

ΤΕΙ ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ

ΣΧΟΛΗ: ΣΤΕΓ

ΤΜΗΜΑ: ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ & ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ

Ιστοκαλλιέργεια
Στην Γαρυφαλιά



Εισηγητής: Γιώργος Σαλάχας

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Των Σπουδαστριών
Κατερίνας Μπακάλη
Μαρίνας Σκίτζα



ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΗ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑ

Ε. Σαράντα

Ε. Σαράντα

*Αφιερώνεται
στους γονείς μας*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στην παρούσα εργασία γίνεται μελέτη για την ιστοκαλλιέργεια στην γαριφαλιά.

Από την θέση αυτή θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε το προσωπικό της θερμοκηπιακής μονάδας Αφοι Κωστελένου, και ιδιαίτερα τον κ.Γιώργο Κωστελένο, για την συμπαράσταση αλλά και για την πολύτιμη βοήθειά τους στο πρακτικό και θεωρητικό μέρος αυτής της μελέτης.

Τέλος, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον καθηγητή μας κ.Γιώργο Σαλάχα, εισηγητή αυτής της μελέτης, για την βοήθεια που πρόσφερε τόσο στη διεξαγωγή αυτής της εργασίας όσο και στην διόρθωσή της.

Μπακάλη Κατερίνα

Σχίζα Μαρίνα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.	Περιγραφή της καλλιέργειας της γαρυφαλλιάς	4
1.1.	Βοτανική κατάταξη της γαρυφαλλιάς	5
1.2.	Καταγωγή και εξέλιξη της γαρυφαλλιάς	6
1.3.	Καλλιέργεια της γαρυφαλλιάς	8
1.3.1.	Φύτευση	8
1.3.2.	Κορυφολόγημα και υποστήλωση	9
1.3.3.	Άρδευση και λίπανση	9
1.4.	Πολλαπλασιασμός της γαρυφαλλιάς	10
1.4.1.	Θερμοθεραπεία - Μεριστωματικός πολλαπλασιασμός	10
1.4.2.	Μεριστωματικά φυτά	10
1.4.3.	Super Elite φυτά	10
1.4.4.	Elite φυτά ή Φυτομάνες	11
1.5.	Διάγραμμα I: Πορεία παραγωγής - μεριστωματικών φυτών γαρυφαλλιάς	12
1.6.	Διάγραμμα II: Πορεία παραγωγής εμπορικών μοσχευμάτων γαρυφαλλιάς	13
1.7.	Εχθροί και ασθένειες της γαρυφαλλιάς	14
1.8.	Οι κυριότεροι ιοί της γαρυφαλλιάς	15
2.	Αναγκαιότητα ιστοκαλλιέργειας στην γαρυφαλλιά, και πλεονεκτήματα - μειονεκτήματα της ιστοκαλλιέργειας	16
2.1.	Ιστοκαλλιέργεια - αναγκαιότητα ιστοκαλλιέργειας στην γαρυφαλλιά	17
2.2.	Πλεονεκτήματα ιστοκαλλιέργειας	20
2.3.	Μειονεκτήματα ιστοκαλλιέργειας	21
3.	Δομή εργαστηρίου της ιστοκαλλιέργειας	22
4.	Εργαστηριακό μέρος	33
4.1.	Συλλογή - προετοιμασία μοσχευμάτων	34
4.2.	Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος	35
4.3.	Πίνακες θρεπτικών υποστρωμάτων	37
4.4.	Καλλιέργεια μεριστωμάτων	40
5.	Αποτελέσματα - συμπεράσματα	41
	Βιβλιογραφία	43
	Παράρτημα φωτογραφιών	44

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ
ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ
ΤΗΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑΣ

1.1.ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΗΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑΣ

Η γαρυφαλλιά που καλλιεργείται για την παραγωγή δρεπτών ανθέων ανήκει στο γένος *Dianthus* είδος *caryophyllus* L και κατάγεται από την περιοχή που εκτείνεται από την Περσία διέρχεται από την Μ. Ασία και φθάνει ως την Ελλάδα.

Η γαρυφαλλιά είναι φυτό ποώδες, πολυτελές, δικότυλο και ανήκει στο γένος *Dianthus* L στην οικογένεια των καρυοφυλλίδων (*caryophyllaceae*). Ο βλαστός διακλαδίζεται διχοτομικά και τα γόνατα είναι διογκωμένα. Τα φύλλα είναι απλά, στενά, αντίθετα. Τα άνθη της φέρονται επάκρια, μεμονωμένα, ακτινόμορφα και είναι ερμαφρόδιτα.

Η οικογένεια *caryophyllaceae* υποδιαιρείται στις οικογένειες: *Alsinoideae*, *Panonychioideae* και *Silenoideae* που περιλαμβάνουν συνολικά 80 γένη και περίπου 2.000 είδη.

Στην υποοικογένεια *Silenoideae* ανήκουν οι τομείς *Armeriastrum* και *Caryophyllum*. Στον τομέα *Caryophyllum* περιλαμβάνονται φυτά με ένα άνθος ή με περιορισμένο αριθμό ανθέων που φέρονται επάκρια των βλαστών και έχουν πέταλα με ή δίχως οδοντώσεις. Στο γένος *Dianthus* κατατάσσονται περισσότερα από 250-300 είδη. Σ' αυτό τον τομέα ανήκει το είδος *Dianthus caryophyllus*.

1.2. ΚΑΤΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑΣ

Η γαρυφαλλιά ως καλλιέργεια είναι γνωστή από τους αρχαίους χρόνους. Ο Θεόφραστος στο έργο του «Ιστορία των φυτών» την αναφέρει ως καλλιεργούμενο είδος και το ίδιο ανέφερε και ο Ρωμαίος Πλίνιος το 50μ.χ.

Ο Gerard ήδη από το 1597 αναφέρει ότι υπάρχει πλήθος ποικιλιών, ενώ το 1731 σ'ένα από τα πρώτα συγγράμματα κηποτεχνίας του Miller, η καλλιέργεια καταλαμβάνει μεγάλο μέρος.

Ο υβριδισμός της γαρυφαλλιάς αναφέρεται ότι έγινε για πρώτη φορά στο Λονδίνο το 1717 από τον Thomas Fairchild, μεταξύ του *D. Caryophyllus* και του *D. barbatus*.

Οι ποικιλίες που καλλιεργούνται μέχρι τις αρχές του 19^{ου} αιώνα ήταν φυτά που δεν άνθιζαν όλο το χρόνο παρά μόνο μερικούς μήνες. Το 1835 στη Λυών της Γαλλίας ο κηπουρός Dalmais έτυχε όμως να παρατηρήσει ότι ένα φυτό της ποικιλίας «mahon» άνθιζε για περισσότερη χρονική διάρκεια από τα άλλα. Η παρατήρηση αυτή της τυχαίας μετάλλαξης (παρατεταμένη άνθηση), αποτέλεσε την αφετηρία παραγωγής των σύγχρονων γαρυφάλλων.

Στη σύγχρονη επιχειρηματική ανθοκομία σήμερα, για την παραγωγή δρεπτών ανθέων, καλλιεργούνται κυρίως τρία είδη από το γένος *Dianthus*: α) Το είδος *Dianthus caryophyllus* (carnation), το γνωστό γαρύφαλλο, στο οποίο διαχωρίζονταν οικότυποι με άνθη τύπου «standard» και «spray». Ο «Standard» οικότυπος υποδιαιρείται σε τέσσερις ομάδες ποικιλιών: 1) τις ποικιλίες SIM (STANDARD SIM), οι οποίες είναι διάφορες διασταυρώσεις/μεταλλάξεις της κόκκινης ποικιλίας WILLIAM SIM 2) τις ποικιλίες CORSO (STANDARD CORSO) που είναι υβρίδια που προέρχονται από τη ροζ χρώματος ποικιλία CORSO 3) τις ΑΝΘΕΚΤΙΚΕΣ ποικιλίες (STANDARD RESISTANT), που είναι υβρίδια και προέρχονται από την κλασική ποικιλία PALLAS και τέλος α) τις ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΕΣ ποικιλίες (STANDARD MEDITERRANEAN) που είναι Ιταλικής προέλευσης β) το *Dianthus barbatus* L γνωστό παλιότερα στην

Κεντρική Ευρώπη και τη Ρωσία, που καλλιεργείται επίσης στην χώρα μας (β) το *Dianthus chinensis* το γνωστό σε όλους Κινέζικο γαρύφαλλο.

1.3. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑΣ

Στη χώρα μας η καλλιέργεια της γαρυφαλλιάς αποτελεί τη μεγαλύτερη σε έκταση καλλιέργεια δρεπτών ανθέων. Στην επαρχία Τροιζηνίας, όπου και καλλιεργήθηκαν τα γαρύφαλλα που χρησιμοποιήθηκαν για τις απομονώσεις, η καλλιέργεια της γαρυφαλλιάς είναι γνωστή από το 1938. Η πρώτη αυτή προσπάθεια απέτυχε λόγω λανθασμένης επιλογής τοποθεσίας (η περιοχή ήταν πυρήνας παγετού). Η προσπάθεια επαναλήφθηκε την περίοδο 1953-1954. Δύο έτη αργότερα, το καλοκαίρι του έτους 1956 η παραγωγή εκμηδενίστηκε από άγνωστη ως τότε αιτία. Οι παραγωγοί περιγράφουν συμπτώματα στα φυτά τους, παρόμοια με αυτά που προκαλεί η αδροφουζαρίωση.

1.3.1. Φύτευση

Τα μοσχεύματα της γαρυφαλλιάς μπορούν να φυτευθούν όλο το έτος, πρακτικά όμως φυτεύσεις γίνονται από τα τέλη Ιανουαρίου έως τις αρχές Αυγούστου το αργότερο.

Τα έριζα μοσχεύματα τοποθετούνται σε ραχώνια πλάτους 45 έως 75cm σε 2 έως 4 σειρές για τις υπαίθριες καλλιέργειες και σε ραχώνια 75 έως 105cm σε 4 ή 6 σειρές στα θερμοκήπια, σε τετραγωνική διάταξη και σε αποστάσεις 15cm X 15cm φυτό από φυτό. Τα ραχώνια απέχουν μεταξύ τους από 45 έως 60 cm. Η συνηθέστερη πυκνότητα φύτευσης στις συνθήκες της πατρίδας μας είναι από 14.000 έως 18.000 μοσχεύματα ανά στρέμμα.

Τη φύτευση των έριζων μοσχευμάτων στο έδαφος, που πρέπει να γίνεται όσο το δυνατόν πιο επιφανειακά, ακολουθεί πρόγραμμα 15 ημερών για τον εγκλιματισμό των φυτών, όπου κύριο ρόλο διαδραματίζουν οι συχνές και σύντομες αρδεύσεις με το σύστημα υψηλού υδροκαταιονισμού (μπεκ).

1.3.2. Κορυφολόγημα και υποστήλωση

Την 21^η έως την 28^η ημέρα από την φύτευση τα μοσχεύματα κορυφολογούνται στο ύψος του 4^{ου} έως 5^{ου} μεσογονατίου διαστήματος για να προκληθεί αδελφωμα («πλάτωμα»). Μετά το κορυφολόγημα τοποθετούνται τα πλέγματα (δίχτυα) υποστήλωσης. Στο σύνολό τους τοποθετούνται (όλα μαζί ή σταδιακά με την ανάπτυξη των φυτών) 4 έως 5 επίπεδα δίχτυων. Τα δίχτυα αυτά είναι από πλαστικό και οι διαστάσεις των οπών τους (μάτια) είναι 15cm X15cm.

1.3.3. Άρδευση και Λίπανση

Η καλλιέργεια της γαρυφαλλιάς, απαιτεί συχνές αρδεύσεις και λιπάνσεις. Είναι προτιμότερο οι αρδεύσεις και οι λιπάνσεις (ειδικά τους χειμερινούς μήνες) να γίνονται με στάγδην άρδευση παρά με υδροκαταιονισμό, για να αποφεύγονται οι ασθένειες του φυλλώματος. Η συχνότητα των αρδεύσεων κυμαίνεται από 4 φορές το μήνα το χειμώνα ως 12 φορές το μήνα το καλοκαίρι. Η συνολική ποσότητα νερού που απαιτείται είναι 700-1000 m^3 το έτος ανά στρέμμα καλλιέργειας. Η ύπαρξη συστήματος άρδευσης με σταγόνες διευκολύνει πολύ την παροχή του λιπάσματος σε υγρή μορφή (υδρολίπανση). Όταν η λίπανση γίνεται με στερεά λιπάσματα, τότε πρέπει να δίδεται ιδιαίτερη προσοχή ώστε να μην έρχονται σε επαφή τα λιπάσματα με το φύλλωμα των φυτών ώστε να μην προκληθούν εγκαύματα στα φύλλα και στα στελέχη. Η διατήρηση των φυτών σε στεγνή κατάσταση πριν από την λίπανση βοηθάει σ' αυτό.

1.4. ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑΣ

Όταν εμφανισθεί ένα γενότυπος (ποικιλία) με εμπορικό ενδιαφέρον, αρχίζει η διαδικασία πολλαπλασιασμού που κλιμακώνεται σε 4 στάδια.

1.4.1. Θερμοθεραπεία - Μεριστωματικός πολλαπλασιασμός (1^ο στάδιο)

Ένας μικρός αριθμός φυτών της νέας ποικιλίας (3-4 φυτά) που προέρχονται απ'ευθείας από το αρχικό επιλεγμένο φυτό, καλλιεργείται σε θάλαμο θερμοθεραπείας για απαλλαγή από ιώσεις. Στη συνέχεια (ενώ τα φυτά παραμένουν σε θάλαμο θερμοθεραπείας για 2-3 μήνες σε θερμοκρασίες 33^ο-39^ο C) γίνεται συλλογή κορυφών βλαστών από τις οποίες γίνεται καλλιέργεια ακραίου μεριστώματος. Τα προκύπτοντα φυτά από την ιστοκαλλιέργεια εγκλιματίζονται και υποβάλλονται σε σειρά από δοκιμασίες Elisa και φυτά «δείκτες», ώστε να διαπιστωθεί εάν όντως είναι απαλλαγμένα από ιώσεις. Τα υγιή φυτά προκρίνονται για το 2^ο στάδιο.

1.4.2. Μεριστωματικά φυτά (2^ο στάδιο)

Τα φυτά που προκρίθηκαν από το 1^ο στάδιο ονομάζονται πλέον «μεριστωματικά φυτά» και μεταφέρονται σε εντομοστεγή κλωβό όπου καλλιεργούνται για 8-10 μήνες. Κατά την περίοδο αυτή συλλέγονται από κάθε μεριστωματικό φυτό 10-15 έριζα μοσχεύματα τα οποία στη συνέχεια ριζοβολούν. Τα έριζα μοσχεύματα που θα προκύψουν ονομάζονται Super Elite φυτά.

