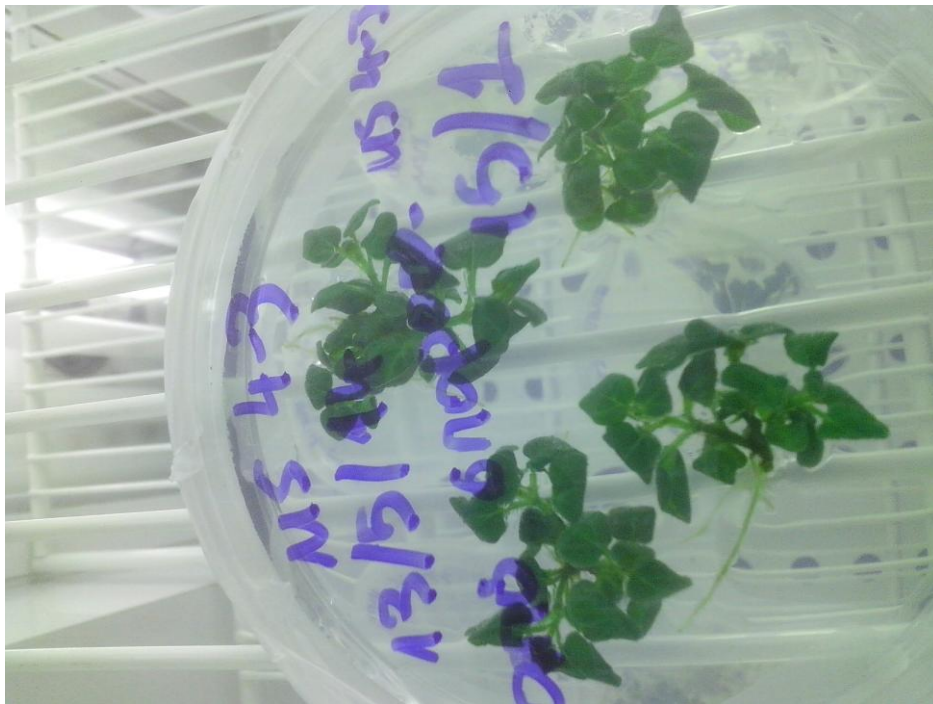


ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ  
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ (Πρώην Φυτικής  
Παραγωγής)



**ΘΕΜΑ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ**

**ΜΙΚΡΟΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΤΟΥ**

**ΕΙΔΟΥ *Origanum vulgare***

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΣΠΟΥΔΑΣΤΗ  
ΦΙΛΙΠΠΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2014

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ  
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ (Πρώην Φυτικής  
Παραγωγής)

**ΘΕΜΑ**  
**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ**  
**ΜΙΚΡΟΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΤΟΥ**  
**ΕΙΔΟΥ *Origanum vulgare***

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΣΠΟΥΔΑΣΤΗ  
ΦΙΛΛΙΠΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΑΡΤΣΩΝΑΣ ΕΠΑΜΕΙΝΩΝΔΑΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2014

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη .....	5
1.1 Εισαγωγή Αρωματικά φυτά .....	6
1.2 Χαρακτηριστικά .....	6
1.3 ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ <i>Origanum vulgare</i> .....	7
1.4 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ .....	8
1.4.1 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΜΕ ΣΠΟΡΟ (ΕΓΓΕΝΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ).....	8
1.4.2. ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΜΕ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ .....	9
1.4.3 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ <i>in vitro</i> ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ .....	10
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	11
2.1 ΥΛΙΚΑ .....	11
2.1.1. ΦΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ .....	11
2.1.2. ΥΛΙΚΑ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΣΠΟΡΩΝ .....	12
2.1.3. ΥΛΙΚΑ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ <i>in vitro</i> .....	12
2.1.4. Δοχεία <i>in vitro</i> ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ .....	12

2.1.5. ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ in vitro ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ .....	13
2.1.6 ΣΠΟΡΟΙ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ <i>Origanum vulgare</i> .....	13
2.2. ΜΕΘΟΔΟΙ.....	14
2.2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ .....	14
2.2.2 ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗ ΥΛΙΚΩΝ .....	14
2.2.3. ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ in vitro ΣΠΟΡΩΝ ΤΟΥ <i>Origanum vulgare</i> .....	15
2.2.4. ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ .....	15
2.2.5. ΕΠΩΑΣΗ - ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΣΠΟΡΟΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΚΦΥΤΩΝ .....	16
2.2.6 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΠΟΡΟΥ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ <i>Origanum vulgare</i> ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΚΦΥΤΩΝ- ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ .....	16
2.2.7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΣΧΕΔΙΟ .....	17
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	17
3.1. ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΣΠΟΡΩΝ .....	17
3.2. ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ .....	25
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	32
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	33

## Περίληψη

Η **ρίγανη** (*Ορίγανον το κοινό*, *Origanum vulgare*) είναι αρωματικό ποώδες, πολυετές, ιθαγενές και θαμνώδες φυτό της Μεσογείου και της Κεντρικής Ασίας. Ανήκει στο γένος Ορίγανο της τάξης των λαμιωδών αγγειόσπερμων δικότυλων φυτών. Το φυτό έχει ύψος 20-80 εκ., έχει φύλλα αντίθετα μήκους 1-4 εκ. Αναπτύσσεται καλά σε εδάφη με pH 6-9 και μπορεί να εκμεταλλευτεί, όταν καλλιεργείται, ακόμα και πολύ φτωχά, ξηρικά και πετρώδη εδάφη. Τα άνθη της έχουν χρώμα άσπρο-μώβ και ανθίζει από Ιούνιο κυρίως μέχρι Αύγουστο αναλόγως της περιοχής. Η Ελληνική ρίγανη θεωρείται η καλύτερη σε παγκόσμιο επίπεδο. Θέλει ήλιο και αραιά ποτίσματα και τα φύλλα της χρησιμοποιούνται σε φαγητά και σάλτσες. Παράλληλα έχει ιδιότητες κατά του στομαχόπνου, είναι τονωτική, εφιδρωτική, κατά της ατονίας και της δυσμηνόρροιας.

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΦΥΤΑ

Με τον όρο **αρωματικά φυτά** χαρακτηρίζονται εκείνα τα φυτά που αποδίδουν άρωμα, το οποίο άρωμα οφείλεται σε πτητικές ενώσεις. Το χαρακτηριστικό των αρωματικών φυτών είναι η παρουσία των αιθερίων ελαίων που τους δίνουν ένα ιδιαίτερο άρωμα. Με τον όρο αιθέρια έλαια εννοούνται πτητικές ενώσεις που προσδίδουν στο φυτό μια χαρακτηριστική οσμή, πρόκειται για τερπενικές ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους (κυρίως μονο- (C<sub>10</sub>) και σεσκιτερπένια (C<sub>15</sub>).<sup>[2]</sup> Με την επίδραση φυσικών εξωτερικών ερεθισμάτων, όπως ο άνεμος, αυξάνεται η ποσότητα των πτητικών ενώσεων που απελευθερώνονται στο περιβάλλον. Οι πτητικές ενώσεις παράγονται και συσσωρεύονται σε φυτικούς αδένες που βρίσκονται στα διάφορα μέρη των φυτών, όπως τα άνθη, τα φύλλα, οι βλαστοί, οι καρποί, οι ρίζες **πχ (Κάρτσωνας, 2009)**.

## 1.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το φυτό έχει ύψος 20-80 εκ., έχει φύλλα αντίθετα μήκους 1-4 εκ. Αναπτύσσεται καλά σε εδάφη με pH 6-9 και μπορεί να εκμεταλλευτεί, όταν καλλιεργείται, ακόμα και πολύ φτωχά, ξηρικά και πετρώδη εδάφη. Τα άνθη της έχουν χρώμα άσπρο-μώβ και ανθίζει από Ιούνιο κυρίως μέχρι Αύγουστο αναλόγως της περιοχής. Στην Ελλάδα Η **ελληνική ρίγανη** (Greek Oregano) είναι φυτό πολυετές και ποώδες η ποιότητα της θεωρείται από τις καλύτερες παγκοσμίως. Η ρίγανη πέρα από το χαρακτηριστικό άρωμα και γεύση που αφήνει στο φαγητό έχει και πάρα πολλές φαρμακευτικές ιδιότητες, με κυριότερη (γνωστή φαρμακευτικά) δραστική ουσία την καρβακρόλη. Στην Ελλάδα η ρίγανη είναι αυτοφυής και βρίσκεται σε ορεινές και βραχώδεις περιοχές. Η ρίγανη αποτελεί ένα πολύ σημαντικό φυτικό είδος διότι περιέχει συστατικά με πολύ σημαντική βιολογική δράση. Οι κύριες ουσίες που βρίσκονται στο αιθέριο έλαιο και στις οποίες αποδίδονται οι βιολογικές δράσεις είναι η καρβακρόλη (5-isopropyl-o-

cresol, 5-isopropyl-2-methylphenol - C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>OH), και η θυμόλη (6-isopropyl-m-cresol - C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O) δυο φαινολικές ενώσεις που δρουν συνεργιστικά (συνδιαστικά). Εκτός όμως από αυτές τις δυο ουσίες, σε μικρότερες ποσότητες ανιχνεύονται οι: α-pinene, linalyl acetate, camphene, methylcarvacrol, β-bisabolene, 6-methyl-3-heptanol, p-cimene, calemene, p-cimene-8-ol, β-caryophyllene, myrcene, cineole, phellandrene, cis-dihydrocarvone, β-pinene, cis-sabinene hydrate, sabinene, cymene, spartholerol, decane, γ-terpinene, germacrene D, terpinen-4-ol, carvacrol acetate, terpinolene, hexanal, limonene, trans-dihydrocarvone, linalool, undecane.

