

ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (ΑΤΕΙ) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ: ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ

Ιστοκαλλιέργεια Στη Γαρυφαλιά

*Πτυχιακή Εργασία
Του Σπουδαστή
Σταύρου Μούγιου*

Καλαμάτα 2005

ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (ΑΤΕΙ) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ: ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ

Ιστοκαλλιέργεια

Στη Γαρυφαλιά

Εισηγητής Δρ. Ανδρέας Κανάκης

Πτυχιακή Εργασία
του σπουδαστή
Στάθρου Μούγιου

Καλαμάτα 2005

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία αναφέρεται στις εφαρμογές της ιστοκαλλιέργειας στη γαρυφαλλιά.

Από τη θέση αυτή θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό της θερμοκηπιακής μονάδας Αφοι Κωστελλένου 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 ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή μου κ. Ανδρέα Κανάκη εισηγητή αυτής της μελέτης, για την βοήθεια που πρόσφερε τόσο στη διεξαγωγή αυτής της εργασίας, όσο και στη διόρθωσή της.

Σταύρος Μούγιος

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.	Περιγραφή της καλλιέργειας της γαρυφαλλιάς	5
1.1.	Βοτανική κατάταξη της γαρυφαλλιάς	6
1.2.	Καταγωγή και εξέλιξη της γαρυφαλλιάς	7
1.3.	Καλλιέργεια της γαρυφαλλιάς	9
1.3.1.	Φύτευση	9
1.3.2.	Κορυφολόγημα και υποστύλωση	10
1.3.3.	Άρδευση και λίπανση	10
1.4.	Πολλαπλασιασμός της γαρυφαλλιάς	11
1.4.1.	Θερμοθεραπεία-Μεριστωματικός πολλαπλασιασμός	11
1.4.2.	Μεριστωματικά φυτά	11
1.4.3.	Super Elite φυτά	12
1.4.4.	Elite φυτά ή Φυτομάνες	12
1.5..	Διάγραμμα I: Πορεία παραγωγής-μεριστωματικών φυτών γαρυφαλλιάς	13
1.6.	Διάγραμμα II: Πορεία παραγωγής εμπορικών μοσχευμάτων γαρυφαλλιάς	14
1.7.	Εχθροί και ασθένειες της γαρυφαλλιάς	15
1.8.	Οι κυριώτεροι ιοί της γαρυφαλλιάς	16
2.	Αναγκαιότητα ιστοκαλλιέργειας στη γαρυφαλλιά και πλεονεκτήματα-μειονεκτήματα της ιστοκαλλιέργειας	17
2.1.	Ιστοκαλλιέργεια-αναγκαιότητα ιστοκαλλιέργειας στη γαρυφαλλιά	18
2.2.	Πλεονεκτήματα της ιστοκαλλιέργειας	21
2.3.	Μειονεκτήματα της ιστοκαλλιέργειας	22
3.	Δομή εργαστηρίου της ιστοκαλλιέργειας	24
4.	Εργαστηριακό μέρος	34
4.1.	Συλλογή-προετοιμασία μοσχευμάτων	34
4.2.	Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος	35
4.3.	Πίνακες θρεπτικών υποστρωμάτων	38
4.4.	Καλλιέργεια μεριστωμάτων	42
5.	Αποτελέσματα-συμπεράσματα	44
	Βιβλιογραφία	45
	Παράρτημα φωτογραφιών	47

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ
ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ
ΤΗΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑΣ

1.1. ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΗΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑΣ

Η γαρυφαλλιά που καλλιεργείται για την παραγωγή δρεπτόν ανθέων ανήκει στο γένος *Dianthus*, είδος *caryophyllus* L, στην οικογένεια των καρυοφυλλίδων (*Caryophyllaceae*). Κατάγεται από τη περιοχή που εκτείνεται από την Περσία, διέρχεται από την Μικρά Ασία και φθάνει ως την Ελλάδα.

Η γαρυφαλλιά είναι φυτό ποώδες, πολυετές δικότυλο. Ο βλαστός διακλαδίζεται διχοτομικά και τα γόνατα είναι διογκωμένα. Τα φύλλα είναι απλά, στενά, αντίθετα. Τα άνθη της φέρονται επάκρια, μεμονωμένα, είναι ακτινόμορφα και ερμαφρόδιτα.

Η οικογένεια *Caryophyllaceae* υποδιαιρείται στις υποοικογένειες: *Alsinoideae*, *Ranonychiodae* και *Silenoideae* και περιλαμβάνει συνολικά 80 γένη και περίπου 2.000 είδη.

Στην υποοικογένεια *Silenoideae* ανήκουν οι τομείς (sections) *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' αυτόν 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 «Φυτών Ιστορία» την αναφέρει ως καλλιεργούμενο είδος και το ίδιο ανέφερε και ο Ρωμαίος Πλίνιος το 50 μ.Χ.

Ο Gerard ήδη από το 1597 αναφέρει ότι υπάρχει πλήθος ποικιλιών, ενώ το 1731 σ' ένα από τα πρώτα συγγράματα 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 των ειδών *D. caryophyllus* και *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 να παρατηρήσει, ότι ένα φυτό της ποικιλίας «Mahon», άνθιζε για περισσότερη χρονική διάρκεια από τα άλλα. Η παρατήρηση αυτή, της τυχαίας μετάλλαξης (παρατεταμένη άνθιση), αποτέλεσε την αφετηρία παραγωγής των σύγχρονων γαρυφάλλων.

Στη σύγχρονη επιχειρηματική ανθοκομία, για την παραγωγή δρεπτών ανθέων καλλιεργούνται κυρίως τρία είδη από το γένος *Dianthus*:

A) Το είδος *Dianthus caryophyllus* (carnation), το γνωστό γαρύφαλλο, στο οποίο διαχωρίζονταν οι 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 ANΘΕΚΤΙΚΕΣ ποικιλίες (STANDARD RESISTANT), που είναι υβρίδια και προέρχονται από την κλασική ποικιλία PALLAS και τέλος

4) Τις ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΕΣ ποικιλίες (STANDARD MEDITERRANEAN) που είναι Ιταλικής προέλευσης

Β) Το είδος *Dianthus barbatus* L, γνωστό παλιότερα στην Κεντρική Ευρώπη και τη Ρωσία, καλλιεργείται επίσης και στη χώρα μας.

Γ) Το είδος *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 αγαρύφαλλα 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 παγετόπληκτη). Η προσπάθεια επαναλήφθηκε την περίοδο 1953-1954. Δύο έτη αργότερα, το καλοκαίρι του έτους 1956, η παραγωγή εκμηδενίσθηκε 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 τραπέζια ή σαμάρια ή ραχώνια πλάτους 45 έως 75 cm σε 2 έως 4 ή 6 σειρές στα θερμοκήπια, σε τετραγωνική διάταξη και σε αποστάσεις 15cm X 15cm φυτό από φυτό. Μεταξύ των τραπεζιών υπάρχει διάδρομος πλάτους 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 κατά το οποίο διενεργείται ο εγκλιματισμός των φυτών. Κύριο ρόλο σε αυτό διαδραματίζουν

οι συχνές και σύντομες αρδεύσεις με ένα σύστημα υψηλού υδροκαταιονισμού (μπεκ).

1.3.2. Κορυφολόγημα και υποστύλωση

Την 21^η έως 28^η ημέρα από τη 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) υποστύλωσης. Στο σύνολό τους τοποθετούνται (όλα μαζί ή σταδιακά με την ανάπτυξη των φυτών) 4 έως 5 επίπεδα διχτύων. Τα δίχτυα αυτά είναι από πλαστικό και οι διαστάσεις των οπών τους (μάτια) είναι 15cm X 15cm.

