco in tobacco chloroplasts. *Nature Communications*, 9, p 3570.
- López-Arredondo D., Herrera-Estrella L., 2012. Engineering phosphorus metabolism in plants to produce a dual fertilization and weed control. *Nature Biotechnology*, 9, pp 889-893.
- Lopez-Calcagno P.E., Fisk S., Brown K.L., Bull S.E., South P.F., Raines C.A., 2018. Overexpressing the H-protein of the glycine cleavage system increases biomass yield in glasshouse and field grown transgenic tobacco plants. *Plant Biotechnology Journal*, 16, pp 1-11.
- López-Torrejón G, Jiménez-Vicente E., María Buesa J., Hernandez J.A., Verma H.K., Rubio L.M., 2016. Expression of a functional oxygen-labile nitrogenase component in the mitochondrial matrix of aerobically grown yeast. *Nature Communication*, 7.
- Luo D., Niu X., Yu J., Yan J., Gou X., Lu B.R., Liu Y., 2012. Rice choline monooxygenase (OsCMO) protein functions in enhancing glycine betaine biosynthesis in transgenic



- tobacco but does not accumulate in rice (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). Plant cell reports, 31, pp 1625–1635.
- Lv S., Yang A., Zhang K., et al, 2007. Increase of glycinebetaine synthesis improves drought tolerance in cotton. Molecular Breeding, 20, pp 233–248.
- Ma L., Zhou E., Gao L., Mao X., Zhou R., Jia J., 2008. Isolation, expression analysis and chromosomal location of P5CR gene in common wheat (*Triticum aestivum* L.). South African Journal of Botany, 74, pp 705- 712.
- Mackinder L.C.M., 2017. The *Chlamydomonas* CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism and its potential for engineering photosynthesis in plants. New Phytologist, 217, pp 54-61.
- Maier A., Fahnenstich H., von Caemmerer S., Engqvist M.K.M., Weber A.P.M., Flugge U.I., Maurino V.G., 2012. Transgenic introduction of a glycolate oxidative cycle into *A-thaliana* chloroplasts leads to growth improvement. Frontiers in Plant Science, 3, pp 1 -12.
- Mäkelä P., Jokinen K., Himanen K., 2019. Roles of endogenous glycinebetaine in plant abiotic stress responses. in MA Hossain, V Kumar, D Burritt, M Fujita & P Mäkelä (eds). Osmoprotectant-mediated abiotic stress tolerance: Recent advances and future perspectives. 1 edn, Springer, pp. 153-173.
- Malik S.M., Awan H., Khan N., 2012. Mapping vulnerability to climate change and its repercussions on human health in Pakistan. Globalization and Health, 8, 31.
- Masson-Boivin C. and Sachs J.L., 2018. Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia—the roots of a success story. Current Opinion in Plant Biology, 44, pp 7-15.
- McMichael C., Barnett J., McMichael A.J., 2012. An ill wind? Climate change, migration, and health. Environmental Health Perspectives, 120, pp 646-654.
- McNeil S., Nuccio M.L., Ziemak M.J., Hanson A.D., 2001. Enhanced synthesis of choline and glycine betaine in transgenic tobacco plants that overexpress phosphoethanolamine N-methyltransferase. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 98, pp 1000 - 1005.

