

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΜΥΛΩΝ ΧΑΜΗΛΟΥ ΚΟΣΤΟΥΣ ΣΤΗΝ
IN VITRO ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ
ΜΠΑΝΑΝΑΣ (*MUSA SPP*).

ΧΑΤΖΗΔΑΚΗ ΕΛΕΝΗ

Εισηγήτρια: Δρ. Γ. ΓΡΑΜΜΑΤΙΚΑΚΗ - ΑΥΓΕΛΗ

Ηράκλειο 2008

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελ.

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1	ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	5
1.1	Καταγωγή και διάδοση.....	5
1.2	Βοτανική ταξινόμηση.....	6
2	Η ΜΠΑΝΑΝΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΟΝ ΚΟΣΜΟ	7
2.1	Κατανομή των καλλιεργούμενων εκτάσεων και της παγκόσμιας παραγωγής.....	7
3	Η ΜΠΑΝΑΝΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	10
3.1	Η μπανανοκαλλιέργεια στην Κρήτη.....	10
3.2	Καλλιεργούμενες εκτάσεις και παραγωγή.....	10
4	ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ.....	12
4.1	Εδαφος.....	12
4.2	Αρδευση	12
4.3	Λίπανση.....	13
4.4	Κλάδευμα.....	14
5	ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΜΠΑΝΑΝΑΣ.....	14
5.1	Ποικιλίες για εδώδιμη χρήση.....	15
5.2	Ποικιλίες για παραγωγή αμύλου	17
6	ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΠΟΥ ΠΡΟΣΒΑΛΟΥΝ ΤΗΝ ΜΠΑΝΑΝΑ.....	17
6.1	Βακτήρια.....	18
6.2	Μύκητες.....	18
6.3	Νηματώδεις.....	20
6.4	Ιοί.....	20
7	ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ (Π.Υ).....	21
7.1	Σωμακλωνική παραλλακτικότητα σε Π.Υ. μπανάνας προερχόμενο από ιστοκαλλιέργεια.....	21
7.1.1	Παράγοντες που επιδρούν στην εμφάνιση της σωμακλωνικής παραλακτικότητας.....	22
7.1.1.1	Πηγή προέλευσης του καλλιεργούμενου εκφύτου.....	22
7.1.1.2	Αριθμός υποκαλλιεργειών.....	22
7.1.1.3	Ρυθμιστές αύξησης.....	22
7.1.1.4	Γονότυπος του φυτού “δωρητή”	23

7.2	Τεχνικές πολλαπλασιασμού της μπανάνας.....	23
7.2.1	Παραφυάδες-ριζώματα (<i>in vivo</i> πολλαπλασιασμός.....	23
7.2.2	Παραγωγή Π.Υ. με <i>in vitro</i> τεχνική.....	24
7.2.2.1	Επιλογή μητρικών φυτών-“δωρητών”.....	24
7.2.2.2	Προετοιμασία παραφυάδων.....	25
7.2.2.3	Καλλιέργεια εκφύτων σε <i>in vitro</i> συνθήκες.....	25
7.2.2.4	Πολλαπλασιασμός των τυχαίων οφθαλμών.....	25
7.2.2.5	Αναγέννηση των <i>in vitro</i> -φυταρίων.....	26
7.2.2.6	Εγκλιματισμός των <i>in vitro</i> -φυταρίων.....	26
7.3	Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των <i>in vitro</i> -φυταρίων που αξιοποιούνται ως Π.Υ.....	26

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	30
2	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	32
2.1	Φυτικό υλικό έναρξης.....	32
2.2	Έλεγχος φυτουγείας του φυτικού υλικού έναρξης.....	32
2.3	Προετοιμασία των ριζωμάτων – παραφυάδων.....	33
2.3.1	Προετοιμασία του θρεπτικού υποστρώματος.....	35
2.4	Καλλιέργεια των εκφύτων -ριζωμάτων σε <i>in vitro</i> συνθήκες.....	37
2.4.1	Προετοιμασία θρεπτικών υποστρωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα.....	38
2.4.2	Καλλιέργεια των εκφύτων στα οχτώ διαφορετικά υποστρώματα....	39
2.5	Καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών.....	40
2.6	Προσδιορισμός χλωρού και ξηρού βάρους.....	40
3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	42
3.1	Αξιολόγηση της επίδρασης διαφορετικών θρεπτικών υποστρωμάτων στην <i>in vitro</i> καλλιέργεια της ποικιλίας Grand Naine.....	42
3.1.1	Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην <i>in vitro</i> παραγωγή βλαστών.....	42
3.1.2	Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην <i>in vitro</i> παραγωγή ριζών.....	44
3.1.3	Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην ανάπτυξη του βλαστού.....	46

3.1.4	Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην ανάπτυξη των ριζών.....	48
3.1.5	Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην παραγωγή χλωρού βάρους.....	50
3.1.6	Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην παραγωγή ξηρού βάρους.....	52
3.2	Αξιολόγηση της παραλλακτικότητας της ποικιλίας Grand Naine μεταξύ των 5 επεμβάσεων.....	54
3.3	Αξιολόγηση του κόστους των θρεπτικών υποστρωμάτων.....	56
3.4	Συμπεράσματα.....	60
4	Βιβλιογραφία.....	63
5	Παράρτημα.....	67

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

1.1. Καταγωγή και διάδοση

Η μπανάνα είναι φυτό των τροπικών κλιμάτων, παρ'όλα αυτά καλλιεργείται και σε αρκετές θερμές υποτροπικές περιοχές, όπως η Αυστραλία, το Μαρόκο, η Ν. Αφρική, η Αίγυπτος, τα Κανάρια νησιά και η Φλώριδα, όπου η καλλιέργειά της γίνεται κυρίως σε πλαστικά ή γυάλινα θερμοκήπια. Η μπανάνα είναι μια πολύ σημαντική πηγή τροφής σε πολλές περιοχές της Αφρικής, της Νότιας Ινδίας και σε ολόκληρη την τροπική Αμερική, εξ' αιτίας του εύκολου τρόπου καλλιέργειάς της και της υψηλής θρεπτικής αξίας του καρπού της.

Οι σύγχρονες εδώδιμες ποικιλίες μπανάνας είναι υβρίδια φυσικής διασταύρωσης των άγριων και μη εδώδιμων προγόνων τους που κατάγονται από την Ν. Ανατολική Ασία και τον Ειρηνικό. Μέσω των ταξιδιωτών της εποχής οι μπανάνες μεταφέρθηκαν στην Ινδία, όπου υπήρξε η αρχαιότερη γνωστή καλλιέργεια μπανάνας πριν από 2500 χρόνια. Κατά την διάρκεια της εκστρατείας του στην Ινδία (327 π.Χ.) ο Μ. Αλέξανδρος γεύτηκε τον τροπικό καρπό, γοητεύτηκε και τον έκανε γνωστό στην Δύση. Στην Αφρική η καλλιέργεια της μπανάνας έφθασε μέσω της Μαδαγασκάρης, την εξάπλωση της στην Μαύρη Ήπειρο (650 μ.Χ.) την πιστώνονται οι Άραβες δουλέμποροι που ταυτόχρονα με το φιλανθρωπικό τους έργο επιδίδονταν και στο εμπόριο του ελεφαντόδοντου. Οι ίδιοι πιστώνονται και την ονομασία του καρπού *banana* (δάχτυλο στα αραβικά, επειδή οι ποικιλίες της εποχής έδιναν μικρούς καρπούς).

Το 1402 οι Πορτογάλοι εξερευνητές μετέφεραν τα τροπικά αυτά φρούτα από τη Γουινέα στα Κανάρια νησιά και από εκεί συνέχισαν το ταξίδι τους για την Λατινική Αμερική, με πρώτο σταθμό το νησί Santo Domingo της Καραϊβικής το 1516. Στα τέλη του 19^{ου} αιώνα η μπανάνα γίνεται δημοφιλής στην βόρεια Αμερική και ο εμπορικός της θρίαμβος είναι συνυφασμένος με την ίδρυση της United fruit company της σημερινής Chiquita. Τον 20^ο αιώνα η καλλιέργεια της μπανάνας και του καφέ αποτελεί την βάση της οικονομίας και την συντριπτική πλειονότητα των εξαγωγών των χωρών της κεντρικής Αμερικής, κυρίως της Κόστα Ρίκα, της Ονδούρας και του Παναμά.

Στην Ευρώπη η μπανάνα έγινε ευρέως γνωστή μετά την ανακάλυψη της Αμερικής. Η καλλιέργεια της μπανάνας στην Ελλάδα εμφανίστηκε για πρώτη φορά στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, όπου εισήχθη στην Κρήτη από την Αίγυπτο πριν 80 περίπου χρόνια και σε μια δεκαετία έγινε γνωστή σε όλα τα παράλια της νοτίου Ελλάδος.

1.2. Βοτανική ταξινόμηση

Η μπανάνα ανήκει στην οικογένεια Musaceae, η οποία περιλαμβάνει τα γένη *Ensete* και *Musa*. Το γένος *Ensete* περιλαμβάνει οχτώ είδη, καλλιεργείται στην νότια Αιθιοπία και αξιοποιείται ως βασική τροφή. Μόνο δυο (*Ensete Ventricosum* και *Ensete Edule*) από τα οχτώ είδη του γένους *Ensete* έχουν οικονομική σημασία. Εντός του γένους *Musa* αναγνωρίζονται πέντε διαιρέσεις (*Ingentimusa*, *Australimusa*, *Callimusa*, *Eumusa* και *Rhodochlamys*), οι οποίες με πρόσφατες ταξινομήσεις (2002) περιορίστηκαν σε τέσσερις (*Australimusa*, *Callimusa*, *Eumusa* και *Rhodochlamys*). Το *Eumusa* περιλαμβάνει οχτώ είδη (προορίζονται για εδώδιμη χρήση), από τα οποία το *Musa acuminata* και *Musa balbisiana* είναι τα σημαντικότερα και περισσότερο διαδεδομένα. Στο *M. balbisiana* δεν υπάρχουν υποείδη που να έχουν περιγραφεί, ωστόσο η απόκλιση μέσα στα είδη αυτά είναι μεγάλη (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Συστηματική ταξινόμηση της οικογένειας *Musaceae*

Γένος	No χρωμ/άτων	Διαιρέσεις	No ειδών	Είδη	Χρήσεις
<i>Ensete</i>	9	-	7-8	<i>E. ventricosum</i> <i>E. edule</i>	άμυλο, ίνες, λαχανοκομικό
<i>Musa</i>	10	<i>Australimusa</i>	5-6	<i>M. textiles</i> <i>M. troglodytarum</i>	ίνες φρούτα
	10	<i>Callimusa</i>	5-6	<i>M. coccinea</i>	καλλωπιστικό
	11	<i>Eumusa</i>	8	<i>M. basjoo</i> <i>M. balbisiana</i> <i>M. acuminata</i>	ίνες Φρούτα Φρούτα
	11	<i>Rhodochlamys</i>	5-6	<i>M. ornata</i>	καλλωπιστικό
	14	<i>Ingentimusa</i>	1	<i>M. ingens</i>	

Οι εδώδιμες μπανάνες ανήκουν στο *Eumusa* και μπορεί να έχουν $2N=nn=22$ χρωμοσώματα ή $3N=nn=33$ χρωμοσώματα ή $4N=nn=44$ χρωμοσώματα. Τα τριπλοειδή σχήματα είναι τα περισσότερα και ευρύτατα καλλιεργούμενα, τα διπλοειδή καλλιεργούνται τοπικά, ενώ τα τετραπλοειδή είναι σπάνια. Οι μπανάνες είναι ψηλά φυτά και μπορούν να φτάσουν μέχρι και τα 15 μέτρα. Ο κορμός διαμορφώνεται από τα φύλλα, τα οποία τοποθετούνται το ένα πάνω στο άλλο με αποτέλεσμα την δημιουργία ενός ψεύτικου κορμού ή “ψευδοβλαστού”. Τα άνθη ενώνονται σε ομάδες και συγκροτούν την ταξιανθία, που προβάλλει όρθια από το κέντρο του “ψευδοβλαστού” και γέρνει προς το έδαφος. Οι ομάδες των ανθέων “τσαμπιά” είναι διατεταγμένες σε 2 σειρές και αποτελούνται από θηλυκά και αρσενικά άνθη. Τα αρσενικά άνθη βρίσκονται στο πάνω μέρος της “επάνθισης”, ενώ τα θηλυκά στο κάτω, τα οποία όταν ωριμάζουν παράγουν καρπούς.

2. Η ΜΠΑΝΑΝΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΟΝ ΚΟΣΜΟ

2.1. Κατανομή των καλλιεργούμενων εκτάσεων και της παγκόσμιας παραγωγής

Οι μπανάνες καλλιεργούνται σε 123 χώρες και καταλαμβάνουν περίπου 4,5 εκ. εκτάρια (πηγή FAO, 2004). Η καλλιέργεια επικεντρώνεται κυρίως στην Ν. Ανατολική και Α. Ασία, στην Αφρική, στην Ν. Αμερική και στα Ινδικά νησιά, όπου συγκεντρώνεται περίπου το 50 % της παγκόσμιας παραγωγής (Εικόνα 1).

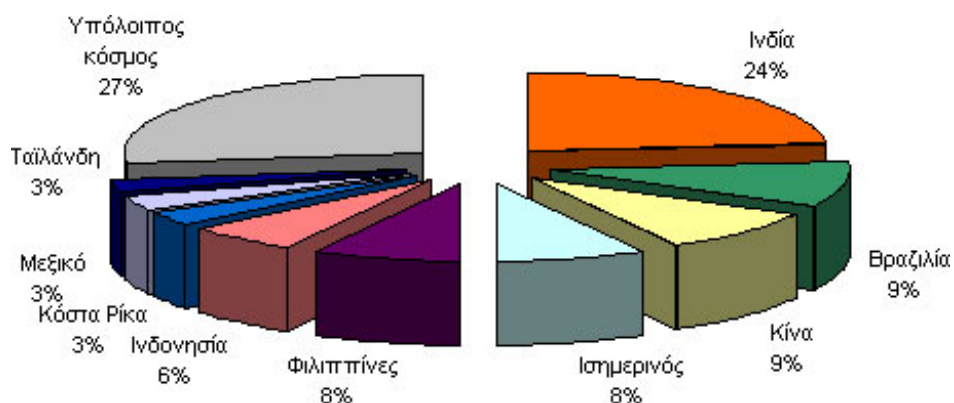


Εικόνα 1. Οι σπουδαιότερες χώρες παραγωγής μπανάνας (FAO, 2004)

Την τελευταία δεκαετία η παγκόσμια παραγωγή μπανάνας έχει αυξηθεί περίπου κατά 30-40% με μεγαλύτερη αύξηση να καταγράφεται στην Κίνα (116%), στις Φιλιππίνες (60%) και στην Ινδία (39%). Η παγκόσμια ετήσια παραγωγή μπανάνας υπολογίζεται στα 97,5 εκατ. τόνους. Η Ινδία θεωρείται η μεγαλύτερη παραγωγός χώρα, η οποία παράγει περίπου 24% της παγκόσμιας παραγωγής. Ακολουθούν η Βραζιλία (9%), η Κίνα (9%), ο Ισημερινός (8%), οι Φιλιππίνες (8%) (Food & Agriculture Organisation, 2004) (Πίνακας 2, Εικόνα 2).

Πίνακας 2. Μπανανοπαραγωγή έτους 2005, προερχόμενη από ένδεκα χώρες του κόσμου

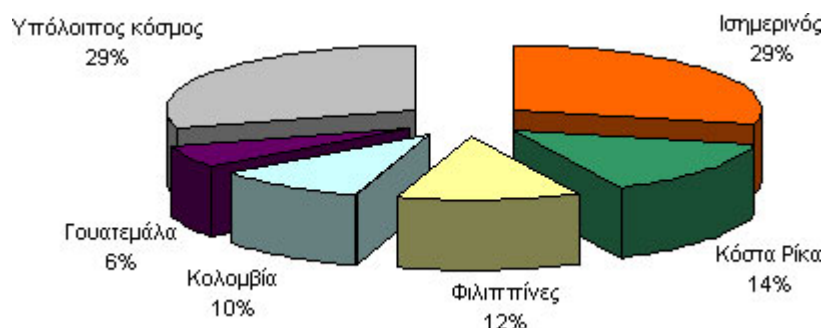
α/α	Χώρα παραγωγής	Παραγωγή σε εκ. μετρικούς τόνους
1	Ινδία	16,8
2	Βραζιλία	6,7
3	Κίνα	6,4
4	Ισημερινός	5,9
5	Φιλιππίνες	5,8
6	Ινδονησία	4,5
7	Κόστα Ρίκα	2,2
8	Μεξικό	2,0
9	Ταϊλάνδη	2,0
10	Κολομβία	1,6
11	Μπουρούντι	1,6



Εικόνα 2. Κατανομή της παγκόσμιας μπανανοπαραγωγής (FAO, 2004)

Όσον αφορά τις εξαγωγές, οι μεγαλύτερες χώρες εξαγωγής μπανάνας θεωρούνται ο Ισημερινός, αντιπροσωπεύει το 29% των

παγκόσμιων εξαγωγών, η Κόστα Ρίκα το 14%, οι Φιλιππίνες το 12% και η Κολομβία το 10% (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Οι σπουδαιότερες χώρες εξαγωγής μπανάνας (περίοδος 1999-2003)

Αξίζει να σημειωθεί ότι αρκετές χώρες εξαρτώνται οικονομικά από την μαπανανοκαλλιέργεια, η οποία συνεισφέρει σημαντικά στην απόκτηση του πολύτιμου συναλλάγματος (π.χ στην Κόστα Ρίκα οι μπανάνες αντιπροσωπεύουν το 20% της συνολικής αξίας των εξαγωγών).

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση η καλλιέργεια της μπανάνας καταλαμβάνει σημαντικές εκτάσεις με αποτέλεσμα να καλύπτει το 15-20% των μπανανών που είναι απαραίτητες για τις ανάγκες της. Στον Πίνακα 3 αναγράφονται οι σπουδαιότερες μπανανοπαραγωγικές χώρες της Ε.Ε, όπου την πρώτη θέση καταλαμβάνει η Ισπανία και την τελευταία η Ελλάδα.

Πίνακας 3. Οι σπουδαιότερες χώρες παραγωγής μπανάνας στην Ε.Ε από το 1993-2000

Χώρες παραγωγοί	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Ελλάδα	7233	3071	3138	3807	3901	3589	3336	3275
Ισπανία	330875	321555	369387	345943	403999	437414	362188	397578
Γαλλία	279837	234130	251280	310652	374747	314793	342009	358861
Μαρτινίκα	180861	151965	188073	249733	277013	240499	258501	271269
Γουαδελούπη	98976	82165	63207	60919	97734	74294	83508	87592
Πορτογαλία	25746	25866	34401	24203	27890	30436	21771	22461

3. Η ΜΠΑΝΑΝΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Στην Ελλάδα υπάρχουν περιοχές όπου επικρατούν ευνοϊκές συνθήκες και κατάλληλο περιβάλλον για την καλλιέργεια και την παραγωγή μπανάνας όπως είναι ο κάμπος του Αργους, του Ναυπλίου, της Μεσσήνης στην Πελοπόννησο, τα παράλια των νότιων Κυκλάδων, κυρίως όμως τα παράλια της Ν. Κρήτης.

3.1. Η μπανοκαλλιέργεια στην Κρήτη

Η Κρήτη διαθέτει τις καταλληλότερες συνθήκες, λόγω της γεωγραφικής της γειτνίασης με την μητρική χώρα καλλιέργειας και παραγωγής μπανάνας την Αίγυπτο. Η Κρητική μπανάνα εμφανίζεται για πρώτη φορά στην περιοχή της Άρβης, όπου καλλιεργήθηκε από τους μοναχούς της Μονής Αγίου Αντωνίου, οι οποίοι την έφεραν από ένα ταξίδι τους στην Αίγυπτο (1925 -1927). Αρχικά καλλιεργήθηκε ως καλλωπιστικό φυτό στο μοναστήρι του Αγίου Αντωνίου, με αποτέλεσμα να καρποφορήσει στην εύφορη αυτή γη με το ημιτροπικό κλίμα και από τότε μέχρι σήμερα να γνωρίσει μεγάλες δόξες, αλλά και πολλά προβλήματα. Στη συνέχεια η καλλιέργεια της μπανάνας επεκτάθηκε σε όλη την εύφορη κοιλάδα της Άρβης και αργότερα διαδόθηκε και σε άλλα μέρη της Κρήτης (Μάλλια, Σητεία, Ρέθυμνο, Ιεράπετρα και Χανιά). Στην αρχή η καλλιέργειά της, αλλά και η διακίνησή της γινόταν κάτω από δύσκολες συνθήκες πράγμα που επιβάρυνε την ποιότητα και επιβράδυνε την έγκαιρη πώληση της. Με τον καιρό όμως η καλλιέργεια αναπτύχθηκε με αλματώδη ταχύτητα με αποτέλεσμα την αύξηση του εισοδήματος των καλλιεργητών και την αύξηση του βιοτικού επιπέδου ζωής στις περιοχές αυτές.

3.2. Καλλιεργούμενες εκτάσεις και παραγωγή

Από μια ιστορική διαδρομή που αφορά την εξέλιξη της μπανανοκαλλιέργειας στην Κρήτη προκύπτει ότι το 1950 συστηματοποιήθηκε η καλλιέργεια στην Άρβη και επεκτάθηκε στις περιοχές Τέρτσα Συκολόγου, Μύρτος, Καλό Χωριό Μεραμβέλου, Μάλλια. Το 1960 η καλλιεργούμενη έκταση υπολογίζεται στα 1.230 στρέμματα, όμως στις περιόδους 1964-66 και 1976-78 η μπανάνα περνάει μια σοβαρή κρίση με

αποτέλεσμα τις μαζικές εκριζώσεις. Το 1977 καλλιεργήθηκε για πρώτη φορά στο θερμοκήπιο, ενώ την ίδια χρονιά στο Νομό Ηρακλείου η υπαίθρια καλλιέργεια έφθασε τα 2.000 στρ. Το 1980 στον ίδιο νομό η καλλιέργεια στο θερμοκήπιο έφθασε τα 75 στρ., ενώ η υπαίθρια τα 2.400 στρ. και η ετήσια παραγωγή ξεπερνάει τους 25.000 τόνους. Το 1986 στον ίδιο νομό σημειώνεται αύξηση των καλλιεργούμενων εκτάσεων στο θερμοκήπιο, οι οποίες φθάνουν τα 1.600 στρ., ενώ η υπαίθρια μειώνεται στα 1.700 στρ. Το 1990 η θερμοκηπιακή καλλιέργεια φτάνει τα 3.980 στρ., η υπαίθρια τα 987 στρ., ενώ εκείνη με αντιανεμικό δίκτυο τα 183 στρ. Τις δεκαετίες 1990 και 2000 αυξήθηκαν σημαντικά οι θερμοκηπιακές καλλιέργειες (με σταδιακή μείωση της υπαίθριας καλλιέργειας), αλλά και οι στρεμματικές αποδόσεις, γεγονός που οφείλεται τόσο στη βελτίωση των τεχνικών καλλιέργειας, όσο και στη χρησιμοποίηση υγιούς Πολλαπλασιαστικού Υλικού (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Στοιχεία μπανανοκαλλιέργειας στην Κρήτη (Αρβη, Ρέθυμνο, Μάλια και Σητεία) τα έτη 2004 και 2005

Α/Α	Περιοχές	Καλλιεργούμενη έκταση (στρέμματα)			Παραγωγή	Παραγωγή
		Υπό κάλυψη	Υπαίθρια	Σύνολο	2004	2005
1	ΑΡΒΗ	214,56	138,87	353,43	1.927.213	2.167.000
2	ΡΕΘΥΜΝΟ	16,0	0,0	16,0	92.613	95.000
3	ΜΑΛΙΑ	155,8	0,0	155,8	801.806	892.600
4	ΣΗΤΕΙΑ	28,30	0,00	28,30	96.238	129.000
	Σύνολο	414,66	138,87	553,53	2.917.870	3.283.600

Το 1989 εξαιτίας της παγκοσμιοποίησης υπήρξε σοβαρό πλήγμα από την εισαγωγή ξένης μπανάνας με αποτέλεσμα η ντόπια παραγωγή να μείνει αδιάθετη. Οι μπανανοκαλλιεργητές αναγκάζονται να προχωρήσουν σε εγκατάλειψη ή και εκρίζωση μεγάλου τμήματος των καλλιεργειών τους, αξίζει να αναφερθεί ότι σε διάστημα ενός έτους εκριζώθηκε περίπου το 90% των συνολικών καλλιεργούμενων εκτάσεων.

