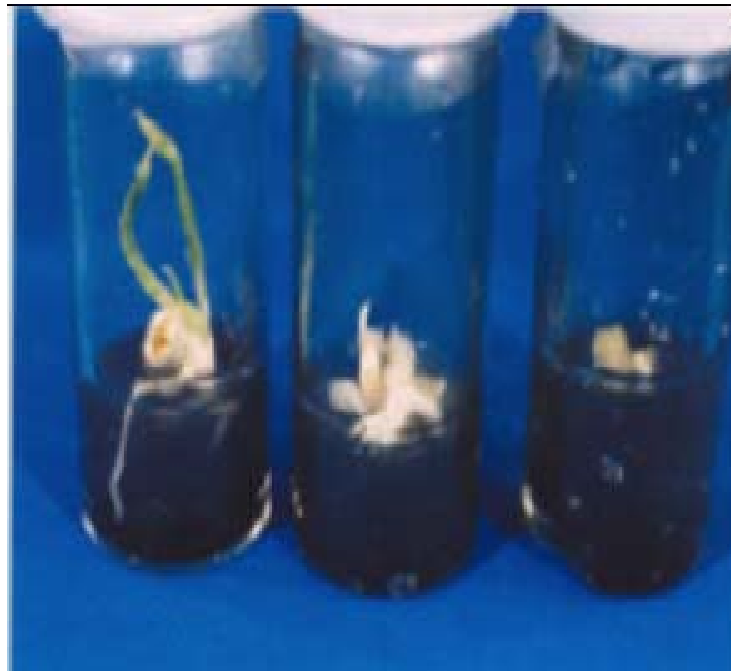


**Τ.Ε.Ι ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ: ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΦΥΤΑΡΙΩΝ ΧΟΥΡΜΑΔΙΑΣ ΜΕ ΙΣΤΙΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ (*IN VITRO CULTUE*) ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΚΑΙ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΤΟΥΣ ΣΕ ΕΛΑΦΟΚΛΙΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ



**ΣΠΟΥΔΑΣΤΗΣ: Κτιστάκης Σπυρίδων
ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: Δρ.Λιονάκης Σπυρίδων**

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2008

| | |
|--|--|
| Περιεχόμενα εικόνων | σελ. 3 |
| Περιεχόμενα πινάκων | σελ. 5 |
| Εισαγωγή | σελ. 6 |
| Πρόλογος | σελ. 7 |
| Κεφάλαιο 1° Καταγωγή και Ιστορία της Χουρμαδιάς | 1.1. Προέλευση και διάδοση της καλλιέργειας της Χουρμαδιάς σελ. 8 1.1.2. Οικονομική σημασία και σπουδαιότητα της Χουρμαδιάς σελ. 8 1.2. Βοτανική Ταξινόμηση σελ. 10 1.3. Μορφολογικά χαρακτηριστικά σελ. 11 1.3.1. Ρίζα σελ. 11 1.3.2. Κορμός σελ. 11 1.3.3. Φύλλα σελ. 11 1.3.4. Οφθαλμοί σελ. 12 1.3.5. Άνθος σελ. 12 1.3.6. Καρπός σελ. 13 2.1. Εγγενής πολλαπλασιασμός σελ. 14 2.2. Πολλαπλασιασμός Χουρμαδιάς με παραφυάδες σελ. 15 2.2.1. Ριζοβολία παραφυάδων σελ. 16 2.3. Περικοπή παραφυάδων σελ. 18 2.4. Αφαίρεση παραφυάδων σελ. 18 2.5. Φύτευση των παραφυάδων σελ. 20 3.1. Βιβλιογραφικές μελέτες και πειράματα που έγιναν στην Χουρμαδιά, με την μέθοδο της <i>in vitro</i> καλλιέργειας σελ. 24 3.1.1. Καλλιέργεια εμβρύων σελ. 24 3.2. Καλλιέργεια μεριστωματικών ιστών Χουρμαδιάς σελ. 26 3.2.1. Καλλιέργεια ακραίων βλαστικών κορυφών Χουρμαδιάς σελ. 26 3.2.2. Καλλιέργεια οφθαλμών σελ. 29 3.3. Καλλιέργεια διαφοροποιημένων σωματικών ιστών Χουρμαδιάς σελ. 30 3.3.1. Καλλιέργεια φύλλων σελ. 30 3.3.2. Καλλιέργεια μίσχων σελ. 30 3.3.3. Καλλιέργεια άνθους σελ. 31 3.3.4. Καλλιέργεια ιστών ρίζας σελ. 31 3.4. Πηγές έκφυτων Χουρμαδιάς για <i>in vitro</i> καλλιέργεια σελ. 31 3.5. Οργανογένεση και αγενή εμβρυογένεση της Χουρμαδιάς σελ. 33 3.6. Θρεπτικό υπόστρωμα για καλλιέργεια <i>in vitro</i> σελ. 36 3.6.1. Σύνθεση θρεπτικού υποστρώματος σελ. 36 3.6.2. Αναφορές και πειράματα που έγιναν για την βασική σύσταση θρεπτικού υποστρώματος, για την Χουρμαδιά σελ. 38 3.6.3. Θρεπτικό υπόστρωμα κατάλληλο για ιστοκαλλιέργεια Χουρμαδιάς (<i>Phoenix dactylifera L.</i>) σελ. 38 3.6.4. Μαύρισμα των φυτικών ιστών και του θρεπτικού Υποστρώματος στις <i>in vitro</i> καλλιέργειες Χουρμαδιάς (<i>Phoenix dactylifera L.</i>) και μέθοδοι απολύμανσης των εκφύτων σελ. 43 3.7. Πρωτόκολλα σελ. 44 3.7.1. Εκβλάστηση εμβρύων Χουρμαδιάς (<i>Phoenix dactylifera L.</i>) σελ. 44 |
| Κεφάλαιο 2° Πολλαπλασιασμός Χουρμαδιάς | |
| Κεφάλαιο 3° Πολλαπλασιασμός Χουρμαδιάς με την μέθοδο της Ιστοκαλλιέργειας | |

