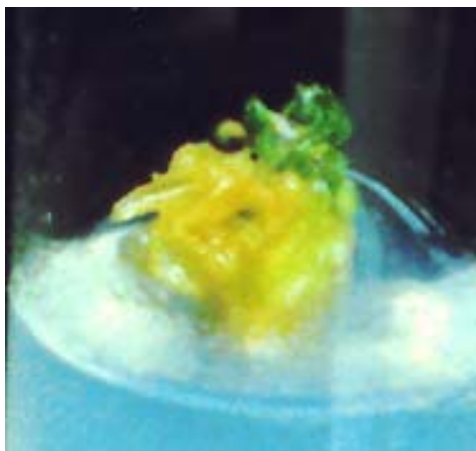




ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΊΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗΣ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ
ΑΓΓΟΥΡΙΟΥ (*CUCUMIS SATIVUS L.*) ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ IN VITRO



Σπουδαστής: Αγγελάκης Ευάγγελος

Εισηγητής: Δρ. Φανουράκης Ε. Νικόλαος

Ηράκλειο 2007



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΊΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗΣ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ
ΑΓΓΟΥΡΙΟΥ (*CUCUMIS SATIVUS L.*) ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ IN VITRO

Σπουδαστής: Αγγελάκης Ευάγγελος

Εισηγητής: Δρ. Φανουράκης Ε. Νικόλαος

Ηράκλειο 2007

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Περίληψη	Σελ. 4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Εισαγωγή	Σελ. 5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Υλικά και Μέθοδοι	Σελ. 13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Αποτελέσματα	Σελ. 22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. Συμπεράσματα – Συζήτηση	Σελ. 35
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	Σελ. 37

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.

Περίληψη

Στην εργασία που παρατίθεται παρακάτω έγινε μελέτη της αντίδρασης καλλογένεσης και αναγέννησης 4 γονοτύπων του φυτού της αγγουριάς (*Cucumis sativus* L.), σε θρεπτικά υποστρώματα που διέφεραν μεταξύ τους ως προς την περιεκτικότητά τους στους ρυθμιστές αύξησης.

Για το πείραμά χρησιμοποιήθηκαν σαν έκφυτα τμήματα από κοτυληδόνες φυτών ηλικίας 7 ημερών, από τις εξής ποικιλίες : «Μίνως», «1449», «Κνωσού» και «Yomaki».

Τα παραπάνω έκφυτα (που πάρθηκαν από φυτά βλαστημένα και ανεπτυγμένα κάτω από ασηπτικές συνθήκες) εμφυτεύθηκαν σε MS υποστρώματα με 4 διαφορετικές επεμβάσεις αυξητικών παραγόντων :

- A. BAP 2ppm, NAA 0,1 ppm**
- B. BAP 2ppm, NAA 0,5 ppm**
- Γ. BAP 1ppm, NAA 0,1 ppm**
- Δ. BAP 1ppm, NAA 0,01 ppm**

Τα έκφυτα παρέμειναν σε θαλάμους ανάπτυξης για 6 περίπου εβδομάδες και μετρήθηκε το ποσοστό καλλογένεσης, ο μέσος όρος μεγέθους του κάλλου, το ποσοστό βλαστογένεσης και ο μέσος αριθμός των βλαστών ανά έκφυτο.

Στις επεμβάσεις A και B εμφανίσθηκαν κάλλοι σε όλα τα έκφυτα, με συγκριτικά μεγαλύτερο μέγεθος στην επέμβαση A, αλλά καθόλου βλαστούς.

Οι επεμβάσεις Γ και Δ έδωσαν επίσης 100% καλλογένεσης αλλά και κάποια ποσοστά βλαστογένεσης στα έκφυτα των ποικιλιών «ΚΝΩΣΟΥ», «ΜΙΝΩΣ» και λιγότερο στην ποικιλία «YOMAKI».

Την μεγαλύτερη πάντως αναγέννηση την είχε η ποικιλία «ΜΙΝΩΣ» και στην επέμβαση Δ ενώ αξίζει να αναφερθεί ότι μερικά φυτά παρουσίασαν και ριζογένεση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.

Εισαγωγή

Περί Ιστοκαλλιέργειας

Η ιστοκαλλιέργεια (tissue culture), ή αλλιώς in vitro καλλιέργεια, είναι μία μέθοδος αγενούς πολλαπλασιασμού φυτών ή τμημάτων τους που γίνεται στο εργαστήριο κάτω από ασηπτικές συνθήκες και με τεχνικές και μεθόδους όμοιες με εκείνες που χρησιμοποιούνται για την καλλιέργεια μικροοργανισμών.

Για την ιστοκαλλιέργεια ενός φυτού μικρά τμήματα από ιστούς ή όργανα (ακόμα και ολόκληρα όργανα του φυτού), τα οποία ονομάζονται εκφύτα, εμφυτεύονται σε κατάλληλο τεχνητό θρεπτικό υπόστρωμα.

Οι ιδανικές συνθήκες θερμοκρασίας και φωτισμού που παρέχονται, σε συνδυασμό με την άριστη θρέψη τους από το υπόστρωμα, την πλήρη απουσία παθογόνων οργανισμών και την χορήγηση ρυθμιστικών παραγόντων (φυτορμονών), επιτρέπουν στα κύτταρα του εκφύτου να πολλαπλασιάζονται ταχύτατα, αλλά και τα οδηγούν στην διαφοροποίησή τους προς τη δημιουργία των επιθυμητών οργάνων ή την αναγέννηση ολόκληρων φυτών.

Η βάση της μεθόδου είναι η δυνατότητα «κλωνοποίησης» που έχουν τα φυτά, λόγω της ιδιότητας των κυττάρων τους να μπορούν να πολλαπλασιάζονται και να διαφοροποιούνται, όταν δέχονται τα κατάλληλα περιβαλλοντολογικά ή χημικά ερεθίσματα.

Εφαρμογές της μεθόδου

Κυρίως λόγω της ταχύτατης και κατευθυνόμενης ανάπτυξης και διαφοροποίησης των φυτικών κυττάρων κατά την ιστοκαλλιέργεια και του μεγάλου κυτταρικού αριθμού σε ελαχιστοποιημένο χώρο, έχουν βρεθεί πολυάριθμες εφαρμογές της τεχνικής αυτής τόσο στον τομέα της Γενετικής Βελτίωσης Φυτών όσο και σε άλλους τομείς (επιστημονικούς αλλά και εμπορίου). Ενδεικτικά αναφέρουμε τους εξής :

α. Μαζική παραγωγή φυτών.

Πολύ εμπορικά σημαντική εφαρμογή, μιας και μπορούν να παραχθούν πολύ σύντομα μεγάλοι αριθμοί φυτών πανομοιότυπων των αρχικών.

β. Παραγωγή φαρμακευτικών και άλλων χημικών ουσιών.

Μέσω της δυνατότητας καλλιέργειας κυττάρων συγκεκριμένων οργάνων από ορισμένα φυτά, μπορούν να παραχθούν ευκολότερα και πιο οικονομικά ορισμένες χημικές ουσίες από αυτά (αφού τα κύτταρα συνεχίζουν να συμπεριφέρονται χημικά όπως και στο ολόκληρο φυτό).

γ. Παραγωγή απαλλαγμένων από ιώσεις φυτών.

Στην περίπτωση αυτή η μέθοδος που εφαρμόζεται είναι ο μεριστωματικός πολλαπλασιασμός, αφού ως έκφυτο χρησιμοποιείται το ακραίο μερίστωμα του φυτού. Αυτό γίνεται για να παραχθούν φυτά απαλλαγμένα από ιώσεις που χρησιμοποιούνται σαν μητρικά φυτά ή σε εμπορικές καλλιέργειες.

δ. Μελέτη λειτουργιών των φυτών.

Μέσω τη ιστοκαλλιέργειας μπορεί να γίνει πειραματισμός και να εξακριβωθούν φυσιολογικές, βιοχημικές και άλλες λειτουργίες των φυτικών οργανισμών, καθώς και οι παράγοντες που τις επηρεάζουν.

ε. In vitro καλλιέργεια κυττάρων για επιλογή

Σε πολύ μικρό χρόνο και χώρο μπορεί να καλλιεργηθεί μεγάλος αριθμός κυττάρων και να εφαρμοστεί σε αυτά τεχνικές επιλογής έτσι ώστε να

επιταχυνθούν τα πειράματά μας αλλά και η ίδια την διαδικασία της κυτταρικής επιλογής.

στ. Καλλιέργεια γύρης – ανθήρων.

Εφαρμόζοντας ιστοκαλλιέργεια σε γύρη ή ανθήρες μπορούν να παραχθούν απλοειδή φυτά, τα οποία με διπλασιασμό των χρωμοσωμάτων τους θα δώσουν διπλοειδή, αλλά και συγχρόνως ομοζύγωτα κατά 100%, φυτά .

ζ. Γενετικός Μετασχηματισμός

Κατά τον γενετικό μετασχηματισμό εισάγεται τμήμα του DNA ενός φυτού σε άλλο και, μέσω ιστοκαλλιέργειας, αναγεννιέται το φυτό από τα κύτταρα με το νέο, ανασυνδυασμένο γενετικό υλικό.

η. Σύντηξη πρωτοπλαστών – Σωματικά υβρίδια.

Στη σύντηξη πρωτοπλαστών συνενώνονται οι πυρήνες δύο διαφορετικών κυττάρων σε ένα νέο κύτταρο, που επομένως είναι ένα υβρίδιο. Η μέθοδος της ιστοκαλλιέργειας μας δίνει την δυνατότητα της αναγέννησης ενός νέου φυτού από το κύτταρο αυτό, το οποίο θα φέρει χαρακτηριστικά και των δύο μητρικών κυττάρων, και κατ' επέκταση καθιστά πιθανή ακόμη και την δημιουργία νέων ειδών.

θ. Διατήρηση γενετικού υλικού

Σε πολύ μικρό χώρο μπορεί να αποθηκευτεί γενετικό υλικό το οποίο μας ενδιαφέρει να διατηρηθεί αναλλοίωτο για μεγάλο χρόνο, ώστε να χρησιμοποιηθεί στο μέλλον.