Η μεγάλη απώλεια του προϊόντος, αλλά και η δυσκολία διάθεσής του δραστηριοποιεί τους παραγωγούς της Άρβης με αποτέλεσμα το 1990 να ιδρύσουν το Συνεταιρισμό κοινής πώλησης μπανανών μπανανοπαραγωγών Ελλάδος. Ο ρόλος του Συνεταιρισμού αποδεικνύεται πολύ σημαντικός για την εξέλιξη της καλλιέργειας, με αποτέλεσμα να αυξηθούν τα

καλλιεργούμενα στρέμματα και να βελτιωθεί η διάθεση του προϊόντος, συμβάλλοντας έτσι στην αύξηση του εισοδήματος των μελών του. Επιπλέον ένα σημαντικό επίτευγμα του Συνεταιρισμού ήταν να πείσει τους υπεύθυνους της Ευρωπαϊκής Ένωσης να εντάξουν το σπουδαίο αυτό Κρητικό προϊόν στα Ευρωπαϊκά προϊόντα, έτσι η Ε.Ε. στηρίζει την Κρητική μπανάνα στον Ευρωπαϊκό χώρο με την προϋπόθεση να δημιουργηθούν ομάδες παραγωγών.

4. ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

4.1 Εδαφος

Η μπανάνα προτιμά εδάφη βαθιά, αργιλώδη με φυσική αποστράγγιση, ενώ τα βαριά και συνεκτικά εδάφη είναι καλύτερα να αποφεύγονται. Εδάφη πλούσια σε οργανική ουσία και γονιμότητα εξασφαλίζουν υψηλές αποδόσεις, όμως ο σημαντικότερος παράγοντας θεωρείται η αποστράγγιση του εδάφους. Το pH του εδάφους μπορεί να είναι μεταξύ του 4,5–7,5, ενώ το ιδανικότερο κυμαίνεται από 5,8–6,5. Οι μπανάνες που προορίζονται για εξαγωγή παράγονται σε υψηλής γονιμότητας προσιχωγενή εδάφη και η σύστασή τους αποτελείται από άμμο και άργιλο.

4.2 Αρδευση

Η μπανάνα είναι ευαίσθητη στην ξηρασία, η οποία προκαλεί παράταση του χρόνου της άνθησης, της καρποφορίας, με μικρότερο μέγεθος καρπών και μειωμένες αποδόσεις. Απαιτεί τακτικό σύστημα άρδευσης που να συναγωνίζεται ή και να ξεπερνά το ρυθμό εξάτμισης του νερού εξασφαλίζοντας έτσι υψηλές αποδόσεις. Το πρώτο πότισμα παίζει σημαντικό ρόλο και γίνεται αμέσως μετά το φύτεμα. Η μεγάλη επιφάνεια των φύλλων της μπανάνας και το μικρό βάθος των ριζών απαιτούν μεγάλες ποσότητες νερού. Το νερό πρέπει να είναι μαλακό, χωρίς άλατα και να μην λιμνάζει γιατί διώχνει από τις ρίζες τον απαραίτητο αέρα και το φυτό κινδυνεύει από ασφυξία. Το πότισμα μπορεί να γίνει οποιαδήποτε ώρα της ημέρας, ενώ ο αριθμός των ποτισμάτων εξαρτάται από τη σύσταση του

εδάφους, την ατμοσφαιρική θερμοκρασία και την εποχή καλλιέργειας. Οι μπανάνες χρειάζονται περίπου 102-152 mm νερού ανά μήνα για κανονική ανάπτυξη και παραγωγή. Τα αμμοαργιλώδη εδάφη το καλοκαίρι πρέπει να ποτίζονται κάθε 4 ημέρες με μια ποσότητα του νερού που κυμαίνεται από 40-50 κυβικά μέτρα ανά στρέμμα. Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά τη διάρκεια της καρποφορίας τα φυτά χρειάζονται μεγαλύτερη ποσότητα νερού και όχι συχνά ποτίσματα.

4.3 Λίπανση

Για την ανάπτυξη των φυτών και την παραγωγή των φρούτων απαιτούνται μεγάλες ποσότητες θρεπτικών στοιχείων, τα οποία μπορούν να προέλθουν από το έδαφος (όπως σάπισμα φυτικών υλικών) και από τη χρήση οργανικών και χημικών λιπασμάτων. Η προσθήκη χημικών λιπασμάτων μπορεί να γίνει καθ' όλη τη διάρκεια του έτους αν η καλλιέργεια είναι ποτιστική. Οι τακτικές εφαρμογές λιπάσματος σε εμπορικές φυτείες οδηγούν στην καλύτερη ανάπτυξη και παραγωγικότητα των φυτών. Η λίπανση γίνεται σε μια ή περισσότερες δόσεις, με την προϋπόθεση ότι απέχουν μεταξύ τους τουλάχιστον τρεις μήνες. Συνήθως η λίπανση γίνεται δυο φορές το χρόνο κατά τον μήνα Φλεβάρη και τον Αύγουστο. Εξαιτίας της επέκτασης του εκτεταμένου ριζικού συστήματος, το λίπασμα πρέπει να εφαρμόζεται μακριά από τον ψευδοκορμό. Ακόμη μπορεί να εφαρμοστεί το υγρό λίπασμα που δίδεται διαμέσου του νερού άρδευσης 3-4 φορές το χρόνο. Ο συγκεκριμένος τρόπος λίπανσης είναι περισσότερο αποτελεσματικός, επειδή μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια ο χρόνος εφαρμογής και το ποσοστό του λιπάσματος που απαιτείται. Η καθυστέρηση της λίπανσης επιδρά αρνητικά στην απόδοση, μειώνοντάς την περίπου κατά 40-50%. Όταν η λίπανση γίνεται με καθυστέρηση τριών μηνών δημιουργείται σοβαρό πρόβλημα στα φυτά, τα οποία δύσκολα θα επανέλθουν. Πολυάριθμα σχήματα λίπανσης έχουν δοκιμαστεί με τα πιο κοινά του Αζώτου {νιτρική αμμωνία (NH_4NO_3), θειικό αμμώνιο (NH_4) $_2$ SO_4 και η ουρία} και του καλίου {χλωριούχο Κ (KCl), θειικό κάλι (K_2SO_4) και νιτρικό κάλι (KNO_3)}. Τα κύρια λιπάσματα που έχει ανάγκη η μπανάνα είναι

τα φωσφορικά, το κάλιο και τα νιτρικά, ενώ η προσθήκη του ασβεστίου θεωρείται απαραίτητη όταν το pH του εδάφους είναι πολύ όξινο (pH=5).

4.4 Κλάδεμα

Το κλάδεμα στην μπανάνα είναι απαραίτητο για την καλύτερη βλαστική ανάπτυξη και παραγωγή φρούτων. Γίνεται προκειμένου να προσεγγίσουμε την εποχή την οποία θέλουμε να παραχθεί το σταφύλι. Η εποχή με τις καλύτερες συνθήκες είναι αρχές καλοκαιριού όπου έχει δημιουργηθεί το άνθος και μετά από τρεις περίπου μήνες μπορούμε να κόψουμε το σταφύλι.

5. ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΜΠΑΝΑΝΑΣ

Υπάρχουν πολλές ποικιλίες μπανάνας οι οποίες διαφοροποιούνται σημαντικά ανάλογα με το μέγεθος, τη μορφολογία, την ποιότητα του καρπού και την αντοχή σε παθογόνα και εχθρούς. Οι ποικιλίες ανάλογα με το επίπεδο πλοειδίας διακρίνονται σε: διπλοειδής (2N=22), τριπλοειδής (3N=33) και τετραπλοειδής (4N=44). Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες μπανάνας είναι τριπλοειδής (*Musa* spp. AAA) και στείρες, γεγονός που επιβάλλει ο πολλαπλασιασμός τους να γίνεται αποκλειστικά με ριζώματα ή πράσινες παραφυάδες.

Από τα είδη του γένους *Musa* προκύπτει ένας μεγάλος αριθμός ομάδων και ποικιλιών, που αφορά τις μπανάνες που προορίζονται για εδωδιμη χρήση. Η μεγαλύτερη ομάδα εδωδιμων ποικιλιών υπάγεται στο *M. acuminata* και *M. balbisiana*, μεμονωμένα είτε σε διάφορους συνδυασμούς (υβρίδια). Στο *M. acuminata* διακρίνεται το *M. Cavendish*, παίρνει την ονομασία *Musa Dwarf Cavendish* (AAA ομάδα) και είναι τριπλοειδής ποικιλία με τρεις σειρές χρωμοσωμάτων (Πίνακας 4).

Πίνακας 4. Ταξινόμηση των σπουδαιότερων ποικιλιών μπανάνας ανάλογα με το επίπεδο πλοειδίας

Είδος	Υποομάδα	Επίπεδο πλοειδίας	Ομάδα	Ποικιλίες
<i>M. acuminata</i>	Cavendishii	Διπλοειδή	AA	Lady Finger, Sucrier,
		Τριπλοειδή	AAA	GrosMichel, Dwarf Cavendish, Giant Cavendish, Williams, Robussta, Valery, Grand Naine, Lacatan, Cuban red κ.ά
<i>M. acuminata</i> x <i>M. balbisiana</i>		Διπλοειδή	AB	Neu roovan, Ladys Finger, Apple
		Τριπλοειδή	AAB	Pisang raja, Mysore, Apple, silk, Ladys Finger
			ABB	Pisang, Bluggoe, saba, Cardaba
	New varieties	Τετραπλοειδή	AABB	FHIA- 01,02,03,17,21

5.1 Ποικιλίες για εδώδιμη χρήση

Οι εδώδιμες ποικιλίες ταξινομούνται σε πολλές ομάδες και υποομάδες. Στην πρώτη θέση τοποθετείται η ομάδα Sucrier (*M. Acuminata*):

- **Sucrier**, συναντάται περισσότερο στην Ινδονησία, τις Φιλιππίνες, την Α. Αφρική, την Κολομβία, τη Βραζιλία, τη Βιρμανία, την Ταϊλάνδη, τις Δ. Ινδίες και Νέα Γουινέα. Ο ψευδοβλαστός έχει σκούρο καφέ χρώμα, τα φύλλα κιτρινωπό με επίχρισμα κεριού. Τα σταφύλια είναι μικρά, οι καρποί επίσης μικροί με λεπτή επιδερμίδα. Η σπουδαιότερη ποικιλία αυτής της ομάδας είναι η **Lady Finger**, είναι ανθεκτική στην ξηρασία και στην νόσο του Παναμά (*Fusarium wilt*). Τα φυτά της ποικιλίας αυτής μπορούν να φθάσουν τα 7,5 μέτρα ύψος και διαθέτουν βαθύ ριζικό σύστημα, που ενισχύει την αντοχή τους έναντι των ισχυρών ανέμων. Ο καρπός έχει μήκος 4-5 cm με λεπτή επιδερμίδα και γλυκιά σάρκα. **Gros Michel** είναι μια από τις παλαιότερες εμπορικές ποικιλίες, αρχικά καλλιεργήθηκε στην Μαλαισία, Ινδονησία και στη συνέχεια στην κεντρική Αφρική,

την Λατινική Αμερική και την Καραϊβική. Σταδιακά περιορίστηκε η καλλιέργειάς της λόγω της μεγάλης ευαισθησίας της στην ασθένεια του Παναμά. Τα φυτά έχουν μεγάλο ύψος και παράγουν μεγάλα σταφύλια με κίτρινα φρούτα.

- Η υποομάδα **Cavendish** περιλαμβάνει τις σημαντικότερες και περισσότερο διαδεδομένες ποικιλίες μπανάνας όπως:
 1. Dwarf Cavendish (νάνα), είναι πολύ γνωστή στην Κίνα, στα Κανάρια νησιά, την ανατολική και νότια Αφρική. Τα φυτά έχουν ύψος 1,2 - 2,1 cm, οι καρποί είναι μεσαίου μεγέθους, καλής ποιότητας με λεπτή επιδερμίδα.
 2. Giant Cavendish γνωστή ως Williams ή Grande Naine, είναι αβέβαιη η προέλευσή της, όμως μοιάζει με την Gros Michel και έχει αντικαταστήσει τη Dwarf στην Κολομβία, την Αυστραλία, τη Μαρτινίκα και πολλές φυτείες στη Χαβάη και Ισημερινό. Τα φυτά έχουν ύψος 2,7-4,9 μέτρα, το τσαμπί είναι μακρύ και κιλινδρικό, τα φρούτα πολύ μεγαλύτερα από εκείνα της Dwarf.
 3. Pisang masak hijau ή Bungulan, είναι τριπλοειδής κλώνος της Cavendish. Στην Τζαμάικα (ονομάζεται Lacatan) αντικατέστησε την Gros Michel εξαιτίας της αντοχής της στην ασθένεια του Παναμά, αν και είναι ευαίσθητη στη Sigatoka. Τα φυτά της είναι ψηλά και επιρρεπή στον τραυματισμό του ανέμου. Τα φρούτα ωριμάζουν ανομοιόμορφα και δεν μπορούν να συντηρηθούν εύκολα, χρησιμοποιούνται κυρίως στη μαγειρική.
 4. Robusta, μοιάζει με την Lacatan, είναι μικρότερη, ανθεκτική στην ασθένεια του Παναμά (Fusarium), αλλά επιρρεπής στο Sigatoka.
 5. Valery, είναι τριπλοειδής κλώνος της Cavendish και μοιάζει με την Robusta, μάλιστα πιστεύεται ότι ενδεχόμενα να είναι η ίδια.
 6. Ice Cream, καλλιεργείται πολύ στη Χαβάη και μοιάζει με την Bluggoe. Το φυτό έχει ύψος 3-4,5 μέτρα, ο καρπός είναι

μεγάλος (17,5-22,8 cm) έχει σάρκα λευκή με υπόγλυκη γεύση και τρώγεται ωμός ή μαγειρεμένος.

7. Mysore, είναι ο ποιο σημαντικός καλλιεργούμενος τύπος στην Ινδία, όπου καταλαμβάνει το 70% των καλλιεργούμενων εκτάσεων με μπανάνα. Τα φυτά είναι ανθεκτικά στην ξηρασία και ανθεκτικά στην ασθένεια του Παναμά. Τα φρούτα έχουν λαμπερό κίτρινο χρώμα και υπόξινη γεύση.
8. Silk, Silk Fig ή Apple (Manzana στα Ισπανικά), είναι πολύ διαδεδομένη σε τροπικά και υποτροπικά κλίματα. Τα φυτά είναι πολύ ανθεκτικά στη Sigatoka, αλλά επιρρεπή στη νόσο του Παναμά. Τα φυτά είναι ψηλά (3-3,6 μέτρα), το τσαμπί μεγάλο με 16-18 καρπούς, οι οποίοι έχουν υπόξινη γεύση και είναι πολύ αρωματικοί.
9. Golden Beauty, είναι ανθεκτική στην ασθένεια του Παναμά (Fusarium) και το Sigatoka.

5.2 Ποικιλίες για την παραγωγή αμύλου

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι ποικιλίες :

- Bluggoe (με πολλές άλλες τοπικές ονομασίες), παράγει αμυλούχα φρούτα και χρησιμοποιείται στη μαγειρική. Είναι ανθεκτική στην ασθένεια του Παναμά και Sigatoka και έχει πολύ μεγάλη σπουδαιότητα στην Βιρμανία, την Ταϊλάνδη, τη Ν. Ινδία, την Α. Αφρική και τις Φιλιππίνες.
- Salembale και Rasabale είναι πιο εμπορικές καλλιεργούμενες ποικιλίες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή αμύλου.

6. ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΠΟΥ ΠΡΟΣΒΑΛΟΥΝ ΤΗΝ ΜΠΑΝΑΝΑ

Ο *in vivo* αγενής πολλαπλασιασμός της μπανάνας δεν συστήνεται πλέον (αντικαθίσταται σταδιακά με τον *in vitro* αγενή πολλαπλασιασμό), επειδή παρουσιάζει σημαντικά μειονεκτήματα (καθυστέρηση στην ανάπτυξη των φυτών, το πολλαπλασιαστικό υλικό μπορεί να είναι φορέας αρκετών

παθογόνων και εχθρών όπως: μύκητες, βακτήρια, ιοί και νηματώδεις. Οι καλλιέργειες που θα προκύψουν από μολυσμένο πολλαπλασιαστικό υλικό θα είναι επίσης μολυσμένες με αποτέλεσμα την αισθητή μείωση της παραγωγής και υποβάθμιση της ποιότητας των προϊόντων. Οι μπανάνες προσβάλλονται κυρίως από μύκητες, βακτήρια, ιούς και νηματώδεις, τα οποία είναι εξαιρετικά ζημιογόνα και προκαλούν τον εκφυλισμό της μπανανοκαλλιέργειας με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της παραγωγής σε ποιοτικό και ποσοτικό επίπεδο.

6.1 Βακτήρια

Τα σπουδαιότερα βακτήρια που προκαλούν σοβαρά προβλήματα στις μπανανοκαλλιέργειες είναι το *Erwinia* και το *Pseudomonas Solanacearum*.

Το *Erwinia* προκαλεί την μαλακή σήψη και μολύνει τα φυτά της μπανάνας διαμέσου των φύλλων και του ψευδοκορμού προκαλώντας αγγειακό αποχρωματισμό και εσωτερικό σάπισμα του ψευδοκορμού. Για την αντιμετώπιση της ασθένειας συστήνεται προληπτικός τακτικός καλλιεργητικός έλεγχος, αναγνώριση και ξερίζωμα ασθενικών φυτών και χρήση ανθεκτικών ποικιλιών.

Το *Pseudomonas Solanacearum* προκαλεί βακτηριακό “μαρασμό” ή αλλιώς την ασθένεια Moko. Το βασικότερο σύμπτωμα της ασθένειας είναι ο “μαρασμός” ο οποίος εκδηλώνεται ταχύτερα στα νεότερα φυτά. Αλλα συμπτώματα είναι το κιτρίνισμα των παλαιότερων φύλλων και ο αγγειακός μεταχρωματισμός (καφέ μέχρι μαύρο) του ψευδοκορμού και των ριζωμάτων. Η ασθένεια αυτή αποτελεί ένα σοβαρό πρόβλημα στην νότια και κεντρική Αμερική, την Καραϊβική και τις Φιλιππίνες. Το παθογόνο μολύνει τις ρίζες διαμέσου των πληγών και μεταδίδεται με τα έντομα, τα μολυσμένα εργαλεία και τα φυτικά υπολείμματα.

6.2 Μύκητες

Οι κυριότεροι παθογόνοι μύκητες που προσβάλλουν την μπανάνα είναι: *Acremonium*, *Rhizoctonia Solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium*

solani, *Fusarium compactum* και *Pythium* sp. Άλλοι μύκητες είναι η Black Sigatoka, Yellow Sigatoka ή *Pseudocercospora fijiensis*.

Σημαντική καταστροφή στις μπανανοκαλλιέργειες προκαλεί ο μύκητας *Fusarium oxysporum* (ασθένεια του Παναμά), που ευθύνεται για το κιτρίνισμα και τον αποχρωματισμό των νεύρων των φύλλων. Η ασθένεια εντοπίζεται σε όλες τις χώρες που παράγουν μπανάνες εκτός από τα νησιά του νότιου Ειρηνικού, τη Μεσόγειο και τη Μαλαισία. Το *Fusarium oxysporum* έχει τέσσερις διαφορετικές φυλές από τις οποίες οι τρεις θεωρούνται πρωταρχικά παθογόνα του γένους *Musa*. Η ασθένεια του “μαρασμού” προκαλείται από τη φυλή 1 (*Fusarium oxysporum cubense*) που κατέστρεψε πάνω από 40.000 εκτάρια στην κεντρική και νότια Αμερική κατά τον εικοστό αιώνα. Τα κυριότερα συμπτώματα της ασθένειας είναι το κιτρίνισμα, ο “μαρασμός” των φύλλων και ο αποχρωματισμός των αγγείων των φύλλων. Επιπλέον μπορεί να προκαλέσει κοκκινωπή νέκρωση στο εσωτερικό του κορμού και στις ρίζες, με αποτέλεσμα τα φυτά να μαραίνονται και να καταστρέφονται. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο μύκητας αυτός μπορεί να ζήσει στο έδαφος για πολλά χρόνια.

Από τις ασθένειες των φύλλων η πιο σημαντική και πλέον μεταδοτική θεωρείται η black Sigatoka που οφείλεται στον μύκητα *Mycosphaerella fijiensis*, η οποία για πρώτη φορά (1963) εμφανίζεται στα νησιά Φίτζι. Το 1972 καταγράφεται για πρώτη φορά στην Ονδούρα, ενώ σήμερα συναντάται στο ηπειρωτικό Μεξικό, την κεντρική νότια και βορειοδυτική Βολιβία, την Βραζιλία, την Καραϊβική, την Τζαμάικα, την Δομινικανή Δημοκρατία, την Φλόριντα και την Αφρική. Η ασθένεια προσβάλλει τα φύλλα και προκαλεί μείωση της απόδοσης (μέχρι και 50%) και πρόωρη ωρίμανση με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας του προϊόντος. Η ασθένεια εκδηλώνεται αρχικά με κοκκινωπές ραβδώσεις, οι οποίες στη συνέχεια ενώνονται για να σχηματίσουν μια “μαραμένη” περιοχή παράλληλη προς τα νεύρα του φύλλου. Στην συνέχεια τα φύλλα γίνονται καφέ και ξηραίνονται.

Μια άλλη λιγότερο σημαντική ασθένεια φύλλων είναι η Yellow Sigatoka που προκαλείται από το μύκητα *pseudocercospora musaceae* (*Mycosphaerella musicola*). Τα συμπτώματα εκδηλώνονται επιφανειακά με

κιτρινωπές ραβδώσεις, οι οποίες στη συνέχεια επεκτείνονται προς το εσωτερικό και τα φύλλα αποκτούν ένα γκριζο-καφέ χρωματισμό και ξηραίνονται.