Η ελληνική ρίγανη πλεονεκτεί σε σχέση με την Ισπανική και την Τουρκική στο ότι περιέχει μεγαλύτερη ποσότητα αιθέριου ελαίου, που κυμαίνεται από 1.8-8.2 ml/100gr ξηρού βάρους. Ακόμα όμως και ανάμεσα σε πληθυσμούς του ίδιου είδους παρατηρούνται μεγάλες διαφορές στην ποιοτική και στην ποσοτική σύσταση του αιθέριου ελαίου. Οι εξαιρετικά μεγάλες τιμές στην απόδοση του αιθέριου ελαίου (>7 ml/100 gr ξηρού βάρους) βρέθηκαν στην Κρήτη, στην Αμοργό, στο Γύθειο και στη χερσόνησο του Αθου. Τέτοιες υψηλές τιμές δεν βρέθηκαν σε κανένα είδος ρίγανης.

### **1.3 ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ**

#### ***Origanum vulgare***

- Άθροισμα:** Spermatophyta
- Υποάθροισμα:** Magnoliophytina
- Κλάση:** Magnoliatae
- Υπόκλαση:** Asteridae
- Τάξη:** Lamiales
- Οικογένεια:** Lamiaceae
- Γένος:** *Origanum*

**Είδος:** *vulgare*

**Κοινό όνομα:** Ρίγανη

## **1.4 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ**

Οι μέθοδοι πολλαπλασιασμού αρωματικών - φαρμακευτικών φυτών είναι με σπόρο, με μοσχεύματα και με μικροπολλαπλασιασμό (ιστοκαλλιέργεια). Με τα μοσχεύματα γλιτώνουμε την παραλακτικότητα αφού οι νέες φυτείες θα είναι ίδιες με τη μητρική φυτεία. Πιο φθηνή μέθοδος είναι με σπόρο, ενώ η πιο ακριβή είναι ο μικροπολλαπλασιασμός (ιστοκαλλιέργεια).

### **1.4.1 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΜΕ ΣΠΟΡΟ (ΕΓΓΕΝΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ)**

Πολλαπλασιασμός με σπόρο: Ο πολλαπλασιασμός με σπόρο αποτελεί την κύρια μέθοδο με την οποία τα φυτά αναπαράγονται στη φύση αλλά και έναν από τους πιο αποτελεσματικούς και ευρέως διαδεδομένους τρόπους πολλαπλασιασμού φυτών. Φτηνή και μαζική μέθοδος δίνει πλεονεκτήματα όπως γρήγορη ανάπτυξη των σποροφύτων καθώς η ζωηρότητα – νεανικότητά τους και η μορφολογία της ρίζας τους δίνουν την ικανότητα γρηγορότερης ανάπτυξης στα πρώτα στάδια της ζωής τους. Ωστόσο η δημιουργία σπόρων στη φύση είναι αποτέλεσμα εγγενούς διαδικασίας (εγγενής αναπαραγωγή = δημιουργία απογόνων μετά από ένωση δύο απλοειδών πολλαπλασιαστικών κυττάρων, των γαμετών, τα οποία δημιουργούνται με τη διαδικασία της μείωσης, για τη δημιουργία ενός νέου κυττάρου, του ζυγωτού από τον οποίο προκύπτει ο νέος οργανισμός. Γι' αυτό και οι απόγονοι είναι γενετικά διαφορετικοί από τους γονείς και μεταξύ τους). Η σύγχρονη γεωργία απαιτεί την καλλιέργεια απόλυτα όμοιων ατόμων, γι' αυτό το χαρακτηριστικό αποτελεί το κύριο μειονέκτημα της μεθόδου. Σε πολλές από τις περιπτώσεις όπου χρησιμοποιούνται σπορόφυτα για την παραγωγή προϊόντων, αυτά είναι



υβρίδια ώστε να μην υπάρχει γενετική παραλλακτικότητα, αλλά στην περίπτωση των αυτοφυών αρωματικών - φαρμακευτικών ειδών δεν έχει προηγηθεί τέτοια έρευνα, ούτε υπάρχει σποροπαραγωγική εταιρία που να εγγυηθεί την προμήθεια τέτοιου είδους σπόρου. Συνεπώς η χρήση σπόρου για τα αυτοφυή αρωματικά - φαρμακευτικά φυτά δεν συνίσταται, παρόλο το χαμηλό κοστολόγιο, γιατί δεν μπορεί να προσφέρει τη σταθερότητα του προϊόντος που απαιτεί η παρούσα επένδυση. Η μόνη περίπτωση που αναγκαστικά θα χρησιμοποιηθεί είναι στις ετήσιες καλλιέργειες όπου δεν υπάρχει άλλος τρόπος

#### **1.4.2 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΜΕ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ**

Πολλαπλασιασμός με μοσχεύματα: Η μέθοδος με μοσχεύματα αποτελεί ίσως τον πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο τρόπο αγενούς αναπαραγωγής στο σύνολο των παραγόμενων φυτών (αγενής αναπαραγωγή = η δημιουργία απογόνων χωρίς τη μεσολάβηση της φυλετικής διαδικασίας. Οι απόγονοι είναι προϊόντα διαδικασίας μίτωσης σωματικών κυττάρων. Δημιουργούνται έτσι απόγονοι που ο καθένας τους είναι πιστό αντίγραφο του μητρικού οργανισμού, με αμετάβλητη τη γενετική σύσταση στις διαδοχικές γενεές). Το χαρακτηριστικό γνώρισμα του αγενούς πολλαπλασιασμού είναι συνεπώς η γενετική σταθερότητα. Προκύπτουν έτσι κλωνικά φυτά, δηλαδή γενετικά ομοιόμορφα φυτά που προέρχονται από ένα κοινό πρόγονο δίνοντας ομοιομορφία παραγόμενου υλικού όταν ακολουθούνται συγκεκριμένα πρωτόκολλα και τεχνικές στην ανάπτυξη και στην παραγωγή της όλης καλλιέργειας. Ωστόσο η μέθοδος παρουσιάζει και μειονεκτήματα καθώς το περιορισμένο αρχικό υλικό και το σχετικά μεγάλο κόστος διατήρησης μητρικών φυτειών αυξάνει το κόστος παραγωγής του πολλαπλασιαστικού υλικού. Ακόμη το κόστος παραγωγής των νεαρών φυτών είναι υψηλότερο καθώς απαιτούνται εξειδικευμένες εγκαταστάσεις ή ειδικές τεχνικές πολλές φορές μέσα σε θερμοκήπια ή

άλλους ειδικά διαμορφωμένους χώρους. Θα πρέπει ακόμη να αναφερθεί η αυξημένη πιθανότητα μετάδοσης ασθενειών καθώς προσβολές μπορούν να συμβούν στις μητρικές φυτείες και να μην γίνουν αντιληπτές όπως επίσης και να συμβεί μετάδοση μέσω των εργαλείων που χρησιμοποιούνται. Συνεπώς μεγάλη βαρύτητα θα πρέπει να δίδεται στην υγιεινή κατάσταση των μητρικών φυτειών και στην όλη διαδικασία για την παραγωγή άριστης ποιότητας πολλαπλασιαστικού υλικού. Ο πολλαπλασιασμός των αυτοφυών αρωματικών - φαρμακευτικών ειδών με μοσχεύματα συστήνεται και ταιριάζει με τη φύση των ειδών αυτών με την προϋπόθεση ότι θα τηρηθούν σειρά μέτρων για την άριστη φυτουγεία.