ι. Εμβρυοκαλλιέργεια

Για να διασωθεί το έμβryo μιας διασταύρωσης ειδών ή γενών, είτε για να μελετηθεί η ανάπτυξη ενός εμβρύου, είναι απαραίτητη η καλλιέργειά του υπό ασηπτικές συνθήκες και με σωστή θρέψη.

Προϋποθέσεις για Ιστοκαλλιέργεια

A. Ασηπτικές συνθήκες

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι απολύτως αναγκαία η ύπαρξη πλήρως ασηπτικών μικροβιακών συνθηκών, για την εφαρμογή της μεθόδου. Άλλωστε τα θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται στην ιστοκαλλιέργεια είναι τόσο ευνοϊκά για τα περισσότερα παθογόνα, που η εφαρμογή καταστρέφεται σχεδόν αμέσως με την παρουσία, έστω και σε μικρό πληθυσμό, ενός μικροοργανισμού.

B. Κατάλληλο υπόστρωμα.

Τα υποστρώματα που χρησιμοποιούνται στην ιστοκαλλιέργεια πρέπει να έχουν τα παρακάτω χαρακτηριστικά, τα οποία συγκεκριμενοποιούνται ανάλογα με τις ανάγκες της κάθε εφαρμογής :

1. Να λειτουργεί ως φυσικό μέσο στήριξης των εκφύτων (υγρό διάλυμα ή σταθεροποιημένο διάλυμα με άγαρ).
2. Να παρέχει συνεχώς άφθονα θρεπτικά συστατικά.
3. Να ανεφοδιάζει τα έκφυτα με νερό συνεχώς.
4. Να περιέχει ρυθμιστικές ουσίες.
5. Να είναι πλήρως απολυμασμένο.

Τα συστατικά που αποτελούν ένα τέτοιου είδους υπόστρωμα είναι τα εξής :

1. Ανόργανα άλατα (Μακροστοιχεία – Ιχνοστοιχεία, βλ. Πίνακα 2)
2. Οργανικές ουσίες (υδατάνθρακες, βιταμίνες και φυτορμόνες)
3. Αδρανή στοιχεία (π.χ. άγαρ)

Γ. Φυτορμόνες

Οι φυτορμόνες είναι οργανικές ουσίες που ρυθμίζουν την αύξηση και ανάπτυξη των φυτικών κυττάρων και των φυτών γενικότερα, γι' αυτό και λέγονται και ρυθμιστικές ουσίες ή παράγοντες. Η χρήση των ουσιών αυτών στα πειράματα αποσκοπεί στην κατεύθυνση της πορείας ή της ταχύτητας της αύξησης, του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των κυττάρων των εκφύτων για να παρουσιάσουν τα επιθυμητά, κάθε φορά, αποτελέσματα. Είναι φανερό ότι για τις

περισσότερες από τις εφαρμογές της ιστοκαλλιέργειας η χρήση των ορμονών καθίσταται απαραίτητη.

Οι ουσίες αυτές είναι, κατά κύριο λόγο, οι αυξίνες, οι γιββελλίνες, οι κυτοκινίνες, οι αμπισίνες και το αιθυλένιο. Στην ιστοκαλλιέργεια όμως χρησιμοποιούνται περισσότερο οι τρεις πρώτες ομάδες ορμονών οι οποίες είτε προέρχονται από τα ίδια τα φυτά (ενδογενείς), είτε παρασκευάζονται τεχνητά.

Τα κύρια χαρακτηριστικά των ουσιών αυτών είναι ότι δρουν σε πολύ μικρές ποσότητες (συγκεντρώσεις), ότι οι δράσεις τους αλληλεπιδρούν και μπορεί να επηρεάζει η μία την άλλη και τέλος ότι έχουν γενικότερη δράση και όχι επίδραση πάνω μόνο σε μία φυσιολογική διαδικασία.

Ενδεικτικά αναφέρονται εδώ οι πιο κοινά χρησιμοποιούμενες στην ιστοκαλλιέργεια ορμόνες και τα κύρια χαρακτηριστικά τους :

1. Αυξίνες

Συχνότερα εφαρμόζονται οι παρακάτω : το β-ινδολυλοξικό οξύ ή IAA (ενδογενής ορμόνη), το Ινδολοβουτυρικό οξύ ή IBA και το Ναφθαλινοξικό οξύ ή NAA (που χρησιμοποιήσαμε και στο πείραμά μας). Η κύρια δράση των αυξινών στην ιστοκαλλιέργεια έγκειται στην ρύθμιση της αναπτύξεως και κυτταρικής αυξήσεως αλλά και στην διέγερση της διαδικασίας της κυτταροδιαίρεσης.

2. Γιββελλίνες

Το GA3 χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά στις εφαρμογές ιστοκαλλιέργειας (ενδογενής ορμόνη) και η δράση του περιλαμβάνει την έντονη ενίσχυση της κυτταρικής αύξησης, την διέγερση του μεταβολισμού, την ενεργοποίηση των μεριστωματικών ιστών και συχνά την παρεμπόδιση της οργανογένεσης.

3. Κυτοκινίνες

Η ζεατίνη και η ισοπεντενυλαδενίνη, ή IPA, είναι από τις σπουδαιότερες ενδογενείς κυτοκινίνες, ενώ από τις τεχνητά παρασκευαζόμενες συχνότερα εφαρμόζονται η κινετίνη και η 6-βενζυλαμινοπυρίνη (ή BAP), που είναι και η κυτοκινίνη που χρησιμοποιήσαμε στο πείραμά μας. Η δράση της είναι πολύπλευρη αλλά σημαντικότερη για την ιστοκαλλιέργεια είναι η σχέση της κυτοκινίνης με την

αυξίνη, που είναι ο κύριος παράγοντας που καθορίζει αν η ιστοκαλλιέργεια θα εξελιχθεί σε αδιαφοροποίητη μάζα κυττάρων (κάλλος) ή θα αναπτύξει βλαστούς ή ρίζες. Μάλιστα μία μέση ποσότητα κυτοκινίνης σε συνδυασμό με χαμηλή ποσότητα αυξίνης δίνει συνήθως κάλλο. Αύξηση της περιεκτικότητας του θρεπτικού διαλύματος σε αυξίνη προάγει τον σχηματισμό ριζών, ενώ αντίθετα μεγαλύτερη συγκέντρωση σε κυτοκινίνη ευνοεί την βλαστογένεση των εκφύτων (γεγονός που οδήγησε στην σύσταση των υποστρωμάτων του πειράματός που περιγράφεται παρακάτω).

Η Ιστοκαλλιέργεια στο Αγγούρι

Το αγγούρι (*Cucumis sativus* L.) είναι ένα από τα οικονομικώς σημαντικότερα καλλιεργούμενα φυτά σε όλο τον κόσμο. Εκτός όμως από αυτό, το αγγούρι είναι ένα φυτό που έχει χρησιμοποιηθεί πολύ στις γενετικές μελέτες, λόγω των ευκολιών που έχει στην μελέτη του και οι οποίες είναι κυρίως :

- α. μικρός βιολογικός κύκλος,
- β. αγενής και εγγενής πολλαπλασιασμός,
- γ. μικρός χώρος καλλιέργειας,
- δ. εύκολη ανάπτυξη,
- ε. μεγάλη περίοδος άνθησης,
- στ. πολλές εκφράσεις φύλου ανθέων,
- ζ. μεγάλα άνθη,
- η. καλή καρπόδεση,
- θ. ευμεγέθεις σπόροι με καλή βλαστικότητα και χωρίς προβλήματα ληθάργου.

Έτσι, μολονότι η κυτταρογενετική του μελέτη είναι δύσκολη λόγω μικρού μεγέθους χρωμοσωμάτων και μοναδικού αριθμού χρωμοσωμάτων στο γένος του ($n=7$, που δυσκολεύει την διασταύρωσή του με συγγενικά είδη), αρκετές μελέτες έχουν γίνει πάνω στην *in vitro* καλλιέργεια του είδους αυτού.

Η αναγέννηση ορισμένων γονοτύπων του *Cucumis sativus* έχει αναφερθεί από ερευνητές να συμβαίνει είτε απ' ευθείας πάνω σε έκφυτα, είτε μέσω κάλλου ανεπτυγμένου στο έκφυτο (Ziv 1992).

Για τις μελέτες πάνω στο φυτό του αγγουριού έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς διάφορα είδη εκφύτων όπως φύλλα (Malpszy & Nadolska-Orezyk 1983, Colin-Hooymans κ.α. 1988), ανθήρες (Lazarte & Sasser 1982, Rajasekaran κ.α. 1983), σπερματική βλάστη (Gemes-Juhasz & Balogh κ.α., Niemirowicz-Szczytt & Faris κ.α. 2000), υποκότυλα (Nishibayashi κ.α. 1996, Munzuroglu & Geckil, 2002), μεσογονάτια διαστήματα (Konstas & Kintzios 2002), πρωτοπλάστες (Jia κ.α. 1986) και κοτυληδόνων (Σαπουντζάκης & Τσαυτάρης, Trulson & Shahin 1986, Ziv & Gadası 1986, Cade & Wehner κ.α. 1987, Lange & Juvik 1986). Η καλλιέργεια πραγματοποιείται συνήθως σε στερεά υποστρώματα, όμως έχουν γίνει δοκιμές και με εφαρμογή υγρών υποστρωμάτων (Konstas & Kintzios 2002) και τα αναγεννημένα

φυτά μπορούν έπειτα να μεταφερθούν στο έδαφος με ποσοστό επιτυχίας γύρω στο 80% (Ziv 1992).

Τα πειράματα που γίνονται πάνω στην ιστοκαλλιέργεια του αγγουριού έχουν ως σήμερα χρησιμοποιηθεί κυρίως για :

A. ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε παθογόνα όπως *Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum* (Zhao-XiuJuan & Wu-DingHua κ.α 2001), *Botrytis cinerea* (Tabei κ.α., 1997) και *Agrobacterium tumefaciens* (Σαπουντζάκης & Τσαυτάρης, Nishibayashi κ.α. 1996)

B. Διατήρηση και αποθήκευση απλοειδών φυτών (Niemirowicz-Szczytt & Faris κ.α. 2000)

Γ. Δημιουργία φυτών από σωματικά υβρίδια (Custers κ.α. 1988)

Δ. Μελέτη διαφόρων βιοχημικών λειτουργιών του φυτού (Munzuroglu & Geckil 2002)

Ε. Μελέτες γενετικού μετασχηματισμού (Lilly & Bartoszewski κ.α. 2001)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.

