

**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ**  
**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ**  
**ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ**

**ΜΙΚΡΟΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ *Erica manipuliflora***



Εικόνα 1 (πηγή Διαδίκτυο 1)

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ: ΣΑΜΙΩΤΗ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ**

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ, ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ**

**2017**

**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ**  
**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ**  
**ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ**  
**ΜΙΚΡΟΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΣΤΟ ΕΙΔΟΣ *Erica manipuliflora***

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ: ΣΑΜΙΩΤΗ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ**  
**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΚΑΡΤΣΩΝΑΣ ΕΠΑΜΕΙΝΩΝΔΑΣ**

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ, ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ**

**2017**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

*Ευχαριστώ πολύ τον κύριο Κάρτσωνα Επαμεινώνδα , καθηγητή και επιβλέποντα μου στην πτυχιακή εργασία μου για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή του . Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και ιδιαιτέρως την μητέρα μου για την στήριξη τους .*

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πτυχιακή αυτή εργασία διεξήχθη στο εργαστήριο ιστοκαλλιέργειας του ΤΕΙ Πελοποννήσου. Είχε ως στόχο να βρεθεί η κατάλληλη εποχή λήψης εκφύτων από ενήλικα φυτά του αυτοφυούς είδους *Erica manipuliflora*, καθώς και η επιτυχής μέθοδος απολύμανσης ώστε να μειωθούν οι μολύνσεις των εκφύτων και να αυξηθεί το ποσοστό επιβίωσής τους

## Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ.....	6
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	6
1.1. Ιστοκαλλιέργεια .....	6
1.1.1 Τύποι καλλιέργειας.....	7
1.1.2. Πλεονεκτήματα ιστοκαλλιέργειας.....	9
1.1.3. Μειονεκτήματα ιστοκαλλιέργειας.....	9
1.1.4.Προβλήματα ιστοκαλλιέργειας.....	9
1.2Βοτανικά χαρακτηριστικά της τάξη Ericales (Biocornes).....	11
1.3Βοτανικά χαρακτηριστικά της οικογένειας Ericaceae.....	12
1.4 Βοτανικά χαρακτηριστικά του γένους Erica .....	13
1.5. <i>Erica manipuliflora</i> .....	14
1.6. <i>Erica arborea</i> .....	16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ .....	17
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	17
2.1 ΥΛΙΚΑ.....	17
2.2 ΜΕΘΟΔΟΙ.....	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ.....	27
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ .....	31
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	31
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ .....	33
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	33
ΒΙΒΛΙΑ – ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ.....	33
ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ .....	33

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

### 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

#### 1.1. Ιστοκαλλιέργεια

Η ιστοκαλλιέργεια ή in-vitro καλλιέργεια φυτικών ιστών είναι μια τεχνική με την οποία επιτυγχάνεται η αύξηση φυτικών κυττάρων έξω από το γονικό φυτό και είναι μια μέθοδος αγενούς πολλαπλασιασμού. Βασίζεται στην ολοδυναμικότητα του κυττάρου , την ικανότητα δηλαδή να αναγεννά το φυτό από το οποίο προήλθε. Η ιστοκαλλιέργεια είναι ουσιαστικά η καλλιέργεια οποιοδήποτε μέρους του φυτού το οποίο υπό κατάλληλους χειρισμούς και υπό κατάλληλες συνθήκες μπορεί να αναπαραγάγει το μητρικό φυτό. Η καλλιέργεια αυτή μπορεί να παραμείνει για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα ως μια μάζα μη διαφοροποιημένων κυττάρων ή μπορεί να ακολουθήσει αναγέννηση ολόκληρων φυτών. Διεξάγεται κάτω από τελείως ελεγχόμενες συνθήκες. Για το λόγο αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί σε οποιαδήποτε περιοχή του κόσμου, οποιαδήποτε εποχή του χρόνου. Το τμήμα του φυτού που καλλιεργείται ονομάζεται έκφυτο (explant), και μπορεί να είναι οφθαλμός , φύλλο , κόμβος , επικοτύλιο , ρίζα , κύτταρο , πρωτοπλάστης , γυρεόκοκκος. Τα θρεπτικά υποστρώματα , αποτελούν την πηγή που θα εφοδιάσει τον καλλιεργούμενο ιστό με τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία και πολύ συχνά περιέχουν διάφορους ρυθμιστές ανάπτυξης. Οι ρυθμιστές ανάπτυξης (ορμόνες) υποβοηθούν τόσο τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων όσο και τις διαδικασίες ριζοβολίας και βλαστογένεσης. (Ιωάννης Ν. Ξυνιάς(2003), <http://www.aua.gr/roussos/Roussos/pdf/Lab%20Excs/Lab%20Propag%20Lectures%20vF07.pdf> )

### 1.1.1 Τύποι καλλιέργειας

Οι καλλιέργειες συνήθως ξεκινούν από αποστειρωμένα τμήματα ολόκληρων φυτών (έκφυτα) και είναι δυνατό να αποτελούνται από τμήματα οργάνων (π.χ. φύλλα και ρίζες). Επίσης μπορεί να είναι ειδικοί τύποι κυττάρων ( γύρη ή ενδοσπέρμιο). Πολλά από τα γνωρίσματα του εκφύτου είναι δυνατό να επηρεάζουν την ικανότητα έναρξης της καλλιέργειας. Γενικά, οι νεαροί, πιο γρήγορα αναπτυσσόμενοι ιστοί (ή ιστοί που βρίσκονται σε αρχικό στάδιο ανάπτυξης) είναι οι καλύτερα ανταποκρινόμενοι. (Ιωάννης Ν. Ξυνιάς(2003)

1. Καλλιέργεια κάλων (Callus culture) : Η ανοργάνωτη και αδιαφοροποίητη μάζα φυτικών κυττάρων ορίζεται ως κάλος. Όταν τα φυτικά κύτταρα καλλιεργούνται σε ένα κατάλληλο μέσο, διαιρούνται για να σχηματίσουν κάλους δηλαδή μία μάζα παρεγχυματικών κυττάρων. Περιλαμβάνει την καλλιέργεια διαφοροποιημένου ιστού από έκφυτο το οποίο διαφοροποιείται *in vitro* για να σχηματίσει κάλους.