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 υδροκαταιονισμού, για να αποφεύγονται οι ασθένειες του φυλλώματος. Η συχνότητα των αρδεύσεων κυμαίνεται από 4 φορές το μήνα το χειμώνα έως 12 φορές το μήνα, το καλοκαίρι. Η συνολική ποσότητα νερού που απαιτείται είναι 700-1000 m³ 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 στεραιά λιπάσματα, τότε πρέπει να δίδεται ιδιαίτερη προσοχή ώστε να μην έρχονται σε επαφή τα λιπάσματα με το φύλλωμα των φυτών, για 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 ένας 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 °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 άρριζα μοσχεύματα, τα οποία στη συνέχεια υποβάλλονται στη διαδικασία της ριζοβόλησης. Τα έριζα μοσχεύματα που θα προκύψουν ονομάζονται Super Elite φυτά.

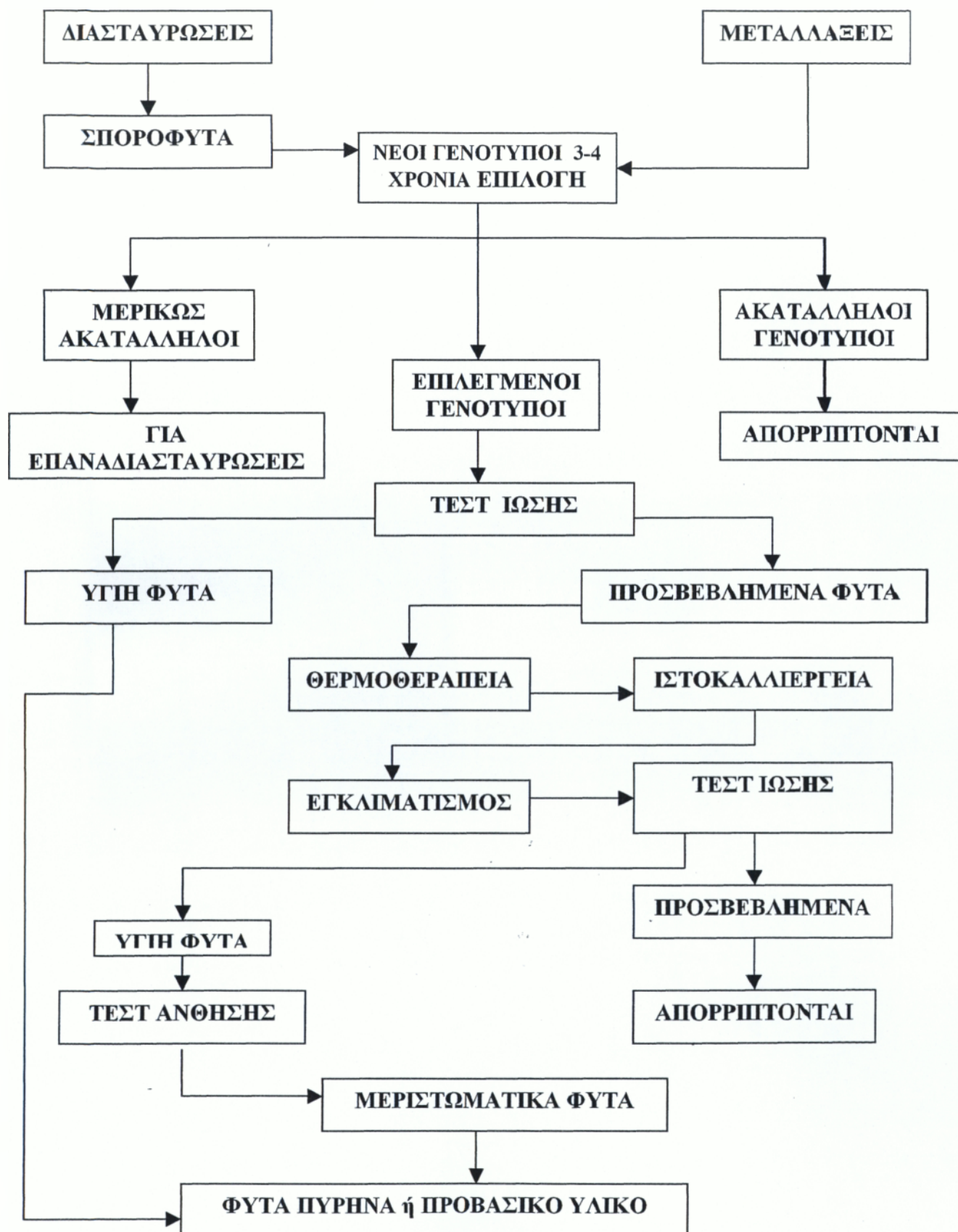
1.4.3. Super Elite φυτά (3^ο στάδιο)

Τα Super Elite φυτά (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 ριζοβόληση. Τα έριζα μοσχεύματα που θα προκύψουν, ονομάζονται «Φυτομάνες» ή Elite φυτά.

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

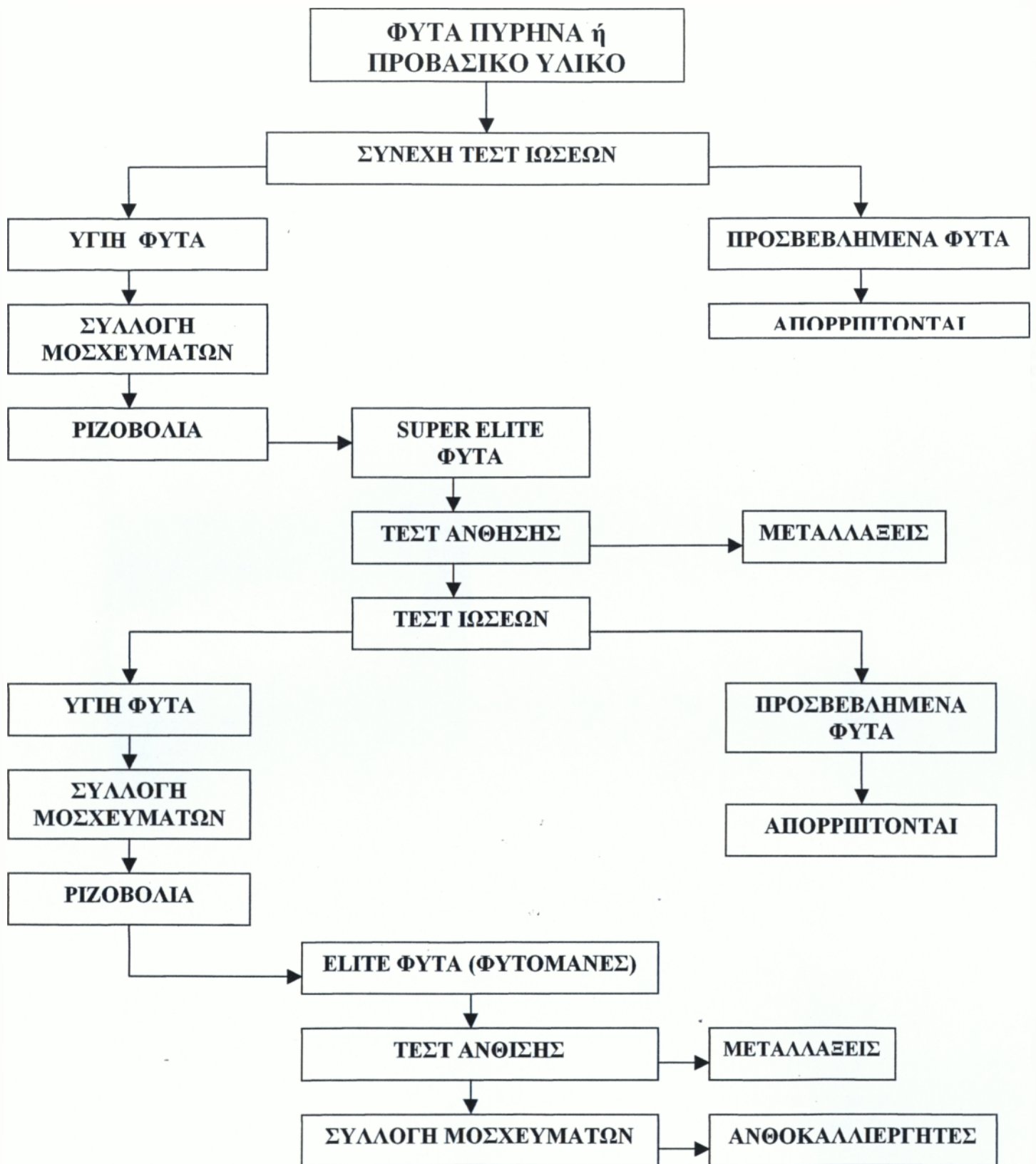
Τα Elite φυτά ή φυτομάνες, είναι το 4^ο και τελικό στάδιο πολλαπλασιασμού της γαρυφαλλιάς στο φυτώριο. Τα μοσχεύματα που λαμβάνονται από τις φυτομάνες, εφ' όσον ριζοβολήσουν, παραδίδονται στους παραγωγούς για καλλιέργεια. Οι φυτομάνες φυτεύονται σε θερμοκήπια, επάνω σε απολυμασμένα υπερυψωμένα παρτέρια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