Υλικά και Μέθοδοι

Γενικά

Το παρακάτω πείραμα έγινε στις εγκαταστάσεις του Τ.Ε.Ι. Ηρακλείου και συγκεκριμένα στο Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας και κατά το διάστημα 09/1998 – 3/1999. Σκοπός ήταν η μελέτη που πραγματοποιήθηκε πάνω στα αποτελέσματα που μας έδωσαν τέσσερις διαφορετικές επεμβάσεις σε τέσσερις ποικιλίες του φυτού της αγγουριάς (*Cucumis sativus* L.). Οι ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα υβρίδια «Μίνως» και «1449» και οι καθαρές σειρές «Κνωσού» και «Υομακί», ενώ η κάθε επέμβαση σε κάθε ποικιλία πραγματοποιήθηκε σε 12 επαναλήψεις, έτσι ώστε να δώσουν ένα στατιστικά σωστότερο αποτέλεσμα και να μειωθούν οι πιθανότητες καταστροφής του πειράματος από τυχαίες μολύνσεις των εκφύτων.

Θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι το πείραμα έγινε σε δύο στάδια (φάσεις), με δύο από τις τέσσερις επεμβάσεις ανά στάδιο, ούτως ώστε να δοθεί η ευκαιρία της επιλογής της σύστασης των θρεπτικών υποστρωμάτων των τελευταίων επεμβάσεων από τα αποτελέσματα των δύο πρώτων και παράλληλα να ξεπεραστούν οι δυσκολίες που θα δημιουργούσε ο μεγάλος αριθμός των επαναλήψεων σε ένα ταυτόχρονο πείραμα (συνολικά 192 έκφυτα).

Μελετώντας προηγούμενα πειράματα πάνω στην ιστοκαλλιέργεια του αγγουριού, αλλά και άλλων μελών της οικογένειας Cucurbitaceae, επιλέχθηκε, σαν φυτικός ιστός που θα χρησιμοποιούταν για το πείραμα, τμήμα κοτυληδόνας νεαρών φυταρίων, ηλικίας περίπου επτά ημερών.

Από μελέτη εργασιών και βιβλίων προέκυψαν ακόμα τα είδη αυξητικών παραγόντων που χρησιμοποιήθηκαν, καθώς επίσης και οι συγκεντρώσεις τους για τις πρώτες επεμβάσεις (Α και Β).

Παρασκευή Υποστρώματος Βλάστησης Σπόρων

Το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε για την βλάστηση των σπόρων υπό ασηπτικές συνθήκες, περιείχε τα στοιχεία ενός B-5 υποστρώματος (Gamborg's B-5 basal medium with minimal organics), καθώς και 7gr/lit Άγαρ για την εύκολη πήξη και σταθεροποίηση του υποστρώματος. Η συνολική ποσότητα που παρασκευάστηκε ήταν 1 λίτρο (lt) υποστρώματος και το pH του ρυθμίστηκε στην τιμή 5,8 για την καλύτερη στερεοποίηση του διαλύματος.

Η διαδικασία παρασκευής του υποστρώματος είχε ως εξής:

α. Προσθήκη 3.2gr του μείγματος στοιχείων «B-5» σε περίπου 600ml απιονισμένου νερού και ανάδευση του μείγματος μέχρι την διάλυση των στοιχείων στο νερό.

β. Προσθήκη απιονισμένου νερού μέχρι τον συνολικό όγκο των 900ml και ρύθμιση του pH στο 5,8 με την χρήση πεχαμέτρου και διαλύματος 0,1N καυστικού νατρίου (NaOH), διάλυμα το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την άνοδο του pH στην προαναφερθείσα επιθυμητή τιμή.

γ. Προσθήκη 7gr Άγαρ και ανάδευση του μείγματος υπό θέρμανση μέχρι την κατάσταση απολύτου διαυγείας του, πλέον, διαλύματος.

δ. Αραίωση του διαλύματος με απιονισμένο νερό μέχρι του τελικού όγκου του ενός λίτρου και έπειτα ανάδυσή του.

Από την παραπάνω ποσότητα τα 500ml χρησιμοποιήθηκαν για το γέμισμα 80 σωλήνων ζαχάρου (που είχαν προετοιμαστεί προηγουμένως) με περίπου 12 ml υποστρώματος στον καθένα. Ακολούθησε το αεροστεγές κλείσιμο των σωλήνων με πώματα φελλού (τυλιγμένα σε φύλλο αλουμινίου) και η αποστείρωση των σωλήνων στον κλίβανο στους 121°C και υπό πίεση 1,2bar για 20 περίπου λεπτά.

1^η Πειραματική Φάση (Επεμβάσεις Α και Β)

Απολύμανση Σπόρων

Για να αποφευχθούν μολύνσεις των φυταρίων από μικρόβια ή άλλα παθογόνα που μπορεί να φέρουν στην επιφάνειά τους οι σπόροι, ακολουθήθηκε μια διαδικασία απολύμανσής τους. Συνολικά, στην πρώτη φάση του πειράματος, απολυμάνθηκαν 40 σπόροι αγγουριάς των ποικιλιών «1449», «ΚΝΩΣΟΥ», «ΜΙΝΩΣ» και «ΥΟΜΑΚΙ» σε ίσους αριθμούς (10 σπόροι ανά ποικιλία).

Η απολύμανση των σπόρων έγινε ως εξής:

α. Πρώτα έγινε αποστείρωση του θαλάμου νηματικής ροής, όπου εκτελέστηκαν οι μετέπειτα εργασίες, με διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης 95%, καθώς και αποστείρωση στον κλίβανο όλων των εργαλείων που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτέλεση των εργασιών αυτών (λαβίδες, κοπίδια, κλπ)*.

β. Οι σπόροι αρχικά εμβαπτίστηκαν σε καθαρή αιθυλική αλκοόλη για μερικά δεύτερα.

γ. Αμέσως μετά ακολούθησε εμβάπτιση των σπόρων σε διάλυμα χλωρίνης 10% για χρόνο 6 λεπτών.

δ. Για να αποφύγουμε καψίματα στους σπόρους η διαδικασία ολοκληρώθηκε με τρία διαδοχικά ξεπλύματα σε αποστειρωμένο απιονισμένο νερό, χρονικής διάρκειας 4 λεπτών το καθένα.

ε. Τέλος, αφού οι σπόροι απαλλάχθηκαν από την περιττή υγρασία, εναποτέθηκαν σε 4 αποστειρωμένα τρυβλία (ένα τρυβλίο ανά ποικιλία).

**Τόσο κατά την απολύμανση, όσο και κατά την εμφύτευση των σπόρων, τα εργαλεία που χρησιμοποιούσαμε αποστειρώνονταν πριν από κάθε χρήση τους με βύθιση σε καθαρή αιθυλική αλκοόλη και κάψιμο σε φλόγα λυχνίας Bunsen. Αυτό έγινε για να αποφύγουμε την μεταφορά τυχόν παθογόνων από ένα φυτό στο επόμενο. Κατά τον ίδιο τρόπο αποστειρώνονταν και τα στόμια των σωλήνων ζαχάρου, αλλά και τα πόματά τους.*

Εμφύτευση Σπόρων

Οι απολυμασμένοι πλέον σπόροι εμφυτεύθηκαν, με την χρήση λαβίδας, στους αποστειρωμένους σωλήνες με το B-5 υπόστρωμα, υπό συνθήκες πλήρους ασηψίας και με εμφύτευση ενός μόνο σπόρου ανά σωλήνα. Εν συνεχεία οι σωλήνες μαρκαρίστηκαν με το όνομα της ποικιλίας της οποίας το σπόρο φέρει ο καθένας και σε ειδικούς στατήρες μεταφέρθηκαν στους θαλάμους ανάπτυξης, όπου παρέμειναν στους 26°C και σε πλήρες και συνεχές σκοτάδι. Μετά από δύο 24ωρα, και αφού τα σπόρια είχαν αρχίσει να βλαστάνουν, οι συνθήκες φωτισμού στους θαλάμους αλλάχθηκαν σε πλήρη και συνεχή φωτισμό, ενώ η θερμοκρασία διατηρήθηκε σταθερή στους 26°C.

Παρασκευή Υποστρώματος Επεμβάσεων Α και Β

Για τις επεμβάσεις Α και Β επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί θρεπτικό υπόστρωμα με μείγμα αλάτων Murashige and Skoog Basal salt mixture (MS) (διάλυμα μακροστοιχείων), εμπλουτισμένο με βιταμίνες, σακχαρόζη για την θρέψη των κυττάρων και τους αυξητικούς παράγοντες (φυτομόνες) των οποίων η επίδραση πάνω στο φυτό ήταν το αντικείμενο παρατήρησης της εργασίας. Οι αυξητικοί αυτοί παράγοντες ήταν, για κάθε επέμβαση, οι εξής :

Πίνακας 1. Περιεκτικότητες θρεπτικών διαλυμάτων των επεμβάσεων Α και Β σε αυξητικούς παράγοντες.

<i>Επέμβαση</i>	<i>Συγκέντρωση NAA (ppm)</i>	<i>Συγκέντρωση BAP (ppm)</i>
A	0,1	2
B	0,5	2

Χρήσιμο κρίνεται ακόμα να παρατεθούν εδώ οι συστάσεις των μειγμάτων B-5 και MS, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα για την φύτευση των σπόρων και των εκφύτων αντίστοιχα.

Πίνακας 2. Σύσταση θρεπτικών διαλυμάτων πειράματος (MS, B-5).