- Mega R., Abe F., Kim J.S., Tsuboi Y., Tanaka K., Kobayashi H., et al, 2019. Tuning water-use efficiency and drought tolerance in wheat using abscisic acid receptors. *Nature Plants*, 5, pp 153-159.
- Miao C., Xiao L., Hua K., Zou C., Zhao Y., Bressan R.A., et al, 2018. Mutations in a subfamily of abscisic acid receptor genes promote rice growth and productivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115, pp 6058-6063.
- Mittal A., Gampala S.S.L., Ritchie G.L., Payton P., Burke J.J., Rock C.D., 2014. Related to ABA-Insensitive3 (ABI3)/Viviparous1 and AtABI5 transcription factor coexpression in cotton enhances drought stress adaptation. *Plant Biotechnology Journal*, 12, pp. 578-589
- Miyao M., Masumoto C., Miyazawa S.I., Fukayama H., 2011. Lessons from engineering a single-cell C4 photosynthetic pathway into rice. *Journal of Experimental Botany*, 62, pp 3021–3029.
- Mueller-Cajar O., 2018. Overexpressing the most abundant enzyme. *Nature Plants* 4, pp 746-747.
- Mus F., Crook M.B., Garcia K., et al., 2016. Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes. *Appl Environ Microb.* 82, pp 3698 – 3710.
- Neelam K., Thakur S., Neha , Yadav I.S., Kumar K., Dhaliwal S. S., Singh K., 2017. Novel Alleles of Phosphorus-Starvation Tolerance 1 Gene (PSTOL1) from *Oryza rufipogon* Confers High Phosphorus Uptake Efficiency. *Frontiers in Plant Science*, 8, p 509.
- Nemali K.S., Bonin C., Dohleman F.G., Stephens M., Reeves W.R., Nelson D.E., Castiglioni P., Whitsel J.E., Sammons B., Silady R.A., Anstrom D., Sharp R.E., Patharkar O.R., Clay D., Coffin M., Nemeth M.A., Leibman M.E., Luethy M., Lawson M., 2015. Physiological responses related to increased grain yield under drought in the first biotechnology-derived drought-tolerant maize. *Plant, Cell & Environment*, 38, pp 1866-1880.

- Nölke G., Houdelet M., Kreuzaler F., Peterhänsel C., Schillberg S., 2014. The expression of a recombinant glycolate dehydrogenase polyprotein in potato (*Solanum tuberosum*) plastids strongly enhances photosynthesis and tuber yield. *Plant Biotechnology Journal*, 12, pp 734-742.
- Nürnberg D.J., Morton J., Santabarbara S., et al, 2018. Photochemistry beyond the red limit in chlorophyll f-containing photosystems. *Science*, 360, pp 1210-1213.
- Oldroyd G.E. and Dixon R., 2014. Biotechnological solutions to the nitrogen problem. *Current Opinion in Biotechnol*, 26, pp 19-24.
- Palma L., Muñoz D., Berry C., Murillo H., Caballero P., 2014. *Bacillus thuringiensis* Toxins: An Overview of Their Biocidal Activity. *Toxins*, 6, pp 3296-3325 .
- Pérez-González A., Kniewel R., Veldhuizen M., et al, 2017. Adaptation of the GoldenBraid modular cloning system and creation of a toolkit for the expression of heterologous proteins in yeast mitochondria. *BMC Biotechnol* 17, p 80.
- Raman R., 2017. The impact of Genetically Modified (GM) crops in modern agriculture: A review. *GM Crops & Food*, 8, pp 195-208.
- Reddy P.S., Jogeswar G., Rasineni G.K., Maheswari M., Reddy A.R., Varshney R.K., Kavi Kishor P.B., 2015. Proline over-accumulation alleviates salt stress and protects photosynthetic and antioxidant enzyme activities in transgenic sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Plant Physiology and Biochemistry*, 94, pp 104-113.
- Roderick M.L., Sun F., Lim W.H., Farquhar G.D., 2014. A general framework for understanding the response of the water cycle to global warming over land and ocean. *Hydrology and Earth System. Sciences*, 18, pp 1575–1589.
- Rogers C. and Oldroyd G.E.D., 2014. Synthetic biology approaches to engineering the nitrogen symbiosis in cereals. *Journal of Experimental Botany*. 65, pp 1939-1946.
- Roosens N.H., Bitar F.A., Loenders K., et al, 2002. Overexpression of ornithine- $\delta$ -aminotransferase increases proline biosynthesis and confers osmotolerance in transgenic plants. *Molecular Breeding* 9, pp 73–80.