6.3 Νηματώδεις

Οι κυριότεροι νηματώδεις που συναντώνται στις μπανανοκαλλιέργειες είναι οι: *Meloidogyne javanica*, *Helicotylenchus multincinctus*, *Pratylenchus goodey*, *Radophulus similis* και *Cosmopolites sordidus*, αποτελούν σοβαρό πρόβλημα, γιατί τρέφονται κυρίως από τις ρίζες με αποτέλεσμα να αποδυναμώνουν το φυτό και να μειώνουν τις αποδόσεις.

Ο πλέον καταστροφικός θεωρείται ο *Meloidogyne javanica*, ο οποίος ευθύνεται για τη δημιουργία χαρακτηριστικών κόμβων στο ριζικό σύστημα του φυτού, επιπλέον καθιστά το έδαφος ακατάλληλο προς χρήση για τουλάχιστον 5 χρόνια. Επίσης ο *Radophulus similis* είναι καταστρεπτικός για την καλλιέργεια της μπανάνας και προκαλεί τραύματα στις ρίζες, καθυστέρηση στην ανάπτυξη και σοβαρές απώλειες στις αποδόσεις. Ο *Cosmopolites sordidus* είναι ο ρυγχωτός κύνθαρος της ρίζας των μπανανών. Προκαλεί κιτρίνισμα των φύλλων, “μαρασμό” και ενδεχόμενα θάνατο των φυτών.

6.4 Ιοί

Μια άλλη κατηγορία παθογόνων που προσβάλουν τα μπανανόφυτα είναι οι ιοί. Οι σημαντικότεροι από αυτούς είναι ο ιός του Μωσαϊκού της αγγουριάς (Cucumber mosaic virus), ο ιός των ραβδώσεων της μπανάνας (BSV) και ο ιός Bunchy top virus (BBTV).

Ο ιός του μωσαϊκού της αγγουριάς είναι πολύ καταστρεπτικός και προκαλεί νανισμό και ένα χαρακτηριστικό μωσαϊκό στα φύλλα της μπανάνας. Ο ιός Bunchy top virus είναι επίσης μια σοβαρή ασθένεια, η οποία εκδηλώνεται με σκουροπράσινες κηλίδες και ραβδώσεις πάνω στα νεύρα των φύλλων, τα οποία προοδευτικά γίνονται εύθραυστα με νεκρωτικά περιθώρια. Η ασθένεια μεταδίδεται με το μολυσμένο πολλαπλασιαστικό υλικό, τις αφίδες (*Pentalonia nigronerrosa*) και αντιμετωπίζεται με

προληπτικά μέτρα (καταπολέμηση των αφίδων, καταστροφή των ασθενικών φυτών, καλλιέργεια ανθεκτικών ποικιλιών, τέλος η αξιοποίηση της ιστοκαλλιέργειας συμβάλει σε μεγάλο βαθμό στην δημιουργία φυτών απαλλαγμένων από παθογόνους μικροοργανισμούς).

Ο ιός των ραβδώσεων της μπανάνας (BSV) προκαλεί συμπτώματα που εκδηλώνονται με χλωρωτικές ραβδώσεις πάνω στα φύλλα, οι οποίες προοδευτικά παίρνουν καφέ χρωματισμό και στη συνέχεια νεκρώνονται. Φυτά που έχουν προσβληθεί από τον συγκεκριμένο ιό δεν αναπτύσσονται κανονικά και παράγουν μικρότερα τσαμπιά. Ο έλεγχος της ασθένειας γίνεται με τη χρήση υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού και την καταστροφή των προσβεβλημένων φυτών.

7. ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ (Π.Υ.)

7.1 Σωμακλωνική παραλλακτικότητα σε Π.Υ. μπανάνας προερχόμενο από ιστοκαλλιέργεια

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι συνεχώς δημιουργούμενες νέες αγορές (ειδικά στην Ευρώπη) έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση των καλλιεργούμενων εκτάσεων (ο αριθμός των καλλιεργούμενων φυταρίων την περίοδο 1985-1991 αυξήθηκε κατά: 118% στον Ισημερινό, 61% στην Κόστα Ρίκα, 65% στην Κολομβία και 67% στο Μεξικό). Η αύξηση αυτή είχε ως αποτέλεσμα την μεγαλύτερη ζήτηση Π.Υ. προερχόμενο από *in vitro* καλλιέργεια. Όμως η αξιοποίηση του συγκεκριμένου Π.Υ., επέκτεινε την παρουσία σωμακλωνικής παραλλακτικότητας (από αμελητέα επίπεδα μέχρι και 40%) σε συνθήκες παραγωγού. Σημειώνεται ότι η ζήτηση *in vitro*-φυταρίων ως Π.Υ. συνεχώς αυξάνεται σε ολόκληρο τον κόσμο, παρά το γεγονός ότι το φαινόμενο της σωμακλωνικής παραλλακτικότητας εξακολουθεί να υφίσταται και να αποτελεί ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα δημιουργώντας επιπτώσεις στην εμπορική αξία της μπανανοκαλλιέργειας. Η εμφάνιση της παραλλακτικότητας συνδέεται με τους τρεις παρακάτω μηχανισμούς:

1. Στις γενετικές αλλαγές που ήδη υπάρχουν στους ιστούς του εκφύτου (*in situ* παραλλακτικότητα).

2. Στη μεταλλαξιγόνο επίδραση των παραγόντων του θρεπτικού υποστρώματος.
3. Στην επίδραση των συνθηκών ανάπτυξης του περιβάλλοντος της ιστοκαλλιέργειας.

7.1.1 Παράγοντες που επιδρούν στην εμφάνιση της σωμακλωνικής παραλλακτικότητας

7.1.1.1 Πηγή προέλευσης του καλλιεργούμενου εκφύτου

Σε ιστούς με έντονη διαφοροποίηση (π.χ. ρίζες) εμφανίζονται υψηλότερα ποσοστά σωμακλωνικής παραλλακτικότητας σε σύγκριση με τις βλαστικές κορυφές. Θεωρούνται δομές με γενετική σταθερότητα, εξαιτίας του κανονικού και συνεχούς κύκλου κυτταροδιαίρεσης που εκμηδενίζει τις γενετικές εκτροπές (συναντώνται σε καλλιέργειες κάλου και πρωτοπλαστών, όπου η κυτταροδιαίρεση δεν είναι οργανωμένη).

7.1.1.2 Αριθμός υποκαλλιεργειών

Η ηλικία της καλλιέργειας αναμφισβήτητα αυξάνει την σωμακλωνική παραλλακτικότητα ανάμεσα στα αναγεννημένα φυτά, δηλαδή η συχνότητα της παραλλακτικότητας αυξάνει με την αύξηση του αριθμού των υποκαλλιεργειών. Συνήθως προτείνεται ο αριθμός των υποκαλλιεργειών να περιορίζεται στις 6-7, προκειμένου να μειωθούν οι πιθανότητες δημιουργίας φυτών εκτός τύπου λόγω της σωμακλωνικής παραλλακτικότητας. Η αύξηση της σωμακλωνικής παραλλακτικότητας με τις αυξανόμενες υποκαλλιέργειες τονίζει την ανάγκη να ληφθεί ιδιαίτερη προσοχή στις περιπτώσεις όπου πολλαπλασιάζονται φυτά σε μεγάλη κλίμακα αξιοποιώντας την νέα τεχνολογία (biofactories).

7.1.1.3 Ρυθμιστές αύξησης

Η πρόκληση της σωμακλωνικής παραλλακτικότητας κατά τη διάρκεια της ιστοκαλλιέργειας αποδίδεται σε μεγάλο βαθμό στην έντονη κυτταροδιαίρεση, η οποία επηρεάζεται από τους ρυθμιστές αύξησης που προστίθενται εξωγενώς στα θρεπτικά υποστρώματα. Υψηλές συγκεντρώσεις 6-benzylaminopurine (BAP) προκαλούν γενετικής μορφής

παραλλακτικότητα στα αναγεννημένα μπανανόφυτα. Ο συνδυασμός υψηλών συγκεντρώσεων BAP και αδερίνης (adenina) προκαλούν εκτροπή στον αριθμό των χρωμοσωμάτων, αλλά και οι υψηλές συγκεντρώσεις κινετίνης αποδείχθηκαν ζημιογόνες για τα αναγεννημένα *in vitro*-φυτάρια.

7.1.1.4 Γονότυπος του φυτού “δωρητή”

Σχεδόν όλες οι καλλιεργούμενες ποικιλίες μπανάνας του γένους *Musa* έχουν προκύψει από τα είδη: *Musa acuminata* (με A γονίωμα) και *M. Balbisiona* (με B γονίωμα). Η ανταπόκριση όλων αυτών των ποικιλιών στην *in vitro* καλλιέργεια διαφοροποιείται αισθητά και επιπλέον η έκλυση σωμακλωνικής παραλλακτικότητας είναι άμεσα συνδεδεμένη με το γονότυπο. Έτσι οι ποικιλίες του γένους *Musa* εμφανίζουν διαφορές στη γενετική σταθερότητα με αποτέλεσμα μερικές από αυτές να είναι περισσότερο και άλλες λιγότερο σταθερές.

7.2 Τεχνικές πολλαπλασιασμού της μπανάνας

Η εγκατάσταση των νέων φυτειών μπανάνας γίνεται με αγενές Π.Υ., το οποίο προέρχεται από:

7.2.1 Παραφυάδες – ριζώματα (*in vivo* πολλαπλασιασμός)

Ο τρόπος αυτός αναπαραγωγής της μπανάνας επιτυγχάνεται αξιοποιώντας ολόκληρες παραφυάδες, οι οποίες εκφύονται από τη βάση του μητρικού φυτού και είναι πανομοιότυπες με αυτό. Για τον πολλαπλασιασμό προτείνονται οι νεαρές παραφυάδες με ύψος 45-60 cm, διάμετρο βάσης τουλάχιστον 10cm και φύλλα λογχοειδή. Παραφυάδες με ισχνούς ψευδοβλαστούς και φύλλα λεπτά και πεπλατυσμένα θεωρούνται μειωμένου σφρίγγους και πρέπει να απορρίπτονται.

Αντί να χρησιμοποιηθεί ολόκληρη η παραφυάδα μπορεί να αξιοποιηθεί μόνο ένα ή περισσότερα κομμάτια του ριζώματος. Για το σκοπό αυτό επιλέγονται υγιή μητρικά φυτά, τα οποία δεν έχουν καρποφορήσει. Τα φυτά αυτά εκριζώνονται και απομακρύνεται ο ψευδοβλαστός περίπου 10 cm πάνω από το ριζώμα. Το εναπομένον τμήμα του ριζώματος τεμαχίζεται σε

2-3 κομμάτια (καθένα από τα οποία πρέπει να φέρει ένα οφθαλμό), τα οποία θα αποτελέσουν το υλικό πολλαπλασιασμού.

Η δυσχέρεια του τρόπου αναπαραγωγής της μπανάνας με παραδοσιακό τρόπο εστιάζεται στο γεγονός ότι εάν τα μητρικά φυτά είναι μολυσμένα από παθογόνους οργανισμούς, που διαβιώνουν στο έδαφος και διαιωνίζονται στους φυτικούς ιστούς και τα θυγατρικά φυτά (παραφυάδες) θα είναι επίσης μολυσμένα. Επομένως η νέα φυτεία αρχίζει με σοβαρά προβλήματα φυτοπροστασίας, που θα έχουν ως επακόλουθο τη μειωμένη παραγωγή, αυξημένο καλλιεργητικό κόστος και γρήγορο εκφυλισμό της φυτείας.

7.2.2 Παραγωγή Π.Υ. με *in vitro* τεχνική

Ο τρόπος αυτός πολλαπλασιασμού είναι μια εναλλακτική μέθοδος αναπαραγωγής της μπανάνας στην οποία καταγράφονται αρκετά πλεονεκτήματα. Η τεχνολογία αυτή έχει μεταφερθεί από χώρες (Ισραήλ, Αυστραλία, Ταϊβάν) με μακροχρόνια παράδοση στην μπανανοκαλλιέργεια και τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται εντατικά σε αρκετές Λατινοαμερικανικές και Ευρωπαϊκές χώρες. Η τεχνική αυτή είναι μια μέθοδος πολλαπλασιασμού των φυτών που διεθνώς ονομάζεται **μικρο-πολλαπλασιασμός** (micropropagation) σε αντιδιαστολή με τον κλασικό τρόπο που αναφέρεται σαν **μακροπολλαπλασιασμός** (macropropagation). Με τον μικρο-πολλαπλασιασμό παράγονται πλήρη φυτά από φυτικούς ιστούς ή κύτταρα, τα οποία καλλιεργούνται σε δοκιμαστικούς σωλήνες ή υάλινα βάζα σε κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα και περιβάλλον. Οι καλλιεργούμενοι φυτικοί ιστοί αναγεννούν βλαστούς και ρίζες, που στη συνέχεια εξελίσσονται σε πλήρη και αυτόνομα φυτάρια. Τα βασικά στάδια που ακολουθούνται για την παραγωγή Π.Υ. με την αξιοποίηση της *in vitro* καλλιέργειας είναι:

7.2.2.1 Επιλογή των μητρικών φυτών - “δωρητών”

Το στάδιο αυτό είναι καθοριστικό και έχει σχέση με το μητρικό υλικό έναρξης, από το οποίο θα προκύψουν τα θυγατρικά φυτά, δηλαδή το Π.Υ. Με μακροσκοπικό έλεγχο επιλέγονται μητρικά φυτά που διαθέτουν άριστα

φυτοτεχνικά χαρακτηριστικά (δεν απέχουν από τα βασικά χαρακτηριστικά της ποικιλίας) και υψηλό επίπεδο φυτοϋγείας. Προκειμένου να προσδιοριστεί το επίπεδο φυτοϋγείας τα φυτά (παραφυάδες) υποβάλλονται αρχικά σε μακροσκοπικό και στη συνέχεια σε Εργαστηριακό φυτοϋγειονομικό έλεγχο αξιοποιώντας τη δοκιμή ELISA.

7.2.2.2 Προετοιμασία των παραφυάδων

Οι επιλεγμένες παραφυάδες εκριζώνονται και απομακρύνονται από τα φυτά “δωρητές” προσέχοντας να μην τραυματιστεί η βλαστική κορυφή, η οποία θα αποτελέσει το βασικό έκφυτο της ιστοκαλλιέργειας. Στη συνέχεια οι παραφυάδες αυτές μεταφέρονται σε Εργαστηριακό χώρο όπου ξεπλένονται με τρεχούμενο νερό βρύσης, προκειμένου να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του εδάφους. Ακολουθεί η απομάκρυνση των εξωτερικών φύλλων και του μεγαλύτερου μέρους του ριζωματικού ιστού, με αποτέλεσμα να παραμείνει ένα κομμάτι ιστού (έκφυτο) με μήκος περίπου 10-15cm και διάμετρο 6-8cm.

7.2.2.3 Καλλιέργεια των εκφύτων σε *in vitro* συνθήκες

Τα έκφυτα που αποκόπτονται από τις παραφυάδες πλένονται πολύ καλά με απιονισμένο νερό και στη συνέχεια μεταφέρονται σε θάλαμο οριζόντιας νηματικής ροής (ασηπτικές συνθήκες). Ακολουθεί η απολύμανσή τους σε διάλυμα αλκοόλης (75%) για 1 περίπου λεπτό και υποχλωριώδους ασβεστίου (10%) για 20-30 λεπτά και ακολουθούν τρία διαδοχικά πλυσίματα με αποστειρωμένο νερό. Στη συνέχεια (πάντα κάτω από ασηπτικές συνθήκες) από τα έκφυτα αυτά απομακρύνονται τα υπολείμματα των φύλλων, προκειμένου να εμφανιστεί η βλαστική κορυφή, η οποία “αποκεφαλίζεται”, δημιουργώντας ένα έκφυτο διαστάσεων περίπου 1,5 x 1,5 x 1,0 cm, το οποίο στη συνέχεια καλλιεργείται σε ειδικό υπόστρωμα πολλαπλασιασμού.

7.2.2.4 Πολλαπλασιασμός των τυχαίων οφθαλμών

Οι τυχαίοι οφθαλμοί που προκύπτουν από τις μεριστωματικές κορυφές διαιρούνται σε μικρότερα τεμάχια και υποκαλλιεργούνται σε

φρέσκο θρεπτικό υπόστρωμα. Το ποσοστό των παραγομένων οφθαλμών εξαρτάται κυρίως από την ποικιλία, τη συγκέντρωση της κυτοκινίνης, τον αριθμό των υποκαλλιεργειών, αλλά και από την διαφορετικότητα της παραφυάδας.

7.2.2.5 Αναγέννηση των *vitro*-φυταρίων

Η επιμήκυνση και η ριζοβολία των τυχαίων οφθαλμών ολοκληρώνεται με την καλλιέργειά τους σε υπόστρωμα του Murashige and Skoog (1962), συμπληρωμένο με σακχαρόζη (20 gr/l), ενεργό άνθρακα (1,6 gr/l) και IBA (2 mg/l), ενώ το pH ρυθμίζεται στο 5,8. Τα φυτά καλλιεργούνται σε γυάλινα δοχεία, τα οποία μεταφέρονται σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης (θερμοκρασία 25⁰C, 16 ώρες φωτοπερίοδο και ένταση φωτισμού 10.000 Lux.), όπου παραμένουν για 2-3 εβδομάδες πριν από τον εγκλιματισμό τους.

7.2.2.6 Εγκλιματισμός των *vitro*-φυταρίων - Π.Υ.

Οι συστάδες των *vitro*-φυταρίων απομακρύνονται από τα δοχεία πολλαπλασιασμού και πλένονται με τρεχούμενο νερό βρύσης, προκειμένου να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του θρεπτικού υποστρώματος. Ακολουθεί η φύτευση τους σε γλαστράκια που περιέχουν άμμο, χώμα, τύρφη και περλίτη. Αμέσως μετά καλύπτονται με διαφανές πλαστικό κάλυμμα για 7-10 ημέρες, προκειμένου να διατηρηθεί η υγρασία σε υψηλά επίπεδα. Το πλαστικό κάλυμμα αφαιρείται και 2-3 εβδομάδες αργότερα τα εγκλιματισμένα φυτάρια παραδίδονται στους παραγωγούς.

7.3 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των *vitro*-φυταρίων που αξιοποιούνται ως Π.Υ.

Το Π.Υ. της μπανάνας, το οποίο προκύπτει από την αξιοποίηση της *in vitro* τεχνολογίας συγκεντρώνει πολλά **πλεονεκτήματα**, μεταξύ των οποίων τα σπουδαιότερα είναι:

1. Παραγωγή μεγάλου αριθμού *vitro*-μπανανόφυτων σε πολύ σύντομο χρόνο αξιοποιώντας μόνο ένα επιλεγμένο μητρικό φυτό.

2. Τα *vitro*-μπανανόφυτα είναι απαλλαγμένα από παθογόνους οργανισμούς που μεταφέρονται και διαιωνίζονται με το Π.Υ.
3. Πειραματικά δεδομένα προερχόμενα από χώρες όπου η εγκατάσταση νέων φυτειών μπανάνας γίνεται αποκλειστικά με φυτάρια μικρο-πολλαπλασιασμού, επιβεβαιώνουν ότι η απόδοσή τους μπορεί να περάσει και το 20%.
4. Το Π.Υ. που προέρχεται από ιστοκαλλιέργεια διακρίνεται από ελαστική εποχικότητα, δηλαδή μπορεί να παραχθεί καθόλη τη διάρκεια του έτους.
5. Το ποσοστό βιωσιμότητας των *vitro*-μπανανόφυτων είναι εξαιρετικά υψηλό, προσεγγίζει το 100%.
6. Τα *vitro*-μπανανόφυτα αναπτύσσονται γρηγορότερα σε σύγκριση με εκείνα που προέρχονται από τις παραφυάδες και παράγουν καρπό με άριστες ποιοτικές ιδιότητες.
7. Τα *vitro*-μπανανόφυτα κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας τους εμφανίζουν μια μοναδική ομοιομορφία, που αφορά όλα τα στάδια του βιολογικού τους κύκλου (βλαστική φάση, άνθηση και ωρίμανση).
8. Ο βιολογικός κύκλος των *vitro*-μπανανόφυτων είναι εξαιρετικά μικρότερος (3-4 μήνες) με αποτέλεσμα να καταγράφεται μια σημαντική πρωιμότητα της παραγωγής ακόμη και σε όψιμες φυτεύσεις (διαφαίνεται η δυνατότητα του παραγωγού να αξιοποιήσει το θερμοκήπιο του πριν από την εγκατάσταση της μπανάνας με την καλλιέργεια κάποιου λαχανοκομικού φυτού, π.χ. αγγούρι ή ντομάτα).
9. Τα *vitro*-μπανανόφυτα δεν είναι ογκώδη με αποτέλεσμα να μεταφέρονται και να εγκαθίστανται στην νέα καλλιέργεια με τρόπο απλό και γρήγορο.
10. Τα *vitro*-μπανανόφυτα διαθέτουν τα αγρονομικά χαρακτηριστικά των μητρικών φυτών και δεν εμφανίζουν εκφυλιστικά φαινόμενα οφειλόμενα σε ενδοφυτικούς παθογόνους οργανισμούς.
11. Το μητρικό φυτικό υλικό (*germplasm*) μπορεί να διατηρηθεί σε συνθήκες σπητικές (*in vitro*) για μεγάλα χρονικά διαστήματα σε αντίθεση με την ευπάθεια των παραφυάδων.

12. Η καλλιέργεια vitro-μπανανόφυτων (σε εδάφη καθαρά από νηματώδεις) αποκλείει τη χρήση νηματωδοκτόνων ουσιών με τα γνωστά αποτελέσματα για τον καλλιεργητή και το περιβάλλον.
13. Η χρησιμοποίηση του μικρο-πολλαπλασιασμού επιτρέπει την παράκαμψη ανυπέρβλητων εμποδίων που συναντώνται με την εφαρμογή του κλασικού τρόπου παραγωγής Π.Υ.