1.5. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ I: Πορεία παραγωγής μεριστωματικών φυτών γαρυφαλλιάς.



Πηγή: Βλασιάκη Ευαγγελία (πτυχιακή εργασία ΤΕΙ Θεσ/νίκης)

1.6. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΙΙ: Πορεία παραγωγής εμπορικών μοσχευμάτων γαρυφαλλιάς



Πηγή: Βλασάκη Ευαγγελία (πτυχιακή εργασία ΤΕΙ Θεσ/νίκης)

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, φυλλορίκτες κ.α., τα οποία συνήθως είναι δευτερεύουσας σημασίας.

Από τις ασθένειες οι σημαντικότερες είναι:

1. Αδρομυκώσεις:

α) αδρομύκωση οφειλόμενη στο μύκητα *Fusarium oxysporum* f. Sp. *dianthi*.

β) αδρομύκωση οφειλόμενη στο μύκητα *Verticillium sinerescens* (*Phialophora sinerescens*).

2. Ριζοκτονίαση: Οφείλεται στο μύκητα *Phizoctonia solani*.

3. Σκληρωτινίαση: Οφείλεται στο μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*

4. Ο μύκητας *Phytophthora* spp προξενεί σήψη λαιμού και ριζών.

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

1. Αλτερναρίαση: Οφείλεται στους μύκητες *Alternaria dianthi* και *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 το μύκητα *Bothytis cinerea* που προκαλεί την ασθένεια «τεφρά σήψη».

1.8. ΟΙ ΚΥΡΙΟΤΕΡΟΙ ΙΟΙ ΤΗΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑΣ

Οι σημαντικότεροι ιοί που προσβάλλουν τη γαρυφαλλιά είναι:

1. Car MV: Είναι ο πιο διαδεδομένος ιός που προσβάλλει τη γαρυφαλλιά.
2. CVMV: Νηματοειδής μήκους 750-790nm, potvirus.
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. Carev: Σφαιροειδής μήκους 29nm, criptici.

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

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

2.1. ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ-ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΤΗ ΓΑΡΥΦΑΛΛΙΑ

Μικροπολλαπλασιασμός (ιστοκαλλιέργεια) είναι η τεχνολογία της παραγωγής φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού από πολύ μικρά φυτικά τμήματα (ιστούς 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. Στη πραγματικότητα όμως δεν πρόκειται πάντοτε για καλλιέργεια ιστών, αλλά για ασηπτική καλλιέργεια κάτω από εργαστηριακές 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 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 Schleden το 1838, ενώ η ενόραση της εξέλιξης του μικροπολλαπλασιασμού αποδίδεται στο Γερμανό Βοτανικό Vochting (1878), ο οποίος ισχυρίστηκε ότι «σε κάθε φυτικό τμήμα, όσο μικρό κι αν είναι, υπάρχουν όλα τα στοιχεία από τα οποία μπορεί να ανασυγκροτηθεί ολόκληρο το φυτικό σώμα». Ο επίσης Γερμανός φυτολόγος Haberland (1902), πρόβλεψε ότι «κάποια μέρα θα είναι δυνατή η απόκτηση

τεχνητών εμβρύων από καλλιέργεια βλαστητικών κυττάρων». 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 (1937-1939).

Η ανακάλυψη του ανεξάρτητου ρόλου των κυτοκινίνων και των αυξινών στην αναγένεση βλαστού και ριζών από καλλιέργειες κάλλων καπνού από τους Skoog και Miller (1957), καθιέρωσε τη βάση της επαγωγής της οργανογένεσης 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 εμβρυογένεση από καλλιέργειες κάλλου καρότου (Remey 1959), η δημιουργία απλοειδών φυτών από καλλιέργεια γυρεοκόκκων, η απομόνωση φυτικών πρωτοπλαστών (από διάφορους ερευνητές στη δεκαετία του '60) και ο σωματικός υβριδισμός (Carlson *et al.* 1972).

Η πρακτική εφαρμογή των μεθόδων του μικροπολλαπλασιασμού στην αναγένεση 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 στη γαρυφαλλιά για δύο λόγους:

α) για την απαλλαγή των φυτών από τις ιώσεις σε συνδυασμό με τη θερμοθεραπεία

β) για τη γενετική βελτίωση.

Όσον αφορά τον πρώτο λόγο, η ιστοκαλλιέργεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν μέθοδος απόκτησης φυτών υγιών, δηλαδή καθαρών από ιούς και άλλες ασθένειες έστω και αν αυτά προέρχονται από φυτά μολυσμένα. Αυτή η τεχνική

βασίζεται στο γεγονός ότι οι ιοί, δεν βρίσκονται στα κορυφαία μεριστώματα και σε μερικά 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 ειδικές δοκιμές ελέγχου, π.χ. τεχνική **elisa** ή φυτά δείκτες.

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

1. Αποφυγή ή επιλογή φυσικών μεταλλάξεων ανάλογα με τους χαρακτήρες τους.
2. Εφαρμογή μεταλλαξογόνου στο θρεπτικό υπόστρωμα για πρόκληση μετάλλαξης.
3. Δημιουργία απλοειδών φυτών από γύρη ή ωάρια.
4. Γενετική μηχανική.

2.2. ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Τα βασικά πλεονεκτήματα της ιστοκαλλιέργειας είναι:

1. Η δυνατότητα μαζικής παραγωγής κλωνικών φυτών. Ο θεωρητικός ρυθμός αναπαραγωγής της ιστοκαλλιέργειας είναι εξαιρετικά μεγάλος. Αρχίζοντας από ένα εκφυτό και πολλαπλασιάζοντάς το με ρυθμό παραγωγής δέκα φυτά το μήνα, είναι δυνατόν μέσα σε έξι μήνες να πάρει κανείς 1.000.000 πανομοιότυπα φυτά.
2. Η ταχεία εισαγωγή στην παραγωγική διαδικασία νέων ή βελτιωμένων ποικιλιών που δημιουργούνται στα βελτιωτικά προγράμματα.
3. Η διευκόλυνση παραγωγής άνοσου φυτικού υλικού, κυρίως από ιούς, βακτήρια και μύκητες, έστω και αν αυτό προέρχεται από μολυσμένα φυτά. Αυτό καθίσταται πιο αποτελεσματικό όταν η ιστοκαλλιέργεια συνδυάζεται με θερμοθεραπεία.

