

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (ΤΕΙ)  
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΩΝ ΡΥΘΜΙΣΤΩΝ ΑΥΞΗΣΕΩΣ ΤΩΝ  
ΦΥΤΩΝ.  
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΥΞΙΝΩΝ ΣΤΗ  
ΡΙΖΟΒΟΛΙΑ ΕΚΦΥΤΩΝ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΜΙΑΣ.**

**ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ  
ΚΥΡΙΑΚΗ ΖΟΡΜΠΑ**

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2007**

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (ΤΕΙ)  
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΩΝ ΡΥΘΜΙΣΤΩΝ ΑΥΞΗΣΕΩΣ ΤΩΝ  
ΦΥΤΩΝ.  
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΥΞΙΝΩΝ ΣΤΗ  
ΡΙΖΟΒΟΛΙΑ ΕΚΦΥΤΩΝ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΑΣ.

ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ  
ΚΥΡΙΑΚΗ ΖΟΡΜΠΑ

ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ  
ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΑΡΑΜΠΕΤΣΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2007

*Στη γιαγιά μου Ευαγγελία*

---

---

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

### ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

#### ΟΙ ΑΥΞΙΝΕΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΠΡΑΚΤΙΚΗ

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Ρυθμιστές Αυξήσεως

1.1. Ανάπτυξη των φυτών .....	1
1.1.1 Ορισμοί .....	1
1.1.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη.....	2
1.2. Φυτορρυθμιστικές ουσίες ή φυτορμόνες.....	4
1.2.1 Η ανακάλυψη των φυτορμονών .....	4
1.2.2. Ορισμός, διάκριση και σημασία των φυτορμονών .....	5
1.2.3. Ταξινόμηση των φυτορρυθμιστικών ουσιών .....	8

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Οι Αυξίνες

2.1. Εισαγωγικά.....	13
2.2. Η ανακάλυψη της αυξίνης .....	13
2.3. Γνωστές αυξίνες .....	15
2.3.1. Ινδολο-οξικό οξύ (IAA, indole-3-acetic acid) .....	16
2.3.2. Ινδολο-βουτυρικό οξύ (IBA, indole-3-butyric acid) .....	17
2.3.3. Ναφθαλινοξικό οξύ (NAA, naphthalene acetic acid) .....	17
2.3.4. Άλλες γνωστές αυξίνες .....	18
2.4. Επιδράσεις της αυξίνης στις λειτουργίες των φυτών .....	19
2.5. Τρόποι δράσης των αυξινών.....	20

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Άλλες φυτορμόνες

3.1. Εισαγωγικά.....	22
3.2. Γιββερελλίνες.....	22
3.2.1. Η ανακάλυψη του GA <sub>3</sub> .....	23
3.2.2. Χημική δομή και βιολογική δράση .....	23
3.2.3. Βιοσύνθεση.....	25
3.2.4. Τρόποι δράσης .....	25
3.3. Κυτοκινίνες .....	26
3.3.1. Η ανακάλυψη των κυτοκινινών.....	26
3.3.2. Η δράση των κυτοκινινών στα φυτά .....	27
3.4. Αμπσισικό οξύ (abscisic acid, ABA).....	30
3.4.1. Η ανακάλυψη του ABA .....	31
3.4.2. Χημική δομή και βιοσύνθεση του ABA .....	31
3.4.3. Η δράση του ABA στα φυτά .....	32
3.5 Αιθυλένιο .....	33

3.5.1. Φυσιολογικές επιδράσεις του αιθυλενίου .....	33
3.5.2. Το αιθυλένιο σε σχέση με τις άλλες φυτορρυθμιστικές ουσίες .....	34
3.6. Φυτόχρωμα .....	35

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Χρήσεις των φυτορρυθμιστικών ουσιών στις διάφορες καλλιέργειες.

4.1 Εισαγωγικά .....	37
4.2 Αίτια μη ευρείας επέκτασης της χρήσης των φυτορμονών ....	37
4.3 Εφαρμογές των ορμονών .....	38
4.3.1 Χρήσεις των αυξινών .....	38
4.3.2 Χρήσεις των κυτοκινινών .....	40
4.3.3 Χρήσεις των γιββερελλινών .....	41
4.3.4 Αιθυλένιο .....	43
4.4 Οι χρήσεις των φυτορρυθμιστικών ουσιών σε 7 σημαντικές καλλιέργειες .....	44
4.4.1 Αμπέλι .....	44
4.4.2 Ελιά .....	48
4.4.3 Εσπεριδοειδή .....	49
4.4.4 Τομάτα .....	50
4.4.5 Σιτάρι .....	51
4.4.6 Βαμβάκι .....	52
4.4.7 Καπνός .....	54

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Ιστοκαλλιέργεια.

5.1 Εισαγωγικά .....	56
5.2 Τύποι ιστοκαλλιέργεια; .....	57
5.3 Οι ορμόνες στην ιστοκαλλιέργεια .....	59
5.3.1 Οι αυξίνες <i>in vitro</i> .....	62
5.3.2 Οι κυτοκινίνες <i>in vitro</i> .....	63
5.3.3 Γιββερελλίνες .....	64
5.3.4 Αιθυλένιο .....	64
5.4 Μέθοδοι παραγωγής φυτών .....	66
5.4.1 Καλλογένεση .....	66
5.4.2 Σωματική εμβρυογένεση .....	66
5.4.3 Μικροπολλαπλασιασμός .....	67
5.5 Η ιστοκαλλιέργεια στην Ελλάδα .....	69

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ  
ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΥΞΙΝΩΝ ΣΤΗ ΡΙΖΟΒΟΛΙΑ  
ΕΚΦΥΤΩΝ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΑΣ..... 71

- ↓ Περίληψη
- ↓ Εισαγωγή
- ↓ Υλικά και μέθοδοι
  - Μικροπολλαπλασιασμός
  - Πειράματα- Βασικός σχεδιασμός
- ↓ Αποτελέσματα
- ↓ Συμπεράσματα / Συζήτηση

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ..... 83

Η πτυχιακή αυτή εργασία αναφέρεται στους ρυθμιστές αύξησεως των φυτών, γνωστών και ως φυτορμόνες. Αποτελείται από 5 κεφάλαια θεωρητικής αναφοράς στους ρυθμιστές αύξησεως και ένα πειραματικό μέρος. Είναι ένα θέμα με ελάχιστες βιβλιογραφικές αναφορές, τουλάχιστον όσον αφορά την χώρα μας, αλλά με μεγάλη σημασία και δυνατότητες εξέλιξης σε όλους τους κλάδους της σύγχρονης γεωργίας. Οι ρυθμιστές αύξησεως έχουν μεγάλο ρόλο στην έρευνα και τις βελτιώσεις των φυτών, στις σύγχρονες μεθόδους παραγωγής, αλλά κυρίως στην ιστοκαλλιέργεια, πειραματική και παραγωγική, έναν κλάδο της γεωπονίας με συνεχή ανάπτυξη.

Στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται μια εισαγωγική αναφορά στην αύξηση και ανάπτυξη των φυτών καθώς και στις ορμόνες που τις επηρεάζουν. Τα επόμενα κεφάλαια αναφέρονται πιο λεπτομερώς σε κάθε ομάδα ρυθμιστών ξεχωριστά, σχετικά με τον τρόπο ανακάλυψης, τον τρόπο δράσης και τις επιδράσεις της κάθε μιας στα φυτά, ενώ το τέταρτο κεφάλαιο αναφέρεται στην χρήση των φυτορρυθμιστικών ουσιών σε διάφορες καλλιέργειες με κύρια αναφορά στις πιο σημαντικές, για την Ελλάδα, καλλιέργειες. Το θεωρητικό μέρος ολοκληρώνεται με ένα κεφάλαιο αφιερωμένο στην ιστοκαλλιέργεια και την άμεση σχέση της με τις πιο γνωστές φυτορμόνες.

Το πειραματικό μέρος πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος Leonardo Da Vinci από τον Οκτώβριο του 2002 έως και τον Μάρτιο του 2003 στο Πανεπιστήμιο του Wageningen της Ολλανδίας κατά τη διάρκεια της πρακτικής μου εξάσκησης. Κατά την διάρκεια των πειραμάτων προσδιορίστηκε η ιδανική συγκέντρωση της αυξίνης για την ριζοβολία των εκφύτων τριανταφυλλιάς *in vitro*, καθώς επίσης μελετήθηκαν κάποιοι παράγοντες που θεωρήθηκαν ότι μπορούσαν να επηρεάσουν, είτε την ιδανική συγκέντρωση της αυξίνης για τη ριζοβολία, είτε την ίδια την ριζοβολία του φυτού. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών θα χρησιμοποιηθούν από το ερευνητικό ινστιτούτο του Πανεπιστημίου της Ολλανδίας για περαιτέρω

έρευνες σε γονιδιακό επίπεδο σχετικά με την ριζοβολία και σε επίσημες επιστημονικές εκδόσεις του ινστιτούτου.

Λίγο πριν την αποφοίτησή μου από το ΤΕΙ της Καλαμάτας θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους αυτούς που πίστεψαν σε μένα και μου έδωσαν την ευκαιρία να πραγματοποιήσω την πρακτική μου στο πανεπιστήμιο της Ολλανδίας, μια εμπειρία ζωής θα τολμούσα να πω, καθώς και αυτούς που μου έδωσαν μια ώθηση όσες φορές τη χρειάστηκα τα τελευταία χρόνια. Μέσα στους ανθρώπους αυτούς συγκαταλέγονται καθηγητές, φίλοι (στην Ελλάδα και την Ολλανδία), συνάδελφοι και, κυρίως, η οικογένειά μου.

Ευχαριστώ,  
Κυριακή Δ. Ζορμπά



**ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ**

**ΟΙ ΑΥΞΙΝΕΣ ΣΤΗΝ  
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΠΡΑΚΤΙΚΗ**

---

---

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο**

### **ΑΥΞΗΣΗ ΚΑΙ ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ ΑΥΞΗΣΕΩΣ**

#### **1.1. Ανάπτυξη των φυτών**

##### **1.1.1 Ορισμοί**

Με τον όρο ανάπτυξη εννοείται η βαθμιαία και προοδευτική αλλαγή στο σχήμα, την κατάσταση και τη λειτουργία που συνολικά συνιστά την μεταβολή από το ζυγωτό σε ένα ώριμο, αναπαραγωγικά ικανό, φυτό. Η ανάπτυξη είναι μια εξαιρετικά πολύπλοκη, αλλά καλά εναρμονισμένη, αλληλουχία γεγονότων, η οποία απαιτεί χρόνο για να γίνει αντιληπτή και γενικά συνοδεύεται από αύξηση του μεγέθους, του βάρους καθώς και εμφάνιση νέων σχημάτων και λειτουργιών και απώλεια των προηγούμενων, χαρακτηρίζεται από ασυνέχειες και αλλαγές στο ρυθμό με τον οποίο προχωρεί και τελικά επιβραδύνεται ή σταματά όταν οι χαρακτήρες της ωριμότητας έχουν επιτευχθεί.

Η ανάπτυξη συμπεριλαμβάνει τρεις αλληλοσχετιζόμενες λειτουργίες, την αύξηση, την κυτταρική διαφοροποίηση και την μορφογένεση.

Με τον όρο αύξηση εννοείται η μη αντιστρέψιμη αύξηση στο μέγεθος ενός κυτάρου, ενός οργάνου ή ακόμα και ενός ολόκληρου οργανισμού. Συνήθως συνοδεύεται από μια αύξηση στο ξηρό βάρος και την ποσότητα του πρωτοπλάσματος, αν και αυτό δεν είναι απαραίτητο, όπως συμβαίνει για παράδειγμα στην ανάπτυξη φυταρίων στο σκοτάδι. Η αύξηση μπορεί να συμβεί μόνο με αύξηση του όγκου των κυττάρων αλλά υπό γενικότερη έννοια περιλαμβάνει επίσης και την κυτταρική διαίρεση και επιμήκυνση. Εκτός όμως από τις ποσοτικές μεταβολές, το σύνολο των οποίων χαρακτηρίζουν την αύξηση, στη διάρκεια της ανάπτυξης παρατηρούνται πολλές ποιοτικές διαφορές ανάμεσα σε κύτταρα, ιστούς και όργανα. Το σύνολο των ποιοτικών αυτών μεταβολών εκφράζεται με τον όρο διαφοροποίηση.

Κυτταρική διαφοροποίηση είναι ο μετασχηματισμός των φαινομενικά γενετικά ομοίων κυττάρων που προήλθαν από την διαίρεση του ζυγωτού ή

άλλου απλού κυττάρου, σε κύτταρα με διάφορες βιοχημικές, φυσιολογικές και δομικές εξειδικεύσεις. Η διαφοροποίηση σε κυτταρικό και ιστολογικό επίπεδο αποτελεί το βασικό αντικείμενο της φυσικής ανατομίας.

Συνήθως η αύξηση και η διαφοροποίηση απαντούν ταυτόχρονα στη διάρκεια της ανάπτυξης, κάτω όμως από ορισμένες συνθήκες είναι δυνατή η παρουσία αύξησης χωρίς καθόλου διαφοροποίηση, όπως για παράδειγμα στην αύξηση ενός κάλλου.

Η μορφογένεση είναι η ολοκλήρωση και ο συντονισμός της αύξησης και των διαφοροποιήσεων που γίνονται σε κυτταρικό επίπεδο. Είναι υπεύθυνη για τους μορφολογικούς χαρακτήρες και την εμφάνιση των φυτών και των φυτικών οργάνων καθώς και για τις φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα. Προσδιορίζεται γενετικά και τροποποιείται από το περιβάλλον. Έτσι η τελική μορφή είναι πρόβλημα της ανάπτυξης και οι παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη είναι εκείνοι που καθορίζουν τελικά τη μορφολογία.

### **1.1.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη**

Όλες οι γενετικές πληροφορίες που απαιτούνται για να σχηματιστεί και να ζήσει ένα φυτό μεταφέρονται σε κάθε ένα κύτταρο κωδικοποιημένες στο DNA του πυρήνα, των μιτοχονδρίων και των πλαστών.

Κατά τη διάρκεια της ζωής ενός φυτού αυτές οι γενετικές πληροφορίες αξιοποιούνται για να κατευθύνουν την αύξηση και την ανάπτυξή του. Αποθηκευμένη σε αυτές τις γενετικές πληροφορίες μπορεί να υπάρχει μια ολόκληρη βιβλιοθήκη από προγραμματισμένες αλληλουχίες διεργασιών διαφοροποίησης και ανάπτυξης.

Το ποια αλληλουχία θα επιλεγεί σε ένα συγκεκριμένο κύτταρο ή ιστό ορίζεται κάθε φορά από κάποιους παράγοντες. Τέτοιοι παράγοντες είναι τα ερεθίσματα από το περιβάλλον, όπως οι χαμηλές θερμοκρασίες ή η διάρκεια και η ένταση του φωτός, ορμονικά σήματα ή ερεθίσματα από άλλα μέρη του φυτού ή από γειτονικά κύτταρα, δραστηριότητες γειτονικών κυττάρων ή ιστών, η θέση του κυττάρου στο φυτικό σώμα, θρεπτικοί παράγοντες κ.ά.

Η θερμοκρασία αποτελεί ίσως το σημαντικότερο περιβαλλοντικό παράγοντα που επηρεάζει την ταχύτητα της αύξησης των φυτών. Η έρευνα για

την επίδραση της θερμοκρασίας στα φυτά διευκολύνθηκε σημαντικά από το γεγονός ότι η θερμοκρασία είναι ίσως ο περιβαλλοντικός εκείνος παράγοντας που μπορεί ευκολότερα να αναπαραχθεί και να διατηρηθεί σταθερός σε εργαστηριακές συνθήκες. Έτσι αναπτύχθηκε η ιδέα της άριστης, της ελάχιστης και της μέγιστης θερμοκρασίας για την αύξηση ενός φυτικού είδους.

Στα περισσότερα φυτά η άριστη θερμοκρασία βρίσκεται ανάμεσα στους 30 και 35 °C, αλλά σημαντικές αποκλίσεις έχουν παρατηρηθεί σε αρκτικά και αλπικά φυτά (5-10 °C) καθώς και σε φυτά τροπικών περιοχών (40-45 °C). Στις φυσικές συνθήκες ωστόσο είναι εξαιρετικά πιο περίπλοκα τα πράγματα, αφού η θερμοκρασία δεν παραμένει σταθερή. Οι διακυμάνσεις στη θερμοκρασία ημέρας και νύχτας μπορεί να είναι εντυπωσιακές. Έχει διαπιστωθεί πως πάρα πολλά φυτά αυξάνονται καλύτερα σε εναλλασσόμενες θερμοκρασίες ημέρας - νύχτας, ένα φαινόμενο που ονομάζεται θερμοπεριοδισμός. Τέλος πρέπει να τονιστεί ότι η επίδραση της θερμοκρασίας δεν περιορίζεται στον καθορισμό της αυξητικής ικανότητας, αλλά πολλές φορές είναι ιδιαίτερα σημαντική για τη διαφοροποίηση, σε όλα τα στάδια της φυτικής ανάπτυξης.

Εκτός από την παροχή ενέργειας μέσω της φωτοσύνθεσης, το φως παίζει και αυτό ρόλο στην αύξηση και διαφοροποίηση των φυτών. Με την εξελικτική ανάπτυξη διαφορετικών και εντελώς ανεξάρτητων από την φωτοσύνθεση μηχανισμών, όλες σχεδόν οι φάσεις της φυτικής ανάπτυξης υπόκεινται σε φωτοέλεγχο. Σε κάθε βιολογική αντίδραση που προκαλείται από την φωτεινή ενέργεια, μπαίνει σε λειτουργία μια ακολουθία γεγονότων, όπου πρωταρχική είναι η απορρόφηση του φωτός από ένα ειδικό μόριο, τον φωτοδέκτη. Απορροφώντας φως, ο φωτοδέκτης αλλάζει χημικές ιδιότητες και η αλλαγή αυτή ξεκινά μια σειρά από μεταβολικές διεργασίες που καταλήγουν τελικά στις διάφορες αναπτυξιακές μεταβολές.

Το φως επιδρά διαφορετικά στους διάφορους φυτικούς οργανισμούς και αυτό μπορεί να οφείλεται στην ποσότητα, την ποιότητα και την διεύθυνση της ακτινοβολίας καθώς και στη διάρκεια της φωτοπεριόδου.

Η θερμοκρασία και το φως είναι δύο από τους κυριότερους περιβαλλοντικούς παράγοντες, αλλά μετά από δεκαετίες ερευνών έχει αποδειχθεί ότι τον κεντρικό ρόλο στον έλεγχο της αύξησης και της ανάπτυξης γενικότερα, παίζουν μια σειρά από ενδογενείς χημικές ουσίες που ονομάζονται φυτορμόνες.

## **1.2. Φυτορρυθμιστικές ουσίες ή φυτορμόνες**

Οι φυτορμόνες παίζουν έναν κρίσιμο ρόλο στον τρόπο με τον οποίο τα φυτά μεγαλώνουν και αναπτύσσονται. Ενώ ο μεταβολισμός παρέχει την ενέργεια και τους δομικούς λίθους για τη ζωή των φυτών, οι ορμόνες είναι αυτές που καθορίζουν την ταχύτητα της αύξησης σε κάθε στάδιο και συγκροτούν αυτά τα στάδια για να παραχθεί ο οργανισμός που εμείς αναγνωρίζουμε ως φυτό. Επιπλέον παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στις διαδικασίες της αναπαραγωγής.

### **1.2.1 Η ανακάλυψη των φυτορμονών**

Από την εποχή που η επιστήμη προσπάθησε να ερμηνεύσει τα διάφορα φαινόμενα έγινε πλήρως αποδεκτό ότι στα φυτά υπάρχουν ουσίες που παράγονται και κυκλοφορούν μέσα σε αυτά, ρυθμίζοντας καλύτερα τις διάφορες λειτουργίες και αντιδράσεις τους στα διάφορα ερεθίσματα του περιβάλλοντος και καθορίζουν τη μορφολογία του φυτού ή των φυτικών οργάνων.

Ο Charles Darwin και ο γιος του Francis είναι εκείνοι που το όνομά τους συνδέθηκε περισσότερο με την υπόθεση της ύπαρξης στο φυτό των ουσιών εκείνων που ρυθμίζουν την αύξηση και την ανάπτυξη. Στη διάρκεια πειραμάτων για τον φωτοτροπισμό των κολεόπτιλων και την αιτία που τα ωθεί να στραφούν προς το φως, (1881, *The Power of Movement in Plants*), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι κάποια ουσία που παράγεται και μετακινείται από την κορυφή προς τη βάση του φυτού προκαλεί την κάμψη του προς το φως. Το 1919, ο Paal κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η κορυφή του βλαστού είναι ένα φυτορρυθμιστικό κέντρο, όπου παράγονται μία ή περισσότερες ουσίες, οι οποίες επηρεάζουν τη συμμετρική αύξηση του φυτού, διαχεόμενες ομοιόμορφα μέσα στους φυτικούς ιστούς, καθώς μετακινούνται από την κορυφή προς τη βάση του φυτού.

Η συνέχεια έγινε από τον Ολλανδό Frits W.Went, ο οποίος το 1928 κατάφερε να απομονώσει την πρώτη φυτορρυθμιστική ουσία, την αυξίνη

(ινδολοξικό οξύ, IAA). Με την απομόνωση της αυξίνης έγινε πια φανερό ότι υπάρχουν στα φυτά ουσίες που έχουν αντίστοιχη δράση με τις ορμόνες που υπάρχουν στα ζώα. Οι ουσίες αυτές ονομάστηκαν φυτορμόνες ή ουσίες ανάπτυξης των φυτών.

Αργότερα, άλλα πειράματα οδήγησαν στην ανακάλυψη κι άλλων ορμονών. Οι γιββερίλινες ανακαλύφθηκαν στη διάρκεια ερευνών για τα φυτικά παθογόνα, ενώ οι προσπάθειες για την καλλιέργεια ιστών οδήγησαν στην ανακάλυψη της κυτοκινίνης. Σε πειράματα σχετικά με τον έλεγχο του φαινομένου της αποκοπής των φύλλων και του λήθαργου των οφθαλμών ανακαλύφθηκε το αμπισικό οξύ (ABA). Τέλος, η επίδραση του φωτιστικού αερίου και του καπνού στους φυτικούς ιστούς οδήγησε στην ανακάλυψη του αιθυλενίου.

### **1.2.2 Ορισμός, διάκριση και σημασία των φυτορμονών**

Φυτορρυθμιστική ουσία ή φυτορμόνη είναι μια οργανική ουσία, που δεν είναι απαραίτητα θρεπτικό συστατικό, δεν παρέχει δηλαδή στο φυτό ενέργεια ή απαραίτητα μεταλλικά στοιχεία και που σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (<1 mM) προάγει, παρεμποδίζει ή τροποποιεί ποιοτικά την αύξηση και την ανάπτυξη του φυτού.

Οι φυτορμόνες μπορεί να δρουν σε ένα συγκεκριμένο στάδιο της ανάπτυξης ή να βοηθούν στη μετάβαση σε ένα άλλο στάδιο. Κάθε ορμόνη μπορεί να έχει διαφορετικά αποτελέσματα σε διαφορετικούς ιστούς ή διαφορετικά στάδια ανάπτυξης στον ίδιο ιστό. Η δράση των ορμονών δεν παρουσιάζει εξειδίκευση. Για τον συντονισμό της αύξησης και της ανάπτυξης αυτό που χρειάζεται είναι ένα κατάλληλο ισοζύγιο φυτορμονών. Κάθε στάδιο ανάπτυξης ελέγχεται από το σύνολο μιας ομάδας ορμονών, παρόλο που σε πολλές περιπτώσεις μία από αυτές μοιάζει να έχει μεγαλύτερη δράση και αναγνωρίζεται ως η κυρίαρχη του σταδίου αυτού.

Οι φυτορρυθμιστικές ουσίες διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τις φυσικές και τις συνθετικές.

Ως φυσικές φυτορρυθμιστικές ουσίες ορίζονται εκείνες που παράγονται σε ορισμένα μέρη του φυτού και μπορούν από εκεί να μετακινούνται και σε άλλα μέρη προκαλώντας ειδικές βιοχημικές, φυσιολογικές ή μορφολογικές



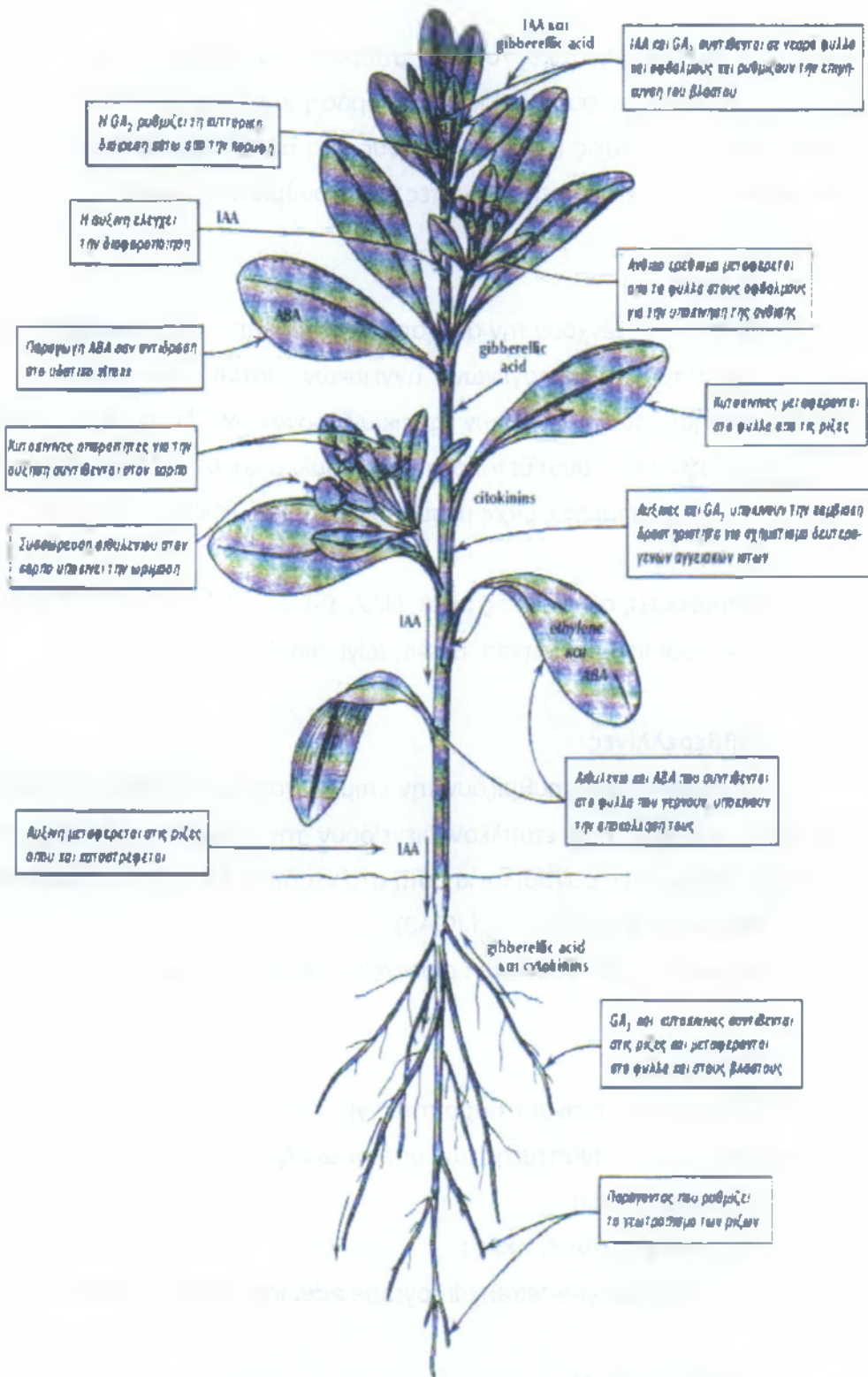
αντιδράσεις. Η σύνθεση αυτών των ορμονών μπορεί να γίνεται σε ένα συγκεκριμένο σημείο του φυτού, αλλά είναι επίσης δυνατό να λαμβάνει χώρα σε ένα ευρύ φάσμα ιστών ή ακόμη και πολλών κυττάρων μέσα σε ένα ιστό. Αν και συνήθως μεταφέρονται και δρουν μακριά από το σημείο σύνθεσής τους, είναι πιθανό σε μερικές περιπτώσεις να δρουν στον ιστό που παρήχθησαν ή ακόμα και στο ίδιο κύτταρο.

Οι φυσικές φυτορμόνες είναι φυσικά προϊόντα που παράγονται από τα φυτά και μπορούν με κατάλληλες μεθόδους να εξαχθούν και να προσδιοριστούν.