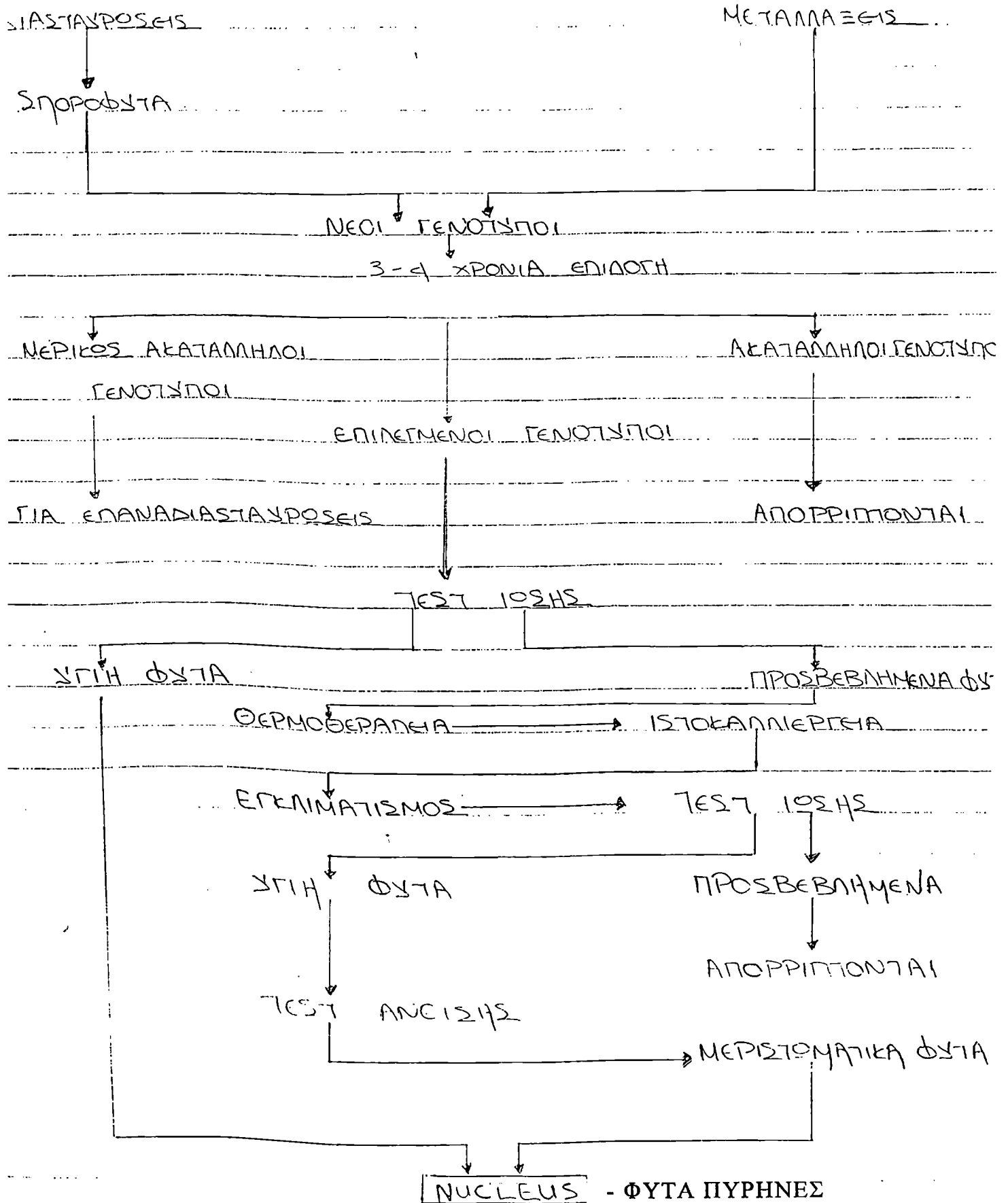
1.4.3. Super Elite φυτά (3^ο στάδιο)

Τα Super Elite έριζα μοσχεύματα φυτεύονται και καλλιεργούνται ξεχωριστά από τα μεριστωματικά φυτά σε εντομοστεγείς κλωβούς και για περίοδο από 8 έως 10 μήνες. Κατά την διάρκεια του χρόνου αυτού συλλέγονται μοσχεύματα και οδηγούνται προς ριζοβολία. Τα έριζα μοσχεύματα που θα προκύψουν ονομάζονται «Φυτομάνες» ή Elite φυτά.

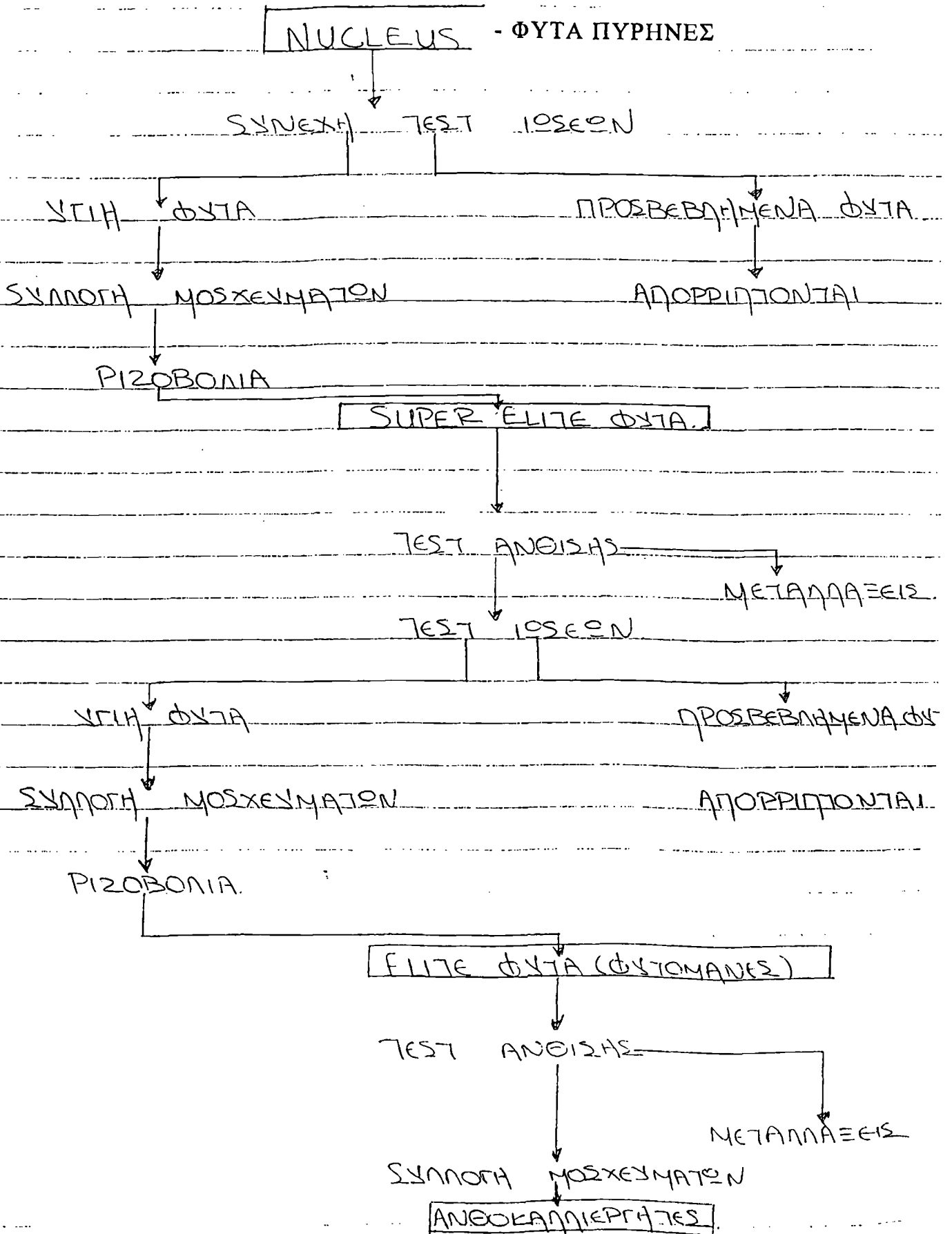
1.4.4. Elite φυτά ή «Φυτομάνες» (4^ο στάδιο)

Τα Elite φυτά ή φυτομάνες είναι το 4^ο και τελικό στάδιο πολλαπλασιασμού της γαρυφαλλιάς στο φυτώριο. Τα μοσχεύματα που λαμβάνονται από τις φυτομάνες, εφ'όσον ριζοβολήσουν, παραδίδονται στους παραγωγούς για καλλιέργεια. Οι φυτομάνες φυτεύονται σε θερμοκήπια, επάνω σε απολυμασμένα υπερυψωμένα παρτέρια στα τέλη καλοκαιριού ως τις αρχές φθινοπώρου και η καλλιέργειά τους διαρκεί μέχρι τα τέλη Μαΐου ή αρχές Ιουνίου.

1.5. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ Ι: Πορεία παραγωγής μεριστωματικών φυτών γαρυφαλλιάς.



1.6. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΙΙ: Πορεία παραγωγής εμπορικών μοσχευμάτων γαρυφαλλιάς.



1.7. ΕΧΘΡΟΙ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΤΗΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑΣ

Οι σημαντικότεροι εχθροί της γαρυφαλλιάς είναι οι θρίπες και τα ακάρεα (κόκκινος τετράνυχος). Προβλήματα επίσης μπορεί να προκληθούν από νηματώδεις, προνύμφες λεπιδοπτέρων, φυλλορύκτες κ.α., αλλά συνήθως είναι δευτερεύουσας σημασίας.

Από τις ασθένειες οι σημαντικότερες είναι:

1. Αδρομυκώσεις: α) αδρομύκωση οφειλόμενη στον μύκητα *Fusarium oxysporum* F.Sp.dianthi. β) αδρομύκωση οφειλόμενη στο μύκητα *Verticillium cinerescens* (*Phialophora sinerescens*).
2. Ριζοκτονίαση: Οφείλεται στο μύκητα *Phizoctonia solani*.
3. Σκληρωτινίαση: Οφείλεται στο μύκητα *Sclerotinia Sclerotiorum*.
4. Ο μύκητας *Phytophthora* SPP προξενεί σήψη λαϊμού και ριζών.

Το φύλλωμα των γαρυφάλλων προσβάλλεται επίσης συχνά από τις πιο κάτω ασθένειες:

1. Αλτερναρίαση: Οφείλεται στους μύκητες *Alternaria dianthi* *Alternaria dianthicola*.
2. Σκωρίαση: Οφείλεται στο μύκητα *Uromyces Caryophyllinus*.
3. Σεπτορίαση: Οφείλεται στο μύκητα *Septoria dianthi*.
4. Ετεροσπορίαση: Οφείλεται στο μύκητα *Heterosporium echinulatum*.

Τα άνθη προσβάλλονται από τον μύκητα *Bothytis cinerea* που προκαλεί την ασθένεια «τεφρά σήψη».

1.8. ΟΙ ΚΥΡΙΟΤΕΡΟΙ ΙΟΙ ΤΗΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑΣ

Οι σημαντικότεροι ιοί που προβάλλουν την γαρυφαλλιά είναι:

1. Car MV: Είναι ο πιο διαδεδομένος ιός που προσβάλλει την γαρυφαλλιά. Είναι σφαιροειδής με διάμετρο 30nm, cormorivirus.
2. CVMV: Νηματοειδής μήκους 750-790nm, potyvirus
3. CERV: Σφαιροειδής με διάμετρο 45nm, caulimovirus
4. CNFY: Νηματοειδής μήκους 1.400-1.500nm, closterovirus
5. CLV: Νηματοειδής μήκους 650nm, carlavirus
6. CRSV: Carmovirus με διάμετρο 34nm
7. CYSV: necrovirus με διάμετρο 30nm
8. Carcn: Σφαιροειδής μήκους 29nm, criptici

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

**ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ
ΣΤΗΝ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑ ΚΑΙ
ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ - ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ
ΤΗΣ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ**

2.1. ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ - ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΤΗΝ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑ

Μικροπολλαπλασιασμός (ιστοκαλλιέργεια) είναι η τεχνολογία της παραγωγής φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού από πολύ μικρά φυτικά τμήματα (ιστους ή κύτταρα), που αποχωρίζονται από το γονικό φυτό και αναπτύσσονται κάτω από ασηπτικές συνθήκες μέσα σε δοκιμαστικούς σωλήνες ή δοχεία όπου οι συνθήκες περιβάλλοντος και διατροφής ελέγχονται αυστηρά. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται είναι γνωστές συλλογικά ως ιστοκαλλιέργειες, όρος που χρησιμοποιείται συχνά συνώνυμα με το μικροπολλαπλασιασμό. Στην πραγματικότητα όμως δεν πρόκειται πάντοτε για καλλιέργεια ιστών αλλά για ασηπτική καλλιέργεια κάτω από πειραματικές συνθήκες φυτικών τμημάτων το μέγεθος των οποίων μπορεί να κυμαίνεται από γυμνούς πρωτοπλάστες και ατομικά κύτταρα μέχρι ολόκληρα όργανα, όπως είναι οι ωοθήκες, τα έμβρυα και οι κοτυληδόνες. Ο όρος «καλλιέργεια» εδώ δεν ταυτίζεται με την καλλιέργεια των φυτών σε εδαφικές συνθήκες, αλλά με την αύξηση φυτικών τμημάτων σε τεχνητές συνθήκες, όπου πρωτεύουσα σημασία δίνεται στην αναγέννηση των φυτών σε αυστηρά αποστειρωμένο περιβάλλον.

Ο μικροπολλαπλασιασμός στα φυτά βασίζεται στην ολοδυναμικότητα των κυττάρων, δηλαδή στην ικανότητα ενός απομονωμένου κυττάρου ή μιας ομάδας κυττάρων να αναγεννήσουν το φαινότυπο του πλήρους και εντελώς διαφοροποιημένου φυτού από το οποίο προήλθαν. Η θεωρία της ολοδυναμικότητας θεμελιώθηκε από τους Schwam και Schleiden το 1838, ενώ η ενόραση της εξέλιξης του μικροπολλαπλασιασμού αποδίδεται στο Γερμανό βοτανικό Vochting (1878), ο οποίος κατανόησε ότι «σε κάθε φυτικό τμήμα, όσο μικρό και αν είναι, υπάρχουν όλα τα στοιχεία από τα οποία μπορεί να ανασυγκροτηθεί ολόκληρο το φυτικό σώμα». Ο επίσης Γερμανός φυτολόγος Haberlandt (1902) πρόβλεψε ότι «κάποια μέρα θα είναι δυνατή η επιτυχής καλλιέργεια τεχνητών εμβρύων από βλαστικά κύτταρα, χρειάστηκε όμως να περάσουν επιπλέον 30 χρόνια για να βελτιωθούν οι τεχνικές και να επιτευχθούν πραγματικά ασηπτικές

καλλιέργειες. Σημαντικό βήμα στην εξέλιξη του μικροπολλαπλασιασμού αποτέλεσε η επιτυχία - συνεχούς καλλιέργειας κάλλων καρότου και καπνού (937-1939).

Η ανακάλυψη του ανεξάρτητου ρόλου των κυτοκινίνων και των αυξινών στην αναγέννηση βλαστού και ριζών από καλλιέργειες κάλλων καπνού από τους Skoog και Miller (1957) καθιέρωσε τη βάση της επαγωγής της οργανογέννησης και θεμελίωσε τις αρχές στις οποίες στηρίζεται ο μικροπολλαπλασιασμός. Ακολούθησε ραγδαία τελειοποίηση των μεθόδων και εφαρμογή πολύ εξειδικευμένων τεχνικών με αποτέλεσμα ανακαλύψεις-σταθμούς, όπως η σωματική εμβρυογέννηση από καλλιέργειες κάλλου καρότου ((Remey 1959), η δημιουργία απλοειδών φυτών από καλλιέργεια γυρεοκόκων, η απομόνωση φυτικών πρωτοπλαστών (από διάφορους ερευνητές στη δεκαετία 1960) και ο σωματικός υβριδισμός (Carlson και συν.1972).

Η πρακτική εφαρμογή των μεθόδων του μικροπολλαπλασιασμού στην αναγέννηση και τον εμπορικό πολλαπλασιασμό των φυτών βελτιώθηκε σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες και αποτελεί σήμερα μια σημαντική εναλλακτική λύση για τις πιο συμβατικές μεθόδους πολλαπλασιασμού για μεγάλο εύρος φυτικών ειδών.

Στις μέρες μας παρατηρείται μεγάλη εφαρμογή της ιστοκαλλιέργειας στην γαρυφαλλιά για δύο λόγους: α) απαλλαγή των φυτών από τις ιώσεις σε συνδυασμό με θερμοθεραπεία β) γενετική βελτίωση.