2.3. ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Τα βασικά μειονεκτήματα της ιστοκαλλιέργειας είναι:

1. Το υψηλό κόστος που απαιτείται για τη δημιουργία των εξειδικευμένων εγκαταστάσεων, την προμήθεια του εξοπλισμού και τη λειτουργία τους.
2. Το ιδιαίτερα εξειδικευμένο προσωπικό που θα επιλαμβάνεται των εργασιών, οι οποίες πρέπει να γίνονται σε ασηπτικές συνθήκες.
3. Η αυξημένη επιτήρηση και ο έλεγχος του παραγόμενου υλικού για τον εντοπισμό των μολυσμένων (ιωμένων) φυτών και των ανεπιθύμητων μεταλλάξεων.

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:

- Συσκευές απολύμανσης ξηρού αέρα μεταξύ προπαρασκευαστηρίου και παρασκευαστηρίου
- Συσκευή μονής απόσταξης
- Συσκευή διπλής απόσταξης
- Συσκευή στήλης απιονισμού
- Τράπεζα εργασίας
- Παροχή νερού-αποχέτευση

Στο προπαρασκευαστήριο γίνονται οι παρακάτω εργασίες:

α) αρχικός καθαρισμός του φυτικού υλικού,

β) καθαρισμός υαλικών (δοκιμαστικών σωλήνων και φιαλών) που επιστρέφουν από τα θερμοκήπια στο εργαστήριο και

γ) παραγωγή και αποθήκευση αποσταγμένου και απιονισμένου νερού.

2. Παρασκευαστήριο

Εδώ βρίσκονται:

- Μεγάλη τράπεζα εργασίας
- πεχάμετρο
- Αγωγιμόμετρο
- Συσκευή υγρής αποστείρωσης
- Ψυγεία
- Ζυγοί ακριβείας
- Παροχή νερού-αποχέτευση
- Αναμεικτής και δοσομετρητής θρεπτικών υποστρωμάτων
- Ηλεκτρικές εστίες θέρμανσης
- Συσκευή απολύμανσης ξηρού αέρα από κοινού με το προπαρασκευαστήριο (συσκευή ξηρής αποστείρωσης)

Εδώ γίνονται οι εξής εργασίες:

α) παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος,

β) ζυγίσεις - pH-μετρήσεις και

γ) προετοιμασία φυτικών ιστών πριν την μεταφορά τους στην τράπεζα νηματικής ροής αέρα.

3. Θάλαμος θερμοθεραπείας

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

- παρτέρια ή ράφια,
- λάμπες φθορισμού,

- συσκευές ψύξης-θέρμανσης,
- καταγραφικά θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας και
- παροχή νερού

Στο θάλαμο θερμοθεραπείας τα μολυσμένα γονικά φυτά τοποθετούνται σε γλάστρες στο θάλαμο καλλιέργειας με θερμοκρασία 35-38° C για διάστημα 60 ημερών (σε μερικές περιπτώσεις μέχρι και έξι μήνες). Σε αυτές τις σχετικά υψηλές τιμές θερμοκρασίας οι περισσότεροι ιοί αδρανοποιούνται 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 ιστοκαλλιιεργειών.

4. Αίθουσα τραπεζών νηματικής ροής αέρα

Εδώ βρίσκονται:

- στερεοσκόπια
- συσκευή ξηρής αποστείρωσης εργαλείων και
- τράπεζες νηματικής ροής αέρα

Εδώ γίνονται οι εξής εργασίες:

- α) απολύμανση του φυτικού υλικού,
- β) διαίρεση μοσχευμάτων και απόσπαση εκφύτων,
- γ) τοποθέτηση εκφύτων σε δοκιμαστικούς σωλήνες και
- δ) ταχείες εργασίες όπου απαιτείται απαλλαγμένος από παθογόνα αέρας.

5. Θάλαμος ανάπτυξης.

Ο χώρος θα πρέπει να είναι μονωμένος. Εδώ βρίσκονται:

- ράφια τοποθέτησης φιαλών και δοκιμαστικών σωλήνων και άλλα δοχεία εκφύτων,
- λαμπτήρες φθορισμού,
- σύστημα κλιματισμού και
- καταγραφικό σχετικής υγρασίας και θερμοκρασίας.

6. Ψυγείο

Εδώ βρίσκονται:

- Συσκευές ελέγχου θερμοκρασίας και υγρασίας

Το ψυγείο μπορεί να είναι και εκτός χώρου εργαστηρίου. Στο ψυγείο γίνεται:

- αποθήκευση υποστρώματος,
- αποθήκευση φυτικού υλικού σε φιάλη και
- αποθήκευση φυτών μέχρι την προετοιμασία για την ιστοκαλλιέργεια, για μικρό χρονικό διάστημα.

7. Βοηθητικοί χώροι

- Αποθήκη
- Γραφεία
- Τουαλέτα

8. Θερμοκήπιο-εγκλιματιστήριο

Είναι χώρος με εντομογενές πλέγμα (σίτα). Εδώ υπάρχουν:

- Υπερυψωμένα παρτέρια
- Σύστημα σκίασης
- Σύστημα υδρονέφωσης
- Προαιρετική υπεδάφια θέρμανση

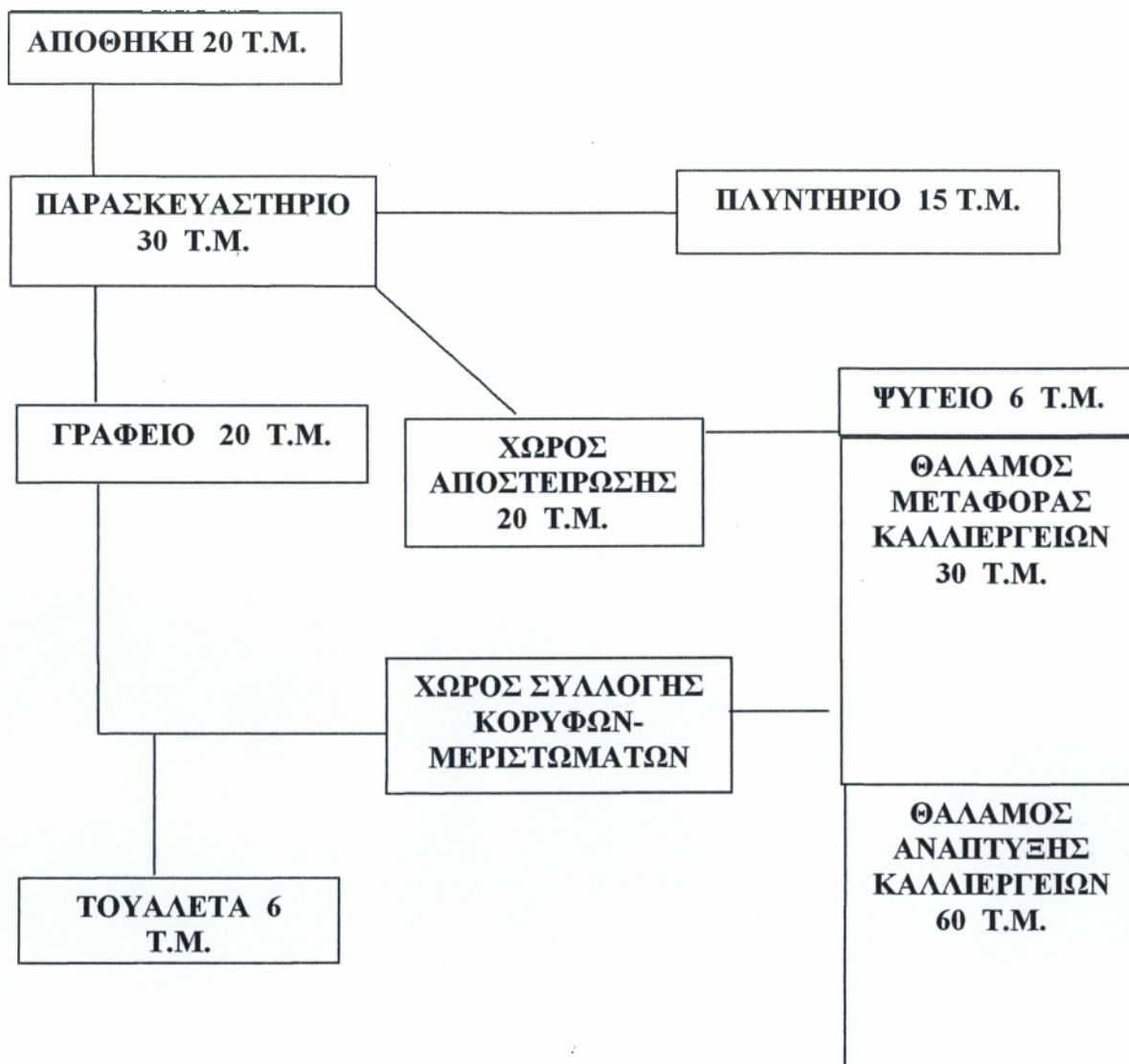
Εδώ γίνεται:

- εξαγωγή των φυτών από τις φιάλες ή τους δοκιμαστικούς σωλήνες και η τοποθέτησή τους στα εδαφικά υποστρώματα,
- εγκλιματισμός φυτών και
- Ανάπτυξη των φυτών.

Ο έλεγχος της καθαρότητας των νέων φυτών είναι θεμελιώδης εργασία 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-Immuno-sorbent-Assay).

Παρακάτω ακολουθούν μερικά σχέδια δομής εργαστηρίων ιστοκαλλιέργειας.

1. Απαιτούμενοι χώροι για ένα εργαστήριο ιστοκαλλιέργειας.



ΘΕΡΜΟΘΕΡΑΠΕΙΑ
INDEXING

ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟ ΕΝΤΟΜΟΣΤΕΓΗΣ ΚΛΩΒΟΣ
ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟ ΕΝΤΟΜΟΣΤΕΓΗΣ ΚΛΩΒΟΣ

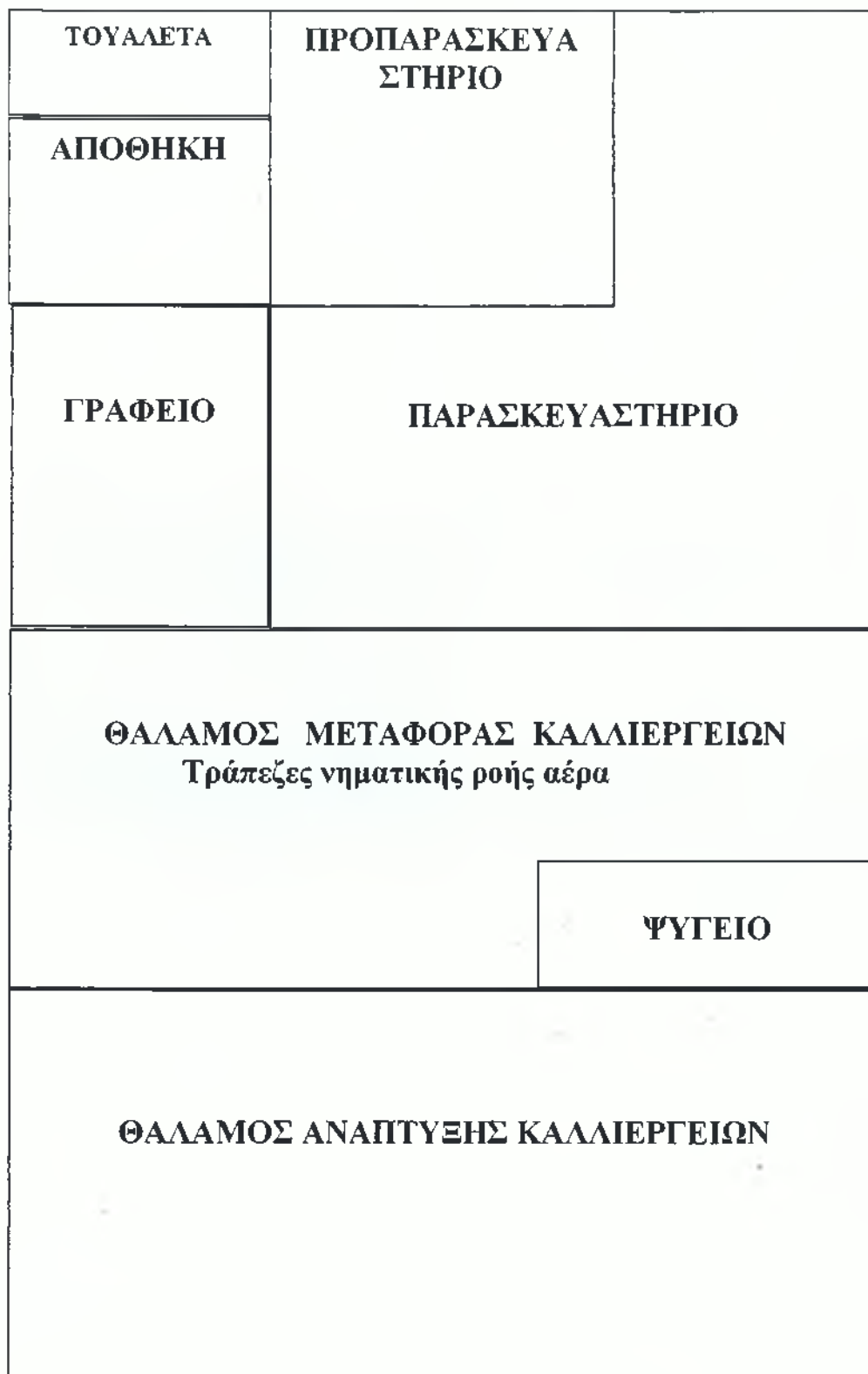
Πηγή: Αθαν. Ρούμπος Καθηγητής Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης.

2. Σχέδιο εργαστηρίου ιστοκαλλιέργειας μεγάλης δυναμικότητας.