| | | |
|---|---|----------------|
| | 3.7.2. Φυτάρια από κάλο εμβρύου Χουρμαδιάς (<i>Phoenix dactylifera L.</i>) | σελ. 45 |
| | 3.7.3. Φυτάρια από βλαστικές κορυφές και κάλο πλευρικών οφθαλμών Χουρμαδιάς (<i>Phoenix dactylifera L.</i>) | σελ. 46 |
| | 3.7.4. Πολλαπλασιασμός Χουρμαδιάς(<i>Phoenix dactylifera L.</i>) μέσω της ριζοβολίας βλαστικών κορυφών | σελ. 47 |
| Κεφάλαιο 4° Εγκλιματισμός και σκληραγώγηση φυταρίων Χουρμαδιάς σε εδαφικές συνθήκες | 4.1. Φυσιολογικό στάδιο των φυταρίων Χουρμαδιάς στις <i>in vitro</i> καλλιέργειες | σελ. 50 |
| | 4.2. Μεταφορά και σκληραγώγηση των φυταρίων Χουρμαδιάς σε εδαφικό μέσο .. | σελ. 51 |
| | 4.3. Μεταφορά και μεταφύτευση των φυταρίων Χουρμαδιάς στο φυτώριο | σελ. 51 |
| Κεφάλαιο 5° | Γενετική σταθερότητα του πολλαπλασιαστικού υλικού Χουρμαδιάς (<i>Phoenix Dactylifera L.</i>) | σελ. 54 |
| Κεφάλαιο 6° | Μελλοντικές δυνατότητες και εμπορικές πτυχές του μικροπολλαπλασιασμού της Χουρμαδιάς | σελ. 55 |
| Κεφάλαιο 7° | Δυνατότητες καλλιέργειας της Χουρμαδιάς στην Κρήτη | σελ. 56 |
| Κεφάλαιο 8° Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις της Χουρμαδιάς | 8.1. Οικολογικοί παράγοντες | σελ. 58 |
| | 8.1.1. Εδαφικές απαιτήσεις | σελ. 58 |
| | 8.1.2. Κλιματικές απαιτήσεις | σελ. 58 |
| Βιβλιογραφία | | σελ. 60 |