Οι συνθετικές φυτορρυθμιστικές ουσίες παράγονται τεχνητά και μπορεί να μοιάζουν χημικά με τις φυσικές. Έχουν τον ίδιο τρόπο δράσης με τις φυσικές, σαν χημικοί αγγελιοφόροι μέσα στο φυτό, όταν εναρμονιστούν με τον κατάλληλο τρόπο και στον κατάλληλο χρόνο.

Οι φυσικές φυτορρυθμιστικές ουσίες είναι από την φύση τους παράγοντες πολύ μεγάλης σημασίας στην ολοκλήρωση των διεργασιών της αύξησης και της ανάπτυξης του φυτού αφού καθορίζουν την αντίδραση του φυτού στις επιδράσεις του φυσικού περιβάλλοντος. Διάφοροι εξωτερικοί παράγοντες μπορεί να προκαλέσουν έντονες αντιδράσεις στα φυτά προσφέροντας αλλαγές στον μεταβολισμό και στην κατανομή των φυσικών φυτορρυθμιστικών ουσιών στα διάφορα φυτικά όργανα. Είναι αποδεκτό ότι οι φυσικές φυτορμόνες είναι οι κυριότεροι παράγοντες που καθορίζουν την εκδήλωση του γενετικού δυναμικού των φυτών.

Οι συνθετικές φυτορρυθμιστικές ουσίες έχουν επίσης πολύ μεγάλη σημασία για τη σύγχρονη γεωργία, δεδομένου ότι έχουν παρόμοια δράση με τις φυσικές, κι έτσι παρέχουν στον παραγωγό τη δυνατότητα να τροποποιήσει προς όφελός του το μοντέλο παραγωγής των φυτών. Έτσι μπορεί να αυξηθεί η παραγωγή και να βελτιωθεί η ποιότητα των προϊόντων με ταυτόχρονη μείωση του κόστους παραγωγής.



**Εικόνα 1.1** Σχηματική παράσταση μερικών τυπικών ορμονικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των διαφόρων φυτικών μερών και οργάνων (Weier et al., 1982)



### 1.2.3 Ταξινόμηση των φυτορρυθμιστικών ουσιών

Οι φυτορρυθμιστικές ουσίες μπορούν να ταξινομηθούν σε μεγάλες ομάδες με βάση τη φυσιολογική τους δράση και τη χημική τους δομή ή σε ορισμένες περιπτώσεις με βάση και τους δύο αυτούς χαρακτήρες. Παρακάτω αναφέρονται οι μέχρι σήμερα γνωστές φυτορρυθμιστικές ουσίες:

#### Αυξίνες

Οι αυξίνες ελέγχουν την αύξηση, διεγείρουν την καμβιακή δραστηριότητα για σχηματισμό δευτερογενών αγγειακών ιστών και υποκινούν την διαφοροποίηση των διαφόρων φυτικών οργάνων. Η φυσική αυξίνη, το ινδολοξικό οξύ (IAA), συντίθεται στα νεαρά φύλλα και στους οφθαλμούς και στη συνέχεια μεταφέρεται στις ρίζες μέσω των παρεγχυματικών κυττάρων.

- ο **Φυσική** : IAA
- ο **Κυριότερες συνθετικές** : IBA, NAA, β-NOA, 2,4-D, 2,4,5-TP, 4-CPA, 3-CPA, naphthyl-acetamide, β-N-m-tolylphthalamic acid .

#### Γιββερελλίνες

Οι γιββερελλίνες ρυθμίζουν την επιμήκυνση των κυττάρων κάτω από τις κορυφές αύξησης ενώ επιπλέον διεγείρουν την καμβιακή δραστηριότητα. Η φυσική γιββερελλίνη συντίθεται κι αυτή στα νεαρά φύλλα και τους οφθαλμούς.

- ο **Φυσική** : gibberellic acid (GA3)
- ο **Κυριότερες συνθετικές** : gibberellic A4, gibberellic A7 κ.α.

#### Κυτοκινίνες

Οι κυτοκινίνες είναι απαραίτητες για την αύξηση και την διατήρηση της νεανικής φάσης ανάπτυξης των υπέργειων τμημάτων των φυτών.

- ο **Φυσική** : zeatin
- ο **Κυριότερες συνθετικές** :  
kinetin, N-6-benzyl-9-tetrahydropyran adenine, N-6-benzyladenine κ.α.

#### Αμπισισικό οξύ

Το αμπισισικό οξύ (abscisic acid: ABA) είναι μία φυσική ορμόνη η οποία διεγείρει την γήρανση των φυτικών ιστών και προκαλεί αποκοπή των φύλλων

και των καρπών. Επίσης επάγει τον λήθαργο και ρυθμίζει το κλείσιμο των στομάτων. Δεν υπάρχουν συνθετικές φυτορρυθμιστικές ουσίες με δράση παρόμοια με αυτή του αμψισοϊκού οξέος.

### **Αιθυλένιο**

Είναι φυσική αέρια ορμόνη η οποία διεγείρει την ωρίμανση των φυτικών ιστών και ιδιαίτερα των καρπών.

- ο **Φυσική** : αιθυλένιο (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)
- ο **Κυριότερη συνθετική** : ethephon

### **Φυτόχρωμα**

Πρόκειται για φυσική φυτορρυθμιστική ουσία η οποία υπεισέρχεται στους μηχανισμούς άνθησης των φυτών.

### **Μπρασινοστεροειδή**

Είναι μία ομάδα φυσικών φυτορρυθμιστικών ουσιών που προάγουν την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών. Χημικά είναι πολυϋδροξυ-στεροειδή και πρώτος αντιπρόσωπος της ομάδας είναι το Brassinolide που απομονώθηκε από τη γύρη του φυτού Brassica napus από το οποίο πήρε και το όνομα ολόκληρη η ομάδα των ουσιών αυτών.

### **Πολυαμίνες**

Οι πολυαμίνες είναι χημικές ενώσεις που απαντώνται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς και φαίνεται να έχουν μεγάλη σημασία για την εκτέλεση πολλών φυσιολογικών διεργασιών. Στα φυτά οι πολυαμίνες υπάρχουν τόσο σε ελεύθερη μορφή όσο και σε δεσμευμένη. Οι δεσμευμένες μορφές είναι ενώσεις των πολυαμινών με διάφορους δευτεροταγείς φαινολικούς μεταβολίτες και παίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο με τις ελεύθερες μορφές. Επειδή είναι σημαντικές για την κυτταρική διαίρεση, μπορούν και επηρεάζουν το μοντέλο της κυτταρικής διαίρεσης και την μορφή των φυτών.

- ο **Φυσικές** : putrescine, spermidine, spermine, cadaverine
- ο **Κυριότερες συνθετικές** : —

### **Μορφακτίνες**

Είναι διασυστηματικές ενώσεις, οι οποίες παρεμποδίζουν και τροποποιούν την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών. Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό τους είναι ότι σε μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων δεν είναι φυτοτοξικές. Η δράση τους είναι βραδεία και οι παραμορφώσεις, παρεμποδίσεις ή άλλες επιδράσεις τους στα φυτά εμφανίζονται βαθμιαία. Υψηλές συγκεντρώσεις προκαλούν τελικά νανισμούς ενώ τα αποτελέσματα χαμηλών δόσεων παρέρχονται σύντομα.

- ο **Φυσικές** : —
- ο **Κυριότερες συνθετικές** : chlorflurenol, flurenol, chlorflurenol methyl, dichlorflurenol methyl κ.α.

### **Επιβραδυντές αύξησης**

Είναι μία μεγάλη ομάδα συνθετικών φυτορρυθμιστικών ουσιών. Όταν εφαρμοστούν στα φυτά επιβραδύνουν το ρυθμό επιμήκυνσης των βλαστών, μειώνουν το τελικό τους μήκος λόγω μείωσης του μήκους των μεσογονατίων διαστημάτων, επιτείνουν την ένταση του πράσινου χρώματος των φύλλων και έμμεσα επηρεάζουν την άνθηση λόγω περιορισμού της βλαστικής ανάπτυξης, χωρίς όμως να προκαλούν μορφολογικές παραμορφώσεις στα φυτά.

- ο **Φυσικοί** : —
- ο **Κυριότεροι συνθετικοί** : ancymidol, chlormequat chloride, chlorphonium chloride, daminozide, meflquat chloride, paclobutrazol κ.α.

### **Παρεμποδιστές της κυτταρικής διαίρεσης**

Είναι χημικές ενώσεις που παρεμποδίζουν την κυτταρική διαίρεση στις μεριστωματικές ζώνες του φυτού, εμποδίζοντας έτσι την αύξηση και την ανάπτυξη του.

- ο **Φυσικοί** : —
- ο **Κυριότεροι συνθετικοί** : chlorpropham, propham, maleic hydrazide, tecnazene

### Γαμετοκτόνα

Οι φυτορρυθμιστικές αυτές ουσίες χρησιμοποιούνται για την αρρενοστείρωση φυτών τα οποία χρησιμοποιούνται για την παραγωγή υβριδίων.

- ο **Φυσικά** : —
- ο **Κυριότερα συνθετικά** : 2,3-dichloro-isobutyric acid, DPX-3778, RH-531

### Καταστροφείς των κορυφών των βλαστών

- ο **Φυσικοί** : —
- ο **Κυριότεροι συνθετικοί** : dikegulak sodium, maleic hydrazide, λιπαρές αλκοόλες (n-octanol, n-decanol κ.α.), μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων

### Αποφυλλωτικά

Είναι συνθετικές φυτορρυθμιστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται για την αποφύλλωση ή τουλάχιστον για την επιτάχυνση αυτής.

- ο **Φυσικά** : —
- ο **Κυριότερα συνθετικά** : ,merphos, thidiazuron, dimethipin

### Αποξηραντικά

Οι χημικές αυτές ουσίες χρησιμοποιούνται για την αποξήρανση των καλλιεργειών όπως στο βαμβάκι. Πολλά αποξηραντικά είναι γνωστά ζιζανιοκτόνα επαφής.

- ο **Φυσικά** : —
- ο **Κυριότερα συνθετικά** : diquat, paraquat, endothal, sodium chlorate

### Αντίδοτα ζιζανιοκτόνων

Αυτά χρησιμοποιούνται για να ξεπεράσουν ή να αποφύγουν τα φυτά, τις δυσμενείς γι' αυτά επιπτώσεις από την εφαρμογή ζιζανιοκτόνων και να ολοκληρώσουν έτσι την ανάπτυξη και αύξηση τους.

- ο **Φυσικά** : —
- ο **Κυριότερα συνθετικά** : naphthalic anhydride, R-25788, cyometrinil

### Αντιδιαπνευστικά

Είναι ουσίες που εφαρμόζονται στο φυτό ώστε να μπορέσει να περιορίσει την διαπνοή του και κατά συνέπεια τις απώλειες του νερού από αυτό.

- ο **Φυσικά** : CO<sub>2</sub>
- ο **Κυριότερα συνθετικά** : silicone, 8-hydroxyquinoline, chlormequat chloride, polyvinyl chloride

## **2.1 Εισαγωγικά**

Οι αυξίνες είναι οι κύριες φυτικές ορμόνες που καθορίζουν την ποσότητα, τον τύπο και την κατεύθυνση της βλάστησης και εντοπίζονται σε όλα τα είδη του φυτικού βασιλείου. Περιλαμβάνουν φυτικές ουσίες, αλλά και τεχνητές, οι οποίες έχουν παρόμοια αποτελέσματα με αυτά των φυσικών.

Η φυσική αυξίνη ήταν η πρώτη φυτορρυθμιστική ουσία που ανακαλύφθηκε. Ο όρος «αυξίνη» προέρχεται από την Ελληνική λέξη «αυξείν» και αρχικά προτάθηκε για να περιγράψει τη συγκεκριμένη εκείνη φυτορρυθμιστική ουσία που έχει σαν ιδιότητα να προκαλεί την κάμψη του κολεόπτιλου της βρώμης στην ομώνυμη δοκιμή (Avena test). Κατά τον Thiemann, ορίζονται σαν αυξίνες οι οργανικές ενώσεις που μπορούν σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (<0,001 M) να προάγουν την αύξηση των κυττάρων κατά μήκος του επιμήκους άξονά τους, όταν εφαρμόζονται σε ιστούς βλαστών που είναι, όσο το δυνατόν, απαλλαγμένοι από τις δικές τους ενδογενείς φυτορρυθμιστικές ουσίες, ενώ παράλληλα παρεμποδίζουν την επιμήκυνση των ριζών. Ωστόσο, άλλοι συγγραφείς περιορίζουν τον όρο «αυξίνη» μόνο στις ουσίες που δρουν στη δοκιμή του κολεόπτιλου της βρώμης (Avena test).

## **2.2 Η ανακάλυψη της αυξίνης**

Η ανακάλυψη των αυξινών ήταν το αποτέλεσμα των πειραμάτων που έγιναν για να ερευνηθεί το φαινόμενο του φωτοτροπισμού. Η βάση των σημερινών γνώσεων για την κύρια αυτή ομάδα των φυτορμονών βρίσκεται στο βιβλίο του Charles Darwin «Η δύναμη της κίνησης στα φυτά» (The Power of Movement in Plants, 1881). Ο Darwin πειραματίστηκε με αρτίβλαστα του

αγρωστώδους *Phalaris canariensis*. Το κολεόππιλο στα αρτίβλαστα των αγρωστώδων αποδείχθηκε εξαιρετικά πλεονεκτικό πειραματικό υλικό για την μελέτη του φωτοτροπισμού, τόσο από τον Darwin και τους επίγονους μελετητές όσο και από τους σύγχρονους ερευνητές. Ο Darwin ήταν ο πρώτος που ανακάλυψε πως το «αισθητήριο» που αντιλαμβάνεται τον μονόπλευρο φωτισμό βρίσκεται στην κορυφή, ενώ η κύρτωση του κολεόππιλου γίνεται αρκετά χαμηλότερα. Από πειράματα των Boysen – Jensen και Paal διαπιστώθηκε πως η επίδραση της κορυφής έχει ξεκάθαρα χημική φύση. Ο Paal συμπέρανε πως όταν το κολεόππιλο βρίσκεται στο σκοτάδι ή σε συνθήκες ομοιόμορφου φωτισμού η προωθητική αυτή χημική ουσία ρέει από την κορυφή συνεχώς και ομοιόμορφα.

Μετά από τα πειράματα αυτά διατυπώθηκε από τον Darwin αλλά και από άλλους επιστήμονες η υπόθεση ότι «η προς το φως κάμψη των φυτών γενικά ελέγχεται από μια ουσία που παράγεται και διακινείται μέσα στα φυτά».

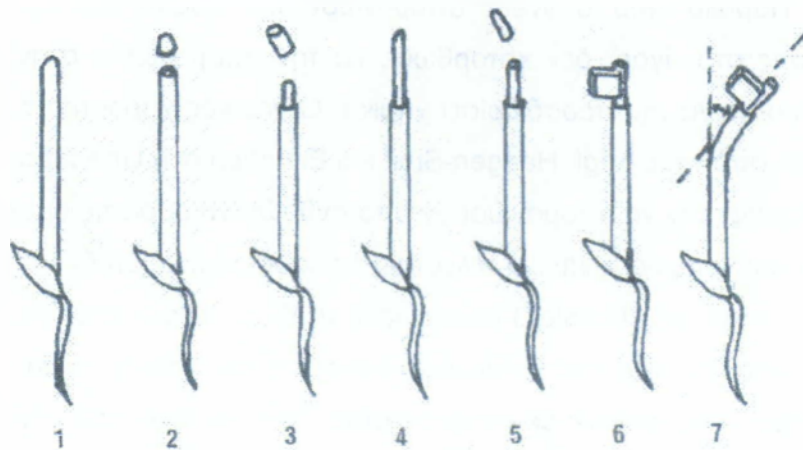
Η επιβεβαίωση αυτής της υπόθεσης έγινε το 1926-28 όταν ο Ολλανδός F.W.Went, κατά τη διάρκεια των κλασικών πειραμάτων του στο κολεόππιλο της βρώμης, κατόρθωσε να απομονώσει μέσα σε κύβους άγαρ την ουσία που ονομάστηκε αυξίνη και η οποία παράγεται στην κορυφή του κολεόππιλου και είναι υπεύθυνη για την επιμήκυσή του.

Η ανακάλυψη ότι η προς τα κάτω ασύμμετρη ροή της αυξίνης, όταν ο κύβος του άγαρ τοποθετηθεί μονόπλευρα, προκαλεί την κάμψη του κολεόππιλου οδήγησε στην υπόθεση, η οποία αργότερα επιβεβαιώθηκε και πειραματικά, ότι «η προς το φως κάμψη των κολεόππιλων αλλά και ολόκληρων βλαστών των φυτών οφείλεται στην επίδραση που έχει το φως πάνω στη διακίνηση της αυξίνης στους ιστούς». Όταν το κολεόππιλο φωτιστεί μονόπλευρα η σχέση των συγκεντρώσεων της αυξίνης στη σκιαζόμενη προς τη φωτιζόμενη πλευρά μπορεί να φθάσει το 2:1.

Οι παραπάνω ιδιότητες της αυξίνης, όσον αφορά τη διακίνησή της, οδήγησαν τον Went να αναπτύξει μια πολύ ευαίσθητη βιοδοκιμή για την ανίχνευση πολύ μικρών συγκεντρώσεων της ουσίας αυτής. Ονομάζεται δοκιμή της βρώμης ή Avena test και στηρίζεται στην αναφερθείσα ιδιότητα της αυξίνης να προκαλεί την κάμψη αποκεφαλισμένων κολεόππιλων, αν αυτή, αφού έχει «ενσωματωθεί» σε μικρούς κύβους άγαρ, τοποθετηθεί μονόπλευρα στο σημείο τομής τους. Η γωνία που σχηματίζεται ως προς την κατακόρυφο



είναι ανάλογη προς την περιεκτικότητα του κύβου σε αυξίνη για ένα εύρος 0-20°.



**Εικόνα 2.1** Σχηματική παράσταση της βιοδοκιμής της βρώμης (*avena test*): 1. κολεόπτιλο βρώμης, 2. πρώτη αποκοπή κορυφής (1 mm), 3. δεύτερη αποκοπή κορυφής (2-4 mm), 4. επιμήκυνση πρώτου φύλλου, 5. αποκοπή κορυφής πρώτου φύλλου, 6. τοποθέτηση μικρού κύβου άγαρ με αυξίνη, 7. μέτρηση γωνίας κάμψης του κολεόπτιλου.

### 2.3 Γνωστές αυξίνες

Είναι γνωστό ότι ο όρος αυξίνη περιλαμβάνει αρκετές παρόμοιες μεταξύ τους ουσίες. Αν και το ινδολο-οξικό οξύ (IAA) είναι η πιο σημαντική αυξίνη, οι συνθετικές αυξίνες χρησιμοποιούνται περισσότερο στην πράξη, κυρίως λόγω του χαμηλού κόστους παραγωγής τους, τα καλά αποτελέσματα και την παρατεταμένη τους δράση (σταθερότητα).

Η δράση των συνθετικών αυξινών έχει μεγαλύτερη διάρκεια κυρίως γιατί αυτές είναι άγνωστες για τα φυτά ουσίες και δεν μπορούν να διασπαστούν από τα ένζυμα των φυτών. Αντιθέτως, το IAA είναι μια ουσία που παράγεται από το ίδιο το φυτό και έτσι μπορεί εύκολα να διασπαστεί από τα ενδογενή ένζυμα. Επιπλέον είναι ευαίσθητο στο φως.



### 2.3.1 Ινδολο-οξικό οξύ (IAA, indole-3-acetic acid)

Παρόλο που ο Went απομόνωσε την αυξίνη με την τεχνική της διάχυσης στο άγαρ, δεν κατόρθωσε να την απομονώσει στην καθαρή της μορφή ούτε να την προσδιορίσει χημικά. Ο χημικός χαρακτηρισμός της έγινε το 1934 από τους Kogl, Haagen-Smit και Erxleben στη Utrecht της Ολλανδίας όταν κατάφεραν να απομονώσουν από ανθρώπινα ούρα τις ουσίες «αυξίνη Α και Β» και «ετεροαυξίνη». Η τελευταία προσδιορίστηκε ότι δεν ήταν άλλη από το ινδολοξικό οξύ (indole-3-acetic acid, IAA), το οποίο ήταν γνωστό από το 1904 αλλά δεν είχε γίνει γνωστή η βιολογική του δράση. Η πρώτη αναφορά της παρουσίας του IAA σε ανώτερα φυτά έγινε το 1946 από τον A.J. Haagen-Smit. Σήμερα είναι γενικά αποδεκτό ότι είναι η κυριότερη, και ίσως μοναδική, φυσική αυξίνη στα ανώτερα φυτά και σε ορισμένα βακτήρια.

Το IAA φαίνεται πως παράγεται κυρίως στα κορυφαία και ριζικά μεριστώματα αλλά και στα νεαρά φύλλα και τους σπόρους στα αναπτυσσόμενα φρούτα. Οι περιοχές με την εντονότερη βιοσύνθεση αυξίνης είναι οι επάκριοι οφθαλμοί, ο νεαρός βλαστός κάτω από τον επάκριο οφθαλμό και τέλος τα νεαρά φύλλα. Η μεταφορά της στα υπόλοιπα μέρη του φυτού δείχνει έντονη πολικότητα. Ο άμεσος πρόδρομος στη βιοσύνθεση του IAA μέσα στα φυτά φαίνεται πως είναι η τρυπτοφάνη, ενώ η απενεργοποίησή της γίνεται με διάφορους μηχανισμούς όπως η φωτοοξειδωση, η ενζυμική οξειδωση (όταν απομονώνεται το ένζυμο IAA-οξειδάση) και η μετατροπή της τρυπτοφάνης σε αδρανείς γλυκοζίτες.

Η αυξίνη μπορεί να είναι ελεύθερη ή δεσμευμένη. Με τον όρο δεσμευμένη αυξίνη εννοούμε τις σύμπλοκες ενώσεις του IAA. Σε αντίθεση με την ελεύθερη αυξίνη, η οποία παραλαμβάνεται εύκολα, για να μπορέσουμε να παραλάβουμε την δεσμευμένη αυξίνη από τους ιστούς χρειάζονται πολύπλοκες βιολογικές διαδικασίες με υδρολυτικά ένζυμα. Ορισμένα δεδομένα (Bandurski, 1979) δείχνουν τη σημασία των παραγώγων του IAA (εστέρες και αμίδια), της δεσμευμένης δηλαδή μορφής της αυξίνης. Σύμφωνα με τα δεδομένα αυτά:

- ο Τα παράγωγα του IAA και όχι η τρυπτοφάνη είναι οι πηγές του IAA στους βλαστώντες σπόρους.

- Ένα παράγωγο του IAA είναι ο πρόδρομος της αυξίνης του σπόρου.
- Η μετατροπή του IAA σε παράγωγά του το προφυλάσσει από τη δράση της υπεροξειδάσης του IAA. Η αντιστρεπτή σύνθεση και υδρόλυση των παραγώγων του IAA δίνει τη δυνατότητα δημιουργίας ενός συστήματος ελέγχου της αυξίνης στο φυτό που να αντιδρά στις μεταβολές των συνθηκών του περιβάλλοντος.

### 2.3.2 Ινδολο-βουτυρικό οξύ (IBA, Indole-3-butyric acid)

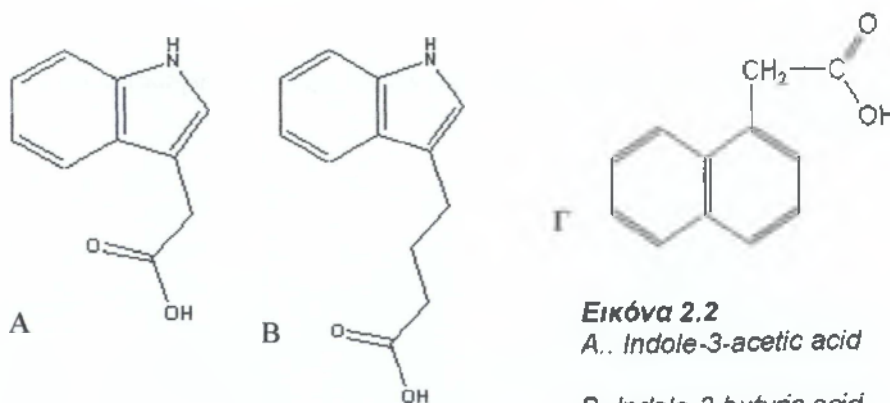
Το IBA είναι ένας ρυθμιστής αυξήσεως που χρησιμοποιείται σε πολλά φυτά για να προωθήσει την ανάπτυξη ριζών, ανθέων και καρπών καθώς και να αυξήσει την παραγωγή.

Οι παραγωγοί το βρίσκουν πιο αποτελεσματικό από το IAA γιατί τα φυτά δεν μπορούν να το διασπάσουν τόσο εύκολα. Είναι άλλωστε και λιγότερο ευαίσθητο στο φως από το IAA.

Το ινδολο-βουτυρικό οξύ για πολλά χρόνια συγκαταλεγόταν στις συνθετικές αυξίνες αλλά, πρόσφατα, αποδείχθηκε από τους Epstein και Muller ότι παράγεται από ορισμένα φυτά.

### 2.3.3. Ναφθαλινοξικό οξύ (NAA, naphthalene acetic acid)

Το NAA είναι μια συνθετική αυξίνη που χρησιμοποιείται ευρέως. Είναι βιολογικά σταθερή και ανθεκτική στο φως, το οποίο προσδίδει μεγαλύτερη ευκολία στη χρήση της.



**Εικόνα 2.2**  
*A.. Indole-3-acetic acid*  
*B. Indole-3-butyric acid*  
*Γ. Naphthalene acetic acid*

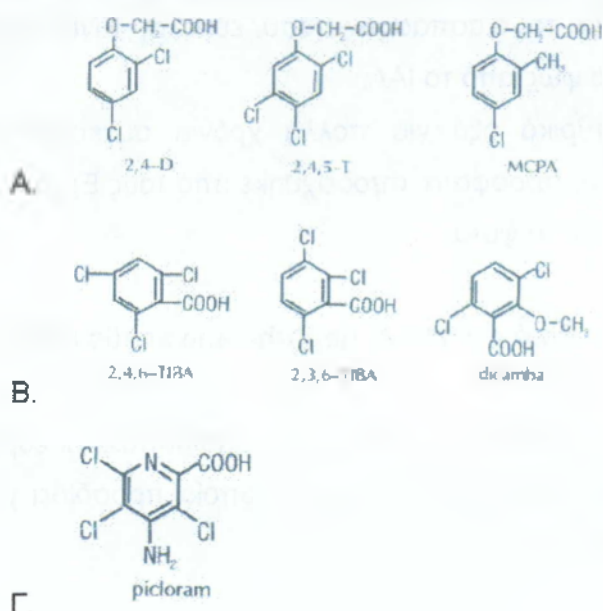
### 2.3.4 Άλλες γνωστές αυξίνες

Στις συνθετικές αυξίνες ανήκουν επίσης οι ομάδες των χλωροφαινοξικών, των βενζοϊκών και των πικολινικών οξέων.

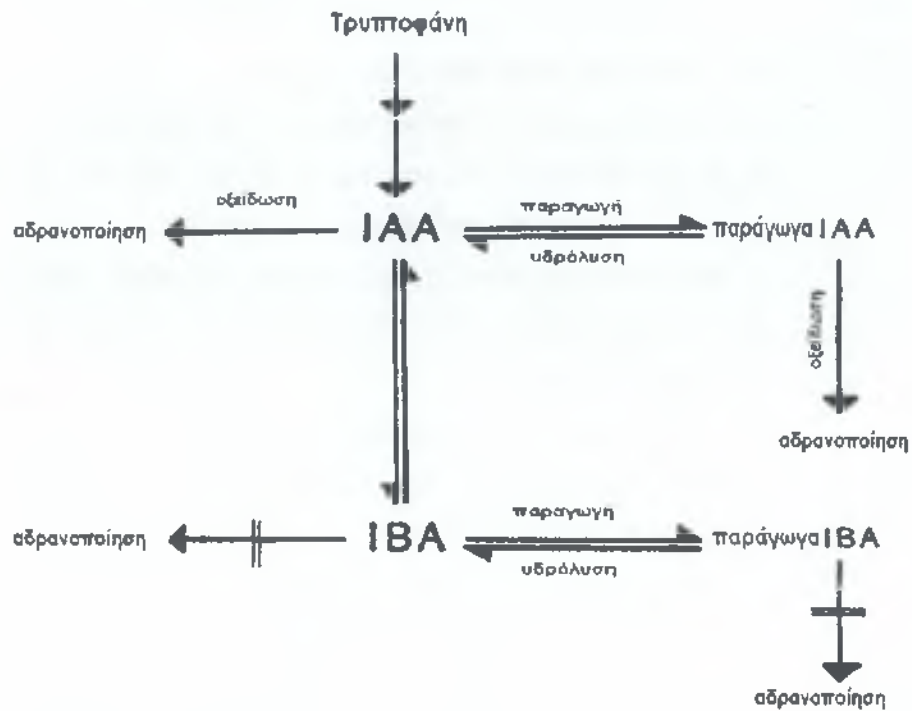
Στα χλωροφαινοξικά οξέα (chlorophenoxy acids) ανήκουν συνθετικές αυξίνες που χρησιμοποιούνται σαν ορμονικά ζιζανιοκτόνα όπως το 2,4-D, το MCPA κ.ά.