ΨΥΓΕΙΟ	ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΡΙΟ	ΑΠΟΘΗΚΗ	
ΠΡΟΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΡΙΟ			
ΘΑΛΑΜΟΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ (Τράπεζες νηματικής ροής αέρα)		ΔΙΑΔΡΟΜΟΣ	ΤΟΥΑΛΕΤΑ
			ΤΟΥΑΛΕΤΑ
		ΧΩΡΟΣ ΥΠΟΔΟΧΗΣ	
		ΓΡΑΦΕΙΑ	
ΘΑΛΑΜΟΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ			

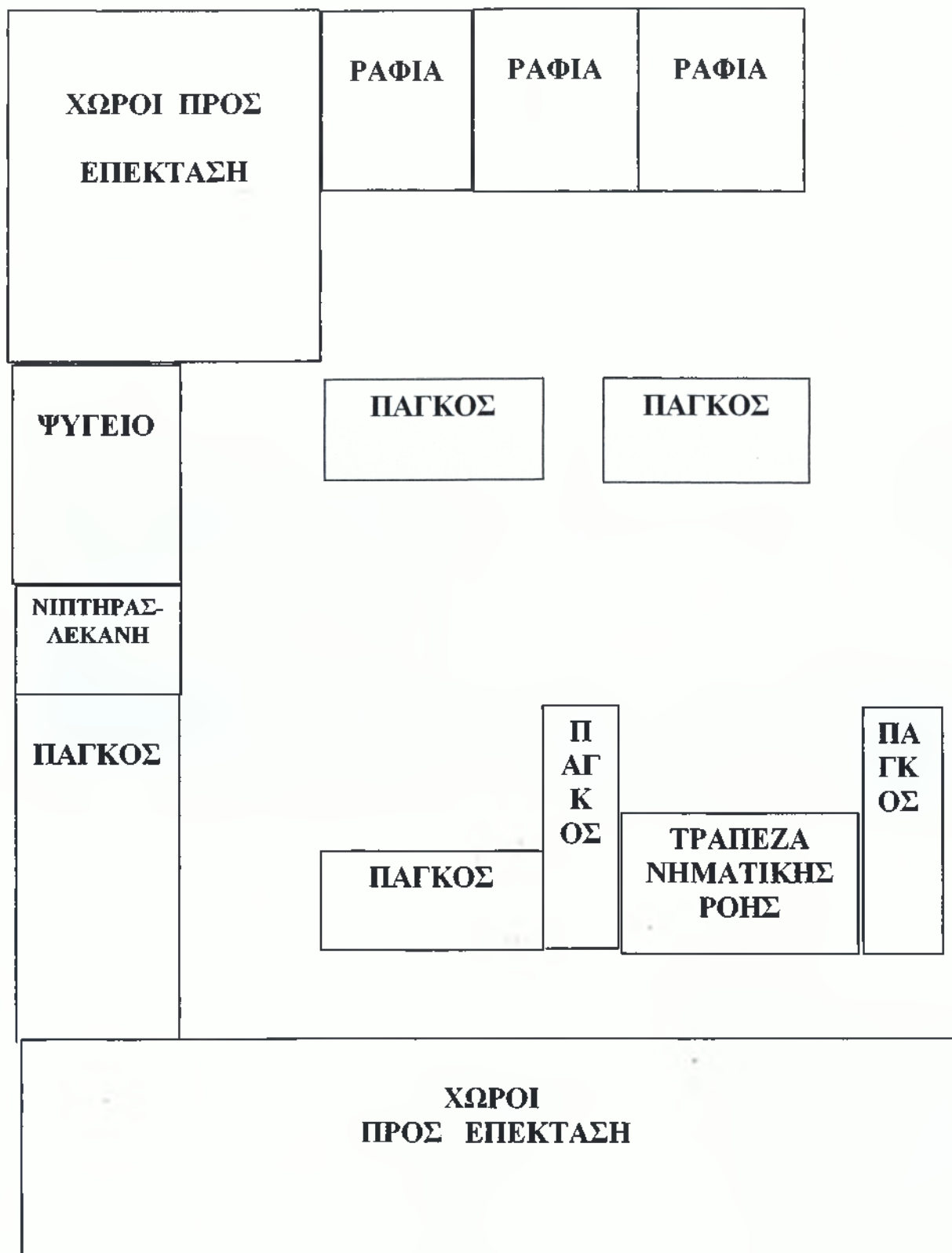
Πηγή: Αθαν. Ρούμπος Καθηγητής Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης.

3. Σχέδιο εργαστηρίου ιστοκαλλιέργειας μέσης δυναμικότητας.



Πηγή: Αθαν. Ρούμπκος Καθηγητής Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης.

4. Σχέδιο εργαστηρίου ιστοκαλλιέργειας μικρής δυναμικότητας.



Πηγή: Αθαν. Ρούμπος Καθηγητής Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης.

ΜΕΡΟΣ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΑΠΟΣΠΑΣΗ ΤΩΝ ΕΚΦΥΤΩΝ

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. Τα μητρικά φυτά αναπτύσσονται σε θάλαμο θερμοθεραπείας όταν είναι προσβλημένα από ιούς και δεν υπάρχουν άλλα υγιή. Τα μοσχεύματα αυτά μετά τη συλλογή τους μεταφέρονται στο προπαρασκευαστήριο.

Στο προπαρασκευαστήριο γίνεται ένας πρώτος έλεγχος των μοσχευμάτων. Στη συνέχεια και εφ' όσον δεν έχουμε εμφανείς προσβολές από βακτήρια, μύκητες, έντομα και ακάρεα μεταφέρονται στο παρασκευαστήριο. Εάν έχουμε εμφανείς προσβολές από μύκητες ή βακτήρια, ψεκάζουμε με φυτοπροστατευτικά σκευάσματα το αρχικό υλικό πριν την συλλογή των μοσχευμάτων και ακολούθως επιλέγουμε τα καταλληλότερα φυτά.

Στο παρασκευαστήριο αφαιρούνται τα εμφανή φύλλα και τα μοσχεύματα τοποθετούνται σε τρυβλία για να μην αφυδατωθούν οι εκτεθειμένοι ιστοί. Εκεί παραμένουν μέχρι τη διαδικασία παραλαβής της βλαστικής κορυφής στη τράπεζα νηματικής ροής αέρα.

4.2. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ

Για την παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος χρησιμοποιείται αγαρόζη (agar), τα κύρια στοιχεία N, P, K, Ca, Mg και S, τα ιχνοστοιχεία Mn, Zn, B, Cu, Mo, Fe, Co και Cl, βιταμίνες και αμινοξέα. Οι πιο συνήθεις από τις χρησιμοποιούμενες βιταμίνες είναι: η θειαμίνη, το νικοτινικό οξύ, η πυριδοξίνη, η βιοτίνη, το φολικό οξύ, η ριβοφθαλμίνη, το ασκορβικό οξύ, η βιταμίνη B12 και η βιταμίνη E. Ως πηγή άνθρακα και ενέργειας χρησιμοποιείται η σακχαρόζη. Στο θρεπτικό υπόστρωμα προστίθενται επιπλέον μια κυτοκίνη (π.χ. η κινητίνη) ή και μια αυξίνη (π.χ. NAA, IAA ή IBA). Ο σίδηρος παρέχεται με την μορφή του σύμπλοκου άλατος NaFe-EDTA που είναι υδατοδιαλυτή ένωση και απελευθερώνει εύκολα το κατιόν του Fe (Fe^{++} ή Fe^{+++}).

Ανάλογα με την ποσότητα του θρεπτικού υποστρώματος που πρέπει να παρασκευασθεί, παίρνονται οι αντίστοιχες 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 τα ανόργανα στοιχεία (κύρια και ιχνοστοιχεία) με την μορφή των αλάτων τους, οι βιταμίνες, ο σίδηρος και οι αυξητικοί παράγοντες (ορμόνες). Στη συνέχεια γίνεται ρύθμιση του pH έτσι ώστε να κυμαίνεται από 5 έως 6.

Για την ανύψωση του pH χρησιμοποιείται διάλυμα KOH ή NaOH και για τη μείωση του διάλυμα HCL.

Στη συνέχεια μεταφέρεται το θρεπτικό υπόστρωμα με τη 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 η αγαρόζη. Το θρεπτικό υπόστρωμα όπως είναι θερμό αναδεύεται και στη συνέχεια τοποθετείται σε δοκιμαστικούς σωλήνες ή άλλου είδους φιάλες.