Όσον αφορά τον πρώτο λόγο, η ιστοκαλλιέργεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν μέθοδος απόκτησης φυτών υγιών καθαρών από ιούς, που προέρχονται από φυτά μολυσμένα από ιώσεις. Αυτή η τεχνική βασίζεται στο γεγονός ότι οι ιοί δεν βρίσκονται στα κορυφαία μεριστώματα και στα αρχέγονα φύλλα των φυτών. Η ασηπτική καλλιέργεια επίσης εξασφαλίζει την καθαρότητα από βακτήρια και μύκητες στις κορυφές βλαστών που χρησιμοποιούνται στο μικροπολλαπλασιασμό.

Μεριστωματική καλλιέργεια σε συνδυασμό με θερμοθεραπεία που εμποδίζει τον πολλαπλασιασμό των ιών, οδηγεί στην απόκτηση υγιών φυτών. Την υγιεινή κατάσταση των φυτών μπορούμε να την ελέγξουμε με ειδικά τεστ (elisa - φυτά δείκτες).

Όσον αφορά την γενετική βελτίωση η ιστοκαλλιέργεια παίζει σημαντικό ρόλο στα εξής:

1. Αποφυγή ή επιλογή φυσικών μεταλλάξεων
2. Εφαρμογή μεταλλαξογόνου στο θρεπτικό υπόστρωμα
3. Δημιουργία απλοειδών φυτών από γύρη
4. Γενετική μηχανική

2.2. ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Τα βασικά πλεονεκτήματα της ιστοκαλλιέργειας είναι:

- α. Η δυνατότητα μαζικής παραγωγής (κλωνικών) φυτών. Ο θεωρητικός ρυθμός αναπαραγωγής της ιστοκαλλιέργειας είναι εξαιρετικά μεγάλος. Αρχίζοντας από ένα φυτό και πολλαπλασιάζοντάς το με ρυθμό δέκα φυτά το μήνα είναι δυνατόν μέσα σε έξι μήνες να πάρει κανείς 1.000.000 πανομοιότυπα φυτά.
- β. Η ταχεία εισαγωγή τους στην παραγωγική διαδικασία νέων ή βελτιωμένων ποικιλιών που δημιουργούνται στα βελτιωτικά προγράμματα.
- γ. Η διευκόλυνση παραγωγής άνοσου φυτικού υλικού, κυρίως από ιούς, βακτήρια και μύκητες σε διάφορα φυτά, ιδιαίτερα όταν η ιστοκαλλιέργεια συνδυάζεται με θερμοθεραπεία.

2.3. ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Τα βασικά μειονεκτήματα της ιστοκαλλιέργειας είναι:

- α. Το υψηλό κόστος που απαιτείται για τη δημιουργία των εξειδικευμένων εγκαταστάσεων, την προμήθεια του εξοπλισμού και τη λειτουργία τους.
- β. Το εξειδικευμένο προσωπικό που θα επιλαμβάνεται των εργασιών, οι οποίες πρέπει να γίνονται σε ασηπτικές συνθήκες.
- γ. Η αυξημένη επιτήρηση και έλεγχος του πολλαπλασιαζόμενου υλικού για την αποφυγή μολυσμένου (ιωμένου) φυτού και ανεπιθύμητων μεταλλάξεων.

ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ

ΜΕΡΟΣ ΤΡΙΤΟ

ΔΟΜΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

3. ΔΟΜΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Για την πραγματοποίηση των μεθόδων ιστοκαλλιέργειας απαιτούνται κατάλληλες εγκαταστάσεις με τον απαραίτητο εργαστηριακό εξοπλισμό. Η μονάδα πρέπει να είναι ξεχωριστή και με ανεξάρτητη είσοδο από τα φυτώρια και τα θερμοκήπια που είναι απαραίτητα για την αύξηση των φυτών σε εδαφικές συνθήκες, ώστε να αποφεύγεται η μόλυνση των θαλάμων καλλιέργειας.

Η όλη μονάδα μπορεί να διακριθεί στα παρακάτω τμήματα:

1. Προπαρασκευαστήριο

Εδώ βρίσκονται:

- α. Συσκευές απολύμανσης ξηρού αέρα
- β. Συσκευή μονής απόσταξης
- γ. Συσκευή διπλής απόσταξης
- δ. Συσκευή στήλης απιονισμού
- ε. Τράπεζα εργασίας
- στ. Παροχή νερού-αποχέτευση

Στο προπαρασκευαστήριο γίνονται οι παρακάτω εργασίες: γίνεται ο αρχικός καθαρισμός του φυτικού υλικού, ο καθαρισμός υαλικών (δοκιμαστικών σωλήνων και φιαλών) που επιστρέφουν από τα θερμοκήπια στο εργαστήριο και η παραγωγή και η αποθήκευση υδάτων.

2. Παρασκευαστήριο

Εδώ βρίσκονται:

- α. Μεγάλη τράπεζα εργασίας
- β. pH Μέτρο
- γ. Αγωγιμόμετρο
- δ. Αυτόκαυστο
- ε. Ψυγεία
- στ. Ζυγοί ακριβείας
- ζ. Παροχή νερού- αποχέτευση
- η. Αναμείκτης και δοσομετρητής θρεπτικών υποστρωμάτων
- θ. Ηλεκτρικές εστίες θέρμανσης

ι. Συσκευές απολύμανσης ξηρού αέρα από κοινού με το προπαρασκευαστήριο.

Εδώ γίνονται οι εξής εργασίες: Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος, απολύμανση θρεπτικού υποστρώματος, ζυγίσεις ΡΗ-μετρήσεις, προετοιμασία φυτικών ιστών, πριν την μεταφορά τους στην αίθουσα νηματικής ροής.

3. Θάλαμος θερμοθεραπείας:

Μπορεί ο θάλαμος θερμοθεραπείας να είναι και εκτός εργαστηρίου. Ο χώρος θα πρέπει να είναι μονωμένος.

Εδώ βρίσκονται:

- α. Παρτέρια ή ράφια
- β. Λάμπες φθορισμού
- γ. Συσκευές ψύξης - θέρμανσης
- δ. Καταγραφικά θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας
- ε. Παροχή νερού

Στον θάλαμο θερμοθεραπείας τα μολυσμένα γονικά φυτά τοποθετούνται σε γλάστρες στο θάλαμο καλλιέργειας με θερμοκρασία 35-38⁰ C για διάστημα 60 ημερών (σε μερικές περιπτώσεις μέχρι και έξι μήνες). Στις υψηλές τιμές θερμοκρασίας οι περισσότεροι ιοί ανενεργοποιούνται και ο πολλαπλασιασμός τους μειώνεται ή και αναστέλλεται, ενώ νέοι υγιείς βλαστοί αναπτύσσονται γρήγορα για να προμηθεύσουν επαρκές υλικό για καλλιέργεια. Έτσι τα μικρομοσχεύματα τώρα μπορούν να έχουν μεγαλύτερο μέγεθος με συνέπεια να αυξάνεται το ποσοστό των επιτυχών καλλιεργειών.

4. Αίθουσα τραπεζών νηματικής ροής

Εδώ βρίσκονται:

- α. Μικροσκόπια
- β. Συσκευή αποστείρωσης εργαλείων
- γ. Τράπεζες νηματικής ροής

Εδώ γίνονται οι εξής εργασίες:

- α. Τοποθέτηση μεριστωμάτων σε δοκιμαστικούς σωλήνες
- β. Διαίρεση -μεταφορά φυτικών ιστών

γ. Ταχείες εργασίες όπου απαιτείται απαλλαγμένος αέρας από παθογόνα.

5. Θάλαμος ανάπτυξης

Ο χώρος θα πρέπει να είναι μονωμένος

Εδώ βρίσκονται:

- α. Ράφια τοποθέτησης φιαλών και δοκιμαστικών σωλήνων.
- β. Λαμπτήρες φθορισμού
- γ. Σύστημα κλιματισμού
- δ. Καταγραφικό σχετικής υγρασίας και θερμοκρασίας

6. Ψυγείο

Εδώ βρίσκονται:

- α. Συσκευές ελέγχου θερμοκρασίας και υγρασίας

Το ψυγείο μπορεί να είναι και εκτός χώρου εργαστηρίου

Στο ψυγείο γίνεται:

- α. Αποθήκευση υποστρώματος
- β. Αποθήκευση φυτικού υλικού σε φιάλη
- γ. Αποθήκευση φυτών μέχρι την προετοιμασία για την ιστοκαλλιέργεια.

7. Βοηθητικοί χώροι

- α. Αποθήκη
- β. Γραφεία
- γ. Τουαλέτα

8. Θερμοκήπιο - εγκλιματιστήριο

Είναι χώρος με εντομογενές πλέγμα (σίτα)

Εδώ υπάρχουν:

- α. Υπερυψωμένα παρτέρια
- β. Σκίαση
- γ. Υδρονέφωση
- δ. Προαιρετική υπεδάφια θέρμανση

Εδώ γίνεται:

α. Εξαγωγή των φυτών από τις φιάλες ή τους δοκιμαστικούς σωλήνες και η τοποθέτησή τους στα εδαφικά υποστρώματα.

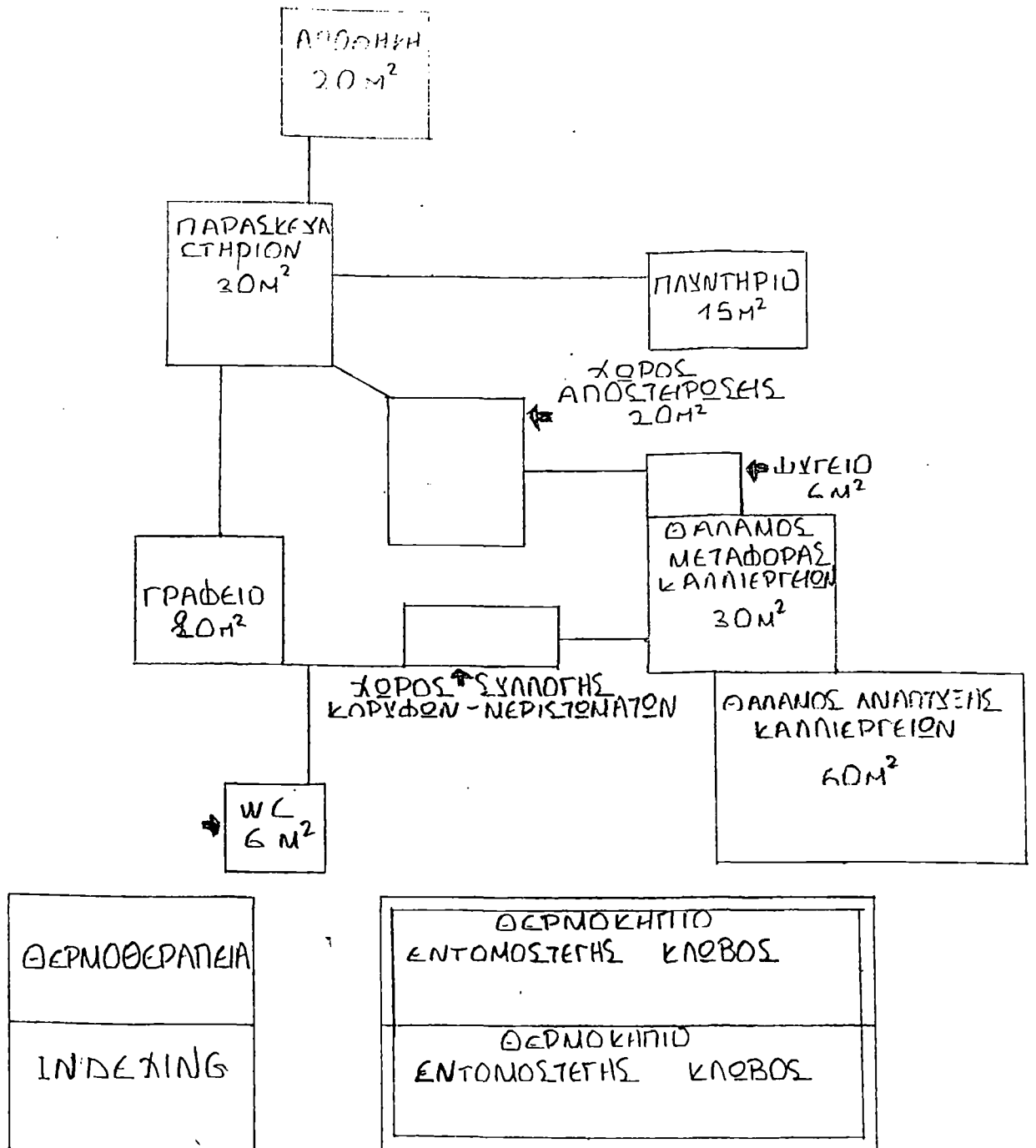
β. Εγκλιματισμός φυτών

γ. Ανάπτυξη των φυτών

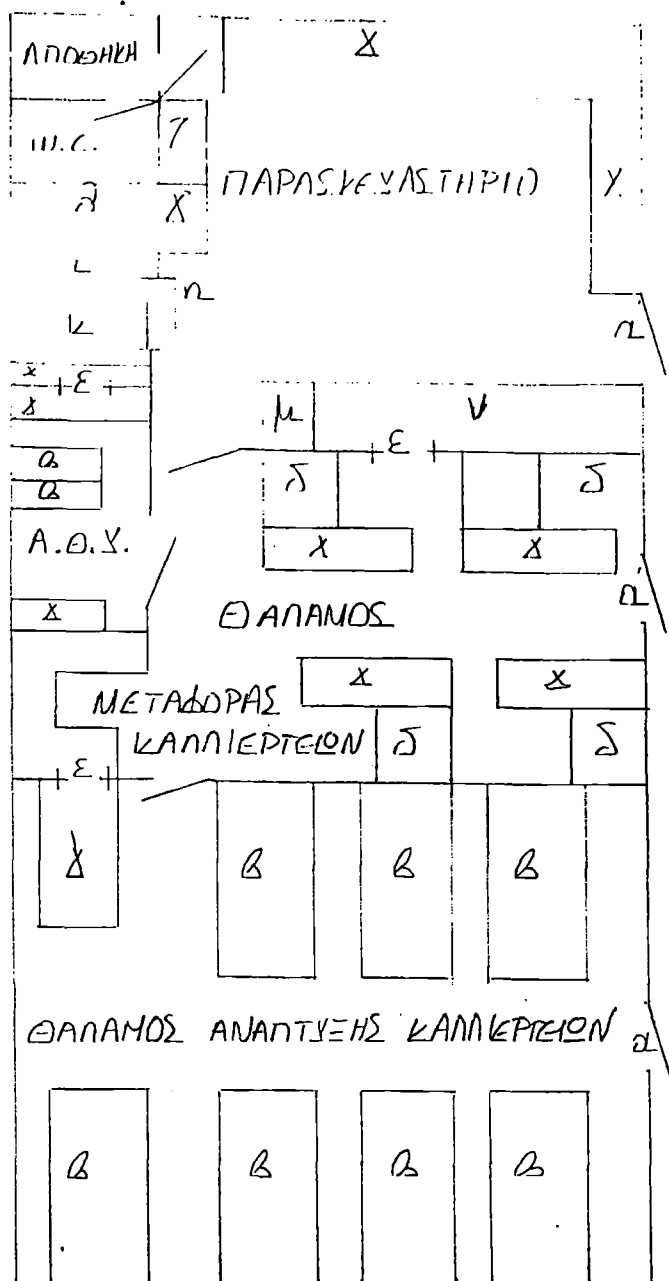
Ο έλεγχος της καθαρότητας των νέων φυτών είναι θεμελιώδης και γίνεται με δοκιμές ελέγχου ή με μια πιο σύγχρονη τεχνική που χαρακτηρίζεται από μεγάλη ταχύτητα, ευαισθησία και εξειδίκευση, την τεχνική ELISA για ιούς

(ELISA = Enzyme - Linked - Innunosorbent - Assay).

