

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.)
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ.

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ.

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΠΙΛΟΓΗΣ: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ

ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗΣ ΓΕΩΡΓΙΑΣ.

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ : ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΦΥΤΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟΥ
ΥΛΙΚΟΥ.

ΘΕΜΑ: «ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΤΗΣ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΑΣ
ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ»

Πτυχιακή Εργασία,

Της σπουδάστριας ΜΠΟΛΙΑΡΗ ΕΛΕΝΗΣ

Επιβλέπων καθηγητής: Δρ.Κανάκης Ανδρέας.



Ιανουάριος 2004

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.)

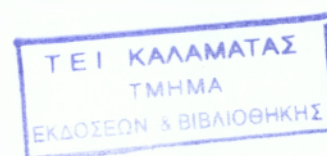
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ.

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ.

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΠΙΛΟΓΗΣ: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ

ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗΣ ΓΕΩΡΓΙΑΣ.

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ : ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΦΥΤΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟΥ
ΥΛΙΚΟΥ.



ΘΕΜΑ: «ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΤΗΣ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΑΣ
ΜΕ ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ»

Πτυχιακή Εργασία,

Της σπουδάστριας ΜΠΟΛΙΑΡΗ ΕΛΕΝΗΣ

Επιβλέπων καθηγητής: Δρ.Κανάκης Ανδρέας.

Ιανουάριος 2004

Η φωτογραφία στο εξώφυλλο είναι από
GIGIOLA MAGRINI «Η ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΑ»

Εκδόσεις Ψυχάλου

ΜΕΡΟΣ Α΄

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

α. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2
β. Βοτανική κατάταξη.....	2
ι. Ταξινόμηση των ποκιλιών.....	3
ii. Περιγραφή μερικών κατηγοριών.....	3

ΜΕΡΟΣ Β΄

Ο ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΑΣ

I. Με σπόρο.....	7
II. Με μοσχεύματα.....	8
III. Με εμβολιασμό	14
IV. Καταβολάδες.....	23
V. <i>In vitro</i> Πολλαπλασιασμός (ιστοκαλλιέργεια).....	24

ΜΕΡΟΣ Γ΄

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ – ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

I. Γενικά	27
α. Πλεονεκτήματα-μειονεκτήματα των καλλιεργειών.....	27
β. Θρεπτικά μέσα.....	28
γ. Φυτορρυθμιστικές ουσίες.....	28
δ. Απαραίτητοι χώροι –όργανα- συσκευές	29
II. Υλικά και μέθοδοι.....	31
III. Αποτελέσματα.....	37
V. Συμπεράσματα	72

VI. Περίληψη.....	74
VII. Βιβλιογραφία.....	76

VI. Περίληψη.....	74
VII. Βιβλιογραφία.....	76

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο της Ιστοκαλλιέργειας του Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας υπό την επίβλεψη του καθηγητή κ. Ανδρέα Κανάκη.

Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την βοήθεια και την συμβολή του και την υπομονή την οποία έδωσε και είχε για να πραγματοποιηθεί αυτή η μελέτη.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω όχι μόνο τους καθηγητές οι οποίοι με δίδαξαν στο σύντομο χρονικό διάστημα του μαθήματος «Ιστοκαλλιέργειας» και χάρη σε αυτούς έφερα ως πέρας το πείραμα, αλλά και όλους τους καθηγητές που είχα ως σπουδάστρια και με έμαθαν να κατανοώ γεωπονικούς όρους και έννοιες.

Χρωστάω επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ στα Φυτώρια «Τριανταφυλλιάς Αβράμη» για τις πληροφορίες που πάντα με προθυμία μου παρείχαν.

ΜΕΡΟΣ Α΄ : ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΤΗΣ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΑΣ

α. Εισαγωγή

Η τριανταφυλλιά περιλαμβάνει περισσότερα από 125 είδη φυλλοβόλων ή ημιαειθαλών φυτών με θαμνώδη, δενδρώδη ή αναρριχώμενη βλάστηση. Είναι ιθαγενές φυτό των εύκρατων περιοχών του βορείου ημισφαιρίου, από το οποία τουλάχιστον 20 είδη αυτοφύονται και στην χώρα μας.

Το τριαντάφυλλο εμφανίζεται για πρώτη φορά σε νομίσματα στην κεντρική Ασία στο 4.000 π.Χ. Στην Ευρώπη εμφανίζεται σε τοιχογραφίες και νομίσματα το 1600 π.Χ. με μοναδική χώρα την Ελλάδα κι ειδικότερα την Κρήτη στο παλάτι της Κνωσού. Οι αρχαίοι Έλληνες θεωρούσαν ως τόπο καταγωγής του τα Κύθηρα, που ήταν φημισμένα για τη λατρεία τους στην θεά Αφροδίτη. Ήταν οι πρώτοι που ασχολήθηκαν σοβαρά με το τριαντάφυλλο και το καλλιέργησαν τόσο στον κήπο όσο και στο φυτοδοχείο.

Οι Ρωμαίοι ήταν οι πρώτοι όμως που το αγάπησαν . Στην Ρωμαϊκή Αυτοκρατορία το τριαντάφυλλο συνδέθηκε με την Αφροδίτη τη θεά του Έρωτα και έγινε σύμβολο της χυδαιότητας.

Η Καθολική Εκκλησία θεώρησε το τριαντάφυλλο ως άνθος της αγνότητας και από άνθος της Αφροδίτης έγινε άνθος της Παναγίας.

β. Βοτανική κατάταξη

Η τριανταφυλλιά (*Rosa sp.*) είναι φυτό που ανήκει στην υποδιαίρεση των Αγειοσπέρμων, στην Κλάση των Δικοτυλήδονων, στην τάξη των *Rosales* και στην οικογένεια *Rosaceae*.

Η περιγραφή του φυτού τριανταφυλλιά είναι περιττή αφού όλοι γνωρίζουν τα χαρακτηριστικά του: την ποικιλία συνδυασμού χρωμάτων, τα σύνθετα φύλλα του,

τα αγκάθια τα οποία βρίσκονται στο βλαστό και στα φύλλα, και ιδίως τα αρωματικά ή μη άνθη του με πολλά ή λίγα πέταλα.

i. Ταξινόμηση των ποικιλιών

A. Κατάταξη των ποικιλιών σύμφωνα με τον τρόπο ανάπτυξης του φυτού.

1. Εδαφοκάλυψη, ύψος 30 εκ. ή και λιγότερο,
2. Μινιατούρες ύψους 30 – 40 εκ.,
3. Νάνες θαμνώδεις ύψους 60εκ.,
4. Θαμνώδεις ύψους 60 εκ. και άνω.,
5. Δενδρώδεις, ύψους 1 - 1,5 μέτρων.,
6. Δενδρώδεις κρεμοκλαδείς, ύψους 1,5 – 2 μέτρων,
7. Αναρριχώμενες ύψους 3 – 6 μέτρων,

B. Κατάταξη σύμφωνα με την κατασκευή, το μέγεθος, τον αριθμό πετάλων του άνθους και την ανθοταξία:

1. Υβρίδια τσαγιού με μέτριο αριθμό πετάλων,
2. Υβρίδια φλαριμπούντα, πολλυανθή,
3. Μινιατούρες με μικρά άνθη,
4. Τριανταφυλλιές Αγγλίας με πολλά πέταλα,
5. Τριανταφυλλιές Palace νάνες τριανταφυλλιές με μεγάλο σχετικά άνθος,
6. Τριανταφυλλιές Renaissance, αναρριχώμενες με μεγάλα τριαντάφυλλα,
7. Τριανταφυλλιές Town @ Country με μικρό άνθος.

ii. Περιγραφή μερικών κατηγοριών ποικιλιών

Επειδή στα πειράματά μας χρησιμοποιήσαμε μόνο φυτά ποικιλιών εκπροσώπων μερικών μόνο κατηγοριών, κρίνουμε σκόπιμο να περιγράψουμε ακροθιγώς αυτές τις κατηγορίες, ως εξής:

1. Ποικιλίες Εδαφοκάλυψης (ύψος 30 εκ. ή και λιγότερο).

Είναι τριανταφυλλιές με πλάγια και πολύ πυκνή βλάστηση, θαυμάσιες για να καλύψουν μία πλαγιά ή μία λωρίδα γης ή ένα φράκτη ή ακόμα και ένα βραχόκηπο. Φέρνουν τριαντάφυλλα απλά ημίδιπλα ή διπλά σε μπουκέτα, πάρα –πάρα πολλά σε ποσότητα και σε συνεχή βλάστηση. Ο τρόπος που αναπτύσσονται και ανθίζουν ξεχωρίζει. Τα πολυάριθμα άνθη τους που στηρίζονται στα σκληρά και ευλύγιστα κλαδιά τους, φτάνουν να αγγίζουν το έδαφος, κι έτσι σχηματίζουν ένα ημισφαίριο πάνω από την επιφάνεια του κήπου.

Είναι φυτά πολύ ανθεκτικά στις ασθένειες και το κλάδεμα τους δεν είναι απαραίτητο.



Εικ.1 Ποικιλία τριανταφυλλιάς *White Cover*

2. Ποικιλίες νάνοι (ύψους 20 –30 εκ.).

Οι τριανταφυλλιές αυτές αποτελούσαν μία ασήμαντη κατηγορία που τώρα αποκτά όλο και μεγαλύτερο ενδιαφέρον. Ανθίζουν χωρίς διακοπή και φέρουν μικρά σε μπουκέτο άνθη. Είναι κατάλληλες για φύτευση σε γλάστρα, περιβάζια παραθύρων κατασκευές από πέτρες και σε μπορντούρες. Αποδίδουν σε μικρογραφία το τέλειο και κομψό σχήμα των μεγάλων τριαντάφυλλων.



Εικ.2. Ποικιλία τριανταφυλλιάς *Crystal Palace* (βέλος)

3. Ποικιλίες Υβρίδια Τσαγιού (ύψος 70 εκ.).

Σε αυτήν την ποικιλία ανήκουν οι τριανταφυλλιές με μεγάλα και κομψά άνθη για διακόσμηση κήπου και μπαλκονιών. Είναι διασταύρωση μεταξύ του σκληραγωγημένου υβριδίου *Perpetual* και του λεπτεπίλεπτου *Tea Rose*. Έχουν ζωηρά κλαδιά και φύλλα γυαλιστερά. Η ανάπτυξή τους είναι θαμνώδης.



Εικ.3 Ποικιλία τριανταφυλλιάς *Red Star*

4. Ποικιλίες Αναρριχώμενες (ύψους 3 –6 μέτρα).

Αναπτύσσουν μεγάλου και ζωηρούς βλαστούς οι οποίοι αναρριχώνται χωρίς να είναι σε θέση να στερεωθούν μόνοι τους. Χρειάζονται υποστύλωμα στο οποίο προσδένονται. Έχουν απεριόριστη δυνατότητα στη χρήση τους, στο ντύσιμο των τοίχων, στην κατασκευή υπέροχων σχηματισμών στους συνεχείς ανθισμένους φράκτες. Είναι ανθεκτικά φυτά με γυαλιστερά ή θαμπά φύλλα. Ανθίζουν από Μάιο μέχρι Ιούνιο. Η ανθοφορία επαναλαμβάνεται το φθινόπωρο.



Εικ.4 Ποικιλία τριανταφυλλιάς *Jazz*

5. Ποικιλίες Αγγλικές. Είναι μία σχετικά νέα κατηγορία τριανταφυλλιών που πρωτοεμφανίστηκαν την δεκαετία του 70. Προέρχονται από διασταυρώσεις που έκανε ο Άγγλος David Austin μεταξύ ορισμένων παλιών ποικιλιών και των σύγχρονων. Συνδυάζουν τη λεπτή και ρομαντική γοητεία και το άρωμα των παλιών τριανταφυλλιών με την ποικιλία των χρωμάτων και την συχνή ανθοφορία των σύγχρονων ποικιλιών. Το σχήμα των λουλουδιών μοιάζει πολύ με τα παλιά τριαντάφυλλα, το σχήμα των οποίων έμοιαζε με κούπα ή ρόδακα με πολυάριθμα μικρά - μικρά πέταλα στο κέντρο. Είναι πολύ αρωματικές.



Εικ. 5 Ποικιλία τριανταφυλλιάς *Clamis Castle*

ΜΕΡΟΣ Β΄. Ο ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΙΑΣ.

Η τριανταφυλλιά πολλαπλασιάζεται με σπόρο, με μοσχεύματα, με εμβολιασμό, με καταβολάδες, και με μικροπολλαπλασιασμό.

I. Με σπόρο.

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται όταν επιθυμούμε να δημιουργήσουμε καινούργιες ποικιλίες. Εφαρμόζεται κυρίως από επιστήμονες ερευνητές και όχι από ερασιτέχνες ανθοκόμους, γιατί απαιτούνται ευρύτατες γνώσεις των βιολογικών νόμων που διέπουν την κληρονομικότητα και την γενετική του τριαντάφυλλου, μεγάλη εμπειρία, χρόνος και τεράστια οικονομικά μέσα για να παραχθεί ο απαραίτητος μεγάλος αριθμός σπορόφυτων, από τα οποία θα προέλθει η καινούργια ποικιλία. Πειραμαμένοι γενετιστές χρειάζονται κατά μέσον όρο 5.000 και περισσότερα σπορόφυτα να καλλιεργήσουν μέχρι την άνθησή τους, για να δημιουργηθεί μία καινούργια ποικιλία.

Οι σπόροι του τριαντάφυλλου οι οποίοι προέρχονται από ώριμους καρπούς, σπέρνονται σε αβαθή φυτοδοχεία τον Οκτώβριο και μεταφυτεύονται μόλις βλαστήσουν ή σπέρνονται σε βαθύτερα φυτοδοχεία, όπου και παραμένουν μέχρις ότου ανθίσουν. Οι σπόροι σκεπάζονται με κατάλληλη κομπόστα ή μίγμα απολυμασμένου χώματος και κοπριάς ή φυτοχώματος σε αναλογία 1:1 και σε βάθος 1 εκατ. περίπου.

Η βλάστηση του σπόρου αρχίζει συνήθως σε 6 εβδομάδες από την ημερομηνία σποράς και συνεχίζεται για 2 περίπου μήνες. Τα σπορόφυτα μπορούν να μεταφυτευθούν μόλις αποκτήσουν 2 πραγματικά φύλλα.

Τα φυτά που προέρχονται από σπόρο διατηρούν τα γονικά χαρακτηριστικά και είναι ικανά να ανθίσουν μετά από 2 – 3 χρόνια καλλιέργειας.

II. Με μοσχεύματα.

Μόσχευμα είναι ένα τμήμα φυτού (βλαστού, ρίζας, φύλλου) το οποίο αφού κοπεί από μητρικό δέντρο και προπαρασκευασθεί καταλλήλως, μπορεί κάτω από ευνοϊκές συνθήκες να σχηματίσει επίκτητες ρίζες και να δώσει νέο φυτό με δικιά του ζωή, απόλυτα όμοιο με εκείνο από το οποίο προέρχεται.

Ο πολλαπλασιασμός με μοσχεύματα είναι σχετικά εύκολος. Τα φυτά που προέρχονται από μοσχεύματα είναι σχεδόν εξίσου εύρωστα με τα εμβολιασμένα σε άγρια υποκείμενα φυτά, αλλά υστερούν ως προς τη γρήγορη άνθιση (χρειάζονται 1 –2 χρόνια για να ανθίσουν ικανοποιητικά) και ως τη μακροβιότητα.

Το ποσοστό επιτυχίας της ριζοβολίας των μοσχευμάτων δεν είναι συνήθως υψηλό και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, οι οποίοι είναι:

α) Η ηλικία των φυτών από τα οποία παίρνονται τα μοσχεύματα πρέπει να είναι νεαρής ηλικίας γιατί ριζοβολούν πιο εύκολα. β) Τα μοσχεύματα που προέρχονται από φυτά φτωχής βλάστησης και από βλαστούς μέτριας ζωηρότητας, καλά ξυλοποιημένους, προκειμένου για χειμερινά μοσχεύματα, ριζοβολούν καλύτερα, γιατί περιέχουν περισσότερους υδατάνθρακες και ορμόνες ριζοβολίας (αυξίνες). γ) Τα θερινά μοσχεύματα (μαλακού ξύλου), πρέπει επίσης να προέρχονται από φυτά φτωχής βλάστησης και βλαστούς μέτριας ζωηρότητας, οι οποίοι πρέπει να έχουν και αυτοί κάποιο βαθμό ξυλοποίησης δηλ. να έχουν αποθηκευμένους υδατάνθρακες. δ) Οι πλάγιοι και πλευρικοί βλαστοί του φυτού είναι καλύτεροι για μοσχεύματα από εκείνους που προέρχονται από το προς την κορυφή μέρος της κόμης. ε) Τα προς τη βάση τμήματα του βλαστού ριζοβολούν καλύτερα από το προς την κορυφή τμήμα του. στ) Τα φυτά από τα οποία λαμβάνονται τα μοσχεύματα θα πρέπει να είναι υγιή. ζ) Όσο πιο εξευγενισμένη είναι μία ποικιλία, τόσο λιγότερο ριζοβολεί και αντίστροφα. Γενικά οι ποικιλίες των πολύανθων και φλοριμπούντα τριανταφυλλιών, ριζοβολούν με μεγαλύτερη επιτυχία από τις ποικιλίες των υβριδίων τσαγιού.

Ορισμένες απαραίτητες προϋποθέσεις για την επιτυχή ριζοβολία των μοσχευμάτων είναι οι ακόλουθες.

1. Παίρνονται μοσχεύματα σκληρού ξύλου τον Οκτώβριο ή Νοέμβριο μετά την πτώση των φύλλων μέχρι την άνοιξη από καλά ξυλοποιημένα και υγιή κλαδιά.

Τα θερινά μοσχεύματα παίρνονται από Ιούνιο – Σεπτέμβριο και τοποθετούνται σε συνθήκες υδρονέφωσης.

2. Τα μοσχεύματα προέρχονται από το μεσαίο τμήμα των βλαστών, δηλαδή 15 –20 εκατ. κάτω από την κορυφή όπου υπάρχει το άνθος (Σχ 1). Το κάθε μόσχευμα πρέπει να έχει μήκος περίπου 20 – 23 εκ. και να περιλαμβάνει 2 – 4 γόνατα. Τα μοσχεύματα κόβονται λοξά και ένα περίπου εκατοστό από τον τελευταίο πάνω οφθαλμό και κάθετα και λίγο πλησιέστερα στον κάτω οφθαλμό (Σχ 2). Τα καλύτερα μοσχεύματα είναι εκείνα που κόβονται στο σημείο διακλάδωσης τους με διετείς ή τριετείς βλαστούς, παίρνονται και τμήμα των βλαστών αυτών, γιατί εκεί υπάρχουν περισσότεροι υδατάνθρακες, που συμβάλλουν στην ευκολότερη ριζοβολία.



Σχ.1. Τμήμα βλαστού από τον οποίο προέρχεται το μόσχευμα



Σχ.2. Φυλλοφόρο μόσχευμα

(Πηγή: Cathy Wilkinson Barash. *Roses An illustrated identifier and guide to cultivation*)

3. Αφαιρούνται με κλαδευτικό ψαλίδι τα φύλλα των οφθαλμών που θα μείνουν άνω από την επιφάνεια του εδάφους, αφήνοντας στο μόσχευμα τμήμα του μίσχου των φύλλων και δεν τραβούνται με το χέρι, για να μην υποστούν ζημιά οι οφθαλμοί.

Μόλις προετοιμασθούν τα μοσχεύματα, τυλίγονται με υγρά υφάσματα ή άλλα υλικά μέχρι ότου φυτευθούν. Μπορούν επίσης να εμβαπτισθούν για μερικές ώρες στο νερό.

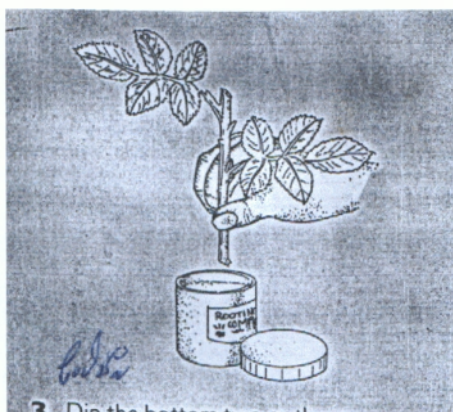
4. Διαλέγουμε ομοιόμορφα μοσχεύματα και γίνονται νέες τομές στη βάση τους.

5. Για την προετοιμασία του μέσου ριζοβολίας των μοσχευμάτων χρησιμοποιούνται κιβώτια βάθους 15 εκατοστών περίπου ή φυτοδοχεία, τα οποία γεμίζονται με χοντρή άμμο ποταμού ή βρύα ανάμεικτα με βερμικουλίτη ή περλίτη σε ίσια μέρη. Διαβρέχεται το μέσο ριζοβολίας με νερό, στο οποίο έχει διαλυθεί μυκητοκτόνο για να εμποδιστεί η ανάπτυξη των μυκήτων. Κατόπιν πιέζεται με σανίδα.

6. Παραλαμβάνονται τα μοσχεύματα από το νερό, τινάζονται για να φύγει η περίσσια υγρασίας και εμβαπτίζεται η κάτω άκρη τους σε σκόνη ορμόνης ριζοβολίας σε βάθος περίπου 1-2 εκ. περιστρεφοντάς το για να κολλήσει καλά η σκόνη στην τομή (Σχ 3). Τινάζεται το μόσχευμα τόσο ώστε να αφαιρεθεί η περίσσεια της ορμόνης, χωρίς όμως να απογυμνωθεί εντελώς από αυτήν.

Η χρήση μυκτοκτόνου μαζί με ορμόνη ριζοβολίας επιδρά ευνοϊκά στη ριζοβολία των μοσχευμάτων, ιδιαίτερα το Κάπταν, όταν εφαρμοστεί στη βάση λίγο πριν γίνει η φύτευση.

Ορμόνες ριζοβολίας είναι οι συνθετικές αυξητικές ουσίες οι οποίες δεν διευκολύνουν μόνο τη ριζοβολία αλλά επιδρούν και στην ταχύτητα αυτής, στην αύξηση του μήκους και στην ανάπτυξη ριζικών τριχιδίων. Από τις πολλές συνθετικές αυξητικές ουσίες που υπάρχουν, καλύτερα αποτελέσματα δίνουν το α-ναφθαλινοξικό οξύ (NAA) και τα 3-ινδολοβουτυρικό οξύ (IBA). Το τελευταίο δεν διασπάται εύκολα όπως το πρώτο, είναι ασθενής αυξίνη που δεν προκαλεί αναστολή στη βλάστηση των οφθαλμών και μπορεί να χρησιμοποιηθεί διότι δεν είναι τοξικό.



Σχ.3.Εβάπτιση της κάτω άκρης φυλλοφόρου μοσχεύματος σε σκόνη ορμόνης ριζοβολίας.

(Πηγή: Cathy Wilkinson Barash. *Roses An illustrated identifier and guide to cultivation*)

7. Για τη φύτευση των μοσχευμάτων στο εδαφικό μίγμα ανοίγονται σπές, σε γωνία 90° ή 45° μοιρών. Τοποθετείται προσεκτικά το κατώτερο τμήμα με προσοχή ώστε να μη τρίβεται το εδαφικό υλικό πάνω στο μόσχευμα με αποτέλεσμα να απομακρύνεται έτσι το σκεύασμα, πιέζεται το εδαφικό υλικό γύρω από αυτό, για να έρθει σε επαφή με το μόσχευμα (Σχ4). Με τη πλάγια φύτευση χάνεται λιγότερη υγρασία, από ότι στην κατακόρυφη. Αρδεύονται κατόπιν τα μοσχεύματα άφθονα.



Σχ.4. Τοποθέτηση μοσχεύματος στο εδαφικό μείγμα.

(Πηγή: Cathy Wilkinson Barash. *Roses An illustrated identifier and guide to cultivation*)

Η υγρασία στο υπόστρωμα ριζοβολίας πρέπει να είναι επαρκής όχι όμως υπερβολική. Η υγρασία στην ατμόσφαιρα που περιβάλλει τα μοσχεύματα έχει μεγάλη σημασία για τη ριζοβολία των θερινών μοσχευμάτων.

Το φως αν πέφτει στη βάση των μοσχευμάτων δεν ευνοεί το σχηματισμό ριζών. Αντίθετα είναι πολύ ευεργητικό στα φυλλοφόρα μοσχεύματα γιατί ευνοείται η φωτοσύνθεση.

Η θερμοκρασία παίζει σοβαρό ρόλο στην επιτυχία των μοσχευμάτων. Για τα χειμερινά μοσχεύματα στη βάση τους πρέπει να είναι (15°C - 20°C).