Ύστερα οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετούνται στη συσκευή υγρής αποστείρωσης σε θερμοκρασία 120° C για 18-20 λεπτά. Αφού οι δοκιμαστικοί σωλήνες αποστειρωθούν και κρυώσουν, αφήνονται για κάποιο χρονικό διάστημα (1 έως 5 ημέρες) για να ελεγχθεί η επιτυχία της αποστείρωσης.

Τέλος, αφού διαπιστωθεί η επιτυχία της αποστείρωσης 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 αναφέρεται στους πίνακες:

Πίνακας 1: Σύσταση ποκνών διαλυμάτων - αραιώσεις για ένα λίτρο

H ₂ O	1 lt
ΜΑΚΡΟ	50ml
NafeEDTA	10ml
ΜΙΚΡΟ	1ml
VITAMIN	10ml
Κινετίνη	0,7ml
NAA	1ml
GA3	1ml
Σακχαρόζη	30gr
Αγαρόζη	6gr
pH	5,7

Πίνακας 2: Αραιώσεις – δημιουργία αραιού διαλύματος

ΜΑΚΡΟΣΤΟΙΧΕΙΑ	NH ₄ NO ₃	33 gr	σε ένα λίτρο νερό
	KNO ₃	39 gr	
	CaCl ₂ · 2H ₂ O	8,8 gr	
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	7,4 gr	
	KH ₂ PO ₄	3,4 gr	
	NaH ₂ PO ₄	1,8 gr	
Fe	NaFe EDTA	2,5 gr/l	10cc σε 1l νερό
ΜΙΚΡΟΣΤΟΙΧΕΙΑ	MnSO ₄ · 4H ₂ O	8,3 gr	σε ένα λίτρο νερό
	ZnSO ₄ · 4H ₂ O	5,3 gr	
	H ₃ BO ₃	3,1 gr	
	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,012 gr	
	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0,12 gr	
	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,012 gr	
	KI	0,415 gr/l	
ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ	Μυο-ινοσιτόλη	10.000	σε ένα λίτρο νερό
	Υδροχλωρική θειαμίνη	5 mgr	
	Νικοτινικό οξύ	25 mgr	
	Υδροχλωρική πυριδοξίνη	25 mgr	
	Παντόθενικό οξύ	50 mgr	
	Σιστεΐνη	50 mgr	
ΚΙΝΗΤΗΝΗ	BA	1 mg/100cc H ₂ O	0,70cc/1l H ₂ O
ΑΥΕΙΝΗ	NAA	100mgr/1l H ₂ O	10cc/1l H ₂ O
ΓΙΒΕΡΕΛΙΝΗ	GA ₃	100mgr/100ml H ₂ O	1cc/1l H ₂ O

4.3. Συγκριτικά αναφέρονται επίσης και άλλα θρεπτικά υποστρώματα που κατά καιρούς χρησιμοποιήθηκαν στην ιστοκαλλιέργεια διαφόρων ειδών.

Πίνακας 1

ΧΗΜΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ			
	MS mg/lt	B-5 mg/lt	WHITE (1934) mg/lt	HELLER (1953) mg/lt
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	134	-	-
(NH ₄)NO ₃	1650	-	-	-
NaNO ₃	-	-	-	600
KNO 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 PO 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 ·4H ₂ O	-	10	-	-
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	2	3	1
H ₃ BO ₃	6,2	3	1,5	1
KJ	0,83	0,75	0,75	0,01

Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	-	-
Cu SO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	-	-
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	-	-
NiCl ₂ ·6H ₂ O	-	-	-	0,03
AlCl ₃	-	-	-	0,03
Μυο-ινοσιτόλη	100	100	-	-
Νικοτινικό οξύ	0,5	1,0	0,5	-
Υδροχλωρική πυριδοξίνη	0,5	1,0	0,1	-
Υδροχλωρική θειαμίνη	0,1	10,0	0,1	1,0
Γλυσίνη	2,0	-	3,0	-
Παντόθενικό οξύ	-	-	1,0	-
Σακχαρόζη	30.000	20.000	20.000	20.000
Κινητίνη	0,04-10	0,1	-	-
2,4-D		0,1-1,0	6,0	
IAA	1,0-30	-	-	-
pH	5,7-5,8	5,5	5,5	-

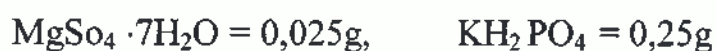
Σημείωση: οι παραπάνω ποσότητες των χημικών ενώσεων αφορούν την παρασκευή ενός λίτρου θρεπτικού υποστρώματος.

Πίνακας 2

Συστατικά	Όνομασία υποστρώματος και ποσότητες που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ενός λίτρου		
	Phillips	Baker and Phillips	Neergrand's
Διάλυμα Knop ¹	500ml	500ml	100ml
Διάλυμα Berthelot ²	0,5ml	0,5ml	0,5ml
Γλυκόζη	40gr	40gr	40gr

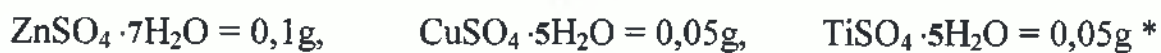
Μυο-ινοσιτόλη	-	-	100gr
Υδροχλωρική θειαμίνη	-	1mg	1mg
Θειϊκή αδενίνη	8mg	8mg	-
Ινδολυλο-οξεικό οξύ (IAA)	1mg	-	-

¹ Διάλυμα Knop:



Αποσταγμένο νερό = 1000ml

² Διάλυμα Berthelot:



Αποσταγμένο νερό = 1000ml

(*) ΙΩΑΝΝΟΥ ΜΑΡΙΑ (1990) Production of carnation plants by shoot-tip in vitro, σελ. 4.

Πίνακας 3

Τρόπος παρασκευής του θρεπτικού διαλύματος των Furner, King και Gamborg.

Συστατικό	Χρησιμοποιούμενη ποσότητα mg/l
α. κύρια θρεπτικά στοιχεία	
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
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	-
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-
β. ιχνοστοιχεία	
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
$\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
EDTA-Fe	43,0
Σακχαρόζη	20.000
pH	5,5

4.4. ΑΠΟΣΠΑΣΗ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΟΡΥΦΩΝ

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

Εκεί ένα-ένα τα μοσχεύματα γαρυφαλλιάς παίρνονται από το τρυβλίο 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 1mm 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. Όταν τα έκφυτα εξελιχθούν 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 έκφυτο 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 μεριστωματικών εκφύτων 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 αγενώς. Μερικά από τα παθογόνα αυτά μεταφέρονται από τη μια γενεά στην επόμενη και μειώνουν σημαντικά την απόδοση των φυτών. Ιδιαίτερη σημασία έχει ο *in vitro* μικροπολλαπλασιασμός για απαλλαγή από ιώσεις, επειδή οι ιοί μολύνουν ολόκληρο το φυτό, εκτός από τα κύτταρα των επάκριων μεριστωμάτων.

Τα τελευταία είναι συνήθως ελεύθερα ιώσεων, επειδή τα κύτταρά τους πολλαπλασιάζονται με μεγάλη ταχύτητα και οι ιοί που ακολουθούν την αύξηση της περιοχής δεν προλαβαίνουν να εισβάλουν στα κορυφαία μεριστωματικά κύτταρα, επειδή αυτά απομακρύνονται συνέχεια. Ο πολλαπλασιασμός με σπέρματα απαλλάσσει τα φυτά από μερικές ιώσεις, όμως η εγγενής αναπαραγωγή δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε φυτά τα οποία πολλαπλασιάζονται αγενώς.