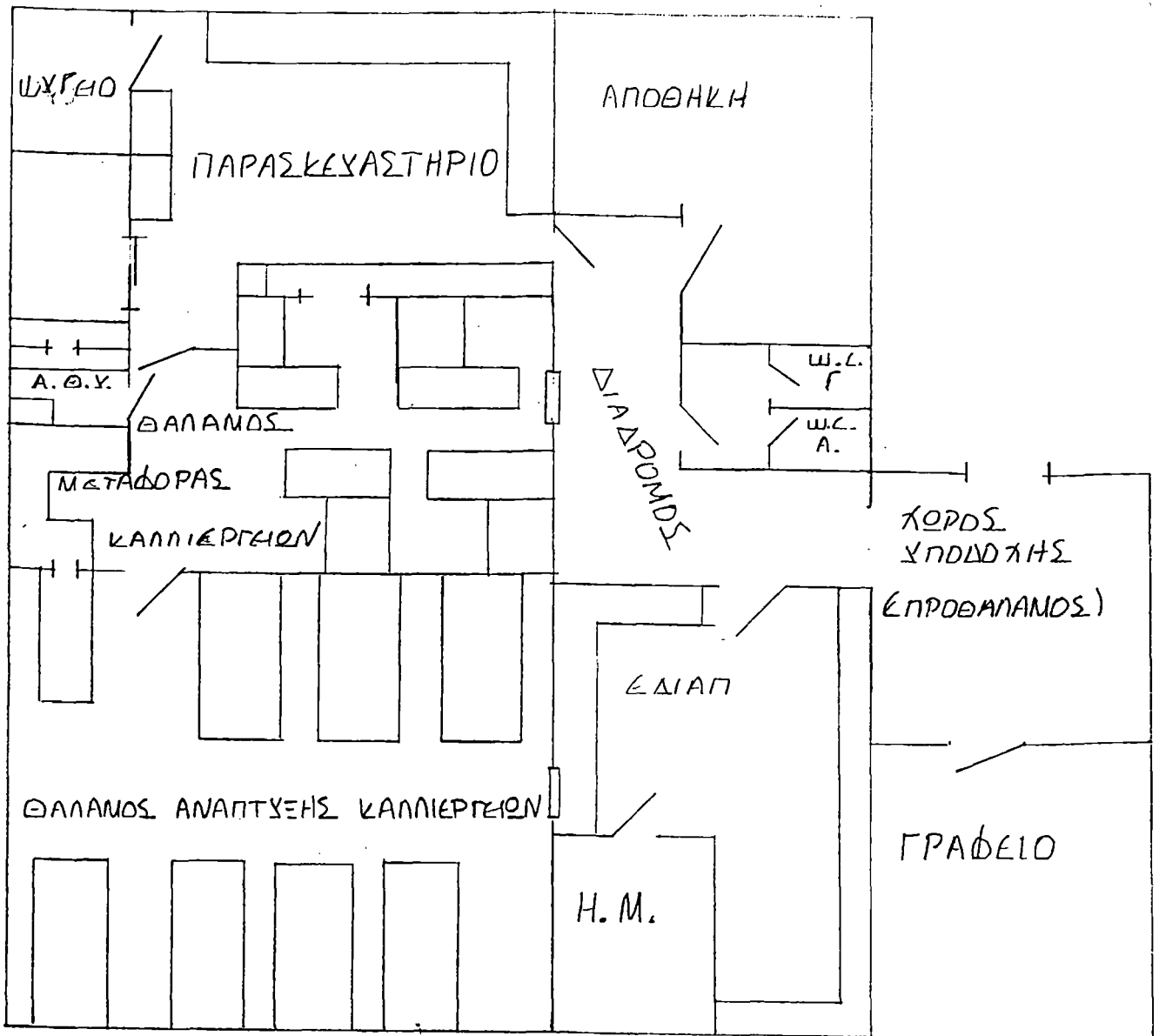
Παρακάτω ακολουθούν μερικά σχέδια εργαστηρίων ιστοκαλλιέργειας, τα οποία προέρχονται από τον κ.Ρούμπο Αθανάσιο (Καθηγητής στο ΤΕΙ Θεσσαλονίκης).



1. Διαρρύθμιση και απαιτούμενοι χώροι για ένα «ιδεώδες» εργαστήριο ιστοκαλλιέργειας.

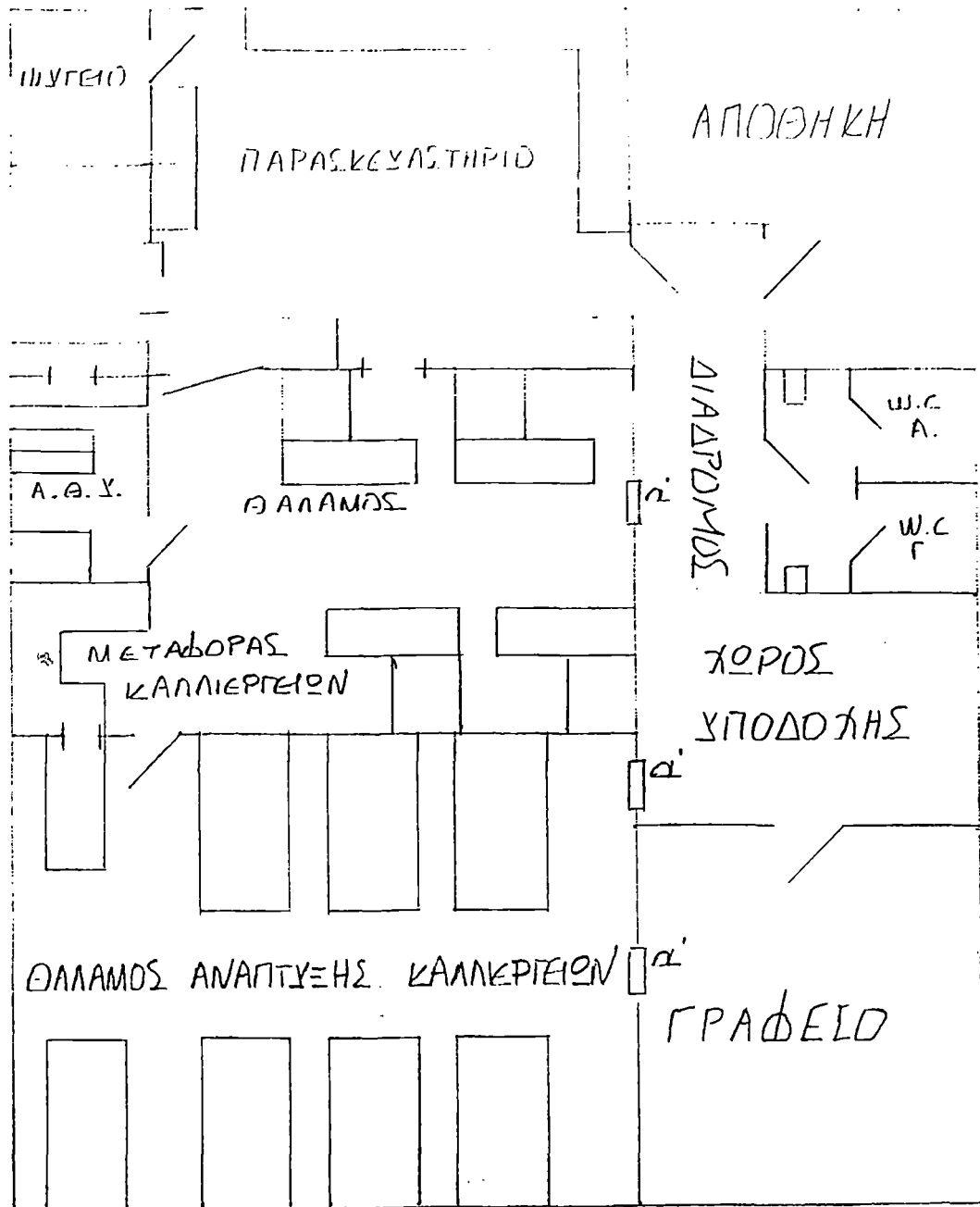


2. Σχέδιο εργαστηρίου ιστοκαλλιέργειας μεγάλης δυναμικότητας
- α. Είσοδος. α' σταθερά μη ανοιγόμενα παράθυρα ελέγχου (διπλού)
 - β. Ράφια
 - γ. Πάγκοι
 - δ. Τράπεζες νηματικής ροής
 - ε. Πάσσο
 - ν. Συρταρωτή πόρτα
 - μ. Πλυντήριο (συσκευή)
 - ν. Νιπτήρας
 - θ. Θερμοσίφων
 - ι. Αποστακτική συσκευή, στήλη απιονισμού
 - κ. Αυτόκαυστο



3. Σχέδιο εργαστηρίου ιστοκαλλιέργειας μεγάλης δυναμικότητας. Όπως το σχέδιο 2. Οι διαφορές συνίστανται στην κατασκευή ψυγείου δίπλα από το παρασκευαστήριο στην κατασκευή αποθήκης, αποχωρητηρίων και γραφείου

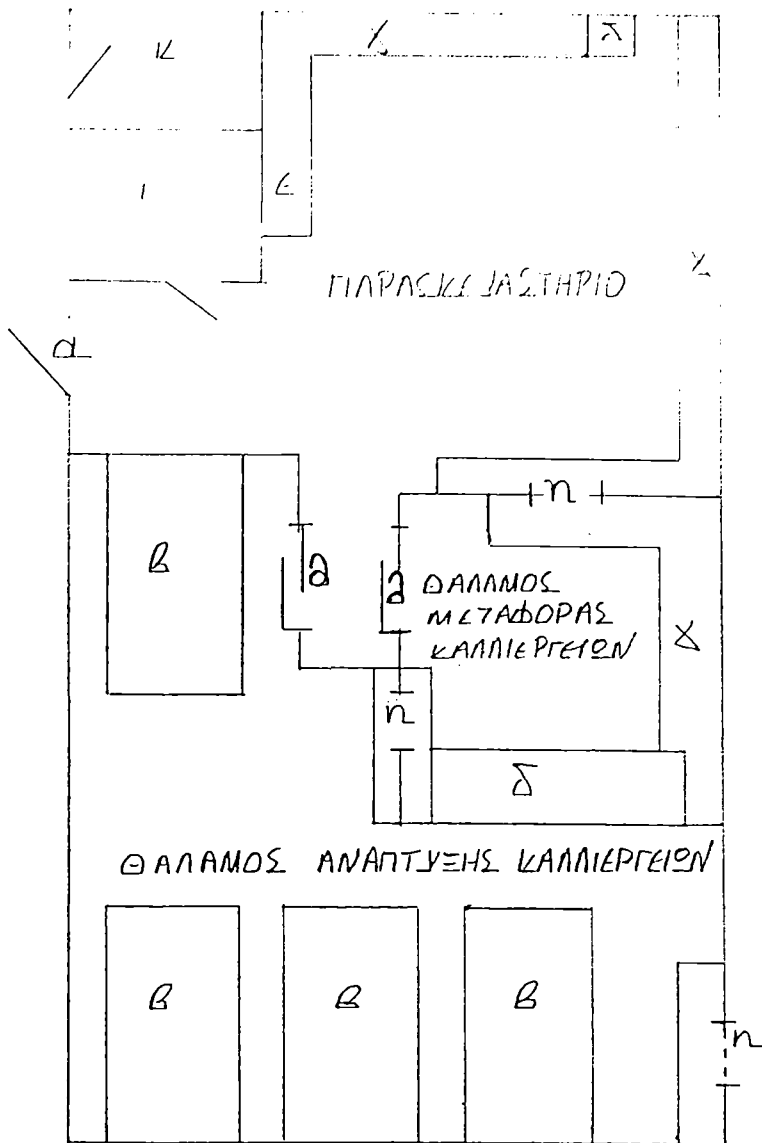
α' Θυρίδες παρατήρησης για επισκέπτες ή έλεγχο από το προσωπικό της επιχείρησης. Μπορεί να καλύπτεται με κουρτίνα ή συρόμενο πλαίσιο και να αποκαλύπτεται όταν χρειάζεται.



4. Σχέδιο εργαστηρίου 1. Ιστοκαλλιέργειας μεγάλης δυναμικότητας και β) απαλλαγή από ιώσεις

Η.Μ. Ηλεκτρονική μικροσκοπία

ΕΔΙΑΠ Εργαστήριο διάγνωσης ιώσεων και λοιπών παθογόνων.



5. Σχέδιο εργαστηρίου ιστοκαλλιέργειας μέσης δυναμικότητας

α. Είσοδος

β. Ράφια

γ. Πάγκος

δ. ψυγείο

ε. Νιπτήρας - λεκάνη

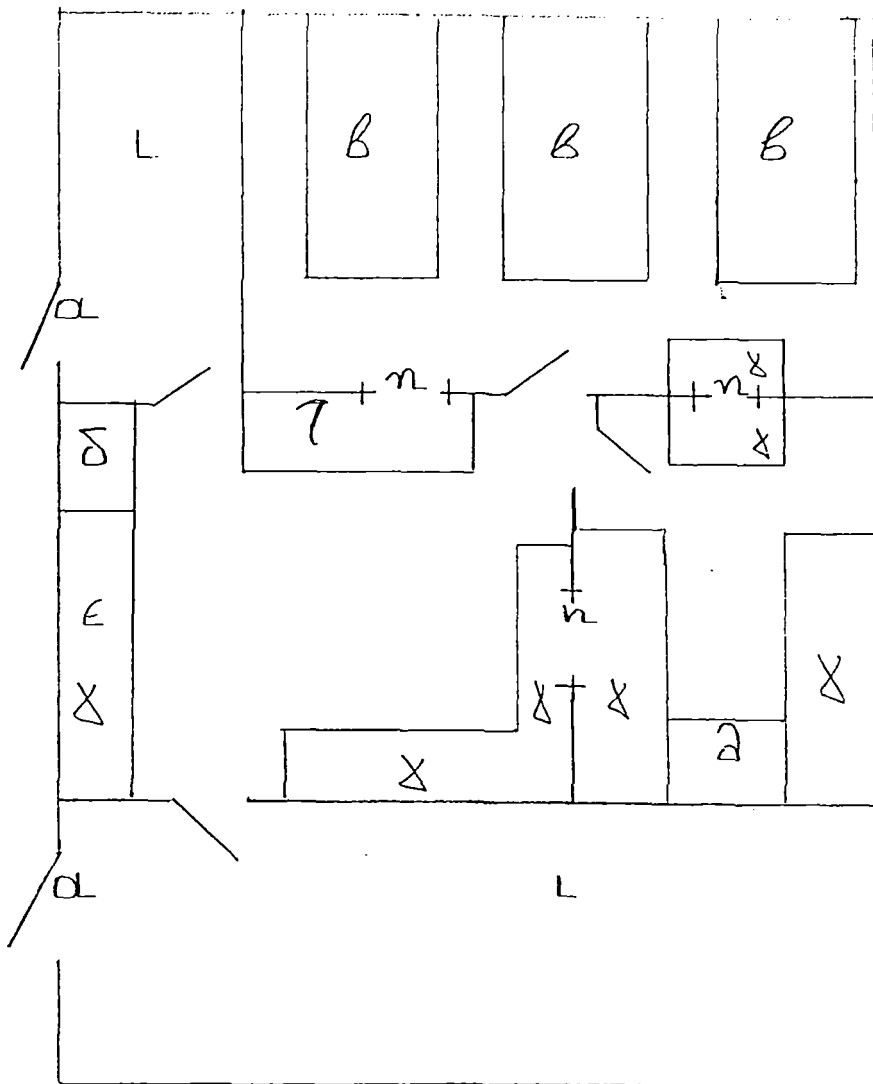
ζ. Τράπεζα νηματικής ροής

η. Πάσο

θ. Συρταρωτές πόρτες

ι. Αποθήκη

κ. Αποχωρητήριο



6. Σχέδιο εργαστηρίου ιστοκαλλιέργειας μικρής δυναμικότητας

α. Είσοδος

β. Ράφια

γ. Πάγκος

δ. Ψυγείο

ε. Νιπτήρας - λεκάνη

ζ. Θερμαντικές συσκευές

η. Πάσο

θ. Τράπεζα νηματικής ροής

ι. Χώροι προς επέκταση

ΜΕΡΟΣ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1. Συλλογή - προετοιμασία μοσχευμάτων

Από τα μητρικά φυτά συλλέγονται μοσχεύματα μήκους 15-20cm που βρίσκονται σε βλαστητικό στάδιο δηλαδή πριν την επιμήκυνση του στελέχους για την δημιουργία άνθους, που αναπτύσσονται ή σε θερμοκήπιο ή προέρχονται από την θερμοθεραπεία όταν δεν υπάρχουν φυτά καθαρά από ιώσεις. Τα μοσχεύματα αυτά μετά την συλλογή τους μεταφέρονται στο προπαρασκευαστήριο.