Για τα θερινά μοσχεύματα άριστη θερμοκρασία για τη ριζοβολία τους θεωρείται των (20°C - 25°C) κατά την ημέρα και ή (15°C - 20°C) τη νύχτα. Έτσι διευκολύνεται η φωτοσύνθεση την ημέρα αλλά λιγοστεύει κατά τη νύχτα η αναπνοή, επειδή η θερμοκρασία είναι σχετικώς χαμηλή και περισσεύουν οι υδατάνθρακες για αποταμίευση. Είναι απαραίτητο στη βάση των μοσχευμάτων η θερμοκρασία να είναι (20°C – 21°C).

8. Τοποθετούνται τα φυτοδοχεία σε σκιερά μέρη και μπορεί να σκεπαστούν με ένα πλαστικό τεντωμένο. Όταν τα μοσχεύματα ριζοβολούν, καταβάλλεται προσπάθεια το εδαφικό μίγμα να είναι υγρό, αλλά όχι πάρα πολύ, γιατί υπάρχει κίνδυνος σηψιριζιών.

Αν τα μοσχεύματα αποκτήσουν χρώμα σκούρο καφέ τότε αυτά έχουν πεθάνει, ενώ αν το χρώμα τους είναι πράσινο τότε είναι υγιή.



Σχ.5. Κάλυψη των μοσχευμάτων με πλαστικό και τοποθέτησή τους σε σκιερό μέρος.

(Πηγή: Cathy Wilkinson Barash. *Roses An illustrated identifier and guide to cultivation*)

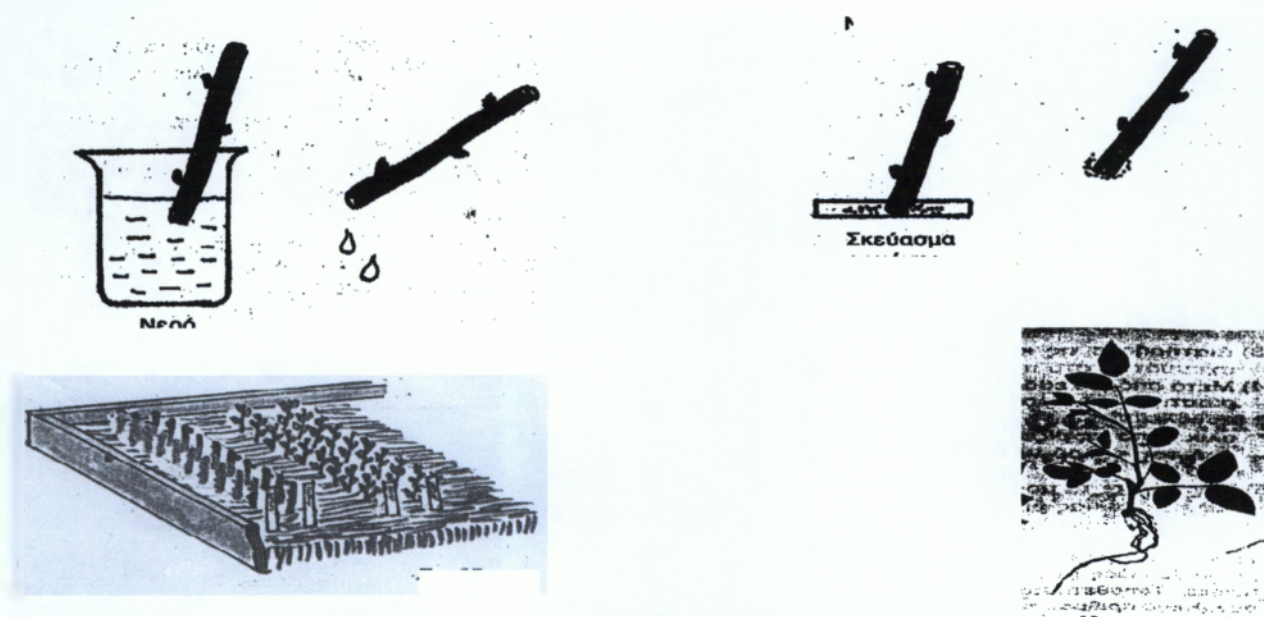
9. Όταν γίνει η ριζοβολία των μοσχευμάτων απομακρύνεται το πλαστικό φύλο που έχει τοποθετηθεί. Έπειτα μεταφυτεύονται σε φυτοδοχεία με ελαφρό έδαφος. Ένα καλό μίγμα εδάφους είναι 3 μέρη αμμοπηλώδους εδάφους και 1 μέρος κοσκινισμένου φυτοχώματος ή τύρφης. Δε χρειάζεται ανόργανη ή οργανική λίπανση.

10. Τα έρριζα μοσχεύματα πρέπει να απομακρύνονται από το εδαφικό υλικό των κιβωτιών με μεγάλη προσοχή, γιατί οι πιο λεπτές τους ρίζες αποσπώνται από το μόσχευμα ή στεγνώνουν. Γι αυτό, εάν είναι απαραίτητο να αφαιρεθεί η άμμος, χύνεται προσεκτικά νερό, το οποίο και την παρασύρει.

11. Τα φυτοδοχεία στα οποία φυτεύθηκαν τα έρριζα μοσχεύματα, τοποθετούνται σε θερμά και υγρά μέρη για 2 –3 περίπου εβδομάδες. Στο διάστημα αυτό το ριζικό σύστημα θα έχει εγκλιματισθεί στο έδαφος των φυτοδοχείων και τα νεαρά φυτά θα μπορούν να μεταφυτευθούν και να αναπτυχθούν εύκολα στο καινούργιο τους περιβάλλον, εκεί δηλαδή που θα φυτευθούν για να μείνουν οριστικά.

12. Ακριβώς την εποχή αυτή μπορεί να αρχίσει και η λίπανση των φυτών.

Τα παρακάτω τρία πρώτα σχήματα δείχνουν τα βήματα τα οποία ακολουθήθηκαν για την ριζοβολία των μοσχευμάτων. Το τέταρτο σχήμα δείχνει μόσχευμα τριανταφυλλιάς μετά την ριζοβολία.



Σχ.6. Στάδια πολλαπλασιασμού τριανταφυλλιάς με μοσχεύματα

(Πηγή: από «Εργαστήριο Ανθοκομίας και Κηποτεχνική» του Κιούση Γ. και Κουτέλλα Ν.)

III. Με εμβολιασμό.

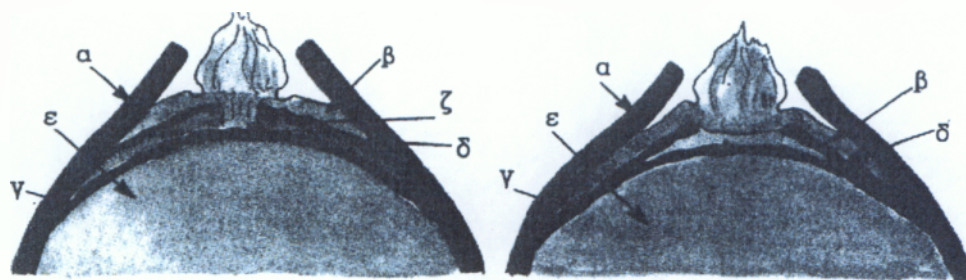
Εμβολιασμός είναι η μεταμόσχευση βλαστικού μέρους ενός φυτού σε βλαστούς ή ρίζες ενός άλλου με σκοπό την ένωση των δύο μερών και την παραγωγή ενός διπλού ατόμου ικανό να αναπτυχθεί σε κανονικό φυτό. Το μέρος που δίνει το πάνω μέρος του νέου φυτού λέγεται «εμβόλιο» ενώ το μέρος που δίνει το ριζικό σύστημα λέγεται «υποκείμενο».

Με εμβολιασμό παράγονται μεγάλα και ρωμαλέα φυτά, που δίνουν αφθονότερη άνθηση, σε σχέση με τα φυτά που προέρχονται από μοσχεύματα.

Με τον εμβολιασμό επιτυγχάνει: 1) διάδοση ποικιλιών ή κλώνων που είναι δύσκολος ή αδύνατος ο πολλαπλασιασμός τους με άλλο αγενή τρόπο, 2) αξιοποίηση ειδικών χαρακτήρων ορισμένων υποκειμένων, 3) αξιοποίηση των ιδιοτήτων του υποκειμένου με διπλό εμβολιασμό και 4) αντικατάσταση ποικιλιών.

Η συνένωση εμβολίου και υποκειμένου γίνεται στα εξής τέσσερα διαδοχικά στάδια:

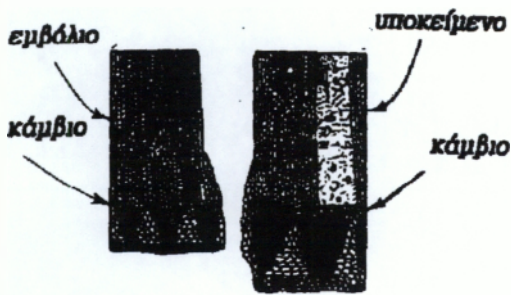
- επαφή ιστών εμβολίου - υποκειμένου.
- παραγωγή παρεγχυματικών κυττάρων και σχηματισμός κάλου.
- σχηματισμός νέων καμβιακών κυττάρων.
- διαφοροποίηση και σχηματισμός συνδετικών αγωγών ιστών μεταξύ εμβολίου και υποκειμένου.



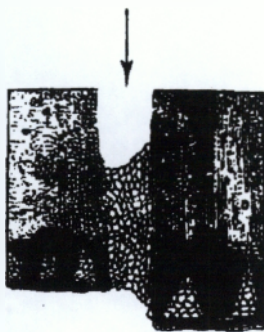
Σχ. 7. Πιθανά σημεία ένωσης των κάμβιων υποκειμένου και εμβολίου με στρώμα ξύλου και χωρίς αυτό: α) φλοιός του υποκειμένου, β) φλοιός του εμβολίου, γ) κάμβιο του υποκειμένου, δ) κάμβιο εμβολίου, ε) ξύλο του υποκειμένου, ζ) ξύλο του εμβολίου.

(Πηγή: Joan Antonio Alvarez. *Οι εμβολιασμοί των καρποφόρων και καλλωπιστικών.*)

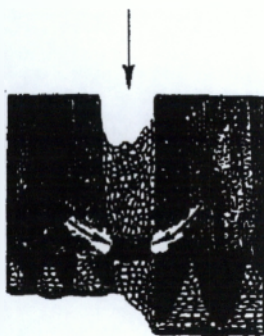
Μεγέθυνση με μικροσκόπιο της περιοχής του κάμβιου κατά τη συγκόλληση



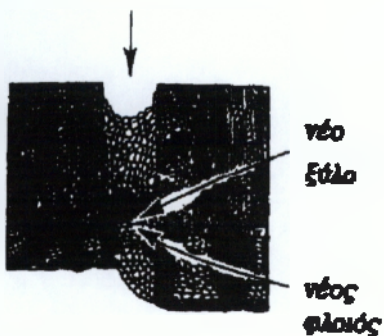
πρώτο στάδιο: παραγωγή κάλου από τα κύτταρα του παρεγχήματος του υποκειμένου και του εμβόλιου στην περιοχή του κάμβιου.



δεύτερο στάδιο: τα κύτταρα του παρεγχήματος αναμειγνύονται.



τρίτο στάδιο: διαφοροποίηση μερικών κυττάρων του παρεγχήματος σε νέα κύτταρα κάμβιου που συνδέονται με το υπάρχον κάμβιο του υποκειμένου και του εμβόλιου.



τέταρτο στάδιο: παραγωγή νέων κυττάρων των αγγείων από το νέο κάμβιο, που επιτρέπουν τη διέλευση των θρεπτικών συστατικών και του νερού μεταξύ υποκειμένου και εμβόλιου.

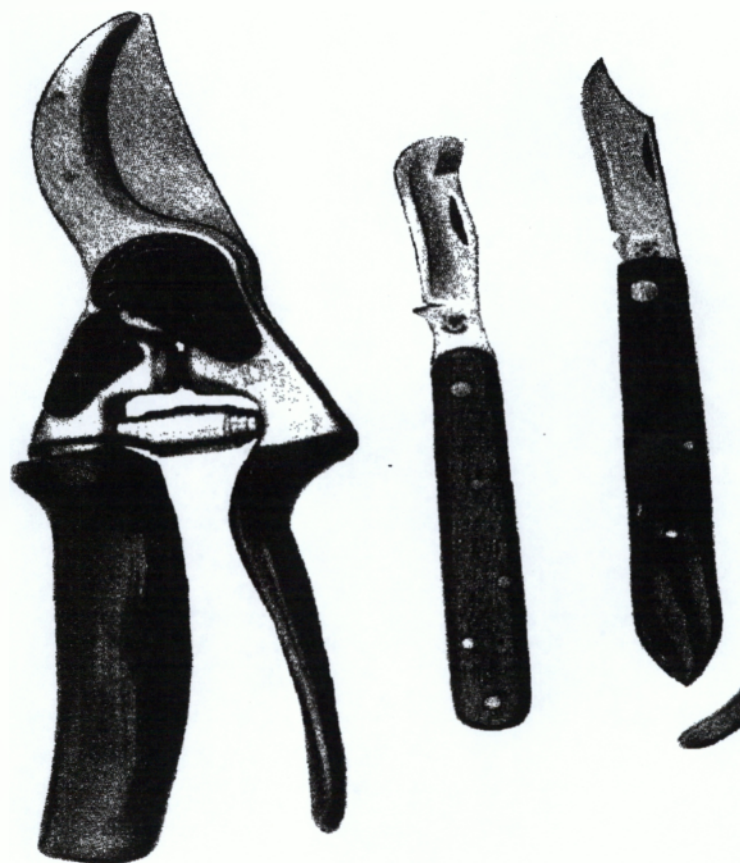
Σχ. 8. Διαγραμματική ανάπτυξη της διαδικασίας συγκόλλησης στο σημείο Εμβολιασμού.

(Πηγή: Joan Antonio Alvarez. Οι εμβολιασμοί των καρποφόρων και καλλωπιστικών.)

Η συνένωση εμβολίου και υποκειμένου επειρεύεται από: 1) την βοτανική συγγένεια η οποία υπάρχει μεταξύ τους 2) το είδος του φυτού, 3) τις συνθήκες του περιβάλλοντος, 4) την καμβιακή δραστηριότητα του υποκειμένου και 5) την επαφή των καμβίων.

Αν ως εμβόλιο χρησιμοποιείται ένα κομμάτι φλοιού με ένα οφθαλμό ο εμβολιασμός λέγεται ενοφθαλμισμός.

Για τον πολλαπλασιασμό της τριανταφυλλιάς χρησιμοποιείται ο ορθός ασπιδωτός ενοφθαλμισμός. Ο ενοφθαλμισμός δεν είναι δύσκολη εργασία αλλά απαιτεί χρόνο, υπομονή, προσεκτική εργασία, επιδέξια δάκτυλα και ένα πολύ κοφτερό εμβολιαστήρι.



Εικ.6. Εμβολιαστήρι και ψαλίδα απαραίτητα για τον εμβολιασμό
(Πηγή: Smillar Caull Patrick M. Synge *The Dictiolarly of Roses in Colour.*)

A. Επιλογή υποκειμένων. Το πρώτο βήμα των πολλαπλασιασμού με ενοφθαλμισμό είναι η επιλογή υποκειμένων.

Υπάρχουν αρκετά άγρια κυρώς είδη, που χρησιμοποιούνται ως υποκείμενα για τον εμβολιασμό της τριανταφυλλιάς:

1. *Rosa bankdiana*
2. *Rosa canina*
3. *Rosa chinensis* ή *Rosa indica major*
4. *Rosa chinensis* "Manetti"
5. *Rosa eglanteria* ή *Rosa rubiginosa*
6. *Rosa laxa*
7. *Rosa polyantha*

Για την χώρα μας όμως συνιστώνται η *Rosa chinensis* και η *Rosa indica major* που είναι ανθεκτικές στα ξηρά και θερμά εδάφη.

Η *Rosa chinensis* "Manetti" είναι πολύ κατάλληλο υποκείμενο για ποικιλίες που χρησιμοποιούνται για φορτσάρισμα.

Η *Rosa canina* συνιστάται για ασβεστώδη και βαθιά πλούσια εδάφη.

Η *Rosa canina* "Pfanders" δεν έχει αγκάθια και διευκολύνεται πολύ η εργασία του εμβολιασμού.

Η *Rosa polyantha* και η *Rosa banksiana* συνιστώνται ως υποκείμενα των αναρριχώμενων ποικιλιών.

Όλα τα ανωτέρα υποκείμενα πολλαπλασιάζονται σχετικά εύκολα με μοσχεύματα η δε *Rosa canina* και η *Rosa canina* "Phanders" συνιστάται να πολλαπλασιάζονται με σπόρο, γιατί τα φυτά που προέρχονται από σπόρο δεν δίνουν παραφυάδες που στην τριανταφυλλιά είναι ανεπιθύμητες.

Για τον πολλαπλασιασμό των υποκειμένων αυτών με μοσχεύματα ή σπόρο, ισχύουν τα ίδια περίπου με αυτά που ήδη ελέχθησαν παραπάνω.

B. Επιλογή υποκειμένων και εμβολιοφόρων βλαστών. Όταν τα υποκείμενα ριζοβολήσουν και εγκατασταθούν καλά στο καινούργιο τους περιβάλλον, είναι έτοιμα να δεχθούν το εμβόλιο.

Ο εμβολιασμός γίνεται τον Μάιο - Ιούνιο με βλαστάνοντα οφθαλμό και το Αύγουστο – Οκτώβριο με κοιμώμενο οφθαλμό.

Υπάρχει και μία τρίτη εποχή εμβολιασμού τέλος Μαρτίου αρχές Απριλίου μόλις αρχίσει η κυκλοφορία των χυμών και ξεκινήσουν τα φυτά. Στη περίπτωση αυτή τα εμβόλια κόβονται κατά τον χειμώνα πριν ξεκινήσουν τα «μάτια» κατά το κλάδεμα, και διατηρούνται σε δροσερή άμμο και μέρος βορεινό ή σε ψυγείο σε θερμοκρασία λίγους βαθμούς πάνω από το 0⁰.

Απαραίτητοι όροι για την επιτυχία του ενοφθαλμισμού είναι τόσο το υποκείμενο όσο και το εμβόλιο να βρίσκονται σε ενεργό αύξηση, δηλαδή το μεν υποκείμενο να βρίσκεται σε σπαργή, να είναι μικρής ηλικίας (μέχρι 3 ετών), να κυκλοφορούν οι χυμοί του και ο φλοιός του να χαράσσεται, να αποσπάται και να ανασηκώνεται εύκολα, ο δε οφθαλμός που θα χρησιμοποιηθεί να είναι καλά αναπτυγμένος και να ληφθεί από εμβολιοφόρο βλαστό ο οποίος να είναι «ζωντανός» (ώστε να έχει το κάμβιο του σε λειτουργία), του οποίου μόλις έχει λήξει η άνθηση και να μην είναι λαίμαργος.

Το υποκείμενο πρέπει να έχει 1 – 1,5 εκατ. πάχος. Εάν είναι λεπτότερο, δεν θα μπορέσει να δεχθεί εύκολα το εμβόλιο, ενώ εάν είναι παχύτερο θα παρουσιάζει δυσκολίες στο «σήκωμα» του φλοιού. Το υποκείμενο και το εμβόλιο θα πρέπει να έχουν την ίδια διάμετρο για την καλύτερη επαφή των καμβίων.

Η θερμοκρασίες μεταξύ 13⁰C – 32⁰C είναι κατάλληλες για να πραγματοποιηθεί ο εμβολιασμός γιατί εμφανίζετε ταχεία αύξηση των ιστών. Πάνω από αυτές τις τιμές, ο κάλος γίνεται μεγάλος, απαλός και συνεπώς ιδιαίτερα ευαίσθητος, η δε συγκόληση δεν είναι πλήρης.

Τα εμβόλια επιλέγονται ως εξής:

Επιλέγονται εμβολιοφόροι βλαστοί από κλωνάρια που έχουν ανθίσει και όχι από λαίμαργα, από εύρωστα και υγιή φυτά απαλαγμένα από χλώρωση, που διαθέτουν

ζωηρούς ώριμους, αλλά κοιμώμενους οφθαλμούς. Οι καλύτεροι οφθαλμοί βρίσκονται στο μεσαίο τμήμα του εμβολιοφόρου βλαστού γιατί οι οφθαλμοί της κορυφής του βλαστού δεν έχουν αναπτυχθεί καλά και βλαστάνουν αργά, ενώ οι οφθαλμοί της βάσης έχουν διαφοροποιηθεί, ανθίζουν νωρίς και δεν δημιουργούν ζωηρά φυτά.

Κατόπιν τυλίγονται σε υγρό ύφασμα ή τοποθετούνται σε δοχεία με νερό ή ακόμα σε υγρά βρύα. Εάν όμως πρόκειται να χρησιμοποιηθούν σε λίγες μέρες, τοποθετούνται (όπως είναι έτσι τυλιγμένοι σε υγρό ύφασμα) στο ψυγείο.

Γ. Προετοιμασία υποκειμένων και εμβόλιο. Έπειτα από την επιλογή των υποκειμένων και των εμβολίων, ακολουθεί η προετοιμασία υποκειμένων και εμβολίων, η οποία περιλαμβάνει τα εξής στάδια εργασίας:

1. Αρδεύονται άφθονα τα υποκείμενα μία εβδομάδα νωρίτερα από τον εμβολιασμό, για να κυκλοφορούν καλύτερα οι χυμοί και να ανασηκώνεται εύκολα ο φλοιός.
2. Απομακρύνεται το έδαφος στο σημείο του λαιμού του υποκειμένου και καθαρίζεται με ένα βουρτσάκι ή ύφασμα, ενώ συγχρόνως εκριζώνονται τυχών αγριόχορτα που υπάρχουν γύρω από τα φυτά καθώς και παραφυάδες που βγήκαν από τους οφθαλμούς που είναι μέσα στο έδαφος.
3. Καθαρίζονται οι εμβολιοφόροι βλαστοί από τα αγκάθια και αφαιρούνται τα φύλλα με κλαδευτικό ψαλίδι, έτσι ώστε να αφήνεται τμήμα μίσχου στο βλαστό, μήκος 10 – 12 χιλιοστά περίπου. Το τμήμα αυτό του μίσχου είναι εντελώς απαραίτητο, γιατί από αυτό θα κρατηθεί ο οφθαλμός, όταν τοποθετηθεί στο υποκείμενο.

Δ. Διαδικασία ενοφθαλμισμού.

1. Με ένα κοφτερό εμβολιαστήρι λίγα εκατοστά πάνω από το έδαφος, γίνεται μία οριζόντια χαραγή στο υποκείμενο 1cm και μία κάθετη 3 cm περίπου, σε σχήμα όρθιο T, από την πλευρά του βορρά, για να σκιάζεται το εμβόλιο, να μη θερμαίνεται και να διατηρείται σε σπαργή (Σχ. 7). Η χαραγή αυτή πρέπει να έχει βάθος τόσο, όσο ακριβώς χρειάζεται για να σχιστεί και να «σηκωθεί» ο φλοιός και όχι

περισσότερο, γιατί δεν πρέπει να πληγωθεί το κάμβιο, ο ιστός αυτός που συνδέει το φλοιό με το ξύλο.



Σχ.9.Στο υποκείμενο δημιουργείται μία χαραγή σε σχήμα T.

(Πηγή: Cathy Wilkinson Barash . *Roses An illustrated identifier and guide to cultivation*)

2. Σηκώνεται ο φλοιός για να δεχθεί το εμβόλιο.

3. Με το ίδιο εμβολιαστήρι, κόβεται ο οφθαλμός με τμήμα φλοιού και λίγο ξύλο (Σχ. 12) για να μην εμποδίζει την επιφάνεια του καμβίου, αρχίζοντας από κάτω προς τα επάνω, έτσι ώστε το κατώτερο σημείο κοπής να απέχει 1 εκατοστό περίπου από τον οφθαλμό και το ανώτερο τμήμα περι τα 2 εκατοστά δηλαδή το εμβόλιο να έχει μήκος 3 εκατοστά περίπου (Σχ. 8).



Σχ.10.Εμβόλιο με έναν οφθαλμό,φλοιό και λίγο ξύλο.

(Πηγή: *Ανθοκηπευτικές καλλιέργειες* Γ. Γιατράκη και Γ.Κέκη)

4. Τοποθετείται το εμβόλιο από πάνω προς τα κάτω, γλιστρώντας το στην τομή του υποκειμένου, ενώ συγχρόνως ανασηκώνομε το φλοιό με το εμβολιαστήρι (Σχ.9).