Στα βενζοϊκά οξέα (benzoic acids) ανήκουν τα 2,4,6- και 2,3,6-τριχλωροβενζοϊκά οξέα καθώς και το dicamba που χρησιμοποιείται σαν ζιζανιοκτόνο εναντίων δυσκολοεξόντωτων πλατύφυλλων ζιζανίων.

Στην ομάδα των πικολινικών οξέων (picolinic acids) ανήκει το ζιζανιοκτόνο picloram καθώς και μερικά άλλα σύγχρονα εκλεκτικά ζιζανιοκτόνα που φέρονται με διάφορες εμπορικές ονομασίες (Londrel κ.ά).



**Εικόνα 2.3** Συνθετικές αυξίνες: Α. χλωροφαινοξικά οξέα, Β. βενζοϊκά οξέα, Γ. πικολινικά οξέα.



**Εικόνα 2.4** Σχεδιάγραμμα για τις μεταβολικές μετατροπές του IAA και του IBA και τα παράγωγά τους.

## 2.4 Επιδράσεις της αυξίνης στις λειτουργίες των φυτών

Ο ρυθμιστικός ρόλος του IAA έχει μελετηθεί σε εξαιρετική έκταση αλλά δεν έχει γίνει ακόμα ικανοποιητικά κατανοητός. Υπάρχει η γενική αντίληψη, η οποία πρωτοδιατυπώθηκε από τον Went, πως η παρουσία του IAA είναι απαραίτητη για την φυτική αύξηση.

Εκτός από την επιμήκυνση του κολεόπτιλου, ο κατάλογος των αυξητικών και αναπτυξιακών διεργασιών που ελέγχονται και επηρεάζονται με κάποιο τρόπο από τις αυξίνες είναι ιδιαίτερα μακρύς. Παρακάτω αναφέρονται κάποιες από τις γνωστές επιδράσεις της αυξίνης.

1. Δίνει το ερέθισμα για την επιμήκυνση των κυττάρων,
2. Προκαλεί την διαίρεση των κυττάρων στο κάμβιο, σε συνδυασμό με τις κυτοκινίνες στην ιστοκαλλιέργεια,
3. Παρακινεί την διαφοροποίηση του φλοιώματος και του ξυλώματος.

4. Διεγείρει την δημιουργία ριζών στις τομές των βλαστών και την πλευρική ανάπτυξη των ριζών στην ιστοκαλλιέργεια,
5. Είναι υπεύθυνη για την κάμψη των φυτικών μερών ως αντίδραση στον φωτοτροπισμό και τον γεωτροπισμό,
6. Η αυξίνη στον επάκριο οφθαλμό καταστέλλει την ανάπτυξη στους πλευρικούς οφθαλμούς (κυριαρχία κορυφής),
7. Επιδρά στους μηχανισμούς παραγωγής αιθυλενίου, συνεπώς
8. Μπορεί να διακόψει ή να προωθήσει την αποκοπή των φύλλων και των καρπών,
9. Προάγει την θηλυκότητα στα δίοικα άνθη,
10. Μπορεί να παρακινήσει την καρπόδεση και την ανάπτυξη των καρπών σε ορισμένα φυτά,
11. Καθυστερεί την ωρίμανση των φρούτων,
12. Καθυστερεί τον γηρασμό των φύλλων,
13. Προάγει την άνθηση στην οικογένεια των Βρομελιάδων,
14. Δίνει το ερέθισμα για την ανάπτυξη στα ανθικά μέρη.

## 2.5 Τρόποι δράσης των αυξινών

Η αυξίνη μελετήθηκε πολύ όσον αφορά τη δράση της στα διάφορα στάδια ανάπτυξης των φυτών. Μεγάλο μέρος αυτής της μελέτης αφιερώθηκε στον τρόπο δράσης των αυξινών στην επιμήκυνση των κυττάρων.

Σήμερα πιστεύεται ότι η φυσική αυξίνη, καθώς και οι συνθετικές, δρουν σε κυτταρικό επίπεδο σε δύο διαφορετικά σημεία: Το ένα είναι τα κυτταρικά τοιχώματα και το άλλο είναι ο μεταβολισμός του ριβιζονουκλεϊνικού οξέος (RNA) και των πρωτεϊνών του κυττάρου.

Στη δεκαετία του '60 αναπτύχθηκε από τον Key και τους συνεργάτες του η υπόθεση της έκφρασης των γονιδίων (gene expression hypothesis), σύμφωνα με την οποία η αυξίνη, δρώντας στα γονίδια, επιφέρει αλλαγές στην σύνθεση του RNA και των πρωτεϊνών.

Πολλές επιδράσεις της αυξίνης επιτυγχάνονται μέσω αλλαγών στη μεταγραφή των γονιδίων. Η παρουσία της αυξίνης έχει αποδειχθεί ότι είναι

υπεύθυνη για την εκδήλωση κάποιων γονιδίων, τα οποία απουσία της αυξίνης δεν εκδηλώνονται.

Τα μόρια της αυξίνης προσκολλώνται σε συγκεκριμένους υποδοχείς στην επιφάνεια του κυττάρου, πιθανώς σε κάποιες πρωτεΐνες που διαπερνούν και τα δύο στρώματα της κυτταρικής μεμβράνης, όπως είναι η ABP1 (auxin-binding protein 1). Στη συνέχεια προσκολλάται σε μόρια του κυτταρολύματος, όπως το ARF1 (auxin response factor 1), το οποίο είναι παράγοντας μεταγραφής του DNA. Εισέρχεται στον πυρήνα και προσκολλάται στην ακολουθία του DNA με τη βοήθεια του ARF. Η δράση της αυξίνης στη μεταγραφή των γονιδίων είναι παρόμοια με τη δράση των στεροΐδων στα ζώα.

Μια δεκαετία αργότερα αναπτύχθηκε μια δεύτερη θεωρία, η υπόθεση της οξύνισης των κυτταρικών τοιχωμάτων (wall acidification hypothesis). Η θεωρία αυτή, η οποία αναπτύχθηκε παράλληλα από τους Cleland και Hager, υποστηρίζει ότι η αυξίνη προκαλεί την πτώση του pH των κυτταρικών τοιχωμάτων, διευκολύνοντας έτσι, την ολίσθηση των αλυσίδων της ξυλογλυκάνης κατά μήκος των μικροϊνιδίων της κυτταρίνης και κατά συνέπεια την επιμήκυνση των κυτταρικών τοιχωμάτων.

Η άφιξη της αυξίνης στην επιφάνεια του κυττάρου δίνει το έναυσμα για άμεσες αντιδράσεις όπως είναι οι αλλαγές στην κίνηση των ιόντων μέσα και έξω από το κύτταρο, μέσω της πλασματικής μεμβράνης, προκαλώντας την πτώση του pH των κυτταρικών τοιχωμάτων και τη διατήρησή του στο 5. Η πτώση αυτή του pH έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση ορισμένων ενζύμων που προκαλούν με τη σειρά τους τη χαλάρωση των κυτταρικών τοιχωμάτων. Μετά από αυτή τη διαδικασία η επιμήκυνση του κυττάρου γίνεται με τη δύναμη της σπαργής.

Πιο πρόσφατα, το 1980, μια τρίτη θεωρία αναπτύχθηκε από τον Vanderhoef. Σύμφωνα με αυτή, οι δύο πρώτες θεωρίες δεν είναι ασυμβίβαστες μεταξύ τους και μπορούν να συνδυαστούν σε μια τρίτη υπόθεση, η οποία έχει σαν βάση την παραδοχή ότι η ίδια η αυξίνη ρυθμίζει την χαλάρωση των κυτταρικών τοιχωμάτων μέσω του pH και δρα στον γενετικό κώδικα των κυττάρων προκαλώντας αλλαγές στην σύνθεση του RNA και των πρωτεϊνών (από Πασπάτης Ε., 1998).



### **3.1 Εισαγωγικά**

Για να ολοκληρωθεί η αναφορά στις φυτορμόνες θα πρέπει να αναφερθούμε σχετικά και στις υπόλοιπες ομάδες. Οι κυριότερες από αυτές, εκτός των αυξινών, είναι οι γιββερελλίνες, οι κυτοκινίνες, το αμπισισικό οξύ, το αιθυλένιο και το φυτόχρωμα.

Είναι πλέον αποδεκτό ότι η δράση της μιας ομάδας εξαρτάται από τις υπόλοιπες και ότι η αντίδραση του φυτού είναι τελικά το αποτέλεσμα του ισοζυγίου των ορμονών. Παρόλα αυτά κάθε ομάδα φυτορμονών έχει τα δικά της χαρακτηριστικά, τα οποία τη διαχωρίζουν από τις υπόλοιπες.

### **3.2 Γιββερελλίνες**

Οι γιββερελλίνες είναι φυτορρυθμιστικές ουσίες για τις οποίες έχει γίνει πλέον αποδεκτό ότι έχουν πολύ μεγάλη σημασία στη φυσιολογία του φυτού. Η ανακάλυψη της μεγάλης αυτής ομάδας φυτορμονών έγινε τη δεκαετία του 1920, σχεδόν παράλληλα με τις μελέτες για την αυξίνη, χάρη στις έρευνες σχετικά με την ασθένεια *bacopa* (ασθένεια του τρελού ρυζιού), η οποία κατέστρεφε την παραγωγή ρυζιού στην Ιαπωνία και σε άλλες χώρες της Ασίας.

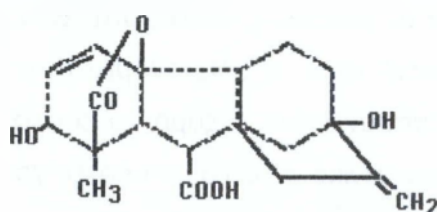
Το χαρακτηριστικό σύμπτωμα αυτής της φυτονόσου είναι η υπερβολική επιμήκυνση του βλαστού και των φύλλων και έχει συνήθως σαν τελικό αποτέλεσμα την κατάρρευση και καταστροφή του φυτού πριν ακόμα φτάσει στην άνθηση.

### 3.2.1 Η ανακάλυψη του GA<sub>3</sub>

Το 1926 ο Kurosawa διαπίστωσε πως υπεύθυνος για την ανώμαλη αύξηση του ρυζιού είναι ο μύκητας *Gibberella fujikuroi* και η μετάδοση της ασθένειας από φυτό σε φυτό γίνεται με τα σπόρια του μύκητα. Ο ασκομύκητας αυτός εκκρίνει στο εξωτερικό του περιβάλλον κάποια ουσία που όταν προσληφθεί από τα φυτά ρυζιού προκαλεί υπερβολική επιμήκυνση του βλαστού.

Η ιδιότητα αυτή του μύκητα παρατηρήθηκε για πρώτη φορά στο Πανεπιστήμιο του Τόκιο το 1935 από τον T. Yabuta, ο οποίος ονόμασε την άγνωστη αυτή ουσία gibberellin. Το 1939, ο ίδιος μαζί τον Y. Sumiki, κατάφεραν να απομονώσουν σε κρυσταλλική μορφή, από διήθημα καλλιεργειών του *Gibberella fujikuroi* 2 βιολογικά δραστικά συστατικά τα οποία ονομάστηκαν γιββερελλίνη Α και Β.

Η μεσολάβηση του Β΄ παγκοσμίου πολέμου εμπόδισε την διάδοση αυτής της ανακάλυψης, η οποία παρέμεινε στο σκοτάδι μέχρι την δεκαετία του '50. Το 1954 απομονώθηκε στην Αγγλία το γιββερελλικό οξύ (GA<sub>3</sub>) το οποίο δεν είναι άλλο από την ουσία που είχε χαρακτηριστεί σαν γιββερελλίνη Α. Μέχρι σήμερα είναι γνωστές πάνω από 90 γιββερελλίνες. Έχει άλλωστε αποδειχθεί ότι σε ένα φυτικό όργανο ή ιστό μπορεί να περιέχονται συγχρόνως δύο ή και περισσότερες φυσικές γιββερελλίνες και η περιεκτικότητα και η αναλογία τους ποικίλλει ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης του οργάνου ή του ιστού.

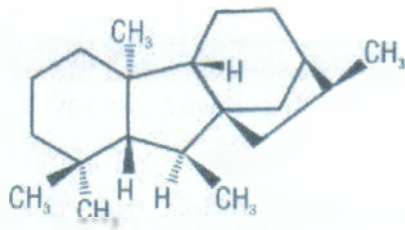


Εικόνα 3.1 Γιββερελλινικό οξύ GA<sub>3</sub>

### 3.2.2. Χημική δομή και βιολογική δράση

Όλες οι γιββερελλίνες έχουν στην χημική τους δομή έναν κοινό σκελετό, τον ent-gibberellane, ο οποίος τις χαρακτηρίζει. Κατά τον Palleg (1965) άλλωστε οι γιββερελλίνες είναι ενώσεις που έχουν τον σκελετό του ent-gibberellane και βιολογική δράση τη διέγερση της κυτταρικής διαίρεσης και





Εικόνα 3.2 γιββερίλινικός σκελετός

της κυτταρικής επιμήκυνσης ή και των δύο ή κάποια άλλη βιολογική δράση που μπορεί να συνδεθεί ειδικά με τις λειτουργίες αυτές. Οι διάφορες γιββερελλίνες, εκτός του ότι παρουσιάζουν διαφορές στην ένταση της βιολογικής τους δράσης, παρουσιάζουν και εξειδίκευση στα διάφορα είδη των φυτών.

Παρόλο που φαινομενικά οι γιββερελλίνες έχουν την ίδια δράση με τις αυξίνες, εντούτοις δρουν τελείως διαφορετικά. Σε ορισμένες περιπτώσεις έχει αναφερθεί συνεργατική δράση μεταξύ αυξινών και γιββερελλινών στην αύξηση των φυτών. Σύμφωνα με ορισμένους ερευνητές, οι γιββερελλίνες δρουν με την προώθηση της βιοσύνθεσης της αυξίνης από την τρυπτοφάνη και την τρυπταμίνη.

Είχε τονιστεί ιδιαίτερα στο παρελθόν ότι οι γιββερελλίνες δρουν σαν ενδογενείς φυτορρυθμιστικές ουσίες μέσω της υποκίνησης του μεταβολισμού των αυξινών. Σύμφωνα όμως με νεότερα δεδομένα, οι γιββερελλίνες αν και αλληλεπιδρούν άμεσα ή έμμεσα με τις αυξίνες και τις άλλες φυσικές φυτορρυθμιστικές ουσίες, παρουσιάζουν την δική τους αυτοδύναμη φυτορρυθμιστική δράση.

Η πιο εντυπωσιακή αντίδραση των φυτών σε εφαρμογή γιββερελλινών είναι η επιμήκυνση των βλαστών και ειδικά σε γενετικώς νάνα φυτά. Ένα από τα χαρακτηριστικά που μελέτησε ο Mendel ήταν η κληρονομικότητα του νανισμού. Το υπολειπόμενο γονίδιο "le" παράγει ένα ένζυμο το οποίο δεν επιτρέπει στο φυτό να σχηματίσει το γιββερελλινικό οξύ. Το επικρατές γονίδιο "Le", αντίθετα, παράγει ένα ένζυμο το οποίο επιτρέπει φυσιολογικά την σύνθεση της γιββερελλίνης γι' αυτό και δίνει τον «ψηλό» φαινότυπο. Επειδή λοιπόν ο νανισμός οφείλεται στην έλλειψη σύνθεσης γιββερελλίνης, είναι κατανοητό ότι η εξωγενής παροχή γιββερελλινών οδηγεί στη θεραπεία του νανισμού και την ανάπτυξη του φυτού.

Άλλες σημαντικές δράσεις των γιββερελλινών είναι η άρση του λήθαργου στα φωτοαπαιτητικά σπέρματα, η επαγωγή της άνθησης σε φυτά

με φωτοπεριοδικές απαιτήσεις, η προώθηση του δεσμάτος και της ανάπτυξης του καρπού και, σε μερικές περιπτώσεις, η αναστολή της γήρανσης των φύλλων.

### **3.2.3 Βιοσύνθεση**

Η βιοσύνθεση των γιββερελλινών ξεκινά από το μεβαλονικό οξύ (mevalonic acid, mevalonate) το οποίο μέσα από διάφορες αντιδράσεις μετατρέπεται σε καουρένιο, την πρόδρομο ένωση όλων των γιββερελλινών. Ο μεταβολισμός του καουρενίου σε γιββερελλίνη γίνεται με μια σειρά οξειδωτικών αντιδράσεων παρουσία οξειδασών, οξυγόνου και ανηγμένου πυριδονουκλεοτιδίου (NADPH).

Η ικανότητα των νεαρών βλαστών και των ανώριμων σπόρων να παράγουν καουρένιο είναι σοβαρή ένδειξη παραγωγής γιββερελλίνης σ' αυτούς.

Η φυσική γιββερελλίνη συντίθεται κυρίως στην αναπτυσσόμενη κορυφή του βλαστού καθώς επίσης, σε μικρότερες ποσότητες, στα νεαρά φύλλα του ακραίου οφθαλμού και στα λίγο παλαιότερα, αλλά όχι τελείως ανεπτυγμένα, φύλλα του βλαστού. Βιοσύνθεση γιββερελλίνης γίνεται επίσης στις κορυφές των ριζών (στα ακραία 3-4mm) καθώς και στους αναπτυσσόμενους καρπούς και σπόρους (στις κοτυληδόνες ή στο ενδοσπέρμιο).

### **3.2.4 Τρόποι δράσης**

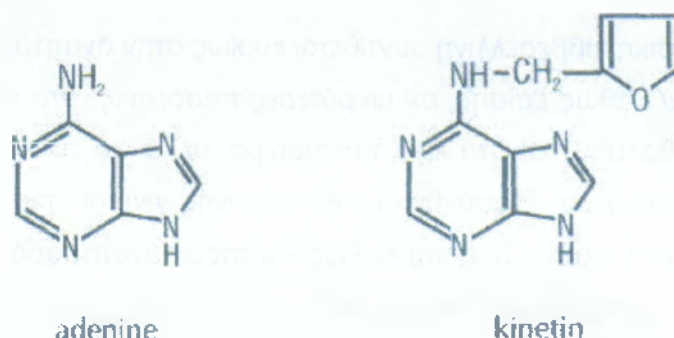
Ο τρόπος δράσης των γιββερελλινών δεν έχει κατανοηθεί πλήρως. Μόνο η υποκίνηση της υδρόλυσης του αμύλου στο ενδοσπέρμιο των σπόρων του κριθαριού έχει αναλυθεί και κατανοηθεί πλήρως.

Η γιββερελλίνη ενεργοποιεί την αμυλάση, το ένζυμο που καταλύει την υδρόλυση του αμύλου που περιέχει το ενδοσπέρμιο. Δεν είναι γνωστό ακόμη αν και για τις άλλες δράσεις της γιββερελλίνης στο φυτό, και κυρίως για την επιμήκυνση των βλαστών, ο τρόπος δράσης της φυτομόνης αυτής είναι ο ίδιος.

### 3.3 Κυτοκινίνες

Οι κυτοκινίνες είναι φυτικές αυξητικές ουσίες, χημικώς σχετικές με την πουρίνη και την αδεΐνη, οι οποίες παρουσία της αυξίνης υποκινούν τη διαίρεση φυτικών κυττάρων τα οποία φυσιολογικά έχουν χάσει την ικανότητά τους αυτή. Η κινετίνη ήταν η πρώτη κυτοκινίνη που ανακαλύφθηκε και ονομάστηκε έτσι λόγω της ικανότητάς της να διεγείρει την κυτταρική διαίρεση (κυτοκίνηση).

Η πιο κοινή μορφή κυτοκινίνης που απαντάται στα φυτά είναι η ζεατίνη (zeatin) και απομονώθηκε από το καλαμπόκι (*Zea mays*). Οι κυτοκινίνες έχουν βρεθεί σε, όλα σχεδόν, τα ανώτερα φυτά, όπως επίσης και στα φυλλόβρυα, τους μύκητες, τα βακτήρια και το t-RNA πολλών προκαρυωτικών και ευκαριωτικών οργανισμών. Σήμερα έχουν ανακαλυφθεί πάνω από 200 φυσικές και συνθετικές κυτοκινίνες.



Εικόνα 3.3 Χημική δομή της αδεΐνης και της κινετίνης

#### 3.3.1 Η ανακάλυψη των κυτοκινινών

Η ανακάλυψη της ομάδας αυτής προήλθε από πειραματισμούς σε *in vitro* καλλιέργειες φυτικών ιστών και νεαρών εμβρύων. Ήδη από το 1913 ο Haberlandt είχε επισημάνει την παρουσία κάποιου παράγοντα από εκχύλισμα φλοιώματος, ο οποίος προκαλούσε την μετατροπή παρεγχυματικών κυττάρων από κόνδυλο πατάτας σε μεριστωματικά. Το 1941 βρέθηκε πως η ανάπτυξη απομονωμένων νεαρών εμβρύων σε ασηπτικές συνθήκες απαιτούσε την παροχή θρεπτικού μέσου με γάλα καρύδας, επειδή αυτό περιείχε πολύ μικρές

συγκεντρώσεις κάποιων άγνωστων ουσιών που επιτρέπουν τη συνεχή κυτταρική διαίρεση στα έμβρυα (van Overbeek et al.). το 1955 όμως ο Skoog και οι συνεργάτες του στο πανεπιστήμιο του Wisconsin (USA) απομόνωσαν σε καθαρή μορφή ένα παράγωγο της αδενίνης (6-furfuryl-amino-purine), η οποία ονομάστηκε κινετίνη (kinetin) από την ικανότητα της να υποκινεί τη κυτταρική διαίρεση κυττάρων της εντεριώνης του καπνού, *in vitro*, παρουσία αυξίνης. Η απομόνωση της κινετίνης έγινε, κάτω από ορισμένες συνθήκες, από παλαιό δείγμα DNA σπέρματος του ψαριού ρέγγα.

Έχει αποδειχθεί ότι οι κυτοκινίνες υπάρχουν σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε ιστούς όπου συμβαίνει ταχεία κυτταρική διαίρεση και ειδικά σε νεαρούς καρπούς όπου αυτές προφανώς συντίθενται. Φαίνεται όμως πως το ριζικό σύστημα αποτελεί το βασικό παραγωγό κυτοκινινών. Έτσι η εξάρτηση των φύλλων από τη ρίζα μπορεί να υποκατασταθεί με την εξωγενή κυτοκινίνη ενώ η ανάλυση του χυμού στο ξύλωμα αποκάλυψε την παρουσία σημαντικών ποσοτήτων κυτοκινινών. Σε *in vitro* καλλιέργειες άλλωστε μπορούμε να έχουμε ανάπτυξη υπέργειου μέρους χωρίς την ανάπτυξη της ρίζας, αφού παρουσία κυτοκινίνης η ρίζα δεν χρειάζεται.

### 3.3.2 Η δράση των κυτοκινινών στα φυτά

Η επίδραση της κυτοκινίνης στα φυτά ποικίλλει, ανάλογα με τον τύπο της κυτοκινίνης και το φυτικό είδος. Οι φυτικές αντιδράσεις στην παρουσία της κυτοκινίνης περιλαμβάνουν την κυτταρική διαίρεση (κυτοκίνηση), την ανάπτυξη φυτικών οργάνων (π.χ. έκπτυξη βλαστών στην ιστοκαλλιέργεια), παρεμπόδιση της γήρανσης στα φύλλα και την παρακίνηση για δημιουργία χλωροπλαστών.

#### Παρεμπόδιση της γήρανσης των φύλλων

Οι κυτοκινίνες έχει αποδειχθεί ότι δρουν στην παρεμπόδιση της εκδήλωσης του φαινομένου της γήρανσης στα φύλλα των φυτών (leaf senescence). Αυτό γίνεται επειδή βοηθούν στη διατήρηση της σύνθεσης των πρωτεϊνών και των νουκλεϊνικών οξέων.

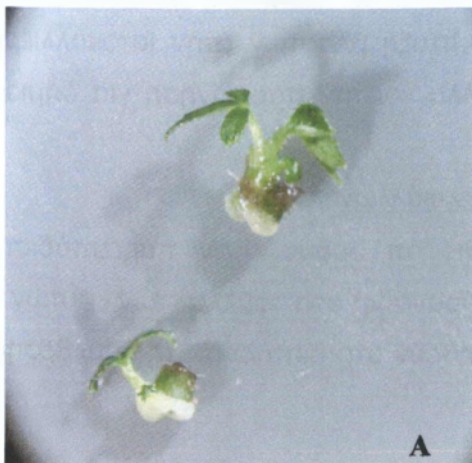




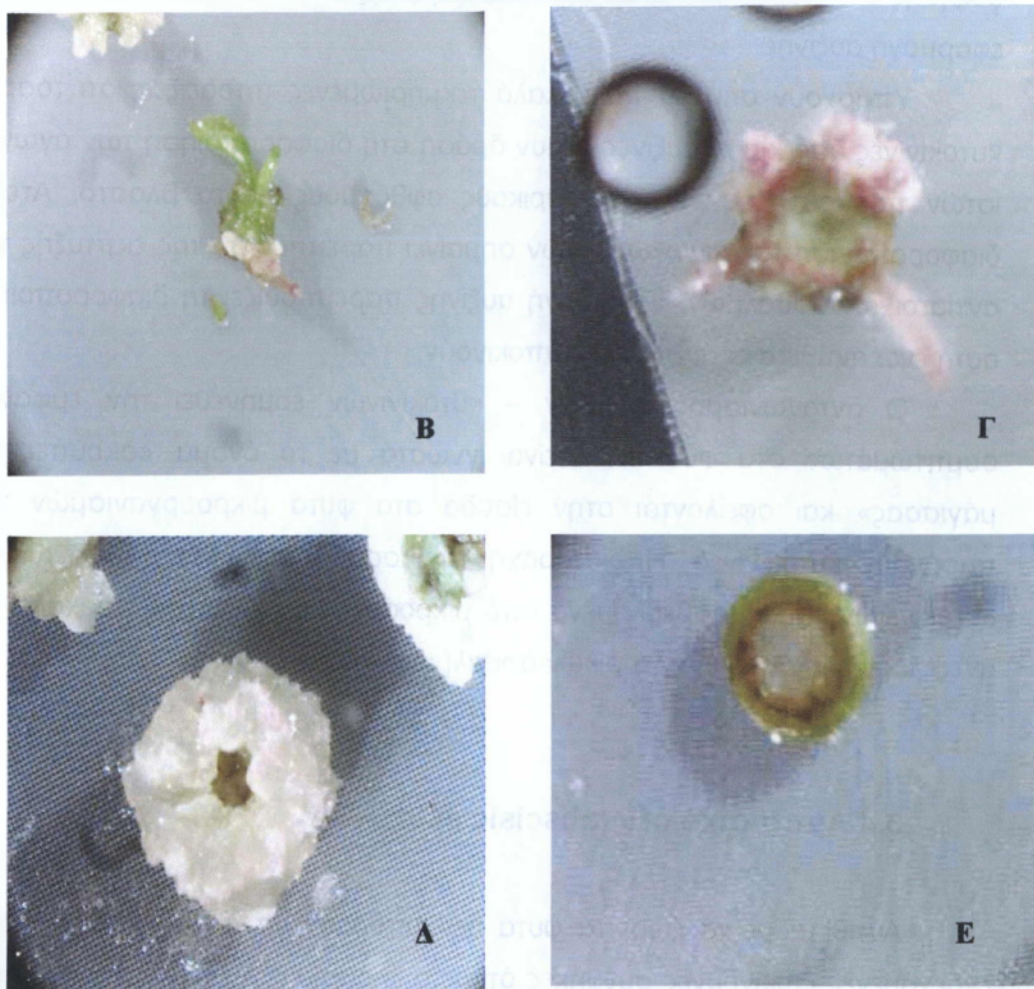
**Εικόνα 3.4** Αυξημένα επίπεδα κυτοκίνινης σε μεταλλαγμένα φυτά καπνού ( $P_{SAG12}$ -IPT) καθυστερούν την γήρανση των φύλλων. Αριστερά: μάρτυρας, Δεξιά:  $P_{SAG12}$ -IPT στο οποίο έχει εφαρμοστεί κυτοκίνινη.