Βασικά **μειονεκτήματα** της προαναφερόμενης τεχνολογίας είναι η:

- Εγκατάσταση Εργαστηριακής υποδομής υψηλού κόστους.
- Αξιοποίηση επιστημονικού προσωπικού με εξειδικευμένες γνώσεις.
- Παρουσία υψηλού ποσοστού (μέχρι και 40%), σωμακλωνικής παραλλακτικότητας, ιδιαίτερα σε χώρες όπου ο τρόπος αναπαραγωγής της μπανάνας γίνεται αποκλειστικά με μικρο-πολλαπλασιασμό. Όμως θα πρέπει να τονιστεί ότι το μειονέκτημα αυτό μετατρέπεται σε πλεονέκτημα, καθόσον η αξιοποίηση της σωμακλωνικής παραλλακτικότητας παρέχει τη δυνατότητα επιλογής και βελτίωσης των ποικιλιών για ανθεκτικότητα σε παθογόνους οργανισμούς και σε αρκετά αγρονομικά χαρακτηριστικά (ύψος φυτού, μέγεθος σταφυλιού και ράγας, απόδοση και οργανοληπτικές ιδιότητες).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες μπανάνας είναι τριπλοειδείς (*Musa spp.* AAA) και στείρες, γεγονός που επιβάλλει ο πολλαπλασιασμός τους να γίνεται αποκλειστικά με ριζώματα ή “πράσινες” παραφυάδες (αγενώς). Οι καλλιεργητές χρησιμοποιούν μεγάλες (διάμετρο πάνω από 10-15cm) ή μικρές (διάμετρο από 5-10cm) παραφυάδες, οι οποίες ζημιώνουν την εξέλιξη της καλλιέργειας (αργή ανάπτυξη) λόγω του μεγάλου όγκου τους και συχνά υποβαθμίζεται η ποιότητα του προϊόντος (Cronauer-Mitra and Krikorian, 1984, Arias, 1993). Ο *in vivo* αγενής πολλαπλασιασμός της μπανάνας δεν είναι ιδανικός, επειδή το αξιοποιούμενο πολλαπλασιαστικό υλικό ενδέχεται να είναι μολυσμένο – συνήθως σε λανθάνουσα κατάσταση – με μύκητες (*Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium sp.*, *Acremonium sp.*, *Cylindrocarpon sp.*), βακτήρια (*Erwinia sp.* και *Pseudomonas sp.*), νηματώδεις (*Meloidogyne sp.*, *Helicotylenchus multincinctus*, *Pratylenchus goodeyi*, *Radhophulus similis*), και ιούς (*Cucumber mosaic cucumovirus-CMV*), που μεταφέρονται στη νέα καλλιέργεια (Sagi et al., 1998, Arias, 1993, Vovlas et al. 1993, Vovlas et al. 1994, Frisullo et al. 1994, Grammatikaki & Tzortzakakis 1998).

Μια εναλλακτική μέθοδος πολλαπλασιασμού της μπανάνας, που από το 1985 χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο στις μπανανοπαραγωγικές χώρες του κόσμου είναι η ιστοκαλλιέργεια (tissue culture) (Dore Swamy et al., 1983, Robinson, 1996). Η τεχνική αυτή κέρδισε την προσοχή των καλλιεργητών, εξαιτίας των σημαντικών πλεονεκτημάτων που εμφανίζουν τα *in vitro* –φυτάρια (ταχύτητα πολλαπλασιασμού, γενετική ομοιομορφία, άριστο επίπεδο φυτουγείας, υψηλοαποδοτικότητα, υψηλό ποσοστό βιωσιμότητας, καρπός με βελτιωμένες οργανοληπτικές ιδιότητες, μικρότερος βιολογικός κύκλος με αποτέλεσμα να υπάρχει μια σημαντική πρωιμότητα της παραγωγής ακόμη και σε όψιμες φυτεύσεις) (Arias, 1993, Gowen, 1995, Sagi et al., 1998, Γραμματικάκη κ.α, 2005).

Ο μικροπολλαπλασιασμός της μπανάνας διαμέσου των μεριστωματικών κορυφών κερδίζει συνεχώς έδαφος, όμως έχει διαπιστωθεί ότι η αποτελεσματικότητα του επηρεάζεται κυρίως από τις συνθήκες καλλιέργειας και τους ρυθμιστές του θρεπτικού υποστρώματος (Vuylsteke

and de Larghe, 1985, Ganapathi et al., 1995, Madhulatha et al., 2004). Το κόστος των συστατικών των θρεπτικών υποστρωμάτων αναμφίβολα είναι ένας προβληματισμός τόσο για την έρευνα, όσο και για τα εμπορικά εργαστήρια παραγωγής.

Ανάμεσα στα στερεοποιητικά των θρεπτικών υποστρωμάτων το άγαρ χρησιμοποιείται περισσότερο, επειδή διαθέτει κατάλληλες στερεοποιητικές ιδιότητες, σταθερότητα και ανθεκτικότητα στο μεταβολισμό κατά τη διάρκεια της χρήσης (Henderson and Kinnersley 1998). Παρόλα αυτά είναι το ακριβότερο στερεοποιητικό και πολύ συχνά περιέχει ξένες προσμίξεις που μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα της ιστοκαλλιέργειας (Debergh, 1983). Ελάχιστες αναφορές υπάρχουν για φθηνά αδρανή συστατικά που χρησιμοποιούνται για την στερεοποίηση των υποστρωμάτων της μπανάνας. Ο Zimmerman et al., 1995 χρησιμοποίησαν στερεοποιητικά υποστρωμάτων αποτελούμενα από μείγμα αμύλου καλαμποκιού (5%) και Gerlite (0,05%) σε καλλιέργειες φρούτων. Αποτελεσματική αποδείχθηκε η *in vitro* καλλιέργεια χρυσάνθεμου αντικαθιστώντας τα ακριβά στερεοποιητικά με φθηνότερα όπως το *sago* (προέρχεται από *Metrxylon sagu* Rottb.) και το *isubgol* (προέρχεται από *plantago ovata* Forsk.) (Bhattcharya et al., 1994). Το *Erythroxyllum coca*, φυτό εξαιρετικά δύστροπο σε υπόστρωμα βάσης, έδωσε περισσότερους βλαστούς σε υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με μείγμα από άμυλο καλαμποκιού και Gerlite, επίσης κύτταρα καπνού και καρότου καλλιεργούμενα σε υπόστρωμα στερεοποιημένο με άμυλο καλαμποκιού παρήγαγαν τριπλάσιο ξηρό βάρος από εκείνα που είχαν καλλιεργηθεί σε υπόστρωμα με άγαρ (Lydon et al., 1993, Henderson and Kinnersley 1988). Αναφέρεται μείωση του κόστους στην *in vitro* καλλιέργεια της μπανάνας αντικαθιστώντας την σακχαρόζη με εμπορική ζάχαρη και το άγαρ με άμυλο καλαμποκιού, πατάτας ή ρυζιού (Kodyn and Zapata- Arias, 2001, Γραμματικάκη κ.α., 2007).

Βασικό συστατικό του αμύλου του καλαμποκιού είναι η μαλτόζη, η οποία αποδείχθηκε ισοδύναμη ή και να υπερτερεί στην εμβρυογένεση του καρότου, βελτιώνοντας επιπλέον τη μετατροπή των σωματικών εμβρύων στην μηδική *alfalfa* και την πατάτα, παρόλα αυτά παρήγαγε λιγότερα

γαμετοκλωνικά έμβρυα από την σακχαρόζη στην ανθηροκαλλιέργεια της πατάτας (Kinnersley and Henderson 1988, Batty and Dunwell, 1989).

Με στόχο την αναζήτηση κατάλληλου εναλλακτικού στερεοποιητικού για μείωση του κόστους παραγωγής *vitro*-φυταρίων μπανάνας αξιολογήθηκαν τέσσερα εναλλακτικά είδη αμύλου καλαμποκιού, σιταριού, ρυζιού και πατάτας.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Φυτικό υλικό έναρξης

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η παρούσα πειραματική εργασία που σκοπό είχε την αξιολόγηση αμύλων χαμηλού κόστους στην *in vitro* παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού μπανάνας (*Musa spp.*), χρησιμοποιήθηκαν ριζώματα από πλεονεκτικά φυτά μπανάνας της ποικιλίας Grande Naine τα οποία συλλέχθηκαν από θερμοκήπια της Άρβης (Εικόνα 4). Τα ριζώματα αυτά υποβλήθηκαν σε φυτοϋγειονομικό έλεγχο για να προσδιοριστεί το επίπεδο φυτοϋγείας τους.



Εικόνα 4. Ριζώματα από φυτά μπανάνας της ποικιλίας Grande Naine

2.2 Έλεγχος φυτοϋγείας του φυτικού υλικού έναρξης

Προκειμένου να προσδιοριστεί το επίπεδο φυτοϋγείας τα μητρικά φυτά υποβάλλονται αρχικά σε μακροσκοπικό και στην συνέχεια σε εργαστηριακό φυτοϋγειονομικό έλεγχο για να διαπιστωθούν τυχόν συμπτώματα από παθογόνους οργανισμούς που μεταφέρονται με το πολλαπλασιαστικό υλικό. Στο μακροσκοπικό έλεγχο παρατηρούνται τα

μητρικά φυτά για ενδεχόμενα συμπτώματα από παθογόνους οργανισμούς και αξιοποιούνται μόνο τα υγιή. Για παραπέρα φυτοϋγειονομικό έλεγχο έχει καθιερωθεί η δοκιμή ELIZA, κυρίως για ενδεχόμενη παρουσία ιολογικών ασθενειών στα μητρικά φυτά-“δωρητές”. Η δοκιμή ELIZA ή αλλιώς ενζυμική ανοσοπροσροφητική δοκιμή (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) είναι μια βιοχημική τεχνική που χρησιμοποιείται στην ανοσιολογία για να ανιχνεύει την παρουσία αντισωμάτων ή αντιγόνων σε ένα δείγμα. Με την δοκιμή ELIZA επιτεύχθηκε αύξηση της ευαισθησίας του ορολογικού ελέγχου κατά 1000-2000 φορές. Η περισσότερο χρησιμοποιούμενη μορφή της δοκιμής ELIZA για την ανίχνευση και ταυτοποίηση ιών στο πολλαπλασιαστικό υλικό είναι η ονομαζόμενη “διπλό σαντουιτς”. Για την υλοποίηση της δοκιμής χρησιμοποιούνται ειδικές πλάκες πολυεστέρα με 96 υποδοχές – κυψελίδες χωρητικότητας 400 μl σε κάθε μια από τις οποίες μπορεί να ελεγχθεί ένα δείγμα και απαιτείται η διάθεση της γ-ανοσοσφαιρίνης (IgG) και γ-ανοσοσφαιρίνης συζευγμένης με ένα ένζυμο, κυρίως η αλκαλική φωσφατάση (IgG-PAL).

Μετά τον μακροσκοπικό και εργαστηριακό με την δοκιμή ELIZA έλεγχο επιλέγονται τα υγιή μητρικά φυτά -“δωρητές” (διαθέτουν άριστα φυτοτεχνικά χαρακτηριστικά και υψηλό επίπεδο φυτοϋγείας), τα οποία θα ενταχθούν στη διαδικασία του πολλαπλασιασμού *in vitro*, προκειμένου να παραχθεί υγιές και εγγυημένο πολλαπλασιαστικό υλικό.

2.3 Προετοιμασία των ριζωμάτων- παραφυάδων

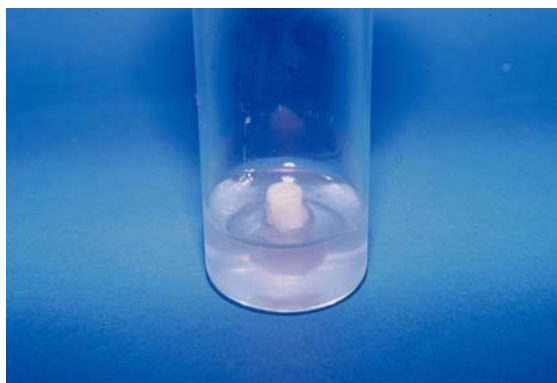
Από τα φυτά “δωρητές” απομακρύνονται οι επιλεγμένες παραφυάδες λαμβάνοντας κατάλληλα μέτρα, ώστε να μην καταστραφεί η βλαστική κορυφή, η οποία θα αποτελέσει το βασικό έκφυτο του πολλαπλασιασμού. Στην συνέχεια οι παραφυάδες ξεπλένονται με άφθονο τρεχούμενο νερό βρύσης, προκειμένου να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του εδάφους. Ακολουθεί η απομάκρυνση των εξωτερικών φύλλων και του μεγαλύτερου μέρους του ριζωματικού ιστού, ώστε να δημιουργηθεί ένα μακρο- έκφυτο με μήκος 20 cm περίπου και διάμετρο 6-8 cm. Τα μακρο-έκφυτα που παίρνουμε από τις παραφυάδες πλένονται με απιονισμένο νερό και μεταφέρονται σε θάλαμο νηματικής ροής όπου γίνεται η απολύμανση τους

σε διάλυμα αλκοόλης (75%) για 1' λεπτό, υποχλωριώδες ασβέστιο (10%) για 30' λεπτά (στο οποίο είχαν προστεθεί 8-10 σταγόνες Tween 20 πολυοξυαιθυλένιο μονολαυρικής σερβιτόλης) και τέλος ακολουθούν τρία διαδοχικά πλυσίματα με αποστειρωμένο νερό (Εικόνα 5).



Εικόνα 5. Απολύμανση των μακρο-εκφύτων

Στην συνέχεια από το κάθε μακρο-έκφυτο αφαιρούνται τα υπολείμματα των φύλλων, προκειμένου να εμφανιστεί η βλαστική κορυφή, η οποία κόβεται δημιουργώντας ένα νέο έκφυτο μικρότερων διαστάσεων περίπου (1,5X1,5X1,0 cm), το οποίο καλλιεργείται σε ειδικό υπόστρωμα πολλαπλασιασμού (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Βλαστική κορυφή σε καλλιέργεια *in vitro*

Τα υπο καλλιέργεια έκφυτα-βλαστικές κορυφές μεταφέρονται σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης (θερμοκρασία 25°C, φωτοπερίοδο 16 ώρες και ένταση φωτισμού 10.000 Lux), όπου σε διάστημα περίπου 4 εβδομάδων έχουν δημιουργηθεί οι πρώτοι τυχαίοι οφθαλμοί (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Θάλαμος ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης

2.3.1 Προετοιμασία του θρεπτικού υποστρώματος

Για την καλλιέργεια *in vitro* των εκφύτων μπανάνας χρησιμοποιήθηκε ένα υπόστρωμα βάσης, το οποίο περιείχε μακροστοιχεία, μικροστοιχεία και βιταμίνες των Murashige and Skoog (1962) (Πίνακας 6). Το συγκεκριμένο υπόστρωμα συμπληρώθηκε με Thiamine HCL (2 mg/l), myo- inositol (100 mg/l), BAP (βενζυλο-αμινοπουρίνη) (3 mg/l), σακχαρόζη (30 gr/l) και άγαρ (7,5 gr/l), ενώ το pH ρυθμίστηκε στο 5,8 χρησιμοποιώντας ανάλογα 0,1 N NaOH ή 0,1N HCL. Ακολούθησε ανάδευση σε ηλεκτρικό μαγνητικό αναδευτήρα και τέλος η διανομή του σε δοκιμαστικούς σωλήνες οι οποίοι μεταφέρθηκαν σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης για 20 λεπτά στους 120°C.

Πίνακας 6. Υπόστρωμα καλλιέργειας των Murashige and Skoog 1962

Macro nutrients	Τελική συγκέντρωση (mg/l)
KNO ₃	1900 mg/l
KH ₂ PO ₄	170 mg/l
NH ₄ NO ₃	1650 mg/l
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370 mg/l
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440 mg/l
Micro nutrients	Τελική συγκέντρωση (mg/l)
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8 mg/l
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3 mg/l
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6 mg/l
H ₃ BO ₃	6,2 mg/l
KJ	0,83 mg/l
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025 mg/l
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025 mg/l
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25 mg/l
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	37,3 mg/l
Vitamins	Τελική συγκέντρωση (mg/l)
Myo-inositol	100 mg/l
Thiamine	0,1 mg/l
Pyridoxine HCL	0,5 mg/l
Nicotinic acid	0,5 mg/l
Glycine	2 mg/l
Διάφορα	Τελική συγκέντρωση (mg/l)
IBA	2 mg/l
Sucrose	30 gr/l
Agar	7,5 gr/l
pH	5,8

2.4 Καλλιέργεια των εκφύτων-ριζωμάτων σε *in vitro* συνθήκες

Η *in vitro* καλλιέργεια των εκφύτων έγινε σε ασηπτικές συνθήκες (θάλαμος οριζόντιας νηματικής ροής) με την βοήθεια κατάλληλων εργαστηριακών εργαλείων (λαβίδες, νυστέρια, ψαλίδια κ.α.), τα οποία προηγουμένως είχαν απολυμανθεί σε κλίβανο ξηρής αποστείρωσης. Στα εργαλεία αυτά σε τακτά χρονικά διαστήματα, γίνεται επιπλέον απολύμανση σε αλκοόλη (95%) και γρήγορο πέρασμα πάνω σε φλόγα. Δεκαοχτώ ριζώματα από τα αντίστοιχα υγιή φυτά “δωρητές” χρησιμοποιήθηκαν για την λήψη των βλαστικών κορυφών από τις οποίες (αφού απολυμάνθηκαν σε διάλυμα αλκοόλης 75% για 1 λεπτό και υποχλωριώδες ασβέστιο 10% για 30 λεπτά) απομονώθηκαν οι μεριστωματικές κορυφές. Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα ο οποίος περιέχει υπόστρωμα Murashige and Skoog 1962 εμφυτεύεται ένα έκφυτο-μεριστωματική κορυφή και στην συνέχεια οι σωλήνες μεταφέρονται σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης (θερμοκρασία 25°C, 16 ώρες φωτοπερίοδο και ένταση φωτισμού 10.000 Lux) όπου μετά από 4 εβδομάδες από το κάθε καλλιεργούμενο έκφυτο προκύπτουν τυχαίοι οφθαλμοί-βλαστοί (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Τυχαίοι οφθαλμοί προερχόμενοι από μια βλαστική κορυφή

Οι τυχαίοι οφθαλμοί που προκύπτουν (περίπου 5 ανά ριζωματικό έκφυτο) από τις μεριστωματικές κορυφές διαιρούνται σε μικρότερα κομμάτια και υποκαλλιεργούνται σε καινούργιο θρεπτικό υπόστρωμα. Ακολούθησε μια σειρά επτά διαδοχικών υποκαλλιεργειών (με χρονική απόσταση η μια

από την άλλη 2 εβδομάδων) προκειμένου να δημιουργηθεί ένας ικανοποιητικός αριθμός εκφύτων απαραίτητος για την διεξαγωγή του πειράματος. Το ποσοστό των τυχαίων οφθαλμών που προκύπτουν εξαρτάται από την ποικιλία, την συγκέντρωση της κυτοκινίνης, τον αριθμό των υποκαλλιεργειών και τέλος από την διαφορετικότητα της παραφυάδας.

Η επιμήκυνση και ριζοβολία των τυχαίων οφθαλμών ολοκληρώνεται με την καλλιέργεια τους σε υπόστρωμα Murashige and Skoog 1962 συμπληρωμένο με σακχαρόζη (20 gr/l), ενεργό άνθρακα (1,6 gr/l) και IBA (2 mg/l) (Εικόνα 9). Ακολουθεί η μεταφορά τους σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης για 2-3 εβδομάδες, ώστε να εξελιχθούν σε πλήρη φυτάρια με ικανό αριθμό ριζών.



Εικόνα 9. Vitro-φυτάρια ριζοβολιμένα σε *in vitro* συνθήκες

2.4.1 Προετοιμασία των θρεπτικών υποστρωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα

Η αποτελεσματικότητα της *in vitro* καλλιέργειας στην τριπλοειδή ποικιλία Grande Naine (*Musa* spp.) μελετήθηκε αξιοποιώντας οχτώ διαφορετικά υποστρώματα, τα οποία ως βάση είχαν το υπόστρωμα των Murashige and Skoog 1962 εμπλουτισμένο με Thiamine (2 mg/l), inositol (100 mg/l), BAP (6 βενζυλ-αμινοπουρίνη) (3 mg/l), σακχαρόζη (30 gr/l), ενώ το pH ρυθμίστηκε στο 5,8 χρησιμοποιώντας ανάλογα 0,1N NaOH ή 0,1N HCL. Η στερεοποίηση των οχτώ υποστρωμάτων έγινε με διαφορετικά αδρανή υλικά (άμυλα). Συγκεκριμένα το 1^ο υπόστρωμα στερεοποιήθηκε με άγαρ σε συγκέντρωση 0,8% (αξιοποιήθηκε ως μάρτυρας), το 2^ο υπόστρωμα στερεοποιήθηκε με άμυλο καλαμποκιού σε συγκέντρωση 5%, το 3^ο

υπόστρωμα στερεοποιήθηκε με άμυλο σιταριού σε συγκέντρωση 5%, στο 4^ο υπόστρωμα προστέθηκε άμυλο πατάτας σε συγκέντρωση 5%, στο 5^ο υπόστρωμα προστέθηκε άμυλο ρυζιού σε συγκέντρωση 5%, στο 6^ο υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε μείγμα από άμυλο καλαμποκιού+άγαρ σε συγκέντρωση 5%+0,1%, στο 7^ο υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε μείγμα από άμυλο σιταριού+άγαρ σε συγκέντρωση 5%+0,1% και τέλος στο 8^ο υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε μείγμα από άμυλο πατάτας+άγαρ σε συγκέντρωση 5%+0,1% (Πίνακας 7). Στην συνέχεια το κάθε υπόστρωμα μοιράστηκε σε 5 βάζα τα οποία μεταφέρθηκαν για αποστείρωση σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης στους 120^οC για 20' λεπτά.

Πίνακας 7. Αδρανή υλικά (άμυλα) που χρησιμοποιήθηκαν για την στερεοποίηση των οχτώ υποστρωμάτων που αξιοποιήθηκαν στο πείραμα

Αριθμός υποστρώματος	Στερεοποιητικά	Συγκέντρωση
No 1 (μάρτυρας)	άγαρ	0,8%
No 2	άμυλο καλαμποκιού	5%
No 3	άμυλο σιταριού	5%
No 4	άμυλο πατάτας	5%
No 5	άμυλο ρυζιού	5%
No 6	άμυλο καλαμποκιού+άγαρ	5% + 0,1%
No 7	άμυλο σιταριού+άγαρ	5% + 0,1%
No 8	άμυλο πατάτας+άγαρ	5% + 0,1%

2.4.2 Καλλιέργεια των εκφύτων στα οχτώ διαφορετικά υποστρώματα

Από τις διαδοχικές υποκαλλιέργειες (περίπου επτά) προέκυψε ένας ικανοποιητικός αριθμός εκφύτων, τα οποία καλλιεργήθηκαν στα οχτώ διαφορετικά υποστρώματα. Συγκεκριμένα για κάθε υπόστρωμα έγιναν 5 επεμβάσεις με 10 επαναλήψεις για κάθε επέμβαση και καλλιεργήθηκαν συνολικά 400 έκφυτα (8X5X10=400).

Ο μικροπολλαπλασιασμός και εμφύτευση των εκφύτων γίνεται σε ασηπτικές συνθήκες (θάλαμος οριζόντιας νηματικής ροής) και στη συνέχεια μεταφέρονται σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης (θερμοκρασία 25°C, φωτοπερίοδο 16 ώρες και ένταση φωτισμού 10.000 LUX) όπου παρέμειναν για περίπου 2 μήνες.

2.5 Καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών

Από τις δεκαοχτώ βλαστικές κορυφές της ποικιλίας Grande Naine (μετά από διαδοχικές υποκαλλιέργειες) προέκυψαν 400 έκφυτα, τα οποία αναπτύχθηκαν σε κατάλληλες συνθήκες ανάπτυξης (θερμοκρασία 25°C, φωτοπερίοδο 16 ώρες και ένταση φωτισμού 10.000 LUX) για 2 μήνες περίπου. Στην συνέχεια τα 400 έκφυτα αξιολογήθηκαν για την *in vitro* ανταπόκριση τους σε ορισμένα χαρακτηριστικά, προκειμένου να προσδιοριστεί η επίδραση των οχτώ διαφορετικών υποστρωμάτων. Η αξιολόγηση έγινε με την καταγραφή των παρακάτω χαρακτηριστικών:

- Αριθμός βλαστών ανά έκφυτο
- Αριθμός ριζών ανά έκφυτο
- Μήκος βλαστού ανά έκφυτο
- Μήκος ρίζας ανά έκφυτο
- Νωπό βάρος ανά συστάδα (βλαστοί και ρίζες)
- Ξηρό βάρος ανά συστάδα (βλαστοί και ρίζες)

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η διαδικασία καταγραφής των μορφολογικών χαρακτηριστικών, αρχικά έγινε η εξαγωγή των εκφύτων από τα βάζα καλλιέργειας. Ακολουθεί η απομάκρυνση των υπολειμμάτων του θρεπτικού υποστρώματος χρησιμοποιώντας νερό βρύσης με χαμηλή ταχύτητα ροής, προκειμένου να αποφευχθεί τυχόν απώλεια ριζών και καταγράφονται ο αριθμός των βλαστών και των ριζών καθώς επίσης το μήκος των βλαστών και των ριζών.