Σχ.11. Τοποθέτηση εμβολίου στο υποκειμενο.

(Πηγή: Cathy Wilkinson Barash. *Roses An illustrated identifier and guide to cultivation*)

5. Μόλις το εμβόλιο εισχωρήσει στη σχισμή, πιέζεται ο φλοιός στο άνω σημείο της οριζόντιας τομής του T και κατόπιν δένεται με υγρή «ράφια». Το δέσιμο τη ράφιας πρέπει να καλύψει όλη την τομή και να γίνει κοντά στον οφθαλμό από το πάνω και κάτω μέρος του οφθαλμού χωρίς όμως να τον σκεπάσει. Τυλίγετε 3 –4 φορές η ράφια και στο τέλος γίνετε ένα απλό δέσιμο. Υπάρχουν και άλλα υλικά δεσίματος εμβολίου, όπως π.χ. ειδικά καλύμματα από πλαστικό (Σχ.10).

Δεν πρέπει να χρησιμοποιείται μαστίχα.



Σχ.12. Δέσιμο εμβολίου με υγρή «ράφια».

(Πηγή: Cathy Wilkinson Barash. *Roses An illustrated identifier and guide to cultivation*)

6. Σε 2 – 3 εβδομάδες ελέγχουμε εάν «έπιασε» το εμβόλιο. Αυτό φαίνεται εάν ο οφθαλμός διατηρεί το χρώμα και τη σπαργή του και εάν ο μίσχος είναι πράσινος και με ένα από άγγιγμα πέφτει. Εάν ο οφθαλμός είναι μαύρος και συρρικνωμένος και ο μίσχος του είναι ξηρός και δεν πέφτει με το άγγιγμα του δακτύλου, σημαίνει ότι δεν «έπιασε»το εμβόλιο και μπορεί να γίνει καινούργιος εμβολιασμός από την αντίθετη πλευρά του υποκειμένου.

Για να μπορεί να αναπτυχθεί το μάτι που έχει πιάσει πρέπει να κοπεί ο κορμός του υποκειμένου 2 – 3 εκατοστά πάνω από το σημείο εμβολιασμού.



Σχ.14. Στάδια ενοφθαλμισμού εμβολιασμού.

(Πηγή: *Ανθοκηπευτικές καλλιέργειες* Γ. Γιατράκη και Γ.Κέκη)

IV. Καταβολάδες.

Αυτός ο τρόπος δεν χρησιμοποιείται από επαγγελματίες φυτωριόχους παραγωγούς, παρά μόνο σε περίπτωση που μία ποικιλία δεν πολλαπλασιάζεται με άλλον τρόπο.

Τα βήματα που ακολουθούνται είναι:

Ένα κλαδί λυγίζεται και τοποθετείται μέσα στο έδαφος. Παραμένει στο έδαφος ως ότου βγάλει ρίζες δικές του. Το χρονικό διάστημα αυτό τρέφεται από το μητρικό φυτό. Όταν βγάλει ρίζες αποκόπτετε από το μητρικό φυτό και μεταφυτεύετε σε άλλο σημείο ή φυτοδοχείο. (Σχ. 12, 13, 14,15).



Σχ. 12. Εντοπισμός και επιλογή κατάλληλου βλαστού για καταβολάδα.



Σχ. 13. Άνοιγμα λάκκου.



Σχ. 14. Λύγισμα κλαδιού και τοποθέτηση στο έδαφος



Σχ. 15. Αποκοπή του νέου φυτού από το από το μητρικό.

(Πηγή: Cathy Wilkinson Barash. *Roses An illustrated identifier and guide to cultivation*)

V. In vitro πολλαπλασιασμός (ιστοκαλλιέργεια)

Ιστοκαλλιέργεια είναι η απομόνωση, καλλιέργεια και ανάπτυξη φυτικών ιστών, κυττάρων ή οργάνων σε θρεπτικό μέσο, κάτω από ασηπτικές και ελεγχόμενες συνθήκες φωτισμού, θερμοκρασίας, υγρασίας κ.λ.π.

Η ιδιότητα των μεμονωμένων κυττάρων να παράγουν τέλεια φυτά καλείται «ολοδυναμία» ή «ικανότητα αναπαραγωγής».

Τα φυτικά τμήματα τα οποία χρησιμοποιούνται για την *in vitro* διαδικασία καλούνται έκφυτα.

Η ανάπτυξη και συμπεριφορά της καλλιέργειας εκφύτων περνά από τις ακόλουθες φάσεις:

1. Φάση εδραίωσης ή εγκληματισμού ή προσαρμογής των εκφύτων.

Καλείται η φάση εισόδου των κυττάρων στην διαδικασία αναγέννησης.

Περιλαμβάνει τις πρώτες ημέρες και είναι η πιο κρίσιμη περίοδος γιατί τα κύτταρα των εκφύτων υφίστανται το shock από της αλλαγή του περιβάλλοντος.

Η περίοδος της προσαρμογής μπορεί να είναι λίγες ώρες μέχρι και μερικές εβδομάδες.

2. Φάση αποπροσδιορισμού και πολλαπλασιασμού των κυττάρων.

Από την στιγμή που το έκφυτο αποδεχθεί το περιβάλλον της *in vitro* καλλιέργειας τότε ένα μέρος από τα περιφερειακά κύτταρα δέχονται τα ερεθίσματα του θρεπτικού υποστρώματος, ανταποκρίνονται και αποπροσδιορίζονται, δηλαδή χάνουν τον αρχικό ρόλο που είχαν.

3. Φάση μορφογενετικής έκφρασης. Από την στιγμή που τα κύτταρα αποπροσδιοριστούν με την επίδραση των ερεθισμάτων που προσλαμβάνουν

από τα συστατικά του θρεπτικού μέσου είτε από τις συνθήκες του περιβάλλοντος αποκτούν νέο ρόλο που είναι αποτέλεσμα του νέου

προσδιορισμού τους. Αυτή η διαφοροποίηση των κυττάρων εκφράζεται προς τα έξω με τις μορφογενετικές αλλαγές.

Τα παραπάνω συνοψίζονται ως εξής:

Προσδιορισμένα κύτταρα – από-προσδιορισμένα κύτταρα –

επαναπροσδιορισμένα κύτταρα – διαφοροποιημένα κύτταρα - μορφογένεση.

4. Φάση αναπαραγωγής. Στη φάση αυτή πραγματοποιείται ο σχηματισμός φυτικών οργάνων, δηλαδή η οργανογένεση.

5. Φάση διαχωρισμού και ανάπτυξης των νεαρών φυτών.

Για την εξέλιξη περισσότερων οφθαλμών σε βλαστούς ή σωματικών εμβρίων σε φυτά επιβάλλεται η απομάκρυνση των ήδη αναπτυγμένων βλαστών από τα έκφυτα και η καλλιέργεια τους σε φρέσκα θρεπτικά υποστρώματα.

6. Φάση σκληραγώγησης των νεαρών φυτών. Όταν τα νεαρά φυτά αποκτήσουν ικανοποιητικό αριθμό ριζών και ανάλογο ύψος μεταφυτεύονται σε εδαφικό μίγμα ή οργανική κομπόστα ώστε να εγκλιματιστούν σε συνθήκες φυσικού περιβάλλοντος. Κατά την έξοδο τους από τα δοχεία της *in vitro* καλλιέργειας καθαρίζονται καλά οι ρίζες στους από στο ζελοποιημένο άγαρ, ώστε όταν το ριζικό σύστημα εισαχθεί στο εδαφικό μείγμα να μην υπάρχουν υπολείμματά του γιατί το άγαρ αποτελεί άριστη τροφή για τους παθογόνους και σαπροφυτικούς οργανισμούς.

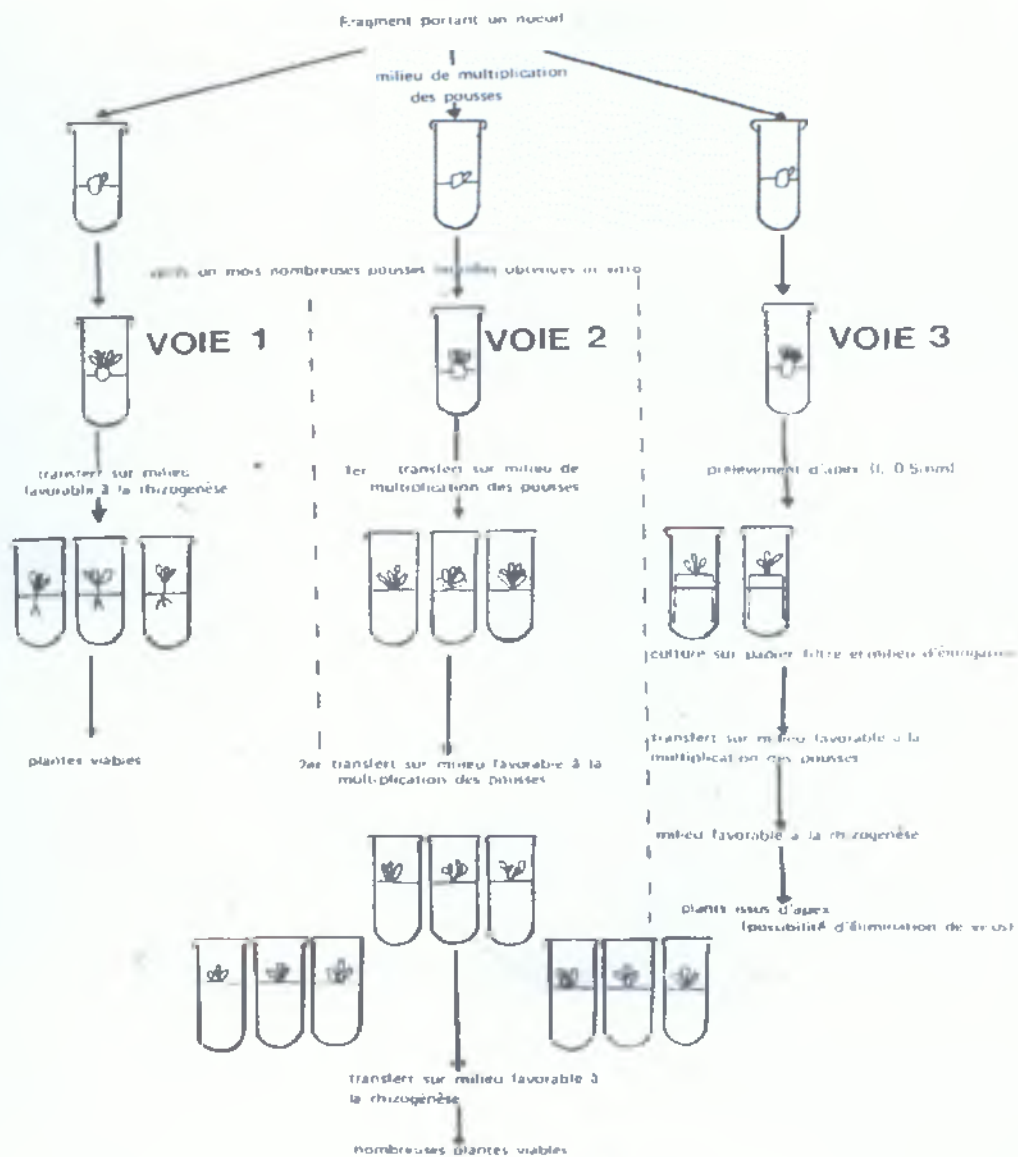
7. Καλλιέργεια φυτών στο φυσικό περιβάλλον. Όταν τα φυτά ολοκληρώσουν την διαδικασία σκληραγώγησης και σχηματίσουν αρκετές ρίζες, που να μπορούν να ικανοποιούν τις ανάγκες του υπέργειου τμήματος σε νερό και ανόργανα θρεπτικά στοιχεία, μεταφέρονται στην οριστική τους θέση.

Στο σχεδιάγραμμα που ακολουθεί απεικονίζονται 3 μέθοδοι και τα στάδια από τα οποία περνά μία καλλιέργεια *in vitro* από την στιγμή της εμφύτευσης μέχρι τη παραγωγή τέλειου φυτού.

Στην πρώτη περίπτωση το έκφυτο τοποθετείτε σε θρεπτικό υπόστρωμα κατάλληλο για αναγένεση βλαστών και στη συνέχεια ριζογένεση αυτών.

Στην δεύτερη περίπτωση προκαλείτε με το κατάλληλα θρεπτικό υπόστρωμα ανάπτυξη βλαστών, αναπολλαπλασιασμό αυτών, ανάπτυξη ριζών και τέλος μεταφορά των φυτών στο φυσικό περιβάλλον.

Στην τρίτη περίπτωση το ακραίο μερίστωμα τοποθετείται σε υπόστρωμα κατάλληλο για την ανάπτυξη του, στη συνέχεια προκαλείτε βλαστογένεση, ριζογένεση και τέλος προσαρμογή στο φυσικό περιβάλλον.



Σχ. 16. Πολλαπλασιασμός της τριανταφυλλιάς *in vitro*.

(Πηγή: Avramis T., Hugard J., Jonard R. *La multiplication in vitro du Rosier porte-greffe Rosa indica major.*)

ΜΕΡΟΣ Γ΄ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ-ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΕΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

I. Γενικά.

α. Πλεονεκτήματα –Μειονεκτήματα των καλλιεργειών *in vitro*

Τα πλεονεκτήματα της ιστοκαλλιέργειας έναντι των συμβατικών μεθόδων πολλαπλασιασμού των φυτών είναι:

1. Η παραγωγή φυτών σε σύντομο χρονικό διάστημα,
2. Η παραγωγή γενετικά όμοιων απογόνων φυτών με το μητρικό,
3. Η εξοικονόμηση χώρου
4. Η παραγωγή άνοσου φυτικού υλικού,
5. Η παραγωγή φυτών οποιαδήποτε χρονική στιγμή ανεξάρτητα από την εποχή και τις περιβαλλοντικές συνθήκες,
6. Η διατήρηση φυτικών ειδών σε τράπεζες γενετικού υλικού.

Τα μειονεκτήματα της ιστοκαλλιέργειας είναι:

1. Το μεγάλο κόστος των εγκαταστάσεων,
2. Ο πολυδάπανος εξοπλισμός,
3. Απαίτηση εξειδικευμένου προσωπικού,
4. Οι μολύνσεις από μύκητες και βακτήρια σε διάφορα στάδια της καλλιέργειας,
5. Ποικιλιακή αστάθεια των καλλιεργειών λόγω της γενετικής παραλακτικότητας στην καλλιέργεια του κάλου,
6. Η υπερυδρωτική παραμόρφωση λόγω των ειδικών συνθηκών της καλλιέργειας,
7. Η χαμηλή βιωσιμότητα των παραχθέντων φυτών λόγω δυσκολίας εγκλιματισμού των φυτών στο φυσικό περιβάλλον.

β. Θρεπτικά μέσα

Τα στοιχεία τα οποία χρειάζονται τα έκφυτα για να αναπτυχθούν τα λαμβάνουν από το θρεπτικό υπόστρωμα με την μορφή ανόργανων αλάτων. Σήμερα χρησιμοποιούνται έτοιμα παρασκευασμένα γνωστά θρεπτικά υποστρώματα (MS). Το υδρογόνο και οξυγόνο το λαμβάνουν με την μορφή του νερού. Ο άνθρακας, τον οποίο επίσης χρειάζονται, τους προσφέρεται ως σάκχαρο.

γ. Φυτορρυθμιστικές ουσίες.

Ρυθμιστές της αύξησης και αναπτύξης των φυτών στα *in vitro* συστήματα είναι οργανικές ενώσεις που επηρεάζουν την κυτταρική διαίρεση και μορφογένεση, και ρυθμίζουν την κατανομή των οργανικών ενώσεων τις οποίες βιοσυνθέτει το φυτό. Οι φυσικοί ρυθμιστές των φυτών είναι οι ορμόνες. Οι ορμόνες συντίθενται σε πολύ μικρές ποσότητες αλλά είναι πολύ ενεργές και συνήθων δρουν σε πολύ μικρές ποσότητες αλλά είναι πολύ ενεργές.

Οι πιο σημαντικοί ρυθμιστές είναι οι αυξίνες και οι κυτοκινίνες, ενώ λιγότερο χρησιμοποιούνται οι γιββερρελλίνες και το αιθυλένιο.

Οι κυριότερες αυξίνες, σε σειρά αυξανόμενης δραστηριότητας, είναι το ινδολυλοξικό οξύ (IAA, indole-3-acetic acid), το ινδολυλοβουτυρικό οξύ (IBA, indole-3-butyric acid), το ναφθαλινοξικό οξύ (NAA, α -naphthaleneacetic acid) και το 2,4- διχλωροφαινοξυοξικό οξύ (2,4-D, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid). Από αυτά, φυσική αυξίνη είναι το IAA το οποίο είναι η λιγότερο δραστική αυξίνη και προστίθεται στα θρεπτικά διαλύματα συνήθως σε συγκεντρώσεις 0.01-10 mg/l. Οι συνθετικές αυξίνες (IBA, NAA, 2,4-D) είναι πιο δραστικές και χρησιμοποιούνται σε συγκεντρώσεις 0,001-10 mg/l.

Οι κυριότερες κυτοκινίνες είναι κινητίνη ή βενζυλαδενίνη (BA, benzyadenine ή benzylaminopurine), η ζεατίνη και PBA [6-(benzylamino)-9-(2-tetrahydropyranyl)-9H-pyridine]. Υπάρχουν τόσο φυσικές όσο και συνθετικές. Οι κυτοκινίνες προάγουν την κυτταρική διαίρεση, ιδιαίτερα σε μικρές συγκεντρώσεις και σε συνδυασμό με

τις αυξίνες ενώ σε λίγο μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (1-10 mg/l) προκαλούν το σχηματισμό τυχαίων βλαστών και αναστέλλουν το σχηματισμό ριζών. Επίσης προάγουν τη ανάπτυξη των μασχαλιαίων βλαστών αναστέλλοντας την κυριαρχία της κορυφής και καθυστερούν τη γήρανση.

Η περίπου αντίθετη δράση των αυξινών και των κυτοκινίνων έχει τεράστια σημασία για τα συστήματα μικροπολλαπλασιασμού γιατί παρέχουν ένα αποτελεσματικό μέσο στη διάθεση των ερευνητών και των παραγωγών πολλαπλασιαστικού υλικού να ρυθμίζουν κατά βούληση την επαγωγή της μορφογένεσης, δηλαδή να κατευθύνουν το σχηματισμό βλαστών ή ριζών ή κάλων ή εμβρύων. Γι αυτό οι *in vitro* καλλιέργειες είναι σχεδόν αδύνατες χωρίς τους ρυθμιστές. Οι απαιτήσεις όμως των διαφορών φυτών σε ρυθμιστές είναι κατά πολύ διαφορετικές διότι υπάρχουν είδη που παράγουν από μόνα τους επαρκείς ποσότητες αυξίνης ή κυτοκινίνης και δε χρειάζονται επιπλέον ποσά. Έτσι ανάλογα με τις απαιτήσεις του σε ρυθμιστές οι *in vitro* καλλιέργειες διακρίνονται σε αυτές που δε χρειάζονται ούτε αυξίνες ούτε κυτοκινίνες, σε άλλες που χρειάζονται μόνο αυξίνη ή μόνο κυτοκινίνη και σε αυτές που χρειάζονται και τα δύο είδη ορμονών. Έχει δειχθεί ότι εκείνο το οποίο έχει μεγαλύτερη σημασία είναι η σχετική αναλογία των ορμονών παρά η ακριβή ποσότητά τους.

δ. Απαραίτητοι χώροι- όργανα – συσκευές.

Οι εγκαταστάσεις οι οποίες χρειάζονται για την πραγματοποίηση της μεθόδου αυτής καθώς και τα όργανα και συσκευές που είναι απαραίτητα είναι:

1. Περιοχή προετοιμασίας των εκφύτων, η οποία αποτελεί τον χώρο καθαρισμού και αποστείρωσης των θρεπτικών μέσων και χώρο αποθήκευσης των υλικών.
2. Κλίβανος ή φούρνος στον οποίο γίνεται η αποστείρωση των υλικών και των θρεπτικών μέσων.
3. Τράπεζα νηματικής ροής αέρα. Είναι πάγκος εργασίας κλειστός από όλες τις πλευρές εκτός από μία και από την πίσω πλευρά του οποίου διοχετεύεται φιλτραρισμένος και αποστειρωμένος αέρας, που παρασύρει προς τα έξω τα

σπόρια των μυκήτων και τους λοιπούς μικροοργανισμούς. Διαθέτει μικροβιοστατικά φίλτρα που αποστειρώνουν τον αέρα που διέρχεται από αυτά και αφετέρου αποστειρώνουν και τον εναέριο χώρο που περικλείεται από τα τοιχώματά της (Εικ.6).



Εικ.7.Εργασία σε απαγωγό νηματικής ροής.

4. Θάλαμος επώασης των εκφύτων τα οποία έχουν τοποθετηθεί στο θρεπτικό μέσο για να μεγαλώσουν κάτω από τις απαιτούμενες ειδικές συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας.
5. Θάλαμος σκληραγώγησης στον οποίο μεταφέρονται τα φυτά προκειμένου να προσαρμοστούν στο φυσικό περιβάλλον.
6. Ζυγοί ακριβείας, συσκευές απιονισμού και απόσταξης του νερού, πεχάμετρα, στερεοσκόπιο,
7. Ηλεκτρονικός ζυγός, για τις απαιτούμενες ποσότητες των θρεπτικών στοιχείων και των ρυθμιστών αύξησης, που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των θρεπτικών διαλυμάτων.
8. Ογκομετρικοί κύλινδροι, ποτήρια ζέσεως, κωνικές φιάλες και διάφορα άλλα εργαστηριακά όργανα διαφόρων μεγεθών και χωρητικότητας.
9. Πechάμετρο για την μέτρηση του pH του θρεπτικού διαλύματος. Για την ρύθμιση του στο επιθυμητό επίπεδο, χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια όπως το NaOH για την άνοδο της τιμής του pH και το HCl για την πτώση του.

10. Κλίβανος υγρής αποστείρωσης (autoclave), για την αποστείρωση των υλικών, των εργαλείων και του θρεπτικού υποστρώματος που χρησιμοποιούνται στην καλλιέργεια.

11. Διάφορα εργαλεία όπως νυστέρια, λαβίδες κ.λ.π.

II. Υλικά και μεθοδοι

α. Θρεπτικά υποστρώματα

Ως βασικό υπόστρωμα στο πείραμα χρησιμοποιήθηκε το MS με την σύσταση η οποία φαίνεται στους πίνακες I και II αλλά με διαφορετικές ποσότητες και συνδυασμούς κυτοκινίνων, αυξινών και γιββερελλίνων.

ΠΙΝΑΚΑΣ I. Ποσότητες μακροστοιχείων σε mg/l

συστατικά	Murashige & Skoog (1962)
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370
NH ₄ NO ₃	1.650
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440
KNO ₃	1.900
NH ₄ NO ₃	1.650

ΠΙΝΑΚΑΣ II. Ποσότητες μικροστοιχείων σε mg/l

Συστατικά	Myrashige & Skoog (1962)
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,85
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3
Na ₂ ·EDTA	37,25
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ ·CH ₂ O	0,025
KJ	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,025

Οι ρυθμιστές της αύξησης, επειδή δρουν σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις χρησιμοποιούνται σε πολύ μικρές ποσότητες για τον λόγο αυτόν παρασκευάζεται πυκνό διάλυμα σε προκαθορισμένες αναλογίες, και στη συνέχεια χρησιμοποιούνται ανάλογα ποσά.

