

ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ  
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ



**ΕΞΥΓΙΑΝΣΗ-ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ *IN VITRO*  
ΤΟΥ ΑΜΥΓΔΑΛΟΡΟΔΑΚΙΝΟΥ P1**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: κ. ΓΡΗΓΟΡΙΑΔΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ  
ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΡΑΠΤΟΠΟΥΛΟΥ ΧΡΗΣΤΙΝΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2009

# Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΩΝ ΡΟΔΑΚΙΝΙΑΣ - ΑΜΥΓΔΑΛΟΡΟΔΑΚΙΝΑ

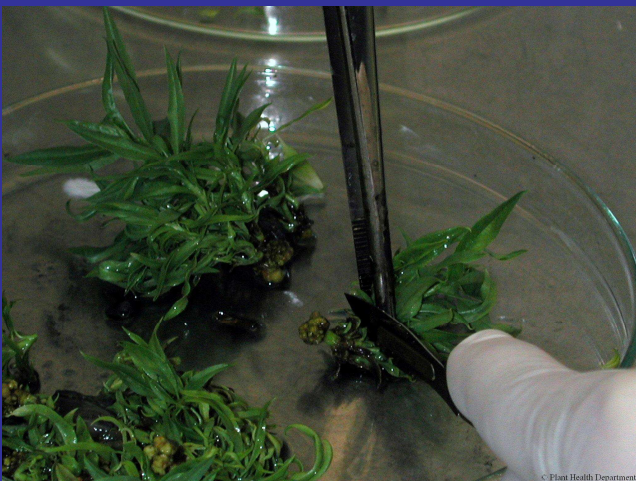
Τα αμυγδαλοροδάκινα, είναι υβρίδια αμυγδαλιάς και ροδακινιάς (*Prunus persica* x *Prunus amygdalus*).

Σήμερα, χρησιμοποιούνται τα αμυγδαλοροδάκινα για τα παρακάτω χαρακτηριστικά τους:

- Σχετικά μεγάλη αντοχή σε εδάφη αλκαλικά-ασβεστώδη
- Αντοχή στις ασθένειες επαναφύτευσης (επιτυχής αντιμετώπιση του σοβαρού προβλήματος της επαναφύτευσης εκριζωθέντων ροδακινιώνων)
- Σχετικά υψηλή αντοχή στην ξηρασία του εδάφους (αντιμετώπιση προβλημάτων στενότητας του νερού άρδευσης)
- Έχουν μεγάλη ζωηρότητα που τα καθιστά πολύ αξιόλογα υποκείμενα και για εδάφη μέτριας, ακόμη και μικρής γονιμότητας

# IN VITRO ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΙΣΤΩΝ, ΚΥΤΤΑΡΩΝ & ΟΡΓΑΝΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΦΥΤΩΝ

Ο όρος *Ιστοκαλλιέργεια ή καλλιέργεια in vitro*, περιγράφει μια διαδικασία (τεχνική), κατά την οποία μικρά τεμάχια φυτικού ιστού, όργανα ή κύτταρα, απομονώνονται από το μητρικό φυτό κάτω από ασηπτικές συνθήκες και καλλιεργούνται σε ειδικά δοχεία που περιέχουν αποστειρωμένο θρεπτικό υπόστρωμα, σε χώρους με ελεγχόμενο περιβάλλον (φωτισμός και θερμοκρασία).



# ΠΗΓΕΣ ΦΥΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΓΙΑ *IN VITRO* ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

Έμβρυα



embryon

Ανθήρες, Ωοθήκες



organes reproducteurs

Μεριστώματα



meristème

Μοσχεύματα



moëud poutte axillaire

Πρωτοπλάστες



explants divers



## ΣΥΝΘΗΚΕΣ *IN VITRO* ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

- Το είδος του καλλιεργούμενου μικρομοσχεύματος
- Η χρησιμοποίηση του κατάλληλου θρεπτικού υποστρώματος
- Η δημιουργία και η διατήρηση ασηπτικών συνθηκών
- Η παροχή των κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξης (θερμοκρασία, φωτισμός, αερισμός)





# ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

- Στον μικροπολλαπλασιασμό
- Στην εξυγίανση και παραγωγή άνοσου φυτικού υλικού
- Στην γενετική βελτίωση των φυτών
- Στη μελέτη φυσιολογικών φαινομένων και παραγωγή *in vitro* δευτερογενών μεταβολιτών

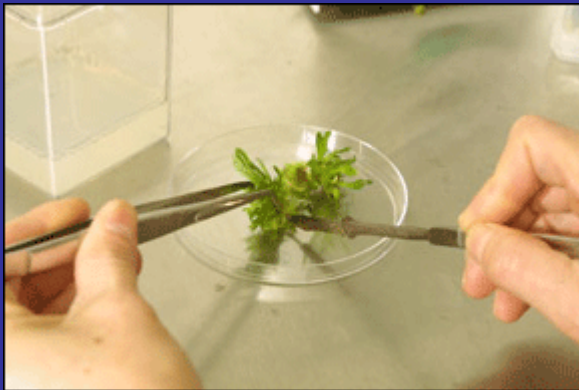


# ΜΙΚΡΟΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ

*Μικροπολλαπλασιασμός* ονομάζεται, η διαδικασία της μαζικής κλωνικής παραγωγής νέων φυτών, χρησιμοποιώντας τεχνικές ιστοκαλλιέργειας.

Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται συνήθως:

- Καλλιέργειες μεριστωμάτων ή βλαστικών κορυφών
- Καλλιέργειες υποκοτύλης, κοτυληδόνων, κλπ.
- Η τεχνική της σωματικής εμβρυογένεσης
- Ο μικροεμβολιασμός



# ΤΡΟΠΟΙ ΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΦΥΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

- Θερμοθεραπεία και καλλιέργεια ακραίου μεριστώματος
- Μικροεμβολιασμός *in vitro*
- Χημειοθεραπεία



## ΘΕΡΜΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΚΡΑΙΟΥ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΟΣ

Η διάρκειά της μπορεί να ποικίλει από 10 ημέρες μέχρι και πάνω από 200 ημέρες (συνήθως 3-12 εβδομάδες), ανάλογα με το είδος και την αντοχή του φυτού, το είδος του ιού που πρόκειται να εξαλειφθεί και το ύψος της εφαρμοζόμενης θερμοκρασίας που κυμαίνεται από 32°-42° C (συνήθως 37° C).

## ΘΕΡΜΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΚΡΑΙΟΥ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΟΣ

Τα ακραία μεριστώματα των φυτών, στο μεγαλύτερο μέρος των περιπτώσεων, παραμένουν άνοσα από διασυστηματικούς παρασιτικούς μικροοργανισμούς.

Η ιδιόμορφη αυτή ιδιότητα των ακραίων μεριστωμάτων σε συνδυασμό με τις τεχνικές καλλιέργειας *in vitro*, επιτρέπει την εξυγίανση φυτικών ειδών.

## ΜΙΚΡΟΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ *IN VITRO*

Σκοπός αυτής της τεχνικής είναι η εξυγίανση των φυτών από ιούς, αξιοποιώντας το χαρακτηριστικό των ακραίων μεριστωμάτων.

Ο μεριστωματικός ιστός, αφού αποκοπεί από το μόσχευμα, αντί να τοποθετηθεί απ' ευθείας στο υπόστρωμα, εμβολιάζεται σε ένα υποκείμενο απαλλαγμένο από ιούς, το οποίο έχει καλλιεργηθεί *in vitro*.

## ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η εφαρμογή χημικών ουσιών (αντιϊκα φάρμακα) που καταστρέφουν ή εμποδίζουν την εξάπλωση των ιών.

Είναι η χορήγηση διασυστηματικών ενδοθεραπευτικών μυκητοκτόνων ή αντιβιοτικών από την ρίζα, τα φύλλα ή και με ενέσεις στον κορμό ή προσθήκη στο θρεπτικό υπόστρωμα.

Τέτοιες ουσίες είναι η ribavirin (Virazole), 2-thiouracil, acycloguanosine, actinomycin D.

## ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

- Εξάλειψη Νεκρωτικής δακτυλιωτής κηλίδωσης, από την ποικιλία «Empress» (*Prunus domestica*) με ribavirin (25-100mg l<sup>-1</sup>)
- Συνδυασμός θερμοθεραπείας με την εφαρμογή της ribavirin (50-100mg l<sup>-1</sup>), εξάλειψε τον Νανισμό της Δαμασκηνιάς από την ποικιλία «Early Rivers» (sweet cherry)
- Εξάλειψη του ιού Indian Citrus Ringspot Virus από ποικιλία μανταρινιάς. Συνδυασμός χημειοθεραπείας (ribavirin 25mg l<sup>-1</sup>) με μικροεμβολιασμό σε ανθεκτικό υποκείμενο λεμονιάς (ακραία μεριστώματα 0,7mm)

## ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο σκοπός αυτής της εργασίας, ήταν η επιτυχής *in vitro* καλλιέργεια και η επιτυχής εγκατάσταση του νέου αμυγδαλοροδάκινου P1. Επίσης, η μελέτη των διαφόρων μεθόδων απολύμανσης των μικρομοσχευμάτων σε διαφορετικές χρονικές περιόδους και η δημιουργία υλικού βάσης, που στη συνέχεια θα χρησιμοποιηθεί για τη μαζική αναπαραγωγή του P1, με την μέθοδο της ιστοκαλλιέργειας.



## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

- Υπόστρωμα Murashige & Skoog, εμπλουτισμένο με BA 0,7 mg/L + GA<sub>3</sub> 0,1 mg/L + NAA 0,01 mg/L + sucrose 20gr + agar 6gr και pH 5,8.
- Φυτικό υλικό (αμυγδαλοροδάκινο - νεαροί βλαστοί που κόπηκαν σε μικρομοσχεύματα με ένα και δύο γόνατα)
- Μεταχειρίσεις: διάκριση σε χοντρά (βάση βλαστού) και λεπτά (κορυφή βλαστού) μικρομοσχεύματα.
- Κυρίως απολύμανση με το υποχλωριώδες νάτριο.
- Πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις (Ιούνιο, Ιούλιο, Σεπτέμβριο).

## 1<sup>η</sup> ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (ΙΟΥΝΙΟΣ)

- Ελήφθησαν **31** μικρομοσχεύματα με 2 γόνατα από νεαρούς βλαστούς.
- Εμβαπτίστηκαν σε αλκοόλη 70% για 30sec.
- Η κυρίως απολύμανση έγινε με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 3% και ανάδευση για 20min.
- Τοποθετήθηκαν στο θάλαμο ανάπτυξης με θερμοκρασία 21° C και φωτοπερίοδο τις 16 ώρες.

## 2<sup>η</sup> ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (ΙΟΥΛΙΟΣ)

- Καθαρίστηκαν οι νεαροί βλαστοί με 70% αλκοόλη.
- Ελήφθησαν **124** μικρομοσχεύματα με 1 γόνατο.
- Διαχωρίστηκαν σε **63 χοντρά** μικρομοσχεύματα (πιο κοντά στη βάση του νεαρού βλαστού) και σε **61 λεπτά** (προς την κορυφή του νεαρού βλαστού).
- Εμβαπτίστηκαν σε αλκοόλη 70% για 30sec.
- Η κυρίως απολύμανση για τα χοντρά μικρομοσχεύματα, έγινε με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 4% για 30min. Για τα λεπτά, με 3% NaOCl για 20min.
- Τοποθετήθηκαν στο θάλαμο ανάπτυξης με θερμοκρασία 21° C και φωτοπερίοδο τις 16 ώρες.