		Θρεπτικό Διάλυμα	
		Murashige & Skoog (MS)	Gamborg B-5
Μακροστοιχεία	NH ₄ NO ₃	1650	-
	(NH ₄) ₂ SO ₄	-	134
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	150
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	250
	KNO ₃	1900	2500
	KH ₂ PO ₄	170	-
	NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	-	150
Ιχνοστοιχεία	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,85	27,85
	Na ₂ - EDTA	37,25	37,25
	MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3	10
	KJ	0,83	0,75
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	2

Η παρασκευή του υποστρώματος έγινε σε τρία στάδια :

I. Προετοιμασία των αυξητικών παραγόντων που θα χρησιμοποιηθούν στο υπόστρωμα (NAA και BAP):

- α. Προετοιμασία 50ml διαλύματος κανονικότητας 1N καυστικού νατρίου (NaOH).
- β. Ζύγιση στον αναλυτικό ζυγό ακριβείας 0.1000gr NAA και ίσης ποσότητας BAP.
- γ. Διάλυση του κάθε παράγοντα ξεχωριστά με περίπου 1,5ml NaOH 1N για το καθένα.
- δ. Αραίωση του κάθε διαλύματος με απιονισμένο νερό έως του όγκου των 100ml (1mg/ml).

II. Προετοιμασία 1 lt υποστρώματος εμφύτευσης τμημάτων κοτυληδόνων:

- α. Προσθήκη σε 500 περίπου ml απιονισμένου νερού 4,3gr του μείγματος αλάτων για MS (Murashige and Skoog Basal salt mixture).
- β. Προσθήκη 1ml διαλύματος βιταμινών για MS 1000x (1ml/lt).
- γ. Προσθήκη 30gr Σακχαρόζη
- δ. Προσθήκη 2ml διαλύματος BAP 1ml/lt (2ppm)
- ε. Προσθήκη 0.1ml διαλύματος NAA 1ml/lt (0,1ppm)
- στ. Προσθήκη απιονισμένου νερού μέχρι τον όγκο περίπου των 900 ml.
- ζ. Ανάδευση και ρύθμιση του pH στην τιμή 5,7 όπως παραπάνω.
- η. Προσθήκη 7gr άγαρ και ανάδευση υπό θέρμανση μέχρι να έρθει το διάλυμα σε απόλυτη διαύγεια.
- θ. Προσθήκη απιονισμένου νερού μέχρι του τελικού όγκου των 1000ml.

III. Δημιουργία υποστρωμάτων των επεμβάσεων A και B :

- α. Χωρισμός του υγρού ακόμη υποστρώματος σε δύο ίσους όγκους των 500ml.
- β. Προσθήκη, στο ένα μόνο διάλυμα, επιπλέον 0.2ml διαλύματος NAA 1mg/ml (νέα συγκέντρωση NAA 0,5ppm).
- γ. Γέμισμα 100 σωλήνων (που είχαν προετοιμαστεί νωρίτερα) με τα δύο υποστρώματα. Στον κάθε σωλήνα μπήκαν 10ml περίπου του ενός μόνο υποστρώματος, δηλαδή είχαμε 50 σωλήνες με υπόστρωμα συγκεντρώσεων 2ppm BAP και 0,1ppm NAA (Υπόστρωμα A) και 50 σωλήνες με υπόστρωμα συγκεντρώσεων 2ppm BAP και 0,5ppm NAA (Υπόστρωμα B).
- δ. Αποστείρωση των σωλήνων με το υπόστρωμα στον κλίβανο στους 110°C.

Εμφύτευση εκφύτων

Μετά από επτά 24ωρα από την φύτευσή τους (2 στο σκοτάδι και 5 σε φως), όλοι οι σπόροι είχαν βλαστήσει και οι κοτυληδόνες των περισσοτέρων ήταν αρκετά ευμεγέθεις για να τεμαχιστούν στα τμήματα που αποτέλεσαν τα έκφυτα του πειράματός μας.

Από τα πιο εύρωστα φυτάρια κάθε ποικιλίας, και υπό αυστηρά ασηπτικές πάντα συνθήκες, κόπηκαν τα έκφυτα των δύο πρώτων επεμβάσεων. Κάθε κοτυληδόνα, ανάλογα με το μέγεθός της, μας έδωσε από 2 έως 6 έκφυτα. Τελικά χρησιμοποιήθηκαν 24 έκφυτα από κάθε ποικιλία, 12 από τα οποία εμφυτεύθηκαν στο υπόστρωμα Α και 12 στο υπόστρωμα Β. Έτσι η φάση αυτή αποτελείτο από 4 διαφορετικές ποικιλίες με 2 διαφορετικές επεμβάσεις αυξητικών παραγόντων στην καθεμία που σημαίνει 8 συνολικά διαφορετικές δοκιμές με 12 επαναλήψεις στην καθεμία.

Οι σωλήνες μαρκαρίστηκαν με το όνομα της ποικιλίας και της συγκέντρωσης του υποστρώματος σε ΝΑΑ και τοποθετήθηκαν ανά ομάδες στους θαλάμους ανάπτυξης στην ίδια θερμοκρασία αλλά με τα δύο τρίτα της εντάσεως του αρχικού φωτισμού.

2^η Πειραματική Φάση (Επεμβάσεις Γ και Δ)

Από τις παρατηρήσεις των αποτελεσμάτων της πρώτης φάσης του πειράματος κρίθηκε η συγκέντρωση των υποστρωμάτων των επόμενων επεμβάσεων σε αυξητικούς παράγοντες (NAA και BAP) και έτσι η εργασία προχώρησε στη δεύτερη πειραματική φάση .

Εδώ χρησιμοποιήθηκαν οι υπόλοιποι 40 σωλήνες ζαχάρου με το υπόστρωμα B-5 (που είχαν αποθηκευθεί σε ψυγείο) για την βλάστηση του ίδιου αριθμού σπόρων.

Οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν για τα υπόλοιπα στάδια της φάσης αυτής ήταν πανομοιότυπες με αυτές που περιγράφονται παραπάνω για το πρώτο στάδιο, με μόνη διαφορά την περιεκτικότητα των θρεπτικών υποστρωμάτων, στα οποία εμφυτεύθηκαν τα έκφυτα, σε αυξητικούς παράγοντες, δηλαδή NAA και BAP.

Πιο συγκεκριμένα η συγκέντρωση των υποστρωμάτων σε BAP μειώθηκε σε αμφότερες τις επεμβάσεις κατά 50% (προς την τελική τιμή του 1ppm) και η συγκέντρωση σε NAA παρέμεινε στο ένα διάλυμα ίδια με της Α (επέμβαση Γ), ενώ στο δεύτερο μειώθηκε στο 2% της συγκέντρωσης του υποστρώματος Β, δηλαδή έγινε 0,01ppm (επέμβαση Δ).

Όπως και στις πρώτες δύο επεμβάσεις, οι σωλήνες με τα έκφυτα του πειράματος μεταφέρθηκαν στους θαλάμους ανάπτυξης όπου παρέμειναν υπό παρακολούθηση μέχρι το πέρας της πειραματικής φάσης.

Πίνακας 3. Περιεκτικότητες θρεπτικών διαλυμάτων των επεμβάσεων Α, Β, Γ, Δ σε αυξητικούς παράγοντες.

Επέμβαση	Συγκέντρωση NAA (ppm)	Συγκέντρωση BAP (ppm)
A	0,1	2
B	0,5	2
Γ	0,1	1
Δ	0,01	1

Πίνακας 4. Αριθμός φυταρίων που χρησιμοποιήθηκαν και εκφύτων που εμφυτεύθηκαν, ανά επέμβαση και ποικιλία.

Επέμβαση	Ποικιλία	Αριθμός Φυταρίων	Αριθμός Εκφύτων
Α	1449	4	12
	ΚΝΩΣΟΥ	5	12
	ΜΙΝΩΣ	2	12
	ΥΟΜΑΚΙ	3	12
Β	1449	4	12
	ΚΝΩΣΟΥ	5	12
	ΜΙΝΩΣ	3	12
	ΥΟΜΑΚΙ	3	12
Γ	1449	4	12
	ΚΝΩΣΟΥ	5	12
	ΜΙΝΩΣ	3	12
	ΥΟΜΑΚΙ	4	12
Δ	1449	3	12
	ΚΝΩΣΟΥ	5	12
	ΜΙΝΩΣ	4	12
	ΥΟΜΑΚΙ	4	12

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.

Αποτελέσματα

Κατά την παρατήρηση των υποκειμένων εκφύτων έγιναν μετρήσεις που αφορούσαν κυρίως στα εξής μεγέθη :

- α. ποσοστό καλλογένεσης
- β. μέγεθος κάλλου
- γ. ποσοστό βλαστογένεσης
- δ. αριθμός βλαστών ανά έκφυτο

Εκτός από τα παραπάνω μεγέθη, πάρθηκαν και άλλες (ποιοτικές κυρίως) παρατηρήσεις, π.χ. ριζογένεση, χρώμα κάλλου, ευρωστία εκφύτων και φυταρίων κ.α., που όμως δεν παρατίθενται εδώ, παρά μόνο οι σημαντικότερες και αυτές υπό μορφή σημειώσεων, μιας και δεν ήταν το καθ'αυτό αντικείμενο της εργασίας.

1^η Πειραματική Φάση

Επέμβαση Α

Η επέμβαση με 2ppm BAP και 0,1ppm NAA έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα όσον αφορά στην καλλογένεση των εκφύτων και αρκετά ικανοποιητικό μέγεθος κάλλου (στις περισσότερες ποικιλίες), αλλά δεν εμφανίσθηκε καθόλου βλαστογένεση σε καμία από τις ποικιλίες (βλέπε Πίνακα 1, Πίνακα 7 και Σχήμα 1).

Θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι όλα τα έκφυτα του υβριδίου «ΜΙΝΩΣ» στα οποία έγινε η επέμβαση Α παρουσίασαν μολύνσεις σε πολύ νεαρό στάδιο (1^η εβδομάδα) και γι' αυτό το λόγο δεν παρουσιάζονται στα αποτελέσματα. (πιθανολογείται η αιτία των μαζικών αυτών μολύνσεων να σχετίζεται με τον μεγάλο αριθμό μολύνσεων στα φυτάρια της ίδιας ποικιλίας (50%) και να προέρχονται από παθογόνα που υπήρχαν στο πολλαπλασιαστικό υλικό)

Το μέγεθος του κάλλου, όπως φαίνεται στους Πίνακες 1 και 8 , αλλά και στο Σχήμα 2, ήταν μέγιστο στην ποικιλία «1449» (1,7 cm), με μικρή όμως διαφορά από την «ΚΝΩΣΟΥ» (1,6 cm), ενώ τα έκφυτα της ποικιλίας «ΥΟΜΑΚΙ» εμφάνισαν τον μικρότερο κάλλο (1,3 cm) και το λιγότερο έντονο χρώμα.