Για την Παρασκευή ενός λίτρου διαλύματος χρησιμοποιήθηκαν:

1. Απιονισμένο νερό.
2. Σκόνη εμπορικού σκευάσματος MS.
3. Sucrose (ζάχαρη)
4. myo-inositol
5. Φυτομόνες (BAP, NAA, IAA)
6. Αντιδραστήρια (NaOH, HCL)
7. Άγαρ

Τα βήματα που ακολουθήθηκαν για την παρασκευή ενός λίτρου θρεπτικού υποστρώματος είναι:

Σε 800 cc απιονισμένο νερό διαλύθηκαν με ανάδευση 4,708 g σκόνης MS. Όταν αυτό διαλύθηκε εντελώς προστέθηκε η ζάχαρη και συνεχίστηκε η ανάδευση, οπότε προστέθηκαν και τα 100 mg της μυο-ινοσιτόλης. Ακολούθησε η προσθήκη των ρυθμιστών της αύξησης και συμπληρώθηκε το διάλυμα στα 1000 cc με απιονισμένο νερό. Έγινε διόρθωση του pH στο 5,7 με τη χρήση μερικών σταγόνων διαλύματος NaOH ή HCl. Ακολούθησε η διανομή του θρεπτικού διαλύματος σε φιάλες του ενός λίτρου (για ένα λίτρο θρεπτικού υποστρώματος χρησιμοποιούνται δύο φιάλες του ενός λίτρου). Στη συνέχεια έγινε η προσθήκη του ζελοποιητή. Ανακινήθηκαν οι φιάλες πολύ καλά και τοποθετούνταν σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης. Ο κλίβανος υγρής αποστείρωσης λειτουργούσε υπό πίεση 2 atm και η θερμοκρασία έφθανε στους 120⁰C όπου παρέμενε για 18-20 λεπτά της ώρας.

Μετά την λήξη λειτουργίας του αυτόκαστου το διάλυμα τοποθετήθηκε στο υδατόλουτρο στους 55⁰C για 15 min, και στη συνέχεια μοιράστηκε, κάτω από

ασηπτικές συνθήκες στην τράπεζα νηματικής ροής αέρα σε τρυβλία, σε δοκιμαστικούς σωλήνες, ή σε κωνικές φιάλες.

Πριν από κάθε χρήση η τράπεζα νηματικής ροής αέρα καθαριζόταν και απολυμαινόταν με αιθανόλη και ταυτόχρονα ετίθετο σε λειτουργία ο θάλαμος. Μετά από 20 min λειτουργίας του θαλάμου, αυτός ήταν έτοιμος για την διαδικασία της εμφύτευσης των εκφύτων υποδοχείς που περιείχαν το θρεπτικό υπόστρωμα.

β. Φυτικό υλικό

Μεριστώματα τριανταφυλλιάς μήκος 0,5mm περίπου με δυο-τρεις καταβολές φύλλων, καλλιεργήθηκαν σε ασηπτικές συνθήκες, σε βασικό θρεπτικό υπόστρωμα MS με σαχαρόζη και σταθεροποιητή, και επίσης με διάφορους τύπους και συγκεντρώσεις ρυθμιστών της αύξησης.

Για την λήψη των εκφύτων χρησιμοποιήθηκαν εύρωστοι υγιείς, τρέχοντος ή προηγούμενου έτους βλαστοί τριανταφυλλιάς των ποικιλιών, *Clamis Castle*, *Red Star*, *Crystal Palace*, *Jazz* και *White Cover*. Η αποκοπή τους από τα μητρικά φυτά έγινε σταδιακά κατά το χρονικό διάστημα 10-01-03 μέχρι 20-01-03.

Αρχικά κόβονταν τα φύλλα των βλαστών αυτών προσεχτικά για να μην πληγωθούν ή καταστραφούν οι μασχαλιαίοι ή οι επάκριοι οφθαλμοί (κύριοι οφθαλμοί), που μας ενδιέφεραν περισσότερο για την περαιτέρω διαδικασία. Στη συνέχεια μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο, όπου και έγινε η κοπή των βλαστών, σε τμήματα με ένα τουλάχιστο οφθαλμό, για την εργαστηριακή πλέον απολύμανση. Τα τεμάχια αυτά αρχικά πλένονταν με άφθονο νερό βρύσης με σκοπό την απομάκρυνση των ξένων υλών και έπειτα απολυμαινόνταν για 10 λεπτά της ώρας με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 0,5-1% (διάλυμα κοινής χλωρίνης 10%) και μεταφέρονταν στην τράπεζα νηματικής ροής του αέρα. Έχει μεγάλη σημασία να τηρηθούν σωστά οι κανόνες απολύμανσης γιατί διαφορετικά η καλλιέργεια θα αποτύχει και το αποτέλεσμα της αποτυχίας φαίνεται πολύ νωρίς από τις πρώτες ημέρες είτε με τη μορφή μολύνσεων επί

των έκφυτων (δημιουργία μυκηλίου μύκητα) είτε με τον θάνατο των εκφύτων, λόγω της υπερβολικής έκθεσής τους στο απολυματικό.

Μετά το πέρασμα του χρονικού διαστήματος των 10 λεπτών τα τεμάχια ξεπλένονταν δύο φορές σε αποστειρωμένο νερό. Αυτό, γιατί τα υπολείμματα χλωρίου προκαλούν νεκρώσεις στους φυτικούς ιστούς. Στη συνέχεια κάθε τεμάχιο μεταφερόταν στο στερεοσκόπιο σε μεγέθυνση 10-50X, όπου γινόταν η εξαγωγή του μεριστώματος.

Αρχικά γινόταν αποκοπή του οφθαλμού από το τεμάχιο και στη συνέχεια με την βοήθεια μιας λαβίδας και ενός νυστεριού τα οποία απολυμαίνονταν συνέχεια αφαιρούνταν τα στοιχειώδη φυλλίδια ώσπου να διακριθούν τα νεαρότατα και κοντά στο μερίστωμα φυλλάρια και στη συνέχεια αυτό το μικρότατο έκφυτο, το μερίστωμα με δύο –τρεις καταβολές φύλλων (μεγέθους 0,4mm - 1mm περίπου) μεταφερόταν σε τρυβλία διαμέτρου 100mm και ύψος 10mm, τα οποία περιείχαν 20ml περίπου θρεπτικού υποστρώματος.

Σε κάθε τρυβλίο τοποθετούνταν 4-5 μεριστώματα, κλείνονταν με ημιπερατή ταινία parafilm M, αναγράφονταν σε αυτό διάφορα χρήσιμα στοιχεία και μεταφέρονταν σε θάλαμο ρυθμιζόμενων συνθηκών για την περαιτέρω ανάπτυξή τους.

Σε όλες αυτές τις διαδικασίες λαμβάνονταν μέτρα για την απολύμανση των εργαλείων (καύση σε καμινέτο) και των χεριών με αιθυλική αλκοόλη.

Τα έκφυτα στον θάλαμο επωάζονταν σε σταθερές συνθήκες καλλιέργειας, με θερμοκρασία ημέρας 25⁰C και νύχτας 18⁰C, ένταση φωτισμού 3000-4500 lux και σχετική υγρασία θαλάμου 55-60%.

Καθημερινά γινόταν έλεγχος του φυτικού υλικού και καταγραφή των διαφόρων στοιχείων καθώς και απόρριψη του μολυσμένου υλικού. Οι μολύνσεις εμφανίζονται συχνά γιατί το θρεπτικό υπόστρωμα αποτελούσε άριστο περιβάλλον για την ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό των διαφόρων μικροοργανισμών. Σε σύντομο χρονικό διάστημα αυτοί γίνονταν ορατοί και με γυμνό μάτι. Ανιχνεύονται α) μυκητολογικές μολύνσεις οι οποίες εμφανίζονταν

σε σύντομο χρονικό διάστημα και β) βακτηριολογικές προσβολές οι οποίες μπορεί να παρουσιάζονταν και πολύ αργότερα μέχρι και δύο μήνες μετά την εμφύτευση των εκφύτων.

Η εναλλαγή των καλλιεργειών σε περιέκτες με νέο θρεπτικό υπόστρωμα (υποκαλλιέργεια) γίνεται κάθε 3-4 εβδομάδες και σπάνια κάθε δύο εβδομάδες, ανάλογα με την πορεία της καλλιέργειας.

Αρχικά έγινε εμφύτευση των μεριστωματικών έκφυτων, τα οποία είχαν καλλιεργηθεί για 3 εβδομάδες τουλάχιστον, σε έξι διαφορετικά θρεπτικά υποστρώματα τα οποία είχαν διαφορά ως προς την συγκέντρωση και ως προς το είδος των ρυθμιστών ανάπτυξης.

Έτσι το θρεπτικό υπόστρωμα MS εμπλουτίστηκε με 4(w/v) % ζάχαρη 100 mg/l μυο-ινισιτόλη και 0,4(w/v) % agar. Το υπόστρωμα αυτό καλείται στο εξής βασικό θρεπτικό υπόστρωμα MS ή βασικό υπόστρωμα A.

Ανάλογα με τη συγκέντρωση των αυξητικών παραγόντων που περιείχε το παραπάνω βασικό υπόστρωμα A διακρίθηκε ως εξής:

- 1.Βασικό υπόστρωμα A+0,1mg/l BAP (A1)
- 2.Βασικό υπόστρωμα A+ 1mg/l BAP (A2).
- 3.Βασικό υπόστρωμα A+2 mg/l BAP (A3)
- 4.Βασικό υπόστρωμα A+ 0,5 mg/l BAP +0,05 mg/l NAA (A4).
- 5.Βασικό υπόστρωμα A+ 10 mg/l BAP (A5).
- 6.Βασικό υπόστρωμα A +1 mg/l BAP + 0,1mg/l GA₃ (A6).

Μετά από κάποιο χρονικό διάστημα κατά το οποίο είχε γίνει η *in vitro* αναγένεση επίκτητων μεριστωμάτων, έκφυτα μεγέθους 4 – 6 mm περίπου, τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα A1, A2, A3 και A6 με σκοπό να μετρηθεί ο αριθμός αναγένεσης επίκτητων οφθαλμών και η εξέλιξή τους σε βλαστούς.

Στη συνέχεια μετά την απόκτηση βλαστών ικανοποιητικού μήκους έγινε κοπή αυτών και μεταφορά τους σε υπόστρωμα με διαφορετική συγκέντρωση ως προς τους ρυθμιστές ανάπτυξης, το είδος και τον συνδυασμό αυτών, με σκοπό να ριζοβολήσουν.

Τα υποστρώματα αυτά ήταν:

1. Βασικό υπόστρωμα A + 0,1 mg/l NAA (M1)
2. Βασικό υπόστρωμα A + 0,1mg/l NAA + 0,01mg/l GA₃ (M2)
3. Βασικό υπόστρωμα A+ 1mg/l NAA (M3)
4. Βασικό υπόστρωμα A+ 1mg/l NAA + 0,1mg/l GA₃ (M4)
5. Βασικό υπόστρωμα + 1mg/l IAA (M5)

Όταν οι βλαστοί απόκτησαν ριζικό σύστημα και αποκτήθηκαν τέλεια φυτά, αυτά μεταφέρθηκαν από τα δοχεία καλλιέργειας τους στον θάλαμο σκληραγώγησης σε εδαφικό μείγμα από τύρφη, κομπόστα και περλίτη αναλογίας 1:1:3 και στη συνέχεια στο φυσικό περιβάλλον.

Οι χειρισμοί για το πέρασμα του έκφυτου από το δοχείο καλλιέργειας στο εδαφικό μίγμα παίζουν μεγάλο ρόλο για την επιβίωση των φυταρίων.

Ο προσεκτικός και επιμελής καθαρισμός του φυτού και ιδιαίτερα των ριζών από το υπόστρωμα είναι απαραίτητη διαδικασία γιατί η πηγή άνθρακα και το ζελατοποιημένο άγαρ του υποστρώματος αποτελούν άριστη τροφή για τους σαπροφυτικούς μικροοργανισμούς.

Οι ρίζες που σχηματίζονταν *in vitro* και οι οποίες καταστρέφονται αργότερα βοηθούν το φυτό στην θρέψη τις πρώτες ημέρες μετά τη μεταφύτευσή του στο έδαφος ή την κομπόστα. Στο νέο περιβάλλον η υγρασία και θερμοκρασία του θαλάμου μειώνονταν σταδιακά κάθε 6-7 εβδομάδες, ως ότου έφθαναν στις συνθήκες του περιβάλλοντος. Έτσι επιτυγχάνονταν ο εγκλιματισμός τους.

III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

α. Επίκτητη οφθαλμογένεση

Μετά την πάροδο του απαιτούμενου χρονικού διαστήματος ακολούθησε η συγκριτική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Έτσι σε πρώτο στάδιο ελήφθησαν, από το ήδη *in vitro* φυτικό υλικό, μεριστωματικά έκφυτα τα οποία είχαν καλλιεργηθεί 3 εβδομάδες περίπου, των πέντε ποικιλιών τριανταφυλλιάς και έγιναν μετρήσεις στον αριθμό των παραχθέντων νέων οφθαλμών.

Οι μετρήσεις ελήφθησαν από καλλιέργειες ηλικίας 3 εβδομάδων με τη βοήθεια στερεοσκοπίου. Ο αριθμός των εκφύτων στο θρεπτικό υπόστρωμα A1, A2, A3, A4, A5 ήταν 20 και στο A6 ήταν 10.

Τα αποτελέσματα της επίκτητης οφθαλμογένεσης παρουσιάζονται στο Ιστόγραμμα 1. Διαπιστώθηκαν τα παρακάτω:

Καλύτερα αποτελέσματα παρουσίασε η συγκέντρωση των 0,5 mg/l BAP +0,05 mg/l NAA και για τις πέντε ποικιλίες με μέσο όρο οφθαλμών ανά έκφυτο:

α) Η ποικιλία *Red Star* παρουσίασε τον μεγαλύτερο μέσο αριθμό επίκτητων οφθαλμών 4,85, σε σύγκριση με τις υπόλοιπες τέσσερις ποικιλίες.

β) Η ποικιλία *Clamis Castle* είναι η δεύτερη κατά σειρά, με μικρή διαφορά από την *Red Star*, με μέσο αριθμό επίκτητων οφθαλμών 4,8.

γ) Για την ποικιλία *Crystal Palace*, ο μέσος αριθμός επίκτητων οφθαλμών μειώνετε κατά 0,6 μονάδες, από την *Clamis Castle* και ήταν 4,2.

δ) Η ποικιλία *Jazz* παρουσίασε τον μικρότερο μέσο αριθμό επίκτητων οφθαλμών, 2,6, από τις πέντε ποικιλίες.

ε) Στην ποικιλία *White Cover* ο μέσος αριθμός επίκτητων οφθαλμών αυξήθηκε κατά 0,9 μονάδες, από την *Jazz* και ήταν 3,5.

Η συγκέντρωση 1mg/l BAP μείωσε τον μέσον όρο οφθαλμών ανά έκφυτο.

α) Η ποικιλία *Clamis Castle* παρουσίασε τον μεγαλύτερο μέσο αριθμό επίκτητων οφθαλμών 3,9, από τις υπόλοιπες τέσσερις ποικιλίες στο συγκεκριμένο θρεπτικό υπόστρωμα A2.

β) Για την ποικιλία *Red Star* ο μέσος αριθμός επίκτητων οφθαλμών μειώθηκε κατά 0,1 μονάδες και ήταν 3,8.

γ) Για την ποικιλία , *Crystal Palace* ο μέσος αριθμός επίκτητων οφθαλμών μειώθηκε κατά 0,3 μονάδες σε σύγκριση με την ποικιλία *Red Star* και ήταν 3,5.

δ) Η ποικιλία *Jazz* παρουσίασε τον μικρότερο αριθμό επίκτητων οφθαλμών και ήταν 2,15.

ε) Στην ποικιλία *White Cover* ο μέσος αριθμός επίκτητων οφθαλμών αυξήθηκε σε σύγκριση με την ποικιλία *Jazz* κατά 0,85 μονάδες και ήταν 3.

Η προσθήκη 0,1mg/l GA₃ σε 1mg/l BAP αύξησε τον μέσο αριθμό επίκτητων οφθαλμών και το υπόστρωμα A6 κατέστη τρίτο κατά σειρά δραστηκότητας αναφορικά με τον μέσο αριθμό παραχθέντων επίκτητων οφθαλμών παρουσιάζοντας, τα εξής αποτελέσματα:

α) Για την ποικιλία *Clamis Castle* είχε την μεγαλύτερη τιμή 4,15.

β) Για την ποικιλία *Red Star* ο αριθμός επίκτητων οφθαλμών μειώθηκε κατά 0,45 μονάδες και ήταν 3,7.

γ) Για την ποικιλία *Crystal Palace* η μείωση ήταν μεγαλύτερη, κατά 1,05 μονάδες, από την ποικιλία *Clamis Castle*, και ήταν 3,1.

δ) Η ποικιλία *Jazz* παρουσίασε σημαντική μείωση από την *Crystal Palace* κατά 1,35 μονάδες και ήταν 1,75.

ε) Τέλος η ποικιλία *White Cover* αύξησε τον μέσο αριθμό επίκτητων οφθαλμών κατά 1,25 μονάδες από την ποικιλία *Jazz* και ήταν 3.

Η συγκέντρωση 2mg/l BAP παρουσίασε μέσο όρο οφθαλμών ανά έκφυτο:

α) Η ποικιλία *Red Star* παρουσίασε μέσο όρο οφθαλμών 4,15, τον μεγαλύτερο από τις υπόλοιπες ποικιλίες στο συγκεκριμένο υπόστρωμα.

β) Για την ποικιλία *Clamis Castle* ο μέσος όρος οφθαλμών ανά έκφυτο μειώνεται κατά 0,1 μονάδες και είναι 4,05.

γ) Ακολουθεί η ποικιλία *Crystal Palace* με μείωση κατά 1,5 μονάδες, από την ποικιλία *Red Star* και είναι 2,65.

δ) Η ποικιλία *Jazz* είχε τον μικρότερο μέσο όρο οφθαλμών ανά έκφυτο και ήταν 1,5.

ε) Για την ποικιλία *White Cover* ο μέσος όρος αυξήθηκε σε σύγκριση με την ποικιλία *Jazz*, κατά 0,8 μονάδες και είναι 2,3.

Η συγκέντρωση 0,1mg/l BAP παρουσίασε την πέμπτη κατά σειρά μικρότερο μέσον όρο αριθμό παραχθέντων επίκτητων οφθαλμών και συγκεκριμένα:

α) Η ποικιλία *Clamis Castle* παρουσίασε τον μεγαλύτερο μέσο όρο επίκτητων οφθαλμών 3,5.

β) Στην ποικιλία *Red Star* ο μέσος όρος παρουσίασε μείωση κατά 0,15 μονάδες και ήταν 3,35.

γ) Για την ποικιλία *Crystal Palace* ο μέσος όρος μειώθηκε κατά 0,2 μονάδες ακόμα και είχε την τιμή 3,15.

δ) Η ποικιλία *Jazz* παρουσίασε τον μικρότερο μέσο αριθμό επίκτητων οφθαλμών με σημαντική διαφορά από την ποικιλία *Crystal Palace* 1,35 μονάδες και ήταν 1,8.

ε) Στην ποικιλία *White Cover* αυξήθηκε σε σύγκριση με την ποικιλία *Jazz* κατά 0,85 μονάδες και ήταν 2,65.

Το λιγότερο αποτελεσματικό, αναφορικά με την παραγωγή επίκτητων οφθαλμών από έκφυτα που παράχθηκαν των πέντε ποικιλιών ήταν το θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 10 mg/l BAP (αριθμός εκφύτων 10). Για την ποικιλία :

- α) *Clamis Castle* παρουσίασε τον μέσο όρο επίκτητων οφθαλμών 1,8.
- β) για την ποικιλία *Red Star* ο μέσος όρος μειώθηκε κατά 0,2 μονάδες και ήταν 1,4.
- γ) για την ποικιλία *Crystal Palace* ήταν 0,7.
- δ) για την ποικιλία *Jazz* ήταν 0,8.
- ε) και για την ποικιλία *White Cover* ήταν 0,6.

Η ποικιλία *Red Star* παρουσίασε τον μεγαλύτερο μέσο αριθμό από τις υπόλοιπες τέσσερις ποικιλίες στο θρεπτικό υπόστρωμα A1 και A3 υπερέχοντας κατά μικρή διαφορά από την ποικιλία *Clamis Castle*.

Η ποικιλία *Clamis Castle* εμφάνισε μεγαλύτερο μέσο αριθμό από τις υπόλοιπες τέσσερις ποικιλίες στο θρεπτικό υπόστρωμα A2, A1, A5 και A6 υπερέχοντας από την ποικιλία *Red Star* στο υπόστρωμα A2 0,1 μονάδες, στο A1 0,15 μονάδες, στο A5 0,65 μονάδες και στο A6 0,45.

Η ποικιλία *Crystal Palace* ήταν η τρίτη (εκτός στο υπόστρωμα A5) κατά σειρά στην παραγωγή επίκτητων οφθαλμών, παρουσιάζοντας τον μέγιστο μέσο αριθμό επίκτητων οφθαλμών στο υπόστρωμα A4, μείωση κατά 0,7 μονάδες στο υπόστρωμα A2, επιπλέον μείωση κατά 0,35 μονάδες στο υπόστρωμα A1, ελάχιστη μείωση κατά 0,05 στο υπόστρωμα A6 σε σύγκριση με το υπόστρωμα A1, μείωση κατά 0,45 μονάδες στο υπόστρωμα A3 σε σύγκριση με το υπόστρωμα A1 και μείωση κατά 1,95 επιπλέον στο υπόστρωμα A5.

Η ποικιλία *Jazz* εμφάνισε τα ελάχιστα αποτελέσματα σε όλα τα θρεπτικά υποστρώματα σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες. Ο μέγιστος μέσος αριθμός επίκτητων οφθαλμών εμφανίστηκε στο υπόστρωμα A4 με τιμή 2,6, στο υπόστρωμα A2 υπήρξε μείωση κατά 0,45 μονάδες, στο θρεπτικό υπόστρωμα A1 η μείωση αυξήθηκε κατά 0,35 μονάδες επιπλέον, στο θρεπτικό υπόστρωμα A6 η επιπλέον

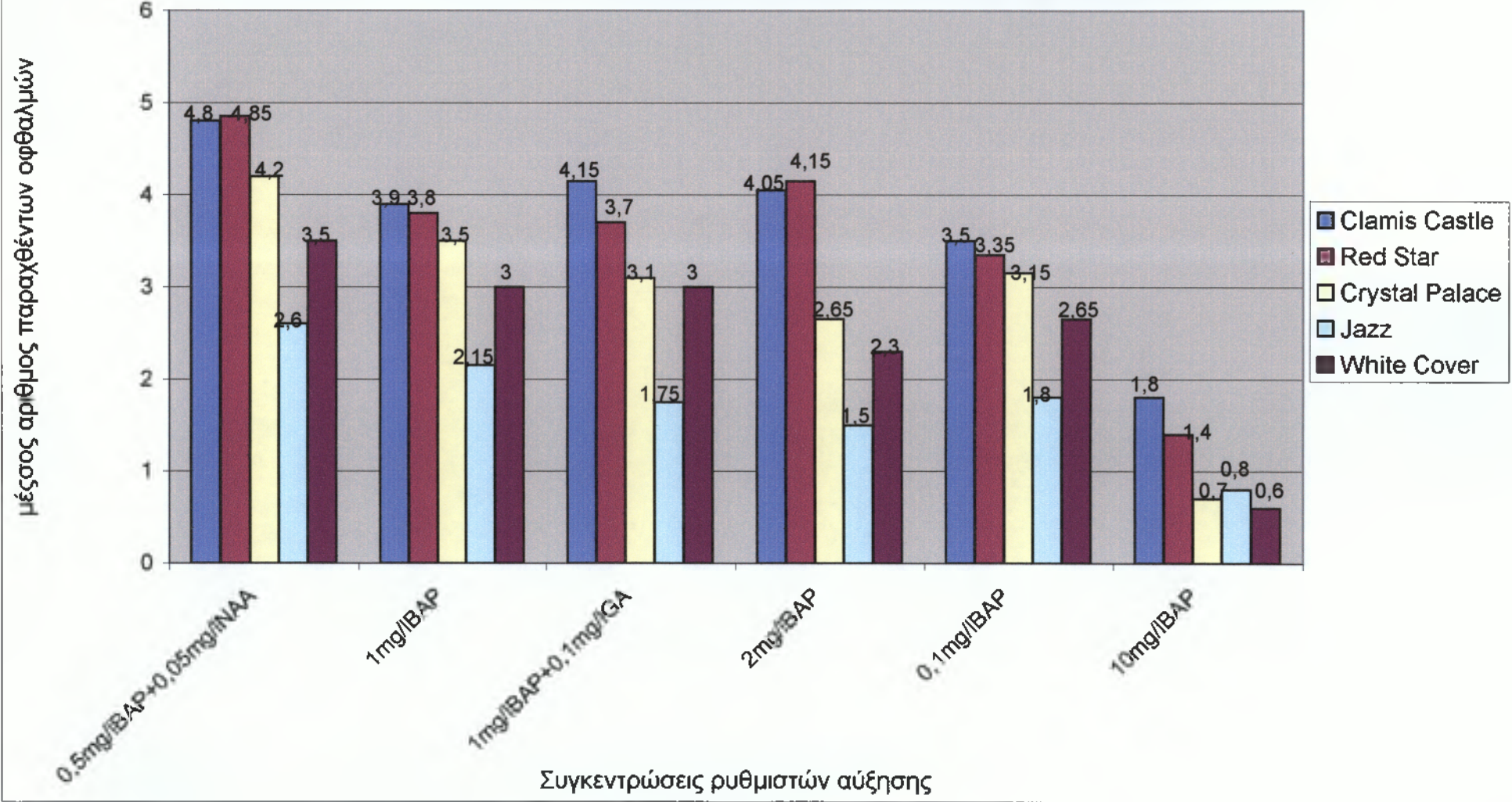
μείωση ήταν ελάχιστη κατά 0,05 μονάδες, στο υπόστρωμα A3 αυξήθηκε κατά 0,6 παρουσιάζοντας τιμή 1,8 σε σύγκριση με το υπόστρωμα A6 και τέλος στο υπόστρωμα A5 η μέση τιμή επίκτητων οφθαλμών ήταν 0,8.