2. Καλλιέργεια αιωρημάτων κυττάρων (cell suspension cultures)

3. Καλλιέργεια πρωτοπλαστών (Protoplast culture)

<http://www.biologydiscussion.com/plants/plant-tissue-culture/plant-tissue-culture-benefit-structure-types-and-techniques/10632>

4. Καλλιέργεια ριζών

5. Καλλιέργεια άκρων βλαστών και μεριστωμάτων

6. Εμβρυοκαλλιέργεια (Embryo culture)

7. Καλλιέργεια μικροσπορίων (Ιωάννης Ν. Ξυνιάς(2003)

Ο Murashige ήταν αυτός που όχι μόνο σύνθεσε το κυριότερο υπόστρωμα ιστοκαλλιέργειας μέχρι σήμερα (μαζί με τον Skoog, το MS) αλλά και που καθόρισε ουσιαστικά τα στάδια της *in vitro* καλλιέργειας των φυτών. Σύμφωνα λοιπόν με τον Murashige **τα στάδια της ιστοκαλλιέργειας** είναι τα ακόλουθα:

**Στάδιο 0 - Στάδιο εγκατάστασης** : κατά το στάδιο αυτό , μετά τη επιλογή του φυτού που θα πολλαπλασιάσουμε *in vitro* και το είδος του εκφύτου που θα καλλιεργήσουμε , ακολουθεί η κοπή των εκφύτων, η

απολύμανση αυτών και η φύτευσή τους *in vitro* σε υπόστρωμα ιστοκαλλιέργειας , ώστε να εγκαταστήσουμε το φυτικό είδος σε *in vitro* συνθήκες. Τα πιθανά προβλήματα που συναντάμε στο στάδιο αυτό είναι η ανεπιτυχής απολύμανση του εκφύτου. Λόγω του ότι το υπόστρωμα της ιστοκαλλιέργειας είναι πλούσιο σε σάκχαρα και άλλα οργανικά υλικά (αμινοξέα , βιταμίνες), αναπτύσσονται σε αυτό πολλοί μικροοργανισμοί, οι οποίοι μεγαλώνουν εις βάρος των εκφύτων και πολλές φορές τα καταστρέφουν. Κυριότερο απολυμαντικό με ευρεία χρήση έχει αποδειχθεί το υποχλωριώδες νάτριο. Ένα άλλο πρόβλημα που συχνά συναντάμε είναι η νέκρωση των εκφύτων, από την υψηλή συγκέντρωση του απολυμαντικού ή την πολύ δραστική απολύμανση. Σε αυτήν την περίπτωση πρέπει να γίνουν διάφορες δοκιμές ώστε να επιτύχουμε την καλύτερη απολύμανση με το μικρότερο ποσοστό ζημίας στα έκφυτα. Στο στάδιο της εγκατάστασης συνήθως τα έκφυτα παραμένουν για 4 εβδομάδες , προτού μεταφυτευθούν - μεταφερθούν στο επόμενο στάδιο.

**Στάδιο I - Στάδιο βλαστογένεσης** : στόχος του σταδίου αυτού είναι η παραγωγή όσο το δυνατόν περισσότερων βλαστών. Στο στάδιο αυτό ανάλογα με το είδος , τα έκφυτα παραμένουν συνήθως από 4-8 εβδομάδες.

**Στάδιο II - Στάδιο ριζοβολίας** : πραγματοποιείται η ριζοβολία των βλαστών που παρήχθησαν κατά το προηγούμενο στάδιο. Στο στάδιο αυτό τα έκφυτα παραμένουν για περίπου 4-6 εβδομάδες , ανάλογα με το είδος και την ευκολία με την οποία ριζοβολεί.

**Στάδιο III - Στάδιο εγκλιματισμού – σκληραγώγησης** : στο στάδιο αυτό μεταφέρονται τα έρριζα έκφυτα σε συνθήκες *ex vitro*. Αυτό το στάδιο είναι καθοριστικό , αφού η επιτυχία της ιστοκαλλιέργειας ολοκληρώνεται με την επιτυχία αυτού του σταδίου. Ο εγκλιματισμός των εκφύτων γίνεται σταδιακά και συνήθως σε μονάδες υδρονέφωσης.

<http://www.aua.gr/roussos/Roussos/pdf/Lab%20Excs/Lab%20Propag%20Lectures%20vF07.pdf>



### 1.1.2. Πλεονεκτήματα ιστοκαλλιέργειας

1. Ταχεία παραγωγή κλωνικών υποκειμένων.
2. Παραγωγή φυτών απαλλαγμένων από παθογόνους μικροοργανισμούς.
3. Διατήρηση γενετικού υλικού σε περιορισμένο χώρο.
4. Μείωση του χώρου που απαιτείται για τη διατήρηση του πολλαπλασιαστικού υλικού.
5. Συνεχείς παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. (Dr. Αλέξανδρος Παπαχατζής Dr. Ελένη Καλορίζου)
6. Αναγέννηση ειδών οποιουδήποτε φυτού στο εργαστήριο.  
<http://www.biologydiscussion.com/plants/plant-tissue-culture/plant-tissue-culture-benefit-structure-types-and-techniques/10632>

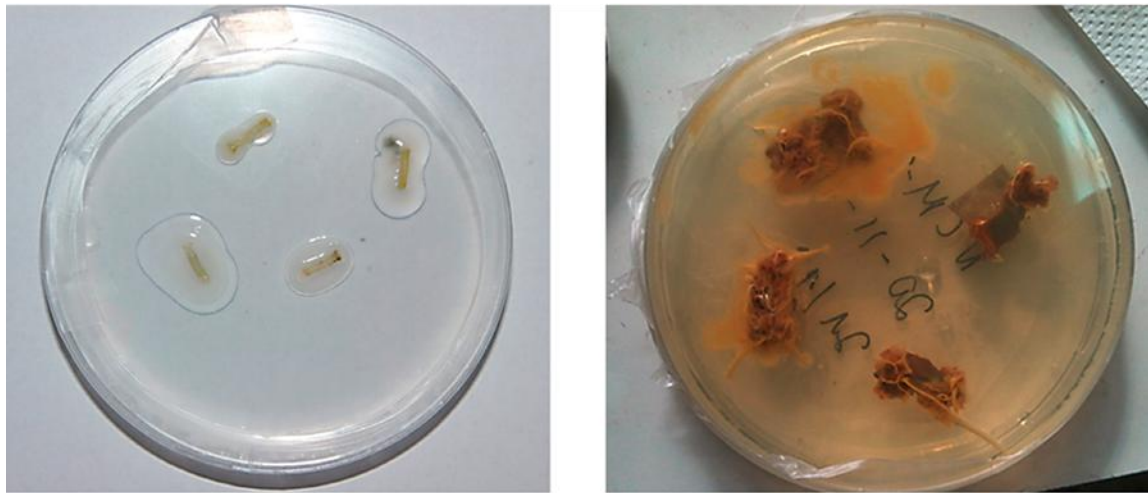
### 1.1.3. Μειονεκτήματα ιστοκαλλιέργειας

2. Μεγάλες απαιτήσεις σε εργαστηριακό εξοπλισμό , ειδικευμένο προσωπικό και τεχνικές.
3. Υψηλό κόστος παραγωγής.
4. Μεγάλες απώλειες σε σύντομο χρονικό διάστημα από μολύνσεις.
5. Αστάθεια στην παραγωγή ομοιόμορφων φυτών λόγω μεταλλάξεων. (Dr. Αλέξανδρος Παπαχατζής Dr. Ελένη Καλορίζου)

### 1.1.4. Προβλήματα ιστοκαλλιέργειας

#### i. ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΠΡΩΤΟ: ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

Η μόλυνση των καλλιεργειών από μικροοργανισμούς αποτελεί το σημαντικότερο πρόβλημα κάθε ιστοκαλλιεργητικής διαδικασίας (Εικ. 2) και μπορεί να οδηγήσει ακόμα και σε ολοκληρωτική απώλεια της παραγωγής (Cassells, 1997).