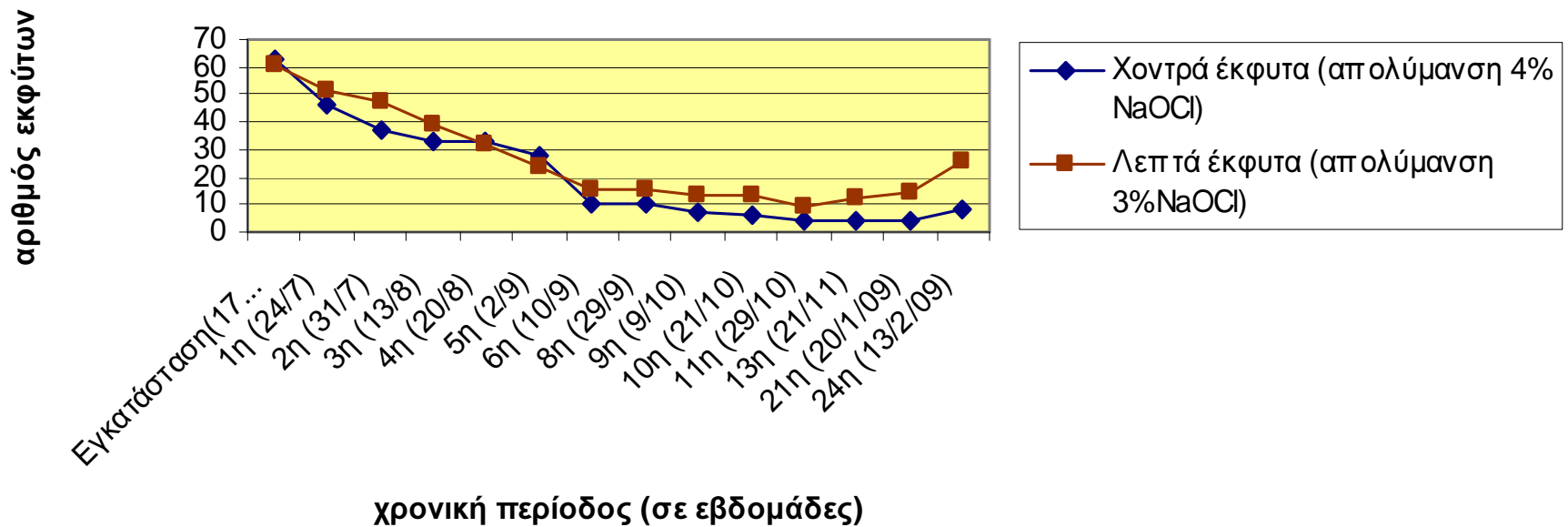
## 3<sup>η</sup> ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ)

- Καθαρίστηκαν οι νεαροί βλαστοί με 70% αλκοόλη.
- Ελήφθησαν 44 μικρομοσχεύματα με 1 γόνατο.
- Διαχωρίστηκαν σε 19 χοντρά μικρομοσχεύματα και σε 25 λεπτά.
- Εμβαπτίστηκαν σε αλκοόλη 70% για 30sec.
- Η κυρίως απολύμανση για τα χοντρά, έγινε με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 4% για 30min. Για τα λεπτά, με 3% NaOCl για 20min.
- Τοποθετήθηκαν στο θάλαμο ανάπτυξης με θερμοκρασία 21° C και φωτοπερίοδο τις 16 ώρες.

# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

## 2η ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (Ιούλιος):

### ΕΞΕΛΙΞΗ ΕΚΦΥΤΩΝ ΓΙΑ ΔΙΑΡΚΕΙΑ 6 ΜΗΝΩΝ



# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

## 2η ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (Ιούλιος):

	Συνολικός αριθμός εκφύτων που εγκαταστάθηκαν	Συνολικός αριθμός εκφύτων που αφαιρέθηκαν	Έκφυτα επιτυχώς εγκατεστημένα στις 11εβδομάδες	<b>Έκφυτα επιτυχώς εγκατεστημένα στους 6 μήνες</b>
17/7/2008	124	111*	13	<b>34*</b>