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

BIBLIOGRAFIA

- ACCATI E., GARIBALDI A. (1974) Il garofano dy 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.*) .
Rivista dell'Ortoflorofrutticoltura Italiana Anno 90 vol.XLIX, n. 6,1965 page 460-466.
- ALPI A. (1965) Propagazione per coltura di apici vegetative in floricoltura. Rivista dell'Ortoflorofrutticoltura Italiana Anno 90 vol.XLIX, n. 5,1965 page 369-376.
- ALPI A. GARIBALDI M.I. (1969) Propagazione per coltura di apici vegetative di garofano (*Dianthus caryophyllus*).
- BAJAJ Y.P.S. (1936) Biotechnology in Argiculture and forestry17, High-Tech and Micropropagation I σελ 1-555.
- GRAZIA BELLARDI MARIA, BERTACCINI ASSUNTA (1994) Virosi et micoplasmosi delle piante ornamentali e da fiore reciso, Bologna σελ 1-205.
- GIUSEPPE BELLI (1992) Virus et virosi della piante σελ 1-212.
- DAVIS M.J., BAKER RALPH, HANAN JOE (1977) Clonal multiplication of carnation by micropropagation.
- GREGORINI GIOVANNA, ALPI AMEDEO (1973) Propagazione per coltura di apici vegetative in ortofloricoltura by Gruppo gionarlistico dell'edagricole – Bologna anno 2 n. 6-7 giugno-luglio 1973.
- GREGORINI G., LERGARI B. (1977) Coltura “in vitro” di apici vegetative di garofano (*Dianthus caryophyllus* L) di tipo Mediterraneo.
Rivista dell'Ortoflorofrutticoltura Italiana n. 4 – 1977.
- 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 σελ 1-156.
- IOANNOY MARIA (1990) Production of carnation plants by shoot-tip *in vitro* Agricultural Research Institute MANR of Cyprus, technical bulletin 117 σελ 2-4.
- IOANNOY MARIA (1990) Organising a plant micropropagation labatory.

- JELASKA SIBILA and SUTINA RENATA (1977) Maintained culture of multiple plantlets from carnation shoot-tips Acta Horticulturae 78 σελ 333-340.
- KYTE LYDIANE, KLEYN JOHN (1996) Plants from test tubes. An introduction to micropropagation by Timber Press 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 σελ 1-636.
- DE PAOLI G., ROSSI V., SCOZZOLI A. (1994) micropropagazione delle piante ortoflorofrutticole 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 σελ 357-366.
- SALA F., CELLA R. (1976) Colture di cellule vegetali: metodi ed applicazioni by Piccin Editore, Padova σελ 1-56.
- ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΒΛΑΣΑΚΗ (1994) Πτυχιακή εργασία Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης.
- ΕΛΕΥΘΕΡΙΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΙΟΥ Τεχνολογία φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού, εκδ. Art of Text Θεσσαλονίκη.
- ΚΙΝΖΙΟΣ Σ.Ε. (1994) Επιχειρηματική ιστοκαλλιέργεια. Κατασκευή και διαχείριση επιχειρηματικών μονάδων παραγωγής ανθοκομικού πολλαπλασιαστικού υλικού με ιστοκαλλιέργεια, εκδ. Α. Σταμούλη σελ 1-139.
- ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ ΝΙΚΟΛΑΣ (1989) Αναπαραγωγή φυτών στα πλαίσια της βιοτεχνολογίας. Παραγωγή άνοσου φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού, Θεσ/νίκη.
- ΠΟΝΤΙΚΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ (1994) Πολλαπλασιασμός καρποφόρων δένδρων και θάμνων, εκδ. Α. Σταμούλη σελ 1-269.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ



Εικόνα 1: Μονάδες παρασκευής απιονισμένου και διπλά αποσταγμένου νερού.



Εικόνα 2: Φούρνος αποστείρωσης υλικών με ζεστό αέρα.



Εικόνα 3: Τράπεζα εργασίας.



Εικόνα 4: Πάγκος μετρήσεων.



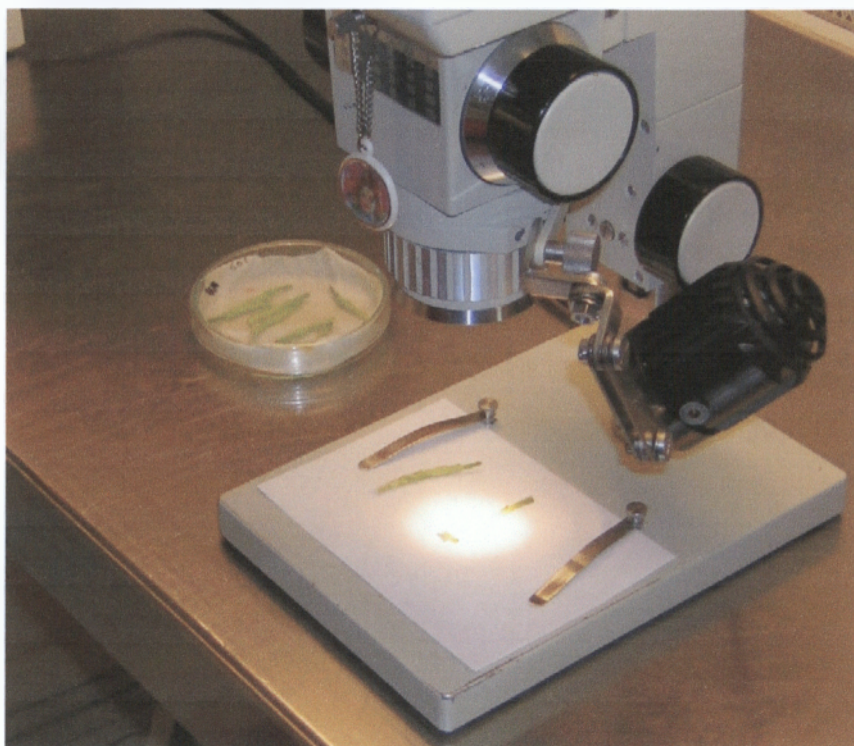
Εικόνα 5: Αυτόκαυστα



Εικόνα 6: Πράσινα φυτά γαρυφαλλιάς τριών μηνών στο θάλαμο θερμοθεραπείας.



Εικόνα 7: Θάλαμος θερμοθεραπείας διαφορετικών ποικιλιών γαρυφαλλιάς στους 38°C.



Εικόνα 8: Μικροσκόπιο και τριβλίο με γαρυφαλλιές έτοιμες για λήψη μεριστώματος.



Εικόνα 9: Τράπεζες νηματικής ροής.



Εικόνα 10: Κλείσιμο δοκιμαστικών σωλήνων.



Εικόνα 11: Θάλαμος φωτισμού, γενική άποψη.



Εικόνα 12: Γαρυφαλλιά σε δοκιμαστικούς σωλήνες.



Εικόνα 13: Λεπτομέρεια γαρυφαλλιάς σε δοκιμαστικό σωλήνα σε θάλαμο φωτισμού.



Εικόνα 14: Μάνες γαρυφαλλιάς σε παρτέρια.



Εικόνα 15: Μάνες γαρυφαλλιάς σε παρτέρια.



Εικόνα 16: Κοπή μοσχευμάτων από τις μάνες γαρυφαλλιάς.



Εικόνα 17: Προετοιμασία παρτεριού για την απολύμανση με ατμό.



Εικόνα 18: Παρτέρια μετά την απολύμανση με ατμό.



Εικόνα 19: Φύτευση γαρυφαλλιάς για ριζοβολία.



Εικόνα 20: Υδρονέφωση στο ριζωτήριο.



Εικόνα 21: Ψυγείο αποθήκευσης έρριζων μοσχευμάτων.