Στο προπαρασκευαστήριο γίνεται ένας πρώτος έλεγχος των μοσχευμάτων. Στη συνέχεια και εφόσον δεν έχουμε εμφανείς προσβολές από βακτήρια, μύκητες, έντομα και ακάρεα μεταφέρονται στο παρασκευαστήριο.

Στο παρασκευαστήριο αφαιρούνται τα εμφανή φύλλα και τοποθετούνται σε τριβλία για να μην αφυδατωθούν, οι εκτεθειμένοι ιστοί. Εκεί παραμένουν μέχρι την διαδικασία παραλαβής του μεριστώματος στην τράπεζα νηματικής ροής.

4.2. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ

Για την Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος χρησιμοποιείται Άγαρ, μακροστοιχεία (N, P, K, Ca, Mg, & S) μικροστοιχεία (Mn, Zn, B, Cu, Mo, Fe κ.α.), βιταμίνες και αμινοξέα. Οι πιο συνήθεις από τις χρησιμοποιούμενες είναι: (το μυο-ινοσιτόλ, η θιαμίνη, το νικοτινικό οξύ, η πυριδοξίνη, η βιοτίνη, το φολικό οξύ, η ριβοφλαμίνη, το ασκορβικό οξύ, η βιταμίνη B12 και η βιταμίνη E). Από αυτές συνήθως αναγκάιες είναι η θιαμίνη και το μυο-ινοσιτόλ. NaFe-EDTA, KINETIN. Ζάχαρη και NAA (IBA. . - IAA).

Ανάλογα με την ποσότητα του θρεπτικού υποστρώματος που πρέπει να παρασκευαστεί, παίρνονται οι ανάλογες ποσότητες των παραπάνω και τοποθετούνται σε φιάλες μαζί με νερό.

Η διαδικασία παρασκευής του θρεπτικού υποστρώματος γίνεται ως εξής:

Αρχικά προστίθενται σε συγκεκριμένο όγκο νερού ανάλογου του όγκου του θρεπτικού υποστρώματος μακροστοιχεία., μικροστοιχεία, οι βιταμίνες, ο σίδηρος και οι ορμόνες. Στην συνέχεια γίνεται ρύθμιση του P H έτσι ώστε να κυμαίνεται από 5 έως 6.

Για την ανύψωση του P.H. χρησιμοποιείται το KOH και για τη μείωση του P H. το HCl.

Στη συνέχεια μεταφέρεται το θρεπτικό υπόστρωμα με την φιάλη σε ειδικά σκεύη που χρησιμοποιούνται για την θέρμανσή του. Στην περίπτωση που οι ποσότητες του θρεπτικού υποστρώματος είναι μεγάλες, τότε το θρεπτικό υπόστρωμα τοποθετείται σε ειδική συσκευή για να θερμανθεί.

Όταν το θρεπτικό υπόστρωμα αρχίζει να ζεσταίνεται προστίθεται πρώτα η ζάχαρη και μετά από λίγο το Άγαρ. Το θρεπτικό υπόστρωμα όπως είναι θερμό αναδεύεται και στη συνέχεια τοποθετείται σε δοκιμαστικούς σωλήνες ή άλλου είδους φιάλες.

Υστερα, οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετούνται στο αυτόκαυστο σε θερμοκρασία 120°C για δύο ώρες. Αφού οι δοκιμαστικοί σωλήνες απολυμανθούν και κρυώσουν, αφήνονται για

κάποιο χρονικό διάστημα 1 έως 5 ημέρες για να ελεγχθεί η επιτυχία της απολύμανσης.

Τέλος, αφού διαπιστωθεί η επιτυχία της απολύμανσης δηλαδή δεν αναπτυχθούν βακτήρια ή μύκητες το θρεπτικό υπόστρωμα είναι έτοιμο να δεχθεί τα μεριστώματα.

Το θρεπτικό υπόστρωμα που παρασκευάστηκε και χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία κατά την διάρκεια της πτυχιακής εργασίας και για την ποικιλία White Sim είναι:

1lt. Solution

1. ΜΑΚΡΟΣΤΟΙΧΕΙΑ

NH_4NO_3	1650 mg/lt.
KNO_3	1900 mg/lt.
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	440 mg/lt.
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	370 mg/lt.
KH_2PO_4	170 mg/lt.

2. NaFe EDTA 25 mg/lt.

3. ΜΙΚΡΟΣΤΟΙΧΕΙΑ

$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	11,15 mg/lt.
$\text{ZnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	4,3 mg/lt.
H_3BO_3	3,1 mg/lt.
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,012 mg/lt.
$\text{Na}_2 \text{MoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$	0,012 mg/lt.
$\text{CoCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$	0,012 mg/lt.
KS	0,415 mg/lt.

4. BITAMINEΣ

Mezo - Inozit	100mg/lit.
Thiamin HCl	0,1mg/lit.
Nikotinoar	0,5 mg/lit.
Piridoxin HCl	0,5 mg/lit.
Ca - pantotenat	1,0 mg/lit.
L - cistein	1,0 mg/lit.

5. KINETIN 0,1 mg/lit.

6. NAA 1 mg/lit.

4.3. Ενδεικτικά αναφέρονται στους πίνακες 1,2 & 3 άλλα θρεπτικά υποστρώματα που κατά καιρούς χρησιμοποιήθηκαν στην ιστοκαλλιέργεια διαφόρων ειδών. Οι συγκεντρώσεις των χημικών ενώσεων στους πίνακες 1 & 3 μετρώνται σε mg/lit.

Πίνακας 1:

ΧΗΜΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	MS	B-5	WHITE (1934)	Heller (1953)
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	134	-	-
(NH ₄)NO ₃	1650	-	-	-
NaNO ₃	-	-	-	600
KON ₃	1900	2500	80	-
Ca(NO ₃) ₂	-	-	300	-
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	150	-	75
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	250	720	250
Na ₂ SO ₄	-	-	200	-
KH ₂ P ₄	170	-	-	125
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	-	150	16,5	-
KCl	-	-	65	750
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8	27,8	-	-
Na ₂ EDTA	37,3	37,3	-	-
FeCl ₃ ·6H ₂ O	-	10	-	-
Fe ₂ (SO ₄) ₃	-	-	2,5	-
MnSO ₄ ·H ₂ O	-	10	-	-
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	2	3	1
H ₃ BO ₃	6,2	3	1,5	1
KI	0,83	0,75	0,75	0,01
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	-	-
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	-	0,03
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	-	-
NiCl ₂ ·6H ₂ O	-	-	-	0,03
AlCl ₃	-	-	-	0,03
M-ινοσιτόλη	100	100	-	-
Νικοτινικό οξύ	0,5	1,0	0,5	-
Πυριδοξίνη HCl	0,5	1,0	0,1	-
Θειαμίνη HCl	0,1	10,0	0,1	1,0
Γλυκίνη	2,0	-	3,0	-
CaD-παντό- Θενικό οξύ	-	-	1,0	-
Σακχαρόζη	30.000	20.000	20.000	20.000
Κινητίνη	0,04-10	0,1	-	-
2,4D	-	0,1-1,0	6,0	-
1AA	1,0-30	-	-	-
PH	5,7-5,8	5,5	5,5	-

Πίνακας 2:

Ingredient	Formula and a mount used per litre of medium		
	Phillips	Baker and Phillips	Neergrand's
Knop Solution ¹	500ml	500ml	100ml
Berthelot Solution ²	0,5ml	0,5ml	0,5ml
glucose	40g	40g	40g
NAA	1mg	1mg	1mg
myoinositol	-	-	100mg
thiamine HCl	-	1mg	1mg
1mg	-	-	-
adenine SO4	8mg	8mg	-
indole	1mg	-	-

¹Knop Solution:

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 1\text{g}, \text{KNO}_3 = 0,25\text{g}$

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 0,025\text{g}, \text{KH}_2\text{PO}_4 = 0,25\text{g}$

distilled water, to = 1000ml

²Barthelot solution:

$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 = 50\text{g}, \text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 2\text{g}, \text{H}_3\text{BO}_3 = 0,05\text{g}$

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 0,1\text{g}, \text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = 0,05\text{g}, \text{TiSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 0,05\text{g}$

$\text{BeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 0,05\text{g}, \text{H}_2\text{SO}_4(\text{conc}) = 1\text{ml}$

distilled water, to = 1000ml

Πίνακας 3:

Μακροστοιχεία	Furner King Gamborg mg/l
NH_4NO_3	400
KNO_3	2.000
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	300
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	275
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	-
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-
Μικροστοιχεία	
I	
KI	0,75
H_3BO_3	3,0
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,0
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
EDTA - Fe	43,0
Saccarosio	20.000
PH	5,5

4.4. ΚΑΛΛΙΕΡΤΙΑ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΩΝ

Τα τριβλία petri όπως προαναφέρθηκε, που περιέχουν τα μοσχεύματα γαρυφαλλιάς από τα οποία αφαιρέθηκαν τα μεγάλα φύλλα, μεταφέρονται στις τράπεζες νηματικής ροής μαζί με τους δοκιμαστικούς σωλήνες έτοιμους με το ελεγχόμενο θρεπτικό υπόστρωμα.

Εκεί ένα-ένα τα μοσχεύματα γαρυφαλλιάς παίρνονται από το τριβλίο petri, (το οποίο πάντοτε παραμένει κλειστό για να μην αφυδατωθούν τα εναπομείναντα μοσχεύματα) και μεταφέρονται πάνω στην τράπεζα νηματικής ροής και εκεί με τη βοήθεια στερεοσκοπίου αφαιρούνται από το μόσχευμα όλα τα φύλλα γρήγορα για να μην αφυδατωθούν οι ιστοί μέχρι τις φυλλικές καταβολές και το κορυφαίο μερίστωμα.

Στη συνέχεια με απολυμασμένο στη φλόγα, αλλά κρύο νυστέρι κόβονται οι ιστοί σε μήκος περίπου 1cm κάτω από το επάκριο μερίστωμα και τις δύο φυλλικές καταβολές και τοποθετούνται στους δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν το θρεπτικό υπόστρωμα.

Τέλος, οι δοκιμαστικοί σωλήνες μεταφέρονται στην αίθουσα ανάπτυξης. Οι συνθήκες που επικρατούν στην αίθουσα ανάπτυξης είναι θερμοκρασία $22\pm 1C^{\circ}$. Υγρασία 90%. Φωτοπερίοδος 16 ώρες φως και 8 ώρες σκοτάδι. Όταν τα μοσχεύματα αναπτυχθούν στους σωλήνες σε φυτά που μπορούν να υποστηριχθούν από μόνα τους (σε 50-100 ημέρες και περισσότερο) μεταφυτεύονται σε εδαφικό υπόστρωμα στο εγκλιματιστήριο, όπου σταδιακά εγκλιματίζονται. Από κάθε μικρομόσχευμα με την συγκεκριμένη μέθοδο λαμβάνεται ένα μόνο νέο φυτό: Όταν τα εγκλιματισμένα φυτά αναπτυχθούν υπόκεινται σε δοκιμασίες (TEST) ελέγχου ιώσεων προκειμένου να διαπιστωθεί η επιτυχία του συνδυασμού θερμοθεραπείας - ιστοκαλλιέργειας.

ΜΕΡΟΣ ΠΕΜΠΤΟ

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από όλα τα είδη μεριστωμάτων μεγαλύτερη πρακτική σημασία για τις ιστοκαλλιέργειες γαρυφάλλων έχουν τα επάκρια μεριστώματα του βλαστού, γιατί μπορούν να αναπαράγουν ολόκληρο το φυτό ευκολότερα και σε μεγαλύτερη συχνότητα από ότι τα άλλα μεριστώματα.

Η καλλιέργεια επάκριων μεριστωμάτων εφαρμόζεται κατά κύριο λόγο για την απαλλαγή εκλεκτών ποικιλιών από ασθένειες που προκαλούνται από διάφορα παθογόνα τα οποία συσσωρεύονται σε καλλιεργούμενες ποικιλίες που αναπαράγονται μακροχρόνια, βλαστητικά, οι οποίες κληρονομούνται από τη μια γενεά στην επόμενη και μειώνουν σημαντικά την απόδοση των φυτών ιδιαίτερη σημασία έχει η μέθοδος για απαλλαγή από ιώσεις επειδή οι ιοί μολύνουν ολόκληρο το φυτό εκτός από τα κύτταρα των επάκριων μεριστωμάτων.

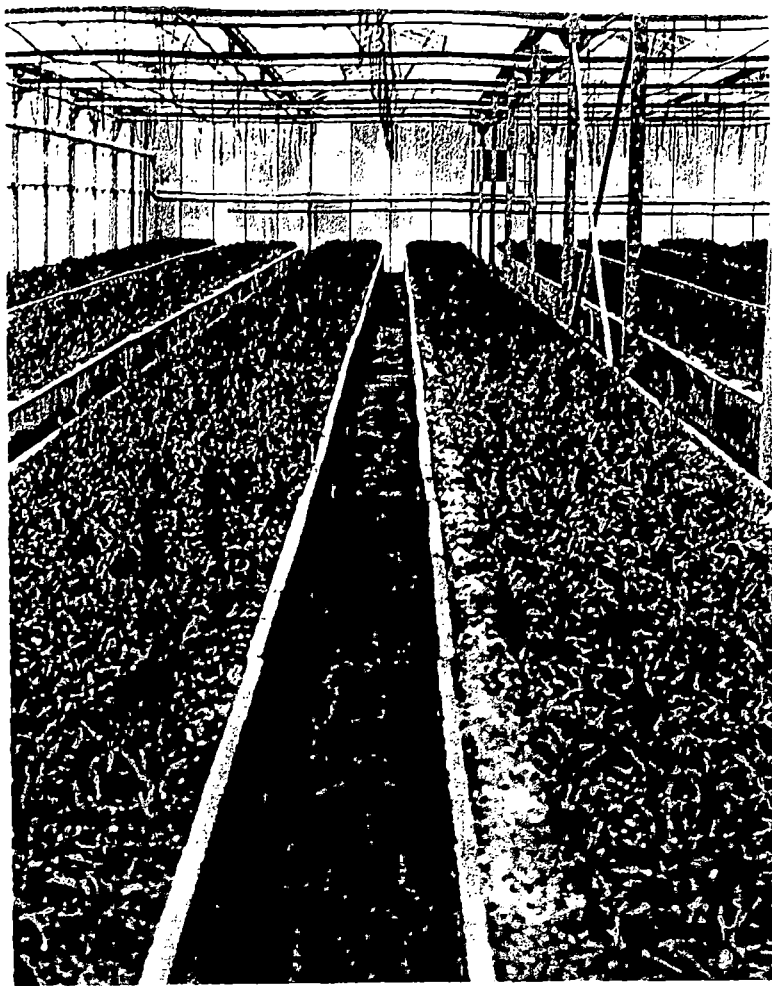
Τα τελευταία είναι συνήθως ελεύθερα ιώσεων, γιατί καθώς το μερίστωμα αυξάνεται προς τα πάνω, οι ιοί που ακολουθούν την αύξηση αυτή, δεν προλαβαίνουν να εισβάλουν στα κορυφαία μεριστωματικά κύτταρα επειδή αυτά απομακρύνονται συνέχεια. Ο πολλαπλασιασμός με σπέρματα απαλλάσσει τα φυτά από ιώσεις, όμως η εγγενής αναπαραγωγή δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε κλωνικά-αναπαραγωγικά φυτά.