Πίνακας 5. Ύπαρξη ή μη καλλογένεσης, μέγεθος κάλλου (σε cm), ύπαρξη ή μη βλαστογένεσης, και αριθμός βλαστών, ανά έκφυτο της επέμβασης Α (2ppm BAP και 0,1ppm NAA) και Μέσοι Όροι (Μ.Ο.) των τιμών αυτών. *

Ε Π Ε Μ Β Α Σ Η Α														
1449	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,6	1,5	1,8	1,8	1,7	1,9	1,5	1,5	1,7	1,8	1,8	1,6	1,7
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	-	Μ	-	-	-	-	Μ	-	-	-	-	-	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ΚΝΩΣΟΥ	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,7	1,6	1,5	1,5	1,8	1,6	1,4	1,4	1,7	1,7	1,5	1,6	1,6
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	-	-	-	Μ	-	-	Μ	Μ	-	-	-	-	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ΜΙΝΩΣ	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ	Μ
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ΥΟΜΑΚΙ	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,2	1,2	1,0	1,5	0,9	1,4	1,6	1,6	1,4	1,3	1,5	1,4	1,3
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	Μ	-	-	Μ	-	Μ	Μ	-	-	-	-	-	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* Σημείωση : το σύμβολο “+” σημαίνει ύπαρξη καλλογένεσης ή βλαστογένεσης ανάλογα, το σύμβολο “-“ σημαίνει μη ύπαρξή της, ενώ το “Μ” υποδεικνύει έκφυτα τα οποία είχαν μολυνθεί και άρα τα αποτελέσματά τους ως προς την βλαστογένεση δεν λαμβάνονται υπ’όψη.

Επέμβαση Β

Στην επέμβαση με 2ppm BAP και 0,5ppm NAA όλες οι ποικιλίες εμφάνισαν 100% καλλογένεση, όπως παρατηρούμε και στους πίνακες 6, 7 και στο σχήμα 1, αλλά και πάλι δεν παρουσιάστηκε καθόλου βλαστογένεση σε κανένα έκφυτο.

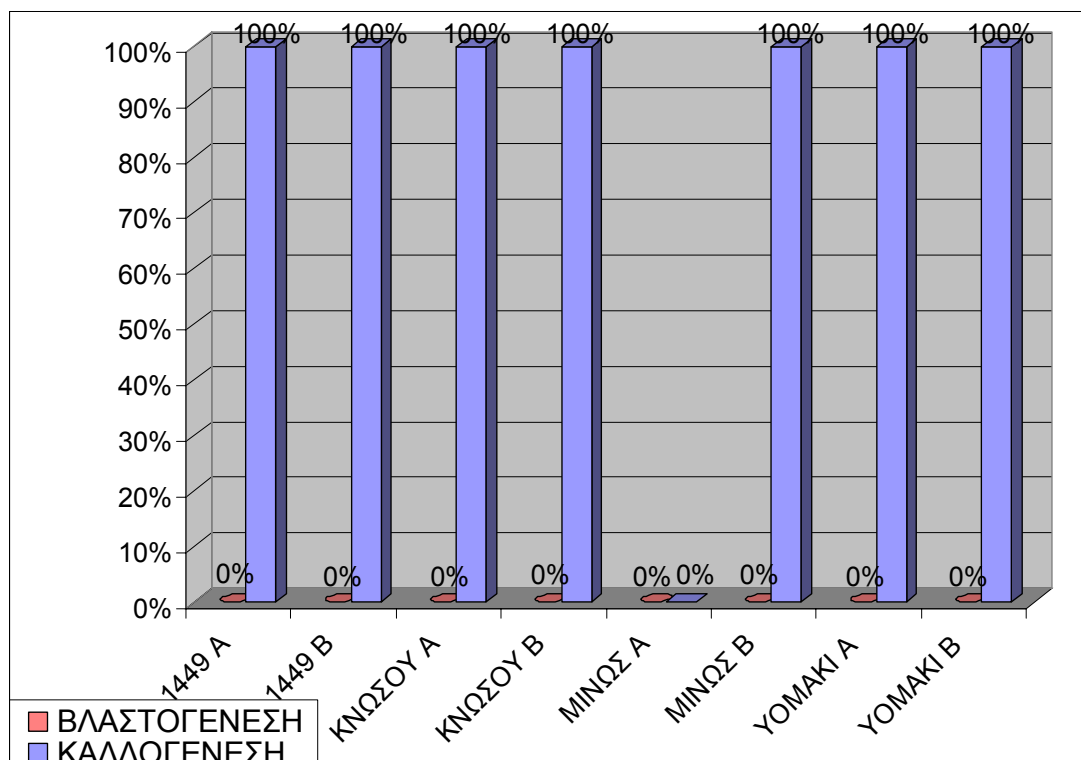
Το μέγεθος όμως του κάλλου, όπως φαίνεται στον Πίνακα 8 και Σχήμα 2, είναι μικρότερο σε κάθε ποικιλία (κατά 0,2 cm μέσο όρο), αν σχετιστεί με τα αντίστοιχα αποτελέσματα της επέμβασης Α. Πάντως, ομοίως με την επέμβαση Α, το μεγαλύτερο μέγεθος κάλλου παρουσιάζεται στις ποικιλίες «1449» και «ΚΝΩΣΟΥ» (1,5 cm), ενώ το μικρότερο στην ποικιλία «ΥΟΜΑΚΙ» (1,0 cm).

Πίνακας 6. Ύπαρξη ή μη καλλογένεσης, μέγεθος κάλλου (σε cm), ύπαρξη ή μη βλαστογένεσης, και αριθμός βλαστών, ανά έκφυτο της επέμβασης Β (2ppm ΒΑΡ και 0,5ppm ΝΑΑ) και Μέσοι Όροι (Μ.Ο.) των τιμών αυτών. *

Ε Π Ε Μ Β Α Σ Η Β														
1449	Α/Α ΈΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,5	1,5	1,4	0,9	1,6	1,8	1,7	1,5	1,6	1,4	1,4	1,7	1,5
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	-	-	Μ	Μ	-	-	-	-	-	Μ	-	-	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ΚΝΩΣΟΥ	Α/Α ΈΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,6	1,4	1,5	1,2	1,8	1,7	1,3	1,5	1,7	1,4	1,6	1,5	1,5
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	-	Μ	-	Μ	-	-	Μ	-	-	Μ	-	-	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ΜΙΝΩΣ	Α/Α ΈΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,0	1,3	1,2	1,5	1,3	0,9	1,0	1,4	1,5	1,1	1,2	1,1	1,2
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	Μ	-	-	-	-	Μ	-	-	-	-	-	-	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ΥΟΜΑΚΙ	Α/Α ΈΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	0,8	1,2	1,3	0,9	1,0	0,8	0,7	1,1	1,2	1,0	0,9	1,0	1,0
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	-	-	Μ	-	Μ	-	-	-	-	-	-	-	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Πίνακας 7. Συγκεντρωτικά ποσοστιαία αποτελέσματα καλλογένεσης και βλαστογένεσης των Επεμβάσεων Α και Β (1^η πειραματική φάση) για κάθε μία από τις τέσσερις ποικιλίες του πειράματος.

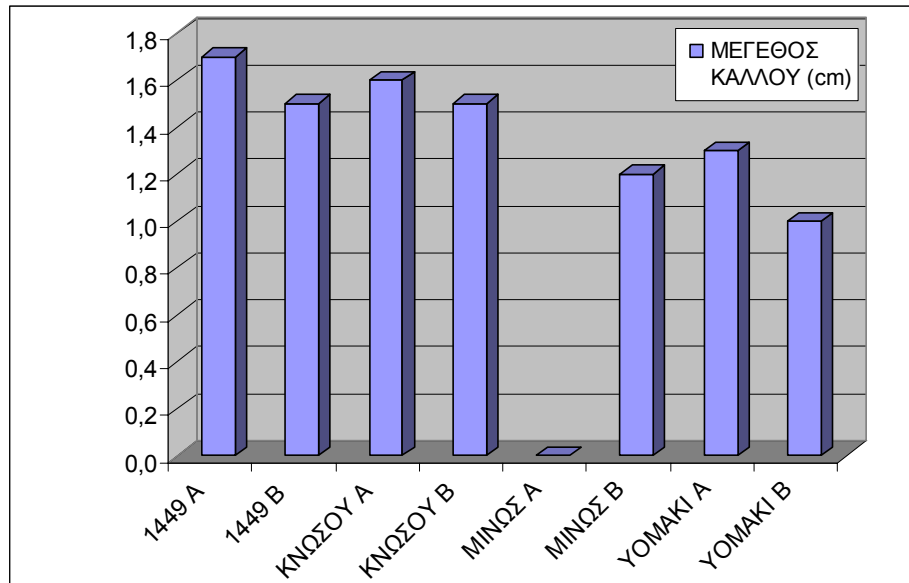
ΠΟΙΚΙΛΙΑ & ΕΠΕΜΒΑΣΗ	ΠΟΣΟΣΤΟ	
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗΣ	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗΣ
1449 Α	100% (12/12)	0%
1449 Β	100% (12/12)	0%
ΚΝΩΣΟΥ Α	100% (12/12)	0%
ΚΝΩΣΟΥ Β	100% (12/12)	0%
ΜΙΝΩΣ Α	0%	0%
ΜΙΝΩΣ Β	100% (12/12)	0%
ΥΟΜΑΚΙ Α	100% (12/12)	0%
ΥΟΜΑΚΙ Β	100% (12/12)	0%



Σχήμα 1. Ιστόγραμμα ποσοτικών αποτελεσμάτων βλαστογένεσης και καλλογένεσης των επεμβάσεων A και B.