- Rosenblueth M., Ormeño-Orrillo E., López-López A., Roge M.A., Reyes-Hernández B.J., Martínez-Romero J.C., Reddy P.M., Martínez-Romero E., 2018. Nitrogen Fixation in Cereals. *Frontiers in Microbiology*, 9, p 1794.
- Rosenthal D.M., Locke A.M., Khozaei M., et al., 2011. Over-expressing the C3 photosynthesis cycle enzyme Sedoheptulose-1-7 Bisphosphatase improves photosynthetic carbon gain and yield under fully open air CO<sub>2</sub> fumigation (FACE). *BMC Plant Biology*, 11, p 123.
- Ruan C.J., Shao H.B., Teixeira da Silva J.A., 2012. A critical review on the improvement of photosynthetic carbon assimilation in C3 plants using genetic engineering. *Critical Reviews in Biotechnology*, 32, pp 1-21.
- Ryan J., Ibricci H., Delgado A., Torrent J., Sommer R., Rashid A., 2012. Significance of Phosphorus for Agriculture and the Environment in the West Asia and North Africa Region. *Advances in Agronomy*, 114, pp 91-153.
- Sage R.F., Way D.A., Kubien D.S., 2008. Rubisco, Rubisco activase, and global climate change. *Journal of Experimental Botany*, 59, pp 1581-1595.
- Sah S.K., Reddy K.R., Li J., 2016. Abscisic Acid and Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Frontiers in Plant Science*, 7, p 571.
- Salesse-Smith C.E., Sharwood R.E., Busch, F.A., et al., 2018. Overexpression of Rubisco subunits with RAF1 increases Rubisco content in maize. *Nature Plants*, 4, pp 802–810
- Santi C., Bogusz D., Franche C., 2013. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of Botany* 111, pp 743–767.
- Schoumans O.F., Bouraoui F., Kabbe C., Oenema O., van Dijk K.C., 2015. Phosphorus management in Europe in a changing world. *AMBIO*, 44, pp 180-192.
- Schuler M.L., Mantegazza O., Weber A.P.M., 2016. Engineering C4 photosynthesis into C3 chassis in the synthetic biology age. *Plant Journal*, 87, pp 51-65.

- Schwander T., Schada von Borzyskowski L., Burgener S., Cortina N.S., Erb T. J., 2016. A synthetic pathway for the fixation of carbon dioxide in vitro. *Science*, 354, pp 900-904.
- Sharpe R.M. and Offermann S., 2014. One decade after the discovery of single-cell C4 species in terrestrial plants: what did we learn about the minimal requirement of C4 photosynthesis? *Photosynthesis Research*, 119, pp 169-180.
- Shah, Z., Shah S.H., Jan A., Ali G.S., 2017. Overexpression of the heat shock-specific transcription factor HSF1D enhances thermotolerance on tobacco plants. *Sarhad Journal of Agriculture*, 33, pp 162-170.
- Shirasawa K., Takabe T., Takabe T., Kishitani S., 2006. Accumulation of Glycinebetaine in Rice Plants that Overexpress Choline Monooxygenase from Spinach and Evaluation of their Tolerance to Abiotic Stress. *Annals of Botany*, 98, pp 565–571.
- Simkin A.J., Lopez-Calcagno P.E., Davey P.A., Headland L.R., Lawson T., Timm S., Bauwe H., Raines C.A., 2017. Simultaneous stimulation of sedoheptulose 1,7-bisphosphatase, fructose 1,6- biphosphate aldolase and the photorespiratory glycine decarboxylase-H protein increases CO<sub>2</sub> assimilation, vegetative biomass and seed yield in Arabidopsis. *Plant Biotechnology Journal*, 15, pp 805-816.
- Singh A., Sharma M.K., Sengar R.S., 2017. Osmolytes: Proline metabolism in plants as sensors of abiotic stress. *Journal of Applied and Natural Science*, 9, pp 2079-2092.
- South P.F., Cavanagh A.P., Lopez-Calcagno P.E., Raines C.A., Ort D.R., 2018. Optimizing photorespiration for improved crop productivity. *Journal of Integrative Plant Biology*, 60, pp 1217-1230.
- Suriharto B., 2017. Biotechnology of Drought-Tolerant sugarcane. In: De Oliveira A, ed. *Sugarcane*. London: IntechOpen.
- Suzuki Y., Ohkubo M., Hatakeyama H., Ohashi K., Yoshizawa R., Kojima S., Hayakawa T., Yamaya T., Mae T. and Makino A., 2007. Increased RuBisCO content in transgenic rice transformed with the 'sense' rbcS gene. *Plant Cell Physiology*, 48, pp 626–637.