Απ'όλα όσα αναφέρθηκαν πιο πάνω είναι φανερό ότι η ιστοκαλλιέργεια στη γαρυφαλλιά έχει παίξει και εξακολουθεί να παίξει μέχρι σήμερα ένα σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και κατ'επέκταση και στην καλλιέργεια του γαρύφαλλου.

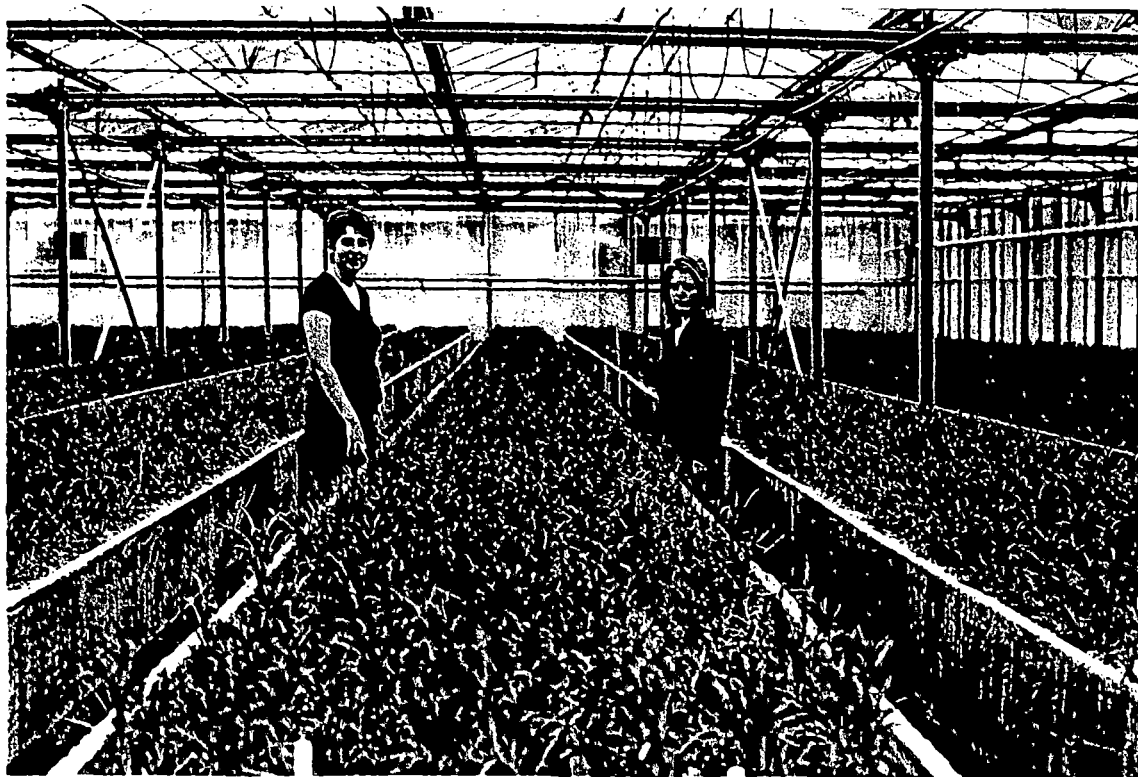
BIBLIOGRAFIA

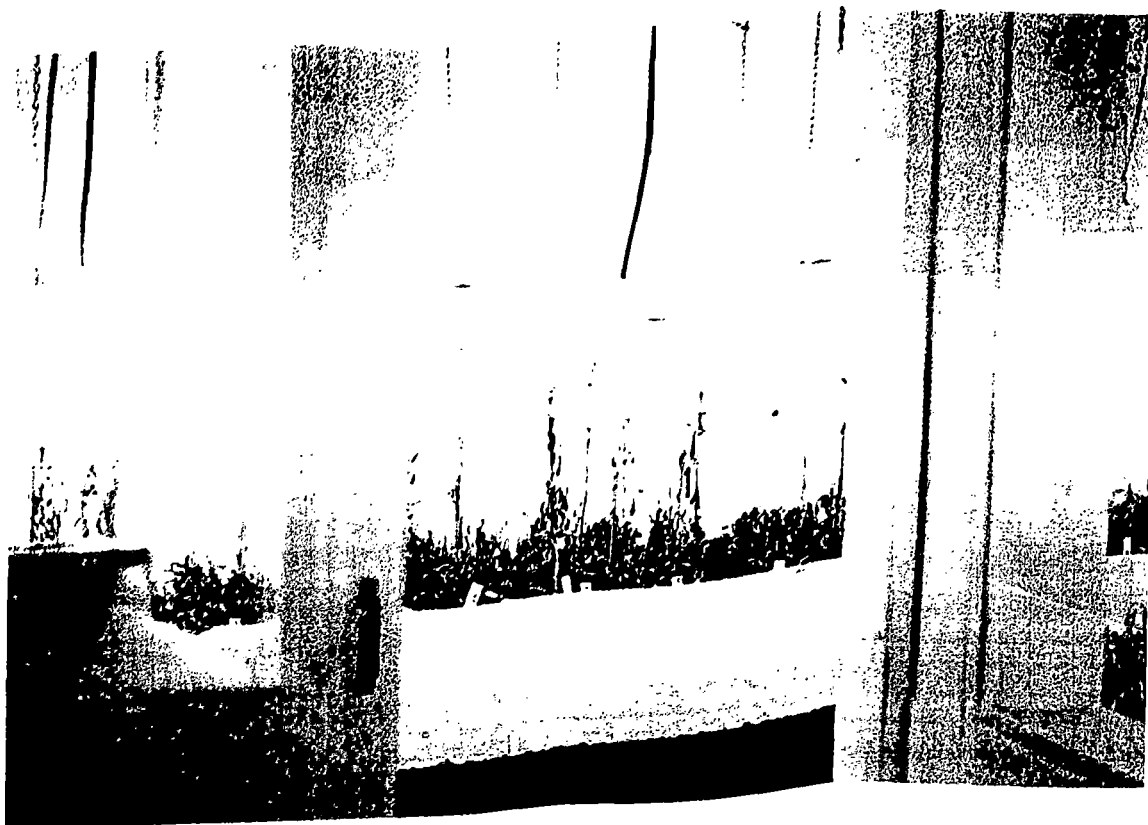
- ❖ ACCATI E., GARIBALDI A. (1974) Il garofano by Edizioni Agricole, Bologna
- ❖ ACCATI GARIBALDI ELENA (1993) Trattato di floricoltura by Edagricole-Edizioni Agricole della Calderini s.r.l., Bologna σελ. 1-419
- ❖ ALPI A. (1965) Coltura degli apici vegetativi di garofano (*Dianthus caryophyllus*) e di orchidea (*Cymbidium* sp.)
- ❖ ALPI A. (1965) Propagazione per coltura di apici vegetativi in floricoltura.
- ❖ ALPIA A., GARIBALDI M.I. (1969) Propagazione per coltura di apici vegetativi di garofano (*Dianthus caryophyllus*).
- ❖ BAJAJ Y.P.S. (1936) Biotechnology in Agriculture and forestry 17, High-Tech and Micropropagation I σελ. 1 – 555
- ❖ GRAZIA BELLARDI MARIA, BERTACCINI ASSUNTA (1994) Virosi e micoplosmosi delle piante ornamentali e da fiore reciso, Bulbose, rizomatose ed arbustive by Edagricole – Edizioni Agricole della Calderini s.r.l., Bologna σελ. 1-205
- ❖ GIUSEPPE BELLI (1992) Virus e virosi della pianta σελ. 1-212
- ❖ DAVIS M.J., BAKER RALPH, HANAN JOE (1977), Clonal Multiplication of Carnation by Micropropagation.
- ❖ GREGORINI GIOVANNA, ALRI AMEDEO (1973) Propagazione per coltura di apici vegetativi in ortofloricoltura by Gruppo glornalistico dell'edagricole, Bologna.
- ❖ GREGORINI G., LERGARI B. (1977) Coltura "in Vitro" di apici vegetativi di garofano (*Dianthus caryophyllus* L.) di tipo Mediterraneo
- ❖ HARTMANN H.T., KESTER D.E. (1990) Propagazione delle piante, Basi scientifiche e applicazioni tecniche, by Edizioni Agricole della calderini s.r.l., Bologna σελ. 1-710.
- ❖ HOLLEY W.D., BAKER RALPH (1991) Carnation production II by W.D. Holley and Ralph Baker σελ. 1-156
- ❖ LOANNOU MARIA (1990) Production of carnation plants by shoot-tip in vitro

- ❖ LOANNOU MARIA (1990) Organizing a plant micropropagation laboratory
- ❖ JELASKA SIBILA, SUTINS RENATA (1977) Maintained colture of multiple plantlets from carnation shoot tips
- ❖ KINZIOS Σ.Ε. (1994) Επιχειρηματική ιστοκαλλιέργεια. Κατασκευή και διαχείριση επιχειρηματικών μονάδων παραγωγής ανθοκομικού πολλαπλασιαστικού υλικού με ιστοκαλλιέργεια. Εκδόσεις Αθαν. Σταμούλη σελ. 1-139
- ❖ KYTE LYDIANE, KLEYN JOHN (1996) Planys from test tubes. An introducyion to Micropropagation by Tinber Press, Inc. σελ. 1-240
- ❖ LOVISOLO O. PENNAZIO S., REDOLFI P. (1978) Le infezioni da virus nelle piante by Piccin Editore, Padova σελ. 1-52
- ❖ LARSON ROY A. (1980) Introduction to floriculture (Second Edition) by Academic Press, inc σελ. 1-636
- ❖ ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ ΝΙΚΟΛΑΣ (1989) Αναπαραγωγή φυτών στα πλαίσια της βιοτεχνολογίας.
- ❖ ΠΟΝΤΙΚΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ (1994) Πολλαπλασιασμός καρποφόρων δένδρων και θάμνων. Εκδόσεις Αθαν. Σταμούλη σελ. 1-269
- ❖ DE PAOLI G., ROSSI V., SCOZZOLI A. (1994), Micropropagazione delle piante ortofloro frutticole by Edagricole –Edizione Agricole della Galderini s.r.l., Bologna σελ. 1-256
- ❖ POLLARD JEFFREY, WALKER JOHN (1990), Plant cell and Tissue culture by Humana Press Inc. σελ. 1-597
- ❖ ROEST S., BOKELMANN G.S. (1981) Vegetative propagation of carnation in vitro through multiple shoot development.
- ❖ SALA F., CELLA R. (1976) Colture di cellule Vegetali: metodi ed applicazioni by Piccin Editore, Padova σελ. 1-56