Η *White Cover* ήταν η τέταρτη κατά σειρά ποικιλία στην αναγένεση επίκτητων οφθαλμών, εμφανίζοντας καλύτερα αποτελέσματα στο υπόστρωμα A4 με τιμή 3,5. Στα υποστρώματα A2 και A6 ο αριθμός ήταν ίδιος 3, στο υπόστρωμα A1 ήταν 2,65, δηλαδή μειώθηκε κατά 0,35 μονάδες, ακολούθησε επιπλέον μείωση 0,35 μονάδες στο υπόστρωμα A3 και στο υπόστρωμα A5 η τιμή ήταν η ελάχιστη 0,6.

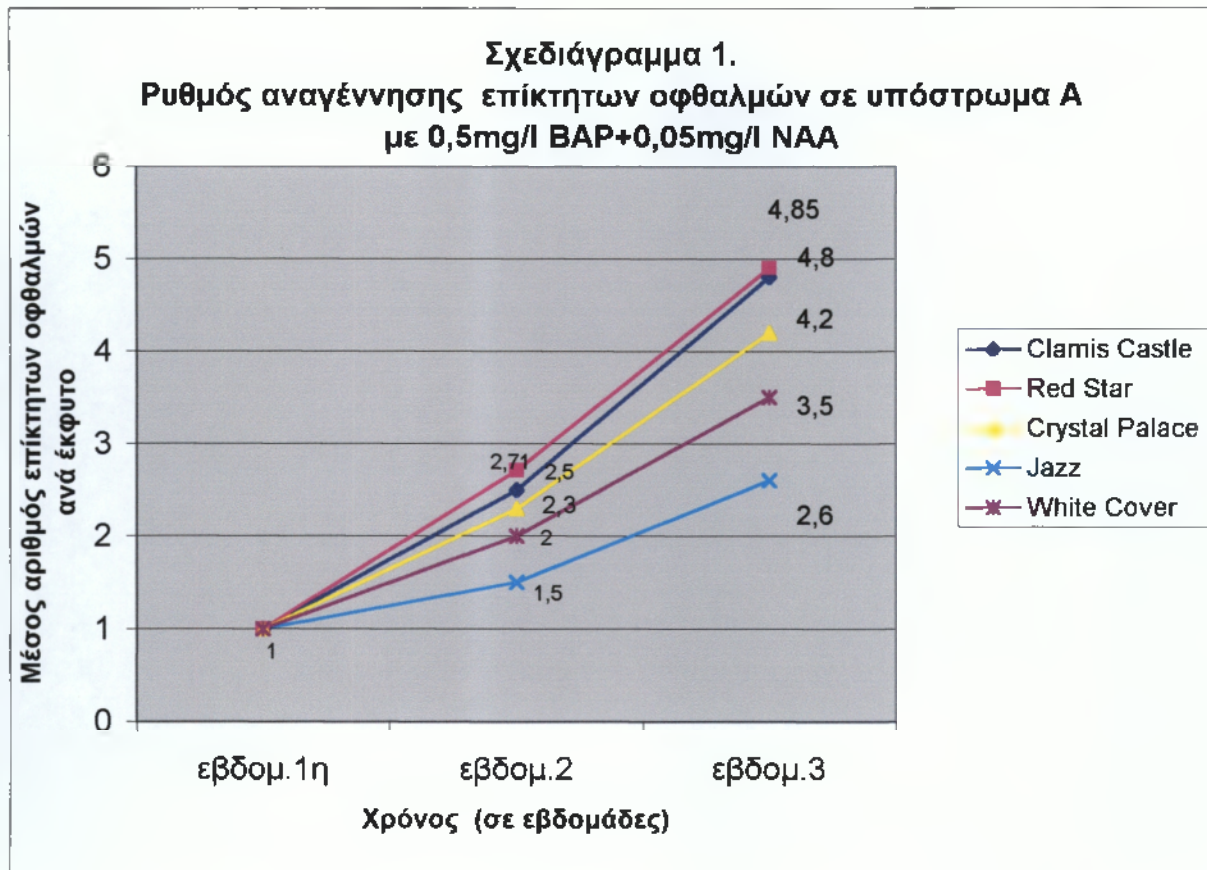
Οι τρεις ποικιλίες *Crystal Palace*, *Jazz*, *White Cover* κράτησαν σε όλα τα υποστρώματα σταθερά την θέση τους ως προς τον αριθμό επίκτητων οφθαλμών, δηλαδή η *Crystal Palace* την τρίτη, η *White Cover* την τέταρτη, η *Jazz* την πέμπτη ενώ οι ποικιλίες *Clamis Castle* και *Red Srar* η πρώτη στο υπόστρωμα A4 και A3 κατείχε την δεύτερη θέση, στο A2, A1, A5, A6 την πρώτη, αντίθετα η δεύτερη στο A4 και A3 την πρώτη θέση και στο A2, A1, A5, A6, την δεύτερη.

Ιστόγραμμα 1.

Μέσος αριθμός παραχθέντων επίκτητων οφθαλμών από μεριστωματικά έκφυτα των ποικιλιών Clamis Castle, Red Star, Crystal Palace, Jazz και White Cover σε διάφορες συγκεντρώσεις ρυθμιστών αύξησης



Η πορεία στο χρόνο της διαδικασίας αναγέννησης των επίκτητων οφθαλμών από τα μεριστωματικά έκφυτα τριανταφυλλιάς μελετήθηκε με τη λήψη παρατηρήσεων στο τέλος κάθε μίας εβδομάδας, οι οποίες φαίνονται στα παρακάτω σχεδιαγράμματα.

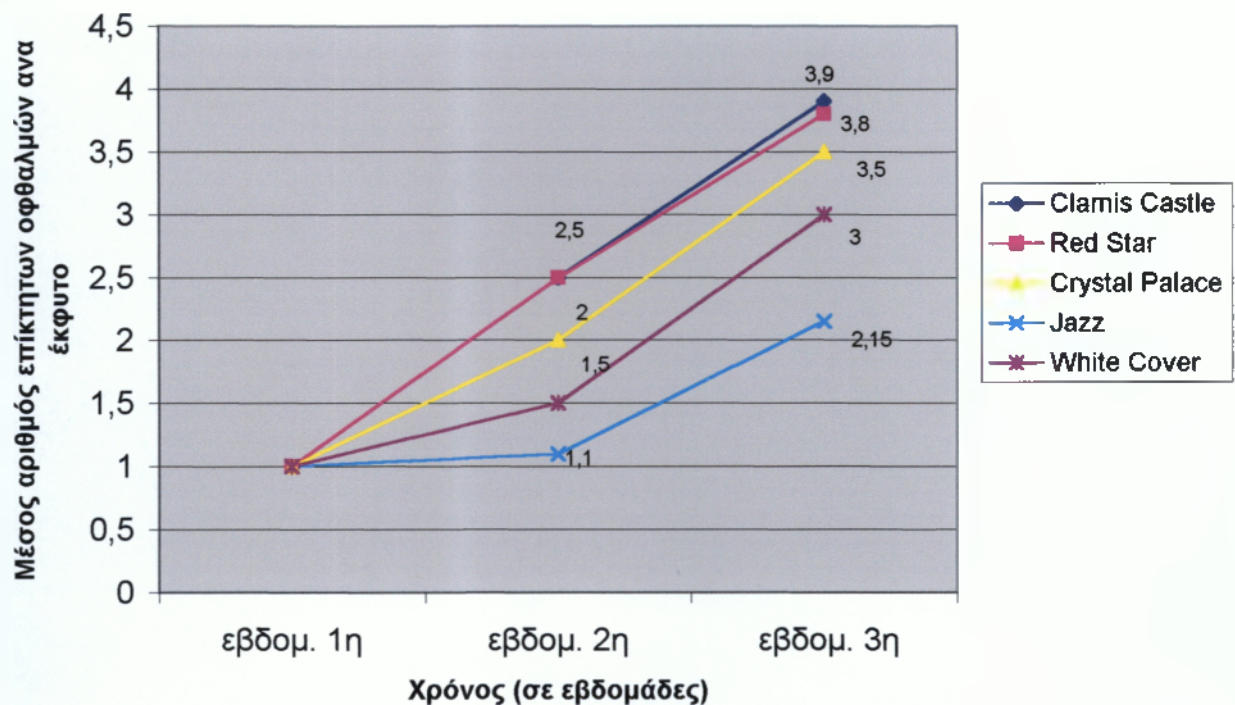


Στο συνδυασμό κυτοκινίνης και αυξήνης και συγκεκριμένα της BAP (0,5mg/l) με την NAA (0,05mg/l) παρατηρήθηκε ομοιομορφία και επιτάχυνση στην αύξηση του αριθμού παραγόμενων οφθαλμών, και στις πέντε ποικιλίες.

Ο μέσος αριθμός των οφθαλμών που αναγεννήθηκαν την δεύτερη εβδομάδα ήταν για την ποικιλία *Red Star* 2,71, για την ποικιλία *Clamis Castle* 2,5 για την ποικιλία *Crystal Palace* 2,3, για την ποικιλία *White Cover* 2, και για την ποικιλία *Jazz* 1,5.

Την τρίτη εβδομάδα ο μέσος αριθμός επίκτητων οφθαλμών ήταν για την ποικιλία *Red Star* 4,85, για την ποικιλία *Clamis Castle* 4,8, για την ποικιλία *Crystal Palace* 4,2, για την ποικιλία *White Cover* 3,5 και για την ποικιλία *Jazz* 2,6.

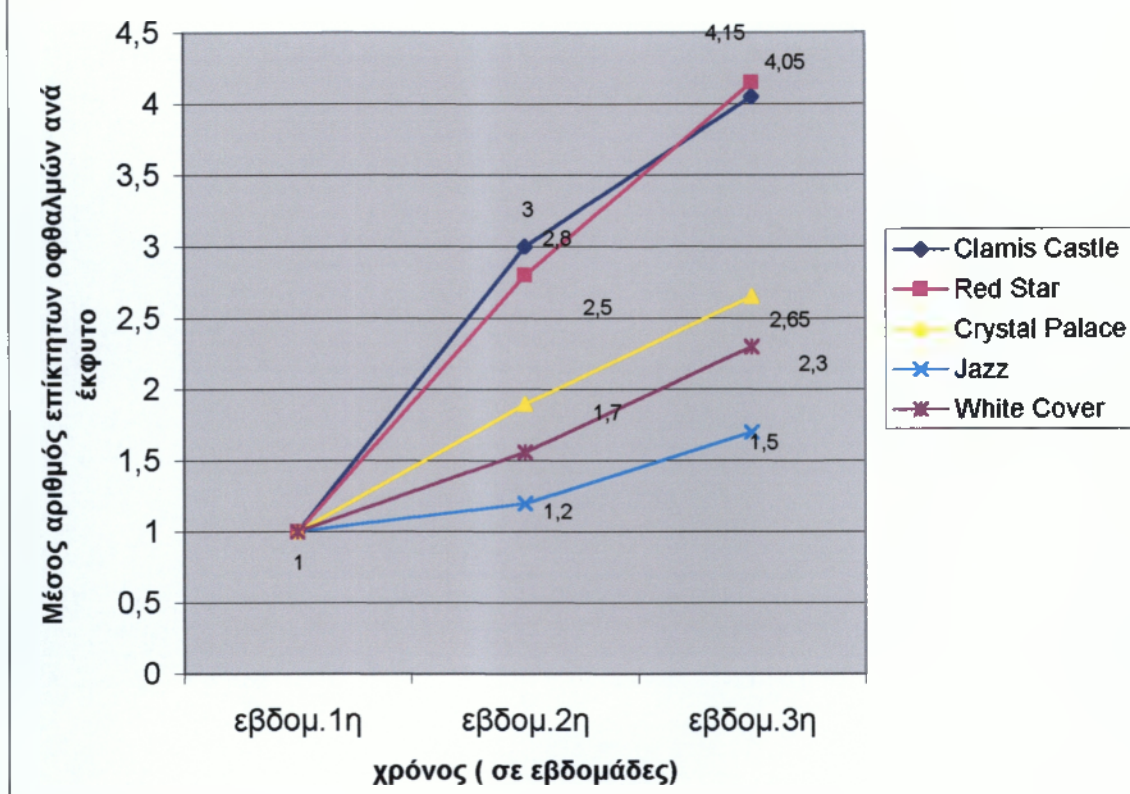
Σχεδιάγραμμα 2.
Ρυθμός αναγέννησης επίκτητων οφθαλμών σε υπόστρωμα Α με 1mg/l BAP



Στο υπόστρωμα Α2 ο ρυθμός αναγέννησης των επίκτητων οφθαλμών παρουσιάζει ομοιομορφία και σταθερότητα. Οι ποικιλίες *Clamis Castle* και *Red Star*, την δεύτερη εβδομάδα εμφάνισαν ίσο μέσο αριθμό επίκτητων οφθαλμών, και την τρίτη εβδομάδα μικρή διαφορά 0,1 μονάδες.

Ο μέσος όρος των οφθαλμών που αναγεννήθηκαν την δεύτερη εβδομάδα ήταν για τις ποικιλίες *Clamis Castle*, *Red Star* 2,5, για την ποικιλία *Crystal Paace* 2 για την ποικιλία *White Cover* 1,5, και για την ποικιλία *Jazz* 1,1. Στην τρίτη εβδομάδα ο μέσος όρος οφθαλμών ήταν για την ποικιλία *Clamis Castle* 3,9, για την ποικιλία *Red Star* 3,8, για την ποικιλία *Crystal Palace* 3,5, για την ποικιλία *White Cover* 3 και για την ποικιλία *Jazz* 2,15.

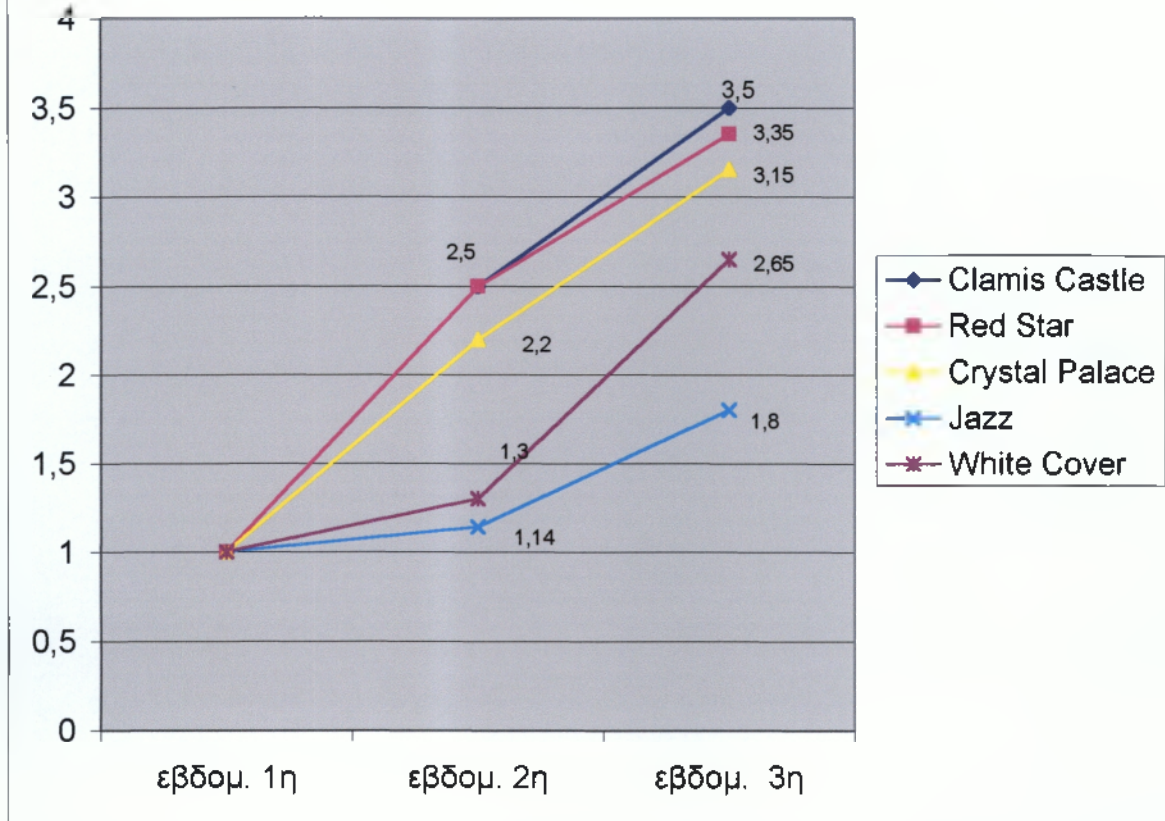
Σχεδιάγραμμα 3.
Ρυθμός αναγέννησης επίκτητων οφθαλμών σε υπόστρωμα
A με 2mg/l BAP



Στο θρεπτικό υπόστρωμα A3 υπάρχει ανομοιομορφία ως προς τον ρυθμό αναγέννησης των οφθαλμών. Οι ποικιλίες *Clamis Castle*, *Red Star* και *Crystal Palace* μέχρι την δεύτερη εβδομάδα υπήρξε αύξηση του ρυθμού αναγέννησης των οφθαλμών αντίθετα την τρίτη εβδομάδα εμφανίστηκε κάμψη στον ρυθμό. Οι ποικιλίες *Jazz* και *White Cover* και τις τρεις εβδομάδες εμφάνισαν αύξηση στον ρυθμό.

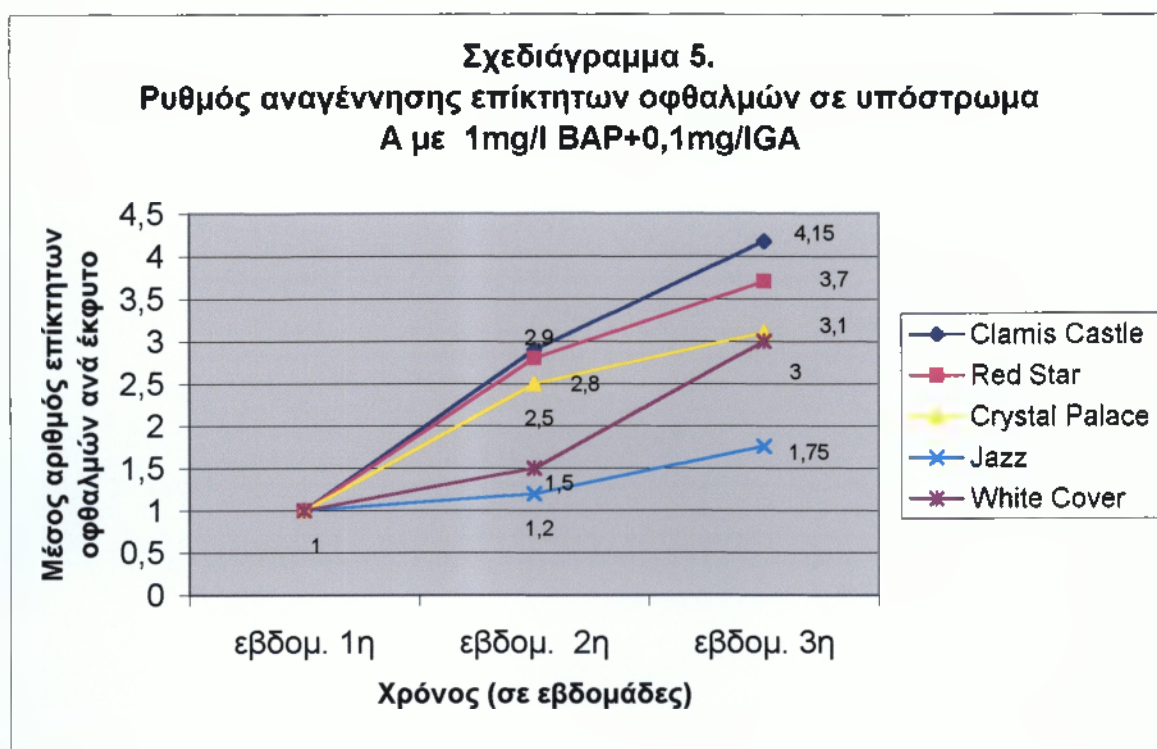
Ο μέσος όρος των οφθαλμών που αναγεννήθηκαν την δεύτερη εβδομάδα ήταν για την ποικιλία *Clamis Castle* 3, για την ποικιλία *Red Star* 2,8, για την ποικιλία *Crystal Palace* 2,5, για την ποικιλία *White Cover* 1,7, και για την ποικιλία *Jazz* 1,2. Την τρίτη εβδομάδα ήταν: για την ποικιλία *Clamis Castle* 4,05, για την ποικιλία *Red Star* 4,15, για την ποικιλία *Crystal Palace* 2,65, για την ποικιλία *White Cover* 2,3 και για την ποικιλία *Jazz* 1,5.

Σχεδιάγραμμα 4.
Ρυθμός αναγέννησης επίκτητων οφθαλμών στη
συγκέντρωση 0,1mg/IBAP



Στο υπόστρωμα A1 οι ποικιλίες *Clamis Castle* και *Red Star* μέχρι την δεύτερη εβδομάδα έδωσαν ίσα αποτελέσματα και στην τρίτη υπήρξε μικρή διαφορά 0,15 μονάδες. Επίσης στις *Clamis Castle*, *Red Star* και *Crystal Palace* μετά την δεύτερη εβδομάδα παρουσιάστηκε κάμψη στον ρυθμό αναγέννησης επίκτητων οφθαλμών αντίθετα με τις ποικιλίες *Jazz*, *White Cover* οι οποίες εμφάνισαν αύξηση.

Ο μέσος όρος των οφθαλμών ανά έκφυτο που αναγεννήθηκαν την δεύτερη εβδομάδα ήταν για τις ποικιλίες *Clamis Castle* και *Red Star* 2,5, για την ποικιλία *Crystal Palace* 2,2, για την ποικιλία *White Cover* 1,3, και για την ποικιλία *Jazz* 1,14. Την τρίτη εβδομάδα ήταν για την ποικιλία *Clamis Castle* 3,5, για την ποικιλία *Red Star* 3,35, για την ποικιλία *Crystal Palace* 3,15, για την ποικιλία *White Cover* 2,65 και για την ποικιλία *Jazz* 1,8.



Η επίδραση του υποστρώματος Α6 στις πέντε ποικιλίες δεν είναι ομοιόμορφη.