(A) (B)  
 Εικόνα 2. Παράδειγμα μόλυνσης ιστοκαλλιέργειας από βακτήρια (A) Μόλυνση σε υπόστρωμα που προκλήθηκε κατά την έγχυση (διακρίνεται η βακτηριακή άλως γύρω από κάθε έκφυτο) (B) Μόλυνση με πηγή το έκφυτο που προκλήθηκε κατά την εμφύτευση (πηγή Διαδίκτυο Κίντζιος (2015) )

Αν και υπάρχουν πάρα πολλά είδη μικροοργανισμών που μπορούν να επιμολύνουν φυτικές *in vitro* καλλιέργειες , οι κυριότερες κατηγορίες αφορούν βακτήρια και μύκητες. Ένα επιπρόσθετο , δυσεπίλυτο πρόβλημα αποτελούν οι μολύνσεις που οφείλονται σε ενδοφυτικούς μικροοργανισμούς.

## ii. ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΔΕΥΤΕΡΟ: ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΚΑΙ ΚΑΣΤΑΝΩΣΗ ΙΣΤΩΝ

Η διαδικασία της ιστοκαλλιέργειας προκαλεί σημαντική καταπόνηση στους καλλιεργούμενους *in vitro* φυτικούς ιστούς. Ανάλογα με το μέγεθος της καταπόνησης και ως ένα είδος αντίδρασης σε αυτήν οι φυτικοί ιστοί συσσωρεύουν οξειδωμένα συστατικά , κυρίως πολυφαινολικής προέλευσης , τα οποία σε υψηλή συγκέντρωση μπορούν να έχουν τοξική επίδραση στα φυτικά κύτταρα. Παράλληλα, μπορούν να δώσουν ένα σκούρο («καστανό») χρώμα τόσο στις κυτταρικές καλλιέργειες όσο και το θρεπτικό υπόστρωμα , χωρίς αυτό να συνδέεται απαραίτητα με τοξικές επιπτώσεις.

## iii. ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΤΡΙΤΟ: ΥΑΛΟΠΟΙΗΣΗ

Η **υαλοποίηση (vitrification)** είναι ένα φαινόμενο κατά το οποίο τα αναγεννημένα *in vitro* φυτά εμφανίζουν ελλιπή διαμόρφωση της δομής τους ,

ιδιαίτερα όσον αφορά το κυτταρικό τοίχωμα και τα πλαστίδια. Σε ακραίο βαθμό η υαλοποίηση μπορεί να δώσει στους φυτικούς ιστούς σχεδόν διάφανη εμφάνιση (σαν να είναι από γυαλί, εξού και η ονομασία του φαινομένου). Η υαλοποίηση σχετίζεται άμεσα με προβλήματα στον εγκλιματισμό των φυτών.

#### iv. ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΤΕΤΑΡΤΟ: ΑΤΕΛΗΣ ΕΓΚΛΙΜΑΤΙΣΜΟΣ

Ο **εγκλιματισμός (acclimatization)** ή **σκληραγώγηση (weaning)** αποτελεί το τελικό στάδιο πριν την οριστική έξοδο ενός αναγεννημένου φυτού από τη διαδικασία του μικροπολλαπλασιασμού. Με τον τρόπο αυτό τα φυτάρια μπορούν να προσαρμοστούν επιτυχώς στις συνθήκες του περιβάλλοντος έξω από το προστατευτικό πλαίσιο της ιστοκαλλιέργειας (Kozai et al. 2005). Ωστόσο, αν δεν έχουν εγκλιματιστεί επαρκώς, θα υποστούν σημαντικές καταπονήσεις που θα οδηγήσουν σε μείωση της ποιότητάς τους , ακόμα και τον θάνατό τους.

#### v. ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΠΕΜΠΤΟ: ΣΩΜΑΚΛΩΝΙΚΗ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η **σωμακλωνική παραλλακτικότητα (somaclonal variation)** είναι μια ενδογενής διαδικασία της *in vitro* καλλιέργειας φυτών , η οποία προκαλεί προσωρινές (transient) ή μόνιμες μεταβολές στο γονιδίωμα των μικροπολλαπλασιασμένων φυτών και μάλιστα με συχνότητα πολύ υψηλότερη από αυτήν της τυχαίας μετάλλαξης. Η σωμακλωνική παραλλακτικότητα αποτελεί πρόβλημα από την άποψη ότι μειώνει τον βαθμό ομοιομορφίας των αναγεννημένων φυτών καθώς και την πιστή αναπαραγωγή (true-to-type) του μητρικού φυτού. Ωστόσο μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο στη βελτίωση των φυτών για τη δημιουργία νέων γονοτύπων σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα. (Κίντζιος Σπυρίδων (2015) )

### 1.2 Βοτανικά χαρακτηριστικά της τάξη **Ericales (Biocornes)**

Η τάξη χαρακτηρίζεται από το σύγκαρπο γυναικείο από τα 4-5 καρπόφυλλα , που φέρει πολυάριθμες , μονοχίτωνες , σπερμοβλάστες. Περιλαμβάνει συνήθως αειθαλείς θάμνους ή θαμνίσκους , με μυκορρίζια.

Άνθη αρρενοθήλα, ακτινόμορφα, σπάνια ελαφρά ζυγόμορφα , 5 μερή ή 4 μερή , με πέταλα ενωμένα ή σπάνια ελαφρά ελεύθερα. Στήμονες ελεύθεροι, σε δύο κύκλους (διπλοστήμονα) ή σπάνια σε ένα (απλοστήμονα). Ανθήρες συνήθως με δύο κερατοειδείς εκφύσεις (*Bicornes*- Δίκερα) , που οι θήκες τους ανοίγουν με πόρους. Γυρεόκοκκοι κατά τετράδες. Ωοθήκη επιφυής ως υποφυής, από 4-5 καρπόφυλλα , 4-5 χωρη και με αδιαίρετο στύλο. Μεταξύ των οικογενειών της τάξεως ενδιαφέρον, από δασική άποψη , παρουσιάζουν οι οικογένειες *Pirolaceae* και *Ericaceae* . (Νικολάου ΗΡ. Αθανασιάδη (1985) )