### Μορφογένεση

Οι κυτοκίνινες, σε συνδυασμό με τις αυξίνες φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της μορφογένεσης. Καθώς η δράση των κυτοκινινών είναι ανταγωνιστική με εκείνη των αυξινών η σχέση κυτοκίνινης προς αυξίνη καθορίζει το αν ο καλλιεργούμενος ιστός θα γίνει μια αδιαφοροποίητη μάζα κυττάρων (κάλλος) ή θα διαφοροποιηθεί και θα αναπτύξει οφθαλμούς ή ρίζες.



**Εικόνα 3.5** Διάφορα αποτελέσματα της διαφοροποίησης των κυττάρων, σε δίσκους βλαστού τριανταφυλλιάς in vitro, ανάλογα με την υπάρχουσα σχέση αυξίνης και κυτοκίνινης.  
 Α: μεγάλη αναλογία κυτοκίνινης προς αυξίνη,  
 Β: ενδιάμεση αναλογία κυτοκίνινης προς αυξίνη,  
 Γ: μικρή αναλογία κυτοκίνινης,  
 Δ: ενδιάμεση συγκέντρωση κυτοκίνινης, μεγάλη συγκέντρωση αυξίνης,  
 Ε: μάρτυρας



Παρεμπόδιση της κυριαρχίας της κορυφής

Σαν κυριαρχία κορυφής ορίζεται το φαινόμενο της αναστολής της ανάπτυξης των πλευρικών οφθαλμών σ' ένα φυτό εξαιτίας της παρουσίας ενός αναπτυσσόμενου κορυφαίου οφθαλμού. Το φαινόμενο αυτό εκδηλώνεται σαν αποτέλεσμα του ανταγωνισμού μεταξύ των κυτοκινινών και της αυξίνης. Η αυξίνη προωθεί την ανάπτυξη του επάκριου οφθαλμού και παρεμποδίζει την έκπτυξη των πλαγίων. Αντιθέτως, η παρουσία της κυτοκινίνης στους πλευρικούς οφθαλμούς(είτε όταν παράγεται σε αυτούς είτε όταν μεταφέρεται από τις ρίζες εκεί) ανταγωνίζεται τη δράση των αυξινών. Επιπλέον, εφαρμογή εξωγενούς κυτοκινίνης προκαλεί την έκπτυξη πλευρικών οφθαλμών, η έκπτυξη αυτή όμως φαίνεται ότι δεν είναι πλήρης και υστερεί σε αύξηση αν συγκριθεί με την αύξηση που προκύπτει αν η διακοπή της επικράτησης οφείλεται σε αφαίρεση του επάκριου οφθαλμού. Η υστέρηση αυτή της

αύξησης δεν παρατηρείται αν την εφαρμογή της κυτοκινίνης ακολουθήσει και εφαρμογή αυξίνης.

Υπάρχουν σήμερα πολύ καλά τεκμηριωμένες αποδείξεις ότι τόσο οι κυτοκινίνες όσο και οι αυξίνες έχουν δράση στη διαφοροποίηση των αγωγών ιστών που συνδέουν τους πλευρικούς οφθαλμούς με το βλαστό. Ατελής διαφοροποίηση των αγωγών ιστών σημαίνει παρεμπόδιση της έκπτυξης των αντίστοιχων οφθαλμών. Εφαρμογή αυξίνης παρεμποδίζει τη διαφοροποίηση αυτή ενώ αντίθετα οι αυξίνες την υποκινούν.

Ο ανταγωνισμός αυξινών – κυτοκινινών ερμηνεύει την εμφάνιση συμπτωμάτων στα φυτά που είναι γνωστά με το όνομα «σκούπες της μάγισσας» και οφείλονται στην είσοδο στα φυτά μικροοργανισμών που παράγουν κυτοκινίνες. Η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ αυξινών και κυτοκινινών στα προσβεβλημένα από μικροοργανισμούς φυτά προκαλεί την ανεξέλεγκτη βλάστηση πλευρικών οφθαλμών των βλαστών.

### **3.4 Αμπσισικό οξύ (abscisic acid, ABA)**

Αντίθετα με τα ζώα, τα φυτά δεν μπορούν να απομακρυνθούν από ενδεχόμενες επικίνδυνες συνθήκες όπως η ξηρασία ή η έλευση του χειμώνα. Έτσι το αν θα επιζήσει ένα φυτό ή όχι εξαρτάται από την ικανότητα του να περιορίσει την αύξησή του ή τις αναπαραγωγικές του δραστηριότητες.

Ο αριθμός των ουσιών που έχουν βρεθεί στα φυτά και έχουν την ιδιότητα να προκαλούν ανάσχεση ή παρεμπόδιση της αύξησης είναι αρκετά μεγάλος. Από αυτές μόνο το αμπσισικό οξύ θεωρείται σήμερα σαν φυτορρυθμιστική ουσία. Το ABA θεωρείται ότι έχει εξίσου μεγάλη σημασία με τις αυξίνες, τις γιββερελλίνες, τις κυτοκινίνες και το αιθυλένιο στον έλεγχο των διαφόρων φυσιολογικών λειτουργιών των φυτών.

### 3.4.1 Η ανακάλυψη του ABA

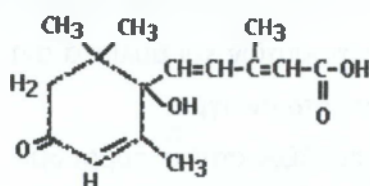
Το αμπισικό οξύ έχει ανιχνευτεί σε πάρα πολλά σπερματοφύτα (σε όλους σχεδόν τους ιστούς και τα όργανα), καθώς και σε πτεριδόφυτα και βρυόφυτα.

Στις αρχές της δεκαετίας του '60 απομονώθηκαν από κάψες βαμβακιού δύο ουσίες που προκαλούσαν επιτάχυνση της αποκοπής των μίσχων των φύλλων, οι abscisic acid I και II. Παράλληλα απομονώθηκε από φύλλα του φυτού *Betula pubescens* η ληθαργίνη (dormin), η οποία όταν εφαρμοζόταν σε οφθαλμούς φυτών τους ανάγκαζε να εισέρχονται σε λήθαργο.

Το 1965 δύο ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες, του Addicott στο Πανεπιστήμιο της Καλιφόρνια και του Wareing στο Πανεπιστήμιο της Ουαλίας (Μεγάλη Βρετανία), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι για την επιτάχυνση της πτώσης των φύλλων και το λήθαργο των οφθαλμών των ξυλωδών φυτών υπεύθυνη ήταν η ίδια φυσική φυτορρυθμιστική ουσία. Η abscisic acid II και η ληθαργίνη αποδείχθηκε ότι είναι η ίδια ουσία και ονομάστηκε αμπισικό οξύ (abscisic acid, ABA).

### 3.4.2 Χημική δομή και βιοσύνθεση του ABA

Το ABA ανήκει στην κατηγορία των σεσκιτερπενοειδών (sesquiterpenoids) και σχετίζεται, όσον αφορά τη βιοσύνθεσή του, με άλλα μονοτερπένια.

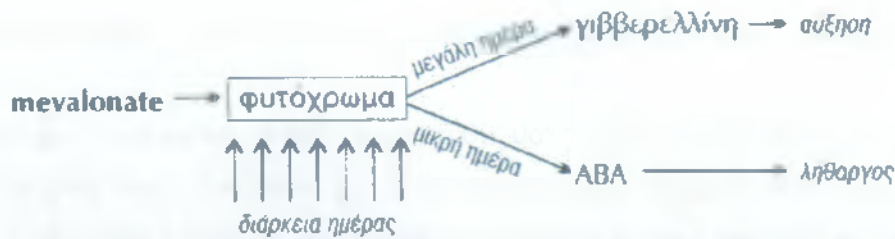


Εικόνα 3.6 Αμπισικό οξύ (ABA)

Η βιοσύνθεσή του γίνεται κυρίως στους χλωροπλάστες των φύλλων και των καρπών από το μεβαλονικό οξύ, όπως και οι γιββερελίνες. Η κοινή καταγωγή των δύο αυτών φυτορμονών έχει ιδιαίτερη σημασία για την ισορροπία και τη ρύθμιση της αύξησης στα φυτά. Έχει αποδειχθεί ότι κατά τη διάρκεια μεγάλων φωτοπεριόδων σχηματίζονται γιββερελλίνες, ενώ κατά τη διάρκεια μικρών σχηματίζεται αμπισικό οξύ. Πιθανότατα, η διάρκεια της



μέρας, διαμέσου του φυτοχρώματος, καθορίζει ποια από τις δύο αυτές φυτορρυθμιστικές ουσίες θα παραχθεί.



**Εικόνα 3.7** Σύνθεση γιββερελλίνης ή αμπισικού οξέος από το μεβαλονικό οξύ στους χλωροπλάστες, ανάλογα με τη διάρκεια της μέρας.

Η μεταφορά του ABA μέσα στο φυτό γίνεται εύκολα και μερικές φορές σχηματίζει γλυκοζυτικό εστέρα (η αντίδραση είναι αντιστρεπτή) καθώς και δύο προϊόντα οξειδωσης, το phaseic acid και το dihydrophaseic acid, που όμως είναι βιολογικά ανενεργά.

### 3.4.3 Η δράση του ABA στα φυτά

Το ABA είναι γενικά αυξητικός αναστολέας και συνδέεται ιδιαίτερα με την αποκοπή φύλλων και καρπών. Επάγει επίσης τον λήθαργο και θεωρείται σαν ο ληθαργικός παράγοντας των φυτών. Ακόμη, αναστέλλει τη φύτευση των σπερμάτων αναιρώντας την προωθητική δράση των γιββερελλινών. Μια ενδιαφέρουσα φυτική αντίδραση είναι και η αύξηση της συγκέντρωσης του ABA στα φύλλα φυτών που βρίσκονται σε υδατική καταπόνηση. Αυξημένη συγκέντρωση ABA προκαλεί το κλείσιμο των στομάτων. Φαίνεται πως το ABA είναι ρυθμιστής του ανοίγματος των στομάτων και μάλιστα αντιστρατεύεται τη δράση των κυτοκινινών που προωθούν το άνοιγμα.

Ο ακριβής τρόπος δράσης του ABA σαν φυτορρυθμιστική ουσία δεν είναι επακριβώς γνωστός. Υπάρχουν δυο καλά τεκμηριωμένα αποτελέσματα της βιοχημικής δράσης του ABA που δείχνουν και τον τρόπο δράσης του. Το πρώτο αποτέλεσμα είναι η τροποποίηση των μεμβρανών του πλάσματος των κυττάρων που εκδηλώνεται με την αλλαγή στο βιοηλεκτρικό δυναμικό στις επιφάνειες τους και με διαρροή και απώλεια  $K^+$ , το οποίο συμβαίνει στα κύτταρα των στομάτων των φύλλων. Το δεύτερο αποτέλεσμα είναι η παρεμπόδιση της σύνθεσης του RNA και των πρωτεϊνών.

### 3.5 Αιθυλένιο

Το αιθυλένιο είναι μια φυτική ορμόνη η οποία εμπλέκεται στη ρύθμιση πολλών φυσιολογικών διεργασιών. Αν και σαν χημική ουσία είναι γνωστή από αρκετά παλιά και από τις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα είχε ήδη διαπιστωθεί 'ότι είχε ενδιαφέρουσες επιδράσεις στην αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών, εντούτοις οι φυτορρυθμιστικές του ιδιότητες ανακαλύφθηκαν σχετικά πρόσφατα.

Αντίθετα με τις υπόλοιπες φυτορμόνες, το αιθυλένιο βρίσκεται σε αέρια μορφή και είναι το μόνο μέλος της τάξης του. Από τις γνωστές φυτορρυθμιστικές ουσίες το αιθυλένιο έχει την απλούστερη χημική δομή καθότι είναι ένας απλός υδρογονάνθρακας.



*Εικόνα 3.8 Μοριακός τύπος του αιθυλενίου*

#### 3.5.1 Φυσιολογικές επιδράσεις του αιθυλενίου

Μέχρι σήμερα έχει βρεθεί ότι το αιθυλένιο επιδρά φυσιολογικά σε πολλές λειτουργίες των φυτών και ότι έχει αλληλεπιδράσεις με άλλες φυτορρυθμιστικές ουσίες με διάφορα αποτελέσματα.

Οι κυριότερες φυσιολογικές επιδράσεις του αιθυλενίου στις διάφορες φυτικές λειτουργίες είναι οι ακόλουθες:

1. Υποκίνηση της ωρίμανσης των σαρκωδών φρούτων.
2. Υποκίνηση της αποκόλλησης των φύλλων από τους βλαστούς.
3. Η τριπλή ανταπόκριση (triple response) των, μεγαλωμένων στο σκοτάδι, φυταρίων ψυχανθών και συγκεκριμένα μείωση της επιμήκυνσης, αύξηση της διαμέτρου και διαταραχή του γεωτροπισμού του βλαστού.
4. Παρεμπόδιση της έκπτυξης των φύλλων και του επάκριου οφθαλμού σε φυτάρια μεγαλωμένα στο σκοτάδι.
5. Σμίκρυνση του επικοτυλίου ή του υποκοτύλιου τόξου κατά τη βλάστηση στο σκοτάδι δικότυλων φυτών.

6. Παρεμπόδιση της αύξησης των ριζών.
7. Αύξηση της περατότητας των μεμβρανών.
8. Υποκίνηση του σχηματισμού τυχαιών ριζών.
9. Υποκίνηση της άνθησης στον ανανά.
10. Παρεμπόδιση της έκπτυξης πλευρικών οφθαλμών.
11. Μάρανση ορισμένων τύπων ανθέων.
12. Επίδραση στην πολική μετακίνηση των αυξινών στα φυτά.
13. Πρόκληση επιπλαστικών φαινομένων στα φύλλα και συγκεκριμένα κλίση προς τα κάτω.
14. Επίδραση στο φαινόμενο του γεωτροπισμού των ριζών.
15. Υποκίνηση του σχηματισμού θηλυκών ανθών σε φυτά της οικογένειας *Cucurbitaceae*, όπως το αγγούρι.

### 3.5.2 Το αιθυλένιο σε σχέση με τις άλλες φυτορρυθμιστικές ουσίες

Αλληλεπίδραση αυξίνης και αιθυλενίου οδηγεί σε ρύθμιση του σχήματος και του μεγέθους των κυττάρων και στηρίζεται στην αντίθετη δράση των φυτορρυθμιστικών αυτών ουσιών.

Είναι σήμερα γνωστό ότι φυσιολογικές συγκεντρώσεις IAA και διαφόρων συνθετικών αυξινών υποκινούν τη σύνθεση αιθυλενίου στις ρίζες, τους βλαστούς, τα φύλλα, τα άνθη και τους καρπούς των φυτών. Για το λόγο αυτό έχει επικρατήσει η άποψη ότι πολλά από τα αποτελέσματα των αυξινών στα φυτά πρέπει να αποδοθούν στην επίδρασή τους στην παραγωγή αιθυλενίου. Γι' αυτό το λόγο άλλωστε και οι μεγάλες δόσεις συνθετικών αυξινών προκαλούν τελικά παρεμπόδιση της αύξησης. Ενώ οι αυξίνες από μόνες τους δεν έχουν την ιδιότητα να παρεμποδίζουν την αύξηση, σε ορισμένες συγκεντρώσεις που διαφέρουν στους διάφορους ιστούς, υποκινούν την παραγωγή αιθυλενίου το οποίο και τελικά παρεμποδίζει την αύξηση.

Υποκίνηση της παραγωγής αιθυλενίου έχει αποδειχτεί ότι προκαλεί και η κινετίνη (kinetin) όταν εφαρμοστεί σε συγκέντρωση  $10^{-4}M$ , σε φυτάρια μπιζελιού, και προκαλεί την αύξηση του παραγόμενου, σαν συνέπεια εφαρμογής IAA, αιθυλενίου, δρώντας συνεργαστικά.

Μεταξύ αιθυλενίου και γιββερελλινικού οξέος έχουν παρατηρηθεί φαινόμενα ανταγωνιστικής δράσης στη βιοδοκιμή της επιμήκυνσης του

υποκοτυλίου του μαρουλιού, καθώς και στη βιοδοκιμή της ενεργοποίησης της α-αμυλάσης για τις γιββερελλίνες. Υπάρχουν όμως πολλές άλλες διεργασίες της αύξησης και της ανάπτυξης όπου το αιθυλένιο και οι γιββερελλίνες συνεργάζονται, όπως είναι η αναστροφή της εισόδου στο λήθαργο σε σπόρους μαρουλιού, η πρόκληση αποφύλλωσης σε φυτά βαμβακιού και η επιμήκυνση βλαστών στο ρύζι και το υδροχαρές *Callitriche platycarpa*. Όπου το αιθυλένιο δρα σαν υποκινητής της αύξησης, το CO<sub>2</sub> οι γιββερελλίνες και οι αυξίνες αυξάνουν τη δράση του, σε αντίθεση με τις περιπτώσεις όπου δρα σαν παρεμποδιστής της αύξησης.

### 3.6 Φυτόχρωμα

Το φυτόχρωμα, με την στενή έννοια του όρου, δεν θεωρείται ότι ανήκει στις φυσικές φυτορρυθμιστικές ουσίες. Είναι όμως μια χρωστική η οποία, αν και περιέχεται σε πολύ μικρές ποσότητες στα φυτά, παίζει αποφασιστικό ρόλο στη ρύθμιση της αύξησης και της ανάπτυξης όπως και οι φυσικές φυτορρυθμιστικές ουσίες.

Το φυτόχρωμα ανακαλύφθηκε το 1959 από τον Borthwick και τους συνεργάτες του μετά από πολλά χρόνια ερευνών. Πρόκειται για μια φυτική υδατοδιαλυτή χρωμοπρωτεΐνη και η παρουσία του έχει, έμμεσα ή άμεσα, βεβαιωθεί σε όλες τις ομάδες του φυτικού βασιλείου, με εξαίρεση τους μύκητες. Στα ανώτερα φυτά, που αποτελούν άλλωστε το κύριο αντικείμενο της μορφογενετικής έρευνας, το φυτόχρωμα έχει ανιχνευτεί (φυσιολογικά, φασματοφωτομετρικά, ανοσοκυτοχημικά ή με απομόνωση) σε όλα τα όργανα και τμήματα του φυτού, όπως σε σπέρματα (έμβρυα και κοτυληδόνες), ρίζες, βλαστούς, φύλλα, μίσχους, κολεόπτια, υποκοτύλια, βλαστητικούς οφθαλμούς, ανθοδόχες, ταξιανθίες και καρπούς. Σε ωχρωτικά φυτάρια η μεγαλύτερη περιεκτικότητα έχει βρεθεί σε περιοχές μεριστωματικές και επιμήκυνσης.

Το φυτόχρωμα υπάρχει σε δύο αλληλομετατρέψιμες μορφές: σε μία φυσιολογικά ενεργό μορφή, η οποία σχηματίζεται όταν το φυτό φωτίζεται με

ερυθρό φως ή το φως της ημέρας, και σε μια μη ενεργό μορφή που σχηματίζεται όταν το φυτό εκτεθεί σε υπέρυθρο φως ή στο σκοτάδι.

Με εξαίρεση τον φωτοτροπισμό, το φυτόχρωμα είναι ο φωτοδέκτης που ελέγχει, ολικά ή μερικά, το σύνολο των φωτομορφογενετικών διεργασιών. Οι φωτομορφογενετικές αντιδράσεις καλύπτουν όλα τα στάδια της φυτικής ανάπτυξης από τη φύτευση των σπερμάτων, την επιμήκυνση του βλαστού, το άνοιγμα των φύλλων, το σχηματισμό στομάτων και τριχών μέχρι την άνθηση, την πτώση των φύλλων και το σχηματισμό οφθαλμών.

---

---

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο**

### **ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΣΤΙΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ**

#### **4.1 Εισαγωγικά**

Η αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού αλλά και του βιοτικού επιπέδου των ανεπτυγμένων χωρών έκαναν εμφανή και πιο άμεση από ποτέ την ανάγκη για αύξηση της παραγωγής και βελτίωση της ποιότητας των γεωργικών προϊόντων, ιδιαίτερα στους τομείς της λαχανοκομίας, δένδροκομίας και ανθοκομίας. Ο στόχος κάθε σύγχρονης οικονομίας είναι η αύξηση της αποδοτικότητας της Γεωργίας και στην επίτευξη αυτού του στόχου μπορεί να συμβάλλει και η επέκταση της χρήσης των φυτορρυθμιστικών ουσιών, καθώς με αυτές μπορεί να επιτευχθεί μείωση του κόστους παραγωγής, παραγωγή προϊόντων εκτός εποχής και ολική ή μερική υποκατάσταση δύσκολων καλλιεργητικών εργασιών και φροντίδων.

#### **4.2 Αίτια μη ευρείας επέκτασης της χρήσης των φυτορμονών**

Αν και πειραματικά έχει αποδειχθεί ότι η χρήση των φυτορρυθμιστικών ουσιών μπορεί να συμβάλλει ευνοϊκά στην ανάπτυξη και καλλιέργεια των φυτών, εντούτοις η επέκταση της χρήσης στη γεωργική πράξη δεν ήταν η αναμενόμενη για διάφορους λόγους. Το κόστος ανάπτυξης και παρασκευής τέτοιων προϊόντων είναι μεγάλο σε σχέση με το οικονομικό όφελος για τους οίκους παραγωγής φαρμάκων και επιπλέον υπάρχουν δυσκολίες στην απόκτηση εγκρίσεων κυκλοφορίας καθώς υπάρχουν προβλήματα τοξικότητας, προστασίας του περιβάλλοντος και αστάθειας στα επιτυγχανόμενα αποτελέσματα.

Η χρήση μιας φυτορρυθμιστικής ουσίας είναι δυνατόν να είναι ευνοϊκή σε κάποια συγκεκριμένη λειτουργία του φυτού, να παρουσιάζει όμως



παρενέργειες σε φυτικά μέρη τα οποία δεν είναι στόχος της επέμβασης (συνήθως ψεκασμού) με αυτή τη φυτορμόνη. Επιπλέον υπάρχουν δυσκολίες στην εφαρμογή καθώς το εύρος μεταξύ αποτελεσματικής και φυτοτοξικής δόσης είναι πολύ μικρό και το διάστημα αυτό μικραίνει αν ληφθούν υπόψη και οι διαφορές μεταξύ ποικιλιών στην αντίδρασή τους σε μια φυτορρυθμιστική ουσία. Σε πολλές περιπτώσεις το χρονικό περιθώριο μέσα στο οποίο πρέπει να γίνει η εφαρμογή είναι πολύ στενό και επομένως η εκτίμηση του χρόνου εφαρμογής πρέπει να είναι ιδιαίτερα προσεκτική και απαιτεί ειδικές γνώσεις, παράγοντας αποτρεπτικός για τον μέσο παραγωγό.

### 4.3 Εφαρμογές των ορμονών

#### 4.3.1 Χρήσεις των αυξινών

Οι αυξίνες γενικά έχουν μια ποικιλία χρήσεων, είτε εργαστηριακά είτε σε γεωργικό επίπεδο. Εργαστηριακά οι αυξίνες χρησιμοποιούνται κυρίως στα διάφορα υποστρώματα στις καλλιέργειες ιστών, ιδιαίτερα οι IAA, IBA, NAA και 2,4-D.

↓ Μια από τις πρώτες χρήσεις των αυξινών στη γεωργική πράξη ήταν η χρησιμοποίηση των συνθετικών αυξινών –κυρίως του IBA, αλλά και των NAA και 2,4-D (ναφθυλακεταμίδιο)– για τη βελτίωση της ριζοβολίας των μοσχευμάτων. Οι αυξίνες αυτές αποδείχθηκαν πολύ αποτελεσματικές σε κωνοφόρα δέντρα καθώς και άλλα, δύσκολα στη ριζοβολία, φυτά, ιδιαίτερα καλλωπιστικά. Υπάρχουν διάφορες μορφές σκευασμάτων. Στην πράξη εφαρμόζονται τρεις μέθοδοι:

1. διαβροχή της βάσης του μοσχεύματος με νερό και εμβάπτισή του σε μίγμα σκόνης της αυξίνης.
2. εμβάπτιση της βάσης του μοσχεύματος σε πυκνές διαλύσεις.
3. επί μακρόν διαβροχή της βάσης του μοσχεύματος σε αραιές υδατικές διαλύσεις.

↓ Μερικές φορές ο τρόπος εφαρμογής μπορεί να διαφοροποιηθεί, όπως για παράδειγμα να γίνει ψεκασμός των μητρικών φυτών με αραιές υδατικές

διαλύσεις αυξητικών ουσιών πριν την αποκοπή των μοσχευμάτων. Ακόμα μπορεί να γίνει πότισμα του υποστρώματος ριζοβολίας με υδατικές διαλύσεις ή να γίνει έγχυση αραικών υδατικών διαλύσεων εντός των εσωτερικών ιστών ή να γίνει παροχή των αυξητικών ουσιών σε ανάμειξη με πάστα λανολίνης. Οι συνθετικές αυξίνες β-NOA, 4-CPA (PCPA) καθώς και το 2,4-D, χρησιμοποιούνται για την αύξηση της καρπόδεσης σε τομάτες και άλλα λαχανικά θερμοκηπίου ή καλλιέργειες εκτός εποχής, ιδιαίτερα σε χαμηλές θερμοκρασίες όπου δεν μπορεί να γίνει φυσιολογική γονιμοποίηση, δίνοντας άσπερμους καρπούς, καθώς το περικόρπιο αυξάνεται χωρίς να έχει προηγηθεί γονιμοποίηση, και καλύτερη παραγωγή.

↓ Το NAA χρησιμοποιείται σε ειδική για επάλειψη των τομών μορφή για την πρόληψη της υπερβολικής ανάπτυξης των λαίμαργων βλαστών της μηλιάς, ενώ με ψεκάσμο χρησιμοποιείται για την ενίσχυση της πρόσφυσης των ραγών στη Σουλτανίνα, την αραίωση των καρπών της μηλιάς κατά τα πρώτα στάδια και για την πρόληψη της καρπόπτωσης πριν την συγκομιδή. Την ίδια χρήση έχει και το NAD, ιδιαίτερα στην αχλαδιά. Τα 2,4,5-TP και 2,4-D χρησιμοποιούνται για την πρόληψη της καρπόπτωσης σε διάφορα δέντρα (εσπεριδοειδή κ.ά.).

↓ Πολλές συνθετικές αυξίνες, όπως τα 2,4-D, MCPA, 2,4,5-T κ.ά., χρησιμοποιούνται ως εκλεκτικά ζιζανιοκτόνα για την καταπολέμηση πλατύφυλλων ζιζανίων, ιδιαίτερα σε καλλιέργειες με αγρωστώδη. Ο μηχανισμός με τον οποίο αυτές οι αυξίνες γίνονται τοξικές για ορισμένα μόνο φυτά είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστος. Στην περίπτωση των πλατύφυλλων ζιζανίων η δράση τους αυτή οφείλεται κατά ένα μέρος στην μεγαλύτερη και ταχύτερη απορρόφησή τους από τα πλατύφυλλα σε σχέση με τα αγρωστώδη. Η χρήση τους πρέπει να γίνεται σε εποχή ταχείας αύξησης (άνοιξη) διότι η τοξική τους δράση εκδηλώνεται στα νεαρά, κυρίως, κύτταρα που βρίσκονται στο στάδιο της αύξησης.

↓ Κάποιες από τις συνθετικές αυξίνες φαίνεται να έχουν ευνοϊκή επίδραση στη βλάστηση των σπόρων πολλών φυτών, φαινόμενο το οποίο ερευνάται.

↓ Έμμεσα το NAA προκαλεί άνθηση στον ανανά καθώς διεγείρει την παραγωγή αιθυλενίου.

↓ Εφαρμογή αυξινών προκαλεί καθυστέρηση της γήρανσης σε κουνουπίδια, μπρόκολα και λαχανάκια Βρυξελλών.

↓ Μια εναλλακτική μέθοδος συντήρησης της πατάτας είναι η χρήση αυξίνης αντί αυτή της ψύξης. Στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιείται η αυξίνη MENA (μεθυλεστέρας του α'-ναφθαλινοξικού οξέος) σε ποσότητα 3gr/100lt κονδύλων. Η εφαρμογή γίνεται με επίταση των κονδύλων με μίγμα αυξίνης και ταλκ, ψεκασμό υπό πίεση ή τοποθέτηση λωρίδων χαρτιού εμποτισμένου με την αυξίνη αυτή, η οποία είναι ιδιαίτερα πτητική. Σε περίπτωση εφαρμογής αυτής της μεθόδου οι κόνδυλοι είναι κατάλληλοι για τροφή όχι όμως και για φύτευση.

#### 4.3.2 Χρήσεις των κυτοκινινών

Οι πρακτικές εφαρμογές των κυτοκινινών στην πράξη είναι λίγες. Η κύρια χρήση τους προέρχεται από την ικανότητά τους να επιβραδύνουν την γήρανση με τη διατήρηση του ρυθμού σύνθεσης των πρωτεϊνών και του RNA και την καθυστέρηση της διάσπασής τους, όπως και σχεδόν όλες οι φυτορρυθμιστικές ουσίες.