### **1.4.3.ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ in vitro ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**

Μικροπολλαπλασιασμός: Ο μικροπολλαπλασιασμός θεωρείται ακριβή μέθοδος για την δημιουργία του συνόλου του πολλαπλασιαστικού υλικού των αρωματικών/φαρμακευτικών ειδών. Ωστόσο η δημιουργία ενός εργαστηρίου ιστοκαλλιέργειας προσφέρει αναμφισβήτητα πλεονεκτήματα αυτονομίας με πρώτο και κυριότερο τη δημιουργία τράπεζα διατήρησης φυτικού υλικού. Καλλιέργειες in vitro των επιλεγμένων αυτοφυών αρωματικών - φαρμακευτικών ειδών διατηρούνται σε ειδικά θρεπτικά υποστρώματα και ανά τακτά χρονικά διαστήματα ανανεώνονται είτε με επανακαλλιέργεια του ίδιου φυτικού υλικού είτε με εγκατάσταση νέου. Προσφέρεται με αυτό τον τρόπο η δυνατότητα διατήρησης ειδών που προέρχονται από εντελώς διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, αμεσότητα χρησιμοποίησης του φυτικού υλικού όποτε χρειαστεί, δυνατότητα αναπαραγωγής σε μεγάλο αριθμό σε σύντομο χρονικό διάστημα, δυνατότητα διατήρησης ειδών των οποίων τα σπέρματα παρουσιάζουν μειωμένη φυτρωτική ικανότητα, περιορισμός της έκτασης

των μητρικών φυτών λήψης μοσχευμάτων αφού ανά πάσα στιγμή θα μπορούν να δημιουργηθούν νέα.

Επομένως, εκτός από τη δυνατότητα παραγωγής πολύ μεγάλου αριθμού υγριών αρωματικών - φαρμακευτικών φυτών για είδη που υπάρχουν αποτελεσματικά πρωτόκολλα σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα, η ύπαρξη εργαστηρίου ιστοκαλλιέργειας εξασφαλίζει την δυνατότητα διατήρησης μητρικού υλικού εκτός από τις εγκατεστημένες στο αγρό μητρικές φυτείες, που θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί άμεσα για την παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού και την δυνατότητα αναπαραγωγής ειδών που πολύ δύσκολα πολλαπλασιάζονται με άλλο τρόπο (όπως πχ σιδερίτης).

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2. ΥΛΙΚΑ**

#### **2.1. ΦΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ**

Ο σπόρος του είδους *Origanum vulgare* που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα *in vitro* ήταν συλλογής του Σεπτεμβρίου 2012. Οι κάψες επιλέχθηκαν από υγιή φυτά τα οποία αναπτύσσονταν στο όρος Ταΰγετος σε υψόμετρο 1100m. Αφού εγκαταστάθηκαν σπορόφυτα του είδους κα βλάστησαν *in vitro* στη συνέχεια, υποκαλλιεργούνταν ανά 40 ημέρες για να επιτευχθεί πολλαπλασιασμός των καλλιεργειών.

#### **2.1.2.ΥΛΙΚΑ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΣΠΟΡΩΝ**

Πριν την τοποθέτηση *in vitro* των σπόρων 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 1.5 ή 3 %
- Μυοινοζιτόλη Myo-inositol) M.B.= 180,16(της εταιρείας Merck
- Άγαρ της εταιρίας Ρουμπουλάκης Α.Ε.

### **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 σπόρων χρησιμοποιήθηκε υπόστρωμα με βάση το MS. Χρησιμοποιήθηκε πλήρους ή μισής δύναμης MS (Mourashige & Skoog, 1962). Στον πίνακα φαίνονται τα συστατικά του θρεπτικού υποστρώματος.

**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

Όλα τα υποστρώματα σταθεροποιήθηκαν με 6g 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.

### **2.1.6. ΣΠΟΡΟΙ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Origanum vulgare***

Σπόροι του είδους συλλέχθηκαν από ενήλικα φυτά που αναπτύσσονταν στο όρος Ταϋγέτος. Οι σπόροι συλλέχθηκαν τους μήνες Σεπτέμβριο και Οκτώβριο, από την περιοχή που βρίσκεται νότια της Ιεράς Μονής Παναγίας της Γιάτρισσας Ταϋγέτου.

## **2.2. ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.2.1. ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ**

Σε δοχείο ζέσεως με αποσταγμένο νερό (όγκου λιγότερο του τελικού) προσθέτονταν οι ακριβείς ποσότητες, Μυοινοζιτόλη 100mg/l, (MS) 4.4 ή 2.2 g/l, Σουκρόζης 3 ή 1.5%. Τα διαλύματα αναδεύονταν σε μαγνητικό αναδευτήρα μέχρι να διαλυθούν πλήρως. Στη συνέχεια γινόταν ογκομέτρηση και προσθήκη αποσταγμένου νερού, μέχρι τον επιθυμητό όγκο και ακολουθούσε ρύθμιση του pH στην τιμή 5.7 της κλίμακας με τη βοήθεια αραιών διαλυμάτων NaOH και HCl. Ακολούθως προσθέτονταν, για τη σταθεροποίηση των υποστρωμάτων, άγαρ στην απαιτούμενη ποσότητα (6 g/l) και ακολουθούσε θέρμανση του διαλύματος, υπό συνεχή ανάδευση μέχρι να λιώσει το άγαρ. Στη συνέχεια το υπόστρωμα μοιράζονταν ανά 20ml στα δοχεία καλλιέργειας όγκου 100ml και σκεπάζονταν με το καπάκι των δοχείων. Τέλος τα δοχεία καλλιέργειας με τα υποστρώματα τοποθετούνταν σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης για 20 min. Εάν χρησιμοποιούνταν τρυβλία Petri, μετά την ρύθμιση του pH το υπόστρωμα αποστειρώνονταν σε δοχεία αποστείρωσης στον κλίβανο και στη συνέχεια εντός του θαλάμου νηματικής ροής μοιράζονταν στα τρυβλία.

### **2.2.2. ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗ ΥΛΙΚΩΝ**

Όλα τα βάζα με τα υποστρώματα, αλλά και όλα τα υλικά και τα εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν στις εμφυτεύσεις ή απολυμάνσεις, όπως λαβίδες, νυστέρια, πλακάκια πάνω στα οποία γίνονταν οι κοπές, διηθητικά χαρτιά, φιάλες και δοχεία με νερό για την απολύμανση των εκφύτων,

αποστειρώνονταν σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης (αυτόκλειστο) επί 20 min, σε θερμοκρασία 121°C και σε πίεση 1.1 atm. Προσοχή δόθηκε στο ότι όλα τα καπάκια έπρεπε να είναι χαλαρά τοποθετημένα κατά την αποστείρωση. Μολυσμένα βάζα καλλιέργειας πριν ανοιχτούν και πλυθούν αποστειρώνονταν για 40 min, σε θερμοκρασία 121°C και σε πίεση 1.1 atm.

### **2.2.3. ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ *in vitro* ΣΠΟΡΩΝ ΤΟΥ *Origanum vulgare***

Οι σπόροι του *Origanum vulgare*, αφού επιλέχθηκαν οι γεμάτοι (σε στερεοσκόπιο), τοποθετήθηκαν για 10 ημέρες σε ψυγείο στους 4 °C. Στη συνέχεια απολυμάνθηκαν επιφανειακά σε υδατικό διάλυμα χλωρίνης (10%) για 10 min, εντός του θαλάμου νηματικής ροής. Μετά την απολύμανση τους οι σπόροι ξεπλύθηκαν 3 φορές με αποστειρωμένο απεσταγμένο νερό. Αφού ξεπλύθηκαν αποθηκεύτηκαν για 24 ώρες σε αποστειρωμένο διηθητικό χαρτί που είχε διαβραχεί με αποστειρωμένο νερό και ακολούθησε δεύτερη απολύμανσή τους με τον ίδιο ακριβώς τρόπο. Μετά και τη δεύτερη απολύμανση οι σπόροι τοποθετήθηκαν σε δοχεία καλλιέργειας που περιείχαν ένα από τα δύο θρεπτικά υποστρώματα Α) ½ MS (Murashige and Skoog, 1967), Μυοινοζιτόλη 100mg/l, και Σουκρόζη 1,5%, Β) πλήρους δύναμης MS (Murashige and Skoog, 1967), Μυοινοζιτόλη 100mg/l, και Σουκρόζη 35%, χωρίς την παρουσία φυτορρυθμιστικής ουσίας. Τοποθετήθηκαν 6 σπόροι ανά τρυβλίο.