2.6 Προσδιορισμός χλωρού και ξηρού βάρους

Αμέσως μετά την καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών (αριθμός βλαστών και ριζών, μήκος βλαστών και ριζών) ακολούθησε ο

προσδιορισμός του χλωρού και ξηρού βάρους. Τα έκφυτα-συστάδες τοποθετούνται σε απορροφητικό χαρτί και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (20-22°C), προκειμένου να απομακρυνθεί η περίσσεια υγρασία.

Στην συνέχεια ακολουθεί η ζύγιση των εκφύτων χρησιμοποιώντας αναλυτικό ζυγό ακριβείας και καταγράφεται το χλωρό βάρος (Εικόνα 10).



Εικόνα 10. Έκφυτα μετά την καταγραφή του χλωρού βάρους

Μετά τον προσδιορισμό του χλωρού βάρους ακολουθεί ο προσδιορισμός του ξηρού. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρικό πυραντήριο με μηχανικό αερισμό, το οποίο είχε προγραμματιστεί στους 65°C. Τα έκφυτα τοποθετήθηκαν σε ειδικούς δίσκους πάνω σε διηθητικό χαρτί και μεταφέρθηκαν στο πυραντήριο όπου παρέμειναν για 24 ώρες (Εικόνα 11). Έπειτα ακολούθησε η μεταφορά τους σε ειδικό ξηραντήριο (για να αποφευχθεί η απορρόφηση υγρασίας από το εξωτερικό περιβάλλον) και στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός του ξηρού βάρους χρησιμοποιώντας αναλυτικό ζυγό ακριβείας.



Εικόνα 11. Έκφυτα αποξηραμένα σε ηλεκτρικό πυραντήριο

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Αξιολόγηση της επίδρασης διαφορετικών θρεπτικών υποστρωμάτων στην *in vitro* καλλιέργεια της ποικιλίας Grande Naine

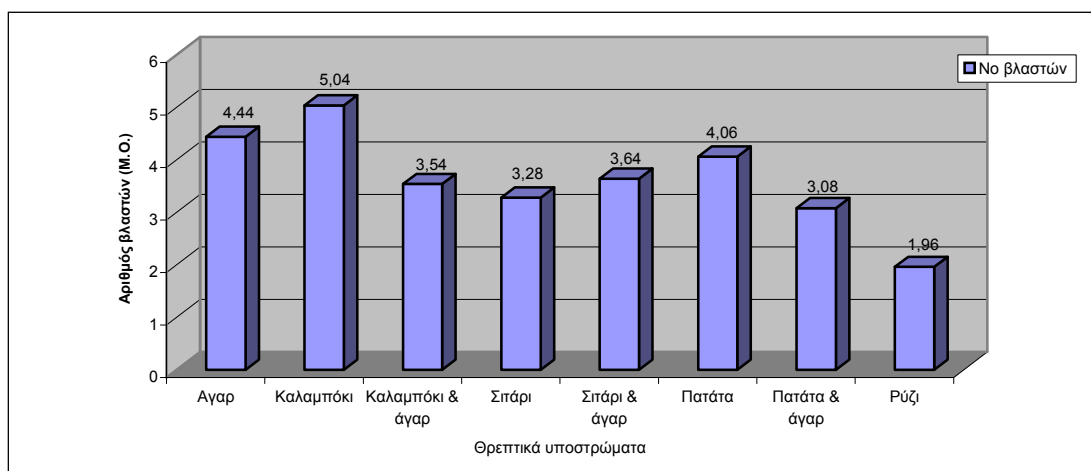
Στην παρούσα πειραματική εργασία στόχος ήταν η αξιολόγηση αμύλων χαμηλού κόστους στην *in vitro* παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού μπανάνας (*Musa spp.*). Για την πραγματοποίηση της εργασίας αυτής χρησιμοποιήθηκαν οχτώ διαφορετικά θρεπτικά υποστρώματα τα οποία είχαν ως βάση το υπόστρωμα Murashige and Skoog (1962) και η στερεοποίηση τους έγινε με διαφορετικά στερεοποιητικά όπως: άγαρ, άμυλο καλαμποκιού, άμυλο σιταριού, άμυλο πατάτας, άμυλο ρυζιού και μείγματα άμυλο καλαμποκιού+άγαρ, άμυλο σιταριού +άγαρ και άμυλο πατάτας+άγαρ.

Προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση των οχτώ θρεπτικών υποστρωμάτων στην ανάπτυξη μορφολογικών χαρακτηριστικών αξιοποιήθηκαν 18 βλαστικές κορυφές της ποικιλίας Grande Naine (*Musa sp.*), οι οποίες μικροπολλαπλασιάστηκαν *in vitro* και δημιουργήθηκε ένας μεγάλος αριθμός εκφύτων (400). Τα βλαστημένα έκφυτα-συστάδες αξιολογήθηκαν με βάση συγκεκριμένα χαρακτηριστικά όπως: αριθμός βλαστών και ριζών, μήκος βλαστών και ριζών, χλωρό και ξηρό βάρος. Αξίζει να σημειωθεί ότι σημειώθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις, οι οποίες διαφαίνεται ότι εξαρτώνται από το είδος του αμύλου.

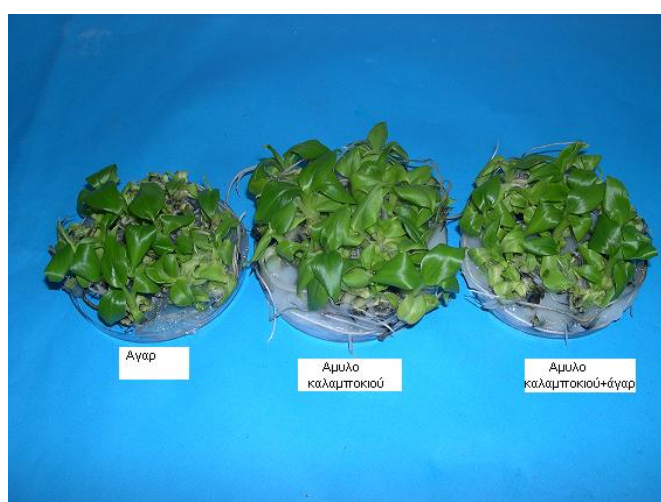
3.1.1 Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην *in vitro* παραγωγή βλαστών

Από την αξιολόγηση της επίδρασης των οχτώ διαφορετικών θρεπτικών υποστρωμάτων στο χαρακτηριστικό αριθμός βλαστών προκύπτουν τα παρακάτω αποτελέσματα. Στο υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άγαρ (μάρτυρας) υπήρξε μια σχετικά καλή βλαστογένεση, με αποτέλεσμα ο αριθμός των βλαστών για κάθε καλλιεργούμενο έκφυτο να κυμανθεί από 1-14, ενώ ο Μ.Ο. ήταν 4,44. Βέβαια στο υπόστρωμα που

περιείχε άμυλο καλαμποκιού τα έκφυτα εμφάνισαν μια καλύτερη προσαρμοστικότητα δίδοντας περισσότερους βλαστούς (1-15) με αποτέλεσμα ο μέσος όρος να κυμανθεί σε υψηλότερα επίπεδα (Μ.Ο.=5.04). Αντίθετα στο υπόστρωμα που περιείχε άμυλο ρυζιού η ανταπόκριση των εκφύτων στη βλαστογένεση ήταν η μικρότερη (Μ.Ο.=1,96). Όσον αφορά τα υποστρώματα που είχαν στερεοποιηθεί με τα μείγματα: καλαμπόκι+άγαρ, σιτάρι+άγαρ και πατάτα+άγαρ η ανταπόκριση των εκφύτων ήταν περίπου ίδια με Μ.Ο. 3,54, 3,64, και 3,08, αντίστοιχα (Πίνακας 18, Εικόνα 12,13,15,17 και 19).



Εικόνα 12. Επίδραση των οχτώ θρεπτικών υποστρωμάτων στην βλαστογένεση *in vitro*



Εικόνα 13. Ανταπόκριση των *in vitro* καλλιεργούμενων εκφύτων σε υποστρώματα στερεοποιημένα με: άγαρ (μάρτυρας), άμυλο καλαμποκιού και μείγμα άμυλου καλαμποκιού+άγαρ

Από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων που αφορούν την επίδραση των οχτώ διαφορετικών υποστρωμάτων στην πρόκληση βλαστογένεσης ανά καλλιεργούμενο έκφυτο προκύπτει ότι το υπόστρωμα με άμυλο καλαμποκιού έδωσε στατιστικά σημαντικές διαφορές έναντι των υπολοίπων επτά, ενώ στο υπόστρωμα με το άμυλο ρυζιού η ανταπόκριση των εκφύτων εμφανίζει σημαντική υστέρηση (Πίνακας 8).

Πίνακας 8. Αξιολόγηση της παραλλακτικότητας του χαρακτηριστικού αριθμός βλαστών σε οχτώ διαφορετικά υποστρώματα.

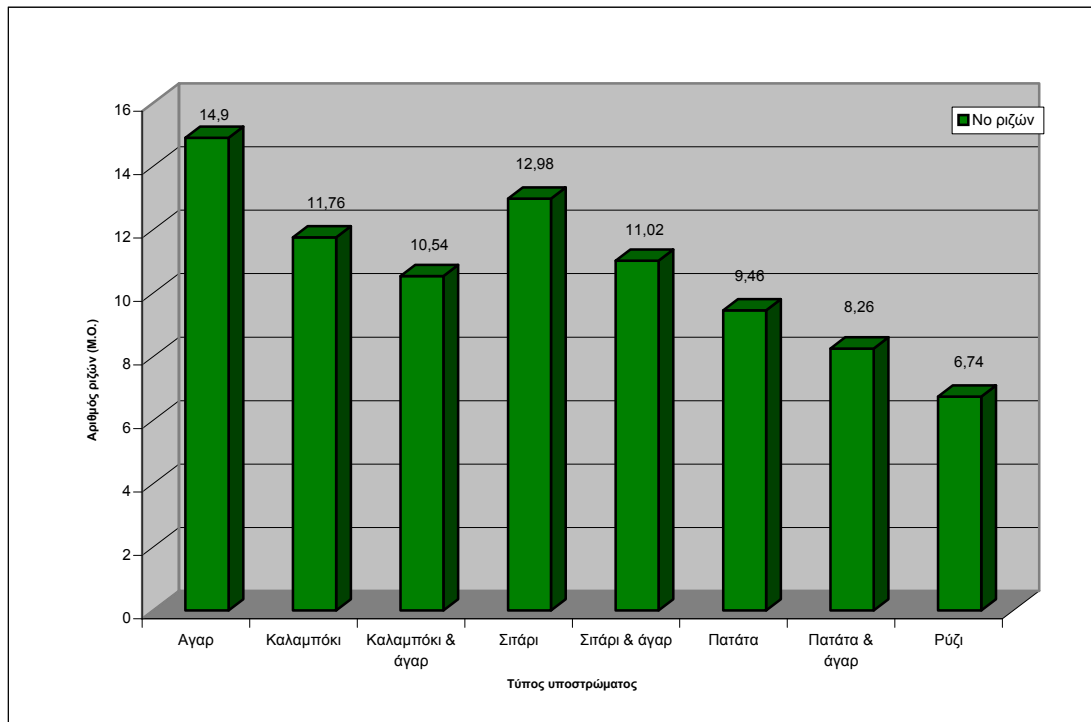
Τύπος υποστρώματος		Αριθμός βλαστών
Άγαρ (μάρτυρας)	Άγαρ	4,44 ab*
Άμυλο καλαμποκιού	Άμυλο καλαμποκιού	5,04 a
	Άμυλο καλαμποκιού+άγαρ	3,54 bc
Άμυλο σιταριού	Άμυλο σιταριού	3,28 bc
	Άμυλο σιταριού+άγαρ	3,64 bc
Άμυλο πατάτας	Άμυλο πατάτας	4,06 abc
	Άμυλο πατάτας+άγαρ	3,08 c
Άμυλο ρυζιού	Άμυλο ρυζιού	1,96 d

*Οι μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά κατά την δοκιμή Duncan ($P<0,5$)

3.1.2 Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην *in vitro* παραγωγή ριζών

Σε αντίθεση με το χαρακτηριστικό αριθμός βλαστών, το χαρακτηριστικό αριθμός ριζών ευνοήθηκε περισσότερο στο υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άγαρ (μάρτυρας). Πράγματι τα περισσότερα έκφυτα έδωσαν ένα μεγάλο αριθμό και πολύ καλά αναπτυγμένων ριζών, ο οποίος κυμάνθηκε από 6-29 με Μ.Ο=14,90. Ακολουθεί το υπόστρωμα με άμυλο σιταριού, όπου επίσης δημιουργήθηκε ένας μεγάλος αριθμός ριζών ανά έκφυτο που κυμάνθηκε από 7-33 με Μ.Ο.=12,98. Όπως και το προηγούμενο χαρακτηριστικό (αριθμός βλαστών) έτσι και το χαρακτηριστικό αριθμός

ριζών δεν ευνοήθηκε στο υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο ρυζιού. Τα μείγματα: άμυλο καλαμποκιού+άγαρ, άμυλο σιταριού+άγαρ και άμυλο πατάτας+άγαρ έδωσαν μέσους όρους με μικρή απόκλιση μεταξύ τους (10,54, 11,02 και 8,26 αντίστοιχα) (Πίνακας 18 , Εικόνα 14,13,15,17 και 19).



Εικόνα 14. Επίδραση των οχτώ θρεπτικών υποστρωμάτων στην παραγωγή ριζών *in vitro*



Εικόνα 15. Αναπρόκριση των *in vitro* καλλιεργούμενων εκφύτων σε υποστρώματα στερεοποιημένα με: άγαρ (μάρτυρας), άμυλο σιταριού και μείγμα αμύλου σιταριού+άγαρ

Από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων που αφορούν το χαρακτηριστικό αριθμός ριζών, το υπόστρωμα με άγαρ (μάρτυρας) έδωσε τις υψηλότερες τιμές με στατιστικά σημαντική διαφορά, ενώ οι μικρότερες τιμές καταγράφηκαν στο υπόστρωμα με άμυλο ρυζιού (Πίνακας 9).

Πίνακας 9. Αξιολόγηση της παραλλακτικότητας του χαρακτηριστικού αριθμός ριζών σε οχτώ διαφορετικά υποστρώματα

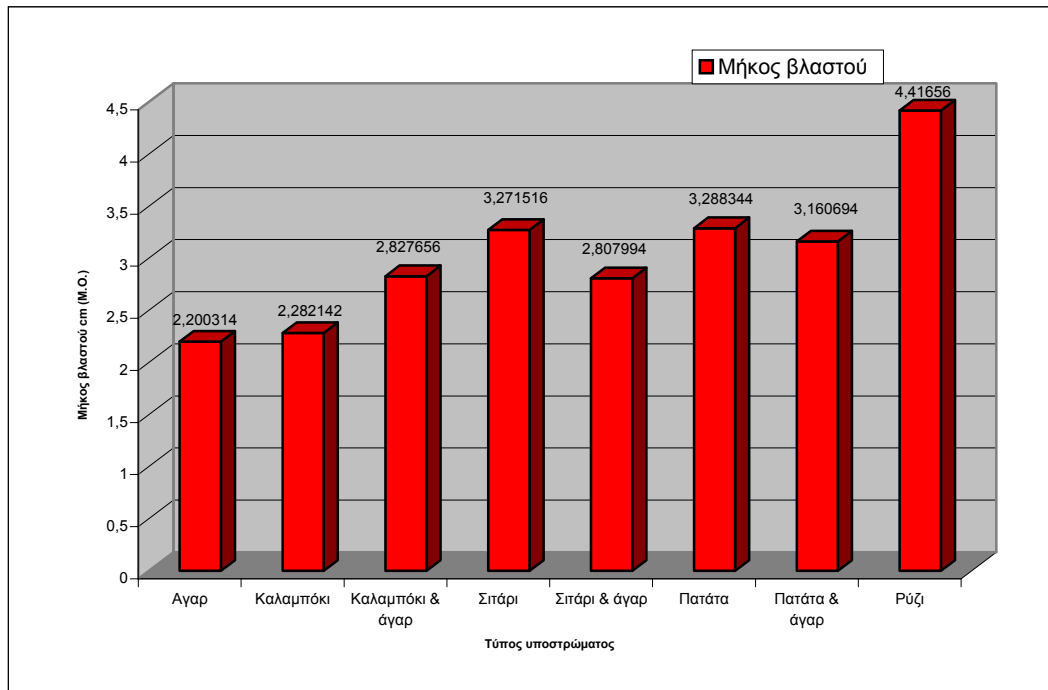
Τύπος υποστρώματος		Αριθμός ριζών
Άγαρ (μάρτυρας)	Άγαρ	14,90 a
Άμυλο καλαμποκιού	Άμυλο καλαμποκιού	11,76 bc
	Άμυλο καλαμποκιού+άγαρ	10,54 cd
Άμυλο σιταριού	Άμυλο σιταριού	12,98 ab
	Άμυλο σιταριού+άγαρ	11,02 bc
Άμυλο πατάτας	Άμυλο πατάτας	9,46 cd
	Άμυλο πατάτας+άγαρ	8,26 de
Άμυλο ρυζιού	Άμυλο ρυζιού	6,74 e

*Οι μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά κατά την δοκιμή Duncan ($P < 0,5$)

3.1.3 Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην ανάπτυξη του βλαστού

Στο χαρακτηριστικό μήκος βλαστού παρατηρούμε ότι το υπόστρωμα που περιείχε άγαρ (μάρτυρας) η προσαρμοστικότητα των *in vitro*-φυταρίων δεν ήταν η επιθυμητή με αποτέλεσμα οι τιμές να κυμανθούν σε χαμηλά επίπεδα (1,2-4,8 cm) με το Μ.Ο. να διαμορφώνεται στο 2,2. Αντίθετα με τον μάρτυρα, στο υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο ρυζιού η προσαρμογή των *in vitro*-φυταρίων ήταν άριστη με αποτέλεσμα ο Μ.Ο. να αγγίξει το 4,4 cm. Τα μείγματα αμύλου καλαμποκιού+άγαρ, αμύλου σιταριού+άγαρ και το μείγμα αμύλου πατάτας+άγαρ έδωσαν μικρές τιμές (2,83, 2,81 και 3,16, αντίστοιχα), οι οποίες όμως ήταν υψηλότερες από εκείνες του μάρτυρα (2,20). Επιπλέον σημειώνεται ότι και τα υποστρώματα

που είχαν στερεοποιηθεί με άμυλο πατάτας, σιταριού και καλαμποκιού έδωσαν υψηλότερες τιμές (3,29, 3,27 και 2,28 αντίστοιχα) από εκείνες του μάρτυρα (2,20) (Πίνακας 18 , Εικόνα 16,13,15,17 και 19).



Εικόνα 16. Επίδραση των οχτώ θρεπτικών υποστρωμάτων στην ανάπτυξη βλαστού *in vitro*



Εικόνα 17. Ανταπόκριση των *in vitro* καλλιεργούμενων εκφύτων σε υποστρώματα στερεοποιημένα με: άγαρ (μάρτυρας), άμυλο πατάτας και μείγμα αμύλου πατάτας+άγαρ

Από την αξιολόγηση των στοιχείων με την δοκιμή Duncan προκύπτει ότι το υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο ρυζιού έδωσε τιμές στατιστικά σημαντικές, έναντι όλων των υπολοίπων υποστρωμάτων (Πίνακας 10).

Πίνακας 10. Αξιολόγηση της παραλλακτικότητας του χαρακτηριστικού μήκος βλαστού σε οχτώ διαφορετικά υποστρώματα

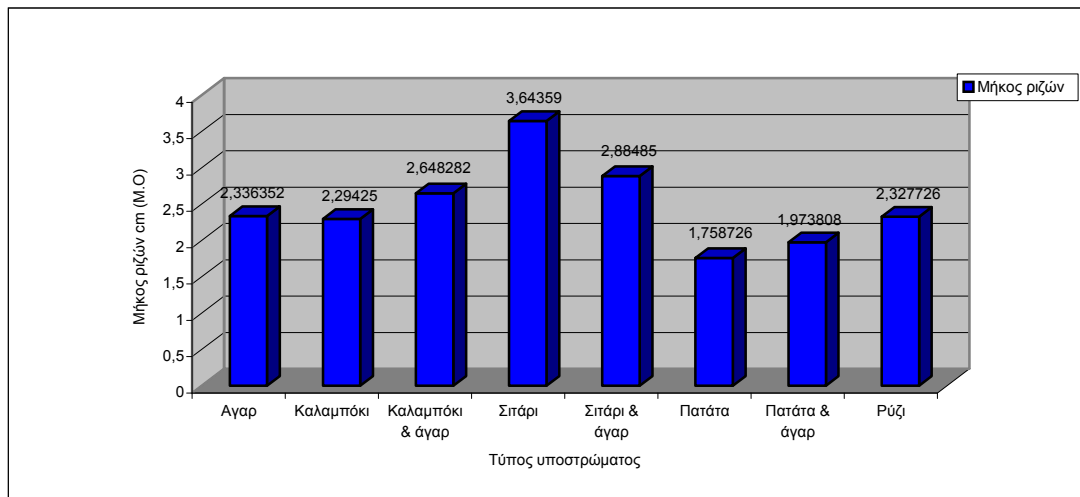
Τύπος υποστρώματος		Μήκος βλαστού
Αγαρ (μάρτυρας)	Αγαρ	2,20 d
Άμυλο καλαμποκιού	Άμυλο καλαμποκιού	2,28 d
	Άμυλο καλαμποκιού+άγαρ	2,83 bc
Άμυλο σιταριού	Άμυλο σιταριού	3,27 b
	Άμυλο σιταριού+άγαρ	2,81 bc
Άμυλο πατάτας	Άμυλο πατάτας	3,29 b
	Άμυλο πατάτας+άγαρ	3,16 b
Άμυλο ρυζιού	Άμυλο ρυζιού	4,42 a

*Οι μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά κατά την δοκιμή Duncan ($P < 0,5$)

3.1.4 Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην ανάπτυξη των ριζών

Από την αξιολόγηση της επίδρασης των θρεπτικών υποστρωμάτων στην ανάπτυξη των ριζών (μήκος ρίζας) προκύπτει ότι τα *in vitro*-φυτάρια που αναπτύχθηκαν στο υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο πατάτας, καθώς επίσης και στο μείγμα πατάτας+άγαρ δημιούργησαν ρίζες με περιορισμένο μήκος (Μ.Ο.=1,76 και 1,97 αντίστοιχα). Στο υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο σιταριού καταγράφεται η μεγαλύτερη ανάπτυξη των ριζών (Μ.Ο.=3,64). Όσον αφορά τον μάρτυρα (άγαρ) προκύπτουν τιμές (Μ.Ο.=2,34) περίπου όμοιες με εκείνες των υποστρωμάτων που είχαν στερεοποιηθεί με άμυλο καλαμποκιού (Μ.Ο.=2,29), με μείγμα

καλαμποκιού+άγαρ (M.O.=2,65) και με μείγμα αμύλου σιταριού+άγαρ (M.O.= 2,88) (Πίνακας 18 , Εικόνα 18,13,15,17 και 19).