Πίνακας 8. Συγκενρωτικά αποτελέσματα μέσω όρων (ανά ποικιλία και επέμβαση) α. μεγέθους κάλλου (σε cm) και β. αριθμού βλαστών των εκφύτων των Επεμβάσεων A και B (1^η πειραματική φάση).

ΠΟΙΚΙΛΙΑ & ΕΠΕΜΒΑΣΗ	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ (cm)	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ
1449 A	1,7	0
1449 B	1,5	0
ΚΝΩΣΟΥ A	1,6	0
ΚΝΩΣΟΥ B	1,5	0
ΜΙΝΩΣ A	0	0
ΜΙΝΩΣ B	1,2	0
ΥΟΜΑΚΙ A	1,3	0
ΥΟΜΑΚΙ B	1,0	0



Σχήμα 2. Ιστόγραμμα μέσωσ όρων αποτελεσμάτων (ανά ποικιλία και επέμβαση) μεγέθους κάλλου των εκφύτων των Επεμβάσεων Α και Β (1^η πειραματική φάση).

2^η Πειραματική Φάση

Όπως αναφέρεται στο κεφάλαιο 3 της εργασίας μας, τα αποτελέσματα της 1^{ης} πειραματικής φάσης οδήγησαν στο να μειωθεί η συγκέντρωση των αυξητικών παραγόντων στα υποστρώματα των επεμβάσεων Γ και Δ.

Έτσι μειώθηκε στο μισό η συγκέντρωση της κυτοκινίνης (BAP), της οποίας η αρχική συγκέντρωση κρίθηκε ότι ήταν υψηλή, και η συγκέντρωση της αυξίνης (NAA) έγινε από 0,5ppm (υπόστρωμα Β) 0,01ppm (υπόστρωμα Δ), μιας και η μικρότερη συγκέντρωσή της στο υπόστρωμα Α παρουσίασε σαφώς καλύτερα αποτελέσματα, όσον αφορά στην καλλογένεση.

Επέμβαση Γ

Τα έκφυτα στα οποία εφαρμόστηκε επέμβαση με 1ppm BAP και 0,1ppm NAA παρουσίασαν καλλογένεση κατά 100%. Το μέγεθος του κάλλου ήταν κάπως μικρότερο απ' ό τι στα αντίστοιχα άτομα της επέμβασης Α (Πίνακες 9, 12 και Σχήμα 4), εκτός της ποικιλίας «ΜΙΝΩΣ» που είχε την μεγαλύτερη μέση τιμή μεγέθους κάλλου από όλες τις ποικιλίες, συμπεριλαμβανομένων και των επεμβάσεων Α και Β (1,8 cm).

Τα έκφυτα της ποικιλίας αυτής ήταν τα μόνα της επεμβάσεως που εμφάνισαν και βλαστογένεση και μάλιστα σε ποσοστό 33% (Πίνακας 9, Πίνακας 11, Σχήμα 3). Παρατηρώντας τα αποτελέσματα, μπορεί ακόμα κανείς να δει ότι ο αριθμός των βλαστών ανά έκφυτο είναι αρκετά ικανοποιητικός (3 βλαστοί ανά έκφυτο κατά μέσο όρο) ενώ παράλληλα αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι από τις πρώτες εβδομάδες του πειράματος είχε διαπιστωθεί μια μεγαλύτερη ευρωστία και ζωηρότητα χρώματος όλων σχεδόν των εκφύτων της ποικιλίας.

Πίνακας 9. Ύπαρξη ή μη καλλογένεσης, μέγεθος κάλλου (σε cm), ύπαρξη ή μη βλαστογένεσης, και αριθμός βλαστών, ανά έκφυτο της επέμβασης Γ (1ppm BAP και 0,1ppm NAA) και Μέσοι Όροι (Μ.Ο.) των τιμών αυτών. *

Ε Π Ε Μ Β Α Σ Η Γ														
1449	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,5	1,4	1,5	1,3	1,7	1,7	1,4	1,6	1,6	1,5	1,6	1,4	1,5
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	M	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ΚΝΩΣΟΥ	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,4	1,5	1,3	1,2	1,6	1,4	1,1	1,2	1,1	1,5	1,2	1,3	1,3
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	-	-	-	M	-	-	M	-	-	-	M	-	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ΜΙΝΩΣ	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,5	1,9	1,7	1,6	2,0	1,9	1,7	1,7	1,9	1,8	1,6	1,9	1,8
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	M	-	+	M	-	-	+	+	-	-	M	-	33%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	2	0	0	0	4	4	0	0	0	0	3
ΥΟΜΑΚΙ	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,3	1,3	1,5	1,7	1,4	1,2	1,4	1,4	1,3	1,4	1,6	1,5	1,4
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Επέμβαση Δ

Τα αποτελέσματα της επέμβασης με 1ppm BAP και 0,01ppm NAA (όπως αυτά φαίνονται στους πίνακες 11 και 12, αλλά και στα σχήματα 3 έως 5) ήταν τα καλύτερα του πειράματος, αφού εκτός από 100% καλλογένεση σε όλες τις ποικιλίες παρατηρήθηκε και βλαστογένεση σε τρεις από τις τέσσερις.

Πιο αναλυτικά, η ποικιλία «ΜΙΝΩΣ» παρουσίασε τα καλύτερα αποτελέσματα αφού : α. είχε (όπως και η «ΚΝΩΣΟΥ») μέσο όρο κάλλου 1,7cm, β. παρουσίασε το μεγαλύτερο ποσοστό βλαστογένεσης (80%) και γ. είχε τους περισσότερους βλαστούς ανά έκφυτο (4 κατά μέσο όρο). Η αμέσως «καλύτερη» ποικιλία ήταν η «ΚΝΩΣΟΥ» που εμφάνισε 44% βλαστογένεση και κατά μέσο όρο 2 βλαστούς ανά έκφυτο. Τέλος η ποικιλία «ΥΟΜΑΚΙ» εμφάνισε βλαστογένεση σε 10% των εκφύτων της, επίσης 2 βλαστούς ανά έκφυτο και 1,4cm μ.ο. μεγέθους κάλλου, όσο δηλαδή και το «1449» που όμως δεν παρουσίασε καθόλου βλαστογένεση.

Αξίζει πάντως να σημειωθεί ότι (όπως φαίνεται και στον Πίνακα 10) τα άτομα που παρουσίασαν βλαστογένεση είχαν, σε γενικές γραμμές, μικρότερο μέγεθος κάλλου, γεγονός που παρατηρείται και στα μολυσμένα έκφυτα όλου του πειράματος.

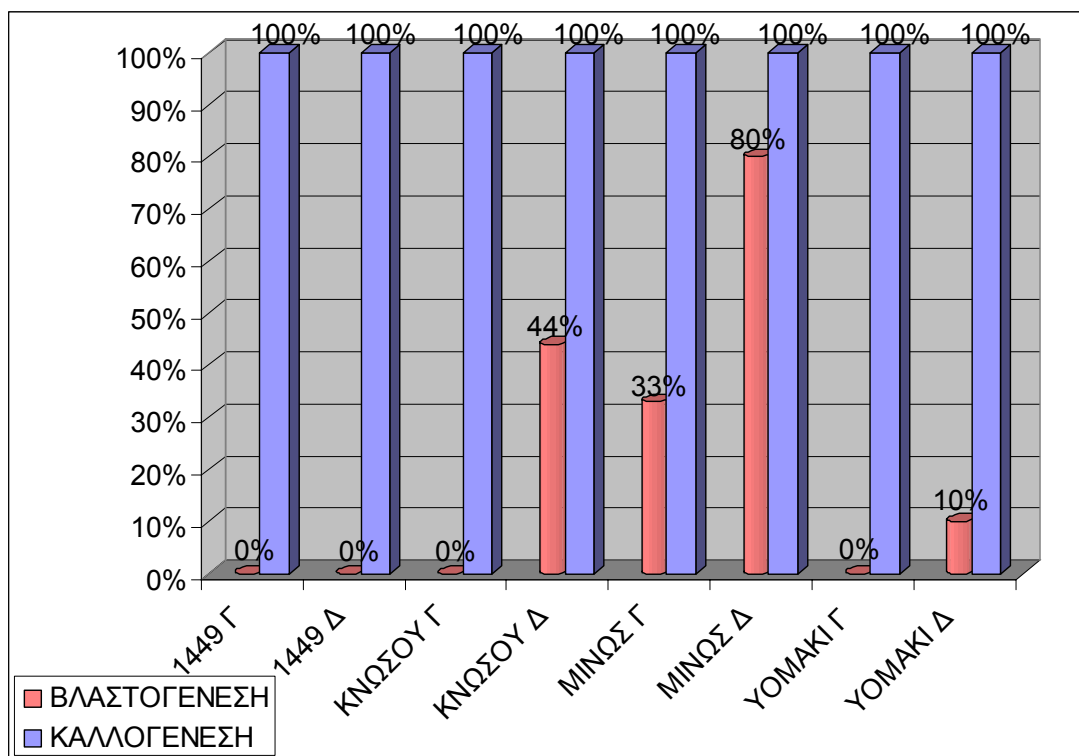
Πίνακας 10. Ύπαρξη ή μη καλλογένεσης, μέγεθος κάλλου (σε cm), ύπαρξη ή μη βλαστογένεσης, και αριθμός βλαστών, ανά έκφυτο της επέμβασης Δ (1ppm BAP και 0,01ppm NAA) και Μέσοι Όροι (Μ.Ο.) των τιμών αυτών. **

		Ε Π Ε Μ Β Α Σ Η Δ												
1449	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,2	1,4	1,7	1,5	1,4	1,1	1,2	1,6	1,5	1,3	1,7	1,4	1,4
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	Μ	-	-	-	-	Μ	Μ	-	-	-	-	-	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ΚΝΩΣΟΥ	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,5	1,8	1,9	1,6	1,9	1,8	1,4	1,7	1,5	1,8	1,6	1,6	1,7
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	Μ	+	-	+	-	-	Μ	+	+ _P	Μ	-	-	44%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	1	0	2	0	0	0	3	2	0	0	0	2
ΜΙΝΩΣ	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,8	1,7	1,5	1,6	1,5	1,9	1,6	1,9	1,7	1,6	1,7	1,4	1,7
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	+ _P	+	Μ	+	+ _P	- _P	+	-	+	+ _P	+	Μ	80%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	3	5	0	2	4	0	4	0	3	5	5	0	4
ΥΟΜΑΚΙ	Α/Α ΕΚΦΥΤΟΥ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Μ.Ο
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,6	1,6	1,4	1,2	1,5	1,3	1,5	1,4	1,2	1,6	1,4	1,5	1,4
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	-	-	-	+	-	Μ	-	-	Μ	-	-	-	10%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2

** Σημείωση : Στον παραπάνω πίνακα υπάρχουν 5 άτομα σημειωμένα με P στο πεδίο «ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ». Το σημείο αυτό υποδεικνύει ότι τα έκφυτα παρουσίασαν ριζογένεση.