### 1.3 Βοτανικά χαρακτηριστικά της οικογένειας *Ericaceae*

Η οικογένεια περιλαμβάνει θαμνώδη ή ημιθαμνώδη , αειθαλή φυτά , με φύλλα απλά , δερματώδη , καμιά φορά μικρά , λεπιόμορφα ή βελονόμορφα. Άνθη αρρενοθήλα , ακτινόμορφα ή ελαφρά ζυγόμορφα , 4 μερή ή 5 μερή. Σέπαλα ελεύθερα ή συμφυή. Πέταλα ενωμένα , σπάνια ελεύθερα , που σχηματίζουν στεφάνη σωληνοειδή , κωνοειδή ή τριχοειδή. Στήμονες ελεύθεροι , συνήθως διπλάσιοι των πετάλων , με ανθήρες που ανοίγουν με πόρους και φέρουν δύο κερατοειδείς εκφύσεις. Γυρεόκοκκοι σε τετράδες. Ωοθήκη επιφυής ή υποφυής , από 5 καρπόφυλλα. Καρπός κάψα , ράγα ή δρύπη. Περιλαμβάνει συνολικά 96 γένη . Το γένος *Erica* περιλαμβάνει 203 taxa (ταξινομικές βαθμίδες). (Νικολάου ΗΡ. Αθανασιάδη (1985) )

#### Υποοικογένεια :*Ericodeae*

Άνθη 4 μερή. Πέταλα ενωμένα , μετά την απάνθηση ξηρόμορφα , παραμένοντα. Ωοθήκη επιφυής. Ανθήρες που ανοίγουν με ενδοπόρους και συχνά με δύο κερατοειδείς εκφύσεις. Καρπός κάψα , φραγμορραγής η τοιχορραγής. (Νικολάου ΗΡ. Αθανασιάδη (1985) )

Κλείδα ταξινόμησης της οικογένειας *Ericaceae* (Αραμπατζής, 2001).

1 Φύλλα αντίθετα ή σε σπονδύλους. Στεφάνη διαρκής. Καρπός κάψα.

2 Κάλυκας πεταλοειδής, μακρύτερος της στεφάνης. Φύλλα αντίθετα, στενώς πιεσμένα,

αλληλοεπικαλυπτόμενα. 3. **Calluna**

2 Κάλυκας βραχύτερος της στεφάνης. Φύλλα σε σπονδύλους, + - αποκλίνοντα.

3 Σέπαλα συμφυή (σωλήνας του κάλυκα ισομήκης με τους λοβούς).

Άνθη χωρίς

βρακτίδια. 2. *Bruckenthalia*

3 Σέπαλα ελεύθερα. Άνθη με βράκτια. 1. *Erica*

1 Φύλλα εναλλασόμενα. Στεφάνη μη διαρκής. Καρπός ράγα, δρύπη ή κάψα.

4 Ωοθήκη υποφυής. 7. *Vaccinium*

4 Ωοθήκη επιφυής.

5 Καρπός ράγα, δρύπη ή κάψα περιβαλλόμενη από σαρκώδη κάλυκα.

Στεφάνη σταμνόμορφη.

6 Δέντρα ή όρθιοι θάμνοι. 5. *Arbutus*

6 Κατοκλινείς θάμνοι. 6. *Arctostaphylos*

5 Καρπός κάψα. Κάλυκας μη σαρκώδης. Στεφάνη διαφορετική, με πέταλα συμφυή στα βάση τους. 4. *Rhododendron*

#### 1.4 Βοτανικά χαρακτηριστικά του γένους **Erica**

Περιλαμβάνει νανώδεις έως μέτριου ύψους αειθαλείς θάμνους σπάνια δέντρα , με φύλλα βελονόμορφα , μικρά , συνήθως σε σπονδύλους. Άνθη μοναχικά ή πολλά μαζί σε βότρες ή φόβες. Κάλυκας 4 μερής , χωρισμένος σχεδόν μέχρι τη βάση. Στεφάνη κουδουνόμορφη , σφαιρόμορφη , σωληνόμορφη ή κυλινδρική , συνήθως μακρύτερη από τον κάλυκα , με τετρασχιδή παρυφή , παραμένει μετά την απάνθηση. Στήμονες 8 , σπάνια 6-7 ή 10. Ανθήρες με ή χωρίς εκφύσεις. Καρπός κάψα, πολύσπερμη, που ανοίγει με τέσσερις γλωχίνες. Το γένος περιλαμβάνει περίπου 600 είδη , σχεδόν όλα της Ν.Αφρικής , ελάχιστα της Ευρώπη (16) και 4 της χώρας μας , τα : *Erica arborea* (ρείκι) , *E. Manipuliflora* (σουσούρα) *E. multiflora* και *E. herbacea* . Τα είδη *E. Arborea* και *E. Manipuliflora* είναι θάμνοι κοινοί στην ευμεσογειακή ζώνη βλάστησης, ιδιαίτερα σε σταθμούς με όξινα εδάφη. Η *E. Carnea* απαντά σε μικρό αριθμό θέσεων μεταξύ 1.200-1.900 m στη βόρεια Πίνδο. Η *E.*

*Multiflora* έχει καταγραφεί σε νησιά του Ιονίου πελάγους. (Νικολάου ΗΡ. Αθανασιάδη (1986) , Κορακάκης Γεώργιος )

### **1.5. *Erica manipuliflora***

Θάμνος που ανθίζει στα τέλη του καλοκαιριού έως το φθινόπωρο. Φτάνει σε ύψος 1m. Μπορεί να αναπτυχθεί σε περιοχές κοντά σε θάλασσα έως και 2000m , σε βραχώδη και αμμώδη εδάφη. Αντέχει στην παγωνιά , θέλει ήλιο και καλά αποστραγγισμένα εδάφη , καθώς όξινα ή ουδέτερα εδάφη.( όπως και το *E. Arborea* ). Δεν ευδοκίμει σε αλκαλικά εδάφη. Τα άνθη γενικά είναι χρώμα ροζ ή μωβ (Εικ. 2) και σπανιότερα λευκά( αναπτύσσεται σε μεγάλο υψόμετρο (<https://www.heathersociety.org/category/heathers/erica-hardy/>) ) Για τον πολλαπλασιασμό του γίνεται συλλογή σπόρου και μοσχευμάτων κατά τα τέλη καλοκαιριού.( [http://www.west-kreta.de/flowers/erica\\_manipuliflora.htm](http://www.west-kreta.de/flowers/erica_manipuliflora.htm) , <http://www.fethiyetimes.com/expat-zone/ft-gardening-club/5883-plant-of-the-month-heathers-erica-manipuliflora-a-erica-arborea.html>)



Εικόνα 3 .Ανθισμένο φυτό του είδους *Erica manipuliflora* (πηγή Παναγοπούλου Φωτεινή 2007)

## 1.6. *Erica arborea*



Εικόνα 4 .Ανθισμένο φυτό του είδους *Erica arborea* (πηγή [διαδύκιο 2](#))

Αειθαλής θάμνος ή μικρό δέντρο ύψους ως 7 μ. , με ραβδόμορφα , όρθια κλαδιά , με πυκνούς λευκούς τριχωτούς κλαδίσκους .Φύλλα μήκους 3-5 χιλ. . Καρπός κάψα. Ανθίζει την Άνοιξη τους μήνες Μάρτιο – Απρίλιο . Προτιμά εδάφη μέτρια υγρά , αμμώδη ή αμμοαργιλώδη . Αντέχει σε θερμοκρασίες έως – 12 ° C . Συναντάται κυρίως στην Αφρική και στην Ευρώπη . (Νικολάου ΗΡ. Αθανασιάδη (1986) , [http://en.hortipedia.com/wiki/Erica\\_arborea](http://en.hortipedia.com/wiki/Erica_arborea) ) .