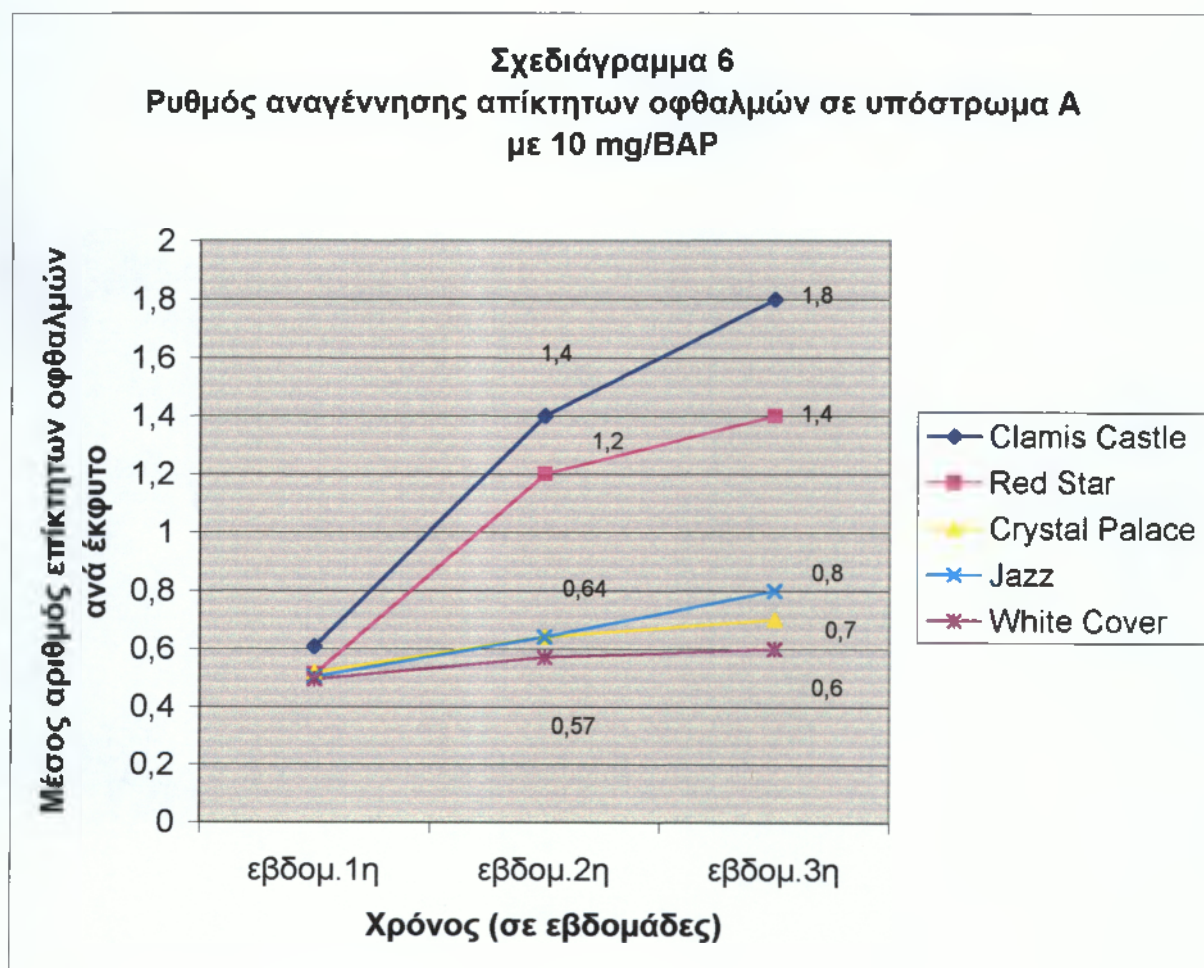
Οι ποικιλίες *Clamis Castle*, *Red Star* και *Crystal Palace* μέχρι την δεύτερη εβδομάδα παρουσιάζουν αύξηση στον ρυθμό αναγέννησης επίκτητων οφθαλμών ενώ αντίθετα από την δεύτερη εβδομάδα και ύστερα εμφανίζεται μείωση. Στις ποικιλίες *Jazz* και *White Cover* μέχρι την δεύτερη εβδομάδα ο ρυθμός παραχθέντων οφθαλμών είναι μικρός αυξάνει μετά την δεύτερη εβδομάδα.

Η ποικιλία *Clamis Castle* παρουσίασε κατά 0,1 μονάδες μεγαλύτερο μέσον όρο σε σύγκριση με την ποικιλία *Red Star* μέχρι και την δεύτερη εβδομάδα. Στο τέλος της τρίτης εβδομάδας η διαφορά αυξάνει κατά 0,45 μονάδες.

Ο μέσος όρος οφθαλμών την δεύτερη εβδομάδα και για τις πέντε ποικιλίες ήταν: για την *Clamis Castle* 2,9, για την *Red Star* 2,8, για την *Crystal Palace* 2,5, για την *White Cover* 1,5, και για την *Jazz* 1,2. Για την τρίτη εβδομάδα ήταν : για την *Red Star* 3,7, για την *Clamis Castle* 4,15, για την *Crystal Palace* 3,1, για την *White Cover* 3, και για την *Jazz* 1,75.

Το υπόστρωμα A5 ήταν το πιο ακατάλληλο στην καλλιέργεια μεριστωμάτων για επίκτητους οφθαλμούς. Ένα μεγάλο ποσοστό των φυτών δεν αντέδρασε στο υπόστρωμα με αποτέλεσμα, την δεύτερη εβδομάδα, ο μέσος όρος επίκτητων οφθαλμών στις ποικιλίες *Jazz* και *Crystal Palace* να εμφανίσουν τιμή 0,64, και η *White Cover* 0,57. Οι ποικιλίες *Clamis Castle* και *Red Star* εμφάνισαν 1,4 και 1,2 αντίστοιχα.

Την τρίτη εβδομάδα ο μέσος αριθμός επίκτητων οφθαλμών αυξήθηκαν ελάχιστα και για τις τέσσερις ποικιλίες.



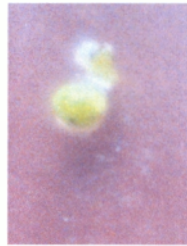
ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ

Εικ. 8. Αναπαράσταση εκφύτων τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε βασικό υπόστρωμα Α το οποίο περιείχε 0,5 mg/l BAP και 0,05 mg/l NAA (σε κάθε επιμέρους φωτογραφία φαίνεται η ηλικία της καλλιέργειας)

α. 2 ημέρες



β. 4 ημέρες



γ. 3 εβδομάδες



δ. 2 – 3 εβδομάδες



Εικόνα 9. Αναπαράσταση εκφύτων τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε βασικό υπόστρωμα Α το οποίο περιείχε 2mg/l BAP



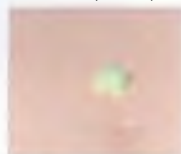
α. 2 εβδομ.



β. 2 εβδομ.

Εικ.10. Αναπαράσταση εκφύτου τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε βασικό υπόστρωμα Α το οποίο περιείχε 10mg/l BAP

3 –4 εβδομ.



Εικ.11. Αναπαράσταση εκφύτου τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκε *in vitro* σε βασικό υπόστρωμα Α το οποίο περιείχε 0,1mg/l BAP.

7 ημέρες

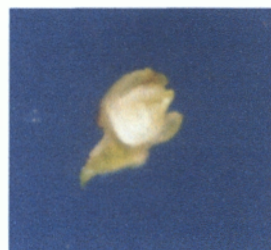


Εικ. 12 Αναπαράσταση εκφύτου τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκε *in vitro* σε βασικό υπόστρωμα Α το οποίο περιείχε 1,0 mg/l BAP + 0,1mg/l GA₃

α. 2 ημέρες



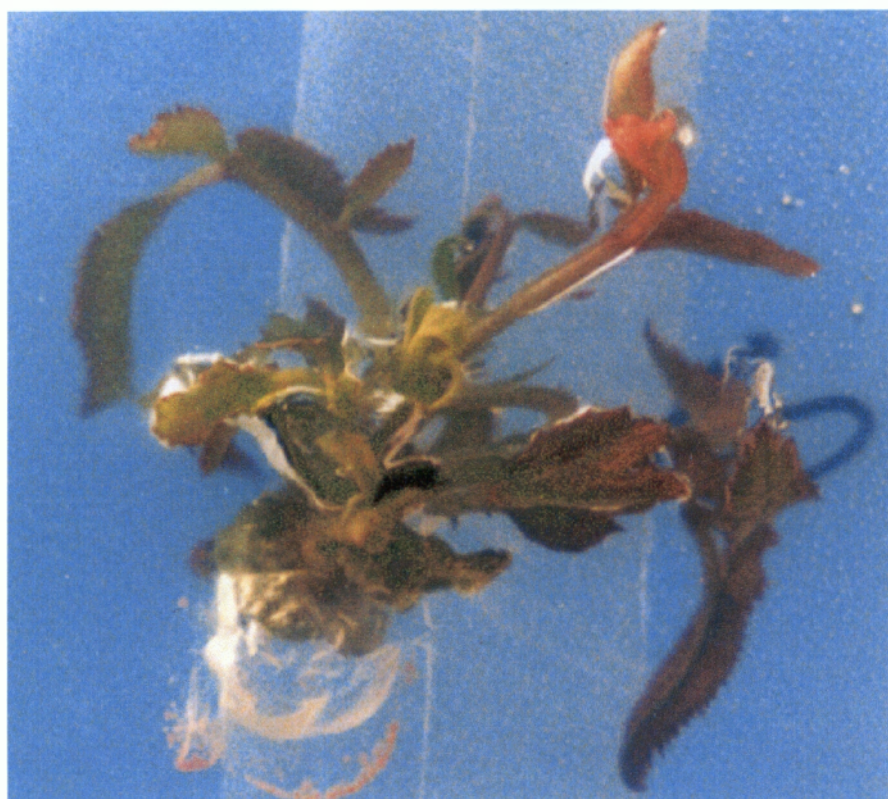
β. 5 ημέρες



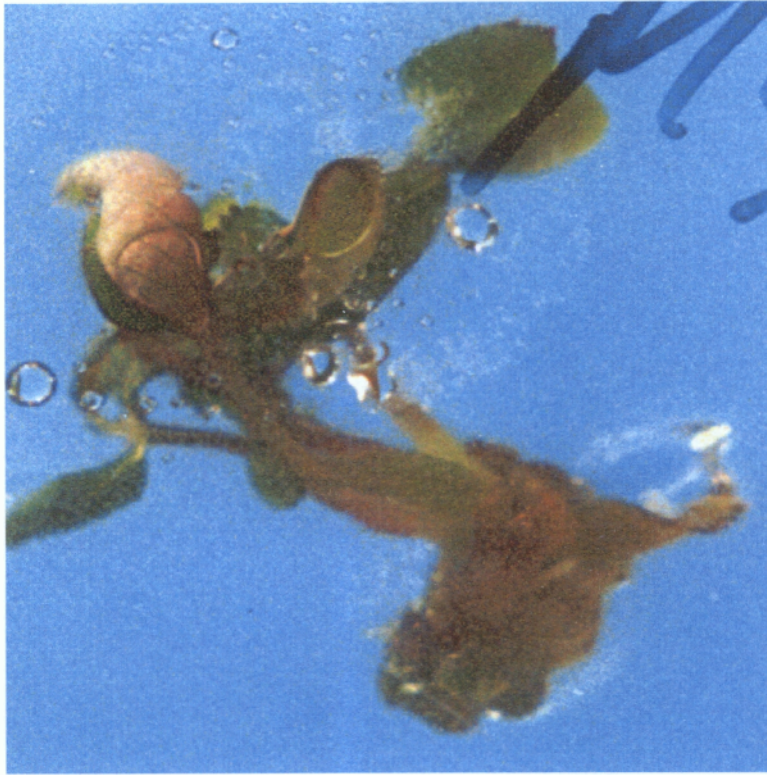
Εικ. 13. Αναπαράσταση έκφυτο το οποίο καλλιεργήθηκε *in vitro* σε θρεπτικό υπόστρωμα A4. α. (7 εβδομ.) (άνω πλευρά).



β. 7 εβδομάδες (κάτω πλευρά).



γ. 6 εβδομάδες. (άνω πλευρά).



δ. 6 εβδομάδες (κάτω πλευρά).



β. Εξέλιξη οφθαλμών σε βλαστούς και ταυτόχρονη αναγένεση επίκτητων οφθαλμών σε επανακαλλιέργειες.

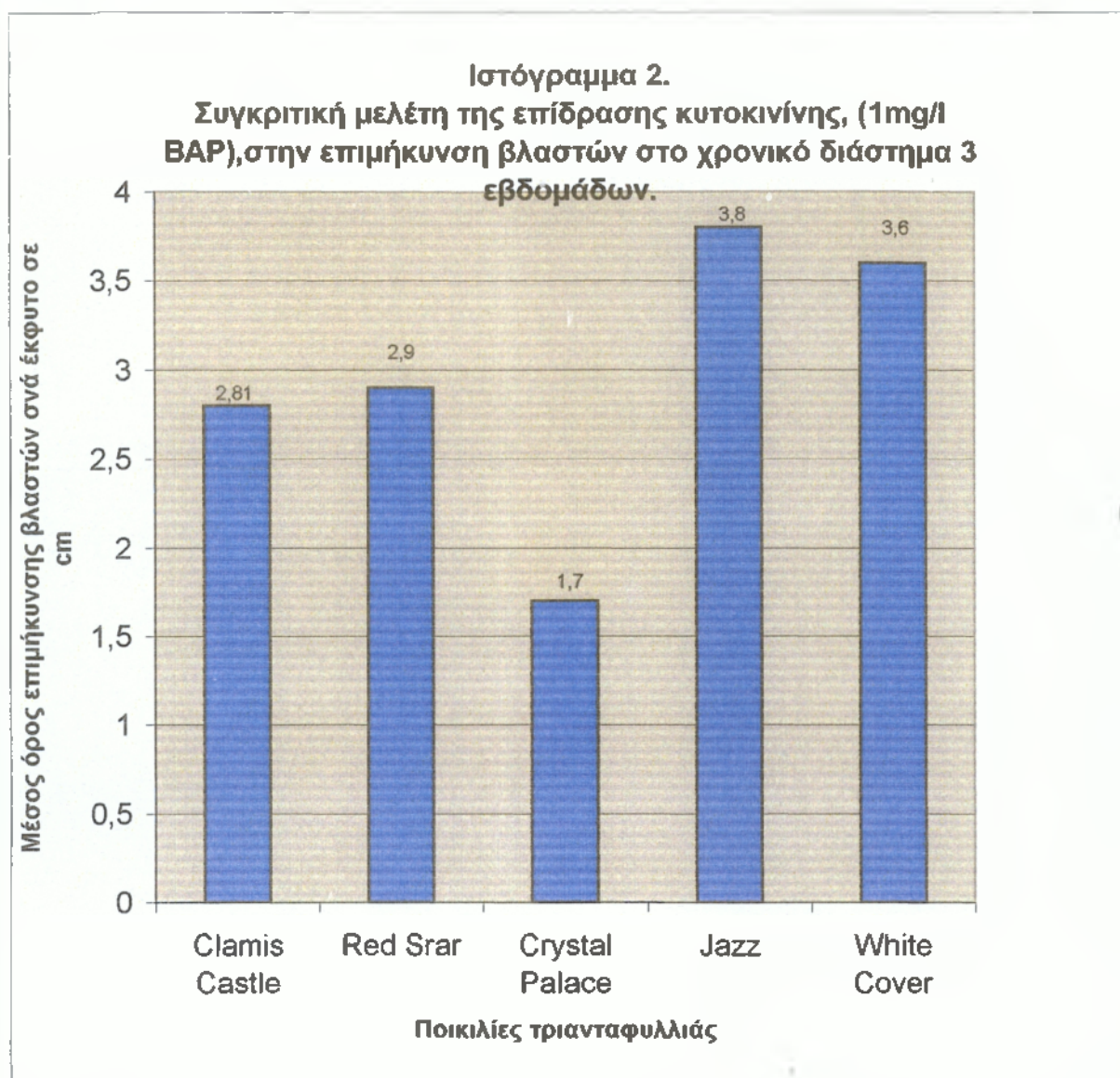
Στη συνέχεια τα έκφυτα τοποθετήθηκαν σε νέα δοχεία καλλιέργειας για να παρακολουθηθεί πλέον η εξέλιξη ανάπτυξης των οφθαλμών σε βλαστούς, οι οποίοι αρχίζουν να εμφανίζονται μετά τη τρίτη εβδομάδα καλλιέργειας αλλά και η αναγέννηση νέων επίκτητων μεριστωμάτων .

Σε αυτόν τον δεύτερο γύρο μετρήσεων, τα έκφυτα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ήταν 10 και τα αποτελέσματα τα οποία ελήφθησαν παρουσιάζονται στους πίνακες και διαγράμματα που ακολουθούν.

1. Έκφυτα τα οποία τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα 1mg/l BAP παρουσίασαν τα εξής αποτελέσματα:

Πίνακας 1. Μέσος αριθμός παραχθέντων οφθαλμών μετά από καλλιέργεια 3 εβδομάδων.

Ποικιλία τρανταφυλλιάς	Μέσος αριθμός παραχθέντων οφθαλμών
<i>Clamis Castle</i>	10
<i>Red Star</i>	10
<i>Crystal Palace</i>	8
<i>Jazz</i>	4,6
<i>White Cover</i>	7



Από τον πίνακα και το ιστόγραμμα είναι εμφανές πως το θρεπτικό υπόστρωμα A2 ευνόησε τις ποικιλίες *Clamis Castle* και *Red Star* ως προς τον αριθμό παραχθέντων οφθαλμών και τις ποικιλίες *Jazz* και *White Cover* ως προς την επιμήκυνση των βλαστών.

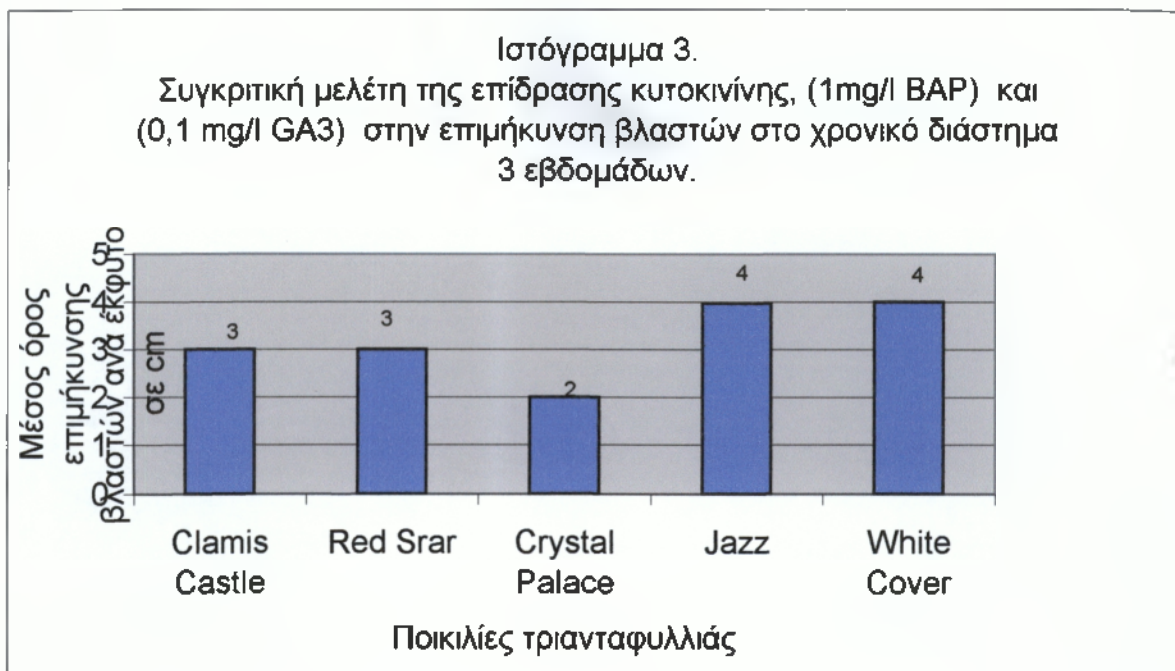
Στο θρεπτικό υπόστρωμα A2 μεγαλύτερο μέσος όρος επιμήκυνσης βλαστών που αναπτύχθηκαν ήταν στην ποικιλία *Jazz* 3,8 cm και ακολούθησε η ποικιλία *White Cover* με 3,6 cm. Οι ποικιλίες *Clamis Castle* και *Red Star* παρουσίασαν μειωμένο μέσο μήκος βλαστών 2,9 cm και 2,81 cm αντίστοιχα και το μικρότερο μέσο μήκος είχε η ποικιλία *Crystal Palace* με 1,7cm.

Στην ποικιλία *Crystal Palace* δεν είχε ικανοποιητικά αποτελέσματα.

2. Η προσθήκη 0.1mg/l GA₃ και 1mg/l BAP, είχε τα εξής αποτελέσματα ως προς την απόκτηση νέων οφθαλμών και ως προς την επιμήκυνση των βλαστών, τα οποία παρουσιάζονται στο πίνακα 2 και ιστόγραμμα 3 αντίστοιχα .

Πίνακας 2. Μέσος αριθμός παραχθέντων οφθαλμών από έκφυτα τριανταφυλλιάς που υπέστησαν την επίδραση 1mg/l BAP και 0,1mg/l GA₃.

Ποικιλίες τριανταφυλλιάς	Μέσος όρος Παραχθέντων οφθαλμών.
<i>Clamis Castle</i>	11
<i>Red Star</i>	10,5
<i>Crystal Palace</i>	9,4
<i>Jazz</i>	5
<i>White Cover</i>	8,5



Η προσθήκη GA₃ (0,1mg/l) σε BAP (1mg/l) είχε πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα και ως προς τον αριθμό παραχθέντων οφθαλμών και ως προς την ανάπτυξη των βλαστών.

Οι ποικιλίες *Jazz* και *White Cover* είχαν μέσο μήκος βλαστών ανά έκφυτο 4 cm και 4,2 cm αντίστοιχα, η *Clamis Castle* 3 cm, η *Red Star* 3 cm και η *Crystal Palace* 2cm.

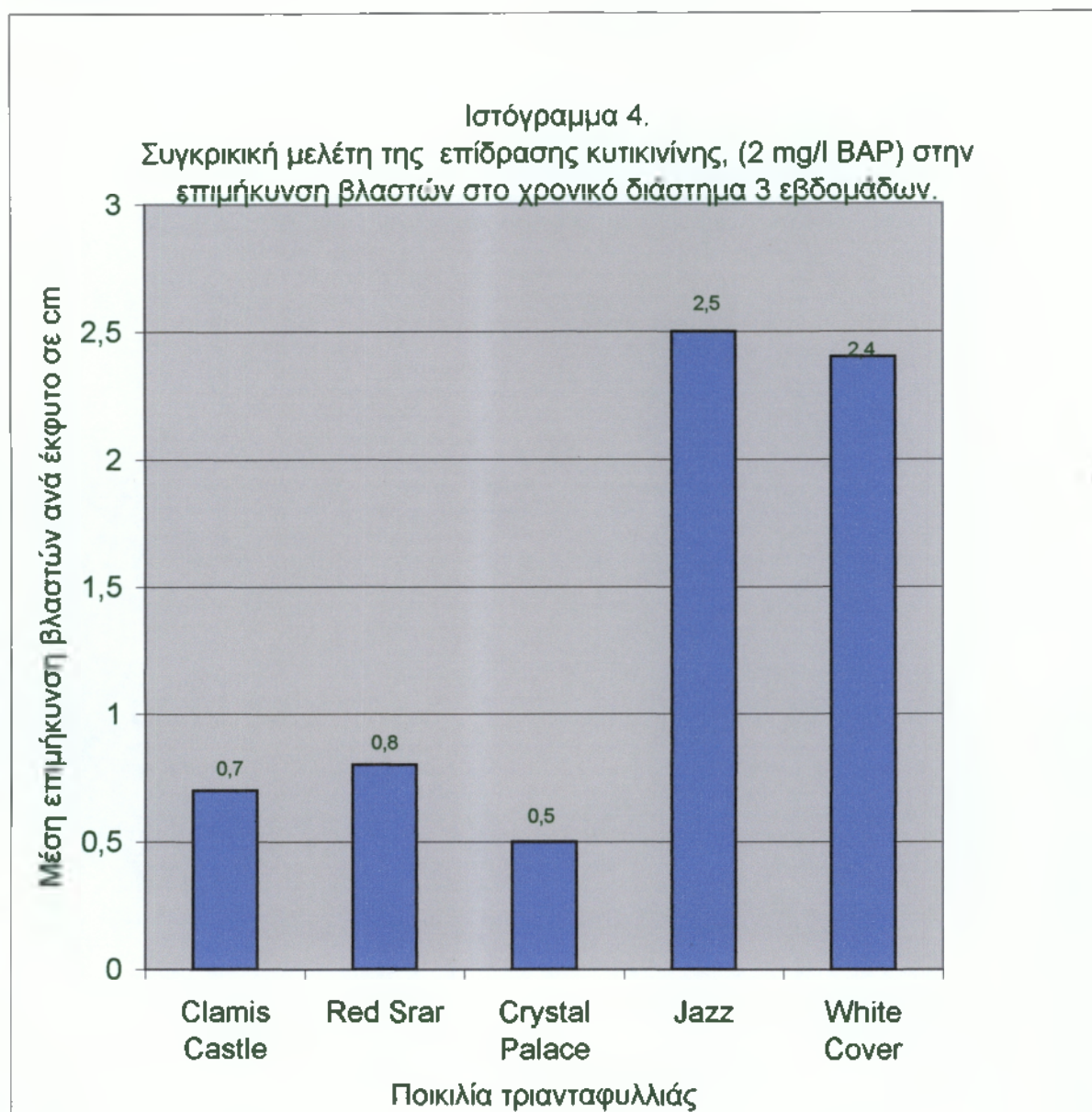
3. Έκφυτα τα οποία υπέστησαν τη δράση 2mg/l BAP έδωσαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα 3 και στο ιστόγραμμα 4.