- Suzuki Y., Miyamoto T., Yoshizawa R., Mae T., Makino A., 2009. RuBisCO content and photosynthesis of leaves at different positions in transgenic rice with an overexpression of RBCS. *Plant Cell Environment*, 32, pp 417–427.
- Suzuki Y., Kondo E., Makino A., 2017. Effects of co-overexpression of the genes of Rubisco and transketolase on photosynthesis in rice. *Photosynthesis Research*, 131, pp 281-289.
- Timm S., Wittmiss M., Gamlien S., Ewald R., Florian A., Frank M., Wirtz M., Hell R., Fernie A.R., Bauwea H., 2015. Mitochondrial dihydrolipoyl dehydrogenase activity shapes photosynthesis and photorespiration of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 27, pp 1968-1984.
- Tol R.S.J., 2018. The Economic Impacts of Climate Change. *Review of Environmental Economics and Policy*, 12, pp 4-25.
- Uematsu K., Suzuki N., Iwamae T., Inui M., Yukawa H., 2012. Increased fructose 1,6-bisphosphate aldolase in plastids enhances growth and photosynthesis of tobacco plants. *Journal of Experimental Botany*. 63, pp 3001-3009.
- Ul Haq S., Khan A., Ali M., Khattak A.M., Gai W.X., Zhang H.X., Wei A.M., Gong Z.H., 2019. Heat Shock Proteins: Dynamic Biomolecules to Counter Plant Biotic and Abiotic Stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 5321.
- Ullah A., Manghwar H., Shaban M., Khan A.H., Akbar A., Ali U., Ali E., Fahad S., 2018. Phytohormones enhanced drought tolerance in plants: a coping strategy. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, pp 33103-33118.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA), 2019. Global non-CO2 greenhouse gas emission projections & mitigation. Washington DC.
- Van der Leun J.C., Piacentini R.D., de Gruijl F.R., 2008. Climate change and human skin cancer. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 7, pp 730-733.
- Van Meijl H., P. Havlik, H. Lotze-Campen, E. Stehfest, P. Witzke, I. Pérez Domínguez, B. Bodirsky, M. van Dijk, J. Doelman, T. Fellmann, F. Humpenoeder, J. Levin-Koopman, C. Mueller, A. Popp, A. Tabeau, H. Valin, 2017: Challenges of Global

Agriculture in a Climate Change Context by 2050 (AgCLIM50). JRC Science for Policy Report, EUR 28649 EN.

- Vigueira C.C., Small L.L., Olsen K.M., 2016. Long-term balancing selection at the Phosphorus Starvation Tolerance 1 (PSTOL1) locus in wild, domesticated and weedy rice (*Oryza*). *BMC Plant Biol.* 16, p 101.
- Vuren D.P.V., Ochola W.O., Riha S., Gampietro M., Ginze H., et al., 2009. Outlook on agricultural change and its drivers. In: McIntyre BD, Herren HR, Wakhungu J, Watson RT (ed.). *Agriculture at a Crossroads*, Island Press, Washington, DC.
- Waltz E., 2015. First stress-tolerant soybean gets go-ahead in Argentina. *Nature Biotechnology*, 33, 682.
- Wang G.P., Li F., Zhang J., Zhao M.R., Hui Z., Wang W., 2010. Overaccumulation of glycine betaine enhances tolerance of the photosynthetic apparatus to drought and heat stress in wheat. *Photosynthetica*, 48, pp 30–41.
- Wang C., Burzio L.A., Koch M.S., Silvanovich A., Bell E., 2015. Purification, characterization and safety assessment of the introduced cold shock protein B in DroughtGard™ maize. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 71, pp 164-173.
- Wang S., Tholen, D., Zhu, X.G., 2016. C4 photosynthesis in C3 rice: a theoretical analysis of biochemical and anatomical factors. *Plant Cell & Environment*, 40, pp 80–94.
- Wang P., Khoshravesh R., Karki S., Tapia R., Balahadia C.P., Bandyopadhyay A., Quick W.P., Furban R., Sage T.L., Langdale J.A., 2017a. Re-creation of a key step in the evolutionary switch from C3 to C4 leaf anatomy. *Current Biology*, 27, pp 3278–3287.
- Wang P., Vlad D., Langdale J.A., 2017b. Finding the genes to build C4 rice. *Current Opinion in Plant Biology*, Volume 31, pp 44-50.
- World Bank, 2010: *World Development Report 2010: Development and Climate Change*. The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank, Washington, DC, USA, 417 pp.