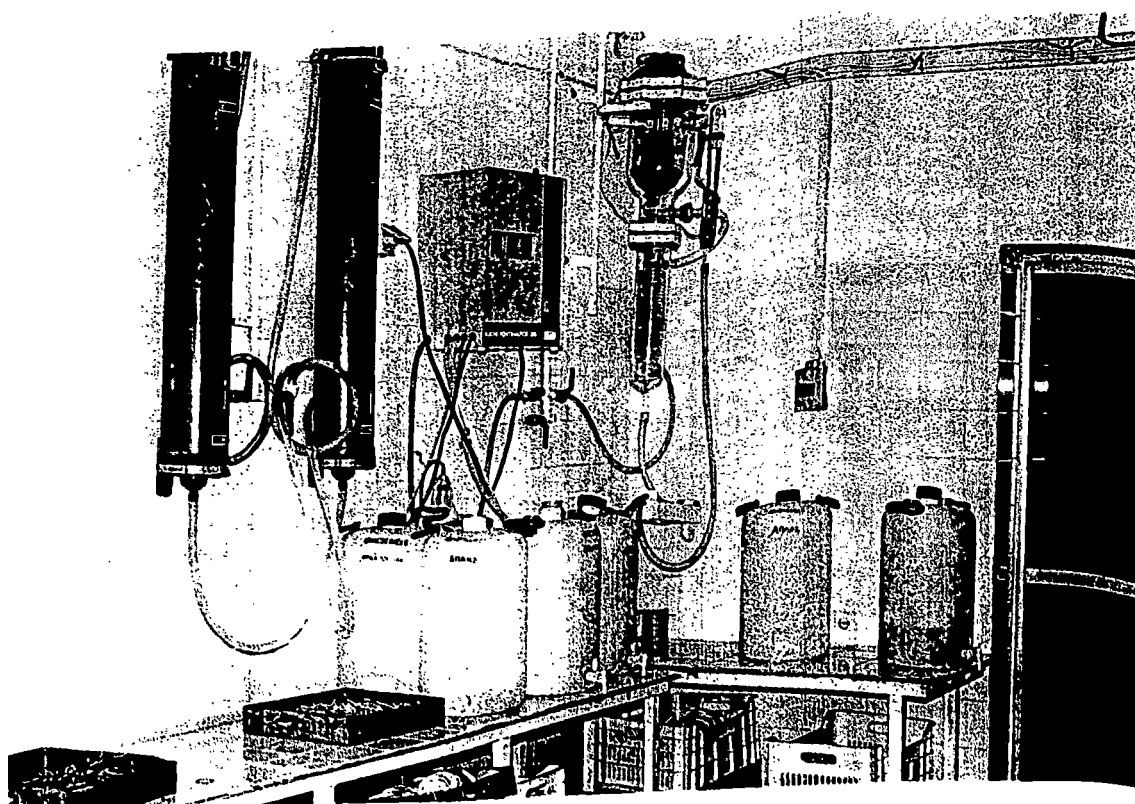


ΕΙΚ.1, 2: Μητρικές φυτείες από όπου συλλέγονται τα μοσχεύματα γαρυφαλλιάς

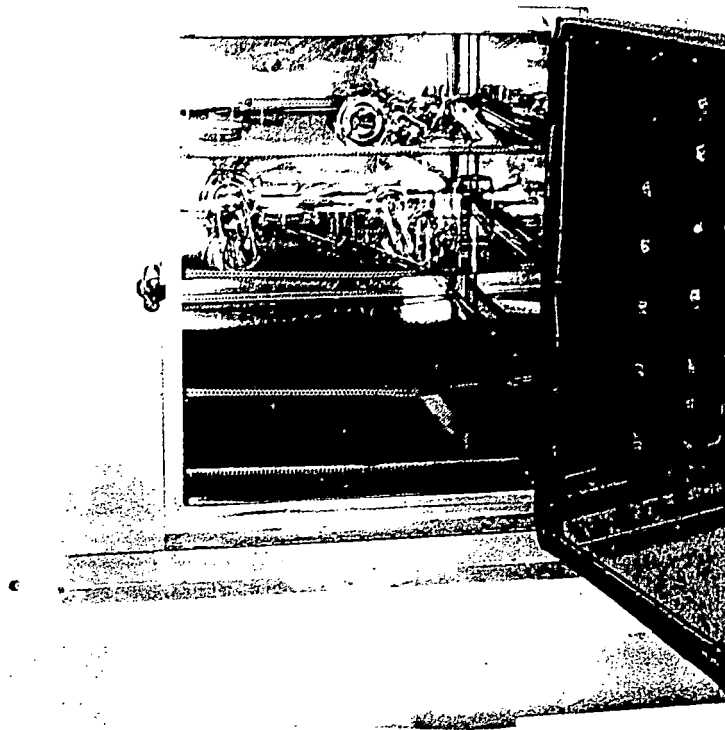




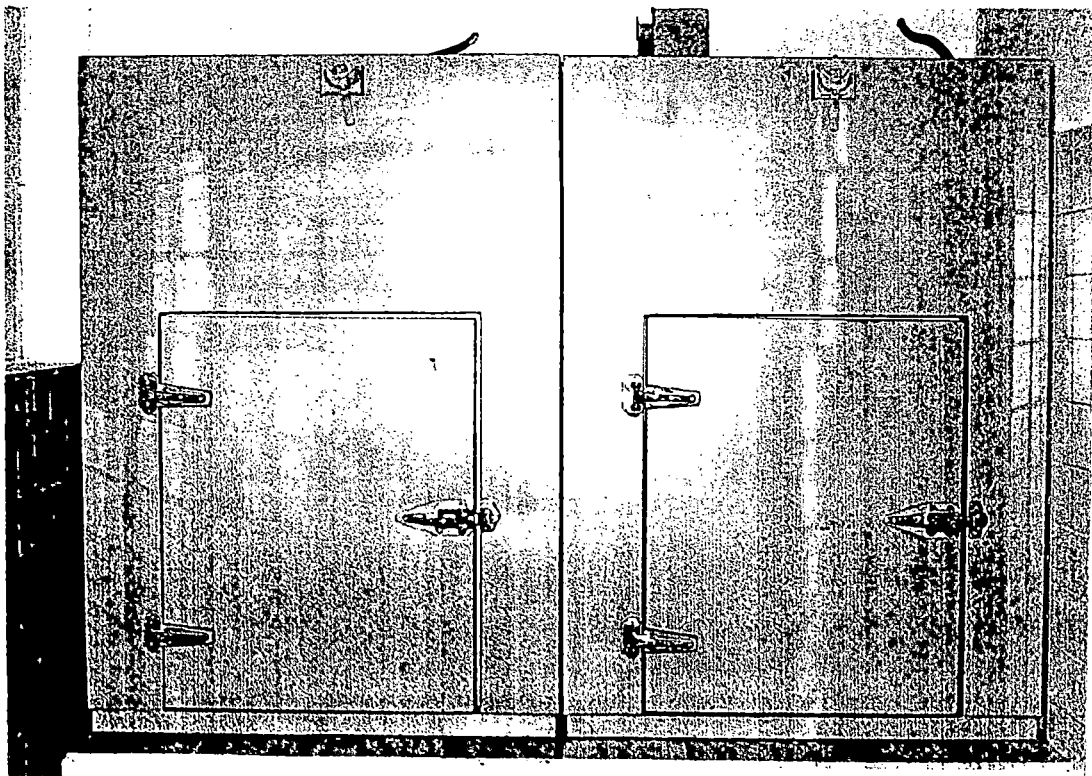
ΕΙΚ.3: Θάλαμος θερμοθεραπείας

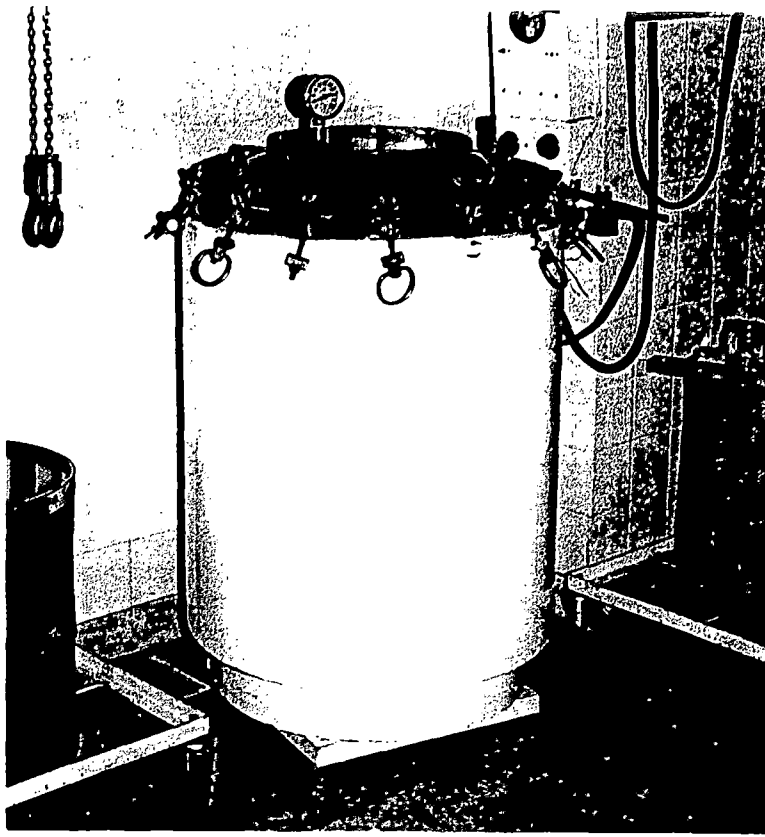


ΕΙΚ.4: Προπαρασκευαστήριο: Συσκευή στήλης απιονισμού

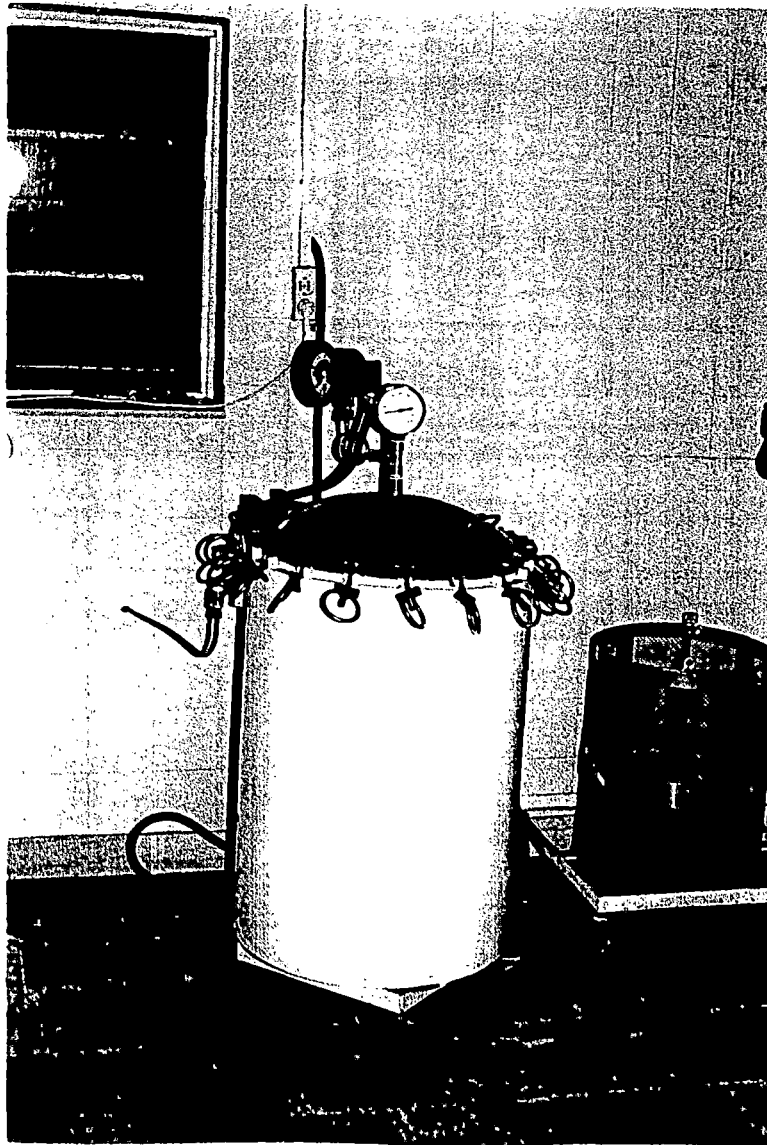


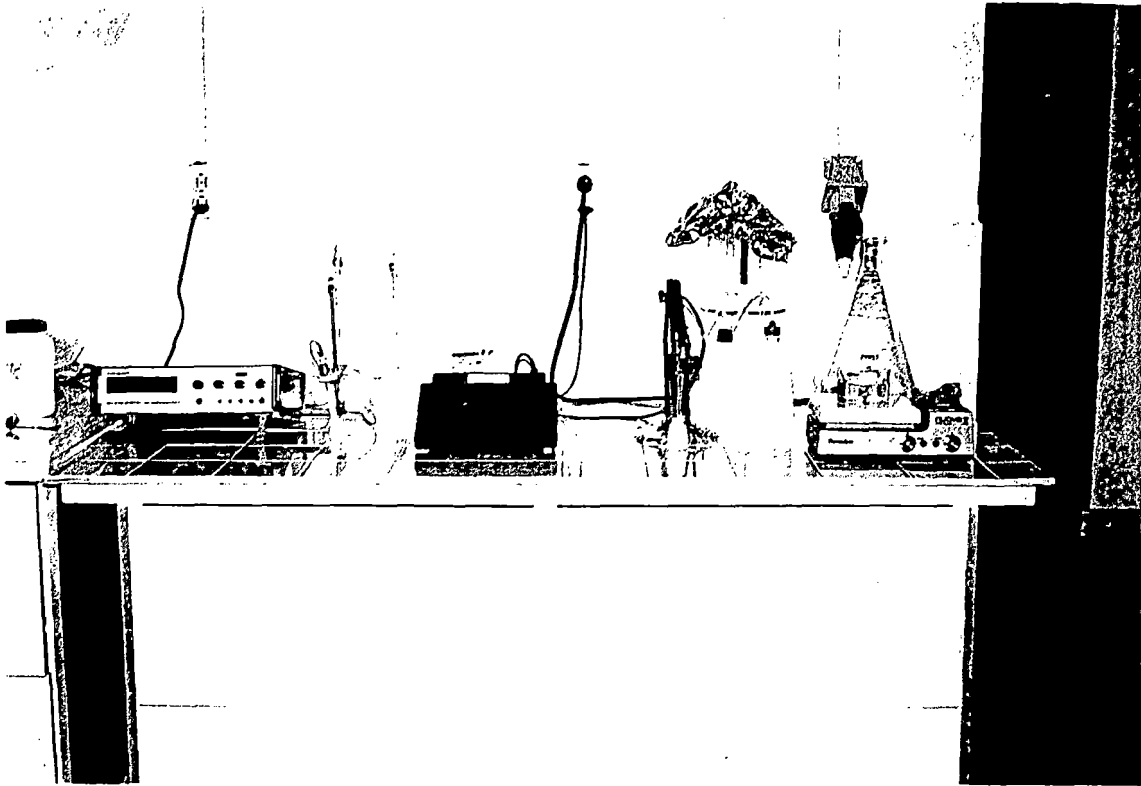
ΕΙΚ.5,6: Συσκευές απολύμανσης ξηρού αέρα από κοινού με το προπαρασκευαστήριο