Πίνακας 11. Συγκεντρωτικά ποσοστιαία αποτελέσματα καλλογένεσης και βλαστογένεσης των Επεμβάσεων Γ και Δ (2^η πειραματική φάση) για κάθε μία από τις τέσσερις ποικιλίες του πειράματος.

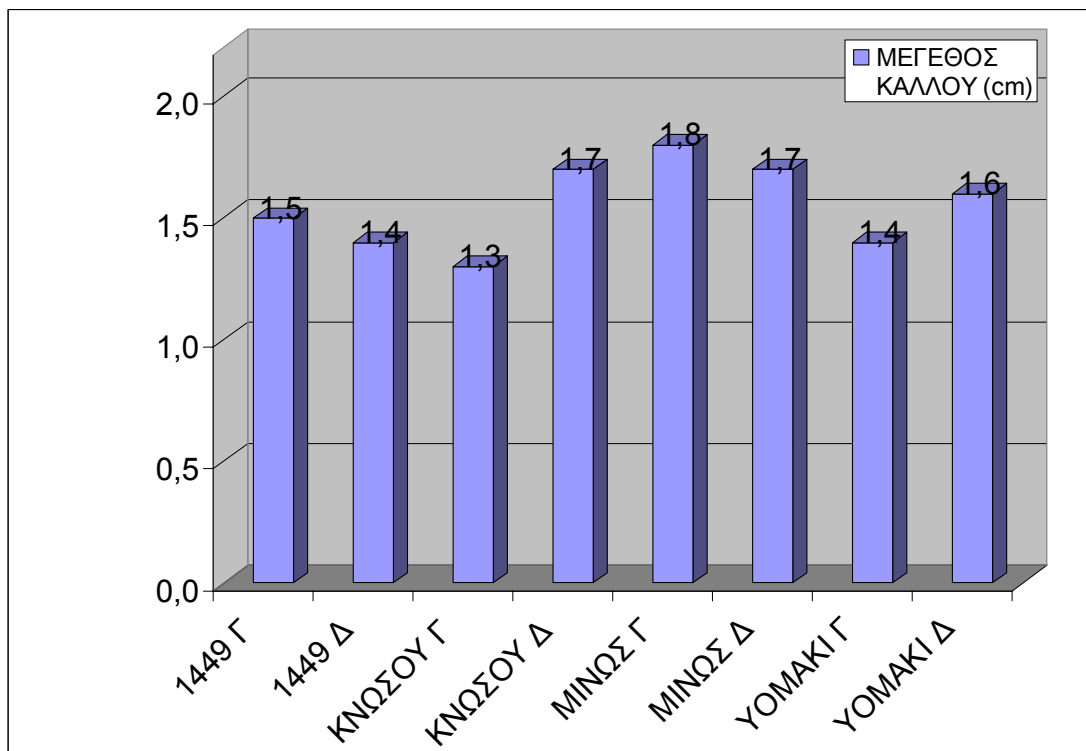
ΠΟΙΚΙΛΙΑ & ΕΠΕΜΒΑΣΗ		ΠΟΣΟΣΤΟ	ΠΟΣΟΣΤΟ
		ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗΣ	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗΣ
ΠΟΙΚΙΛΙΑ & ΕΠΕΜΒΑΣΗ	1449 Γ	100% (12/12)	0%
	1449 Δ	100% (12/12)	0%
	ΚΝΩΣΟΥ Γ	100% (12/12)	0%
	ΚΝΩΣΟΥ Δ	100% (12/12)	44% (4/9)
	ΜΙΝΩΣ Γ	100% (12/12)	33% (3/9)
	ΜΙΝΩΣ Δ	100% (12/12)	80% (8/10)
	ΥΟΜΑΚΙ Γ	100% (12/12)	0%
	ΥΟΜΑΚΙ Δ	100% (12/12)	10% (1/10)



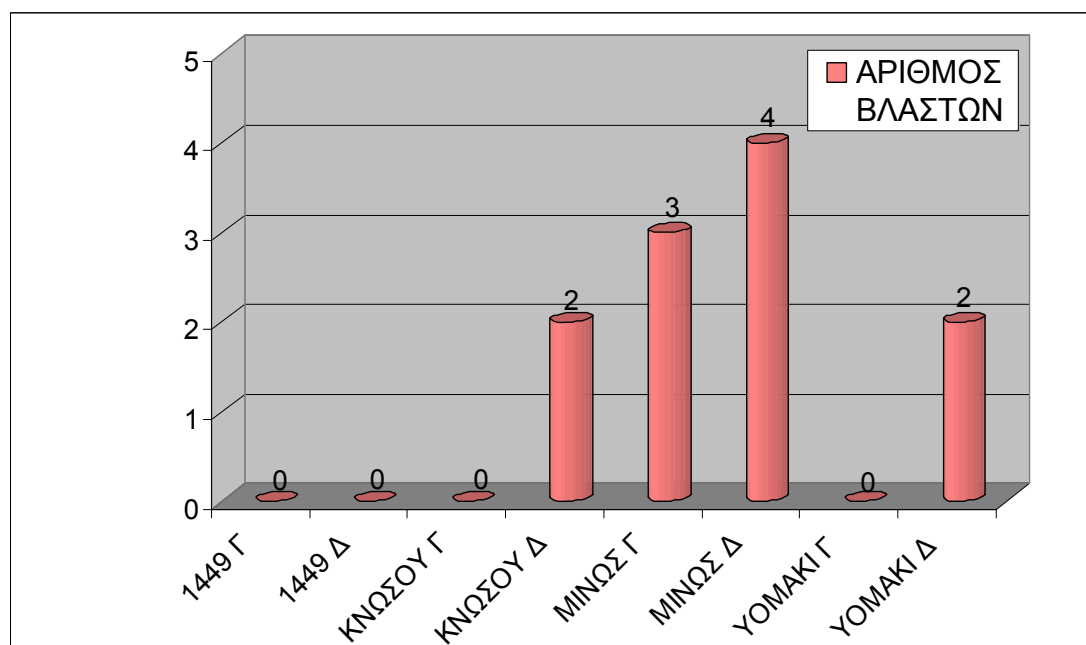
Σχήμα 3. Ιστόγραμμα ποσοστιαίων αποτελεσμάτων βλαστογένεσης και καλλογένεσης των επεμβάσεων Γ και Δ.

Πίνακας 12. Συγκεντρικά αποτελέσματα μέσω των όρων (ανά ποικιλία και επέμβαση) α. μεγέθους κάλλου (σε cm) και β. αριθμού βλαστών των εκφύτων των Επεμβάσεων Γ και Δ (2^η πειραματική φάση).

ΠΟΙΚΙΛΙΑ & ΕΠΕΜΒΑΣΗ	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ (cm)		ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ
	Γ	Δ	
1449	1,5	1,4	0
ΚΝΩΣΟΥ	1,3	1,7	0
ΜΙΝΩΣ	1,8	1,7	3
ΥΟΜΑΚΙ	1,4	1,6	0



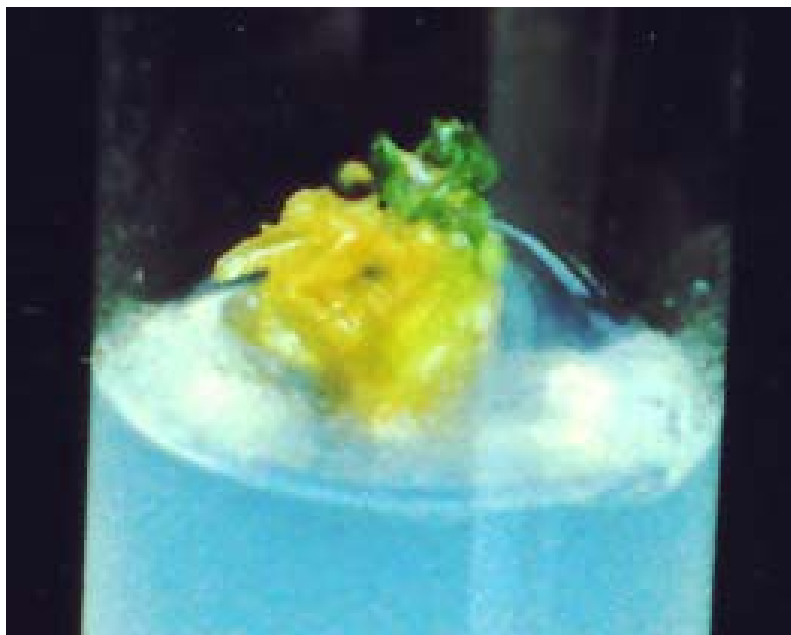
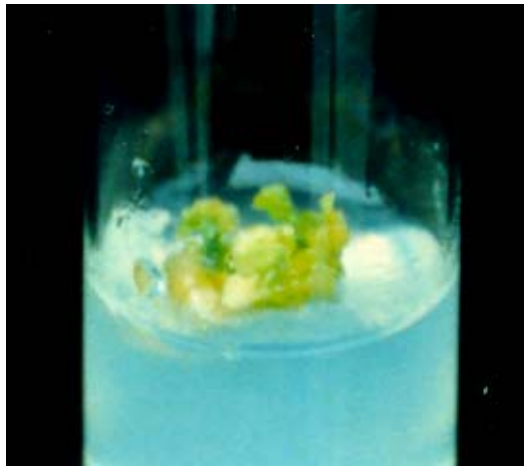
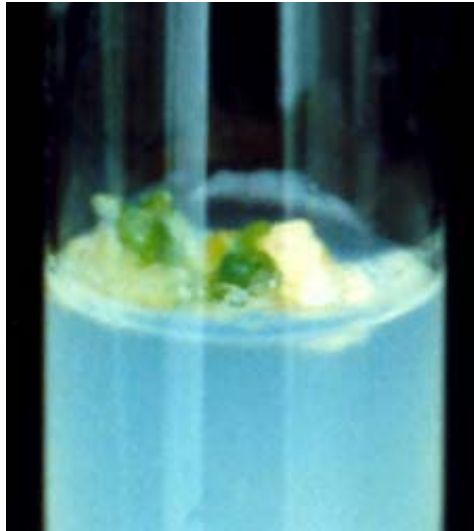
Σχήμα 4. Ιστόγραμμα μέσων όρων αποτελεσμάτων (ανά ποικιλία και επέμβαση) μεγέθους κάλλου των εκφύτων των Επεμβάσεων Γ και Δ (2^η πειραματική φάση).