- Wu J., Kim S.G., Kang K.Y., Kim J.G, Park S.R., Gupta R., Kim Y.H., Wang Y., Kim S.T., 2016. Overexpression of a Pathogenesis-Related protein 10 enhances biotic and abiotic stress tolerance in rice. *Plant Pathology Journal*, 32, pp 552–562.
- Xiang Y., Sun X., Gao S., Qin F., Dai M., 2017. Deletion of an endoplasmic reticulum stress response element in a ZmPP2C-a gene facilitates drought tolerance of maize seedlings. *Molecular Plant*, 10, pp 456-469.
- Xiang J., Chen X., Hu W., Xiang Y., Yan M., Wang J., 2018. Overexpressing Heat-Shock Protein OsHSP50.2 Improves Drought Tolerance in Rice. *Plant Cell Reports*, 37, pp 1585-1595.
- Xu J., Xue C., Xue D., et al, 2013. Overexpression of GmHsp90s, a heat shock protein 90 (Hsp90) gene family cloning from soybean, decrease damage of abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*, 8.
- Xu L., Gao J., Guo L., et al, 2020). Heat shock protein 70 (HmHsp70) from *Hypsizygus marmoreus* confers thermotolerance to tobacco. *AMB Express*, 10, 12.
- Yang X., Liang Z., Lu C., 2005. Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine enhances photosynthesis against high temperature stress in transgenic tobacco plants. *Plant Physiology*, 138, pp 2299–2309.
- Yang X., Liang Z., Wen X., Lu C., 2008. Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine leads to increased tolerance of photosynthesis to salt stress in transgenic tobacco plants. *Plant Molecular Biology*, 66, pp 73–86.
- Yang Z., Liu J., Tischer S.V., Christmann A., Windisch W., Schnyder H., et al, 2016. Leveraging abscisic acid receptors for efficient water use in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113, pp 6791-6796.
- Yang R., Yu G., Li H., et al., 2020. Overexpression of Small Heat Shock Protein LimHSP16.45 in *Arabidopsis hsp17.6II* Mutant Enhances Tolerance to Abiotic Stresses. *Russian Journal of Plant Physiology*, 67, pp 231–241.



- Yohannes H, 2015. A Review on Relationship between Climate Change and Agriculture. *Journal of Earth Science & Climatic Change*, 7, p 335.
- You J., Hu H., Xiong L., 2012. An ornithine  $\alpha$ aminotransferase gene OsOAT confers drought and oxidative stress tolerance in rice. *Plant Science*, 197, pp 59 -69.
- Zhang L., Hu W., Gao Y., Pan H., Zhang Q., 2018. A cytosolic class II small heat shock protein, PfHSP17.2, confers resistance to heat, cold, and salt stresses in transgenic Arabidopsis. *Genetics and Molecular Biology*, 41, pp 649–660.
- Zhu X.G., de Sturler E., Long S.P., 2007. Optimizing the distribution of resources between enzymes of carbon metabolism can dramatically increase photosynthetic rate: a numerical simulation using an evolutionary algorithm. *Plant Physiology*, 145, pp 513-526.
- Zhu X., Wang Y., Liu Y., Zhou W., Yan B., et al, 2018. Overexpression of BcHsfA1 transcription factor from *Brassica campestris* improved heat tolerance of transgenic tobacco. *PLoS One*, 13.

### **Ελληνική Βιβλιογραφία**

- Campbell N.A. and Reece J.B, 2010. Βιολογία, τόμος Ι. Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Taiz and Zeiger, 2017. Φυσιολογία και ανάπτυξη φυτών. Αθήνα: Εκδόσεις Utopia.
- Καραμπουρνιώτης Γ.Α., 2003. Φυσιολογία καταπονήσεων των φυτών. Αθήνα: Εκδόσεις Έμβρυο.
- Καραμπουρνιώτης Γ.Α., Λιακόπουλος Γ., Νικολόπουλος Δ., 2012. Φυσιολογία καταπονήσεων των φυτών. Οι λειτουργίες των φυτών κάτω από αντίξοες συνθήκες περιβάλλοντος. Αθήνα: Εκδόσεις Έμβρυο.