Πίνακας 3. Μέσος αριθμός παραχθέντων οφθαλμών υπό την επίδραση κυτοκινίνης (BAP 2mg/l).

Ποικιλίες τριανταφυλλιάς	Μέσος αριθμός παραχθέντων οφθαλμών
<i>Clamis Castle</i>	16
<i>Red Star</i>	15
<i>Crystal Palace</i>	13,2
<i>Jazz</i>	8,5
<i>White cover</i>	12,4

Στο υπόστρωμα A3 εμφανίστηκαν οι περισσότεροι βλαστοί σε σύγκριση με τα υπόλοιπα υποστρώματα. Η ποικιλία *Clamis Castle* παρουσίασε 16 βλαστούς ανά έκφυτο, η *Red Star* με 15, η *Crystal Palace* με 13,2 η *Jazz* με 8,5 και η *White Cover*

12,4(βλαστούς ανά έκφυτο).



Η επίδραση του υποστρώματος A3 είχε αρνητικά αποτελέσματα ως προς την επιμήκυνση των βλαστών, εμφανίζοντας μειωμένο μέσο όρο μήκους.

Ο μέσος όρος επιμήκυνσης για την ποικιλία Jazz ήταν 2,5 cm, για την ποικιλία *White Cover* 2,4 cm, για την ποικιλία *Red Star* 0,8 cm, για την ποικιλία *Clamis Castle* 0,7 cm και για την ποικιλία *Crystal Palace* 0,5 cm βλαστοί ανά έκφυτο.

4. Έκφυτα τα οποία υπέστησαν την επίδραση 0,1 mg/l BAP έδωσαν τα αποτελέσματα που ακολουθούν:

Πίνακας 4. Μέσος αριθμός παραχθέντων οφθαλμών υπό την επίδραση 0,1mg/l BAP.

Ποικιλίες τριανταφυλλιάς	Μέσος αριθμός παραχθέντων οφθαλμών
<i>Clamis Castle</i>	8,5
<i>Red Star</i>	9,1
<i>Crystal Palace</i>	8
<i>Jazz</i>	4
<i>White Cover</i>	5,5

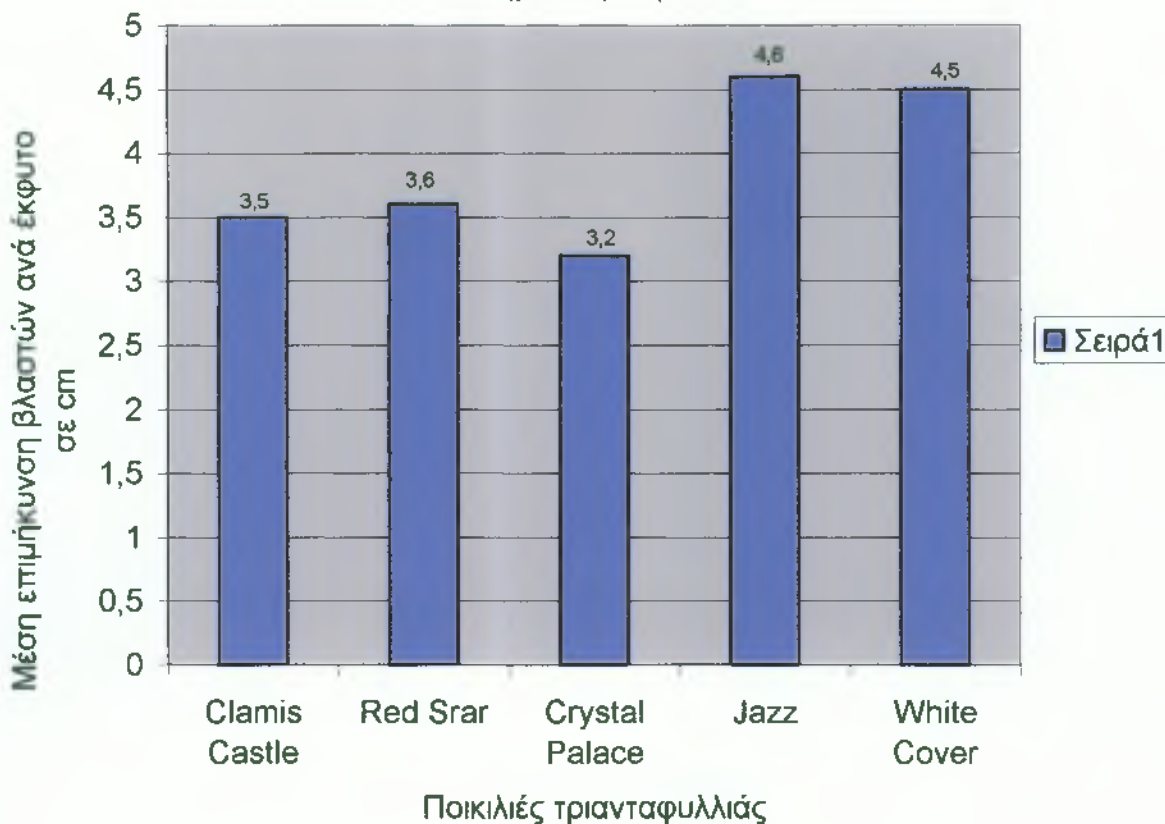
Το υπόστρωμα A1 δεν ευνόησε την αναγένεση οφθαλμών.

Η ποικιλία *Red Star* παρουσίασε τον μεγαλύτερο αριθμό παραχθέντων οφθαλμών με τιμή 9,1, υπερέχοντας από την ποικιλία *Clamis Castle* κατά 0,6 μονάδες της οποίας ο μέσος όρος παραχθέντων οφθαλμών ήταν 8,5.

Στην ποικιλία *Crystal Palace*, ο μέσος αριθμός μειώθηκε κατά 0,5 μονάδες από την ποικιλία *Clamis Castle* με μέσο αριθμό παραχθέντων οφθαλμών 8.

Για τις ποικιλίες *White Cover* και *Jazz* ο μέσος αριθμός παρουσίασε την μικρότερη τιμή, με 5,5 και 4 αντίστοιχα.

Ιστογράμμα 5.
 Συγκριτική μελέτη της επίδρασης κυτοκινίνης (BAP),
 συγκέντρωσης 0,1 mg/l στην επιμήκυνση βλαστών στο χρονικό
 διάστημα 3 εβδομάδων



Στις ποικιλίες *White Cover* και *Jazz* παρατηρήθηκε το μεγαλύτερο μέσο μήκος βλαστών 4,5 cm και 4,6cm αντίστοιχα. Η ποικιλία *Red Star* υπερέχει κατά 0,1cm από την *Clamis Castle*. Οι ποικιλίες *Red Star*, *Clamis Castle* και *Crystal Palace* είχαν μέσο μήκος 3,6 cm, 3,5 cm, και 3,2 cm αντίστοιχα.

Σύμφωνα με τους πίνακες η άριστη συγκέντρωση για την αναγέννηση επίκτητων οφθαλμών είναι το υπόστρωμα A3 για όλες τις ποικιλίες. Η ποικιλία που αντιδρά καλύτερα ήταν η *Clamis Castle*. Στο υπόστρωμα A2 οι ποικιλίες *Clamis Castle* και *Red Star* εμφανίζουν ίσο μέσο αριθμό παραχθέντων οφθαλμών ενώ στο υπόστρωμα A1 η *Red Star* υπερέχει κατά 0,6 μοναδες. Η ποικιλία *Crystal Palace* παρουσίασε ίσια αποτελέσματα στο υπόστρωμα A1 και A2.

Η προσθήκη BAP στο βασικό υπόστρωμα A σε ποσότητα της τάξης 0,1 mg/l BAP παρουσίασε την μέγιστη επιμήκυνση των βλαστών σε όλες τις ποικιλίες και ιδίως τις *White Cover* και *Jazz*.

Αύξηση της ποσότητας BAP από 0,1mg/l σε 1mg/l (υπόστρωμα A2) είχε σαν συνέπεια την μείωση του μέσου όρου επιμήκυνσης των βλαστών.

Η προσθήκη GA₃ στο υπόστρωμα A2 αύξησε το μέσο όρο μήκος των βλαστών.

Στο υπόστρωμα A3 οι βλαστοί είχαν το ελάχιστο μήκος σε σύγκριση με τα υπόλοιπα υποστρώματα.

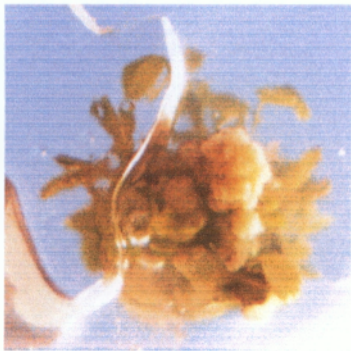
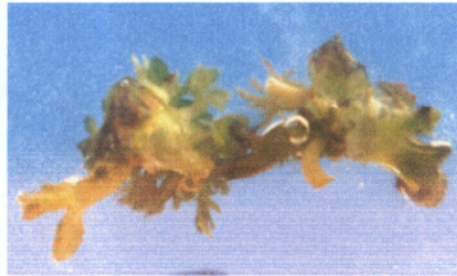
Εικ. 14. Αναγένεση επίκτητων οφθαλμών και ανάπτυξης βλαστών από έκφυτα τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε βασικό υπόστρωμα A το οποίο περιείχε 0,1mg/l BAP (α. 3 εβδομ.)



Εικ. 15. Αναγένεση επίκτητων οφθαλμών και ανάπτυξης βλαστών από έκφυτα τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε βασικό υπόστρωμα Α το οποίο περιείχε 2 mg/l BAP (3 εβδομ.)

β. (1,5 – 2 εβδομάδες)

γ. (1,5 – 2 εβδομ.)



δ. (3 εβδομάδες)

ε. (3 εβδομάδες)

Εικ.16. Αναγένεση επίκτητων οφθαλμών και ανάπτυξη βλαστών από έκφυτα τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε υπόστρωμα Α που περιείχε 1 mg/l BAP (στις επιμέρους φωτογραφίες φαίνεται η ηλικία τα υποκαλλιέργειας)



στ. (2 εβδομ.)

Εικ.17. Αναγένεση επίκτητων οφθαλμών και ανάπτυξη βλαστών από έκφυτα τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε υπόστρωμα Α που περιείχε 1mg/l BAP + 0,1mg/l CA₃ (στις επιμέρους φωτογραφίες φαίνεται η ηλικία της υποκαλλιέργειας)



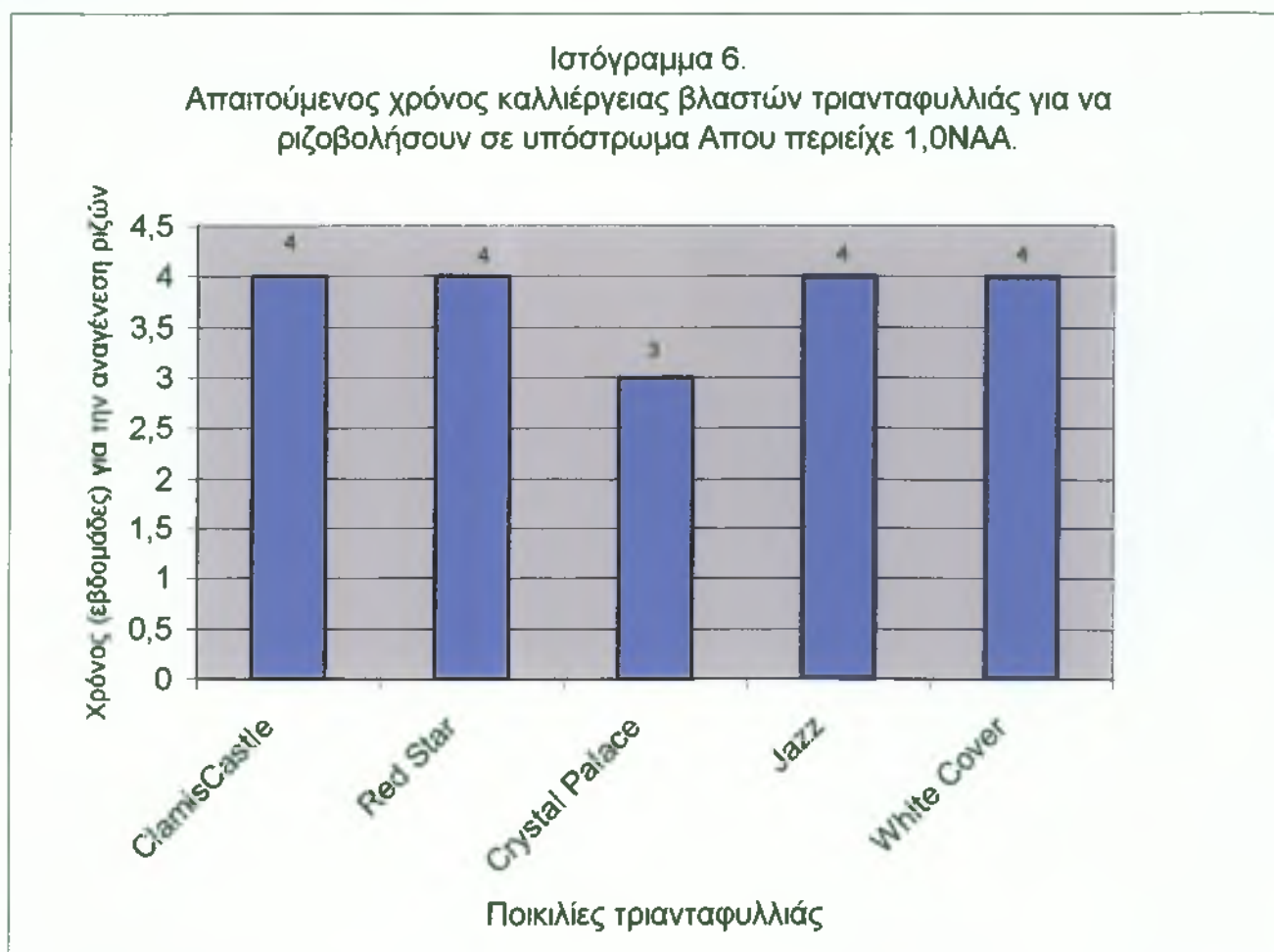
ζ. (3 εβδομ.)

γ. Ριζοβόληση επίκτητων βλαστών

Οι βλαστοί τέλος, όταν επιμηκύνονταν ικανοποιητικά (μήκος 2 - 4 cm) αποκόπτονταν και μεταφέρονταν αρχικά στο βασικό υπόστρωμα Α για τρεις εβδομάδες και στη συνέχεια σε ειδικά υποστρώματα για να ριζοβολήσουν. Τα υποστρώματα αυτά ήταν του βασικού υποστρώματος Α και περιείχαν 0,1mg/l ή 1mg/l NAA είτε 1,0 mg/l IAA είτε του συνδυασμούς 0,1mg/l NAA + 0,01mg/l GA₃ και 1 mg/l NAA + 0,1mg/l GA₃.

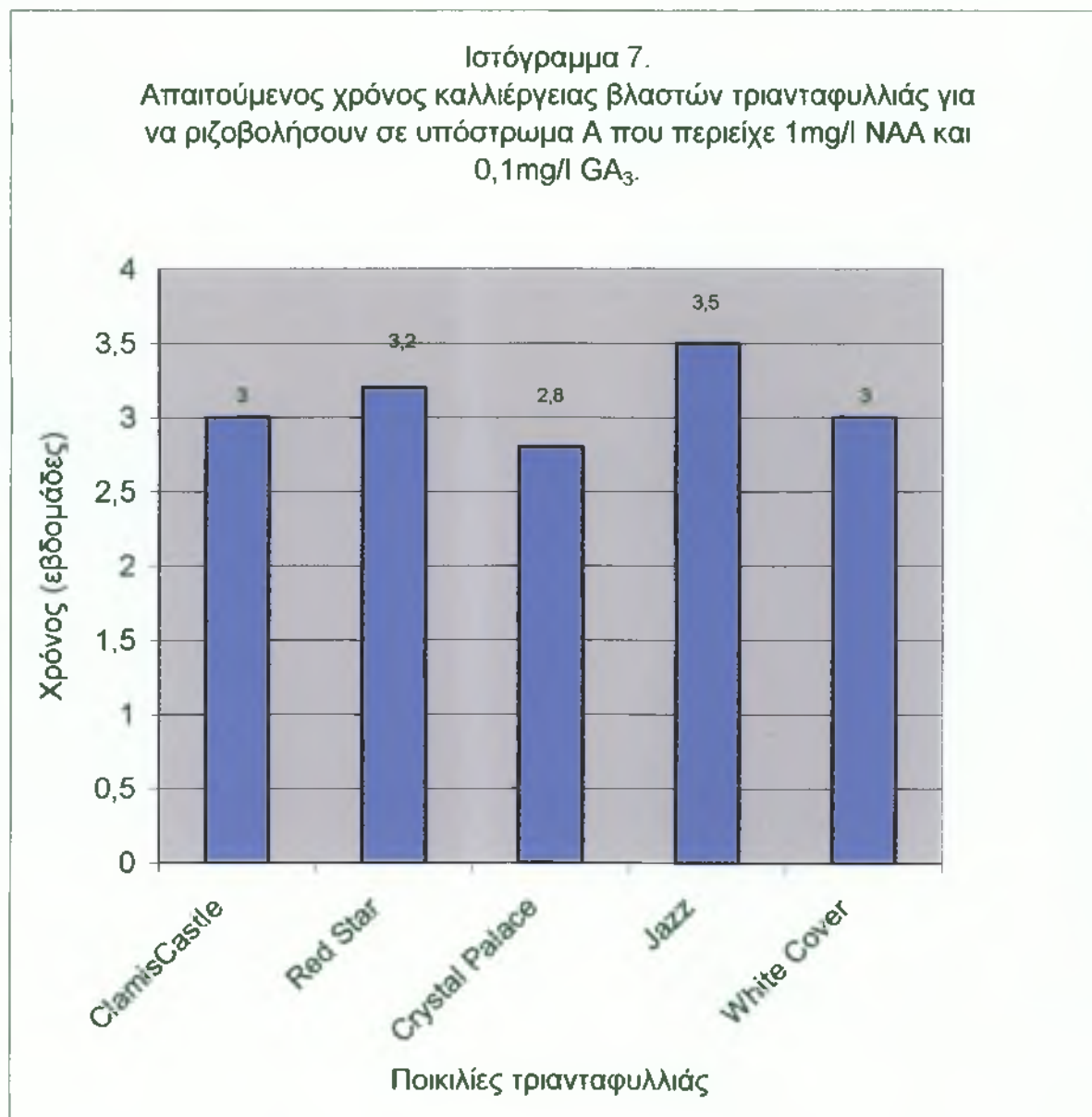
Στα διαγράμματα που ακολουθούν φαίνεται το χρονικό διάστημα το οποίο απαιτήθηκε για την παραγωγή της ριζοβολίας των έκφυτων, για κάθε συγκέντρωση ρυθμιστή αύξησης. Ο αριθμός των εκφύτων που χρησιμοποιήθηκε ήταν για κάθε ποικιλία 10.

1. Τα έκφυτα που τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα το οποίο περιείχε 1mg/l NAA παρουσίασαν τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στο ιστόγραμμα 6.



Ο απαιτούμενος χρόνος των βλαστών τριανταφυλλιάς για να ριζοβολήσουν για την ποικιλία *Crystal Palace* ήταν 3 εβδομάδες και στις ποικιλίες *Clamis Castle*, *Red Star*, *Jazz* και *White Cover* ο χρόνος αυξήθηκε κατά μία εβδομάδα.

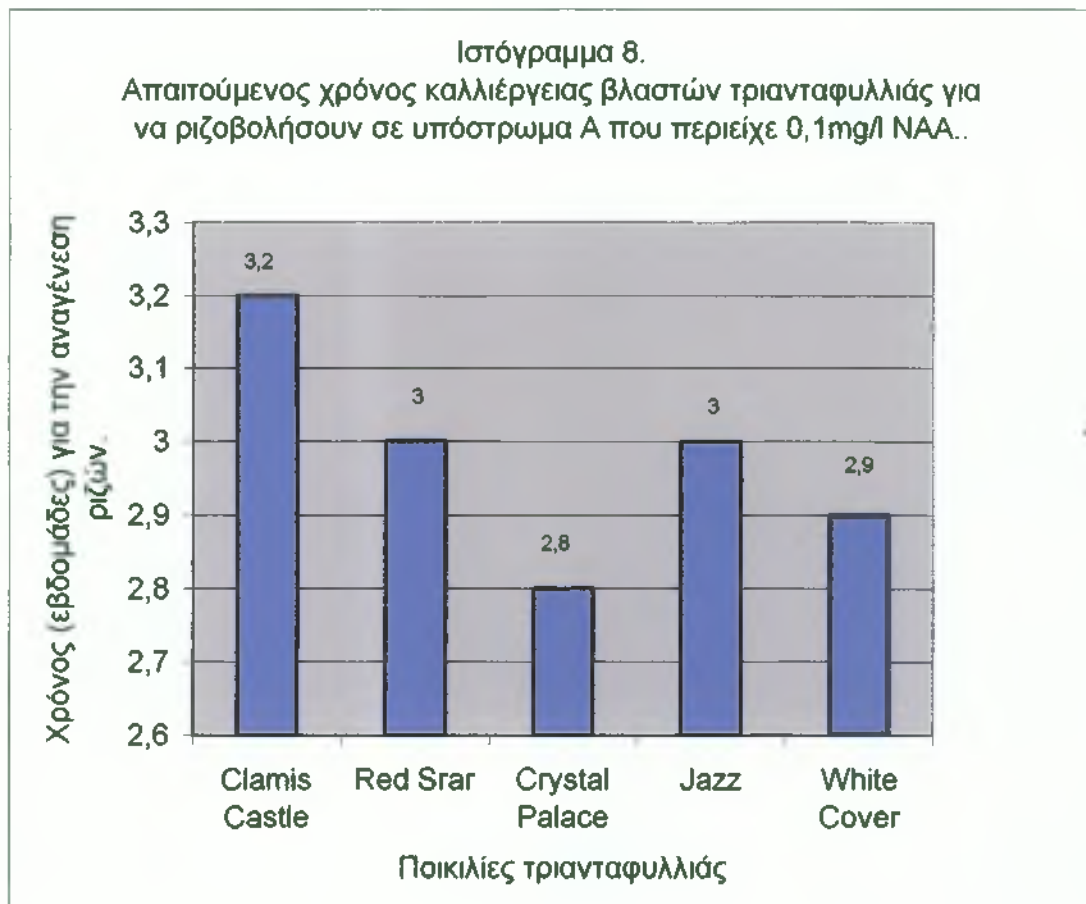
2. Η προσθήκη στο υπόστρωμα 1mg/l NAA και 0,1mg/l GA₃ είχε τα εξής αποτελέσματα.