### **2.2.4. ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**

Στη φάση του πολλαπλασιασμού των καλλιέργειών σπορόφυτα που είχαν αναπτυχθεί *in vitro* υποκαλλιεργήθηκαν. Από το κάθε σπορόφυτο κόπηκαν έκφυτα ενός κόμβου, αφαιρέθηκαν τα φύλλα και τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri, ή δοχεία magenta (5 έκφυτα ανά δοχείο). Η κοπή και εγκατάσταση των εκφύτων γίνονταν εντός θαλάμου νηματικής ροής. Τα

έκφυτα τοποθετήθηκαν σε δοχεία καλλιέργειας που περιείχαν ένα από τα δύο θρεπτικά υποστρώματα Α) ½ MS (Murashige and Skoog, 1967), Μυοινοζιτόλη 100mg/l, και Σουκρόζη 1,5%, Β) πλήρους δύναμης MS (Murashige and Skoog, 1967), Μυοινοζιτόλη 100mg/l, και Σουκρόζη 35%, χωρίς την παρουσία φυτορρυθμιστικής ουσίας.

### **2.2.5. ΕΠΩΑΣΗ - ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΣΠΟΡΟΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΚΦΥΤΩΝ**

Μετά την εγκατάσταση των σπόρων στα δοχεία καλλιέργειας, τοποθετήθηκαν για επώαση σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών όπου επωάστηκαν 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.

Σε κάθε δοχείο καλλιέργειας τοποθετήθηκαν 5 σπόροι του είδους.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν δύο υποκαλλιέργειες (καλλιέργειες πολλαπλασιασμού) ανά 40 ημέρες, τα έκφυτα τοποθετήθηκαν σε υποστρώματα πλήρους ή μισής δύναμης MS και επωάστηκαν στους 20°C±1°C με 16h φωτοπερίοδο υπό 37,5 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> fluorescent συνεχές φως.

### **2.2.6 ΜΕΘΟΔΟΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΒΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΠΟΡΟΥ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Origanum vulgare* ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΚΦΥΤΩΝ- ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**

Οι παρατηρήσεις της βλάστησης πραγματοποιούνταν ανά δύο ημέρες (για 10 ημέρες) με έναρξη πέντε ημέρες μετά την ημέρα εγκατάστασής τους στο υπόστρωμα. Τέλος μια τελική μέτρηση



πραγματοποιήθηκε 30 ημέρες μετά την εμφύτευση των σπόρων, στο υπόστρωμα. Ως έναρξη βλάστησης των σπόρων θεωρήθηκε η έκπτυξη του ριζιδίου. Στις καλλιέργειες πολλαπλασιασμού εκτιμήθηκαν το ποσοστό αντίδρασης των εκφύτων, ο αριθμός των βλαστών που σχηματίστηκαν, ο αριθμός των κόμβων των βλαστών, το μήκος του βλαστού και ο σχηματισμός ή όχι ριζών καθώς και ο αριθμός τους.

### **2.2.7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΣΧΕΔΙΟ**

Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν το Εντελώς Τυχαιοποιημένο Σχέδιο.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων των πειραμάτων έγινε με το πρόγραμμα Statgraphics Centurion. Η σημαντικότητα των αποτελεσμάτων ελέγχθηκε με ανάλυση της διασποράς (Analysis of Variance).

Η σύγκριση των μέσων έγινε με τη μέθοδο Students σε επίπεδο σημαντικότητας  $P \leq 0.05$  ή  $P \leq 0.01$ . Στην παράθεση των αποτελεσμάτων οι μέσοι που ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα της λατινικής αλφαβήτου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά. Ο αριθμός των επαναλήψεων που χρησιμοποιήθηκαν ανά πειραματική διαδικασία αναγράφεται σε κάθε πίνακα αποτελεσμάτων.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ**

### **3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

#### **3.1. ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΣΠΟΡΩΝ**

Όπως αναφέρθηκε η μέτρηση των βλαστημένων σπόρων ξεκίνησε την 5η ημέρα και ολοκληρώθηκε την 30 ημέρα μετά την εγκατάσταση των

σπόρων στα υποστρώματα. Στους παρακάτω πίνακες παρατίθενται τα στοιχεία της ανά μέτρησης και της συνολικής βλάστησης των σπόρων σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας στα δύο διαφορετικά υποστρώματα.

Στον πίνακα 2 παρατίθενται τα στοιχεία βλάστησης των σπόρων 3 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στα υποστρώματα.

**Πινάκας 2.** Βλάστηση ανά δοχείο καλλιέργειας σπόρων του είδους *Origanum vulgare* που επωάστηκαν στους  $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  με 16h φωτοπερίοδο υπό  $37,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fluorescent συνεχές φως 5 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στο αναγραφόμενο υπόστρωμα καλλιέργειας.

Υπόστρωμα καλλιέργειας	A/A δοχείου	Αριθμός σπόρων που βλάστησαν	Ποσοστό βλάστησης (%)
MS	1	0	0
MS	2	0	0
MS	3	0	0
MS	4	0	0
MS	5	0	0
MS	6	1	17
MS	7	0	0
MS/2	1	1	17
MS/2	2	0	0
MS/2	3	1	17
MS/2	4	0	0
MS/2	5	3	51
MS/2	6	4	68
MS/2	7	0	0

Στον πίνακα 3 παρατίθεται η επίδραση του υποστρώματος καλλιέργειας στο ποσοστό των βλαστημένων σπόρων ανά τρυβλίο 5 ημέρες μετά την τοποθέτησή τους στα υποστρώματα.

**Πίνακας 3.** Επίδραση του είδους του υποστρώματος ανάπτυξης, στο ποσοστό των σπόρων του είδους *Origanum vulgare* που βλάστησαν την 5<sup>η</sup> ημέρα μετά την εγκατάσταση των σπόρων (n=7).

Επέμβαση	Συνολική αριθμός σπόρων που βλάστησαν
MS, 3 % σουκρόζη	2,43 b
MS/2, 1,5 % σουκρόζη	21,86 a
<i>Ανάλυση της διασποράς</i>	
Υπόστρωμα	*
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test σε $P=0.05$ . *, **: σημαντικά σε $P=0.05$ , $P=0.01$ , αντίστοιχα, NS: μη σημαντικά σε $P=0.05$ .	

Ο αριθμός των σπόρων που βλάστησαν πέντε ημέρες μετά την βλάστησή τους όπως φαίνεται και από τον πίνακα 2 ήταν χαμηλός, οι σπόροι όμως που βλάστησαν στα υποστρώματα μισής δύναμης MS και 1,5% σουκρόζη ήταν σημαντικά περισσότεροι.

Επίσης το ποσοστό των σπόρων που βλάστησαν την 5<sup>η</sup> ημέρα μετά την εγκατάσταση των σπόρων στα υποστρώματα ήταν σημαντικά υψηλότερο όταν αυτοί καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα μισής δύναμης MS και 1,5% σουκρόζη (Πιν. 3).

Στον πίνακα 4 παρατίθενται τα στοιχεία βλάστησης των σπόρων 9 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στα υποστρώματα.

Παρατηρούμε από τα στοιχεία του πίνακα 4 ότι και την 9<sup>η</sup> ημέρα ο αριθμός των σπόρων που βλάστησαν σε υποστρώματα με πλήρες MS και 3% σουκρόζη ήταν ακόμα χαμηλός.

Στον πίνακα 5 παρατίθεται η επίδραση του υποστρώματος καλλιέργειας στο ποσοστό των βλαστημένων σπόρων ανά τρυβλίο 9 ημέρες μετά την τοποθέτησή τους στα υποστρώματα.

**Πίνακας 4.** Βλάστηση ανά δοχείο καλλιέργειας σπόρων του είδους *Origanum vulgare* που επωάστηκαν στους  $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  με 16h φωτοπερίοδο υπό  $37,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fluorescent συνεχές φως 9 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στο αναγραφόμενο υπόστρωμα καλλιέργειας.

Υπόστρωμα καλλιέργειας	A/A δοχείου	Αριθμός σπόρων που βλάστησαν	Ποσοστό βλάστησης (%)
MS	1	0	0
MS	2	0	0
MS	3	1	17
MS	4	1	17
MS	5	0	0
MS	6	1	17
MS	7	2	34
MS/2	1	3	51
MS/2	2	2	34
MS/2	3	4	68
MS/2	4	1	17
MS/2	5	6	100
MS/2	6	5	84
MS/2	7	1	17

Το ποσοστό των σπόρων που βλάστησαν την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά την εγκατάσταση των σπόρων στα υποστρώματα ήταν σημαντικά πολύ υψηλότερο όταν αυτοί καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα μισής δύναμης MS και 1,5% σουκρόζη (Πιν. 5).