Εικόνα 18. Επίδραση των οχτώ θρεπτικών υποστρωμάτων στην ανάπτυξη ριζών *in vitro*

Από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων προκύπτουν πράγματι στατιστικά σημαντικές διαφορές στο υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο σιταριού (Πίνακας 11).



Εικόνα 19. Ανταπόκριση των *in vitro* καλλιεργούμενων εκφύτων σε υποστρώματα στερεοποιημένα με : άγαρ (μάρτυρας) και άμυλο ρυζιού

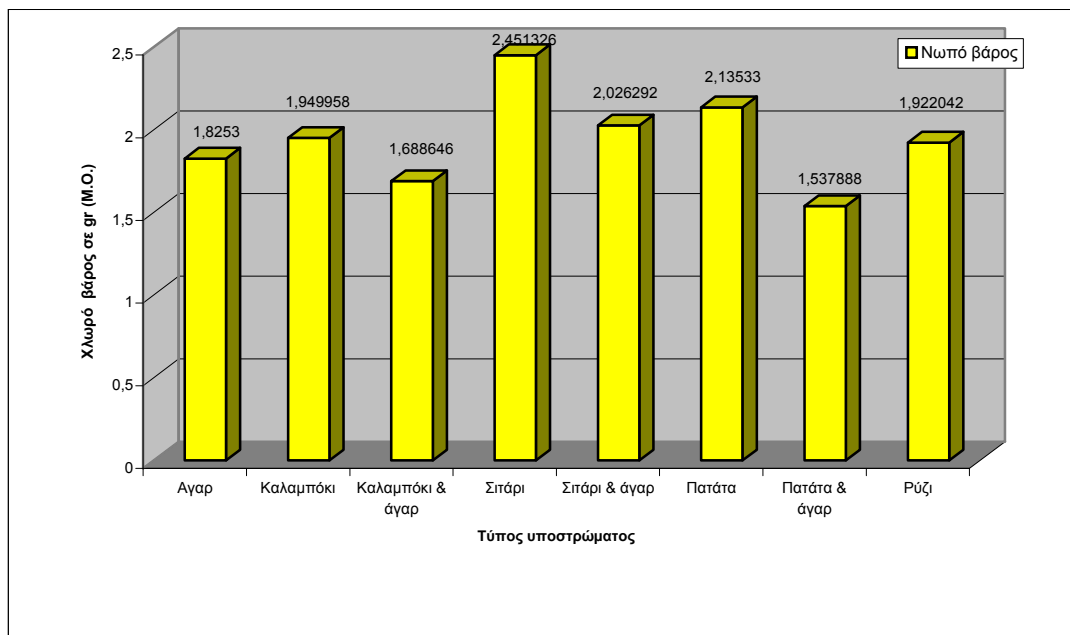
Πίνακας 11. Αξιολόγηση της παραλλακτικότητας του χαρακτηριστικού μήκος ριζών σε οχτώ διαφορετικά υποστρώματα

Τύπος υποστρώματος		Μήκος ριζών
Άγαρ (μάρτυρας)	Άγαρ	2,34 cd
Άμυλο καλαμποκιού	Άμυλο καλαμποκιού	2,29 cd
	Άμυλο καλαμποκιού+άγαρ	2,65 bc
Άμυλο σιταριού	Άμυλο σιταριού	3,64 a
	Άμυλο σιταριού+άγαρ	2,88 b
Άμυλο πατάτας	Άμυλο πατάτας	1,76 e
	Άμυλο πατάτας+άγαρ	1,97 de
Άμυλο ρυζιού	Άμυλο ρυζιού	2,33 cd

*Οι μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά κατά την δοκιμή Duncan ($P < 0,5$)

3.1.5 Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην παραγωγή χλωρού βάρους

Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων που αφορούν το χαρακτηριστικό του χλωρού βάρους σημειώνονται αξιόλογες διαφοροποιήσεις με μεγαλύτερη τιμή να καταγράφεται στο υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο σιταριού όπου ο μέσος όρος φθάνει το 2,451gr. Παρόμοιο Μ.Ο. με τον προαναφερθέντα έδωσε το υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο πατάτας (Μ.Ο.=2,135gr). Σε αντίθεση με τα προαναφερθέντα θρεπτικά υποστρώματα τα *in vitro*-φυτάρια που αναπτύχθηκαν στο άγαρ (μάρτυρας), έδωσαν μικρότερο χλωρό βάρος (Μ.Ο.=1,825 gr), το οποίο δεν διαφοροποιείται αρκετά από εκείνο που έδωσαν τα *in vitro*-φυτάρια που αναπτύχθηκαν στα υποστρώματα: άμυλο του καλαμποκιού (Μ.Ο.=1,949 gr), άμυλο καλαμποκιού +άγαρ (Μ.Ο.=1,689 gr), άμυλο πατάτας+άγαρ (Μ.Ο.=1,538) και άμυλο ρυζιού (Μ.Ο.=1,922 gr) (Πίνακας 18 , Εικόνα 20).



Εικόνα 20. Επίδραση των οχτώ θρεπτικών υποστρωμάτων στην παραγωγή χλωρού βάρους

Από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι, το υπόστρωμα με μείγμα αμύλου πατάτας+άγαρ υστέρησε σημαντικά έναντι των υπολοίπων, ενώ τιμές στατιστικά σημαντικές έδωσε το υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο σιταριού (Πίνακας 12).

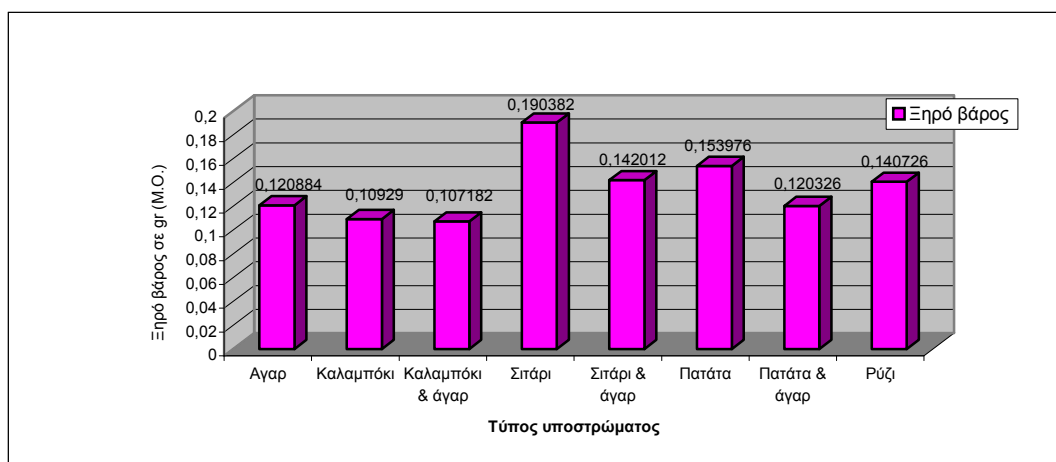
Πίνακας 12. Αξιολόγηση της παραλλακτικότητας του χαρακτηριστικού χλωρού βάρους σε οχτώ διαφορετικά υποστρώματα

Τύπος υποστρώματος		Χλωρό βέρος
Άγαρ (μάρτυρας)	Άγαρ	1,825 bcd
Άμυλο καλαμποκιού	Άμυλο καλαμποκιού	1,949 bcd
	Άμυλο καλαμποκιού+άγαρ	1,689 cd
Άμυλο σιταριού	Άμυλο σιταριού	2,451 a
	Άμυλο σιταριού+άγαρ	2,026 bc
Άμυλο πατάτας	Άμυλο πατάτας	2,135 ab
	Άμυλο πατάτας+άγαρ	1,538 d
Άμυλο ρυζιού	Άμυλο ρυζιού	1,922 bcd

*Οι μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά κατά την δοκιμή Duncan ($P < 0,5$)

3.1.6 Επίδραση των διαφορετικών υποστρωμάτων στην παραγωγή ξηρού βάρους

Τα οχτώ διαφορετικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα επηρέασαν διαφορετικά την παραγωγή του ξηρού βάρους. Το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό (όπως και το χαρακτηριστικό χλωρό βάρος) ευνοήθηκε περισσότερο στα υποστρώματα που είχαν στερεοποιηθεί με άμυλο σιταριού (M.O.=0,190 gr), άμυλο πατάτας (M.O.=0,154 gr) και σε μείγμα αμύλου σιταριού+άγαρ (M.O.=0,142 gr). Στο υπόστρωμα με άμυλο καλαμποκιού (M.O.=0,109 gr) και μείγμα αμύλου καλαμποκιού+άγαρ (M.O.=0,107 gr) καταγράφηκαν οι μικρότερες τιμές, οι οποίες βέβαια δεν απείχαν πολύ από εκείνες του μάρτυρα (M.O.=0,121gr) (Πίνακας 18, Εικόνα 21).



Εικόνα 21. Επίδραση των οχτώ θρεπτικών υποστρωμάτων στην παραγωγή ξηρού βάρους

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων επιβεβαιώνει τα προαναφερθέντα, δηλαδή το υπόστρωμα με άμυλο σιταριού έδωσε τιμές στατιστικά σημαντικές έναντι των υπολοίπων (Πίνακας 13).

Πίνακας 13. Αξιολόγηση της παραλλακτικότητας του χαρακτηριστικού ξηρού βάρους σε οχτώ διαφορετικά υποστρώματα

Τύπος υποστρώματος		Ξηρό βάρος
Άγαρ (μάρτυρας)	Άγαρ	0,121 bc
Άμυλο καλαμποκιού	Άμυλο καλαμποκιού	0,109 c
	Άμυλο καλαμποκιού+άγαρ	0,107 c
Άμυλο σιταριού	Άμυλο σιταριού	0,190 a
	Άμυλο σιταριού+άγαρ	0,142 bc
Άμυλο πατάτας	Άμυλο πατάτας	0,154 b
	Άμυλο πατάτας+άγαρ	0,120 bc
Άμυλο ρυζιού	Άμυλο ρυζιού	0,141 bc

*Οι μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά κατά την δοκιμή Duncan ($P < 0,5$)

3.2 Αξιολόγηση της παραλλακτικότητας της ποικιλίας Grande Naine μεταξύ των 5 επεμβάσεων

Από την αξιολόγηση της παραλλακτικότητας ανάμεσα στις πέντε επεμβάσεις, που αφορά το κάθε θρεπτικό υπόστρωμα προκύπτουν διαφοροποιήσεις και στα έξι αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά (αριθμός βλαστών και ριζών, μήκος βλαστού και ρίζας, χλωρό και ξηρό βάρος συστάδας) (Πίνακας 14α και 14β).

Πίνακας 14α. Επίδραση τεσσάρων υποστρωμάτων (άγαρ, άμυλο καλαμποκιού, άμυλο καλαμποκιού+άγαρ, άμυλο σιταριού) στα έξι αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά χωριστά για κάθε μια από τις πέντε επεμβάσεις

Τύπος υποστρώματος	Επεμβάσεις	Αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά					
		Νο βλαστών	Μήκος βλαστού	Νο ριζών	Μήκος ριζών	Χλωρό βάρος	Ξηρό βάρος
Μάρτυρας (άγαρ)	1	4,3	2,13899	12	2,16313	1,67626	0,16981
	2	5,7	1,44783	16,1	1,54667	2,44794	0,13268
	3	4,3	1,94961	17,5	2,33397	1,957	0,10781
	4	3	3,10064	13,6	3,01842	1,59975	0,08629
	5	4,9	2,3645	15,3	2,61957	1,44555	0,10783
Άμυλο καλαμποκιού	1	4,5	2,1131	8,5	1,56415	1,37887	0,06712
	2	5,1	1,70963	13,6	2,23847	1,46237	0,09272
	3	4,5	2,47021	7,4	2,11666	1,57422	0,09544
	4	5,3	2,411	10,6	2,12591	1,87265	0,1055
	5	5,8	2,70677	18,7	3,42606	3,46168	0,18567
Άμυλο καλαμποκιού+άγαρ	1	5,5	2,63041	6,1	0,42645	1,49327	0,09697
	2	2,2	3,3325	10	3,13108	1,45849	0,09329
	3	4,4	2,18721	13,5	2,9804	1,71953	0,10867
	4	1,9	3,6855	10,4	3,5287	1,79446	0,12286
	5	3,7	2,30266	12,7	3,17478	1,97748	0,11412
Άμυλο σιταριού	1	3,5	3,57857	8,8	3,66739	3,04021	0,20952
	2	4,2	2,69276	13,6	2,52637	2,3559	0,16496
	3	3,5	3,8853	8,7	3,57165	2,37725	0,16793
	4	2,4	3,53337	10,4	4,61884	2,39329	0,16918
	5	2,8	2,66725	13,4	3,8337	2,08998	0,24032

Πίνακας 14β. Επίδραση τεσσάρων υποστρωμάτων (άμυλο σπαριού+άγαρ, άμυλο πατάτας, άμυλο πατάτας+άγαρ, άμυλο ρυζιού) στα έξι αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά χωριστά για κάθε μια από τις πέντε επεμβάσεις

Τύπος υποστρώματος	Επεμβάσεις	Αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά					
		Νο βλαστών	Μήκος βλαστού	Νο ριζών	Μήκος ριζών	Χλωρό βάρος	Ξηρό βάρος
Άμυλο σπαριού +άγαρ	1	3,7	2,3455	8,7	2,90038	1,67845	0,11202
	2	3,7	2,54614	12,3	3,21044	1,9677	0,2105
	3	5	2,73136	13,7	2,37995	2,61935	0,12901
	4	2,6	3,32607	10,3	2,59199	1,77423	0,12267
	5	3,2	3,0909	10,1	3,34149	2,09173	0,13586
Άμυλο πατάτας	1	2,9	3,9176	8,2	1,59883	2,04014	0,15064
	2	2,3	2,614	8	1,9763	1,10949	0,10341
	3	6,9	2,88929	13,5	1,66739	2,65501	0,17033
	4	3,1	4,4041	11,2	2,00133	2,48157	0,17965
	5	5,1	2,61673	6,4	1,54978	2,39044	0,16585
Άμυλο πατάτας+άγαρ	1	3,8	3,03688	9,4	1,84097	2,02901	0,14587
	2	3,6	2,75585	8,8	1,95235	1,72229	0,12523
	3	3	3,93534	9,9	2,03129	1,50027	0,11481
	4	2	3,8296	7,7	2,448	1,14805	0,09896
	5	3	2,2458	5,5	1,59643	1,28982	0,11676
Άμυλο ρυζιού	1	1,7	4,85	5,5	1,93962	2,06086	0,13212
	2	2	5,11585	5,9	1,79146	1,58645	0,09855
	3	2,4	4,55945	6,2	2,30559	2,09122	0,1384
	4	2,2	3,7625	8,4	1,95984	1,90415	0,12489
	5	1,5	3,795	7,7	3,64212	1,96753	0,2096

Από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων που αφορούν τη παραλλακτικότητα μεταξύ των πέντε επεμβάσεων στο σύνολο των θρεπτικών υποστρωμάτων προκύπτει ότι στα χαρακτηριστικά αριθμός ριζών και χλωρό βάρος δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των πέντε επεμβάσεων. Αντίθετα για τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά υπήρξε διαφοροποίηση μεταξύ των επεμβάσεων. Συγκεκριμένα περισσότερους βλαστούς έδωσε η επέμβαση Ν⁰3, ενώ μεγαλύτερο μήκος είχαν οι βλαστοί της επέμβασης Ν⁰4. Όσον αφορά το μήκος των ριζών και το ξηρό βάρος στατιστικά σημαντικές διαφορές καταγράφονται στις επεμβάσεις Ν⁰4 και 5 (Πίνακας 15).

Πίνακας 15. Αξιολόγηση της παραλλακτικότητας ανάμεσα στις πέντε επεμβάσεις στο σύνολο των θρεπτικών υποστρωμάτων

Αριθμός επέμβασης	Αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά					
	No βλαστών	Μήκος βλαστού	No ριζών	Μήκος ριζών	Χλωρό βάρος	Ξηρό βάρος
1	3,74 ab	3,08 ab	9,65 a	2,01 c	1,925 a	0,135 ab
2	3,60 ab	2,78 b	11,04 a	2,30 bc	1,764 a	0,128 b
3	4,25 a	3,07 ab	11,30 a	2,42 b	2,062 a	0,129 b
4	2,81 b	3,51 a	10,33 a	2,79 a	1,871 a	0,126 b
5	3,75 ab	2,73 b	11,22 a	2,90 a	2,089 a	0,159 a

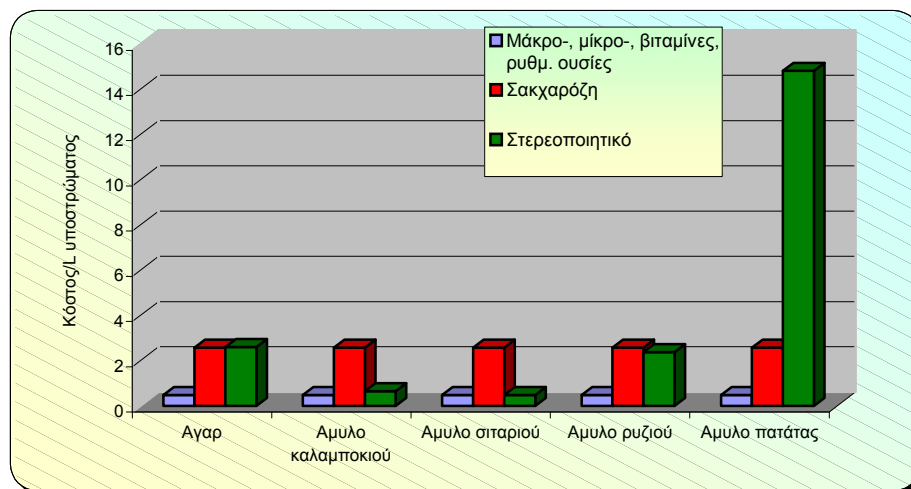
3.3 Αξιολόγηση του κόστους των θρεπτικών υποστρωμάτων

Βασικός στόχος της παρούσης εργασίας ήταν να προσδιοριστούν άμυλα χαμηλού κόστους για *in vitro* παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού μπανάνας. Για τον σκοπό αυτό αξιοποιήθηκαν διαφορετικά άμυλα (άμυλο καλαμποκιού, σιταριού, πατάτας και ρυζιού, ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το άγαρ), τα οποία αξιολογήθηκαν με βάση την επίδραση τους σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά (αριθμός βλαστών και ριζών, μήκος βλαστών και ριζών, χλωρό και ξηρό βάρος) και σε συνδυασμό με το κόστος προμήθειας τους για την παρασκευή θρεπτικών υποστρωμάτων.

Για την παρασκευή ενός λίτρου θρεπτικού υποστρώματος κατάλληλου για την παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού μπανάνας με *in vitro* τεχνική απαιτούνται οργανικά και ανόργανα στοιχεία όπως: μακροστοιχεία, μικρο-στοιχεία, βιταμίνες, ρυθμιστικές ουσίες, σακχαρόζη και στερεοποιητικά (άμυλα) (Εικόνα 22). Το κόστος/ Kg των πέντε στερεοποιητικών που αξιοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία διαφοροποιείται αισθητά και κυμαίνεται από 9,64-325 ευρώ, με αποτέλεσμα να αλλάζει και το κόστος/ λίτρο θρεπτικού υποστρώματος ανάλογα με το είδος του στερεοποιητικού (Πίνακας 16).

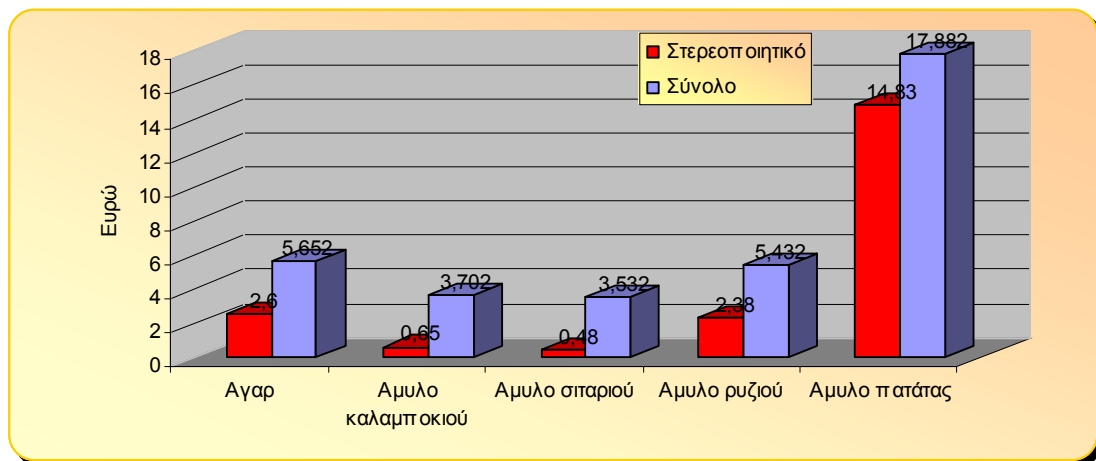
Πίνακα 16. Δαπάνη προμήθειας αμύλων ανά Kg και ανά λίτρο υποστρώματος

Είδος στερεοποιητικού	Κόστος/kg €	L/Kg στερεοποιητικού	Κόστος/L υποστ/τος €
Άγαρ (μάρτυρας)	325	125 (8 gr/l)	2,6
Άμυλο καλαμποκιού	12,9	20 (50 gr/l)	0,65
Άμυλο ρυζιού	47,6	20 (50 gr/l)	2,38
Άμυλο σιταριού	9,64	20 (50 gr/l)	0,48
Άμυλο πατάτας	296,5	20 (50 gr/l)	14,82

Εικόνα 22. Κόστος/λίτρο θρεπτικού υποστρώματος των οργανικών και ανόργανων στοιχείων για την *in vitro* καλλιέργεια της μπανάνας

Για την παρασκευή των πέντε θρεπτικών υποστρωμάτων με διαφορετικά στερεοποιητικά (άγαρ, άμυλο καλαμποκιού, σιταριού, ρυζιού και πατάτας) το κόστος των μακροστοιχείων (0,33 €/L), μικροστοιχείων (0,032 €/L), των βιταμινών BAP (0,12 €/L) και της σακχαρόζη (2,57 €/L) παραμένει σταθερό, ενώ μεγάλη διαφοροποίηση εμφανίζει το κόστος των στερεοποιητικών. Συγκεκριμένα για την παρασκευή ενός λίτρου θρεπτικού υποστρώματος το άγαρ κοστίζει 2,60 €, ενώ το συνολικό κόστος (συμπεριλαμβανομένων και των υπολοίπων συστατικών) κυμαίνεται γύρω στο 5,65 €. Το άμυλο του καλαμποκιού κοστίζει 0,65 €/L με το τελικό κόστος (συμπεριλαμβανομένων και των υπολοίπων συστατικών) να διαμορφώνεται στα 3,70 €/L, άρα το άμυλο του καλαμποκιού παρουσιάζει την φθηνότερη τιμή σε σχέση με το άγαρ (μάρτυρας) κατά 75%, δηλαδή με τη δαπάνη του αμύλου που αναλογεί στο ένα λίτρο υποστρώματος με άγαρ αντιστοιχούν τέσσερα λίτρα με άμυλο καλαμποκιού. Το άμυλο του σιταριού κοστίζει γύρω

στο 0,48 €/L, ενώ το συνολικό κόστος του υποστρώματος συμπεριλαμβανομένων των υπολοίπων στοιχείων κυμαίνεται γύρω στο 3,53 €/L. Το άμυλο του ρυζιού κοστίζει 2,38 €/L με συνολικό κόστος να διαμορφώνεται στο 5,43 €/L. Τέλος το άμυλο της πατάτας είναι το ακριβότερο στερεοποιητικό σε σχέση με τα προαναφερόμενα και το κόστος του να αγγίζει τα 14,83 €/L, ενώ το συνολικό κόστος φθάνει τα 17,88 €/L, που σημαίνει ότι το άμυλο της πατάτας είναι τρεις φορές ακριβότερο από το άγαρ, τέσσερις φορές ακριβότερο από το άμυλο του καλαμποκιού, πέντε φορές από το άμυλο σιταριού και τρεις φορές από το άμυλο του ρυζιού (Πίνακας 17, Εικόνα 23).