Περιεχόμενα εικόνων

| | | |
|--------------------|---|---------|
| Εικόνα 1.1: | Τομή χουρμά | σελ. 13 |
| Εικόνα 2.1: | Καλλιέργεια σπορόφυτων Χουρμαδιάς | σελ. 15 |
| Εικόνα 2.2: | Εφαρμογή σακίων με χόμα, σε επίγειες παραφυάδες με σκοπό την ριζιβολία τους | σελ. 17 |
| Εικόνα 2.3: | Φυλλοταξικό διάγραμμα και επίδραση αριστερής και δεξιάς ελικοειδής διάταξης οφθαλμών | σελ. 18 |
| Εικόνα 2.4: | Διάφοροι τύποι σμιλών που χρησιμοποιούνται για την αφαίρεση παραφυάδων | σελ. 19 |
| Εικόνα 2.5: | Συλλογή παραφυάδων μετά από αφαίρεση από τον μητρικό φοίνικα Χουρμαδιάς και δέσιμο των φύλλων της πάνω από το ακραίο μερίστωμα | σελ. 20 |
| Εικόνα 2.6: | Άνοιγμα λάκκων για φύτευση Χουρμαδιάς | σελ. 20 |
| Εικόνα 2.7: | Προστασία με τύλιγμα με Hessian γύρω από τα φύλλα της Χουρμαδιάς και τοποθέτηση άχυρου στο έδαφος για βελτίωση της υγρασίας του | σελ. 21 |
| Εικόνα 2.8: | Σχηματική παράσταση φύτευσης Χουρμαδιάς..... | σελ. 22 |
| Εικόνα 3.1: | Στάδια ανάπτυξης εμβρύου <i>Phoenix Dactylifera L.</i> σε καλλιέργεια <i>in vitro</i> , σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιέχει 0,3 ενεργό άνθρακα | σελ. 24 |
| Εικόνα 3.2: | Έναρξη της οργανογένεσης, από τμήμα κοτυληδόνας θήκης. Α. Βλαστός (MS + 1 mg/l NAA + 3 mg/l 2-ip). Β. Ρίζα (MS + 10 mg/l NAA + 3 mg/l 2-ip). Γ. Ολοκληρωμένο φυτό (MS + 3 mg/l + 3 mg/l 2-ip). Επώαση στους 28°C, για 2 μήνες | σελ. 25 |
| Εικόνα 3.3: | Σύγκριση μεταξύ αγενώς εμβρύου (δεξιά) με ζυγωτικό έμβρυο (αριστερά), με εμφανές το στάδιο ανάπτυξης της κοτυληδόνας | σελ. 26 |
| Εικόνα 3.4: | A) Καλλιέργεια ακραίων βλαστών, που παρουσιάζουν ανάπτυξη φύλλων σε θρεπτικό υπόστρωμα που συμπληρώθηκε με 0,01 mg/l BAP και σχηματισμός μασχαλιαίων βλαστών. B) σε θρεπτικό υπόστρωμα που εμπλουτίστηκε με 10 mg/l NAA και 3mg/l 2-iP σε (16h/ημέρας στα 1000lx) | σελ. 27 |
| Εικόνα 3.5: | Παραγωγή φυταρίου από βλαστική κορυφή. Τα έκφυτα καλλιεργούνται σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιέχει 0.5 μM NAA και συμβάλλει στην επαγωγή ριζών. Παρατηρείστε τον σχηματισμό των επίκτητων ριζών | σελ. 27 |
| Εικόνα 3.6: | Πολλαπλασιασμός Date palm με καλλιέργεια βλαστικών κορυφών. Από αριστερά προς δεξιά: Βλαστική κορυφή περίπου 2 εβδομάδων που υποβάλλεται σε αύξηση και επαγωγή φύλλων. Καλλιέργεια βλαστικής κορυφής που δίνει πρόσθετους βλαστούς μέσω της ανάπτυξης μασχαλιαίων οφθαλμών. Βλαστός με ρίζες έτοιμος να μεταφερθεί στο έδαφος | σελ. 28 |
| Εικόνα 3.7: | Αγενής εμβρυογένεση και αναγέννηση φυτού από πλευρικό οφθαλμό | σελ. 29 |