\* Ποσοστό μόλυνσης για τα χοντρά 67% και για τα λεπτά 61%

\* Προέκυψαν μετά από επανακαλλιέργεια



# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

## 3η ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (Σεπτέμβριος):

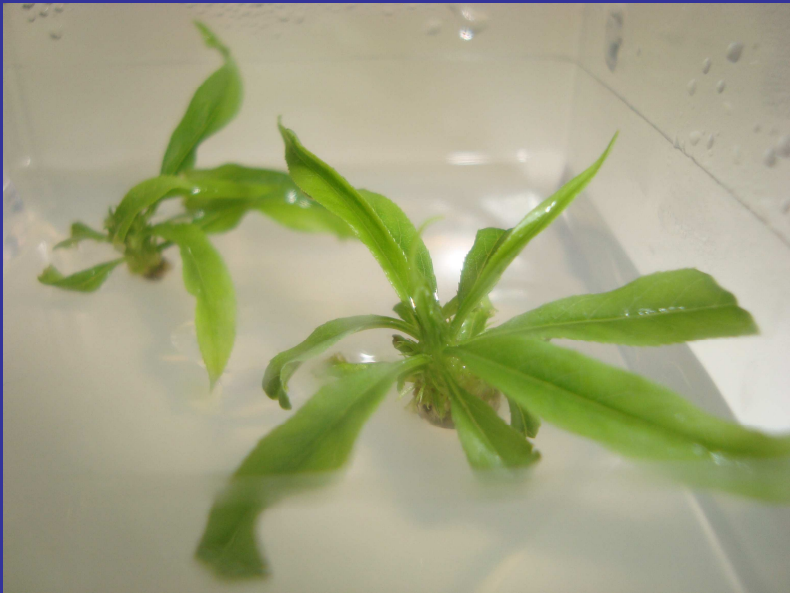
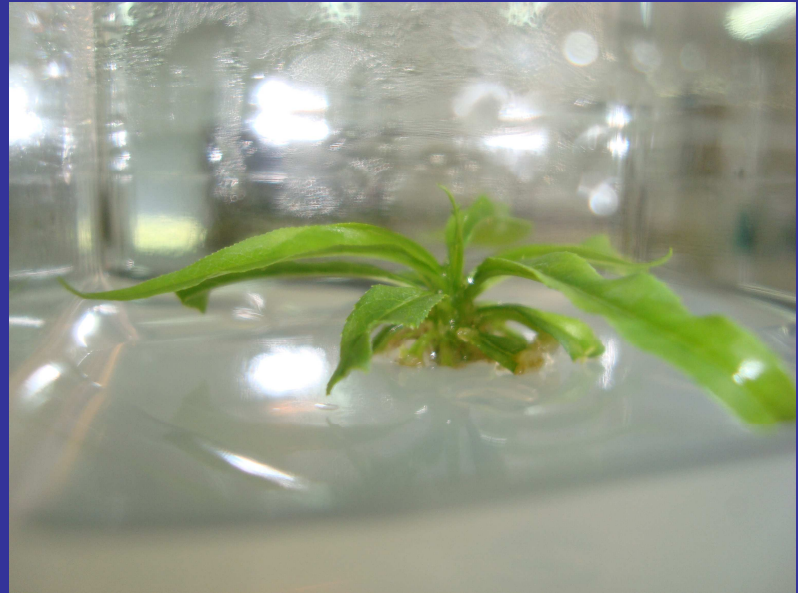
	Συνολικός αριθμός εκφύτων που εγκαταστάθηκαν	Συνολικός αριθμός εκφύτων που αφαιρέθηκαν	Έκφυτα επιτυχώς εγκατεστημένα στις 10εβδομάδες	Έκφυτα επιτυχώς εγκατεστημένα στους 5 μήνες
15/9/2008	44	43*	1	3*

\* Ποσοστό μόλυνσης για τα χοντρά 47% και για τα λεπτά 68%

\* Προέκυψαν μετά από επανακαλλιέργεια

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Λήψη μικρομοσχευμάτων κατά τον μήνα Ιούλιο
- Νεαροί βλαστοί
- Τμήματα για καλλιέργεια από την κορυφή του μοσχεύματος
- Απολύμανση με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου (NaOCl) 3% και ανάδευση για 20 λεπτά
- Καλλιέργεια σε θρεπτικό υπόστρωμα MS + BA 0,7 mg/L + GA<sub>3</sub> 0,1 mg/L + NAA 0,01 mg/L + ζάχαρη 20gr + άγαρ 6gr και pH 5,8
- Επιτυχής καλλιέργεια *in vitro* του αμυγδαλοροδάκινου σε 6 μήνες.



**ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΟΧΗ ΣΑΣ!**