↓ Έχει αποδειχθεί ότι οι κυτοκινίνες καθυστερούν το γήρας «πράσινων» λαχανικών όπως τα λάχανα, τα μαρούλια, τα κουνουπίδια, τα σπαράγγια, το σέλινο, τα λαχανάκια Βρυξελλών, τα αντίδια, το σπανάκι, τα ρεπανάκια και τα φρέσκα κρεμμυδάκια. Αυτό γίνεται με ψεκασμούς πριν την κοπή, μετασυλλεκτικούς ψεκασμούς ή εμβαπτίσεις σε διαλύματα κυτοκινινών.

↓ Ορισμένα είδη θαλάσσιων φυκών είναι εξαιρετικά πλούσια σε κυτοκινίνες και τα εκχυλίσματά τους χρησιμοποιούνται για την αύξηση της παραγωγής, βελτίωση της ποιότητας και την αντιμετώπιση των διαφόρων καταπονήσεων (stress) που οφείλονται σε περιβαλλοντολογικά αίτια, σε φυτά όπως η πατάτα, η τομάτα και τα ζαχαρότευτλα. Στην πατάτα οι κυτοκινίνες παρεμποδίζουν την επιμήκυνση των υπόγειων βλαστών ευνοώντας τη διαδικασία σχηματισμού των κονδύλων ενώ σε πολλά φυτά υποκινούν τον σχηματισμό ανθοφόρων οφθαλμών.

↓ Η κυτοκινίνη SD8339 προκαλεί 100% παρθενοκαρπία στη συκιά κατόπιν ψεκασμού ή έγχυσης του διαλύματος στην κοίλη ταξιανθία.

↓ Εκτός από την γεωργική πράξη οι συνθετικές κυτοκινίνες χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με αυξίνες και άλλες φυτορρυθμιστικές ουσίες στα διάφορα θρεπτικά υποστρώματα των καλλιεργειών κυττάρων και ιστών *in vitro*.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 1:** Ικανότητα των φυτορρυθμιστικών ουσιών για πρόκληση παρθενοκαρπίας σε διάφορα οπωροκηπευτικά φυτά.

Φυτά/καρποί	Αυξίνες	Γιββερελλίνες	Κυτοκινίνες	Συνδυασμοί
Πιπεριές	+			
Κολοκυνθώδη	+			
Βατόμουρα	+	+		+
Σύκα	+	+	+	
Σταφύλια	+		+	
Αχλάδια	+	+		
Αβοκάντο	+			
Πεπόνια	+		+	
Φράουλες	+			
Μήλα		+		+
Αμύγδαλα		+		
Βερίκοκα		+		
Ροδάκινα		+		
Grapfruit		+		
Μανταρίνια		+		
Δαμάσκηνα		+		
Τομάτες	+	+		
Μάνγκο				+
Κεράσια				+

Πηγή: Βογιατζής Δ.

#### 4.3.3 Χρήσεις των γιββερελλινών

Η πιο διαδεδομένη γιββερελλίνη στην γεωργική πράξη είναι το γιββερελλικό οξύ (GA<sub>3</sub>) καθώς είναι η μόνη γιββερελλίνη που είναι διαθέσιμη

σε εμπορικές ποσότητες. Χρησιμοποιείται ακόμα, για ορισμένες περιπτώσεις, ένα μίγμα από GA<sub>4</sub> και GA<sub>7</sub>, το οποίο όμως έχει μεγαλύτερο κόστος.

↓ Το GA<sub>3</sub> χρησιμοποιείται περισσότερο για τη δράση του στην άνθηση και τον σχηματισμό των καρπών. Οι γιββερελλίνες γενικά έχουν την ιδιότητα να επηρεάζουν θετικά την ανθογονία πολλών φυτών. Στα καλλωπιστικά φυτά όπως οι ανεμώνες, τα χρυσάνθεμα και τα τριαντάφυλλα προκαλούν πρωίμηση της άνθησης αλλά και αύξηση του μήκους του ανθικού στελέχους και χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα όταν οι συνθήκες φωτισμού δεν ευνοούν την άνθηση. Στα μαρούλια προκαλεί ομοιόμορφη ανάπτυξη του ανθικού στελέχους και αύξηση της παραγωγής σπόρου στα φυτά σποροπαραγωγής. Χρησιμοποιείται ακόμα σε πειράματα υβριδισμού για τον συγχρονισμό της άνθησης των καθαρών σειρών που πρόκειται να διασταυρωθούν για την παραγωγή σπόρου υβριδίου, π.χ. στο αγγούρι, στο οποίο προκαλεί επίσης σχηματισμό αρσενικών ανθέων σε αποκλειστικά θηλυκά φυτά.

↓ Η γιββερελλίνη A<sub>3</sub> βρίσκει εφαρμογή στην δένδροκομία και αμπελοκομία καθώς βελτιώνει την καρπόδεση στις κλημεντίνες και τα αχλάδια Williams και προκαλεί καθυστέρηση της ανάπτυξης του κίτρινου χρώματος στα λεμόνια και της γήρανσης του φλοιού στα πορτοκάλια Merlin (Washington Navel) και Valencia και στα grapefruit, παρατείνοντας έτσι το χρόνο παραμονής των καρπών στο δέντρο με αποτέλεσμα την μεγαλύτερη, χρονικά, διάθεση του προϊόντος στην αγορά. Στις κερασιές χρησιμοποιείται για παραγωγή πιο έντονα χρωματισμένων, τραγανών και μεγαλύτερων κερασιών. Στην αμπελοκομία το GA<sub>3</sub> χρησιμοποιείται σαν υποκατάστατο της χαραγής στη Σουλτανίνα και την Κορινθιακή σταφίδα, μόνο ή σε συνδιασμό με κάποια αυξίνη – κυρίως το 4-CPA– καθώς και για τη βελτίωση της ποιότητας αφού προκαλεί επιμήκυνση των σαμπιών και μεγέθυνση των ραγών.

↓ Μεγάλες προοπτικές έχει σήμερα η εφαρμογή των γιββερελλινών για την αύξηση του μεγέθους και επομένως της παραγωγής, των φυτών στα φυλλώδη λαχανικά όπως το μαρούλι και το σπανάκι, καθώς και για την επιμήκυνση του στελέχους στο χειμωνιάτικο σέλινο. Προκαλούν ακόμα πρωίμηση και παράταση του χρόνου συγκομιδής της αγκινάρας, βελτίωση της καρπόδεσης στα βατόμουρα και πρωίμηση της άνθησης και αύξηση της παραγωγής στη φράουλα.



↓ Το GA<sub>3</sub> χρησιμοποιείται επιπλέον για την διακοπή του λήθαργου των κονδύλων της πατάτας και τη διευκόλυνση του φυτρώματός τους. Οι κόνδυλοι εμβαπτίζονται σε υδατικό διάλυμα GA<sub>3</sub>, τεμαχισμένοι ή ολόκληροι, για 1-15 λεπτά. Η συγκέντρωση του διαλύματος σε GA<sub>3</sub> εξαρτάται από την ποικιλία και την ευαισθησία της. Η γιββερελλίνη A<sub>3</sub> μπορεί ακόμα να χρησιμοποιηθεί για την διακοπή του λήθαργου σε ορισμένα σπυροφόρα δέντρα, όπως η ροδακινιά, πάντα όμως αφού αυτά έχουν υποστεί μερικώς και την επίδραση του ψύχους και έχουν έτσι ικανοποιήσει μέρος των απαιτήσεών τους σε χαμηλή θερμοκρασία.

↓ Στη βιομηχανία της μύρας, η γιββερελλίνη χρησιμοποιείται για τη βελτίωση της ζυθοποίησης του κριθαριού, καθώς επιταχύνει την σύνθεση της α-αμυλάσης από τα κύτταρα της αλευρώνης με αποτέλεσμα την ταχύτερη παραγωγή αλκοόλης.

#### 4.3.4 Αιθυλένιο

Η αέρια μορφή του αιθυλενίου περιορίζει τη χρήση του μόνο σε κλειστούς χώρους. Έτσι χρησιμοποιείται κυρίως για την επίσπευση της ωρίμανσης και τον αποπρασινισμό των μπανανών μέσα στα πλοία μεταφοράς ή στις αποθήκες καθώς και για τον αποπρασινισμό των λεμονιών και των μανταρινιών μετά τη συγκομιδή.

Περισσότερες εφαρμογές στην γεωργική πράξη βρίσκει το ethephon (2-chloroethylphosphonic acid), μια ουσία που κυκλοφορεί στο εμπόριο από το 1963 και είναι υδατοδιαλυτή, έχοντας έτσι τη δυνατότητα εφαρμογής με ψεκασμό. Το ethephon χρησιμοποιείται ευρύτατα σε πολλές καλλιέργειες για τη βελτίωση της ποιότητας των παραγόμενων καρπών, την προώθηση της παραγωγής, καθώς και σαν επιβραδυντής αύξησης σε συνδυασμό με τις άλλες φυτορρυθμιστικές ουσίες. Γενικά, έχουν αναφερθεί πολλές εφαρμογές της ουσίας αυτής σε εμπορική κλίμακα, όπως:

↓ Αύξηση της ροής του latex στα καουτσουκόδεντρα (*Hevea sp.*) της ΝΑ Ασίας.

↓ Διευκόλυνση της συγκομιδής σε πολλούς καρπούς λόγω της υποκίνησης της διαδικασίας σχηματισμού ζώνης αποκόλλησης στους ποδίσκους των καρπών σε σταφύλια, κεράσια, φουντούκια και εσπεριδοειδή.



Σε ορισμένες ποικιλίες ελιάς το etherphon προκαλεί καρπόπτωση διευκολύνοντας τη συγκομιδή. Δεν χρησιμοποιείται όμως πολύ διότι προκαλεί και φυλλόπτωση εξασθενίζοντας τα δέντρα.

↓ Προώθηση της ωρίμανσης και της ανάπτυξης του εμπορικού χρώματος στη τομάτα, τα μήλα και τα σταφύλια.

↓ Προαγωγή της παραγωγής θηλυκών ανθέων σε πολλά είδη κολοκυνθοειδών όπως το αγγούρι, το κολοκύθι και το πεπόνι.

↓ Προώθηση του ομοιόμορφου κιτρινίσματος των φύλλων σε αμερικανικού τύπου καπνά.

↓ Προώθηση του ανοίγματος των καψών και της αποφύλλωσης στο βαμβάκι.

↓ Προαγωγή της έναρξης της άνθησης και του ελέγχου ωρίμανσης τον ανανά.

#### **4.4 Οι χρήσεις των φυτορρυθμιστικών ουσιών σε 7 σημαντικές καλλιέργειες**

Παρακάτω αναφέρονται ενδεικτικά οι χρήσεις των φυτορρυθμιστικών ουσιών ανά καλλιέργεια. Επιλέχτηκε ένας περιορισμένος αριθμός καλλιεργειών με κριτήριο την σπουδαιότητά τους για την ελληνική οικονομία. Τα σκευάσματα που αναφέρονται είναι εγκεκριμένα για κυκλοφορία στη χώρα μας και η χρήση τους θα πρέπει να γίνεται με προσοχή, προς αποφυγή ανεπιθύμητων παρενεργειών. (πηγή πληροφοριών: Πασπάτης Ε.)

##### **4.4.1 Αμπέλι**

###### **A. Ένσπερμες ποικιλίες**

↓ *Περιορισμός ζωηρής βλάστησης (αποφυγή κορυφολογήματος) – Βελτίωση καρπόδεσης*

-Chlormequat chloride, 200-250 mg/lit. Ψεκασμός του αμπελιού 1-2 βδομάδες πριν την άνθηση. Η εφαρμογή μπορεί να γίνει σε δύο δόσεις και πρέπει να γίνει καλή διαβροχή του φυλλώματος.

-Ethephon, 45-90 gr/στρέμμα. Καλή διαβροχή του φυλλώματος του αμπελιού 1-2 βδομάδες πριν την άνθηση.

↓ *Ευκολότερη αποκοπή των σταφυλιών κατά τη συγκομιδή*

-Ethephon, 150-350 mg/lit. Ψεκασμός του αμπελιού 10-15 μέρες πριν τη συγκομιδή.

↓ *Πρωιμότερη και πιο συγκεντρωμένη χρονικά ωρίμανση της παραγωγής.*

*Βελτίωση του χρώματος*

-Ethephon, 350-750 mg/lit. Ψεκασμός του αμπελιού όταν το 15-20% των ραγών είναι χρωματισμένες. Η συγκομιδή γίνεται 10-20 μέρες μετά τον ψεκασμό.

↓ *Αύξηση μεγέθους των παραστάφυλων (κουδουνιών)*

-Gibberellic acid, 20 mg/lit. Εμβάπτιση των παραστάφυλων στο διάλυμα. Δεν πρέπει να γίνεται ψεκασμός των φύλλων και βλαστών του αμπελιού. Χρησιμοποιείται μόνο για τις ποικιλίες Ροζακί και Μοσχάτο Αλεξανδρείας.

↓ *Περιορισμός της διαπνοής – Προστασία από τον καύσωνα*

-Pinolene, 4,8-9,6 gr/lit. Ψεκασμός του φυλλώματος και των σταφυλιών 10 ημέρες πριν τον προβλεπόμενο καύσωνα.

↓ *Παράταση του χρόνου συγκομιδής και συντήρηση*

-Pinolene, 2,4 g/lit. Ψεκασμός των σταφυλιών πριν τις πρώτες βροχές του φθινοπώρου.

### B. Κορινθιακή σταφίδα και Σουλτανίνα

↓ *Πρωίμηση και πιο συγκεντρωμένη χρονικά ωρίμανση της παραγωγής*

-Ethephon, 350-500 mg/lit. Ψεκασμός του αμπελιού όταν αρχίζει να αλλάζει το χρώμα των ραγών (γυάλισμα). Η συγκομιδή γίνεται 10-20 μέρες μετά τον ψεκασμό.

↓ *Περιορισμός ζωηρής βλάστησης – Αύξηση παραγωγής*

-Chloromequat chloride, 200-240 mg/lit. Ο ψεκασμός του αμπελιού γίνεται 12-15 μέρες πριν την άνθηση. Υπάρχει περίπτωση να εμφανιστεί παροδικό κιτρίνισμα των φύλλων.

↓ *Υποκατάσταση χαρακώματος – Μείωση ανθόρροιας και καρπόπτωσης – Βελτίωση ποιότητας στην Κορινθιακή σταφίδα*

-Gibberellic acid, 1-5 mg/lit. Ψεκασμός των τσαμπιών όταν έχουν πέσει τα πιλίδια των ανθών. Σε περίπτωση που το σκεύασμα δεν έχει προσκολλητικό είναι απαραίτητη η χρήση κάποιου. Προσθήκη 15-20 mg/lit 4-CPA (PCPA) βελτιώνει το αποτέλεσμα σε πρέμνα μεγαλύτερα των 3 ετών. Στην περίπτωση αυτή δεν πρέπει να γίνεται θειάφισμα 7 μέρες πριν και 4 μέρες μετά την εφαρμογή.

-4-CPA (PCPA), 10-20 mg/lit. Ψεκασμός των τσαμπιών όταν έχουν ξεραθεί τα πιλίδια αλλά πριν ξεραθούν οι ανθήρες των ανθών. Είναι απαραίτητη η χρήση προσκολλητικού σε περίπτωση που δεν έχει το σκεύασμα. Απαιτείται καλή διαβροχή των τσαμπιών. Προσθήκη 1-5 mg/lit gibberellic acid βελτιώνει το αποτέλεσμα. Το 4-CPA δεν πρέπει να εφαρμόζεται σε πρέμνα μικρότερα των 3 ετών και δεν πρέπει να γίνονται θειαφίσματα στο διάστημα 7 ημερών πριν και 4 ημερών μετά τον ψεκασμό.

↓ *Βελτίωση καρπόδεσης σε συνδυασμό με χαρακώμα, στην Κορινθιακή σταφίδα*

-4-CPA (PCPA), 35 mg/lit. Ψεκασμός των τσαμπιών 5-7 ημέρες μετά την πλήρη άνθηση σε συνδυασμό με χαρακώμα.

↓ *Μερική υποκατάσταση χαρακώματος στη Σουλτανίνα για σταφίδα (περιορισμός ανθόρροιας και καρπόπτωσης)*

-Chloromequat chloride, 480-600 mg/lit. Ψεκασμός φυλλώματος 1-2 βδομάδες πριν την άνθηση.

↓ *Αύξηση παραγωγής και μεγέθους ραγών στη Σουλτανίνα για σταφίδα*  
-Gibberellic acid, 2-8 mg/lit. Ψεκασμός των τσαμπιών όταν οι ράγες έχουν διάμετρο 3mm (στάδιο «σκαγιού»). Είναι απαραίτητη η χρήση προσκολλητικού αν δεν έχει το σκεύασμα.

↓ *Βελτίωση καρπόδεσης στη Σουλτανίνα*  
-4-CPA (PCPA), 30 mg/lit. Ψεκασμός των τσαμπιών 7-10 ημέρες μετά την πλήρη άνθηση.

↓ *Μείωση του χρόνου που απαιτείται για την αποξήρανση της σταφίδας*  
-Ethyl oleate, 20-25 ml/lit μαζί με 25-30 gr ποτάσας ανά λίτρο διαλύματος. Εμβάπτιση των σταφυλιών μετά τη συγκομιδή. Αν κατά τη διάρκεια του απλώματος βρέξει τότε γίνεται ψεκασμός της απλωμένης σταφίδας με το ίδιο διάλυμα.

#### Γ. Σουλτανίνα για επιτραπέζια χρήση

↓ *Αύξηση της καρπόδεσης, χονδρές ράγες και πρωίμηση της παραγωγής*  
-Gibberellic acid, 10-40 mg/lit. Γίνονται δύο ψεκασμοί. Ο πρώτος κατά την πλήρη άνθηση, όταν το 70% των πιλιδίων έχουν πέσει και ο δεύτερος 5-12 μέρες μετά. Πρέπει να γίνεται καλή διαβροχή των τσαμπιών και είναι απαραίτητη η χρήση προσκολλητικού αν δεν έχει το σκεύασμα.

↓ *Επιμήκυνση του τσαμπιού*  
-Gibberellic acid, 10-15 mg/lit. Ψεκασμός πριν την άνθηση όταν όλα τα τσαμπιά έχουν μήκος 7-12cm. Πρέπει να γίνεται καλή διαβροχή των τσαμπιών και είναι απαραίτητη η χρήση προσκολλητικού αν δεν έχει το σκεύασμα.

↓ *Αραίωμα ραγών*  
-Gibberellic acid, 20 mg/lit. Ψεκασμός των τσαμπιών στο 70% της άνθησης.

↓ Υποκατάσταση χαρακώματος – Αύξηση καρπόδεσης

4-CPA (PCPA), 20 mg/lit μαζί με 1-2 mg gibberellic acid. Ψεκασμός των τσαμπιών όταν έχουν πέσει τα πιλίδια των ανθέων αλλά πριν ξεραθούν οι ανθήρες. Είναι απαραίτητη η χρήση προσκολλητικού αν δεν έχει το σκεύασμα. Απαιτείται καλή διαβροχή των τσαμπιών. Το διάλυμα δεν πρέπει να εφαρμόζεται σε πρέμνα μικρότερα των 3 ετών και δεν πρέπει να γίνονται θειαφίσματα στο διάστημα 7 ημερών πριν και 4 ημερών μετά τον ψεκασμό.

↓ Πρωίμηση παραγωγής

-Pinolene, 5 gr/lit. Ψεκασμός των σταφυλιών στο «γυάλισμα».

#### 4.4.2 Ελιά

↓ Αύξηση καρπόδεσης – Μείωση ανθόρροιας

-Chlormequat chloride, 1-1,6 g/lit. Ψεκασμός των δέντρων 1-3 βδομάδες πριν την άνθηση. Πρέπει να γίνει καλή διαβροχή όλου του δέντρου.

↓ Αύξηση της καρπόδεσης – Μείωση της καρπόπτωσης

-Chlormequat chloride, 0,6 g/lit. Ψεκασμός κατά την άνθηση.

↓ Ομοιόμορφη ωρίμανση – Αύξηση της καρπόπτωσης

-Etherphon, 0,9-1,6 g/lit. Ψεκασμός των δέντρων όταν οι καρποί πάρουν το χαρακτηριστικό χρώμα της ποικιλίας ή μόλις αρχίσουν να πέφτουν. Η δόση ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία και μπορεί σε ορισμένες περιπτώσεις να προκαλέσει έντονη φυλλόπτωση και επομένως εξασθένηση του δέντρου. Χρειάζεται καλή διαβροχή των δέντρων και η συγκομιδή γίνεται 2-3 βδομάδες μετά την εφαρμογή.

-Etacelasil, 1-2,2 g/lit. Ψεκασμός των δέντρων όταν έχουν ωριμάσει οι ελιές. Η δόση ποικίλλει ανάλογα με την ποικιλία και η συγκομιδή γίνεται 8-12 μέρες μετά την εφαρμογή.

↓ *Μείωση της παρεννιαυτοφορίας*

-Etherphon, 95-100 mg/lit. Ψεκασμός 8-12 βδομάδες πριν την άνθηση, μόνο κατά το έτος της μειωμένης σοδειάς. Χρειάζεται καλή διαβροχή των δέντρων.

#### 4.4.3 Εσπεριδοειδή

↓ *Αποπρασινισμός ώριμων καρπών – Υποκατάσταση αερίου αιθυλενίου*

-Etherphon, 1-1,5 g/lit. Εμβάπτιση των καρπών μετά τη συγκομιδή. Η συγκομιδή πρέπει να γίνεται όταν οι καρποί είναι ώριμοι εσωτερικά ενώ εξωτερικά έχουν αποκτήσει ένα διάφανο πράσινο χρώμα. Το επιθυμητό χρώμα των καρπών επιτυγχάνεται μετά από περίπου 10 ημέρες.

↓ *Επιτάχυνση ωρίμανσης*

-Etherphon, 140-300 mg/lit. Ψεκασμός των καρπών στο δέντρο όταν αυτοί είναι ώριμοι εσωτερικά ενώ εξωτερικά έχουν αποκτήσει ένα διάφανο πράσινο χρώμα. Πρέπει να αποφεύγεται η διαβροχή του φυλλώματος των δέντρων γιατί προκαλεί εκτεταμένη φυλλόπτωση.

↓ *Αύξηση διάρκειας περιόδου αποθήκευσης και βελτίωση μετασυλλεκτικής ποιότητας καρπών*

-Gibberellic acid, 11 mg/lit γαλακτώματος κηρών. Εμβάπτιση των καρπών μετά τη συγκομιδή. Ενδείκνυται για λεμόνια και grape fruit. Οι καρποί πρέπει να είναι φρεσκομαζεμένοι, ώριμοι και να έχουν αποκτήσει το εμπορικό τους χρώμα. Καθυστερεί την γήρανση του φλοιού, αυξάνει την αντοχή των καρπών στους διάφορους χειρισμούς καθώς και την ανθεκτικότητά τους, κατά 50-80%, στις διάφορες μυκητολογικές προσβολές κατά τη συντήρηση.

↓ *Καλύτερη συντήρηση συγκομισμένων καρπών (Λεμόνια – Πορτοκάλια)*

-Pinolene. Ψεκασμός των καρπών στα δέντρα με διάλυμα 10 g/lit 1-4 βδομάδες πριν την συγκομιδή ή εμβάπτισή τους σε διάλυμα 10-20 g/lit μετά τη συλλογή.



#### 4.4.4 Τομάτα

↓ *Περιορισμός ζωηρής βλάστησης – Βελτίωση καρπώδεσης – Κοντύτερα και ισχυρότερα φυτά*

-Chlormequat chloride, 1,4-2 gr/lit. Ένας ψεκασμός πριν την άνθηση και άλλοι δύο μετά ανά 15νθήμερο.

-Daminozide, 60-330 gr/στρ. Ψεκασμός των φυτών όταν έχουν 1-4 αληθινά φύλλα. Δεύτερος ψεκασμός, αν χρειάζεται, 2 εβδομάδες αργότερα. Μπορεί να εφαρμοστεί σε φυτά υπαίθρου και θερμοκηπίου.

↓ *Αποφυγή μεταφυτευτικού shock των φυταρίων*

-Pipolene, 20-25 gr/lit. Ψεκασμός των φυταρίων πριν την μεταφύτευση ή εμβάπτισή τους στο διάλυμα μόλις εξαχθούν από το σπορείο.

↓ *Ισχυρότερα – κοντύτερα φυτάρια στα σπορεία για μεταφύτευση*

-Chlormequat chloride, 400-600 mg/lit. Πότισμα του εδάφους του σπορείου όταν τα φυτάρια έχουν ύψος 15-20cm και επανάληψη της επέμβασης 1-2 φορές ανά 15 ημέρες.

↓ *Βελτίωση καρπώδεσης – Αύξηση παραγωγής – Πρωίμιση, λιγότερα σπέρματα*

-β-NOA, 50-80 mg/lit. Ψεκασμός ή εμβάπτιση των ανοικτών ανθέων. Δεν πρέπει να χρησιμοποιείται όταν η νυκτερινή θερμοκρασία είναι μεγαλύτερη των 15 °C. Οι μεγάλες δόσεις εφαρμόζονται όταν οι θερμοκρασία είναι χαμηλή.

-4-CPA (PCPA), 30 mg/lit. Ψεκασμός των ανθέων μόλις ανοίξουν εκείνα του πρώτου σταυρού. Ο ψεκασμός επαναλαμβάνεται και στους άλλους σταυρούς αν η θερμοκρασία της νύχτας είναι μικρότερη των 15 °C, όχι όμως πάνω από 4 φορές την ίδια περίοδο. Δεν πρέπει να ψεκάζονται ολόκληρα φυτά.

-β-NOA + 4-CPA (PCPA) + gibberellic acid. Ψεκασμός ή εμβάπτιση του πρώτου σταυρού όταν έχουν ανοίξει 3-4 άνθη. Η εφαρμογή επαναλαμβάνεται και στους επόμενους σταυρούς εφόσον η νυκτερινή θερμοκρασία πέφτει κάτω από 15 °C. Σε όλη τη βλαστική περίοδο μπορούν να γίνουν μέχρι 4 εφαρμογές.

↓ *Αύξηση μεγέθους καρπών και ομοιομορφία*

-Daminozide, 500 gr/στρ. Ψεκασμός των φυτών όταν έχει δέσει το 15-30% της παραγωγής και πριν εμφανιστεί το κόκκινο χρώμα. Οι ώριμοι καρποί δεν πρέπει να συγκομίζονται πριν περάσουν 7 ημέρες από την εφαρμογή.

↓ *Επιτάχυνση και συγκέντρωση ωρίμανσης καρπών*

-Ethephon, 1,2-1,68 gr/lt. Εφαρμόζεται στη βιομηχανική τομάτα. Ψεκασμός των φυτών όταν το 15-20% των καρπών έχει χρώμα κόκκινο ή ροζέ και οι υπόλοιποι είναι εσωτερικά ώριμοι. Η συγκομιδή γίνεται 12-20 μέρες μετά την εφαρμογή σε μια δόση. Για επιτραπέζιες ποικιλίες συνίσταται η εφαρμογή 0,9-1,2 gr/lt με ψεκασμό κάθε σταυρού όταν ροδίσουν οι πρώτοι καρποί και δεν πρέπει να ψεκάζονται τα φύλλα.

↓ *Αύξηση παραγωγής*

-Cytocinins, 100 mg/στρ. Ψεκασμός του φυλλώματος λίγο πριν ή κατά την άνθηση. Χρησιμοποιούνται ειδικά σκευάσματα από εκχυλίσματα θαλάσσιων φυκών.

↓ *Αύξηση της διάρκειας ζωής του κομμένου καρπού*

-Gibberellic acid, 100 mg/lt. Εμβάπτιση ή καλός ψεκασμός των φρεσκοκομμένων πράσινων εξωτερικά αλλά ώριμων εσωτερικά καρπών. Σε περίπτωση που το σκεύασμα δεν περιέχει προσκολλητικό είναι απαραίτητη η προσθήκη κάποιου.

#### **4.4.5 Σιτάρι**

↓ *Αύξηση της απόδοσης*

-Chlormequat chloride: μαλακό σιτάρι 180 gr/στρ. – σκληρό σιτάρι 220 gr/στρ. Ο ψεκασμός των φυτών γίνεται λίγες μέρες μετά την εμφάνιση του πρώτου κόμβου.