Εικόνα 23: Κόστος/λίτρο θρεπτικού υποστρώματος για την *in vitro* καλλιέργεια της μπανάνας

Πίνακας 17. Συνολικό κόστος για παρασκευή ενός λίτρου θρεπτικού υποστρώματος αξιοποιώντας 4 διαφορετικά στερεοποιητικά (άγαρ, άμυλο καλαμποκιού, σιταριού, ρυζιού και πατάτας)

Στοιχεία	Κόστος στερεοποιητικών (€)									
	Άγαρ		Άμυλο καλαμποκιού		Άμυλο σιταριού		Άμυλο ρυζιού		Άμυλο πατάτας	
	Ανά L υποστρ.€	Συμμετοχή %	Ανά L υποστρ.€	Συμμετοχή %	Ανά L υποστρ.€	Συμμετοχή %	Ανά L υποστρ.€	Συμμετοχή %	Ανά L υποστρ.€	Συμμετοχή %
Μάκρο-	0,33	5,84	0,33	8,91	0,33	9,34	0,33	6,08	0,33	1,85
Μικρο-	0,032	0,57	0,032	0,86	0,032	0,91	0,032	0,59	0,032	0,18
Βιταμίνες + ΒΑΡ	0,12	2,12	0,12	3,24	0,12	3,4	0,12	2,21	0,12	0,67
Σακχαρόζη	2,57	45,47	2,57	69,42	2,57	72,76	2,57	47,31	2,57	14,37
Στερεοποιητικό	2,6	46,0	0,65	17,56	0,48	13,59	2,38	43,81	14,83	82,93
Σύνολο	5,652	100	3,702	99,99	3,532	100	5,432	100	17,882	100

3.4 Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία σκοπός ήταν η αξιολόγηση αμύλων χαμηλού κόστους με στόχο την *in vitro* παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού μπανάνας (MUSA SPP). Για τον σκοπό αυτό αξιοποιήθηκαν διαφορετικά άμυλα (άμυλο καλαμποκιού, σιταριού, πατάτας και ρυζιού, ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το άγαρ), τα οποία αξιολογήθηκαν με βάση την επίδραση τους σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά (αριθμός βλαστών και ριζών, μήκος βλαστών και ριζών, χλωρό και ξηρό βάρος) και σε συνδυασμό με το κόστος προμήθειας τους για την παρασκευή θρεπτικών υποστρωμάτων.

Τα γενικά συμπεράσματα, τα οποία προκύπτουν από την συγκεκριμένη εργασία είναι τα εξής:

1. Όσον αφορά το κόστος ανά λίτρο θρεπτικού υποστρώματος για την *in vitro* καλλιέργεια της μπανάνας παρατηρούμε τα εξής:

- Το κόστος ανά λίτρο θρεπτικού υποστρώματος για την *in vitro* καλλιέργεια της μπανάνας δεν διαφοροποιείται από την προσθήκη των : μακρο-στοιχείων, μικρο-στοιχείων, βιταμινών, ορμονών και σακχαρόζης.
- Το υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο πατάτας όχι μόνο ήταν το ακριβότερο [(14,83 €/L) από το άγαρ τρεις φορές, από το άμυλο καλαμποκιού τέσσερις φορές, από το άμυλο σιταριού πέντε φορές και από το άμυλο του ρυζιού τρεις φορές] σε σύγκριση με τα υπόλοιπα, αλλά δεν επηρέασε θετικά κανένα από τα αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά.
- Το κόστος ανά λίτρο θρεπτικού υποστρώματος των αμύλων : σιταριού (0,48 €/L) και καλαμποκιού (0,65 €/L) ήταν όχι μόνο το μικρότερο, αλλά στα συγκεκριμένα στερεοποιητικά επηρεάστηκε θετικά η βλαστογένεση, το μήκος των ριζών, το χλωρό και ξηρό βάρος.
- Το κόστος ενός λίτρου θρεπτικού υποστρώματος στερεοποιημένο με άμυλο ρυζιού (2,38 €/L) προσεγγίζει εκείνο του άγαρ-μάρτυρας (2,6 €/L).

- Τέλος σημειώνεται ότι το κόστος του υποστρώματος στερεοποιημένο με άγαρ-μάρτυρας (2,6 €/L) ήταν το ακριβότερο (με εξαίρεση το άμυλο πατάτας 14,83 €/L) και διακρίθηκε μόνο στην ριζογένεση (παρήχθησαν περισσότερες ρίζες).

2. Όσον αφορά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά παρουσιάζονται σημαντικές διαφοροποιήσεις που εξαρτώνται άμεσα από το είδος του αμύλου του υποστρώματος συγκεκριμένα:

- Το θρεπτικό υπόστρωμα, το οποίο είχε στερεοποιηθεί με άγαρ επηρέασε σημαντικά μόνο το χαρακτηριστικό αριθμός ριζών, δίδοντας τις περισσότερες ρίζες, οι οποίες όμως ήταν λιγότερο ανεπτυγμένες και εύρωστες σε σχέση με εκείνες που παρήχθησαν στο υπόστρωμα που είχε στερεοποιηθεί με άμυλο σιταριού.
- Το θρεπτικό υπόστρωμα, που περιείχε άμυλο καλαμποκιού επηρέασε σημαντικά τον αριθμό των βλαστών (από κάθε έκφυτο διαφοροποιήθηκε ένας μεγάλος αριθμός τυχαίων οφθαλμών), οι οποίοι στη συνέχεια εξελίχθηκαν σε βλαστούς-*in vitro*-φυτάρια. Επομένως το άμυλο καλαμποκιού επηρέασε θετικά το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό (βλαστογένεση), στην διαδικασία παραγωγής Π.Υ. μπανάνας με *in vitro* τεχνολογίες.
- Ένα άλλο στερεοποιητικό που αξιοποιήθηκε στο πείραμα και αξιολογήθηκε θετικά είναι το άμυλο του ρυζιού. Το συγκεκριμένο άμυλο αν και υστέρησε σημαντικά στην παραγωγή βλαστών και ριζών, έδειξε σημαντική υπεροχή στην ανάπτυξη των βλαστών (εύρωστοι με μεγάλο μήκος βλαστοί).
- Όσον αφορά το άμυλο της πατάτας δεν ευνόησε σημαντικά κανένα από τα αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά. Το αποτέλεσμα αυτό σε συνδυασμό με το υψηλότερο κόστος (σε σύγκριση με τα υπόλοιπα στερεοποιητικά) δεν αφήνουν περιθώρια για την προώθηση του στην *in vitro* καλλιέργεια μπανάνας για παραγωγή Π.Υ.

- Τα μείγματα αμύλων καλαμποκιού, σιταριού και πατάτας με άγαρ δεν επηρέασαν θετικά την ευρωστία των μικρόφυτων και τα σχετικά μεγέθη ήταν σημαντικά μικρότερα του μάρτυρα και των αμύλων καλαμποκιού και σιταριού.
- Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι από τα πέντε στερεοποιητικά που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα καλύτερη συμπεριφορά έδειξε το άμυλο του σιταριού.

Συγκεκριμένα το στερεοποιητικό αυτό ευνόησε σημαντικά τρία (μήκος ριζών, χλωρό και ξηρό βάρος) από τα έξι αξιολογηθέντα χαρακτηριστικά. Επιπλέον αξίζει να σημειωθεί ότι το κόστος του συγκεκριμένου στερεοποιητικού ανά λίτρο θρεπτικού υποστρώματος είναι το χαμηλότερο (0,48 €) σε σύγκριση με τα υπόλοιπα στερεοποιητικά, γεγονός που αναδεικνύει ακόμη περισσότερο τη σπουδαιότητα του.

Επειδή στην *in vitro* παραγωγή Π.Υ. μπανάνας ενδιαφέρει κυρίως η βλαστογένεση, αλλά και η καλή ανάπτυξη των βλαστών θα ήταν εξαιρετικά χρήσιμο σε μια μελλοντική εργασία να γίνει συνδυασμός του στερεοποιητικού : άμυλο καλαμποκιού (έδωσε υψηλή βλαστογένεση) με το στερεοποιητικό : άμυλο σιταριού, το οποίο έδωσε βλαστούς με υψηλό χλωρό και ξηρό βάρος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Arias O., 1993. Commercial micropropagation of banana. In: Biotechnology applications for Banana and Plantain Improvement, INIBAP:139-142.
- Batty N. and Dunwell A.M., 1989. Effect of maltose on the response of potato anthers in culture. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 18:221-226.
- Bhattacharya P., Dey S. and Bhattacharyya BC., 1994. Use of low-cost gelling agents and support matrices for industrial scale plant tissue culture. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 37:15-23.
- Cronauer-Mitra S.S. and Krikorian A.D., 1984. Multiplication of *Musa* from excised stem tips. *Ann. Bot.* 53:321-328.
- Debergh P.C., 1983. Effects of agar brand and concentration on the tissue culture medium. *Physiol. Plant.* 59:270-276.
- Dore Swamy R., Srinivasa Rao N.K. and Chacko E.K., 1983. Tissue culture propagation of banana. *Scientia Horticulture.* 18:247-252.
- Frisullo S., Logrieco A., Moretti A., Grammatikaki G. and Bottalico A., 1994. Banana corm and root rot by *Fusarium compactum*, in Crete. *Phytopath. Medit.* 33: 78-82.
- Ganapathi T.R., Mohan J.S.S., Suprasanna P., Bapat V.A. and Rao P.S., 1995. A low-cost strategy for in vitro propagation of banana. *Current sci.* 68:646-649.
- Gowen S., 1995. Bananas and Plantains Chapman & Hall, London, pp. 612.
- Grammatikaki G. and Tzortzakakis E.A., 1998. Reproduction of populations of *Meloidogyne* species on in vitro produced banana planlets. *Nematol. Medit.* 26:161-163.
- Γραμματικάκη Γ., Α. Αυγελής και Μ. Δοξαστάκη, 2005. Μαζική παραγωγή μπανανόφυτων της ποικιλίας Grande Naine (*Musa* spp) διαμέσου της καλλιέργειας *in vitro*. Πρακτικά 22^{ου} Επιστημονικού Συνεδρίου, Ελληνικής Εταιρείας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών, 19-21 Οκτωβρίου Πάτρα 12:417-420.
- Γραμματικάκη Γ., Χατζηδάκη Ε., Δοξαστάκη Μ. και Μ. Παπαδημητρίου, 2007. Αξιολόγηση αμύλων χαμηλού κόστους στην *in vitro* παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού μπανάνας (*Musa acuminata* cv. Grande

- Naine). 23^ο Επιστημονικό Συνέδριο, Ελληνικής Εταιρείας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών, 23-26 Οκτωβρίου, Χανιά, σελ. 23.
- Γραμματικάκη Γ. 2005. Παραγωγή Εγγενούς και Αγενούς Πολλαπλασιαστικού Υλικού. Σχολή τεχνολογίας Γεωπονίας ΤΕΙ Κρήτης, Σελ. 100-113.
- Henderson W.E. and Kinnersley A.M., 1988. Corn starch as an alternative gelling agent for plant tissue culture. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 15:17-22.
- Kinnersley A.M. and Henderson W.E., 1988. Alternative carbohydrates promote differentiation of plant cells. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 15:3-16.
- Kodym A. and Zapata-Arias F.J., 2001. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 66:67-71.
- Lydon J, Zimmerman R.H., Fordham I.M. and Lusby W.R., 1993. Tissue culture and alkaloid production of *Erythroxylum coca* var. *coca*. *J. Herbs Spices Medicinal Plants* 2:3-14.
- Madhulatha P., Anbalagan M., Jayachandran S. and Sakthvel N., 2004. Influence of liquid pulse treatment with growth regulators on *in vitro* propagation of banana (*Musa* spp. AAA). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 76:189-192.
- Murashige T. and Skoog F., 1962. A revised method for rapid growth and bioassays with tissue cultures. *Physiol. Plant* 15:473-479.
- Nakasone H.Y. and R.E. Paull, 1998. Banana pp.103-131. In *Tropical Fruits* C.A.B. International.
- Novak F.J. 1992. *Musa* (Banana and Plantains). Pp. 449-488. In Hammerschlag F.A. and Litz R.E. *Biotechnology of perennial fruit crops* C.A.B. International.
- Robinson J.C., 1996. *Bananas and Plantain*. CAB International, Cbridge: 238 pp.
- Sagi L., Gregory D.M., Remy S. and Swennen R., 1998. Recent developments in biotechnological research on bananas (*Musa* spp). *Biotechnology Genetechnology Genetic Review*.15:313-317.

Vovlas N., DiVito M. and Grammatikaki G., 1993. Growth response of *in vitro* produced banana plantlets to *Meloidogyne javanica* in pots. *Nematropica* 23:203-208.

Vovlas N., Avgelis A., Goumas D. and Frisullo S., 1994. A survey of banana diseases in sucker propagated plantations in Crete. *Mematologia Mediteranea* 22:101-107.

Vuylsteke D. and De Langhe E., 1985. Feasibility of *in vitro* propagation of bananas and plantains. *Trop. Agr.* 62:323-328.

Zimmerman R.H., Bhardwaj S.V. and Fordham I.M., 1995. Use of starch-gelled for tissue culture of some fruit crops. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 43:207-213.

Banana.

<http://en.wikipedia.org/wiki/Banana>

Banana.com. The origin of Bananas.

<http://www.banana.com/>

Βιολογικά προϊόντα. Η επιστροφή της Κρητικής μπανάνας.

http://www.kathimerini.gr/4Dcgi/4dcgi_w_articles_kathcommon_2_14/05/2005

Φυσικά καλλυντικά, αλχημείες και ελιξίρια.

<http://beautyelixirs.blogspot.com/2007/03/bananas.html>

Η Κρητική μπανάνα.

<http://www.kepean.gr/index.php?action=20&article=36>

Jonathan H. Grane, Carlos F. Balerdi, and Ian Maguire. Banana Growing in the Florida.

<http://edis.ifas.ufl.edu/MG040>

Morton, J., 1987. Banana. p.29-46. In: Fruits of warm climates.

<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/banana.html>

Παγκόσμια παραγωγή μπανάνας.

<http://www.paraquat.com/Default.aspx?tabid=2198>

Παραγωγή και εμπορία μπανάνας.

<http://www.paraquat.com/Default.aspx?tabid=2199>

Παράσιτα και αρρώστιες.

<http://www.paraquat.com/Default.aspx?tabid=2202>

Ploetz, R.C., 2000. Panama disease: A classic and destructive disease of banana. On line.

<http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/management/bananapanama>

Ploetz, R.C., 2001. The most important disease of a most important fruit.

<http://www.apsnet.org/education/feature/banana/>

Scot C. Nelson, Randy C. Ploetz and Angela Kay Kepler. Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Musa species (banana and plantain).

www.traditionaltree.org

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 18: Αποτελέσματα από την *in vitro* αξιολόγηση της επίδρασης (οχτώ διαφορετικών θρεπτικών υποστρώματων) στα χαρακτηριστικά: αριθμός βλαστών και ριζών, μήκος βλαστού και ρίζας, νωπό και ξηρό βάρος

Ποικιλία	Επεμβάσεις (υποστρώματα)	Επεμβάσεις (βάζα)	Επαναλήψεις έκφυτα	Αριθ. Επίκτ. βλαστών	Χλωρό βάρος	Ξηρό βάρος	Μήκος βλαστού <i>in vitro</i>	Μήκος ριζών <i>in vitro</i>	No ριζών
1	1	1	1	7	2,355	0,1064	1,3285	2,3421	19
1	1	1	2	1	1,594	0,118	3	2,7454	11
1	1	1	3	8	2,3058	0,1389	1,2	2,35	10
1	1	1	4	5	1,7865	0,1175	1,78	1,677	9
1	1	1	5	7	2,328	0,1166	1,5714	1,822	18
1	1	1	6	2	0,9921	0,0624	2,5	1,6125	8
1	1	1	7	1	1,0422	0,792	4	2,4	9
1	1	1	8	3	1,7659	0,1089	2,16	3,4823	17
1	1	1	9	3	1,143	0,0652	1,9	1,98	10
1	1	1	10	6	1,4501	0,0722	1,95	1,22	9
1	1	2	1	2	1,6633	0,109	1,8	2,8545	11
1	1	2	2	4	3,5328	0,1875	1,5	1,95	16
1	1	2	3	3	1,5715	0,094	1,66	1,6388	18
1	1	2	4	6	1,5193	0,0824	1,1833	0,5285	7
1	1	2	5	5	2,5106	0,1346	1,38	1,6	15
1	1	2	6	4	2,9592	0,1279	1,8	1,6045	22
1	1	2	7	9	2,887	0,161	1,455	1,713	23
1	1	2	8	8	3,762	0,2076	1,0375	1,1307	13
1	1	2	9	8	2,0941	0,1125	1,2875	1,1391	23
1	1	2	10	8	1,9796	0,1103	1,375	1,3076	13
1	1	3	1	4	1,3768	0,0904	2,25	1,7916	12
1	1	3	2	1	1,243	0,0856	3	1,7083	12
1	1	3	3	6	2,3165	0,1222	1,5833	1,8	23
1	1	3	4	5	1,6784	0,0894	1,42	1,8	10
1	1	3	5	4	2,5553	0,1368	1,925	2,8	12
1	1	3	6	2	1,3404	0,0777	2,8	3,15	12
1	1	3	7	4	2,2983	0,1145	1,775	1,9517	29
1	1	3	8	2	2,4449	0,1548	2,1	4,1714	7
1	1	3	9	7	1,741	0,0733	1,2428	2,5052	19
1	1	3	10	8	2,5754	0,1334	1,4	1,6615	39
1	1	4	1	3	1,6465	0,0756	2,66	2,7405	17
1	1	4	2	1	1,99	0,1197	4,55	4,8166	6
1	1	4	3	1	1,6879	0,1109	4	3,35	9
1	1	4	4	1	1,091	0,0733	4,8	3,5375	8
1	1	4	5	1	1,3822	0,0852	4,2	4,775	8
1	1	4	6	1	0,8437	0,0536	3,2	4,44	10
1	1	4	7	4	0,924	0,0444	1,475	1,3	14
1	1	4	8	5	1,9472	0,0902	2,2	1,8521	23
1	1	4	9	7	2,8095	0,1209	2,3714	2,36	25
1	1	4	10	6	1,6755	0,0891	1,55	1,0125	16
1	1	5	1	4	1,4133	0,0734	2,475	3,06	15
1	1	5	2	1	0,9408	0,0722	3,5	3,077	9
1	1	5	3	1	1,2876	0,086	4	4,5625	8

1	1	5	4	2	0,6416	0,0343	2,2	1,65	8
1	1	5	5	3	0,605	0,304	1,33	3,244	9
1	1	5	6	3	2,0469	0,1229	3,4	2,4263	19
1	1	5	7	6	1,4304	0,101	1,85	1,977	18
1	1	5	8	9	2,8031	0,1068	2,02	1,88	25
1	1	5	9	6	1,2465	0,0755	1,53	3,5142	21
1	1	5	10	14	2,0403	0,1022	1,34	0,8047	21
	M.O.			4,44	1,8253	0,120884	2,200314	2,336352	14,9
1	2	1	1	7	2,0382	0,0773	1,2285	0	0
1	2	1	2	1	0,4728	0,0291	2,1	0,3833	6
1	2	1	3	1	1,6425	0,0945	4,5	2	11
1	2	1	4	1	1,1515	0,0632	4	1,62	9
1	2	1	5	1	0,4713	0,024	2,2	0,9	1
1	2	1	6	8	2,2163	0,0909	1,5625	2,1	1
1	2	1	7	1	0,2131	0,0124	1,2	1,3	2
1	2	1	8	9	2,8031	0,1068	2,02	1,88	25
1	2	1	9	6	1,2465	0,0755	1,53	3,5142	21
1	2	1	10	10	1,5334	0,0975	0,79	1,944	9
1	2	2	1	2	1,6998	0,0986	2,25	3,3454	11
1	2	2	2	1	0,7745	0,0597	3,1	3,55	6
1	2	2	3	3	0,8775	0,0885	1,033	1,93	10
1	2	2	4	2	0,5315	0,0433	2,25	1,744	9
1	2	2	5	15	3,503	0,1763	1,3133	1,1434	23
1	2	2	6	10	1,5334	0,0975	0,79	1,944	9
1	2	2	7	4	1,4965	0,0743	1,6	2,1631	19
1	2	2	8	6	1,8502	0,1031	1,4	1,6437	16
1	2	2	9	5	1,0883	0,0871	1,46	2,3611	18
1	2	2	10	3	1,269	0,0988	1,9	2,56	15
1	2	3	1	4	0,6314	0,0384	1,575	0,75	2
1	2	3	2	5	1,2263	0,0712	2	1,675	8
1	2	3	3	2	1,3105	0,092	3,75	2,43	9
1	2	3	4	1	1,1633	0,0925	6	2,8	10
1	2	3	5	5	1,482	0,0774	1,82	1,95	9
1	2	3	6	6	1,9878	0,1182	1,9	3,5636	11
1	2	3	7	5	1,3462	0,0939	2,1	1,65	6
1	2	3	8	3	2,3641	0,1522	3	3,123	13
1	2	3	9	7	1,1891	0,0903	0,8857	1,625	4
1	2	3	10	7	3,0415	0,1283	1,6714	1,6	2
1	2	4	1	1	1,0426	0,0576	4	2,2428	7
1	2	4	2	3	0,9817	0,0563	2,66	2,18	9
1	2	4	3	6	4,1688	0,2149	2,75	2,556	25
1	2	4	4	9	2,638	0,1183	1,96	1,72	9
1	2	4	5	3	1,6395	0,0978	2,83	3,4857	14
1	2	4	6	5	1,3419	0,073	1,7	3,46	5
1	2	4	7	5	2,9472	0,1651	2,7	3,1926	23
1	2	4	8	8	1,6886	0,0905	2,25	0,822	9
1	2	4	9	9	1,627	0,0655	1,76	1,6	5
1	2	4	10	4	0,6512	0,116	1,5	0	0
1	2	5	1	3	2,5347	0,1918	3,16	3,175	16
1	2	5	2	3	2,305	0,0956	2,33	4,842	19