**Πίνακας 5.** Επίδραση του είδους του υποστρώματος ανάπτυξης, στο ποσοστό των σπόρων του είδους *Origanum vulgare* που βλάστησαν την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά την εγκατάσταση των σπόρων (n=7).

Επέμβαση	Συνολική αριθμός σπόρων που βλάστησαν
MS, 3 % σουκρόζη	12,14 a
MS/2, 1,5 % σουκρόζη	53,00 b
<i>Ανάλυση της διασποράς</i>	
Υπόστρωμα	**:
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test σε $P=0.05$ . *, **: σημαντικά σε $P=0.05$ , $P=0.01$ , αντίστοιχα, NS: μη σημαντικά σε $P=0.05$ .	

Στον πίνακα 6 παρατίθενται τα στοιχεία βλάστησης των σπόρων 11 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στα υποστρώματα.

**Πινάκας 6.** Βλάστηση ανά δοχείο καλλιέργειας σπόρων του είδους *Origanum vulgare* που επωάστηκαν στους  $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  με 16h φωτοπερίοδο υπό  $37,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fluorescent συνεχές φως 11 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στο αναγραφόμενο υπόστρωμα καλλιέργειας.

Υπόστρωμα καλλιέργειας	A/A δοχείου	Αριθμός σπόρων που βλάστησαν	Ποσοστό βλάστησης (%)
MS	1	1	17
MS	2	0	0
MS	3	1	17
MS	4	1	17
MS	5	2	34
MS	6	1	17
MS	7	2	34
MS/2	1	3	51
MS/2	2	2	34
MS/2	3	4	68
MS/2	4	1	17
MS/2	5	6	100
MS/2	6	5	84
MS/2	7	1	17

Στον πίνακα 7 παρατίθεται η επίδραση του υποστρώματος καλλιέργειας στο ποσοστό των βλαστημένων σπόρων ανά τρυβλίο 11 ημέρες μετά την τοποθέτησή τους στα υποστρώματα.

**Πίνακας 7.** Επίδραση του είδους του υποστρώματος ανάπτυξης, στο ποσοστό των σπόρων του είδους *Origanum vulgare* που βλάστησαν την 11<sup>η</sup> ημέρα μετά την εγκατάσταση των σπόρων (n=7).

Επέμβαση	Συνολική αριθμός σπόρων που βλάστησαν
MS, 3 % σουκρόζη	19,43 b
MS/2, 1,5 % σουκρόζη	53,00 a
<i>Ανάλυση της διασποράς</i>	
Υπόστρωμα	*
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test σε $P=0.05$ . *, **: σημαντικά σε $P=0.05$ , $P=0.01$ , αντίστοιχα, NS: μη σημαντικά σε $P=0.05$ .	

Οι σπόροι που βλάστησαν στα υποστρώματα μισής δύναμης MS και 1,5% σουκρόζη ήταν σημαντικά περισσότεροι και την 11<sup>η</sup> ημέρα των μετρήσεων (Πίν. 6).

Επίσης το ποσοστό των σπόρων που βλάστησαν την 11<sup>η</sup> ημέρα μετά την εγκατάσταση των σπόρων στα υποστρώματα εξακολουθούσε να είναι σημαντικά υψηλότερο όταν αυτοί καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα μισής δύναμης MS και 1,5% σουκρόζη (Πίν. 7).

Στον πίνακα 8 παρατίθενται τα στοιχεία βλάστησης των σπόρων 13 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στα υποστρώματα.

**Πίνακας 8.** Βλάστηση ανά δοχείο καλλιέργειας σπόρων του είδους *Origanum vulgare* που επωάστηκαν στους  $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  με 16h φωτοπερίοδο υπό  $37,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fluorescent συνεχές φως 13 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στο αναγραφόμενο υπόστρωμα καλλιέργειας.

Υπόστρωμα καλλιέργειας	A/A δοχείου	Αριθμός σπόρων που βλάστησαν	Ποσοστό βλάστησης (%)
MS	1	1	17
MS	2	0	0
MS	3	1	17
MS	4	1	17
MS	5	2	34
MS	6	1	17
MS	7	2	34
MS/2	1	3	51
MS/2	2	2	34
MS/2	3	4	68
MS/2	4	1	17
MS/2	5	6	100
MS/2	6	5	84
MS/2	7	1	17

Στον πίνακα 9 παρατίθεται η επίδραση του υποστρώματος καλλιέργειας στο ποσοστό των βλαστημένων σπόρων ανά τρυβλίο 13 ημέρες μετά την τοποθέτησή τους στα υποστρώματα.

**Πίνακας 9.** Επίδραση του είδους του υποστρώματος ανάπτυξης, στο ποσοστό των σπόρων του είδους *Origanum vulgare* που βλάστησαν την 11<sup>η</sup> ημέρα μετά την εγκατάσταση των σπόρων (n=7).

Επεμβάση	Συνολικός αριθμός σπόρων που βλάστησαν
MS, 3 % σουκρόζη	19,43 b
MS/2, 1,5 % σουκρόζη	53,00 a
<i>Ανάλυση της διασποράς</i>	
Υπόστρωμα	*
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test σε $P=0.05$ . *, **: σημαντικά σε $P=0.05$ , $P=0.01$ , αντίστοιχα, NS: μη σημαντικά σε $P=0.05$ .	

Οι σπόροι που βλάστησαν στα υποστρώματα μισής δύναμης MS και 1,5% σουκρόζη ήταν σημαντικά περισσότεροι και την 13<sup>η</sup> ημέρα των μετρήσεων (Πίν. 8).

Επίσης το ποσοστό των σπόρων που βλάστησαν την 13<sup>η</sup> ημέρα μετά την εγκατάσταση των σπόρων στα υποστρώματα εξακολουθούσε να είναι σημαντικά υψηλότερο όταν αυτοί καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα μισής δύναμης MS και 1,5% σουκρόζη (Πιν. 9).

Στον πίνακα 10 παρατίθενται τα στοιχεία βλάστησης των σπόρων 13 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στα υποστρώματα.

**Πινάκας 10.** Βλάστηση ανά δοχείο καλλιέργειας σπόρων του είδους *Origanum vulgare* που επωάστηκαν στους 20°C±1°C με 16h φωτοπερίοδο υπό 37,5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fluorescent συνεχές φως 30 ημέρες μετά την εγκατάστασή τους στο αναγραφόμενο υπόστρωμα καλλιέργειας.

Υπόστρωμα καλλιέργειας	A/A δοχείου	Αριθμός σπόρων που βλάστησαν	Ποσοστό βλάστησης (%)
MS	1	1	17
MS	2	0	0
MS	3	1	17
MS	4	1	17
MS	5	2	34
MS	6	1	17
MS	7	2	34
MS/2	1	3	51
MS/2	2	2	34
MS/2	3	5	84
MS/2	4	1	17
MS/2	5	6	100
MS/2	6	5	84
MS/2	7	1	17



Οι σπόροι που βλάστησαν στα υποστρώματα μισής δύναμης MS και 1,5% σουκρόζη ήταν σημαντικά περισσότεροι και την 30<sup>η</sup> ημέρα των μετρήσεων (Πίν. 10).

Στον πίνακα 11 παρατίθεται η επίδραση του υποστρώματος καλλιέργειας στο ποσοστό των βλαστημένων σπόρων ανά τρυβλίο 30 ημέρες μετά την τοποθέτησή τους στα υποστρώματα.

**Πίνακας 11.** Επίδραση του είδους του υποστρώματος ανάπτυξης, στο ποσοστό των σπόρων του είδους *Origanum vulgare* που βλάστησαν την 11<sup>η</sup> ημέρα μετά την εγκατάσταση των σπόρων (n=7).

Επέμβαση	Συνολικός αριθμός σπόρων που βλάστησαν
MS, 3 % σουκρόζη	19,43 b
MS/2, 1,5 % σουκρόζη	55,42 a
<i>Ανάλυση της διασποράς</i>	
Υπόστρωμα	*
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test σε $P=0.05$ . *, **: σημαντικά σε $P=0.05$ , $P=0.01$ , αντίστοιχα, NS: μη σημαντικά σε $P=0.05$ .	

Το ποσοστό των σπόρων που βλάστησαν την 30<sup>η</sup> ημέρα μετά την εγκατάσταση των σπόρων στα υποστρώματα παρέμεινε σημαντικά υψηλότερο όταν αυτοί καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα μισής δύναμης MS και 1,5% σουκρόζη μέχρι και το πέρας των μετρήσεων (Πίν. 11).