- Εικόνα 3.8:** Σύγκριση μεταξύ αγενούς και ζυγωτικής εμβρυογένεσης *in vitro*. Φάσεις ανάπτυξης αγενούς εμβρυογένεσης (αριστερά προς δεξιά, στην πάνω σειρά): Η μάζα του κάλου δίνει αφυλετικό έμβρυο. Το αρχικό αφυλετικό έμβρυο αυξάνει τη κοτυληδόνα του. Περαιτέρω επιμήκυνση της κοτυληδόνας. Βλάστηση της αρχικής ρίζας. Αφυλετικό φυτάριο με τα πρώτα του φύλλα και το αρχικό ριζικό του σύστημα. Φάσεις ανάπτυξης ζυγωτικής εμβρυογένεσης (αριστερά προς δεξιά, στην κάτω σειρά): Το απομονωμένο έμβρυο επιμηκύνει την κοτυληδόνα του. Περαιτέρω επιμήκυνση της κοτυληδόνας. Το ζυγωτικό φυτάριο με 2 φύλλα αλλά μη αναπτυγμένη αρχική ρίζα σελ. 34
- Εικόνα 3.9:** Κάλος που υποκαλλιεργήθηκε σε θρεπτικά υποστρώματα που συμπληρώθηκαν με 54μM/1 NAA, 148μM/1 2ip, 1,5g ενεργού άνθρακα. Από δεξιά προς αριστερά, παρατηρήθηκαν τα ακόλουθα στάδια: α) Υποκαλλιεργημένος κάλος. β) Ανάπτυξη εμβρύων. γ) Ανάπτυξη βλαστού και ρίζας.....σελ. 34
- Εικόνα 3.10:** Στάδια *in vitro* ανάπτυξης του Date palm μέσω της σωματικής εμβρυογένεσης. α) Ανάπτυξη κάλου. β) Εμφάνιση σωματικώνεμβρύων. γ) Εμφάνιση και ανάπτυξη βλαστού. δ) Ανάπτυξη απομονωμένου βλαστού.....σελ. 35
- Εικόνα 3.11:** Στάδια *in vitro* καλλιέργειας Χουρμαδιάς για παραγωγή φυταρίων, μέσω της σωματικής εμβρυογένεσης από την ποικιλία “Mosaiifah”. α)Εκφυτο Χουρμαδιάς. β) Εμβρυογενής κάλος. γ) Εμβρυογένεσης. δ) Πολλαπλασιασμός και βλάστηση εμβρύων. ε) Αύξηση φυταρίου. ζ) Απομονωμένο φυτάριο με αναπτυγμένο ριζικό σύστημα.....σελ. 35
- Εικόνα 3.12:** Εκβλάστηση εμβρύων Χουρμαδιάς σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 45 mM 2.4-D μετά από 24 εβδομάδες από την έναρξη της καλλιέργειας σελ. 45
- Εικόνα 3.13:** Ιδανική αναπαράσταση της παραγωγής αφυλετικών φυταρίων από κάλλο σε Date palm. Από αριστερά προς δεξιά: Μάζα κάλλου που παράγει έμβρυο. Μεγέθυνση εμβρύων και σχηματισμός φύλλων και αρχικών ριζών. Απομονωμένο αφυλετικό έμβρυο. Αφυλετικό φυτάριο έτοιμο να μεταφερθεί σε συνθήκες εδάφους..... σελ. 46
- Εικόνα 4.1:** Μετάλλαξη ανατομίας φύλλου Χουρμαδιάς και πάχυνση της επιδερμίδας του, (αριστερά φυσιολογικό φύλλο, δεξιά αποτέλεσμα μετάλλαξης του φύλλου) σελ. 49
- Εικόνα 4.2:** Επαναφύτευση των φυταρίων Date palm σε ειδικά τροποποιημένο θρεπτικό υπόστρωμα MS για ενίσχυση ριζοβολία και ανάπτυξη βλαστώνσελ. 50
- Εικόνα 4.3:** Κάλυμα των φυταρίων Χουρμαδιάς από διαφανείς πλαστικές κούπες για διατήρηση υψηλής υγρασίαςσελ. 51
- Εικόνα 4.4:** Μεταφορά των φυταρίων Χουρμαδιάς σε μεγαλύτερες γλάστρες 20 εκ. διάμετρο σελ. 52
- Εικόνα 4.5:** Καλλιέργεια φυταρίων Χουρμαδιάς σε μαύρα πλαστικά σακουλάκια, σε φυτάριο με εμφανές το κάλυμα από δίχτυ σελ. 52
- Εικόνα 7.1:** Πειραματική φύτευα Χουρμαδιάς στο Ινστιτούτο Ελιάς και Υποτροπικών φυτών Χανίων σελ. 57

Εικόνα 7.2: Πειραματική φυτεία Χουρμαδιάς στο Ινστιτούτο Ελιάς και Υποτροπικών φυτών Χανίων σελ. 57

Περιεχόμενα πινάκων

| | | |
|---------------------|---|---------|
| Πίνακας 1.1: | Κυριότερες χώρες παραγωγής χουρμάδων | σελ. 9 |
| Πίνακας 1.2: | Διαστάσεις φύλλων και φτερών Χουρμαδιάς | σελ. 12 |
| Πίνακας 2.1: | Σχέση μεταξύ της διαμέτρου και του βάρους της παραφυάδας | σελ. 17 |
| Πίνακας 3.1: | Μορφογενετικά αποτελέσματα από διάφορα έκφυτα Χουρμαδιάς (<i>Phoenix Dactylifera L.</i>) με την μέθοδο της <i>in vitro</i> καλλιέργειας | σελ. 32 |
| Πίνακας 3.2: | Καταγραφή του ποσοστού εμφάνισης των μορφογενετικών σχηματισμών από έκφυτα Χουρμαδιάς (<i>Phoenix Dactylifera L.</i>) | σελ. 36 |
| Πίνακας 3.3: | Θρεπτικά συστατικά υποστρώματος Ms για εμβρυογέννεση και οργανογέννεση Χουρμαδιάς (Date palm) | σελ. 40 |
| Πίνακας 3.4: | Θρεπτικά συστατικά υποστρώματος Ms για καλογέννεση από διαφορετικά έκφυτα Χουρμαδιάς (Date palm) | σελ. 41 |
| Πίνακας 3.5: | Θρεπτικά υποστρώματα Ms για <i>in vitro</i> καλλιέργεια Χουρμαδιάς (Date palm) | σελ. 42 |
| Πίνακας 7.1: | Κλιματικές συνθήκες που επικρατούν στην Κρήτη | σελ. 56 |