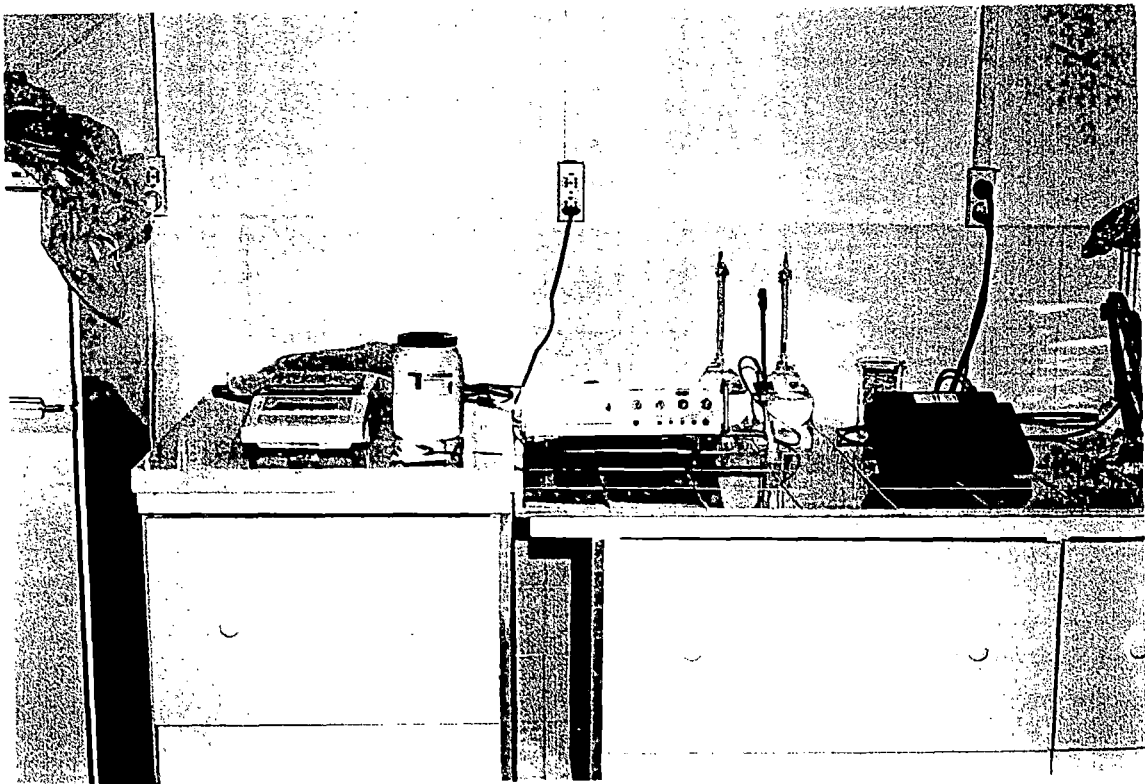


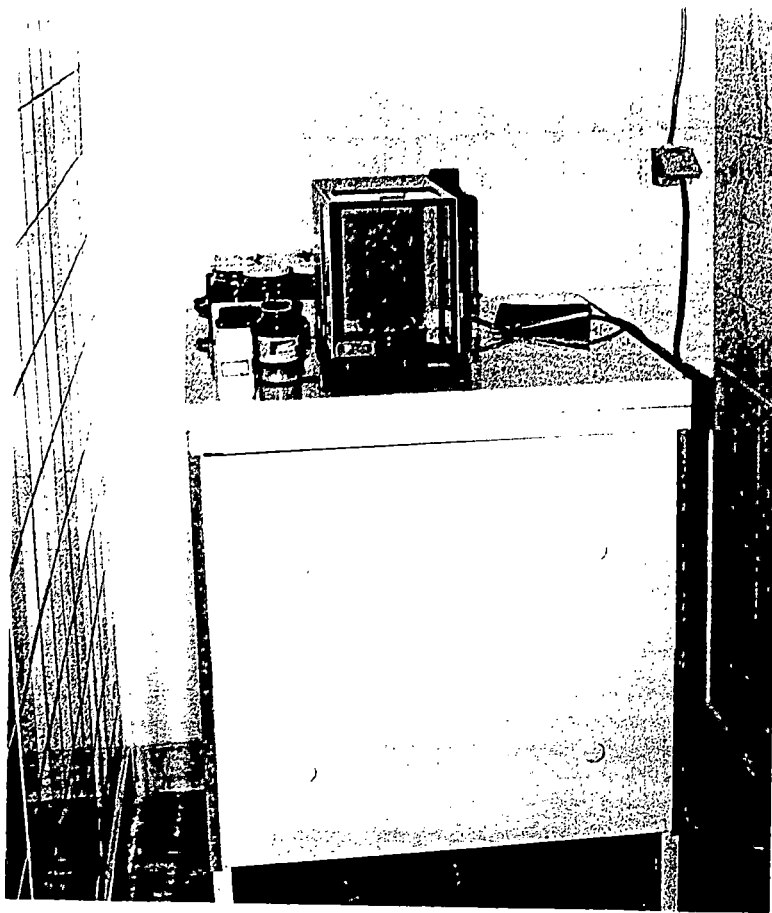
ΕΙΚ.7, 8: Αυτόκαυστα υγρής απολύμανσης





ΕΙΚ. 9, 10: α. Ρ.Η.- μέτρο
β. Αγωγιμόμετρο
γ. Ζυγοί ακριβείας

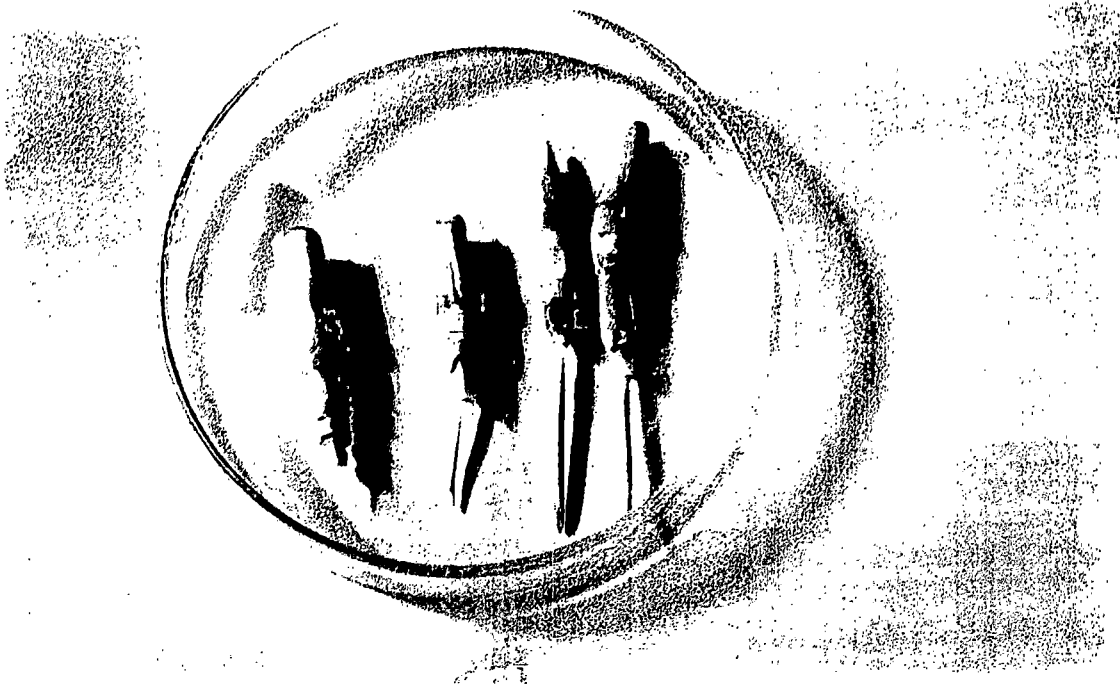




ΕΙΚ.11: Ζυγός ακριβείας



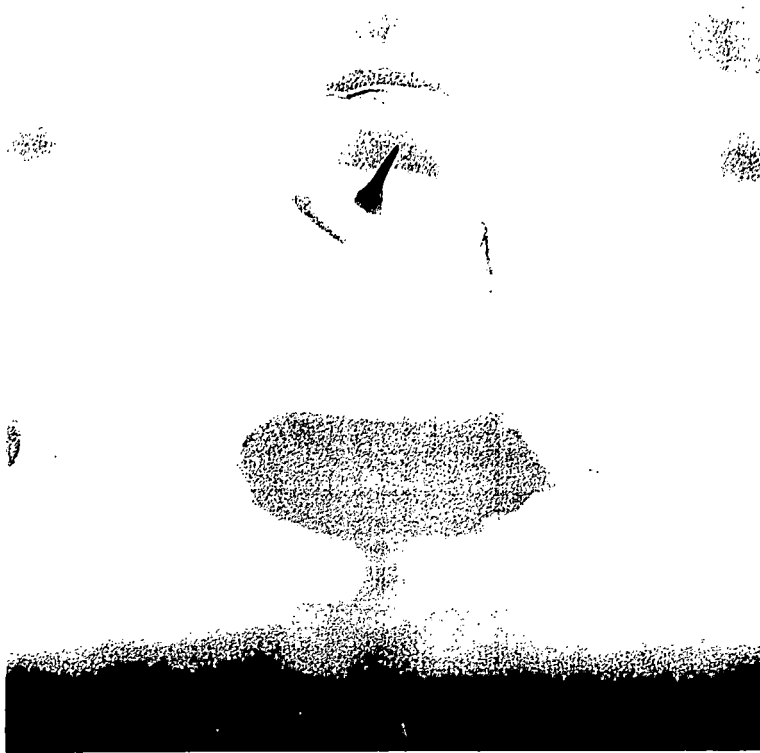
ΕΙΚ.12: Παροχή νερού - αποχέτευσης (δεξιά) και Αναμείκτης
Θερμικών υποστρωμάτων (αριστερά)



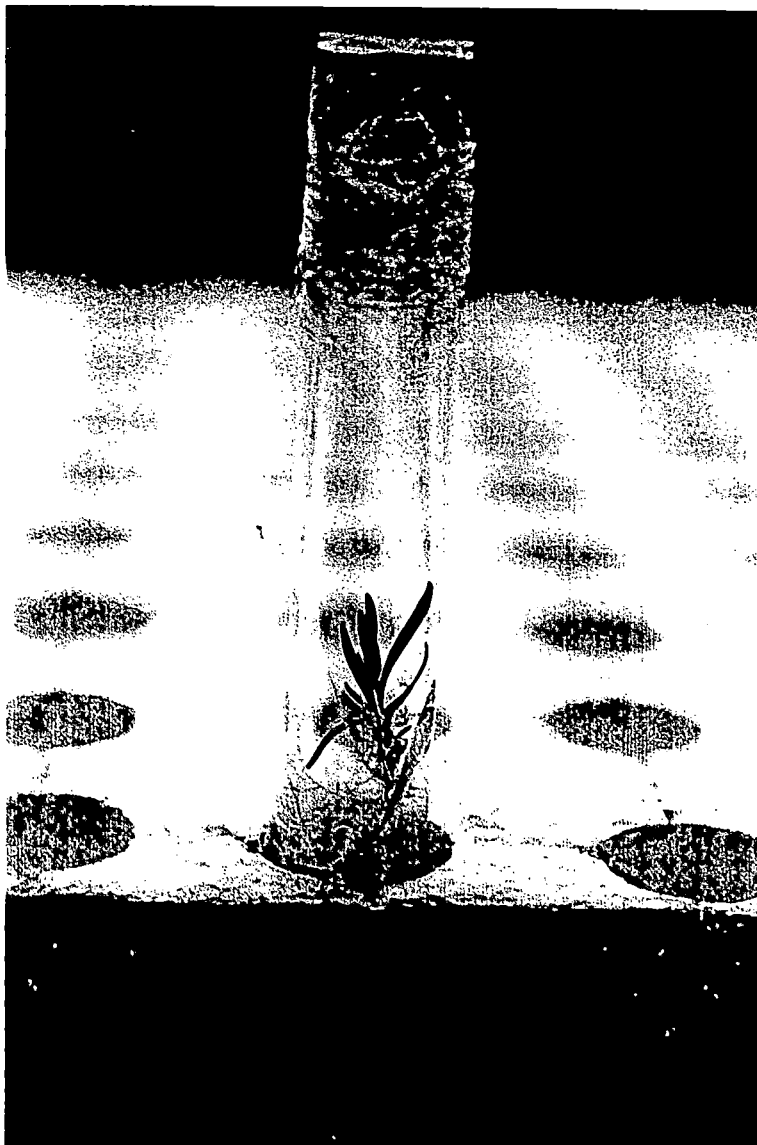
ΕΙΚ.13: Μοσχεύματα γαρυφαλλιάς χωρίς τα εμφανή φύλλα μέσα σε τριβλίο petri



ΕΙΚ.14: Παραλαβή μεριστώματος με τη βοήθεια στερεοσκοπίου στην τράπεζα νηματικής ροής



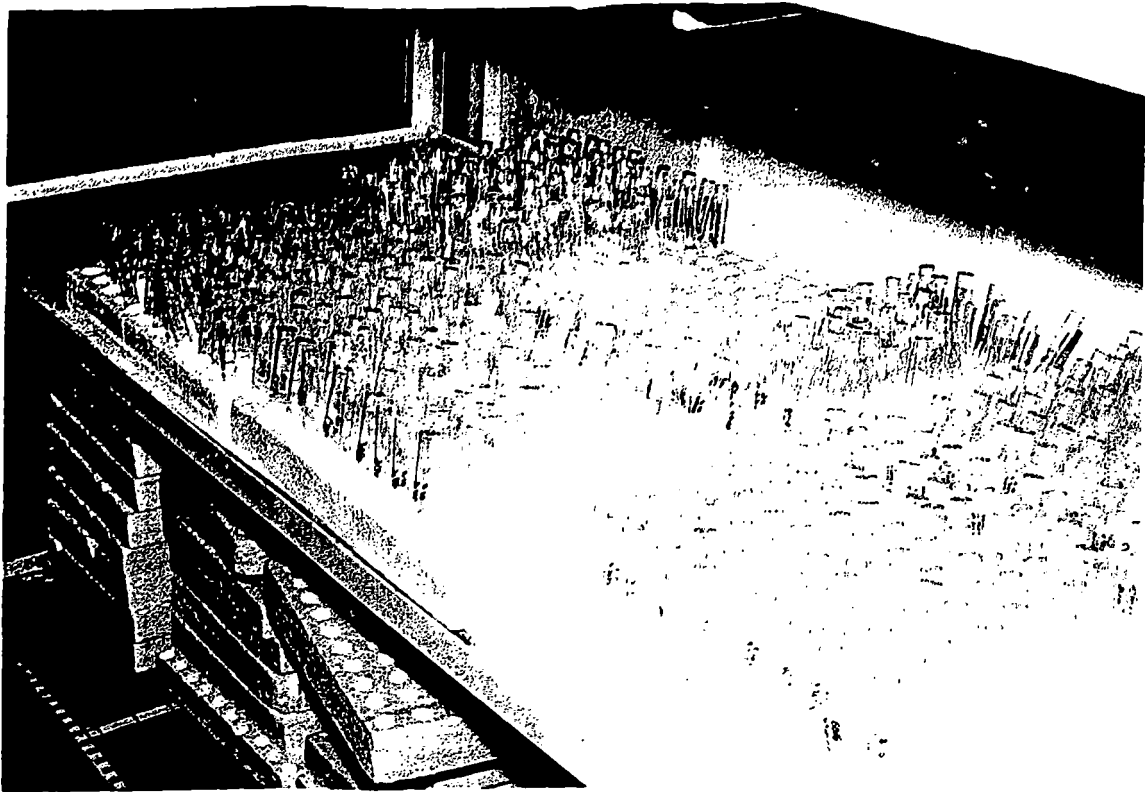
ΕΙΚ.15, 16: Μεριστωματικά φυτά σε διάφορα στάδια ανάπτυξής τους



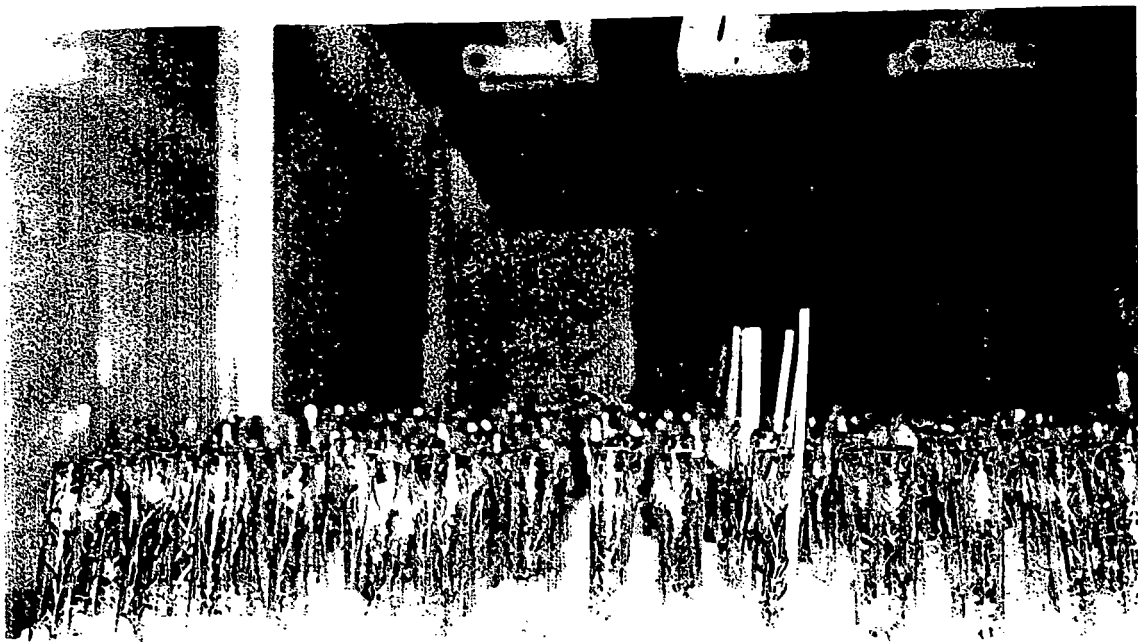


ΕΙΚ.17,18: Μεριστωματικά φυτά έτοιμα να μεταφερθούν στο θερμοκήπιο

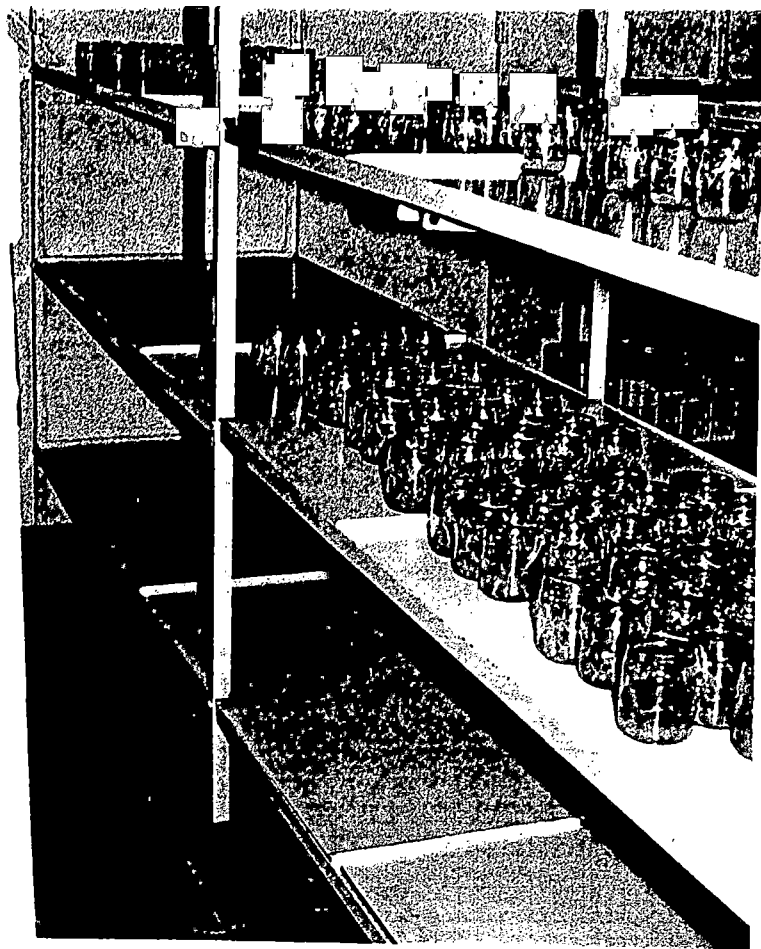




ΕΙΚ.19: Δοκιμαστικοί σωλήνες που περιέχουν τα μεριστώματα γαρυφαλλιάς στο θάλαμο ανάπτυξης.



ΕΙΚ.20: Αναπτυγμένα φυτά γαρυφαλλιάς μέσα στους δοκιμαστικούς σωλήνες στο θάλαμο ανάπτυξης



ΕΙΚ.21, 22: Ράφια τοποθέτησης φιαλών και δοκιμαστικών σωλήνων στο θάλαμο ανάπτυξης