Σχήμα 5. Ιστόγραμμα μέσων όρων αποτελεσμάτων (ανά ποικιλία και επέμβαση) αριθμού βλαστών των εκφύτων που παρουσίασαν βλαστογένεση κατά τις Επεμβάσεις Γ και Δ (2^η πειραματική φάση).

Πίνακας 13. Συγκεντρωτικά αποτελέσματα ποσοστών καλλογένεσης και βλαστογένεσης (επί του συνόλου των φυτών κάθε ποικιλίας σε κάθε επέμβαση) και μέσων όρων μεγέθους κάλλου (σε cm) και αριθμού βλαστών (ανά φυτάριο), όλων των επεμβάσεων του πειράματος.

1449	ΕΠΕΜΒΑΣΗ	A	B	Γ	Δ
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	100%	100%	100%	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,7	1,5	1,5	1,4
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	0%	0%	0%	0%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	0
ΚΝΩΣΟΥ	ΕΠΕΜΒΑΣΗ	A	B	Γ	Δ
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	100%	100%	100%	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,6	1,5	1,3	1,7
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	0%	0%	0%	44%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	2
ΜΙΝΩΣ	ΕΠΕΜΒΑΣΗ	A	B	Γ	Δ
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	M	100%	100%	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	0	1,2	1,8	1,7
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	0%	0%	33%	80%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	3	4
ΥΟΜΑΚΙ	ΕΠΕΜΒΑΣΗ	A	B	Γ	Δ
	ΚΑΛΛΟΓΕΝΕΣΗ	100%	100%	100%	100%
	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΛΛΟΥ	1,3	1,0	1,4	1,6
	ΒΛΑΣΤΟΓΕΝΕΣΗ	0%	0%	0%	10%
	ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΛΑΣΤΩΝ	0	0	0	2



Εικόνες 1 – 4 . Φωτογραφίες ορισμένων εκ των εκφύτων που παρουσίασαν βλαστογένεση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.

Συμπεράσματα – Συζήτηση

Μελετώντας τα αποτελέσματα του πειράματος, όπως αυτά παρατίθενται στο παραπάνω κεφάλαιο της εργασίας, είναι φανερό ότι οι 4 διαφορετικοί γονότυποι που χρησιμοποιήθηκαν έδειξαν ριζικές διαφορές ως προς την βλαστογένεση. Πιο συγκεκριμένα βλέπουμε ότι τα πιο μεγάλα ποσοστά σε βλαστογένεση τα εμφάνισε η ποικιλία «ΜΙΝΩΣ», η οποία ήταν και η μόνη ποικιλία που έδωσε βλαστούς σε περισσότερες από μία επεμβάσεις (Γ και Δ) και μάλιστα με τον μεγαλύτερο αριθμό βλαστών ανά έκφυτο. Αρκετά καλό επίπεδο βλαστογένεσης εμφάνισε και η ποικιλία «ΚΝΩΣΟΥ» στην επέμβαση Δ. Αντίθετα η ποικιλία «ΥΟΜΑΚΙ» παρουσίασε πολύ μικρό ποσοστό βλαστογένεσης ενώ η «1449» δεν εμφάνισε βλαστούς σε κανένα από τα έκφυτά της.

Όσο αφορά στην δημιουργία κάλλου, όλες οι ποικιλίες έδειξαν αντίδραση σε όλα τα θρεπτικά υποστρώματα δίνοντας 100% καλλογένεση. Όμως και πάλι οι γονότυποι «ΚΝΩΣΟΥ» και «ΜΙΝΩΣ» δημιούργησαν πολύ καλύτερης ποιότητας κάλλο, με πιο ζωηρό χρώμα, ταχύτερο ρυθμό ανάπτυξης και σχετικά μεγαλύτερο μέγεθος (κυρίως στις επεμβάσεις Γ και Δ).

Σε σχέση με την επίδραση των ρυθμιστικών παραγόντων (αυξίνη και κυτοκίνη) μπορεί κανείς να συμπεράνει ότι η επέμβαση Δ είναι η καλύτερη από τις 4 για την αναγέννηση των δεδομένων γονοτύπων και ειδικά της καθαρής σειράς «ΜΙΝΩΣ». Είναι η μόνη επέμβαση στην οποία εμφανίστηκε βλαστογένεση σε πάνω από μία ποικιλία. Ακόμη η ίδια επέμβαση εμφάνισε και το μεγαλύτερο μέσο όρο μεγέθους κάλλου συνολικά στις 4 ποικιλίες, ενώ παράλληλα ο κάλλος που δημιουργήθηκε είχε πιο πράσινο χρώμα (τουλάχιστον στις πρώτες εβδομάδες και πριν την βλαστογένεση) και γενικά πιο συμπαγή δομή, γεγονός που δίνει ενδείξεις για καλύτερη συμπεριφορά ως προς την ιστοκαλλιέργεια.

Για την επέμβαση Δ θεωρείται ακόμα αξιοσημείωτο το γεγονός ότι 4 από τα έκφυτα της ποικιλίας «ΜΙΝΩΣ» (τα 3 εκ των οποίων είχαν παρουσιάσει βλαστογένεση) και 1 της «ΚΝΩΣΟΥ» (επίσης με βλαστογένεση) εμφάνισαν τις τελευταίες μέρες του πειράματος και ριζογένεση (βλέπε πίνακα 10). Τα έκφυτα αυτά, μετά την εμφάνιση ριζών) παρουσίασαν λιγότερο έντονο χρώμα κάλλου (σε σχέση με τα υπόλοιπα όμοιά τους) που προς τις τελευταίες μέρες του πειράματος έτεινε προς το μπεζ ή το ανοικτό καφέ. Το γεγονός αυτό κρίνεται όμως φυσιολογικό λόγω της μεγαλύτερης απορρόφησης θρεπτικών συστατικών από τον κάλλο για την θρέψη των νέων οργάνων και άρα την εξάντληση αυτού. Άλλωστε το ίδιο φαινόμενο (σε μικρότερο βαθμό) παρατηρήθηκε και στα άτομα που εμφάνισαν βλαστογένεση που και πάλι όμως η αλλαγή του χρώματος επήλθε μετά την οργανογένεση αυτή.

Τέλος αξίζει να επαναληφθεί μία παρατήρηση που σημειώθηκε και στο κεφάλαιο των αποτελεσμάτων, ότι δηλαδή γενικά στο πείραμα τα έκφυτα που παρουσίασαν βλαστογένεση είχαν μικρότερο όγκο κάλλου, σε σχέση με τα υπόλοιπα της ποικιλίας τους και στη συγκεκριμένη κάθε φορά επέμβαση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Φανουράκης Ν.Ε. (1992): Γενετική Βελτίωση Φυτών (Αρχές και Μέθοδοι) Ηράκλειο. 166 Σελ. .
2. Shetty, K. et al. (1992): Stimulation of benzyladenin-induced in vitro shoot organogenesis from cotyledons of *Cucumis sativus* L. by proline and abscisic acid. *Plant Tissue Cult. Lett.*, 9, 104-108.
3. Dirks, R. & Buggenum, M.v. (1989): In vitro plant regeneration from leaf and cotyledon explants of *Cucumis melo* L. *Plant Cell Rep.*, 7, 626-627.
4. Punja, Z. K. et al. (1990): Regeneration of *Cucumis sativus* var. sativus and *C. sativus* var. *hardwickii*, *C. melo*, and *C. metuliferus* from explants through somatic embryogenesis and organogenesis. *Plant Cell, Tissue & Organ Culture*, 21, 93-102.
5. Orczyk, W., Nadolska-Orczyk, A. & Malepszy, S. (1988): Plant regeneration of wild *Cucumis species*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 57(2), 195-200.
6. Yamanaka, H., Amagasa, K. & Yoshida, Y. (1990): Plant regeneration from cotyledon protoplast of *Cucumis melo* L. *Plant Tissue Cult. Lett.*, 7, 103-107.
7. Κίντζιος Σ. Ε., Μακρή Ο., Δροσόπουλος Ι., Χωριανοπούλου Σ., Πεθαίνου Σ. (1995): Επίδραση της θέσης και της ηλικίας στην in vitro απόκριση φύλλων αγγουριάς (*Cucumis sativus* L.) σε διαφορετικά επίπεδα αλατότητας. 17ο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών. 22-24/11/95. Καστρί
8. Burza W., Malepszy S. (1995): Direct plant regeneration from leaf explants in cucumber (*Cucumis sativus* L.) is free of stable genetic variation. *Plant Breeding* 114 (4), 341–345
9. Munzuroglu O, Geckil H. (2002): Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. *Arch Environ Contam Toxicol*, 43:203 - 213.
10. Ziv, M. (1992): Micropropagation of *Cucumis spp.*. In : Y.P.S. Bajaj (ed.) p.72-90
11. Ziv M., Gadasi G. (1986): Enhanced embryogenesis and plant regeneration from cucumber (*Cucumis sativus* L.) callus by activated charcoal in solid/liquid double-layer cultures. *Plant Sci.* 47:115–122.