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

### 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 2.1 ΥΛΙΚΑ

##### Απαραίτητα υλικά, συσκευές και όργανα

Για την παρασκευή υποστρωμάτων είναι απαραίτητα τα παρακάτω όργανα :

- a) Συσκευή υγρής αποστείρωσης (αυτόκαστο)



Εικόνα 5 . κλίβανος υγρής αποστείρωσης



Εικόνα 6 . τράπεζα νηματικής ροής

b) Θερμαινόμενος μαγνητικός αναδευτήρας



Εικόνα 7 .θερμαινόμενος αναδευτήρας

c) Μετρητής οξύτητας υποστρώματος



Εικόνα 8 .Πεχάμετρο

d) Ζυγός ακριβείας με τέσσερα δεκαδικά



Εικόνα 9 .Ζυγός ακρίβειας εργαστηριακός

e) Θάλαμος ανάπτυξης φυτών



f) Εικόνα 10 . Θάλαμος ανάπτυξης φυτών με φωτοπερίοδο 16h

g) Ανατομικά μαχαιρίδια και λαβίδες



Εικόνα 11 . λαβίδα συγκράτησης εκφύτων

h) Τρυβλία Petri, κωνικές φιάλες

i) Πιπέτα ακριβείας

j) Υδροβολείς με αλκοόλη

k) Απαραίτητες θρεπτικές ουσίες (σε μορφή αλάτων) και ορμόνες

l) Φυτικοί ιστοί που πρόκειται να καλλιεργηθούν (Ιωάννης Ν. Ξυνιάς

(2003) )

m) Παραφίλμ



Εικόνα 12 .Parafilm για το κλείσιμο των τρυβλίων

### 2.1.1. ΦΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

Τα έκφυτα του είδους *Erica manipuliflora* που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα *in vitro* ήταν συλλογής του Απριλίου και του Μαΐου 2016. Τα έκφυτα επιλέχθηκαν από υγιή φυτά τα οποία αναπτύσσονταν στο όρος Ταΰγετος σε υψόμετρο 100 m.

### 2.1.2.ΥΛΙΚΑ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΕΚΦΥΤΩΝ

Πριν την τοποθέτηση *in vitro* των εκφύτων προηγείται απολύμανση όπου χρησιμοποιούνται τα εξής υλικά:

- Χλωρίνη εμπορίου, που περιέχει 4,5 % NaOCL
- Προσκολλητική ουσία Tween-20 (Polyxyethylenesorbitan Monolaurate) της εταιρίας MERCK.

### **2.1.3. ΥΛΙΚΑ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ *in vitro***

- Υπόστρωμα MS ( Mourashige and Skoog, 1962) σε σκόνη χωρίς IAA, Kinetin της εταιρίας ICN BIOMEDICALS.
- Σουκρόζη εμπορίου σε συγκέντρωση 3%
- Μυοινοζιτόλη (Myo-inositol) M.B.= 180,16(της εταιρείας Merck
- Άγαρ της εταιρίας Ρουμπουλάκης Α.Ε.
- Απιονισμένο νερό

### **2.1.4. ΔΟΧΕΙΑ *in vitro* ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ**

Σε όλα τα στάδια της *in vitro* καλλιέργειας χρησιμοποιήθηκαν

A) Δοχεία τύπου magenta όγκου 120 ml.

B) Τρυβλία Petri

### **2.1.5. ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ *in vitro* ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ**

Για την *in vitro* βλάστηση εκφύτων χρησιμοποιήθηκε υπόστρωμα με βάση το MS. Χρησιμοποιήθηκε συγκεκριμένα μισής δύναμης MS (Mourashige & Skoog, 1962). Στον πίνακα φαίνονται τα συστατικά του θρεπτικού υποστρώματος.

Όλα τα υποστρώματα σταθεροποιήθηκαν με 8g l<sup>-1</sup> άγαρ. Το pH όλων των υποστρωμάτων ρυθμιζόταν με αραιό HCL ή αραιό NaOH 1 N στην τιμή 5,7 πριν την τοποθέτηση του άγαρ και την αποστείρωση.

**Πίνακας 1:Συστατικά (μακροστοιχεία-ιχνοστοιχεία) των υποστρωμάτων MS και ½ MS (Mourashige & Skoog, 1962).**

Συστατικά	MS (mg/l)	½MS (mg/l)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	825
KNO <sub>3</sub>	1900	950
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	440	220
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370	185
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	85
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	27,8	13,9
Na <sub>2</sub> EDTA	37,3	18,35
MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22,3	11,15
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	8,6	4,3
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	3,1
KI	0,83	0,415
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,25	0,125
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,025	0,0125
CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,025	0,0125
Myo-inositol	100	50
Nicotinic acid	0,5	0,25
Pyrodoxine. HCL	0,5	0,25
Thiamine. HCL	0,1	0,05
Glycine	2	1

## 2.2 ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ

Σε αποσταγμένο νερό όγκου λιγότερου του τελικού προσθέτονταν οι ακριβείς ποσότητες (αναλόγως του όγκου του υπό Παρασκευή υποστρώματος) MS, σουκρόζης και Μυοινοζιτόλης και αναδεύονταν με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα μέχρι να διαλυθούν. Ακολουθούσε η ογκομέτρηση (προσθήκη απεσταγμένου νερού ως τον επιθυμητό όγκο) και

στη συνέχεια ρύθμιση του pH στην τιμή 5 , 6 της κλίμακας. Στη συνέχεια προσθέτονταν το άγαρ και ακολουθούσε θέρμανση υπό συνεχή ανάδευση μέχρι να διαλυθεί το άγαρ. Έπειτα μοιράζονταν το διάλυμα ανά 15 ml σε κάθε τρυβλίο.