### 3.2. ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

Στον πολλαπλασιασμό των καλλιιεργειών έκφυτα που προήλθαν από τα σπορόφυτα (Εικόνα 3 και 4), υποκαλλιεργήθηκαν σε υποστρώματα πλήρους δύναμης MS και 3% σουκρόζη, ή σε υποστρώματα μισής δύναμης MS και 1.5% σουκρόζη (Εικόνα 1, 2, και 5). Στη φάση του πολλαπλασιασμού των καλλιιεργειών εκτιμήθηκαν ο αριθμός των βλαστών που σχηματίστηκαν, ο αριθμός των κόμβων που σχηματίστηκαν στους βλαστούς αυτούς, το μήκος των σχηματισθέντων βλαστών και ο αριθμός ριζών.

Στον πίνακα 12 παρατίθεται η επίδραση του υποστρώματος καλλιέργειας στον αριθμό των σχηματισθέντων βλαστών των εκφύτων που αντέδρασαν.

**Πίνακας 12.** Επίδραση του είδους του υποστρώματος ανάπτυξης, στον αριθμό των σχηματισθέντων βλαστών των εκφύτων που αντέδρασαν του είδους *Origanum vulgare* (n=68).

Επέμβαση	Συνολική αριθμός σπόρων που βλάστησαν
MS, 3 % σουκρόζη	2,07 b
MS/2, 1,5 % σουκρόζη	1,28 a
<i>Ανάλυση της διασποράς</i>	
Υπόστρωμα	**
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test σε $P=0.05$ . *, **: σημαντικά σε $P=0.05$ , $P=0.01$ , αντίστοιχα, NS: μη σημαντικά σε $P=0.05$ .	

Ο αριθμός των βλαστών που σχηματίστηκαν ήταν σημαντικά πολύ υψηλότερος όταν τα έκφυτα καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα πλήρους δύναμης MS και 3 % σουκρόζη (Πιν. 12).

Στον πίνακα 13 παρατίθεται η επίδραση του υποστρώματος καλλιέργειας στο μέσο όρο των κόμβων που σχηματίστηκαν ανά σχηματισθέντα βλαστό.

**Πίνακας 13.** Επίδραση του είδους του υποστρώματος ανάπτυξης, στο μέσο όρο αριθμό των κόμβων ανά σχηματισθέντα βλαστό του είδους *Origanum vulgare* (n=68).

Επέμβαση	Συνολική αριθμός σπόρων που βλάστησαν
MS, 3 % σουκρόζη	5,50 a
MS/2, 1,5 % σουκρόζη	4,39 a
<i>Ανάλυση της διασποράς</i>	
Υπόστρωμα	NS
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test σε $P=0.05$ . *, **: σημαντικά σε $P=0.05$ , $P=0.01$ , αντίστοιχα, NS: μη σημαντικά σε $P=0.05$ .	

Ο μέσος όρος των κόμβων που σχηματίστηκαν ανά βλαστό που εκπύχθηκε δεν διαφοροποιήθηκε στα δύο υποστρώματα που καλλιεργήθηκαν τα έκφυτα (Πιν. 13).

Στον πίνακα 14 παρατίθεται η επίδραση του υποστρώματος καλλιέργειας στο μήκος των βλαστών που σχηματίστηκαν.

**Πίνακας 14.** Επίδραση του είδους του υποστρώματος ανάπτυξης, στο μήκος των βλαστών που σχηματίστηκαν του είδους *Origanum vulgare* (n=68).

Επέμβαση	Συνολική αριθμός σπόρων που βλάστησαν
MS, 3 % σουκρόζη	5,02 a
MS/2, 1,5 % σουκρόζη	3,96 a
<i>Ανάλυση της διασποράς</i>	
Υπόστρωμα	NS
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test σε $P=0.05$ . *, **: σημαντικά σε $P=0.05$ , $P=0.01$ , αντίστοιχα, NS: μη σημαντικά σε $P=0.05$ .	

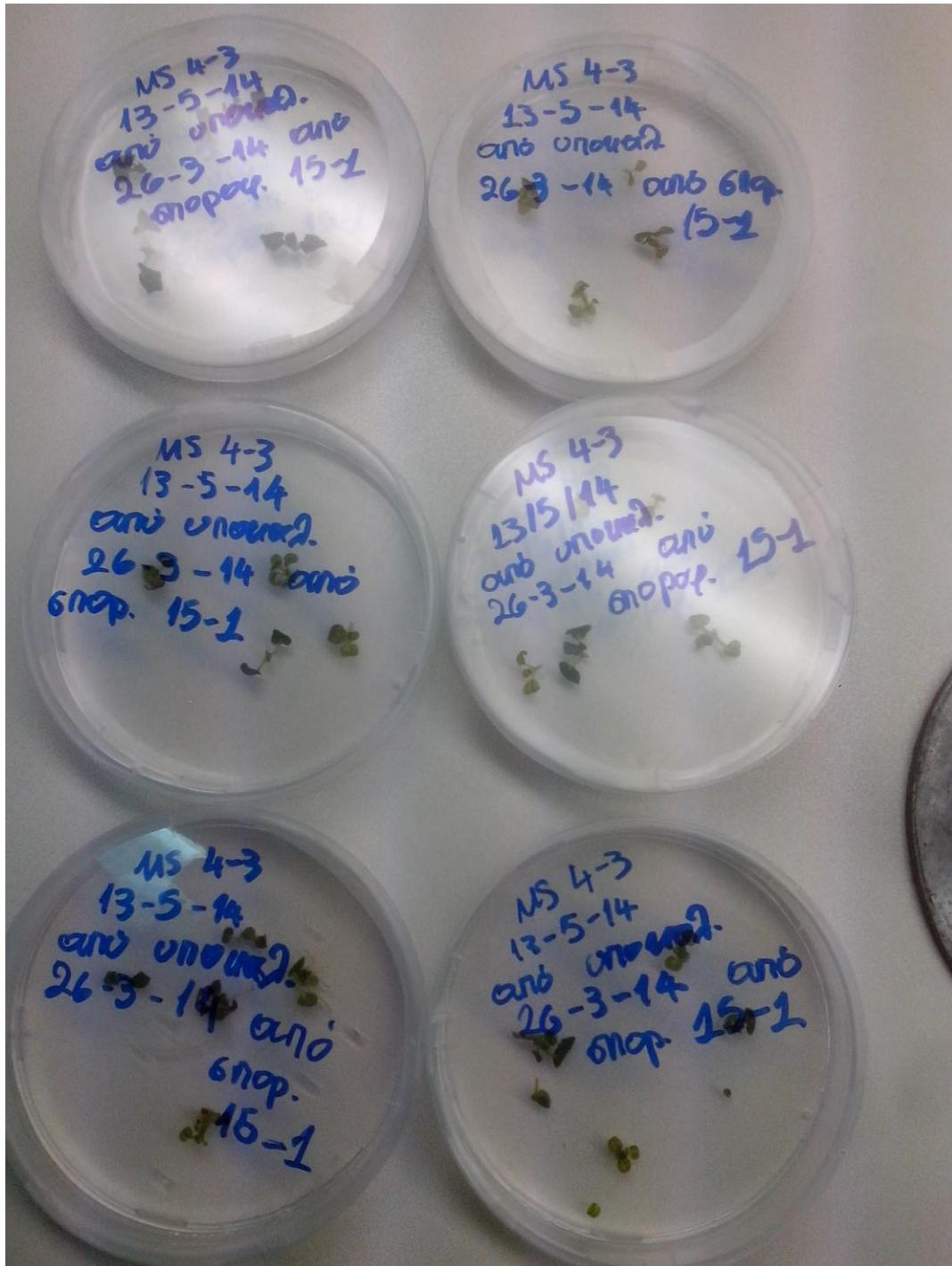
Το μήκος των σχηματισθέντων βλαστών δεν επηρεάστηκε από το υπόστρωμα καλλιέργειας των εκφύτων (Πιν. 14).

Στον πίνακα 15 παρατίθεται η επίδραση του υποστρώματος καλλιέργειας στο μήκος των βλαστών που σχηματίστηκαν.