1	2	5	3	3	2,9298	0,1579	2,83	4,633	15
1	2	5	4	6	4,6693	0,2676	2,916	3,9096	31
1	2	5	5	1	1,124	0,069	2	0,5	1
1	2	5	6	7	3,8575	0,2409	2,6857	4,2631	19
1	2	5	7	10	3,68	0,205	2,7	2,6821	28
1	2	5	8	13	7,2531	0,2888	2,346	2,4142	35
1	2	5	9	2	2,8899	0,1752	3,75	4,9	11
1	2	5	10	10	3,3735	0,1649	2,35	2,9416	12
	M.O.			5,04	1,949958	0,10929	2,282142	2,29425	11,76
1	3	1	1	1	0,7128	0,0575	4	0,833	12
1	3	1	2	1	0,9909	0,0662	5,5	0,753	13
1	3	1	3	5	1,244	0,0756	1,98	0,5	2
1	3	1	4	5	0,8047	0,0601	1,78	0,6625	8
1	3	1	5	1	0,9786	0,0892	4,5	0,475	4
1	3	1	6	8	1,8988	0,1269	1,9125	0	0
1	3	1	7	9	2,5284	0,1478	1,77	0,1	2
1	3	1	8	10	2,611	0,154	1,97	0,1	5
1	3	1	9	3	0,5013	0,0332	1,3	0,43	6
1	3	1	10	12	2,6622	0,1592	1,5916	0,411	9
1	3	2	1	1	1,001	0,0715	4	3,9857	7
1	3	2	2	1	1,5123	0,1049	5	3,077	9
1	3	2	3	2	1,629	0,1043	3,15	2,6416	12
1	3	2	4	1	1,1934	0,0915	4,5	3,125	8
1	3	2	5	1	1,255	0,0948	3,8	3,9166	6
1	3	2	6	1	1,7016	0,1271	4,5	4,9125	8
1	3	2	7	4	2,0539	0,1076	1,825	2,5571	14
1	3	2	8	2	1,1234	0,0578	2,5	2,9875	8
1	3	2	9	5	2,106	0,1221	2,3	2,3578	19
1	3	2	10	4	1,0093	0,0513	1,75	1,75	9
1	3	3	1	1	1,1253	0,0849	3	5,2142	7
1	3	3	2	1	0,9111	0,1231	3	2,95	9
1	3	3	3	4	1,4904	0,0367	2,125	2,723	13
1	3	3	4	2	1,7652	0,1121	2,75	3,9625	16
1	3	3	5	5	0,9579	0,0639	2,18	2,027	11
1	3	3	6	4	1,1859	0,0867	1,625	2,7	12
1	3	3	7	6	1,7431	0,1037	1,66	1,9	11
1	3	3	8	7	2,5421	0,161	2,2571	2,2789	19
1	3	3	9	6	2,632	0,1682	1,5	3,5047	21
1	3	3	10	8	2,8423	0,1464	1,775	2,5437	16
1	3	4	1	1	2,958	0,1952	6	4,6	12
1	3	4	2	1	1,3664	0,0997	4	4,1	8
1	3	4	3	1	1,098	0,0947	3,2	3,77	9
1	3	4	4	1	2,2643	0,1588	4	5,7	9
1	3	4	5	1	3,5824	0,245	6,5	3,9545	11
1	3	4	6	4	1,0619	0,0678	2,075	1,3125	8
1	3	4	7	1	1,4231	0,1003	3,5	3,9	7
1	3	4	8	2	1,4602	0,0908	3,25	3,566	12
1	3	4	9	3	0,7064	0,0528	2,33	2,84	10
1	3	4	10	4	2,0239	0,1235	2	1,544	18
1	3	5	1	1	1,509	0,1089	4	5,5714	7

1	3	5	2	1	1,3168	0,0864	4	2,44	10
1	3	5	3	3	2,3045	0,1357	1,16	1,71	10
1	3	5	4	8	1,9415	0,1027	1,3	2,2416	12
1	3	5	5	2	0,8845	0,0549	1,75	1,86	12
1	3	5	6	10	3,7167	0,219	1,2	2,7208	24
1	3	5	7	2	1,6387	0,0765	3	3,85	10
1	3	5	8	1	1,4339	0,0883	3	3,053	13
1	3	5	9	3	2,127	0,1102	1,7	5,125	12
1	3	5	10	6	2,9022	0,1586	1,9166	3,176	17
	M.O.			3,54	1,688646	0,107182	2,827656	2,648282	10,54
1	4	1	1	2	2,1418	0,1635	3,5	2,9652	23
1	4	1	2	1	1,5807	0,1291	6,2	3,3583	12
1	4	1	3	3	3,4723	0,2201	3,23	5,4476	21
1	4	1	4	1	2,8484	0,1805	5,3	4,57	10
1	4	1	5	7	1,6429	0,1065	1,5857	0,9066	15
1	4	1	6	5	5,849	0,3767	3,3	2,8678	33
1	4	1	7	3	1,811	0,1904	3,83	3,0857	14
1	4	1	8	2	2,6149	0,2054	3,7	5,4285	7
1	4	1	9	6	2,9933	0,1787	1,46	3,81	18
1	4	1	10	5	5,4478	0,3443	3,68	4,2342	35
1	4	2	1	5	1,2291	0,079	1,38	1,4	12
1	4	2	2	4	3,5027	0,2325	2,5	3,58	18
1	4	2	3	6	2,4031	0,153	1,6166	2,08	15
1	4	2	4	1	1,6085	0,1388	4,5	2,8	8
1	4	2	5	3	3,5556	0,2775	3,86	4,4947	19
1	4	2	6	3	1,4857	0,1086	0,83	1,53	9
1	4	2	7	4	4,1613	0,1947	3,325	2,315	20
1	4	2	8	1	1,4762	0,2177	5,5	4,042	7
1	4	2	9	6	1,2958	0,0826	1,383	1,076	13
1	4	2	10	9	2,841	0,1652	2,033	1,946	15
1	4	3	1	1	2,147	0,1548	3,5	4,4272	11
1	4	3	2	1	1,3636	0,0863	7	3,73	3
1	4	3	3	1	1,7484	0,1398	6	5,18	5
1	4	3	4	1	1,7847	0,1398	4,5	4,975	8
1	4	3	5	3	1,758	0,1401	3,2	3,2375	8
1	4	3	6	3	2,7357	0,2035	3	2,4909	11
1	4	3	7	1	2,341	0,1601	7	3,7142	7
1	4	3	8	15	4,5764	0,2862	1,44	2,3517	14
1	4	3	9	6	2,453	0,1648	1,883	1,76	10
1	4	3	10	3	2,8647	0,2039	1,33	3,85	10
1	4	4	1	1	1,7625	0,1459	4	5,8571	7
1	4	4	2	1	2,7985	0,2103	7	6,11	9
1	4	4	3	2	1,6009	0,1129	1,75	2,86	6
1	4	4	4	1	1,6113	0,1119	5,5	5,3	6
1	4	4	5	2	1,303	0,0849	2,25	3,2	7
1	4	4	6	3	2,1326	0,1453	2,166	3,775	12
1	4	4	7	3	3,2857	0,2268	3,166	4,3818	11
1	4	4	8	4	3,2355	0,2584	3,15	5,566	12
1	4	4	9	3	3,4537	0,2268	3,33	4,41	20
1	4	4	10	4	2,7492	0,1686	3,025	4,7285	14

1	4	5	1	1	1,7724	1,1705	4	5,25	8
1	4	5	2	1	1,783	0,1514	3	3,3916	12
1	4	5	3	1	1,8158	0,177	4	5,2125	8
1	4	5	4	1	1,5856	0,0854	4	5,357	7
1	4	5	5	1	1,8192	0,073	3	4,209	11
1	4	5	6	2	3,0036	0,1723	2,75	3,83	21
1	4	5	7	6	2,366	0,2081	1,16	3,12	20
1	4	5	8	2	1,4209	0,1051	2,5	3,95	10
1	4	5	9	5	2,187	0,152	1,2	1,738	18
1	4	5	10	8	3,1463	0,1084	1,0625	2,2789	19
	M.O.			3,28	2,451326	0,190382	3,271516	3,64359	12,98
1	5	1	1	2	1,6259	0,1194	3	4,66	9
1	5	1	2	3	2,3147	0,1527	3,33	4,26	12
1	5	1	3	5	2,4388	0,1873	1,7	3,375	8
1	5	1	4	7	1,7075	0,0928	2,1	2,4818	11
1	5	1	5	4	1,1327	0,0778	1,75	2,311	9
1	5	1	6	1	1,4374	0,1185	3,7	3,866	9
1	5	1	7	4	0,387	0,0295	0,95	1,15	2
1	5	1	8	2	0,9444	0,0693	3,5	2,46	5
1	5	1	9	4	1,8641	0,1051	1,625	2,78	10
1	5	1	10	5	2,932	0,1678	1,8	1,66	12
1	5	2	1	1	1,7571	0,2067	6	5,4	7
1	5	2	2	3	2,6248	0,1257	2,66	4,035	14
1	5	2	3	5	1,7283	0,2011	1,6	2,1375	16
1	5	2	4	1	1,2962	0,1364	3,5	3,8636	11
1	5	2	5	7	2,3323	0,1259	1,6857	2,4714	7
1	5	2	6	7	2,809	0,2208	1,7857	3,1857	14
1	5	2	7	3	0,9746	0,3532	1,5	1,2	13
1	5	2	8	3	1,7208	0,2168	1,33	2,5	15
1	5	2	9	5	2,8776	0,3202	1,9	3,7812	16
1	5	2	10	2	1,5563	0,1982	3,5	3,53	10
1	5	3	1	2	2,8295	0,161	3,75	3,7071	14
1	5	3	2	4	1,4959	0,1496	2,5	2,2692	13
1	5	3	3	10	3,3724	0,0783	1,8	1,4538	26
1	5	3	4	1	2,033	0,1124	2	0,9	2
1	5	3	5	5	1,9725	0,1248	1,9	1,92	10
1	5	3	6	10	3,5097	0,1292	1,4	2,1	19
1	5	3	7	11	5,9996	0,1755	2,6636	3,1774	31
1	5	3	8	1	1,7875	0,146	3,5	4,722	9
1	5	3	9	5	0,7772	0,1108	0,8	0,5	1
1	5	3	10	1	2,4162	0,1025	7	3,05	12
1	5	4	1	1	2,2695	0,1233	5,5	3,7727	11
1	5	4	2	1	1,7311	0,1631	5	3,3076	13
1	5	4	3	1	1,1145	0,0914	4,5	3,611	9
1	5	4	4	1	1,3256	0,1094	6	3,344	9
1	5	4	5	7	2,0179	0,1331	1,2857	1,222	9
1	5	4	6	1	1,7839	0,1412	4	2,926	15
1	5	4	7	5	2,6458	0,0687	1,1	0,833	3
1	5	4	8	2	2,0494	0,1182	3,25	3,24	10
1	5	4	9	3	1,4605	0,168	1,5	1,5	13

1	5	4	10	4	1,3441	0,1103	1,125	2,1636	11
1	5	5	1	1	2,196	0,1531	6	3,58	9
1	5	5	2	1	1,8396	0,1046	6	3,22	10
1	5	5	3	1	2,8468	0,1172	6	5,7142	7
1	5	5	4	3	1,4353	0,1006	1,5	2,5181	11
1	5	5	5	2	1,4172	0,1297	1,75	6,5	4
1	5	5	6	7	1,9473	0,22	1,142	1,7142	7
1	5	5	7	2	2,9828	0,1519	4	3,75	12
1	5	5	8	3	1,9965	0,0871	1,66	4	13
1	5	5	9	5	2,5158	0,1483	2	1,8904	21
1	5	5	10	7	1,74	0,1461	0,857	0,528	7
	M.O.			3,64	2,026292	0,142012	2,807994	2,88485	11,02
1	6	1	1	1	1,9375	0,1934	6,5	2,83	10
1	6	1	2	1	1,5504	0,1548	6,5	2,733	9
1	6	1	3	1	1,2897	0,0991	4,5	1,766	6
1	6	1	4	1	1,7132	0,1557	5	2,55	12
1	6	1	5	1	1,126	0,1053	4,5	2,06	9
1	6	1	6	5	2,3396	0,1468	2,6	0,966	3
1	6	1	7	9	5,9497	0,3542	2,166	0,6636	11
1	6	1	8	4	1,913	0,1145	2,75	0,4857	7
1	6	1	9	5	2,2278	0,1576	2,66	1,609	11
1	6	1	10	1	0,3545	0,025	2	0,325	4
1	6	2	1	1	0,4611	0,0497	3	1,7428	7
1	6	2	2	1	1,0495	0,1009	4	2,4857	7
1	6	2	3	1	1,0273	0,1	4	3,06	10
1	6	2	4	4	1,1838	0,1061	1,65	1,166	9
1	6	2	5	1	0,427	0,0376	3	2,266	3
1	6	2	6	4	2,1417	0,2032	1,975	2,225	12
1	6	2	7	4	0,9329	0,0812	1,675	0,94	5
1	6	2	8	5	1,4263	0,1209	1,84	1,6909	11
1	6	2	9	1	1,7659	0,1653	2,5	1,27	10
1	6	2	10	1	0,6794	0,0692	2,5	2,9166	6
1	6	3	1	14	3,8542	0,2294	1,6857	1,079	24
1	6	3	2	4	2,2445	0,1266	2,925	2,21	10
1	6	3	3	10	3,7592	0,209	1,84	1,3428	21
1	6	3	4	7	2,6015	0,2001	2,2142	0,66	5
1	6	3	5	1	1,2366	0,1206	4,5	1,9375	8
1	6	3	6	1	1,8103	0,1398	5,5	2,6166	6
1	6	3	7	3	1,5087	0,1268	2,7	2,29	10
1	6	3	8	1	0,7601	0,0672	4,3	2,45	6
1	6	3	9	14	4,127	0,2493	1,428	0,677	9
1	6	3	10	14	4,648	0,2345	1,8	1,411	36
1	6	4	1	1	1,7926	0,1411	5,6	2,066	9
1	6	4	2	1	1,8838	0,1447	7	2,77	9
1	6	4	3	2	1,7909	0,115	3,95	1,3	9
1	6	4	4	11	6,7285	0,4523	2,3	1,5083	24
1	6	4	5	1	1,3574	0,12	5	3,077	9
1	6	4	6	1	0,7322	0,0488	5	0,7	3
1	6	4	7	1	0,9302	0,0753	6,2	3,25	8
1	6	4	8	2	2,1517	0,1817	3,75	2,3294	17

1	6	4	9	8	5,608	0,2892	2,075	1,3466	15
1	6	4	10	3	1,8404	0,2284	3,166	1,666	9
1	6	5	1	1	1,434	0,1194	3,5	2,1857	7
1	6	5	2	1	1,1908	0,1067	4,5	2,66	6
1	6	5	3	2	2,0087	0,1266	4,5	2,055	9
1	6	5	4	1	1,0431	0,0852	4	2	6
1	6	5	5	3	2,2673	0,1768	2,66	1,8571	7
1	6	5	6	7	3,9035	0,1861	1,7857	1,74	9
1	6	5	7	9	2,5128	0,2867	0,92	0,75	2
1	6	5	8	11	2,9486	0,1866	1,3181	0,75	2
1	6	5	9	9	2,993	0,1414	1,055	0,925	4
1	6	5	10	7	3,6026	0,243	1,9285	0,575	12
	M.O.			4,06	2,13533	0,153976	3,288344	1,758726	9,46
1	7	1	1	1	1,1553	0,1043	6,5	2,737	8
1	7	1	2	2	1,332	0,0995	3,3	2,31	10
1	7	1	3	1	1,6994	0,1469	6	3,266	9
1	7	1	4	4	1,472	0,0996	2,675	2,072	11
1	7	1	5	7	4,3388	0,2888	1,2428	0,85	2
1	7	1	6	5	3,5981	0,2534	1,7	1,06	5
1	7	1	7	7	2,6114	0,1608	1,885	1,2857	7
1	7	1	8	3	1,7974	0,1417	3,033	2,053	15
1	7	1	9	2	0,6757	0,0493	2,3	1,1	10
1	7	1	10	6	1,61	0,1144	1,733	1,676	17
1	7	2	1	1	1,5288	0,122	6,5	4	7
1	7	2	2	4	2,672	0,2002	1,85	0,7571	7
1	7	2	3	4	1,6622	0,1131	2,225	0,9875	8
1	7	2	4	3	2,1377	0,157	3,466	2,773	15
1	7	2	5	1	0,8168	0,0636	2,5	3,05	8
1	7	2	6	5	1,5547	0,1146	1,1	0,35	2
1	7	2	7	5	1,9899	0,1352	1,38	1,322	9
1	7	2	8	1	0,7993	0,0633	5	3,9	4
1	7	2	9	8	3,0053	0,1981	1,9625	0,7294	17
1	7	2	10	4	1,0562	0,0852	1,575	1,6545	11
1	7	3	1	7	2,1136	0,1418	1,8714	1,2857	14
1	7	3	2	2	1,0194	0,084	4	2,144	9
1	7	3	3	1	0,8425	0,0693	5,6	2,55	8
1	7	3	4	2	1,2878	0,0967	4,35	2,45	12
1	7	3	5	3	1,7051	0,1148	2,866	2,4	5
1	7	3	6	6	2,4744	0,2036	2,8	1,8166	18
1	7	3	7	1	1,413	0,1186	6	3,4	8
1	7	3	8	4	1,7015	0,0723	2,3	0,9166	6
1	7	3	9	1	1,305	0,1604	6,5	2,33	9
1	7	3	10	3	1,1404	0,0866	3,066	1,02	10
1	7	4	1	2	0,8988	0,0738	2,25	4	4
1	7	4	2	1	1,0081	0,1017	5,5	1,9272	11
1	7	4	3	1	1,508	0,1413	6	3,75	10
1	7	4	4	1	0,8783	0,0722	4	2,7	10
1	7	4	5	1	1,0408	0,1064	5,6	3,028	7
1	7	4	6	3	1,8219	0,1213	2,7	1,4	9
1	7	4	7	1	1,1373	0,1167	5,6	3,3428	7

1	7	4	8	3	1,0182	0,0804	2,166	0,866	6
1	7	4	9	2	1,011	0,0883	3,1	2,966	12
1	7	4	10	5	1,1581	0,0875	1,38	0,5	1
1	7	5	1	1	0,7628	0,0829	3	2,7428	7
1	7	5	2	1	1,3382	0,124	4,5	2,75	6
1	7	5	3	1	1,2512	0,0897	4	3,14	5
1	7	5	4	1	1,3582	0,1451	3,5	1,66	6
1	7	5	5	2	1,1626	0,1147	2	1,671	7
1	7	5	6	4	1,0806	0,0956	1,25	1,5285	7
1	7	5	7	4	0,4962	0,0552	1	0	0
1	7	5	8	4	1,2609	0,113	1,375	1,572	11
1	7	5	9	6	2,3092	0,1883	1,083	0,4	5
1	7	5	10	6	1,8783	0,1591	0,75	0,5	1
	M.O.			3,08	1,537888	0,120326	3,160694	1,973808	8,26
1	8	1	1	2	1,1977	0,0674	3,25	1,1	2
1	8	1	2	1	2,3485	0,167	8	2,5166	6
1	8	1	3	2	2,3158	0,1655	5,55	2,5166	6
1	8	1	4	4	4,6605	0,2634	5,2	1,575	12
1	8	1	5	1	0,8184	0,0707	5	0,6	1
1	8	1	6	2	3,2634	0,1873	7	3,6	9
1	8	1	7	1	2,7103	0,1764	6	3,833	6
1	8	1	8	2	2,5712	0,1702	4	3,355	9
1	8	1	9	1	0,3272	0,0233	2	0,2	1
1	8	1	10	1	0,3956	0,03	2,5	0,1	3
1	8	2	1	1	2,103	0,1556	8	3,1166	12
1	8	2	2	2	1,8827	0,1103	3,35	4,6714	14
1	8	2	3	1	2,723	0,1777	8,2	2,7916	12
1	8	2	4	3	1,4872	0,0819	3,23	1,02	5
1	8	2	5	1	1,6633	0,1092	7,5	3,175	4
1	8	2	6	7	2,3774	0,1356	2,6285	0,34	5
1	8	2	7	1	0,8698	0,0475	5	1,1	2
1	8	2	8	2	0,6896	0,0377	3,15	0	0
1	8	2	9	1	0,9036	0,0586	3,6	0,2	1
1	8	2	10	1	1,1649	0,0714	6,5	1,5	4
1	8	3	1	1	1,7374	0,1341	5	2,66	9
1	8	3	2	2	1,6583	0,1098	4,2	2,8285	7
1	8	3	3	1	1,488	0,1158	6,7	3,96	6
1	8	3	4	2	1,284	0,0867	3	0,433	3
1	8	3	5	1	2,4774	0,1615	5,5	5,1428	7
1	8	3	6	1	2,2444	0,1547	8,5	5,2166	6
1	8	3	7	2	1,5028	0,107	2,8	0,7	1
1	8	3	8	3	1,482	0,1154	2,066	0,2	6
1	8	3	9	7	2,3774	0,1356	2,6285	0,34	5
1	8	3	10	4	4,6605	0,2634	5,2	1,575	12
1	8	4	1	1	1,9542	0,1385	6,5	3,4125	8
1	8	4	2	4	3,2194	0,1986	2,5	1,9642	14
1	8	4	3	6	3,2828	0,2102	2,5	3,672	25
1	8	4	4	4	4,3306	0,2736	3,625	3,423	13
1	8	4	5	1	1,2043	0,0792	5	2	1
1	8	4	6	1	1,1581	0,0816	4,5	2,0125	8

1	8	4	7	2	2,3642	0,1609	4,5	2,6857	7
1	8	4	8	1	0,4065	0,0281	2,5	0	0
1	8	4	9	1	0,7964	0,053	4	0,3285	7
1	8	4	10	1	0,325	0,0252	2	0,1	1
1	8	5	1	1	2,2118	0,1455	4	6,357	7
1	8	5	2	1	1,524	0,0963	3,5	1,857	4
1	8	5	3	1	1,4896	0,1028	3	4,9	5
1	8	5	4	1	2,25	0,143	4	3,33	6
1	8	5	5	2	3,266	0,2253	3	3,5	12
1	8	5	6	4	1,2754	0,1382	1,5	1,2166	6
1	8	5	7	1	0,766	0,784	3	1,3	5
1	8	5	8	1	1,5722	0,1047	4,5	4,533	9
1	8	5	9	2	2,5973	0,1792	3,25	6,636	11
1	8	5	10	1	2,723	0,1777	8,2	2,7916	12
	M.O.			1,96	1,922042	0,140726	4,41656	2,327726	6,74