### **2.2.2. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΕΔΙΚΩΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ**

Θάλαμος ανάπτυξης φυτών

Θάλαμος διαστάσεων 4x4x3.5 με ειδική θερμομονωτική κάλυψη, διατήρησης θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας σε σταθερά επίπεδα (10-25° C και 60% αντίστοιχα ) με δυνατότητα αυξομείωσης των τιμών αυτών. Οι συνθήκες αυτές εξασφαλίζονται με χρήση κεντρικού κλιματιστικού συστήματος ολικής ισχύος 22 Kw, αυτόματα ελεγχόμενου.

Με κατάλληλα απόλυτα φίλτρα εξασφαλίζεται η καθαρότητα του ανακυκλούμενου αέρα σε ποσοστό 99,999% (clean-air system).

Προβλέπεται η διάταξη, εντός του θαλάμου, 60 μεταλλικών ραφιών (τύπου Dexion) εκάστου διαστάσεων 76x92 τ.μ. και εφοδιασμένου με σύστημα φωτισμού αποτελούμενο από 2 λαμπτήρες φθορισμού COOL-WHITE ολικής εντάσεως 6.000 Lux και ισχύος 72W.Η τροφοδοσία των λαμπτήρων ελέγχεται από χρονοδιακόπτη.

### **2.2.3. ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗ ΥΛΙΚΩΝ –ΚΟΠΗ ΕΚΦΥΤΩΝ –ΕΠΩΑΣΗ**

Η αποστείρωση γινόταν σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης για 20min σε θερμοκρασία 121°C και πίεση 1.1 Atm.

Όλα τα τρυβλία και τα δοχεία καλλιέργειας με τα υποστρώματα καλύπτονταν με φύλλο αλουμινίου καθώς και τα εργαλεία που χρησιμοποιούνταν στις εμφυτεύσεις ή απολυμάνσεις όπως λαβίδες, νυστέρια, πλακάκι πάνω στο οποίο γίνονταν οι κοπές εκφύτων, τρυβλία και απιονισμένο νερό.

Η κοπή των εκφύτων (μεγέθους 5 mm) καθώς και η απολύμανση τους έγιναν μέσα σε τράπεζα νηματικής ροής , απομακρύνοντας φύλλα που είναι



εστία μικροβιακού φορτίου. Η απαιτούμενη ποσότητα εκφύτων τοποθετήθηκε αρχικά σε αποστειρωμένα δοχεία ζέσεως που περιείχαν 200 ml αποστειρωμένο απεσταγμένο νερό και 20 ή 30 ml χλωρίνης εμπορίου με 1 σταγόνα της προσκολλητικής ουσίας Tween-20. Αναδεύονταν για 12 min και μετά γίνονταν 3 ξεπλύματα των 3 min με αποστειρωμένο απεσταγμένο νερό. Στην συνέχεια τα έκφυτα τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri τα οποία περιείχαν το υπόστρωμα καλλιέργειας. Εγκαταστάθηκαν φυτά *in vitro* από αυτοφυή φυτά σε δύο περιόδους τον Απρίλιο και τον Μάιο του 2016. Στην 1<sup>η</sup> εγκατάσταση το μεγαλύτερο ποσοστό των εκφύτων μολύνθηκε(τα έκφυτα απολυμάνθηκαν με 10% χλωρίνη για 12 min), γιαυτό και στη 2<sup>η</sup> εγκατάσταση εκφύτων αυξήθηκε το ποσοστό χλωρίνης στα 15%.

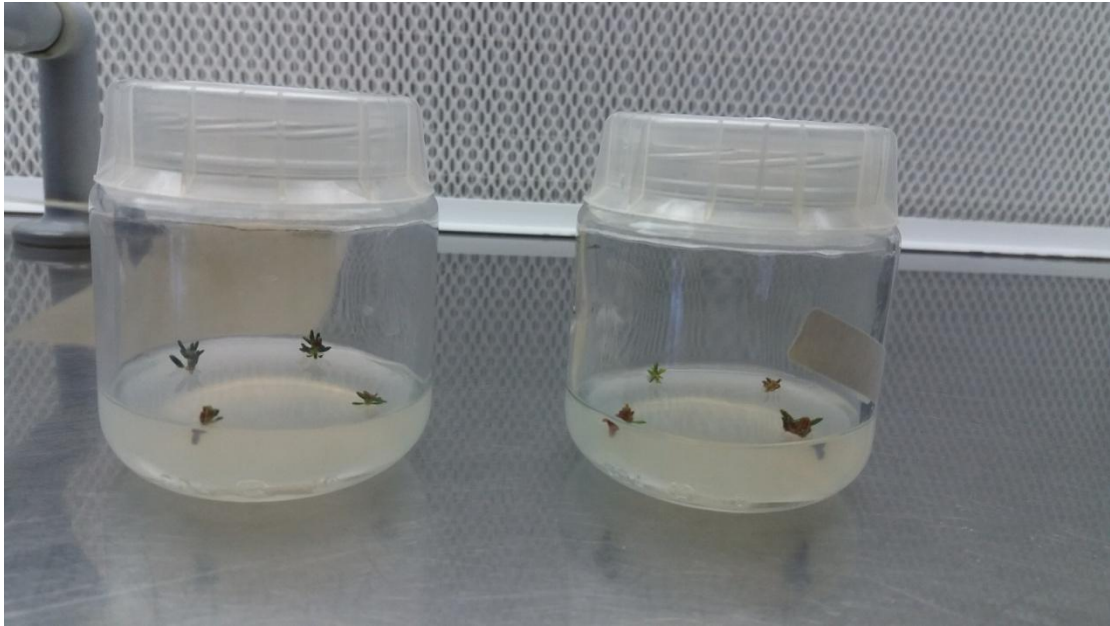
Μετά την εγκατάσταση των εκφύτων στα τρυβλία καλλιέργειας (Εικ. 15), ή στα δοχεία καλλιέργειας τύπου magenta (Εικ. 16), τοποθετήθηκαν για επώαση σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών όπου επώαστηκαν στις εξής συνθήκες: Στους 20°C±1°C με 16h φωτοπερίοδο υπό 37,5 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> fluorescent συνεχές φως.

Τα έκφυτα χωρίστηκαν σε κορυφής, μέσης και βάσης του μητρικού βλαστού από τον οποίο κόπηκαν.

Σε κάθε τρυβλίο ή δοχείο καλλιέργειας τοποθετήθηκαν 5 έκφυτα του είδους.



Εικόνα 13. Εγκατάσταση εκφύτων σε τρυβλία Petri.



Εικόνα 14. Εγκατάσταση εκφύτων σε δοχεία τύπου magenta.

#### **2.2.4 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**

Τα αποτελέσματα στα πειράματα βλάστησης λαμβάνονταν μετά από 30 ημέρες μετά την εγκατάσταση των εκφύτων στο υπόστρωμα. Μετρήθηκαν όλα τα έκφυτα που βλάστησαν στο δοχείο καλλιέργειας. Όσον αφορά την έκπτυξη και ανάπτυξη των εκφύτων στις καλλιέργειες πολλαπλασιασμού εκτιμήθηκαν ο αριθμός των βλαστών, το μήκος του βλαστού το μήκος της ρίζας και ο σχηματισμός ή όχι κάλλου.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 2.3.3. εγκαταστάθηκαν έκφυτα από βλαστούς που αναπτύσσονταν σε μητρικά αυτοφυή φυτά από την περιοχή του Ταυγέτου.