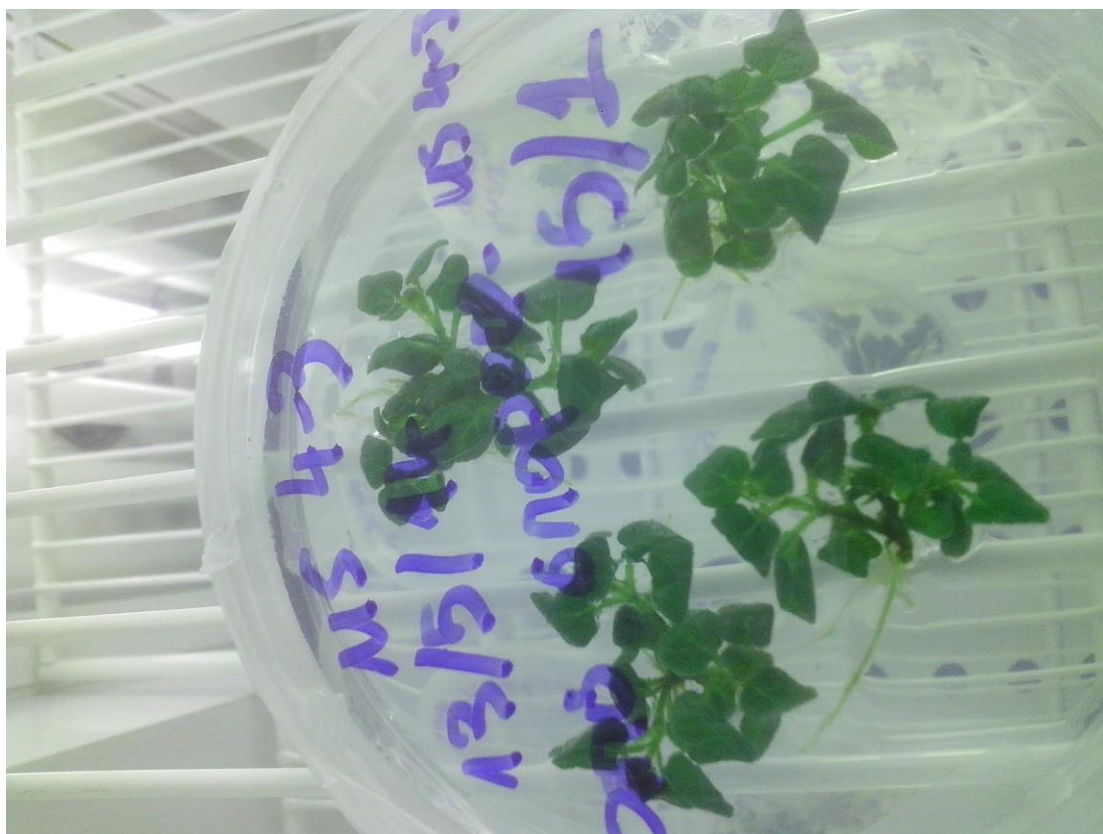
**Πίνακας 15.** Επίδραση του είδους του υποστρώματος ανάπτυξης, στον αριθμό των ριζών που σχηματίστηκαν σε βλαστούς του είδους *Origanum vulgare* (n=68).

Επέμβαση	Συνολική αριθμός σπόρων που βλάστησαν
MS, 3 % σουκρόζη	3,50 a
MS/2, 1,5 % σουκρόζη	3,25 a
<i>Ανάλυση της διασποράς</i>	
Υπόστρωμα	NS
Οι μέσοι των επεμβάσεων διαχωρίζονται με το Student's test σε $P=0.05$ . *, **: σημαντικά σε $P=0.05$ , $P=0.01$ , αντίστοιχα, NS: μη σημαντικά σε $P=0.05$ .	

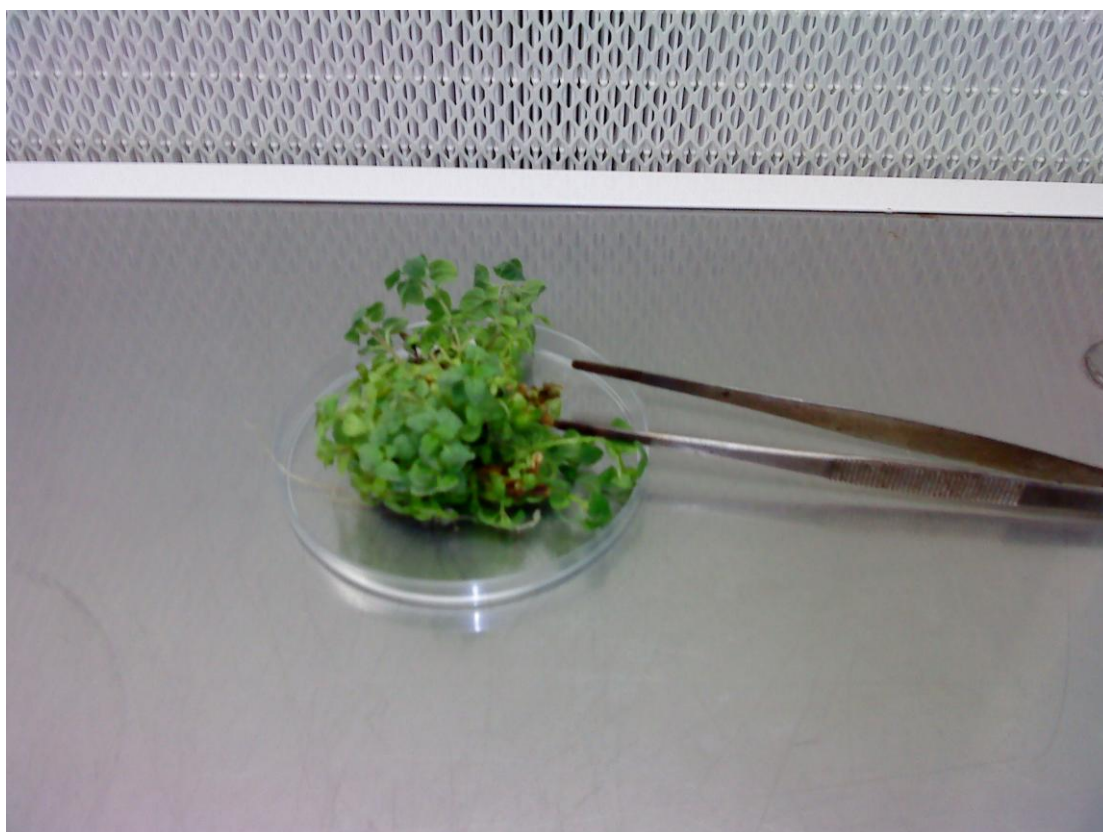
Ο αριθμός των ριζών που σχηματίστηκαν σε βλαστούς του είδους *Origanum vulgare* που σχηματίστηκαν *in vitro* δεν επηρεάστηκε από το υπόστρωμα καλλιέργειας που σχηματιστήκαν αυτοί (Πιν. 15).



Εικόνα 1. Έκφυτα του είδους που υποκαλλιεργήθηκαν και τοποθετήθηκαν σε υπόστρωμα πλήρους δύναμης MS και 3% σουκρόζη.