- ↓ *Μείωση ύψους – Δυνάμωμα στελέχους για πρόληψη του πλαγιάσματος*
- Chlormequat chloride: μαλακό σιτάρι 260-280 gr/στρ. – σκληρό σιτάρι 320 gr/στρ. (όγκος ψεκαστικού υγρού 25-30 l/στρ.) Ψεκασμός των φυτών όταν αυτά έχουν ύψος 15-25cm (τέλος αδελφώματος – εμφάνιση 1<sup>ου</sup> γόνατος). Δεν εφαρμόζεται σε νάνες ποικιλίες.
  - Ethephon, 35-48 gr/στρ. Ψεκασμός των φυτών από την έναρξη του γκαστρώματος μέχρι την έναρξη του ξεσταχυάσματος.
  - Chlormequat chloride, 61-76 gr + ethephon, 22-27 gr/στρ. Ψεκασμός των φυτών από εμφάνιση του 2<sup>ου</sup> κόμβου (γόνατος) μέχρι και τον σχηματισμό του τελευταίου φύλλου. Εφαρμογή με μικρό όγκο ψεκαστικού υγρού.
  - Chlormequat chloride, 50-160 gr + choline chloride, 30-120 gr/στρ. Ψεκασμός των φυτών όταν έχουν ύψος 15-25cm (τέλος αδελφώματος – εμφάνιση 1<sup>ου</sup> γόνατος). Δεν εφαρμόζεται σε νάνες ποικιλίες.

#### 4.4.6 Βαμβάκι

- ↓ *Περιορισμός ύψους φυτών – Αύξηση σχηματισμού καψών*
- Chlormequat chloride, 9 gr/στρ. Καλός ψεκασμός των φυτών όταν έχουν ηλικία 45 ημερών περίπου. 1-2 επαναλήψεις της ίδιας δόσης ανά 7-10 ημέρες.
  - Ethephon, 24-50 gr/στρ. Ψεκασμός των φυτών στην αρχή της άνθησης.
- ↓ *Ανάσχεση υπερβολικής βλάστησης – Πρωίμιση της συγκομιδής*
- Meriquat chloride, 7,5 gr/στρ. Εφαρμόζεται σε αρδευόμενο βαμβάκι. Ψεκασμός των φυτών όταν υπάρχουν 8-10 άνθη ανά 10m γραμμής φυτών. Σε βαμβάκι με πλούσια βλάστηση η εφαρμογή μπορεί να γίνει όταν τα φυτά έχουν ύψος 60cm. Πρωιμίζει τη συγκομιδή κατά 5-7 ημέρες.
- ↓ *Αύξηση του ρυθμού ανοίγματος των καψών – Συγκομιδή σε μία δόση*
- Ethephon, 120-160 gr/στρ. Ψεκασμός καλύψεως των φυτών του βαμβακιού όταν το 25-40% των καψών έχει ανοίξει. Αν χρησιμοποιηθεί αποφυλλωτικό τότε αυτό θα πρέπει να εφαρμοστεί 7-10 ημέρες μετά την εφαρμογή του ethephon. Η συγκομιδή γίνεται 15-20 μέρες μετά τον ψεκασμό.

#### ⬇️ *Αποφύλλωση των φυτών πριν τη συγκομιδή*

-Dimethipin, 27-30 gr/στρ. Ψεκασμός των φυτών όταν το 60-80% των καψών έχει ανοίξει και με όγκο ψεκαστικού υγρού 30-60 lt/στρ. Η προσθήκη προσκολλητικού είναι απαραίτητη αν δεν περιέχεται στο σκεύασμα. Για την ποικιλία Acala (Zeta-2) η δόση διαμορφώνεται στα 33-36 gr/στρ.

-Magnesium chlorate, 276-391 gr/στρ. (+ 10-15 ml προσκολλητικό). Ψεκασμός των φυτών όταν τα καρύδια είναι ανοικτά σε ποσοστό άνω του 65-70%. Για βαμβάκι με μέτρια ανάπτυξη και για τις ποικιλίες 4Σ και Σίνδος συνιστώνται οι μικρές δόσεις, ενώ οι μεγάλες εφαρμόζονται σε βαμβάκι με μεγάλη ανάπτυξη και στην ποικιλία Zeta-2.

-Merphos, 125-160 gr/στρ. Ψεκασμός όταν τα φυτά έχουν ωριμάσει και έχει ανοίξει το 50-70% των καψών. Η μικρή δόση εφαρμόζεται σε μικρής και πρώιμης ανάπτυξης φυτά και σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 18 °C. 5-7 ημέρες μετά την εφαρμογή τα φύλλα πέφτουν πράσινα. Ο ψυχρός καιρός καθυστερεί την αποφύλλωση ενώ ο θερμός την επιταχύνει.

-S,s,s,-tributylphosphorotrithioate, 108-216 gr/στρ. Ψεκασμός των φυτών όταν τα καρύδια είναι ώριμα και έχουν ανοίξει σε ποσοστό άνω του 50%. Η εφαρμογή γίνεται με όγκο ψεκαστικού υγρού 30-50 lt/στρ. και τα φύλλα πέφτουν μέσα σε 5-7 ημέρες.

-Thidiazuron 15 gr/στρ. Ψεκασμός των φυτών όταν το 40-60% των καψών έχουν ανοίξει. Τα φύλλα πέφτουν πράσινα και η αποφύλλωση ολοκληρώνεται σε 14-21 ημέρες από την εφαρμογή. Αν η θερμοκρασία και η υγρασία είναι υψηλές, τότε η αποφύλλωση μπορεί να γίνει και σε 8 ημέρες. Το διάλυμα δεν δρα ικανοποιητικά αν η νυκτερινή θερμοκρασία μετά τον ψεκασμό είναι χαμηλότερη των 15 °C. Απαιτείται η προσθήκη ραφιναρισμένου ορυκτέλαιου στο διάλυμα καθώς και καλή διαβροχή των βαμβακοφύτων.

#### ⬇️ *Επιτάχυνση της αποφύλλωσης σε συνδυασμό με αποφυλλωτικό*

-Endothal, 20-30 gr/στρ. Συνδυάζεται με οργανοφωσφορικά αποφυλλωτικά,. Η μεγάλη δόση εφαρμόζεται με ψυχρό, υγρό καιρό ή σε αναπτυσσόμενο ακόμα βαμβάκι.

#### 4.4.7 Καπνός

⬇️ *Αποφυγή του μεταφυτευτικού shock των φυταρίων*

-Pinoleme, 20-25 gr/lit. Ψεκασμός των φυταρίων πριν τη μεταφύτευση ή εμβάπτισή τους στο διάλυμα μόλις εξαχθούν από το σπορείο.

⬇️ *Παρεμπόδιση της βλάστησης δευτερευόντων βλαστών (φυλλίζια) σε αμερικανικού τύπου καπνά (Virginia, Burley)*

-Maleic hydrazide, 110-160 gr/στρ. Δρα διασυστηματικά. Ψεκασμός ολόκληρων των φυτών, ή ψεκασμός μόνο της κορυφής με 7-10 ml διαλύματος, 7-10 μέρες μετά το κορυφολόγημα. Μαζί με το κορυφολόγημα συνιστάται να γίνεται και εφαρμογή αντιφυλλιζιακού σκευάσματος επαφής (μίγματα λιπαρών αλκοολών).

-Butralin, 7 gr/lit. Ψεκασμός των φυτών από το μπουμπούκι μέχρι την αρχή της άνθησης. Πριν από την εφαρμογή πρέπει να αφαιρεθούν με το χέρι οι δευτερεύοντες βλαστοί που έχουν μήκος μεγαλύτερο των 3cm.

-Butralin, 2,25-3 gr + μίγμα λιπαρών αλκοολών (n-octanol, n-decanol), 13,5-18 gr/lit. Γίνονται 2 ψεκασμοί με 15-25cm<sup>3</sup> διαλύματος, στην κορυφή κάθε φυτού. Ο πρώτος στο κορυφολόγημα και ο δεύτερος 5-7 ημέρες αργότερα. Στο δεύτερο ψεκασμό, αντί των παραπάνω μπορεί να χρησιμοποιηθεί το maleic hydrazide. Αν βρέξει στο διάστημα μιας ώρας μετά τον ψεκασμό η εφαρμογή θα πρέπει να επαναληφθεί. Η συγκομιδή των φύλλων θα πρέπει να γίνει τουλάχιστον 28 ημέρες μετά τον ψεκασμό.

-n-decanol, 27gr + n-octanol, 0,14 gr/lit. Γίνονται 2 ψεκασμοί με 15-25cm<sup>3</sup> διαλύματος στην κορυφή κάθε φυτού. Ο πρώτος στο κορυφολόγημα και ο δεύτερος 5-7 ημέρες μετά. Στον δεύτερο ψεκασμό μπορεί να χρησιμοποιηθεί, αντί των ουσιών αυτών, το maleic hydrazide. Πριν τον ψεκασμό θα πρέπει να αφαιρούνται οι δευτερεύοντες βλαστοί με μήκος μεγαλύτερο των 5cm και η εφαρμογή να γίνεται μόνο σε υγιή φυτά και όταν αυτά είναι στεγνά. Ο όγκος του ψεκαστικού υγρού κυμαίνεται στα 30-50 lt/στρ.

-flumetralin, 4,5 gr/lit. Ψεκασμός των φυτών όταν το σύνολό τους βρίσκεται στο στάδιο της επιμήκυνσης των ανθοφόρων βλαστών και μέχρι τα μισά της άνθησης, όταν υπάρχουν 5-10 ανοικτά άνθη ανά φυτό και αμέσως μετά το κορυφολόγημα. Απαιτείται αφαίρεση των ήδη ανεπτυγμένων πλάγιων

βλαστών. Ο ψεκασμός γίνεται με όγκο ψεκαστικού υγρού 40-50 lt/στρ. ή με 15-20 ml διαλύματος/φυτό.

↓ *Επιτάχυνση ωρίμανσης φύλλων – Ομοιόμορφη ωρίμανση – Περιορισμός χρόνου ξήρανσης*

-Ethepon, 200-300 gr/στρ. Ψεκασμός κάλυψης των φυτών 2-4 μέρες μετά το 1<sup>ο</sup> ή το 2<sup>ο</sup> χέρι στα κορυφολογούμενα καπνά ή μετά το 3<sup>ο</sup> ή 4<sup>ο</sup> χέρι στα μη κορυφολογούμενα. Τα φύλλα πρέπει να συγκομιστούν 3-5 μέρες μετά τον ψεκασμό.

↓ *Κιτρίνισμα φύλλων στα ανατολικού τύπου καπνά*

-Ethepon, 220-280 gr/στρ. Ψεκασμός των φυτών μετά το 2<sup>ο</sup> ή 3<sup>ο</sup> χέρι όταν τα φύλλα που έχουν απομείνει είναι ανεπτυγμένα πλήρως και φυσιολογικά ώριμα. Ο ψεκασμός πρέπει να γίνεται κατά τρόπο που να καλύπτονται τα φυτά με λεπτά σταγονίδια.



### **5.1 Εισαγωγικά**

Η τεχνική της *in vitro* καλλιέργειας φυτικών ιστών και κυττάρων άνοιξε τα τελευταία 30 χρόνια νέους δρόμους στην επίλυση των προβλημάτων της γεωργικής πράξης, όπως στην αντιμετώπιση ασθενειών και στην παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού. Κατά τους Sharp και Larsen (1979) καλλιέργεια φυτικών ιστών, κυττάρων ή οργάνων *in vitro* είναι η απομόνωση, καλλιέργεια και ανάπτυξή τους σε θρεπτικό μέσο κάτω από ασηπτικές και ελεγχόμενες συνθήκες φωτισμού, θερμοκρασίας, διατροφής κτλ. Απώτερος σκοπός της τεχνικής αυτής είναι ο αγενής πολλαπλασιασμός των φυτικών ιστών, κυττάρων ή και ολόκληρων φυτών.

Το κύτταρο είναι η βασική δομική μονάδα κάθε οργανισμού. Το 1988 οι Swann και Sleiden διατύπωσαν τη θεωρία της ολοδυναμικότητας των φυτικών κυττάρων. Σύμφωνα με αυτή τα κύτταρα, διαφοροποιημένα ή όχι, είναι αυτόνομες φυσιολογικές μονάδες και, γενικά, έχουν την ικανότητα να αναγεννούν ένα πλήρες φυτό όταν απομονώνονται και καλλιεργούνται σε ένα κατάλληλο μέσο.

Η θεωρία τους αυτή αποτέλεσε ουσιαστικά την αρχή της ιστοκαλλιέργειας και κυτταροκαλλιέργειας. Οι πρώτες προσπάθειες από τον Haberlandt (1902) απέτυχαν. Τα αίτια της αποτυχίας πρέπει να αποδοθούν στη χρήση πολύ απλών θρεπτικών διαλυμάτων χωρίς τις απαραίτητες φυτορρυθμιστικές ουσίες για τη διέγερση της κυτταρικής διαίρεσης. Στη συνέχεια όμως, μεταξύ του 1907 και 1909, οι Harrison, Burrows και Carrel κατάφεραν να καλλιεργήσουν *in vitro* ανθρώπινους και ζωικούς ιστούς. Οι πρώτες επιτυχημένες προσπάθειες καλλιέργειας φυτικών ιστών και κυττάρων *in vitro* με την έννοια του πολλαπλασιασμού και της διατήρησης των κυττάρων με συνεχείς μεταφυτεύσεις επ' άπειρον έγιναν το 1939 από τρεις διαφορετικούς

επιστήμονες, τους White, Gautheret και Nobécourt, οι οποίοι εργάζονταν ξεχωριστά. Μετά τον 2<sup>ο</sup> Παγκόσμιο Πόλεμο η ανάπτυξη στον τομέα της ιστοκαλλιέργειας ήταν ραγδαία. Η καλλιέργεια των φυτικών ιστών καθυστέρησε αρκετά σε σχέση με την καλλιέργεια των ζωικών ιστών κυρίως λόγω της αργοπορημένης ανακάλυψης των φυτορμονών. Η πρώτη φυτορρυθμιστική ουσία που ανακαλύφθηκε, η αυξίνη IAA, άνοιξε νέους δρόμους στην καλλιέργεια των φυτικών ιστών. Η ανακάλυψη της κινετίνης το 1955 ήταν ένα επιπλέον ερέθισμα. Από τότε η επιστήμη σ' αυτόν τον τομέα έχει κάνει τεράστια βήματα και οι εξελίξεις διαδέχονται συνεχώς η μία την άλλη.

Χάρη στη σημαντική εξοικονόμηση χώρου στις καλλιέργειες *in vitro* και επομένως στην κατανάλωση ενέργειας, οι νέες μέθοδοι άλλαξαν δραστικά τους τρόπους παραγωγής φυτών. Επιπλέον οι καλλιέργειες κυττάρων, ιστών και οργάνων έχουν εμπλουτίσει σημαντικά τις θεμελιώδεις γνώσεις μας για το φυτικό κύτταρο.

## 5.2 Τύποι ιστοκαλλιέργειας

Το φυτό, σαν σύνθετος οργανισμός που είναι, αποτελείται από διάφορα όργανα, το καθένα από τα οποία έχει σχηματιστεί από διαφορετικούς ιστούς, οι οποίοι με τη σειρά τους είναι ένα σύνολο από αυτόνομα κύτταρα. Η ύπαρξη τόσων διαφορετικών δομικών υλικών σε ένα φυτό οδήγησε στην ανάπτυξη διαφορετικών τύπων *in vitro* καλλιέργειας, ανάλογα με το είδος του ιστού που χρησιμοποιείται.

Σε γενικές γραμμές οι τύποι της ιστοκαλλιέργειας μπορούν να χωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Στην πρώτη κατηγορία περιλαμβάνονται καλλιέργειες οργάνων, σπερμάτων ή ζυγωτικών εμβρύων για τη δημιουργία ενός ολόκληρου φυτού. Τα κύτταρα των οργάνων που εμβολιάζονται στο θρεπτικό μέσο αναπτύσσονται και διαφοροποιούνται κανονικά σχηματίζοντας το νέο φυτό. Αντίθετα, στη δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνονται καλλιέργειες κυττάρων με σκοπό τη δημιουργία κάλλου (μάζα αδιαφοροποίητων κυττάρων).

Στην πορεία της εξέλιξης της ιστοκαλλιέργειας αρκετοί ερευνητές έχουν κατά καιρούς διακρίνει διάφορες κατηγορίες ιστοκαλλιέργειας. Οι πιο γνωστοί από αυτούς είναι ο De Fossard (1977) και ο R. L. Pierik (1987) (από Pierik, 1987).

Σύμφωνα με τον De Fossard υπάρχουν τρεις τύποι καλλιέργειας φυτικών ιστών:

*Οργανωμένες:* Ως οργανωμένες καλλιέργειες θεωρούνται αυτές των, σχεδόν, ολόκληρων φυτών (έμβρυα, σπόροι) και η καλλιέργεια μοσχευμάτων. Η χαρακτηριστική οργανωτική δομή του φυτού ή του μεμονωμένου οργάνου διατηρείται και, αν δεν διασπαστεί, τα φυτά που προκύπτουν είναι πανομοιότυπα με το αρχικό φυτό.

*Μη οργανωμένες:* Αν τα κύτταρα ή οι ιστοί που απομονώνονται από ένα οργανωμένο μέρος του φυτού, αποδιαφοροποιούνται καλλιεργούμενα *in vitro*, προκύπτει μια μη οργανωμένη μάζα κυττάρων (κάλλος). Αν ο κάλλος διασπαστεί προκύπτουν ομάδες κυττάρων ή μεμονωμένα κύτταρα (καλλιέργεια εν αιωρήσει/ suspension culture).

*Μη οργανωμένες – οργανωμένες:* Είναι ο ενδιάμεσος τύπος των δύο προηγούμενων. Κύτταρα από ένα απομονωμένο όργανο ή ιστό αρχικά αποδιαφοροποιούνται και στη συνέχεια σχηματίζουν με διαίρεση ιστούς ή ένα στρώμα κάλλου από τα οποία αναπτύσσονται διάφορα όργανα ή και ολόκληρα άτομα με τη μορφή εμβρύων ή προεβρύων. Η ανάπτυξη οργανωμένων ιστών από μη οργανωμένες καλλιέργειες είναι δυνατή με τη χρήση ειδικών τεχνικών αλλά μπορεί να είναι και τυχαία. Σε αυτές τις περιπτώσεις όμως οι απόγονοι δεν είναι συχνά ίδιοι με το αρχικό φυτικό υλικό.

Ο Pierik κατηγοριοποίησε τους τύπους των καλλιεργειών φυτικών ιστών πιο αναλυτικά, ανάλογα με το είδος του ιστού που χρησιμοποιείται.

*Καλλιέργεια ολόκληρων φυτών:* Ένας σπόρος μπορεί να σπαρθεί σε συνθήκες *in vitro* και από αυτόν να αναπτυχθεί ένα σπορόφυτο και τελικά ένα ολόκληρο φυτό, όπως για παράδειγμα στα ορχειδοειδή.

*Καλλιέργεια εμβρύων:* Ένα απομονωμένο έμβρυο αναπτύσσεται σε θρεπτικό υπόστρωμα μετά την απομάκρυνση του περιβλήματος του σπόρου.

*Καλλιέργεια οργάνων:* Στην καλλιέργεια αυτή ένα όργανο απομονώνεται από το μητρικό φυτό και καλλιεργείται *in vitro*. Μπορεί να χρησιμοποιηθούν

μεριστώματα, κορυφές βλαστών ή ριζών, ανθήρες κ.ά. Συχνά ένα κομμάτι που έχει απομονωθεί από ένα φυτό (ιστός ή όργανο) αναφέρεται ως εκφύτο και η καλλιέργεια αυτού ως καλλιέργεια εκφύτου.

*Καλλιέργεια κάλλου:* Όταν ένας διαφοροποιημένος ιστός απομονωθεί και κατά την καλλιέργειά του *in vitro* αποδιαφοροποιηθεί με αποτέλεσμα τη δημιουργία κάλλου, η καλλιέργεια αυτή χαρακτηρίζεται ως καλλιέργεια κάλλου.

*Καλλιέργεια κυττάρου:* Είναι η καλλιέργεια μεμονωμένων κυττάρων, τα οποία έχουν ληφθεί από έναν ιστό, κάλλο ή καλλιέργεια εν αιωρήσει με την βοήθεια ενζύμων ή μηχανικών μέσων.

*Καλλιέργεια πρωτοπλαστών:* Είναι η καλλιέργεια πρωτοπλαστών οι οποίοι λαμβάνονται από κύτταρα με ενζυματική διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος.

### 5.3 Οι ορμόνες στην ιστοκαλλιέργεια

Θεωρητικά όλα τα φυτικά κύτταρα έχουν την αναγκαία γενετική πληροφορία για ανάπτυξη και αναγέννηση ολοκληρωτων γόνιμων φυτών. Παρόλα αυτά όμως η μορφογενετική ικανότητα δεν είναι δυνατόν να εκφραστεί πάντα μέσα από την ολοδυναμικότητα των φυτικών αυτών κυττάρων.

Η ικανότητα των φυτικών κυττάρων για την αναγέννηση ολοκληρωμένων φυτών ή γενικά για την επιτυχημένη καλλιέργειά τους *in vitro* καθορίζεται από έναν αριθμό παραγόντων, όπως τον γενότυπο των φυτών, το οντογενετικό και αναπτυξιακό στάδιο του εκφύτου, τις συνθήκες καλλιέργειας (φως, θερμοκρασία, pH, O<sub>2</sub> και CO<sub>2</sub>), την παρουσία φυτορρυθμιστικών ουσιών, βιταμινών και άλλων οργανικών ουσιών.

Τα διάφορα εκφύτα, ζυγωτικά έμβρυα ή σπέρματα, προς καλλιέργεια τοποθετούνται ασηπτικά πάνω ή μέσα σε θρεπτικό μέσο. Ένα θρεπτικό μέσο περιέχει διάφορα άλατα και ιχνοστοιχεία τα οποία είναι απαραίτητα για τις φυσιολογικές διεργασίες των φυτικών κυττάρων. Επίσης περιέχει νερό, διάφορες βιταμίνες, πηγή αζώτου, σάκχαρα σαν πηγή άνθρακα και

φυτορρυθμιστικές ουσίες. Σε περίπτωση απουσίας ενός από αυτά τα συστατικά ο ιστός ή το φυτικό όργανο δεν έχει τη δυνατότητα να αναπτυχθεί και πεθαίνει.

Σε μια *in vitro* καλλιέργεια της οποίας δεν είναι γνωστές οι θρεπτικές και ορμονικές απαιτήσεις είναι δύσκολο να προσδιορίσει κανείς το ιδανικό θρεπτικό μέσο και το πείραμα διεξάγεται λαμβάνοντας υπόψη τις τέσσερις ομάδες στοιχείων οι οποίες είναι συχνά απαραίτητες σε ένα θρεπτικό μέσο (De Fossard, 1976 – από Pierik, 1987):

- νερό
- οργανικές ουσίες
- ανόργανες ουσίες
- απροσδιόριστα μείγματα ουσιών

**ΠΙΝΑΚΑΣ 2:** Συνδιασμός ουσιών που προσθέτονται συχνά στο θρεπτικό διάλυμα για να υποκινήσουν την αύξηση και την ανάπτυξη.

<b>Θρεπτικές και ορμονικές απαιτήσεις των καλλιεργειών φυτικών ιστών και οργάνων <i>in vitro</i></b>				
νερό				
	<b>Οργανικές Ουσίες</b>	<b>Μάκρο-</b>	<b>Μίκρο-Στοιχεία</b>	
	Σάκχαρα	N	Fe	Co
	αμινοξέα	P	Zn	Ni
	Βιταμίνες	K	B	Al
	Αυξίνες	Ca	Mn	Mo
	κυτοκινίνες	Mg	Cu	I
Φυτορρυθμιστικές ουσίες	γιββερελλίνες	S		
	Αμψισικό οξύ			
	αιθυλένιο			
	Απροσδιόριστα μείγματα ουσιών		Εκχύλισμα μαγιάς	
			Γάλα καρύδας	
			Εκχυλίσματα φυτών	

↑  
pH  
↓

Σε ορισμένα φυτά ο απομονωμένος ιστός βιοσυνθέτει μια από τις φυτορρυθμιστικές ουσίες και επομένως δεν χρειάζεται η προσθήκη της στο θρεπτικό μέσο. τα φυτά αυτά ονομάζονται αυτότροφα (autotroph) ως προς τη φυτορρυθμιστική ουσία που παράγουν. Επομένως, αν μια φυτορρυθμιστική ουσία πρέπει να προστεθεί στο θρεπτικό μέσο, αυτό εξαρτάται απόλυτα από τον τύπο του εκφύτου και το είδος του φυτού. Υπάρχουν έκφυτα τα οποία



παράγουν από μόνα τους αρκετή αυξίνη για τη διαίρεση και την ανάπτυξη των κυττάρων τους, καθώς και έκφυτα τα οποία δεν χρειάζονται πρόσθετη κυτοκινίνη στο θρεπτικό διάλυμα καθώς παράγουν επαρκή ποσότητα από μόνα τους. Καθώς οι αυξίνες και οι κυτοκινίνες είναι οι πιο απαραίτητες φυτορμόνες σε μια καλλιέργεια *in vitro*, σύμφωνα με τον Pierik (1987) μπορούμε να διακρίνουμε:

- καλλιέργειες που χρειάζονται και αυξίνη και κυτοκινίνη
- καλλιέργειες που χρειάζονται μόνο αυξίνη
- καλλιέργειες που χρειάζονται μόνο κυτοκινίνη
- καλλιέργειες που δεν χρειάζονται ούτε αυξίνη ούτε κυτοκινίνη

Σε ορισμένες καλλιέργειες μπορεί να εμφανιστεί το φαινόμενο του εθισμού (habituation). Αυτό παρουσιάζεται μετά από επανειλημμένες επανακαλλιέργειες των φυτικών ιστών, στις οποίες έχει χρησιμοποιηθεί μια φυτορρυθμιστική ουσία, οι ιστοί παύουν να χρειάζονται την ουσία αυτή για αύξηση και οργανογένεση, ή την χρειάζονται σε μικρότερες ποσότητες. Ο εθισμός είναι μια παροδική αλλαγή αφού, τα έκφυτα από φυτά που παρουσίασαν το φαινόμενο του εθισμού χρειάζονται προσθήκη της φυτορρυθμιστικής ουσίας κατά την καλλιέργειά τους. Το φαινόμενο του εθισμού παρουσιάζεται κάποιες φορές σε καλλιέργειες κάλλου και στον σχηματισμό πλευρικών βλαστών υπό την επίδραση της κυτοκινίνης.

Πτώση των απαιτήσεων μιας καλλιέργειας σε φυτορρυθμιστικές ουσίες παρουσιάζει και το φαινόμενο της επαναρροποίησης (rejuvenating effect) κατά το οποίο επανεμφανίζονται οι νεανικοί χαρακτήρες μιας καλλιέργειας μετά από συνεχείς επανακαλλιέργειες της κορυφής του βλαστού ενός ώριμου φυτού. Πρόκειται όμως για μια παροδική αλλαγή γιατί καθώς η καλλιέργεια γερνάει οι απαιτήσεις της σε φυτορρυθμιστικές ουσίες επανέρχονται στα αρχικά επίπεδα.

Εκτός από τις αυξίνες και τις κυτοκινίνες σε κάποιες συγκεκριμένες καλλιέργειες *in vitro* μπορεί να χρειάζονται και άλλες φυτορμόνες όπως οι γιββερελλίνες και το αιθυλένιο.

Οι φυτορρυθμιστικές ουσίες προστίθενται στο θρεπτικό μέσο με τη μορφή διαλυμάτων. Επειδή υπάρχουν ορισμένα προβλήματα όταν διαλύονται στο νερό, οι αυξίνες IAA, IBA και NAA χρησιμοποιούνται υπό τη μορφή διαλυτών



αλάτων καλίου ή διαλύονται σε διαλύματα 0,1 M KOH ή NaOH όπως και οι κυτοκίνινες. Τα διαλύματα αυτά πρέπει να προστατεύονται από το φως καθώς αυτό τα καταστρέφει διασπώντας τις φυτορρυθμιστικές ουσίες. Οι γιββερελλίνες μπορούν να διαλυθούν στο νερό με τη βοήθεια μικρής ποσότητας αιθυλικής αλκοόλης ή συσκευής υπερήχων.

### 5.3.1 Οι αυξίνες *in vitro*

Οι αυξίνες είναι απαραίτητες σε όλες σχεδόν τις καλλιέργειες *in vitro* και χρησιμοποιούνται συχνά στα θρεπτικά μέσα των καλλιεργειών. Η φυσική αυξίνη IAA προστίθεται σε συγκεντρώσεις 0,01 – 10 mg/l, ενώ οι συνθετικές (IBA, NAA, 2,4-D) χρησιμοποιούνται σε πιο χαμηλές συγκεντρώσεις (0,001 – 10 mg/l) καθώς είναι πιο δραστικές και πιο σταθερές από το IAA.