Η προσθήκη GA₃ στο υπόστρωμα M3 είχε σαν συνέπεια την μείωση του χρόνου ανάπτυξης των ριζών στα έκφυτα και συγκεκριμένα στην ποικιλία *Crystal Palace*

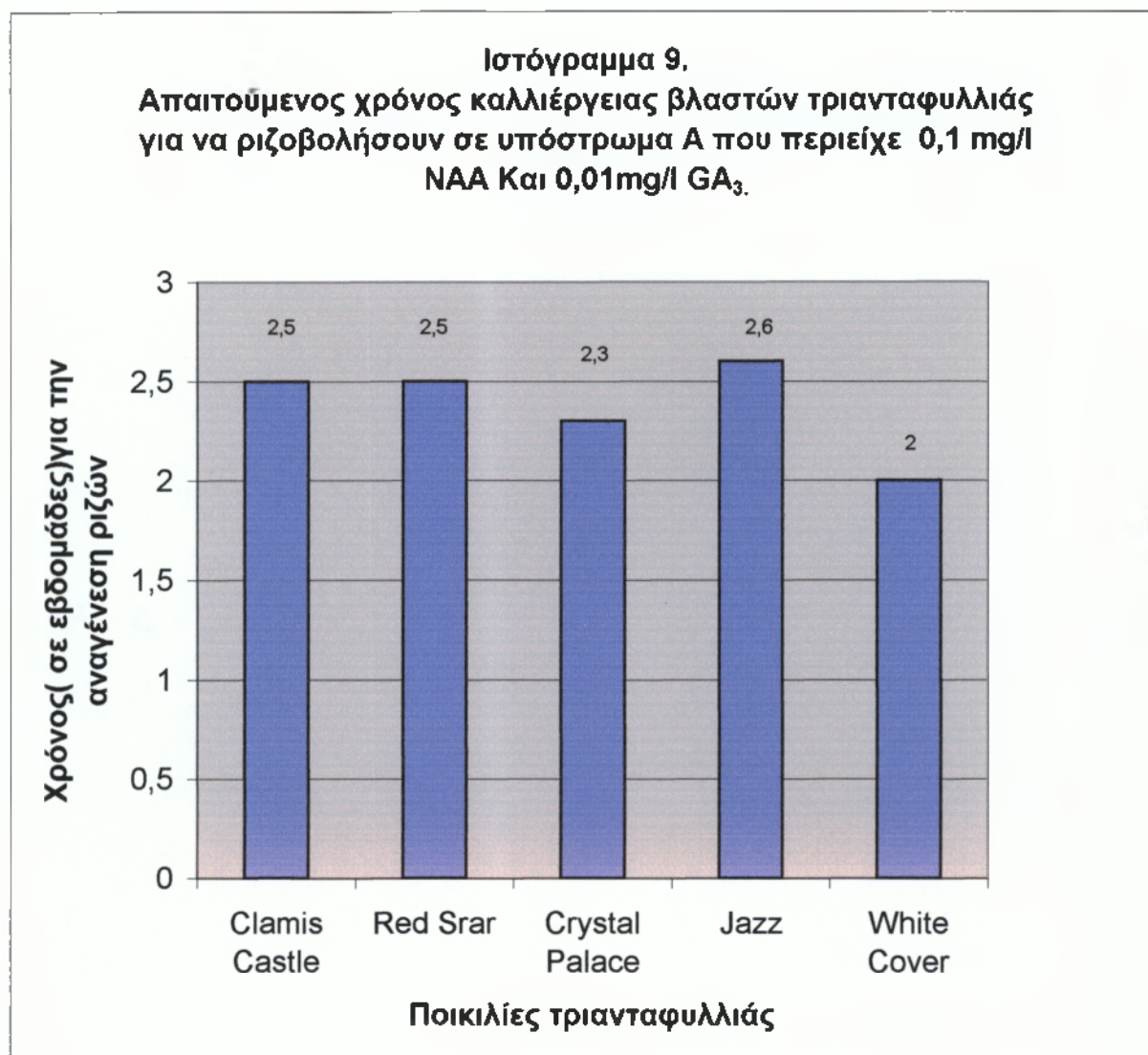
ήταν 2,8, στην ποικιλία *Clamis Castle* 3, στην ποικιλία *White Cover* 3, στην ποικιλία *Red Star* 3,2, στην ποικιλία *Jazz* 3,5.

3. Η συγέντρωση 0,1mg/l NAA στο υπόστρωμα είχε την εξής επίδραση στην παραγωγή ριζών.



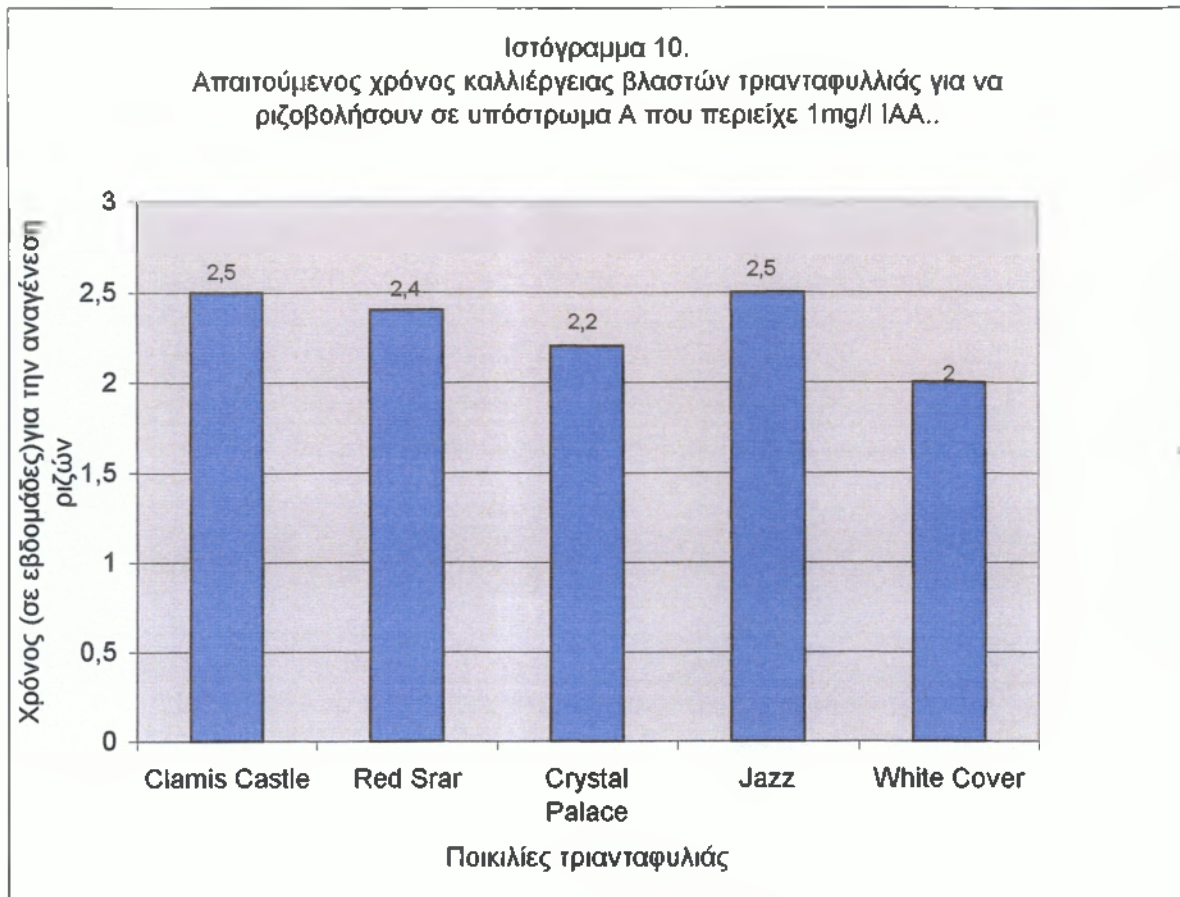
Η Μείωση της ποσότητας NAA μείωσε και τον απαιτούμενο χρόνο για να ριζοβολήσουν τα έκφυτα. Η ποικιλία *Crystal Palace* παρουσίασε τον μικρότερο χρόνο 2,8 εβδομάδες σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ποικιλίες, στη ποικιλία *White Cover* αυξήθηκε ο χρόνος κατά 0,1 εβδομάδες, στις ποικιλίες *Red Star* και *Jazz* ο χρόνος ήταν ίδιος, 3 εβδομάδες και η ποικιλία *Clamis Castle* στις 3,2 εβδομάδες.

4. Ο συνδυασμός της αυξίνης NAA στη συγκέντρωση του 0,1mg/l με GA₃ στη συγκέντρωση του 0,01mg/l είχαν τα εξής αποτελέσματα:



Η προσθήκη της GA₃ στο υπόστρωμα M1 μείωσε τον απαιτούμενο χρόνο. Η ποικιλία *White Cover* παρουσίασε τον μικρότερο χρόνο που ήταν 2 εβδομάδες, στην ποικιλία *Crystal Palace* ο χρόνος ήταν 2,3, για τις ποικιλίες *Clamis Castle* και *Red Star* ο χρόνος ήταν 2,5, και στην ποικιλία *Jazz* ο απαιτούμενος χρόνος ήταν 2,6.

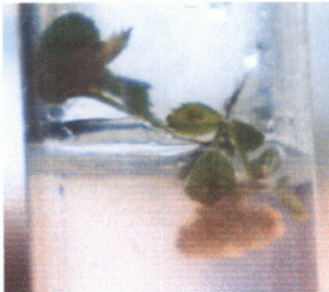
5. Η επίδραση της αυξίνης IAA σε συγκέντρωση 1mg/l στο έκφυτο ,για την ανάπτυξη ριζών είχε τα εξής αποτελέσματα:



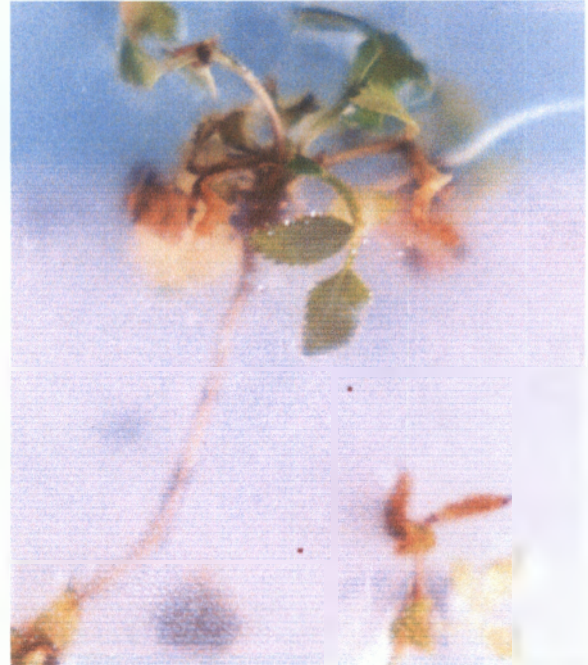
Στο υπόστρωμα M5 τα έκφυτα ανέπτυξαν τις ρίζες σε μικρότερο χρονικό διάστημα σε σύγκριση με τα υπόλοιπα υποστρώματα. Στην ποικιλία *White Cover* ο απαιτούμενος χρόνος ήταν στις 2 εβδομάδες, στην ποικιλία *Crystal Palace* ο χρόνος αυξήθηκε κατά 0,2 εβδομάδες, στην ποικιλία *Red Star* ο χρόνος ήταν 2,4 εβδομάδες και οι ποικιλίες *Clamis Castle* και *Jazz* εμφάνισαν 2,5 εβδομάδες, το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Εικ. 18. Αναγένεση επίκτητων ριζών σε βλαστούς τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε υπόστρωμα Α που περιείχε 0,1mg/l NAA

α. (2-3 εβδ.)

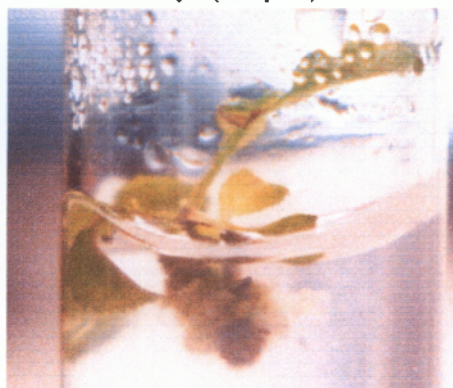


β. (4 εβδομ.)



Εικ. 19. Αναγένεση επίκτητων ριζών σε βλαστούς τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε υπόστρωμα Α που περιείχε 0,1mg/l NAA και 0,01mg/l GA₃

γ. (2 εβδομ.)



δ. (3,5 εβδομ.)



Εικ. 20. Αναγένεση επίκτητων ριζών σε βλαστούς τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε υπόστρωμα Α που περιείχε 1,0 mg/l NAA

ε. (3 εβδ.)



Εικ. 21. Αναγένεση επίκτητων ριζών σε βλαστούς τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε υπόστρωμα Α ου περιείχε 1mg/l NAA και 0,1mg/l GA₃

στ. (3 εβδομάδα)



Εικ. 22. Αναγένεση επίκτητων ριζών σε βλαστούς τριανταφυλλιάς που καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε υπόστρωμα Α που περιείχε 1mg/l IAA

ζ. (3 εβδομάδες)



Τέλος, αφού οι βλαστοί ριζοβολήσουν ακολουθήθηκαν οι διαδικασίες που περιγράφηκαν, για την σκληραγώγηση των φυτών και την μεταφορά τους στο φυσικό περιβάλλον.

Αφού έγινε με επιμέλεια ξέπλυμα των παραχθέντων *in vitro* φυταρίων, πριν την τοποθετησή τους σε φυσικό υπόστρωμα τοποθετήθηκε στον θάλαμο σκληραγώγησης.

Οι συνθήκες αρχικά ήταν με αυτές *in vitro* και σταδιακά η θερμοκρασία ή υγρασία και ο φωτισμός μειώνονταν μέχρι αυτές φτάσουν τα επίπεδα του περιβάλλοντος.



Εικ. 23. Φυτό το οποίο παράχθηκε *in vitro*.

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

α. Αναγένεση επίκτητων οφθαλμών.

Από την καλλιέργεια εκφύτων ακραίων οφθαλμών τριανταφυλλιάς στα διάφορα θρεπτικά υποστρώματα διαπιστώθηκε ότι τα καλύτερα αποτελέσματα, αναφορικά με την αναγένεση επίκτητων οφθαλμών, προέκυψαν στο υπόστρωμα που περιείχε 0,5 mg/l BAP και 0,05 mg/l NAA. Ακολούθησαν σε σειρά ακαταλληλότητας τα υποστρώματα που περιείχαν 1,0 mg/l BAP ή 2,0 mg/l BAP και αυτών το υπόστρωμα που ήταν εφοδιασμένο με 0,1 mg/l BAP. Τα ελαχίστως κατάλληλα ή ακατάλληλα ήταν το υπόστρωμα που περιείχε 10 mg/l BAP.

Διαπιστώθηκε επίσης ότι όταν στο υπόστρωμα που περιείχε 1 mg/l BAP προσθέτονταν και 0,1 mg/l GA₃ τότε αυξάνονταν ο αριθμός των επίκτητων οφθαλμών ανά έκφυτο.

Από τις ποικιλίες τριανταφυλλιάς που χρησιμοποιήθηκαν, τον μεγαλύτερο αριθμό από μεριστωματικά έκφυτα έδωσε οι *Clamis Castle* και *Red Star*. Η *Jazz* έδωσε το μικρότερο αριθμό οφθαλμών.

β. Εξέλιξη οφθαλμών σε βλαστούς με ταυτόχρονη αναγένεση επιπλέον επίκτητων οφθαλμών σε επανακαλλιέργειες.

Στο δεύτερο μέρος του πειράματος το θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 2 mg/l BAP έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα ως προς τον αριθμό νέο - παραχθέντων οφθαλμών.

Η προσθήκη 0,1 mg/l GA₃ στο 1 mg/l BAP αύξησε λίγο τον αριθμό των οφθαλμών.

Ως προς την επιμήκυνση των βλαστών στο θρεπτικό υπόστρωμα A.1 (0,1 mg/l BAP) παρουσιάστηκε η μεγαλύτερη και στο θρεπτικό υπόστρωμα A.6 (1 mg/l BAP+0,1 mg/l GA₃) μειώθηκε ελάχιστα.

Την μικρότερη επιμήκυνση εμφάνισε το θρεπτικό υπόστρωμα A.3 (2 mg/l BAP).

Η μεγαλύτερη επιμήκυνση βλαστών παρατηρήθηκε στις ποικιλίες *Jazz* και *White Cover*, και η μικρότερη στις ποικιλίες *Clamis Castle* και *Red Star* (θαμνώδης).

Η ποικιλία της τριανταφυλλιάς παίζει μεγάλο ρόλο κυρίως στον αριθμό επίκτητων οφθαλμών και στην επιμήκυνση των βλαστών.

γ. Αναγένεση επίκτητων ριζών

Στο τρίτο μέρος οι βλαστοί μεταφέρθηκαν σε υπόστρωμα με κατάλληλο για την αναγένεση επίκτητων ριζών.

Στο θρεπτικό υπόστρωμα στο οποίο είχε προστεθεί GA_3 , το χρονικό διάστημα για την εμφάνιση ριζών ήταν πιο σύντομο. Ο συνδυασμός $0,1\text{mg/l NAA}+0,01\text{mg/l } GA_3$ βοήθησε το έκφυτο να εμφανίσει τις πρώτες ρίζες σε 2,5 εβδομάδες ενώ χωρίς GA_3 χρειάστηκαν 3,2 εβδομάδες.

Η αυξίνη 1mg/l IAA είχε και αυτή εξίσου ικανοποιητικά αποτελέσματα με την $0,1\text{mg/l NAA}+0,01\text{mg/l } GA_3$.

Η αύξηση της NAA από $0,1\text{mg/l}$ σε $1,0\text{mg/l}$ είχε σαν συνέπεια την αύξηση του χρόνου στις 4 εβδομάδες. Ο χρόνος μειώθηκε στις 3 εβδομάδες με την προσθήκη $0,1\text{mg/l } GA_3$.

Ο παράγοντας ποικιλίες τριανταφυλλιάς δεν έπαιξε σημαντικό ρόλο.

VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μεριστώματα τριανταφυλλιάς 0,5mm περίπου με δυο-τρεις καταβολές φύλλων, καλλιεργήθηκαν *in nitro* (σε ασηπτικές συνθήκες), σε βασικό θρεπτικό υπόστρωμα Α με διάφορους τύπους και συγκεντρώσεις ρυθμιστών της αύξησης. Τα έκφυτα προέρχονταν από πέντε ποικιλίες, την *Clamis Castle*, *Red Star*, *Crystal Palce*, *Jazz* και *White Cover*.

Στην αρχή το βασικό θρεπτικό υπόστρωμα Α εμπλουτίστηκε με BAP σε συγκεντρώσεις 0,1mg/l, 1mg/l, 2mg/l, 10mg/l, 1mg/lBAP+0,1mg/l GA₃ και 0,5mg/l BAP+ 0,05mg/l NAA με σκοπό την ανάπτυξη του μεριστώματος.

Στη συνέχεια μετά το πέρασμα του χρονικού διαστήματος των 3 -4 εβδομάδων έγινε μεταφορά των εκφύτων σε θρεπτικό υπόστρωμα με τις ίδιες συγκεντρώσεις ρυθμιστών αύξησης, και ακολούθησε στο τέλος της τρίτης εβδομάδας καταγραφή των αποτελεσμάτων.

Καλύτερα αποτελέσματα παρουσίασε η συγκέντρωση 0,5mg/l BAP+0,05mg/l NAA.

Μετά την ανάπτυξη των μεριστωμάτων και την αναγένεση επίκτητων οφθαλμών, έκφυτα μεγέθους 5 mm περίπου, με σκοπό την ανάπτυξη των οφθαλμών σε βλαστούς και την απόκτηση νέων επίκτητων οφθαλμών, τοποθετήθηκαν σε υπόστρωμα 0,1mg/l BAP, 1mg/l BAP, 2mg/l BAP, και 1mg/l BAP+0,1mg/l GA₃.

Ο μεγαλύτερος αριθμός επίκτητων βλαστών επιτέχθηκε με την συγκέντρωση 2 mg/l BAP, ενώ για την ανάπτυξη των βλαστών ήταν η συγκέντρωση 0,1mg/l BAP και 1mg/l BAP+0,1mg/l GA₃.

Μετά την απόκτηση ικανοποιητικού μήκους βλαστών και προκειμένου αυτά να ριζοβολήσουν χρησιμοποιήθηκε το θρεπτικό υπόστρωμα Α σε συνδυασμό

με ρυθμιστές αύξησης: 0,1mg/l NAA, 0,1mg/l NAA+0,01mg/l GA₃, 1mg/l NAA, 1mg/l NAA+0,1mg/l GA₃, 0,5mg/l NAA και 1mg/l IAA.

Καλύτερα αποτελέσματα παρουσίασε η 1mg/l IAA και 0,1mg/l NAA+0,01mg/l GA₃.

Τα ριζοβολημένα φυτά μεταφέρθηκαν στο φυσικό περιβάλλον.

VII. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.

- Γιατράκης, Γ. και Κέκης, Γ. (1989). *Ανθοκηπευτικές καλλιέργειες – Ανθοκομικές καλλιέργειες* έκδοση Ίδρυμα Ευγενιδίου, Αθήνα.
- Ζαχαρόπουλος, Ι. (1984). *Ανθοκομία-Ανθοτεχνική Γενική & Ειδική* έκδοση Ψύχαλου Αθήνα.
- Ζαχαρόπουλος, Ι. (1997). *Δεντροτεχνική Γενική και Ειδική* έκδοση Ψυχάλου Αθήνα.
- Κανάκης, Α. (2001). *Μαθήματα Ιστοκαλλιέργειας. Παραγωγή Φυτικού Πολλαπλασιαστικού Υλικού*. Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας, Καλαμάτα.
- BRICKELL C. (1992). *The ROYAL HORTICULTURAL SOCIETY ENCYCLOPEDIA OF GARDENING*
- Κιούσης, Γ., Κουτέπας, Ν. και Ταμβακής, Ν., (1995). *Εργαστήριο Ανθοκομίας – Κηποτεχνίας*, Αθήνα
- CATHY WILDINSON BARASW (1991). *ROSE An Illustrated Identifier and Cuttle Cultivation* Apple Press Londn.
- GEORGE, E.F. (1993). *Plant Propagation by Tissue Culture. Part 2 pp 947-949*
- AVRAMIS, T., HUGART, J. & JONARTD, R. 1982 a. *La multiplication in vitro du rosier porte-graffe Rose major.*
- AVRAMIS, T., HUGART, J. & JONARTD, R. 1982 b *Exaltration des potentialités rhizogènes be pousses feuillées de rosier multripliées in vitro a l' aide de trempage avant leur ensemencement direct sur substrat horticole, dans des solytions minérales additionnées ou non de saccharose et d' acide naphthalene- acetique.*
- Νούσης, Ι. (1989). *Σύγχρονη Ανθοκομία και Κηποτεχνία* έκδοση Καλλιεργητής Αθήνα.
- Νούσης, Ι. (1984). *Γενική Δενδροκομία*. Έκδοση Γρηγόρης Μπούκας Αθήνα.
- Σφακιωτάκης, Ε. (1993). *Γενική Δεντροκομία* έκδοση τυρο ΜΑΝ Θεσσαλονίκη.

- Σφακιωτάκης, Ε. (1993). *Δενδρώδης Καλλιέργειες* έκδοση Ίδρυμα Ευγενιδίου Αθήνα.
- Ποντίκης, Κ. (1997). *Γενική Δεντροκομία*. έκδοση Α. Σταμούλης Αθήνα.
- Ποντίκης Κ. (1994). *Πολλαπλασιασμός Καρποφόρων Δένδρων και Θάμνων*. έκδοση Σταμούλης, Αθήνα.
- Κιτσάκη, Χ. (1992). *Ρυθμιστικοί παράγοντες της αύξησης και διαφοροποίηση στα φυτά*. έκδοση Γεώργιος Πατπιστής Αθήνα.
- Κίντζιος Ε. (1994). *Επιχειρηματική Ιστοκαλλιέργεια*. έκδοση Σταμούλης Αθήνα.
- Πασπάτης Ε. (1998). *Φυτορρυθμιστικές Ουσίες (Φυτορμόνες)* εκδόσεις Αγρότυπος, Αθήνα.
- Ελευθερίου Ε. (1994). *Τεχνολογία Φυτικού Πολλαπλασιαστικού Υλικού*. Εκδόσεις Art pf Text. Θεσσαλονίκη.
- Καταρτζής Ν. (1999). *Ανθοκομία. Φυλλοβόλοι Καλλωπιστικοί Θάμνοι για την Αρχιτεκτονική και Αρχιτεκτονική του τοπίου*.
- GIGLIOLA MAGRINI. (1986). *Η Τριανταφυλλιά*. εκδόσεις Ψυχάλου, Αθήνα.
- SMILLAR CAULF PATRICK M. SYNGE (1987). *The Dictionary of Roses*, εκδόσεις Michael Joseph Limitedl Great Britain.
- WRIGHT R.C.M.(1986) *Πολλαπλασιάστε εύκολα τα φυτά σας*. εκδόσεις Π. Κουτσούμπος Α.Ε. Αθήνα.
- ALVAREZ JUAN ANTONIO *Οι εμβολιασμοί των καρποφόρων και καλλωπιστικών* εκδόσεις Ψυχάλου Αθήνα.
- Νούσης Ι. (1979). *Η Τριανταφυλλιά* εκδόσεις Γ.Μπούκας Αθήνα.
- Υφούλης Α. (1997). *Φυτική παραγωγή* εκδόσεις Ίδρυμα Ευγενιδίου Αθήνα
- Σφακιωτάκης Ε. (1984). *Μαθήματα Γενικής Δενδροκομίας Τόμος Α* εκδόσεις Π. Ζήτη Ο.Ε. Θεσσαλονίκη.

Καραμπέτσος Ι. (1999). *Φυσιολογία Φυτών*, Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας, Καλαμάτι.