Εξετάστηκε αρχικά η δυνατότητα επιτυχούς απολύμανσης ώστε να επιτευχθεί εγκατάσταση καλλιεργειών *in vitro*. Από μια μέθοδο απολύμανσης εκφύτων απαιτείται το ελάχιστο ποσοστό μολύνσεων καθώς και το υψηλότερο ποσοστό επιβίωσής τους από την απολύμανση. Στην πρώτη καλλιέργεια που πραγματοποιήθηκε (απολύμανση με διάλυμα 10% χλωρίνης εμπορίου για 10 min) μεγάλο ποσοστό των εκφύτων μολύνθηκε (Πίν 2).

**Πίνακας 2. *In vitro* πολλαπλασιασμός ενήλικων αυτοφυών φυτών του *Erica manipuliflora*, εκτίμηση του ποσοστού των εκφύτων που μολύνθηκαν, καθώς και του ποσοστού αντίδρασης των εναπομεινάντων εκφύτων, n=25. Απολύμανση σε 10 % χλωρίνη για 12 min.**

Ποσοστό μόλυνσης (%)	Ποσοστό αντίδρασης (%)
84	95

Λόγω του υψηλού ποσοστού μολύνσεων που παρατηρήθηκαν και ταυτόχρονα του υψηλού ποσοστού αντίδρασης των εναπομεινάντων εκφύτων, αυξήθηκε η συγκέντρωση της χλωρίνης του εμπορίου στο 15% και επαναλήφθηκε η εγκατάσταση των εκφύτων.

Παράλληλα εξετάστηκε και η θέση που είχε το έκφυτο επάνω στον μητρικό βλαστό στο ποσοστό των εκφύτων που σχημάτισαν βλαστούς. Χρησιμοποιήθηκαν έκφυτα από την κορυφή, το μέσο και την βάση του

μητρικού φυτού, ώστε να διαπιστωθεί η επίδραση της θέσης του εκφύτου στον μητρικό βλαστό στην αντίδραση τους στον μικροπολλαπλασιασμό.

Η αύξηση της συγκέντρωσης της χλωρίνης εμπορίου στο διάλυμα απολύμανσης μείωσε σημαντικά το ποσοστό των μολυσμένων εκφύτων, χωρίς παράλληλα να μειώσει το ποσοστό των εκφύτων που επιβίωσαν από την απολύμανση (Πίν. 3).

**Πίνακας 3. *In vitro* πολλαπλασιασμός ενήλικων αυτοφυών φυτών, του *Erica manipuliflora* εκτίμηση του ποσοστού των εκφύτων που μολύνθηκαν, καθώς και του ποσοστού αντίδρασης των εναπομεινάντων εκφύτων, n=25. Απολύμανση σε 15 % χλωρίνη για 12 min.**

Ποσοστό μόλυνσης (%)	Ποσοστό αντίδρασης (%)
5	95

Όσον αφορά την θέση που είχαν τα έκφυτα πάνω στον μητρικό φυτό, φαίνεται ότι έκφυτα από την κορυφή του βλαστού αντέδρασαν στον μικροπολλαπλασιασμό με σημαντικά υψηλότερα ποσοστά από αυτά που προήλθαν από την μέση και την βάση του μητρικού βλαστού (Πίν.4).

**Πίνακας 4. Επίδραση της θέσης των εκφύτων στον μητρικό βλαστό, του είδους *Erica manipuliflora* στο ποσοστό των εκφύτων που σχημάτισαν βλαστούς, n=25**

Θέση εκφύτου στον μητρικό βλαστό	Ποσοστό αντίδρασης (%)
κορυφή	70 b
μέσης	15 a
βάσης	15 a
Σημαντικότητα	*
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test, μέσοι με διαφορετικό λατινικό σύμβολο διαφέρουν στατιστικά σημαντικά.	

**Πίνακας 5. Επίδραση της θέσης των εκφύτων στον μητρικό βλαστό, του είδους *Erica manipuliflora* στον αριθμό των βλαστών που σχηματίστηκαν ανά έκφυτο που αντέδρασε, n=25**

Θέση εκφύτου στον μητρικό βλαστό	Αριθμός βλαστών
κορυφή	1
μέσης	1
βάσης	1
Σημαντικότητα	NS
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test, μέσοι με διαφορετικό λατινικό σύμβολο διαφέρουν στατιστικά σημαντικά.	

Η θέση που είχε το έκφυτο επάνω στον μητρικό βλαστό δεν επηρέασε σημαντικά τον αριθμό των βλαστών που σχηματίστηκαν ανά έκφυτο που αντέδρασε (Πίν. 5).

**Πίνακας 6. Επίδραση της θέσης των εκφύτων στον μητρικό βλαστό, του είδους *Erica manipuliflora* στο μέσο μήκος των βλαστών που σχηματίστηκαν, n=25**

Θέση εκφύτου στον μητρικό βλαστό	Αριθμός βλαστών
κορυφή	1,75 c
μέσης	1.25 b
βάσης	0.75 a
Σημαντικότητα	*
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test, μέσοι με διαφορετικό λατινικό σύμβολο διαφέρουν στατιστικά σημαντικά.	

Τέλος η θέση η οποία είχαν τα έκφυτα πάνω στον μητρικό βλαστό επέδρασε σημαντικά πάνω στο μέσο μήκος των βλαστών που σχηματίστηκαν. Έκφυτα από την κορυφή του μητρικού βλαστού σχημάτισαν βλαστούς με σημαντικά υψηλότερο μήκος από αυτά της μέσης και της βάσης του βλαστού. Επίσης και τα έκφυτα που προήλθαν από την μέση του μητρικού βλαστού σχημάτισαν σημαντικά μακρύτερους βλαστούς από αυτά που προήλθαν από την βάση του μητρικού βλαστού (Πίν. 6)..

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ -ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως αναφέρθηκε σκοπό της πειραματικής αυτής μελέτης ήταν να βρεθεί μια αποτελεσματική μέθοδος απολύμανσης και εγκατάστασης *in vitro* εκφύτων από αυτοφυή φυτά του είδους *Erica manipuliflora*.

Η απολύμανση των εκφύτων του είδους με διάλυμα χλωρίνης εμπορίου 15% για 10 min, όπως διαπιστώθηκε εξασφαλίζει την ελαχιστοποίηση των μολύνσεων και ταυτόχρονα πολύ υψηλό ποσοστό επιβίωσης των εκφύτων του είδους που χρησιμοποιήθηκαν.

Χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση εάν η μέθοδος αυτή παραμένει αποτελεσματική όταν εγκαθίστανται καλλιέργειες και σε άλλες εποχές του έτους όπου ο όγκος των μολύνσεων είναι σημαντικά υψηλότερος (καλοκαίρι, φθινόπωρο και χειμώνας).

Παράλληλα όπως και αναφέρθηκε, εξετάστηκε και η επίδραση που είχε η θέση του έκφυτου επάνω στον μητρικό βλαστό στο ποσοστό των εκφύτων που σχημάτισαν βλαστούς, στον αριθμό και ιστο μέσο μήκος των βλαστών που σχηματίστηκαν. Μια μέθοδος μικροπολλαπλασιασμού ενός είδους για να θεωρηθεί επιτυχής πρέπει να εξασφαλίζει την ταχύτητα πολλαπλασιασμού του σε πολύ ταχείς ρυθμούς.

Η χρησιμοποίηση εκφύτων που προήλθαν από την κορυφή του μητρικού βλαστού αντέδρασαν σε σημαντικά υψηλότερα ποσοστά και σχημάτισαν σημαντικά μακρύτερους βλαστούς σε σύγκριση με έκφυτα που προήλθαν από την μέση και την βάση του μητρικού βλαστού. Ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των εκφύτων που κόπηκαν από την κορυφή του βλαστού είχαν λοιπόν σημαντικά υψηλότερο ρυθμό πολλαπλασιασμού από αυτά που κόπηκαν από χαμηλότερα σημεία του βλαστού.

Χρειάζεται περαιτέρω έρευνα εάν το ίδιο αποτέλεσμα θα εμφανίζεται και όταν εγκατασταθούν καλλιέργειες *in vitro* και σε άλλες εποχές του έτους όπου μεταβάλλεται η φυσιολογική κατάσταση του είδους.

Η απολύμανση λοιπόν των εκφύτων του είδους με υδατικό διάλυμα 15% χλωρίνης εμπορίου, ταυτόχρονα με την χρήση εκφύτων από την κορυφή του μητρικού φυτού είναι μια αποτελεσματική μέθοδος μικροπολλαπλασιασμού του είδους την περίοδο του Μαΐου.

Η καλλιέργεια σε φτωχά υποστρώματα μισής δύναμης MS και 1,5 % σουκρόζης, δεν παρεμποδίζει την έκπτυξη των εκφύτων του είδους *Erica manipuliflora*.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

#### ΒΙΒΛΙΑ – ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

Νικολάου ΗΡ. Αθανασιάδη : Δασική Βοτανική Συστηματική Σπερματοφύτων Μέρος Ι, Εκδόσεις Γιαχουδη-Γιαπουλη(1985)

Νικολάου ΗΡ. Αθανασιάδη , : Δασική Βοτανική Δέντρα και θάμνοι των δασών της Ελλάδος Μέρος ΙΙ , Εκδόσεις Γιαχούδη (1986)

Dr. Αλέξανδρος Παπαχατζής Dr. Ελένη Καλορίζου : ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ , Εκδόσεις γραμμικό

Κίντζιος Σπυρίδων (2015) : Εισαγωγή στον μικροπολλαπλασιασμό των φυτών

Κορακάκης Γεώργιος : Δασική βοτανική Αυτοφυή Δέντρα και Θάμνοι της Ελλάδας

Ιωάννης Ν. Ξυνιάς (2003) : ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ θεωρία και ασκήσεις, Εκδόσεις : ΕΜΒΡΥΟ

Παναγοπούλου Φωτεινή (2007) : ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΤΟΥ *Erica manipuliflora*

Cassells, A.C. (1997). Developments in Plant Pathology: Pathogen and Microbial Contamination Management in Micropropagation. Springer, Berlin, 372 p. ISBN 978-9048149322.

Kozai, T., Afreen, F.F., & Zobayed, S.M.A. (2005). Photoautotrophic (sugar-free medium) Micropropagation as a New Micropropagation and Transplant Production System. Springer, Berlin, 316 p. ISBN 978-1402031250.

#### ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

[https://www.google.gr/search?q=erica+manipuliflora&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiGz5SLuPTVAhXF1RoKHYSdQMQ\\_AUICiqB&biw=1366&bih=638#imgrc=ELI3u7ZxUUY8M](https://www.google.gr/search?q=erica+manipuliflora&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiGz5SLuPTVAhXF1RoKHYSdQMQ_AUICiqB&biw=1366&bih=638#imgrc=ELI3u7ZxUUY8M):

[https://www.google.gr/imgres?imgurl=https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/88/Erica\\_arborea.JPG/1200px-](https://www.google.gr/imgres?imgurl=https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/88/Erica_arborea.JPG/1200px-)

[Erica\\_arborea.JPG1.jpg&imgrefurl=https://en.wikipedia.org/wiki/Erica\\_arborea&h=900&w=1200&tbnid=WEHIVVNeBG9oM:&tbnh=150&tbnw=200&usg=\\_\\_HaTD1oUarqD00DaL4SmXFm0KdS4=&vet=10ahUKEwivroiok6XXAhVHChoKHYYrB4oQ\\_B0lejAK..i&docid=aFEqb6-CjmVi2M&itg=1&sa=X&ved=0ahUKEwivroiok6XXAhVHChoKHYYrB4oQ\\_B0lejAK](https://en.wikipedia.org/wiki/Erica_arborea&h=900&w=1200&tbnid=WEHIVVNeBG9oM:&tbnh=150&tbnw=200&usg=__HaTD1oUarqD00DaL4SmXFm0KdS4=&vet=10ahUKEwivroiok6XXAhVHChoKHYYrB4oQ_B0lejAK..i&docid=aFEqb6-CjmVi2M&itg=1&sa=X&ved=0ahUKEwivroiok6XXAhVHChoKHYYrB4oQ_B0lejAK)  
<http://www.ypeka.gr/LinkClick.aspx?fileticket=tbH1sFvCx4A%3D&tabid=606&language=el-GR>  
[http://www.west-kreta.de/flowers/erica\\_manipuliflora.htm](http://www.west-kreta.de/flowers/erica_manipuliflora.htm)  
<https://www.heathersociety.org/category/heathers/erica-hardy/>  
<http://www.fethiyetimes.com/expat-zone/ft-gardening-club/5883-plant-of-the-month-heathers-erica-manipuliflora-a-erica-arborea.html>  
<http://www.biologydiscussion.com/plants/plant-tissue-culture/plant-tissue-culture-benefit-structure-types-and-techniques/10632>  
<http://www.aua.gr/roussos/Roussos/pdf/Lab%20Excs/Lab%20Propag%20Lectures%20vF07.pdf>  
[http://en.hortipedia.com/wiki/Erica\\_arborea](http://en.hortipedia.com/wiki/Erica_arborea)