Σε γενικές γραμμές οι αυξίνες προκαλούν κυτταρική επιμήκυνση και διόγκωση των ιστών, κυτταρική διαίρεση (σχηματισμός κάλλου), σχηματισμό τυχαίων ριζών, παρεμπόδιση του σχηματισμού τυχαίων και πλευρικών βλαστών και συχνά εμβρυογένεση σε καλλιέργειες εν αιωρήσει.

Σε χαμηλές συγκεντρώσεις αυξίνης επικρατεί ο σχηματισμός τυχαίων ριζών ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις αυξίνης δεν μπορεί να συμβεί σχηματισμός ριζών και σχηματίζεται μάζα αδιαφοροποίητων κυττάρων (κάλλος).

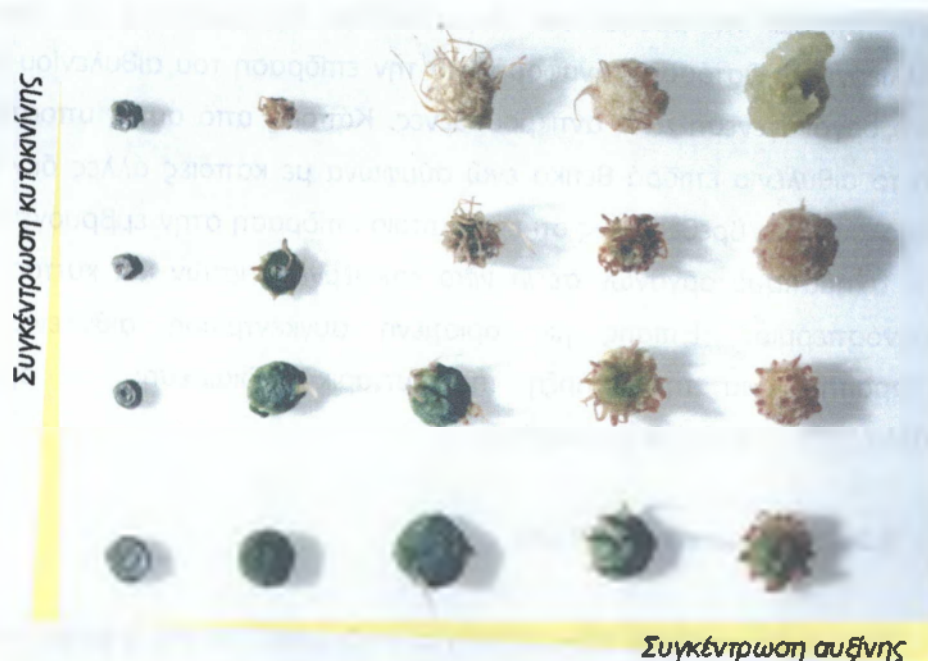


**Εικόνα 5.1:** Αριστερά: σχηματισμός τυχαίων ριζών σε χαμηλή συγκέντρωση αυξίνης (1μM IBA), Δεξιά: σχηματισμός κάλλου σε υψηλή συγκέντρωση αυξίνης στο θρεπτικό μέσο (32μM IBA).

Όσον αφορά το 2,4-D, η χρήση του πρέπει να είναι περιορισμένη όσο είναι δυνατόν καθώς μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις, ενώ ταυτόχρονα μπορεί να παρεμποδίσει τη φωτοσύνθεση, κάτι που δεν προκαλούν οι αυξίνες IAA, IBA και NAA. Μερικές φορές η προσθήκη αυξίνης έχει σαν αποτέλεσμα την υποκίνηση της αύξησης των αρτίβλαστων (φυτάρια που προέρχονται από την βλάστηση σπόρων). Ο Ριερίκ απέδειξε το 1984 ότι η αυξίνη NAA υποκινεί το σχηματισμό ριζιδίων σε αρτίβλαστα μιας επιλογής *Bromeliaceae* το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα την υποκίνηση της αύξησης *in vitro* στα φυτά αυτά.

### 5.3.2 Οι κυτοκινίνες *in vitro*

Οι κυτοκινίνες χρησιμοποιούνται για να διεγείρουν την αύξηση και την ανάπτυξη. Συνήθως υποκινούν την κυτταρική διαίρεση, ειδικά όταν προστίθενται μαζί με μία αυξίνη. Σε υψηλές συγκεντρώσεις (1-10 mg/l) μπορούν να υποκινήσουν τον σχηματισμό τυχαίων βλαστών, εις βάρος όμως του σχηματισμού ριζών, ο οποίος γενικά παρεμποδίζεται σ' αυτές τις συγκεντρώσεις. Οι κυτοκινίνες προάγουν τον σχηματισμό πλευρικών βλαστών περιορίζοντας την κυριαρχία της κορυφής και επιβραδύνουν τη διαδικασία της γήρανσης.



**Εικόνα 5.2:** Η συμπεριφορά των ιστών όσον αφορά την έκπτυξη τυχαίων ριζών ανάλογα με τις συγκεντρώσεις αυξίνης και κυτοκινίνης στο θρεπτικό υπόστρωμα. (πηγή: PRI)

### 5.3.3 Γιββερελλίνες

Οι γιββερελλίνες δεν χρησιμοποιούνται συχνά στην ιστοκαλλιέργεια και έχει αποδειχτεί ότι δεν είναι αναγκαίες για τις περισσότερες καλλιέργειες. Σε γενικές γραμμές, η χρήση τους *in vitro* υποκινεί την επιμήκυνση των μεσογονατίων και την αύξηση των μεριστωμάτων ή των οφθαλμών. Συνήθως παρεμποδίζουν το σχηματισμό τυχαίων ριζών και βλαστών. Επίσης, οι γιββερελλίνες μπορούν να διακόψουν τον λήθαργο σε απομονώσεις εμβρύων ή σπόρων.

### 5.3.4 Αιθυλένιο

Είναι γνωστό ότι καλλιέργειες φυτικών οργάνων όπως και καλλιέργειες κάλλου *in vitro* είναι ικανές να παράγουν αιθυλένιο. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι οι σωλήνες, οι φιάλες και τα δοχεία που χρησιμοποιούνται στη ιστοκαλλιέργεια είναι πολλές φορές ερμητικά κλειστά προς αποφυγή προσβολών, πρέπει να δίνεται προσοχή στη συσσώρευση αιθυλενίου καθώς αυτή μπορεί να προκαλέσει παρεμπόδιση της αύξησης σε ορισμένες καλλιέργειες. Ωστόσο οι αναφορές για την επίδραση του αιθυλενίου στην *in vitro* οργανογένεση είναι αντικρουόμενες. Κάποιες από αυτές υποστηρίζουν ότι το αιθυλένιο επιδρά θετικά ενώ σύμφωνα με κάποιες άλλες δεν επιδρά καθόλου. Έχει βρεθεί όμως ότι έχει κάποια επίδραση στην εμβρυογένεση και τον σχηματισμό οργάνων σε *in vitro* καλλιέργειες ιστών και κυττάρων των γυμνόσπερμων. Επίσης μια ορισμένη συγκέντρωση αιθυλενίου είναι απαραίτητη για την έναρξη της κυτταρικής διαίρεσης σε ορισμένες καλλιέργειες κυττάρων εν αιωρήσει.

### 5.3.5 Αμπσισικό οξύ (ABA)

Δεν χρησιμοποιείται ευρέως διότι οι επιδράσεις του και η χρήση του στην ιστοκαλλιέργεια είναι ακόμα υπό εξέταση. Έχει αναφερθεί ότι βοηθά στην ωρίμανση του εμβρύου και δίνει το ερέθισμα για την έναρξη του λήθαργου. Οι

αναφορές πάντως ότι το ABA προάγει τον σχηματισμό κάλλου και την εμβρυογένεση δεν έχουν επαληθευτεί και είναι πιθανώς συμπτωματικές. Τις περισσότερες φορές ωστόσο το αμπισοϊκό οξύ έχει αρνητική επίδραση στις καλλιέργειες φυτικών ιστών και κυττάρων *in vitro*.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 3:** Οι ορμόνες στην ιστοκαλλιέργεια και οι χρήσεις τους.

Κατηγορία	Όνομασία	Χρήση <i>in vitro</i>
<b>Αυξίνες</b>	Indole-3-acetic acid (IAA) Indole-3butyric acid (IBA) Indole-3butyric acid, potassium salt $\alpha$ -Naphthaleneacetic acid (NAA) 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid <i>p</i> -Chlorophenoxyacetic acid Picloram	Σχηματισμός επιγενών ριζών (υψηλές συγκεντρώσεις) Σχηματισμός επιγενών βλαστών (χαμηλές συγκεντρώσεις) Διέγερση σωματικών εμβρύων Διαίρεση κυττάρων Σχηματισμός και ανάπτυξη κάλλου Παρεμπόδιση έκπτυξης πλευρικών οφθαλμών Παρεμπόδιση επιμήκυνσης ριζών
<b>Κυτοκινίνες</b>	6-Benzylaminopurine 6- $\gamma$ , $\gamma$ -Dimethylallylaminopurine (2iP) Kinetin Thidiazuron (TDZ) N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'Phenylurea Zeatin Zeatin Riboside	Σχηματισμός επιγενών βλαστών Παρεμπόδιση έκπτυξης ριζών Προώθηση της κυτταρικής διαίρεσης Ρύθμιση του σχηματισμού του κάλλου και της ανάπτυξης Διακοπή λήθαργου και ανάπτυξη πλευρικών οφθαλμών Παρεμπόδιση επιμήκυνσης βλαστών Παρεμπόδιση της γήρανσης των φύλλων
<b>Γιββερελλίνες</b>	Gibberellic acid (GA)	Προώθηση της επιμήκυνσης των βλαστών Διακοπή λήθαργου σε σπόρους, έμβρυα και ακραία μεριστώματα Παρεμπόδιση σχηματισμού επιγενών ριζών
<b>ABA</b>	Abscisic acid (ABA)	Προώθηση σχηματισμού βολβών & κονδύλων Ωρίμανση εμβρύων Πρωθεί την έναρξη του λήθαργου



## **5.4 Μέθοδοι παραγωγής φυτών**

### **5.4.1 Καλλογένεση**

Τα κύτταρα του κάλλου είναι ζωντανές μονάδες που προσπαθούν να διαιωνίσουν το γενετικό τους υλικό κάνοντας συνεχείς διαιρέσεις. Η συνεχής αυτή δραστηριότητα έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας άμορφης μάζας κυττάρων (κάλλος) η οποία με συνεχείς αναδιαιρέσεις μπορεί να διατηρείται συνεχώς. Συνήθως ο κάλλος που καλλιεργείται στο ίδιο θρεπτικό μέσο δεν διαφοροποιείται, αν και ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι μετά από συνεχείς επανακαλλιέργειες τα κύτταρα του κάλλου υπόκεινται σε κάποια διαφοροποίηση παρόλο που δεν εμφανίζεται κάποια μορφογενετική εξέλιξη. Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις στις οποίες ο κάλλος μπορεί να καταλήξει, τυχαία και αυθόρμητα, στη δημιουργία ορισμένων οργάνων ή σωματικών εμβρύων ακόμα κι αν οι συνθήκες καλλιέργειας παραμένουν ίδιες.

Ο τύπος, η μορφολογία και ο ρυθμός ανάπτυξης του κάλλου εξαρτώνται από το είδος του φυτού, το γενότυπο της ποικιλίας απ' όπου προέρχεται το έκφυτο, από τη φυσιολογική κατάσταση του εκφύτου και τις συνθήκες καλλιέργειας. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι αυξίνες είναι αυτές που επηρεάζουν τον τύπο και τη μορφολογία ή και τον ρυθμό ανάπτυξης του κάλλου. Ο κάλλος μπορεί να αξιοποιηθεί για την μελέτη, παραγωγή, σύνθεση και ανάλυση των βιοχημικών και γενετικών μονοπατιών των κυττάρων.

### **5.4.2 Σωματική εμβρυογένεση**

Τα είδη των κάλλων ανάλογα με τη μορφογενετική τους ικανότητα μπορούν να διακριθούν σε εμβρυογενετικούς και μη εμβρυογενετικούς. Οι εμβρυογενετικοί κάλλοι έχουν τη δυνατότητα να παράγουν σωματικά έμβρυα όταν καλλιεργηθούν σε κατάλληλα θρεπτικά μέσα, αντίθετα με τους μη εμβρυογενετικούς οι οποίοι, είτε δεν έχουν την δυνατότητα αυτή είτε δεν έχει βρεθεί ακόμα το κατάλληλο θρεπτικό μέσο το οποίο να επάγει τη σωματική εμβρυογένεση.

Είναι πιθανό ότι οι διάφορες φυτορμόνες του θρεπτικού μέσου δημιουργούν ένα κατάλληλο μικροπεριβάλλον και αυτό με τη σειρά του δημιουργεί την κατάλληλη πολικότητα στα κύτταρα ώστε να αναπτυχθεί το πρόγραμμα της εμβρυογένεσης.

Η σωματική εμβρυογένεση είναι μια διαδικασία κατά την οποία σχηματίζονται ή παράγονται έμβρυα από μια μικρή ομάδα κυττάρων ή ένα μόνο σωματικό κύτταρο. Θεωρητικά, οποιοδήποτε φυτό κάτω από κατάλληλη επαγωγή στις συνθήκες ιστοκαλλιέργειας μπορεί να εκφράσει τα οντογενετικά στάδια της εμβρυογένεσης. Τα σωματικά έμβρυα παράγονται από σωματικά κύτταρα είναι όμως δυνατόν να παραχθούν άμεσα από τα κύτταρα του εκφύτου, χωρίς το ενδιάμεσο στάδιο της δημιουργίας κάλλου. Κατά τη σωματική εμβρυογένεση σχηματίζεται ένα έμβρυο παρόμοιο με το ζυγωτικό, που περιέχει τα μεριστώματα, πάνω στον άξονα βλαστού – ρίζας, απ' όπου εκπτύσσεται ένα φυτάριο.

Ουσιαστικές παράμετροι για μια πετυχημένη εγκατάσταση εμβρυογενετικής καλλιέργειας είναι η επιλογή του εκφύτου, του γενότυπου (ποικιλία – οικότυπος), η σύσταση του θρεπτικού μέσου και η συγκέντρωση των διαφόρων φυτορμονών.

Με τη διαδικασία της σωματικής εμβρυογένεσης έχει αναγεννηθεί *in vitro* ένας μεγάλος αριθμός φυτών. Η διαδικασία αυτή βρίσκει εφαρμογή στη δημιουργία τεχνητών σπερμάτων, στο μετασχηματισμό των σωματικών εμβρύων με την εισαγωγή ξένου DNA, στην κλωνοποίηση επιλεγμένων στελεχών και στις μελέτες φυσιολογίας και αναπτυξιακής βιολογίας. Η έναρξη εμβρυογενετικών καλλιεργειών απαιτεί την *in vitro* καλλιέργεια κατάλληλου εκφύτου σε θρεπτικό μέσο, παρουσία φυτορρυθμιστικών ουσιών όπως οι IBA, IAA, 2,4-D, NAA, BA, ζεατίνη και κινετίνη.

#### **5.4.3 Μικροπολλαπλασιασμός**

Ο πολλαπλασιασμός (ή φυτικός πολλαπλασιασμός) είναι μια μορφή αγενούς αναπαραγωγής φυτών στην οποία νέα άτομα αναπτύσσονται από ειδικευμένα πολυκύτταρα όργανα (π.χ. βολβοί, κόνδυλοι) τα οποία αποκολλώνται από το μητρικό φυτό. (Oxford Dictionary of Biology).



Ο μικροπολλαπλασιασμός στην ιστοκαλλιέργεια βρίσκει εφαρμογές στη δημιουργία φυτών απαλλαγμένων από ιώσεις, στην αξιοποίηση των μεταλλάξεων και κυρίως, στην παραγωγή μεγάλου αριθμού φυτών και πολλαπλασιαστικού υλικού εμπορικής σημασίας.

Τα περισσότερα φυτά μεγάλης οικονομικής σημασίας, όπως το αμπέλι και η πατάτα, είναι επιρρεπή σε αρκετούς παθογόνους ιούς, μερικοί από τους οποίους δεν έχουν εμφανή συμπτώματα αλλά μακροπρόθεσμα προκαλούν ελάττωση στη ζωτικότητα κάποιου φυτού και επηρεάζουν την παραγωγικότητά του. Είναι δυνατόν να επιτευχθεί απομάκρυνση των ιών με την καλλιέργεια αποκομμένων μεριστωματικών οφθαλμών κάτω από κατάλληλες συνθήκες ή με την προσθήκη αντιβιοτικών.

Η διαδικασία του μικροπολλαπλασιασμού περιλαμβάνει την προετοιμασία βλαστών, οι οποίοι συνήθως αναπτύσσονται σε υψηλές θερμοκρασίες (30-37°C), την επιφανειακή τους απολύμανση και την απομόνωση των ακραίων ή των μασχαλιαίων οφθαλμών, ανάλογα με το είδος του φυτού. Για παράδειγμα, ενώ στην ιστοκαλλιέργεια της μηλιάς χρησιμοποιούνται αποκλειστικά τα ακραία μεριστώματα, για την τριανταφυλλιά και τον καπνό έχει αποδειχθεί ότι αποδίδουν καλύτερα οι μασχαλιαίοι οφθαλμοί.

Οι οφθαλμοί αυτοί, όταν καλλιεργηθούν σε φυσιολογικές θερμοκρασίες της τάξης των 20-27 °C, αναπτύσσονται σε βλαστούς οι οποίοι με καλλιέργεια στο ίδιο ή σε διαφορετικό, συνήθως, υπόστρωμα, μπορούν να ριζοβολήσουν και να μεταφερθούν στο χώμα. Στη συνέχεια τα κατεργασμένα φυτά ελέγχονται για την παρουσία ιών.

Η προσθήκη αντιβιοτικών μπορεί να βοηθήσει στην απομάκρυνση των ιών, συνιστάται όμως να αποφεύγεται ή να γίνεται με μέτρο καθώς μπορεί να οδηγήσει σε φυτοτοξικά φαινόμενα ή στην επιλογή φυτών με ανθεκτικούς, στα αντιβιοτικά, κλώνους μικροοργανισμών.

Η παρουσία της κυτοκινίνης κατά την αύξηση του βλαστού καταστέλλει την κυριαρχία της κορυφής και βοηθά στην ανάπτυξη των μασχαλιαίων οφθαλμών σε βλαστούς. Σε διάρκεια τεσσάρων ως δέκα εβδομάδων (ανάλογα με το είδος του φυτού και την ποικιλία) στο αρχικό έκφυτο σχηματίζεται ένα σύμπλεγμα από διακλαδιζόμενους βλαστούς. Όταν αυτοί οι μικροσκοπικοί βλαστοί μεταφερθούν σε νέο θρεπτικό μέσο με υψηλά επίπεδα κυτοκινίνης ο πολλαπλασιαστικός αυτός κύκλος επαναλαμβάνεται.

Υπάρχει η δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν οφθαλμοί οι οποίοι προέρχονται από άλλα μέρη του φυτού, εκτός από τη μασχάλη του φύλλου ή το ακραίο μερίστωμα. Οι οφθαλμοί αυτοί ονομάζονται επιγενείς και συνήθως οδηγούν σε γρηγορότερους ρυθμούς πολλαπλασιασμού, είναι δυνατόν όμως τα προϊόντα που θα παραχθούν να μην είναι όμοια ως προς το μητρικό φυτό. Αυτό εξαρτάται από το είδος του φυτού. Για πολλά καλλωπιστικά φυτά, όπως τα κρινοειδή και οι μπιγκόνιες, το σύστημα των επιγενών οφθαλμών έχει αποδειχτεί θετικό και αξιόπιστο.

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

- ο η κλωνική αναπαραγωγή των μητρικών φυτών
- ο η αυξημένη παραγωγή φυτών σε σύντομο χρονικό διάστημα
- ο η εξοικονόμηση χώρου
- ο η αποδέσμευση της παραγωγής από εξωτερικές περιβαλλοντικές συνθήκες και περιορισμούς
- ο η παραγωγή άνοσου φυτικού υλικού
- ο είναι η μοναδική μέθοδος πολλαπλασιασμού για ορισμένα φυτικά είδη (κυρίως γλαστρικά και κηποτεχνικά εξωτερικού χώρου)

Ωστόσο η ιστοκαλλιέργεια παρουσιάζει και μειονεκτήματα σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους, σπουδαιότερα από τα οποία είναι τα εξής:

- ο απαιτεί υψηλό επενδυτικό κόστος
- ο προϋποθέτει υψηλή επάρκεια σε τεχνογνωσία
- ο έχει μεγαλύτερο κόστος παραγωγής σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους.

## **5.5 Η ιστοκαλλιέργεια στην Ελλάδα**

Η *in vitro* εμπορική παραγωγή φυτών στην Ελλάδα αναπτύχθηκε την τελευταία 20ετία. Σε γενικές γραμμές, η χρήση της ιστοκαλλιέργειας για την κλωνοποίηση φυτών είναι μια δαπανηρή διαδικασία γι' αυτό χρησιμοποιείται σε φυτά με υψηλή προστιθέμενη αξία και εμπορική ζήτηση, όπως τα τριαντάφυλλα, τα γαρύφαλλα και τα χρυσάνθεμα.

Τα προβλήματα της εγχώριας παραγωγής πολλαπλασιαστικού υλικού έχουν διάφορα αίτια, οφείλονται όμως κυρίως στην έλλειψη εξειδικευμένης τεχνογνωσίας, στις υψηλές σε κόστος απαιτήσεις των επενδύσεων σε συνδυασμό με το μεγάλο χρονικό διάστημα απόδοσης του κεφαλαίου και το μικρό μέγεθος της αγοράς, στη μικρή κρατική υποστήριξη και στην έλλειψη συντονισμένης δράσης των εγχώριων παραγωγών πολλαπλασιαστικού υλικού.

Παρά τα προβλήματα που αντιμετωπίζει η εγχώρια παραγωγή παρουσιάζει και κάποια σοβαρά πλεονεκτήματα, τα οποία αποτελούν και το κύριο κίνητρο της ανάπτυξης του κλάδου. Οι τιμές του εγχώριου πολλαπλασιαστικού υλικού είναι σημαντικά κατώτερες του εισαγόμενου κι αυτό οφείλεται κυρίως στις ευνοϊκές, σε σχέση με άλλες χώρες, συνθήκες παραγωγής (μικρότερο ενεργειακό κόστος) καθώς και στην μεγάλη απόσταση της Ελλάδας από τις κύριες παραγωγικές χώρες πολλαπλασιαστικού υλικού

**ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ  
ΑΥΞΙΝΩΝ ΣΤΗ ΡΙΖΟΒΟΛΙΑ ΕΚΦΥΤΩΝ  
ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΑΣ**

## Περίληψη

Οι ιδανικές συνθήκες ριζοβολίας είναι γνωστές για τον ιστό της μηλιάς από παλαιότερα πειράματα. Η βασική ιδέα για τα πειράματα με ιστούς τριανταφυλλιάς ήταν να βρούμε περισσότερες πληροφορίες για την ριζοβολία των ιστών αυτών ώστε να μπορέσουμε αργότερα να τους χρησιμοποιήσουμε σε σύστημα μικροπαράταξης (micro-array system), όπως έχει γίνει ήδη με την μηλιά.

Οι διαφορές στη ριζοβολία εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, όπως η παρουσία των φυτορρυθμιστικών ουσιών, η ηλικία και η ποιότητα του ιστού, η ικανότητα έκπτυξης ριζών μιας φυτικής ποικιλίας κ.ά. Η παρουσία της αυξίνης στο υπόστρωμα ριζοβολίας είναι ουσιώδης για την επιτυχή ριζοβολία στον ιστό της τριανταφυλλιάς. Ο αριθμός των ριζών που εκπτύσσονται εξαρτάται άμεσα από την συγκέντρωση της αυξίνης στο υπόστρωμα.

Ο σκοπός των πρώτων πειραμάτων ήταν να προσδιοριστεί, όσον το δυνατόν, η ιδανική συγκέντρωση της αυξίνης για την ριζοβολία. Μετά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης εξετάστηκε η διαφορετικότητα της ριζοβολίας μεταξύ διαφορετικών βλαστών και η επιρροή της ηλικίας του ιστού στην επίδραση της αυξίνης.

## Εισαγωγή

Σε προηγούμενο πρόγραμμα είχαν αναγνωρισθεί δείκτες για την ριζοβολία εκφύτων μηλιάς (δεδομένα μη διαθέσιμα, PRI 2002). Αυτό έγινε χρησιμοποιώντας μια μικροπαράταξη η οποία περιείχε περίπου 800 γονίδια απομονωμένα από ένριζους ιστούς μηλιάς. Το επιστέγασμα του προηγούμενου πειράματος θα μπορούσε να είναι η χρήση του σε ιστούς τριανταφυλλιάς. Η τριανταφυλλιά (*Rosa sp.*) ανήκει στην ίδια οικογένεια με την μηλιά (οικ. *Rosaceae*) και οι ομοιότητες των δύο φυτών σε γονιδιακό επίπεδο είναι πολλές. Επιπλέον, η τριανταφυλλιά είναι ένα φυτό με μεγαλύτερη εμπορική ζήτηση και σημασία.

Η μικροπαράταξη είναι ένα μοριακό εργαλείο για την ανίχνευση και μέτρηση της έκφρασης ενός μεγάλου αριθμού γονιδίων ταυτόχρονα. Χρησιμοποιήθηκε στους ιστούς της μηλιάς για να ανιχνευθούν τα γονίδια που προκαλούν την έκπτυξη των ριζών και το ίδιο σύστημα προβλέπεται να χρησιμοποιηθεί στους ιστούς της τριανταφυλλιάς. Προτού γίνει αυτό όμως θα πρέπει να εξεταστούν τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά της τριανταφυλλιάς, όσον αφορά τη ριζοβολία.

Ο σκοπός του προγράμματος στο οποίο ανήκουν τα παρακάτω πειράματα είναι να παραχθεί επαρκής ιστός ο οποίος θα χρησιμοποιηθεί σε αυτά τα πειράματα χαρακτηρισμού. Σ' αυτά συγκρίνονται διαφορετικές ποικιλίες και προσδιορίζεται η ιδανική συγκέντρωση αυξίνης. Εξετάζεται ακόμη η αντίδραση της αυξίνης στους διάφορους βλαστούς μιας ποικιλίας. Τα αποτελέσματα από αυτά τα πειράματα οδήγησαν σε ένα τελικό πείραμα στη διάρκεια του οποίου προετοιμάστηκε κατάλληλα ιστός (με ψύξη σε υγρό άζωτο) για να χρησιμοποιηθεί στη μικροπαράταξη.

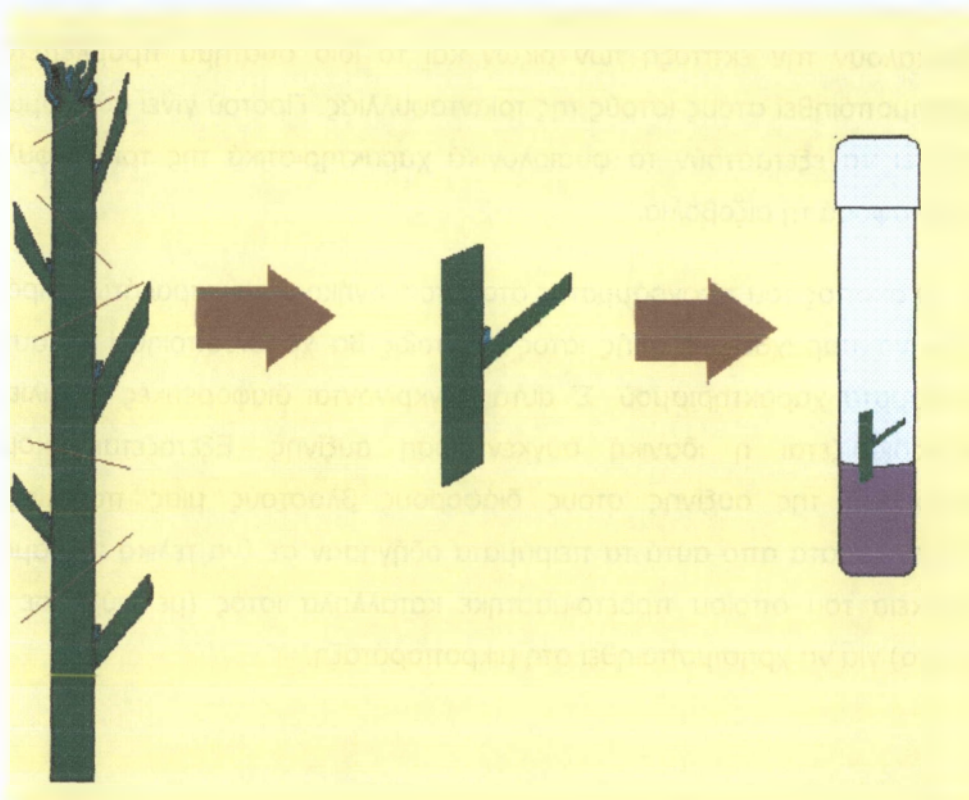


## Υλικά και μέθοδοι

Γενικά, εξετάστηκαν έξι διαφορετικές ποικιλίες τριανταφυλλιάς (E006, Only Love, Natal Briar, E004, Romy και Tineke). Οι E006, Only Love και Natal Briar χρησιμοποιήθηκαν σε όλα σχεδόν τα πειράματα και επίσης μικροπολλαπλασιάστηκαν οι υπόλοιπες τρεις ποικιλίες χρησιμοποιήθηκαν μόνο στα πρώτα πειράματα λόγω έλλειψης ιστού των βασικών ποικιλιών.