Μπάλιας Γ., 2011. Η ρύθμιση των Γενετικά Τροποποιημένων Οργανισμών (GMOs): Δίκαιο και Διακυβέρνηση για μια νέα τεχνολογία. Αθήνα: Νομική Βιβλιοθήκη.

### **Ελληνική νομοθεσία**

ΚΥΑ αριθ. 88740/1883/1995 (ΦΕΚ 1008/Β/11-12-1995). «Καθορισμός μέτρων και όρων για τη σκόπιμη ελευθέρωση των γενετικώς τροποποιημένων μικροοργανισμών στο περιβάλλον».

ΚΥΑ αριθ. 95267/1893/1995 (ΦΕΚ 1030/Β/14-12-1995). «Μέτρα για την Χρήση Γενετικώς Τροποποιημένων Οργανισμών».

ΚΥΑ αριθ. 38639/2017/2005 (ΦΕΚ 1334/Β/21-09-2005). «Καθορισμός μέτρων και όρων για τη σκόπιμη ελευθέρωση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών στο περιβάλλον σε συμμόρφωση με τις διατάξεις της οδηγίας 2001/18 για τη σκόπιμη ελευθέρωση γενετικώς τροποποιημένων οργανισμών στο περιβάλλον και την κατάργηση της οδηγίας 90/220/ΕΟΚ" του Συμβουλίου της 12ης Μαρτίου 2001 των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων».

ΚΥΑ αριθ. 2775/128098/2017 (ΦΕΚ 4287/Β/29-11-2017). «Τροποποίηση της ΚΥΑ αριθ. 38639/2017/21-09-2005, σε συμμόρφωση προς την Οδηγία (ΕΕ) 2015/412 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 11ης Μαρτίου 2015, για την τροποποίηση της οδηγίας 2001/18/ΕΚ όσον αφορά τη δυνατότητα που παρέχεται στα κράτη μέλη να περιορίζουν ή να απαγορεύουν την καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων οργανισμών (ΓΤΟ) στην επικράτειά τους».

Ν. 3233/2004 (ΦΕΚ 51/Α/18-02-2004). «Κύρωση του Πρωτοκόλλου της Καρθαγένης».

ΥΑ αριθ. 317/51441/2012 (ΦΕΚ 1567/Β/08-05-2012). «Απαγόρευση της χρήσης και εμπορίας της γενετικής τροποποίησης γεώμηλου EH92-527-1 (Amflora) στο περιβάλλον ως πολλαπλασιαστικό υλικό για καλλιέργεια» .

ΥΑ αριθ. 9769/121592/2013 (ΦΕΚ 2566/Β/11-10-2013). «Απαγόρευση εμπορίας στην ελληνική επικράτεια σπόρων προς σπορά υβριδίων αραβοσίτου που φέρουν τη γενετική τροποποίηση MON810».

### Διαδικτυακές πηγές

Ritchie H. and Roser M., 2020. CO<sub>2</sub> and Greenhouse Gas Emissions. Διαθέσιμο στο: <https://ourworldindata.org/co2-and-other-greenhouse-gas-emissions>. [Προσβάσιμο στις 18.11.2019]

Euro-lex, 2000. Ανακοίνωση της Επιτροπής για την αρχή της προφύλαξης. Διαθέσιμο στο <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/?uri=celex:52000DC0001>. [Προσβάσιμο στις 15.01.2020]

<https://www.climatecentral.org/gallery/graphics/greenhouse-gas-concentrations>. [Προσβάσιμο στις 07.01.2020]

<https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=366> [Προσβάσιμο στις 15.05.2020]

<https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=403> [Προσβάσιμο στις 15.05.2020]

<https://ourworldindata.org/co2-and-other-greenhouse-gas-emissions>. [Προσβάσιμο στις 21.12.2019]