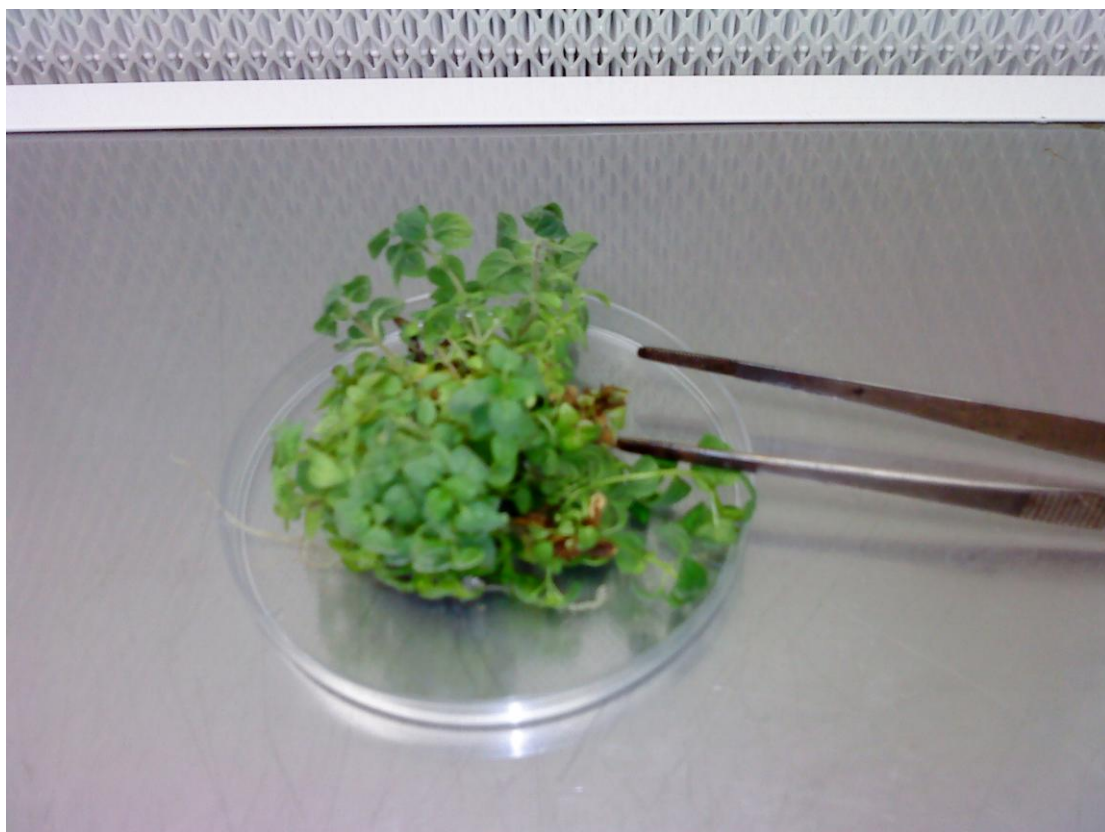


Εικόνα 2. Φυτάρια του είδους που αναπτυχτήκαν σε υπόστρωμα πλήρους δύναμης MS και 3% σουκρόζη

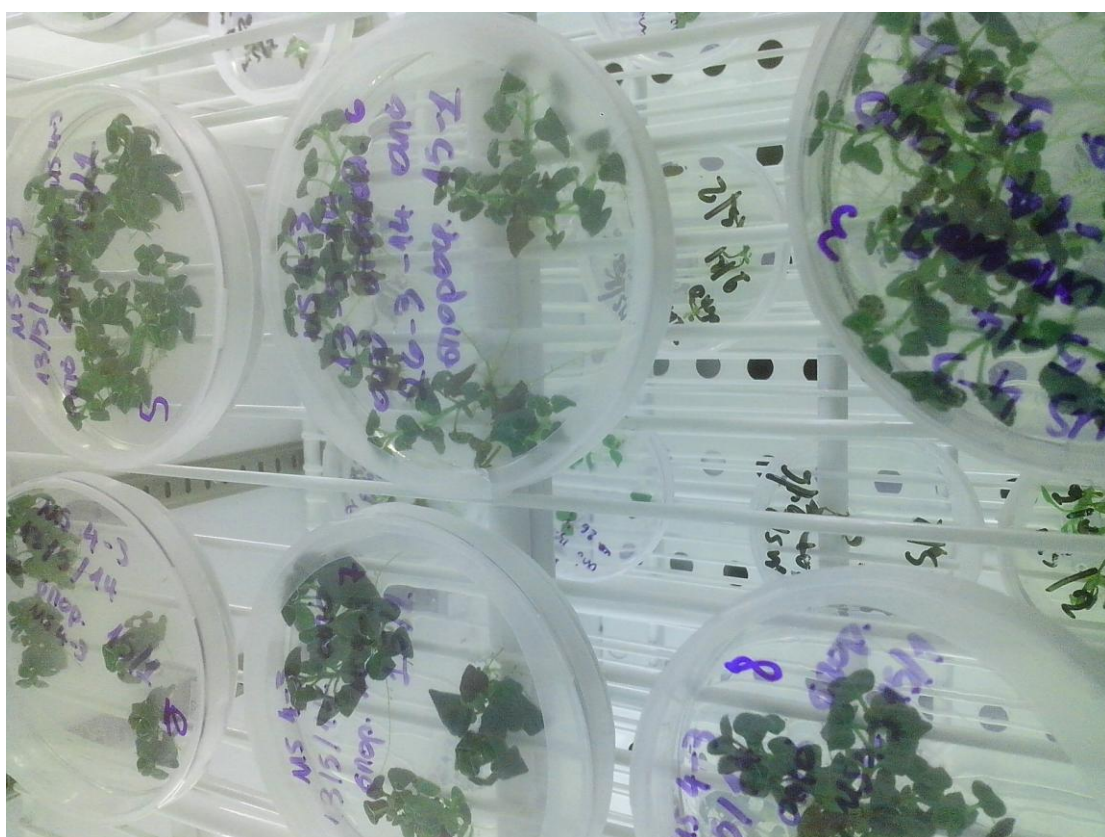


Εικόνα 3. Ανεπτυγμένο σπορόφυτο του είδους *Origanum vulgare*.





Εικόνα 4 Ανεπτυγμένο σπορόφυτο του είδους *Origanum vulgare*.



Εικόνα 5 Ανεπτυγμένα φυτάρια του είδους *in vitro*

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

### 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η βλάστηση των σπόρων σε υποστρώματα μισής δύναμης MS και 1.5% σουκρόζη επιτεύχθηκε σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό και σε συντομότερο χρονικό διάστημα από την καλλιέργεια σε υποστρώματα με πλήρες δύναμης MS.

Όσον αφορά τον πολλαπλασιασμό των καλλιεργειών σημαντικά υψηλότερος μέσο αριθμός βλαστών εκπτύχθηκαν όταν τα έκφυτα καλλιεργήθηκαν σε υποστρώματα πλήρους δύναμης MS και 3% σουκρόζη.

Ο αριθμός των κόμβων που σχηματίστηκαν (σημαντικός δείκτης που επηρεάζει τον ρυθμό πολλαπλασιασμού), το μήκος των σχηματισθέντων βλαστών, καθώς και ο αριθμός των ριζών που σχηματίστηκαν δεν επηρεάστηκαν από το είδος του υποστρώματος καλλιέργειας.

Χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για να εξακριβωθεί εάν ο μειωμένο αριθμός σχηματισθέντων βλαστών οφείλεται στην μείωση της συγκέντρωσης του MS ή της σουκρόζης. Επίσης χρειάζεται περαιτέρω έρευνα στην μελέτη της επίδρασης του υποστρώματος προέλευσης των εκφύτων στην περαιτέρω ανάπτυξη τους.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Zobayed, S.M.A., Afreen-Zobayed, F., Kubota, C. and Kozai, T., 2000. Mass Propagation of *Eucalyptus camaldulensis* in a Scaled-up Vessel Under *in vitro* Photoautotrophic Condition. *Annals of botany* 85: 587-592.

Zobayed, S.M.A., Armstrong, J. and Armstrong, W., 2001. Micropropagation of Potato: Evaluation of Closed, Diffusive and Forced Ventilation on Growth and Tuberization. *Annals of Botany* 87: 53-59.

Αθανασιάδης, Ν. 1986. Δασική Βοτανική (Δένδρα και θάμνοι των δασών της Ελλάδος) Μέρος ΙΙ. Εκδόσεις Γιαχούδη – Γιαπούλη Θεσσαλονίκη, σελ. 70-88.

Βολιώτης, Δ. και Αθανασιάδης, Ν. 1990. Δένδρα και θάμνοι. Πανεπιστημιακό Σύγγραμμα, Αθήνα σελ. 171.

Σφήκας, Γ., 1997. Τα ενδημικά φυτά της Ελλάδος. Εκδόσεις Μπάστας-Πλέσσας. Αθήνα, σελ. 97.

#### Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία

[http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/index.php/%CE%9C%CE%AD%CE%B8%CE%BF%CE%B4%CE%BF%CE%B9\\_%CF%80%CE%BF%CE%BB%CE%BB%CE%B1%CF%80%CE%BB%CE%B1%CF%83%CE%B9%CE%B1%CF%83%CE%BC%CE%BF%CF%8D\\_%CE%B1%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B9%CE%BA%CF%8E%CE%BD\\_%CF%86%CE%B1%CF%81%CE%BC%CE%B1%CE%BA%CE%B5%CF%85%CF%84%CE%B9%CE%BA%CF%8E%CE%BD\\_%CE%B5%CE%B9%CE%B4%CF%8E%CE%BD](http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/index.php/%CE%9C%CE%AD%CE%B8%CE%BF%CE%B4%CE%BF%CE%B9_%CF%80%CE%BF%CE%BB%CE%BB%CE%B1%CF%80%CE%BB%CE%B1%CF%83%CE%B9%CE%B1%CF%83%CE%BC%CE%BF%CF%8D_%CE%B1%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B9%CE%BA%CF%8E%CE%BD_%CF%86%CE%B1%CF%81%CE%BC%CE%B1%CE%BA%CE%B5%CF%85%CF%84%CE%B9%CE%BA%CF%8E%CE%BD_%CE%B5%CE%B9%CE%B4%CF%8E%CE%BD)