### Μικροπολλαπλασιασμός

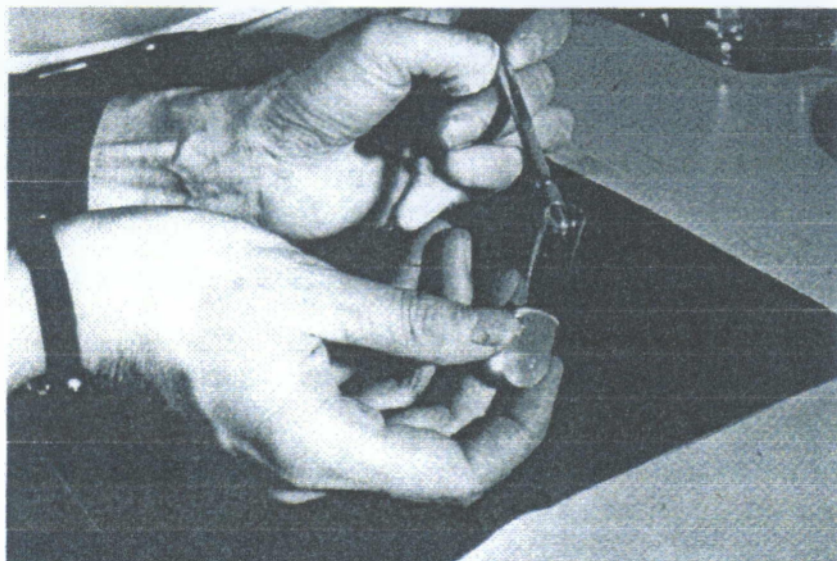
Ο μικροπολλαπλασιασμός γινόταν σε ειδική καμπίνα κάτω από συνθήκες αποστείρωσης (sterile inoculation cabinet). Ο ιστός που χρησιμοποιούταν για τον πολλαπλασιασμό ήταν ηλικίας 8 εβδομάδων για τις ποικιλίες E006 και Only Love και 10 εβδομάδων για την Natal Briar.



*Εικόνα Β1: στάδια μικροπολλαπλασιασμού για τον ιστό της τριανταφυλλιάς*

Αρχικά αφαιρούνταν τα φύλλα αφήνοντας τους μίσχους πάνω στον βλαστό. Στη συνέχεια ο βλαστός τεμαχιζόταν, με τέτοιο τρόπο ώστε, κάθε

τεμάχιο να περιλαμβάνει έναν μίσχο με έναν οφθαλμό ανάμεσα σε αυτόν και τον βλαστό (εικ. Β1). Χρησιμοποιούνται μόνο οι πλευρικοί οφθαλμοί και όχι ο επάκριος, ο οποίος δίνει φυτά κακής ποιότητας (για την τριανταφυλλιά). Κάθε τεμάχιο βλαστού τοποθετούταν σε δοκιμαστικό σωλήνα με θρεπτικό υπόστρωμα (πίνακας Α).



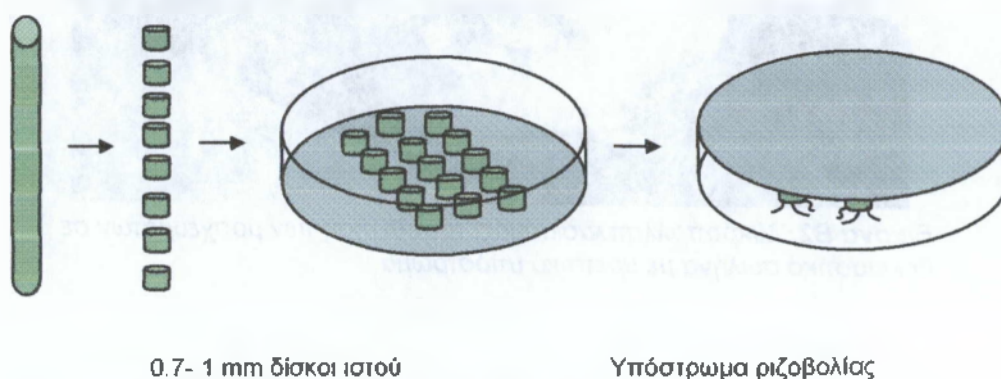
*Εικόνα Β2: Μικροπολλαπλασιασμός: τοποθέτηση των μοσχευμάτων σε δοκιμαστικό σωλήνα με θρεπτικό υπόστρωμα.*

*Πίνακας Α: υποστρώματα για μικροπολλαπλασιασμό και ριζοβολία ιστού τριανταφυλλιάς*

Υπόστρωμα μικροπολλαπλασιασμού		Υπόστρωμα ριζοβολίας	
MS (including vitamins)	4,4 gr/lt	Micro - elements	1,140 gr/lt
Glucose	30 gr/lt	Vitamine mengsel	0,102 gr/lt
FeEDDHA	100 mg/lt	Proline	0,1 gr/lt
BAP (10 mM)	0,222 ml/lt	Sucrose	30 gr/lt
pH=5,8		MgSO <sub>4</sub>	50 ml/lt
Diachin agar	8 gr/lt	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	50 ml/lt
		NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	12 ml/lt
		pH=5,5	
		Agar	6 gr/lt

### Πειράματα – Βασικός σχεδιασμός

Για όλα τα πειράματα ριζοβολίας ακολουθήθηκε ένας βασικός σχεδιασμός. Βλαστοί ηλικίας 8-10 εβδομάδων καθαρίζονταν από φύλλα και μίσχους και κόβονταν σε δίσκους πάχους 0,7mm. Οι δίσκοι αυτοί τοποθετούνταν σε τριβλία Petri που περιείχαν υπόστρωμα ριζοβολίας (πίνακας A) , με την πάνω πλευρά τους να ακουμπάει στο υπόστρωμα. Στη συνέχεια τα τριβλία αναποδογυρίζονταν προσεκτικά και τοποθετούνταν στο σκοτάδι για να αποτραπεί η διάσπαση του IBA από το φως. Μεταξύ των δίσκων και του υποστρώματος παρεμβάλλονταν ένα πολύ λεπτό πλέγμα από nylon, το οποίο έκανε ευκολότερη και ασφαλέστερη τη μεταφορά των δίσκων από το ένα τριβλίο στο άλλο, καθώς οι δίσκοι μεταφέρονταν όλοι μαζί και όχι ένας ένας.



**Εικόνα Β3:** σχεδιάγραμμα πειραμάτων ριζοβολίας

**Πίνακας Β:** γενικό οργανόγραμμα για όλα τα πειράματα ριζοβολίας

Γενικό οργανόγραμμα πειραμάτων ριζοβολίας τριανταφυλλιάς	
Μέρα 1 <sup>η</sup>	Μετά την κοπή των βλαστών σε δίσκους, αυτοί τοποθετούνται ανάποδα σε ουδέτερο υπόστρωμα ριζοβολίας (χωρίς αυξίνη) για 24 ώρες στο σκοτάδι.
Μέρα 2 <sup>η</sup>	Οι δίσκοι μεταφέρονται σε υπόστρωμα που περιέχει αυξίνη για άλλες 24 ώρες, στο σκοτάδι.
Μέρα 3 <sup>η</sup>	Μεταφορά των δίσκων σε ουδέτερο υπόστρωμα και τοποθέτηση στο φως για 13 μέρες.
Μέρα 15 <sup>η</sup>	Μέτρηση των ριζών που εκπύχθηκαν ανά δίσκο ιστού.

Στα πρώτα πειράματα εξετάσαμε επίσης τον τρόπο με τον οποίο η κατεύθυνση του φωτός επηρεάζει τον καθορισμό της ιδανικής συγκέντρωσης της αυξίνης και την έκπτυξη των ριζών (ποικιλίες Tineke, Rommy και E004).

Για 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις IBA (IBA potassium salt – 0, 1, 3.2, 10 και 32  $\mu\text{M}$ ) εξετάστηκαν δύο κατευθύνσεις φωτός: Α (πλαϊνός φωτισμός – τοποθέτηση των τριβλίων σε στήλες) και Β (κάθετος φωτισμός – τοποθέτηση των τριβλίων το ένα δίπλα στο άλλο). Μετά την σύγκριση των δύο αυτών κατευθύνσεων του φωτός αποδείχθηκε ότι όταν τα τριβλία είναι στοιβαγμένα σε στήλες και φωτίζονται από το πλάι η έκπτυξη των ριζών είναι γρηγορότερη, η συγκέντρωση της υγρασίας σε κάθε τριβλίο λιγότερη και ο απαιτούμενος χώρος για το πείραμα μικρότερος. Στα υπόλοιπα πειράματα επομένως τα τριβλία θα στοιβάζονται σε στήλες.

Ο σκοπός του πειράματος που ακολούθησε ήταν να βρεθεί αν υπάρχει διαφορά στη ριζοβολία μεταξύ διαφορετικών βλαστών σε μια ποικιλία και αν η έκπτυξη των ριζών είναι εξαρτώμενη από το μήκος του βλαστού. Χρησιμοποιήθηκαν οι ποικιλίες Only Love και E006. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η ίδια με τα προηγούμενα πειράματα (εικ.Β3 + πίνακας Β). Η συγκέντρωση της αυξίνης ήταν 3.2  $\mu\text{M}$  (IBA), καθώς στα προηγούμενα πειράματα αυτή η συγκέντρωση έδειχνε να είναι η ιδανική.

Σε κάθε τριβλίο τοποθετούνταν δίσκοι ιστού από ένα βλαστό μόνο και χρησιμοποιούνταν όλοι. Η τοποθέτησή τους στο υπόστρωμα έγινε με την σειρά, ξεκινώντας από αυτούς που προέρχονταν από την κορυφή του βλαστού και καταλήγοντας σε αυτούς της βάσης. Μετά την πάροδο 15 ημερών μετρήθηκαν οι ρίζες ανά δίσκο και συγκρίθηκαν οι μέσοι όροι ριζών ανά δίσκο από κάθε βλαστό.

Κατά την διάρκεια των τελευταίων πειραμάτων δημιουργήθηκε η απορία αν η ηλικία του ιστού έχει επίδραση στον καθορισμό της ιδανικής συγκέντρωσης της αυξίνης και στην ριζοβολία. Γι' αυτόν τον λόγο, ιστός της ποικιλίας E006 χωρίστηκε σε τρεις παρτίδες της ίδιας ηλικίας, ποιότητας και ποσότητας. Κάθε μία από τις 3 παρτίδες χρησιμοποιήθηκε σε πείραμα



ριζοβολίας με διαφορά 7 ημερών μεταξύ τους. Σας αποτέλεσμα καταφέραμε να έχουμε 3 διαφορετικές ποικιλίες του ίδιου ιστού στο ίδιο πείραμα.

Οι δίσκοι ιστού προετοιμάστηκαν και τοποθετήθηκαν στο υπόστρωμα σύμφωνα με το γενικό πλάνο (πίνακας Β) και εξετάστηκαν 5 συγκεντρώσεις IBA (0, 1, 3.2, 10 και 32  $\mu\text{M}$ ). Το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε και στα 3 πειράματα προετοιμάστηκε όλο μαζί, όπως και τα διαλύματα της αυξίνης, για να εξασφαλιστεί το γεγονός ότι ο μόνος παράγοντας που θα μεταβαλλόταν μεταξύ των 3 πειραμάτων θα ήταν η ηλικία του ιστού.

## Αποτελέσματα

Η ιδανική συγκέντρωση ήταν αυτή στην οποία παρατηρήθηκε ο μεγαλύτερος μέσος όρος ριζών ανά δίσκο ιστού. Από τις 5 συγκεντρώσεις αυξίνης που εξετάστηκαν, σε όλες τις ποικιλίες η ιδανική ήταν κοντά στο 3.2  $\mu\text{M}$  (γράφημα I).

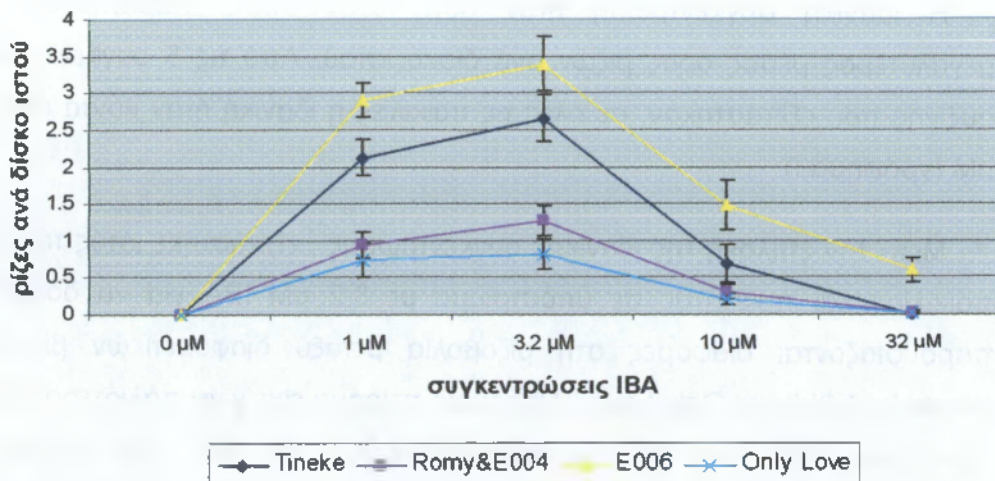
Μετά την επιλογή της ιδανικής συγκέντρωσης, εξετάστηκε ιστός της ίδιας ποικιλίας και ποιότητας σε υπόστρωμα με 3.2  $\mu\text{M}$  IBA για να δούμε αν παρουσιάζονται διαφορές στη ριζοβολία μεταξύ διαφορετικών βλαστών (ποικιλίες E006 και Only Love). Παρόμοιο πείραμα είχε γίνει παλιότερα και για την μηλιά. Μια ανάλυση μικροπαράταξης και στα δύο είδη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εκτιμηθεί η χρησιμότητα του συστήματος της μικροπαράταξης της μηλιάς στον ιστό της τριανταφυλλιάς. Τα αποτελέσματα του πειράματος φαίνονται στα γραφήματα II και III.

Αρχικά επικρατούσε η άποψη ότι η διαφορά στη ριζοβολία είχε σχέση με τα διαφορετικά μήκη των βλαστών. Έτσι συγκρίναμε το μέσο όρο των ριζών ανά δίσκο ιστού για κάθε βλαστό σε σχέση με το μήκος του. Η σχέση μεταξύ του μήκους του κάθε βλαστού και του αριθμού των ριζών ανά δίσκο ιστού από αυτόν τον βλαστό παρουσιάζεται στο γράφημα IV.

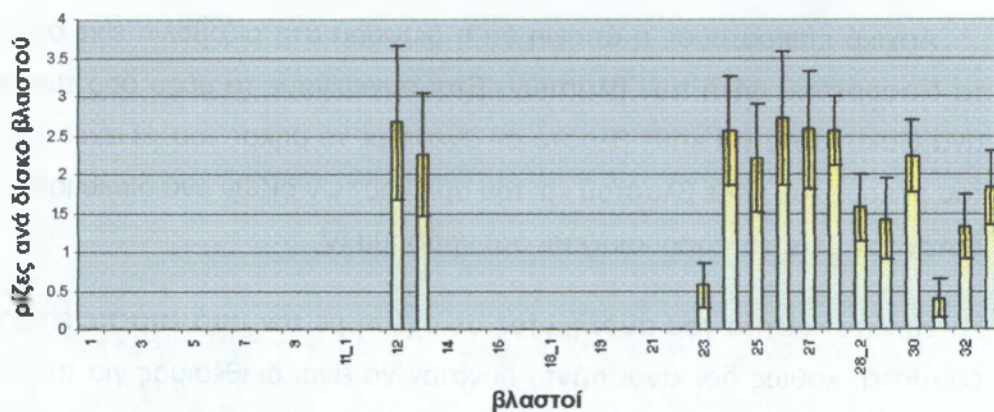
Η ελαστικότητα του συστήματος σε σχέση με τον ιστό έπρεπε επίσης να εξεταστεί, καθώς δεν είναι πάντα δυνατόν να είναι διαθέσιμος για πειράματα ιστός μιας συγκεκριμένης ηλικίας. Έτσι μια παρτίδα της ποικιλίας E006 διαιρέθηκε τυχαία σε τρεις ισοδύναμες ομάδες. Κάθε μία από τις τρεις αυτές ομάδες χρησιμοποιήθηκε με διαφορά μιας εβδομάδας από την προηγούμενη. Τα αποτελέσματα ήταν θετικά και η ηλικία δεν φαίνεται να έχει κάποια επίδραση στον καθορισμό της ιδανικής συγκέντρωσης αυξίνης στο υπόστρωμα, αφού για όλες τις ηλικίες ιστού (9, 10 και 11 εβδομάδων) αυτή ήταν η ίδια (γράφημα V).



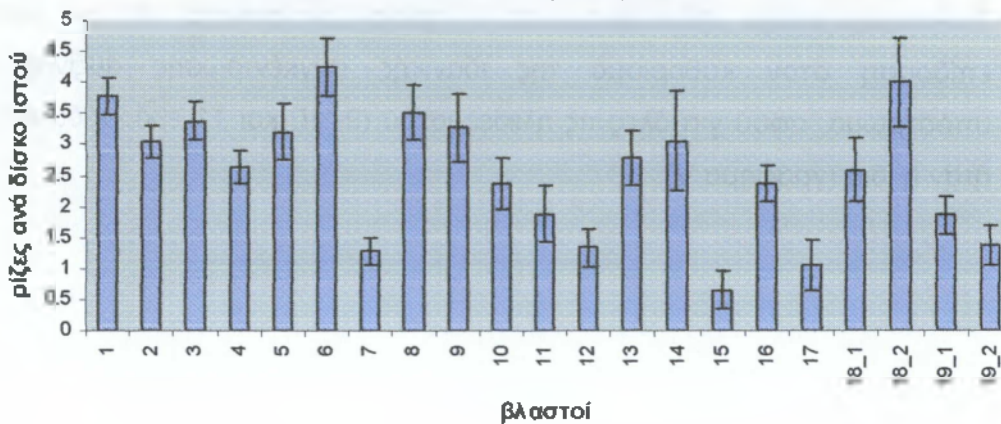
**ΓΡΑΦΗΜΑ I:** Από τις 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις που εξετάστηκαν, ως ιδανική ορίστηκε η 3.2μM αφού σε αυτή παρατηρήθηκε ο μεγαλύτερος αριθμός ριζών.



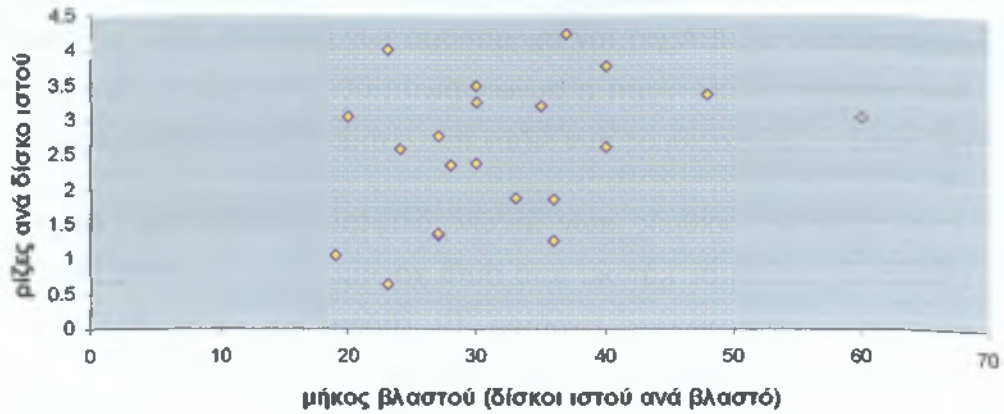
**ΓΡΑΦΗΜΑ II:** Διαφορά στην έκπτυξη ριζών μεταξύ ιστών που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα μικροπαράταξης



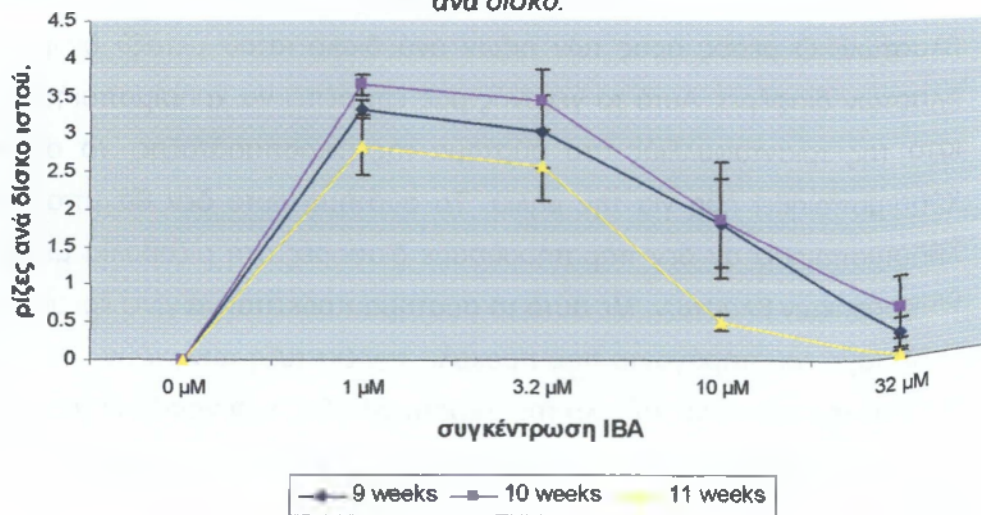
**ΓΡΑΦΗΜΑ III:** Διαφορές στον αριθμό των ριζών ανά δίσκο μεταξύ διαφορετικών βλαστών. Σε κάθε τριβλίο υπήρχαν δίσκοι ιστού από έναν μόνο βλαστό.



**ΓΡΑΦΗΜΑ IV:** Συσχετισμός του μήκους του βλαστού με τον αριθμό των ριζών ανά δίσκο ιστού.



**ΓΡΑΦΗΜΑ V:** Η ηλικία του ιστού δεν φαίνεται να επηρεάζει τον καθορισμό της ιδανικής συγκέντρωσης της αυξίνης, η οποία δείχνει να είναι η ίδια για όλες τις ηλικίες. Επιπλέον, ο ιστός ηλικίας 10 εβδομάδων έχει μεγαλύτερη έκπτυξη ριζών ανά δίσκο.



## Συμπεράσματα / Συζήτηση

Στο τέλος των πειραμάτων καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι η ιδανική συγκέντρωση του IBA για τον σχηματισμό των ριζών σε ιστό τριανταφυλλιάς είναι περίπου 3.2μM. Αυτή η συγκέντρωση δεν επηρεάζεται από την ηλικία του ιστού αν και ο αριθμός των ριζών που σχηματίζονται επηρεάζεται.

Ο μέγιστος αριθμός των ριζών διαφέρει μεταξύ των πειραμάτων, προφανώς επειδή σε κάποια από αυτά χρησιμοποιήθηκε ιστός μεγαλύτερης ηλικίας. Ο ιστός ηλικίας περίπου 10 εβδομάδων (από την ημέρα του μικροπολλαπλασιασμού του) σχηματίζει τον μεγαλύτερο αριθμό ριζών στις περισσότερες των περιπτώσεων. Παρόλα αυτά, η ιδανική συγκέντρωση της αυξίνης στο υπόστρωμα παραμένει η ίδια, όποια και να είναι η ηλικία του ιστού, το οποίο γεγονός μας δίνει την δυνατότητα να είμαστε πιο ευέλικτοι στην επιλογή του ιστού.

Επιπλέον βρέθηκε ότι υπάρχουν διαφορές στην ριζοβολία μεταξύ των βλαστών. Ο μέσος όρος των ριζών ανά δίσκο ιστού μεταξύ διαφορετικών βλαστών διαφέρει. Αυτό το γεγονός μας επιτρέπει να χρησιμοποιήσουμε τον ιστό της τριανταφυλλιάς στο σύστημα της μικροπαράταξης, το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί ήδη για την μηλιά. Το σύστημα αυτό δεν θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί αν δεν παρατηρούσαμε διαφορές στη ριζοβολία μεταξύ των διαφορετικών βλαστών. Με αυτό το σύστημα πρόκειται να γίνει έρευνα για τον εντοπισμό του παράγοντα που προκαλεί την έκπτυξη των ριζών. Αυτό μπορεί να γίνει συγκρίνοντας τα φιλμ της μικροπαράταξης των γονιδίων μεταξύ ιστών που έχουν εκπύξει ρίζες και ιστών που δεν σχημάτισαν ρίζες ή σχημάτισαν πολύ λίγες.

---

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Davies P.I. (1987). Plant Hormones and their role in plant growth and development, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Fox I. Eugene, Jacobs Mark (1987). Molecular Biology of Plant Growth Control, Alan R. Liss Inc., USA.
- Kenneth A. Becket (1998). Θερμοκήπια (εγκατάσταση – καλλιέργεια – εχθροί-ασθένειες – παθήσεις), εκδόσεις Ψύχαλου, Αθήνα.
- Kodde Jan, Zorba Kyriaki (2003). The effect of auxin on plant development and gene expression, Plant Research International, Wageningen, The Netherlands.
- Overbeek van, J., Conklin M.E., Blakeslee A.F. (1941). Factors in coconut milk essential for growth and development of very young *Datura* embryos. *Science*, 94: 350-351.
- Paleg, L.G. (1965). Physiological effects of gibberellins. *Ann. Rev. Plant Physiology*, 16: 291-322.
- Pierik R.L.M. (1987). In vitro Culture of Higher Plants, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Salisbury B. Frank, Ross W. Cleon (1992). Plant Physiology, 4<sup>th</sup> edition, Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, USA.
- Vanderhoef, L.V. (1980). Auxin – regulated elongation: a summary hypothesis, pp.90-96, In Skoog,F. (Edt). Plant growth substances 1979. Proc. 10<sup>th</sup> Int. Conf. on Plant Growth Substances, Madison, Wisconsin, July 22-26, 1979. Springer – Verlag.
- Αγνώστου, Botany on line – Phytormones and other P.G.R.s  
([www.biology.uni-hamburg.de/b-online/](http://www.biology.uni-hamburg.de/b-online/))
- Αγνώστου, Αύξηση-Διαφοροποίηση-Ανάπτυξη  
([\)](http://alexandra.di.uoa.gr/Dienst/Repository/2_0/Body/uoa.sci.biology/BIOUOA-2k0008/pdf.)
- Αγνώστου, Επεξεργασία Μοσχευμάτων  
(<http://daedalus.math.uoi.gr/agrotica/anthokomia/anth/kef/5/535.htm>)



- Βογιατζής Δημήτριος, Κουκουρίκου – Πετρίδου Μαγδαληνή (2004). Βιολογία Οπωροκηπευτικών Φυτών II – η φυσιολογία της ανάπτυξης, εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.
- Γκαγκνή Ασπασία, Ζαρμπούτης Γιάννης (1992). Καλλιέργειες σε θερμοκήπιο, εκδόσεις ΙΩΝ, Αθήνα.
- Καραμπέτσος Ιωάννης (1996). Βοτανική Ι, Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας.
- Καραμπέτσος Ιωάννης (1999). Φυσιολογία Φυτών, Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας.
- Κίντζιος Σ.Ε. (1994). Επιχειρηματική Ιστοκαλλιέργεια, εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα – Πειραιάς.
- Πασπάτης Ευάγγελος (1998). Εφαρμογές φυτορρυθμιστικών ουσιών στο αμπέλι, Γεωργία – Κτηνοτροφία 10: 112-116
- Πασπάτης Ευάγγελος (1998). Φυτορρυθμιστικές ουσίες (Φυτορμόνες), Αγρότυπος, Αθήνα.
- Ποντίκης Κωνσταντίνος (1994). Πολλαπλασιασμός καρποφόρων δέντρων και θάμνων, εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα – Πειραιάς.
- Χατζόπουλος Πολυδεύκης (2001). Βιοτεχνολογία Φυτών, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, εκδόσεις Έμβρυο.