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Χουρμαδιά είναι δέντρο των υποτροπικών κλιμάτων, αλλά μπορεί να αναπτυχθεί εξίσου καλά και σε περιοχές με εύκρατο κλίμα. Έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις σε υψηλές θερμοκρασίες, ξηρή ατμόσφαιρα και μεγάλη θερινή περίοδο. Δίνει πολύ καλές αποδόσεις, κάτω από το 33° γεωγραφικό πλάτος. Είναι δέντρο των θερμών, ξηρών (ερημικών) περιοχών, υπό τον όρο ότι θα έχει στη διάθεσή του άφθονο νερό. Χαρακτηριστικά, οι Άραβες λένε ότι η Χουρμαδιά «πρέπει να έχει το κεφάλι της στη φωτιά και τα πόδια της στο νερό», χωρίς αυτό να σημαίνει ότι το νερό αυτό πρέπει να είναι στάσιμο.

Ως προς το έδαφος η Χουρμαδιά μπορεί να αναπτυχθεί σχεδόν σε κάθε έδαφος, εκτός από τα πετρώδη ή βαριά εδάφη. Προτιμά, ωστόσο τα ελαφρά, αμμοαργιλώδη, γόνιμα, βαθιά εδάφη, αρκεί να στραγγίζουν καλά.

Η Χουρμαδιά μπορεί να πολλαπλασιαστεί με 3 τεχνικές που είναι οι ακόλουθες:

α. Με σπόρο, εγγενής πολλαπλασιασμός.

β. Με παραφυάδες, αγενής πολλαπλασιασμός.

γ. Με τεχνικές ιστοκαλλιέργειας.

Η εφαρμογή της ιστοκαλλιέργειας στη Χουρμαδιά, αποκαλούμενη επίσης *in vitro* πολλαπλασιασμός, είναι μία τεχνική πολλά υποσχόμενη λόγω των πολλών πλεονεκτημάτων σε σύγκριση με τις άλλες μεθόδους πολλαπλασιασμού της Χουρμαδιάς. Ο πολλαπλασιασμός της Χουρμαδιάς με καλλιέργεια ιστών, δεν είναι ευρέως γνωστή μέθοδος από την άποψη της δυνατότητας κατανόησης της εφαρμογής της τεχνικής, ως προ την ανάπτυξη και πολλαπλασιασμού των φυταρίων. Επομένως απαιτείται εξειδικευμένο προσωπικό με πείρα και γνώση της εφαρμογής της τεχνικής του μικροπολλαπλασιασμού. Ο όρος “καλλιέργεια” δεν ταυτίζεται με την καλλιέργεια των φυτών σε εδαφικές συνθήκες, αλλά με την αύξηση φυτικών τμημάτων σε τεχνικές συνθήκες, όπου μεγάλη σημασία δίνεται στην αναγέννηση των φυτών σε αυστηρά αποστειρωμένο περιβάλλον.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η περιγραφή του πολλαπλασιασμού της Χουρμαδιάς (*Phoenix dactylifera* L) με την μέθοδο του μικροπολλαπλασιασμού και άλλων μεθόδων καθώς και οι εδαφοκλιματικές απαιτήσεις της.

Θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον καθηγητή μου Δρ. Λιονάκη Σπυρίδων για την υπόδειξη του θέματος, την βοήθεια και για τον χρόνο που αφιέρωσε σε όλες τις φάσεις αυτής της πτυχιακής εργασίας. Επίσης θέλω να ευχαριστήσω και όσους με βοήθησαν για την ολοκλήρωση αυτής της εργασίας, κάθε ένας με τον δικό του τρόπο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1°

Καταγωγή και ιστορία της Χουρμαδιάς

Γενικά.

Η Χουρμαδιά είναι υποτροπικό φυτό όσο αφορά την προέλευση και την καλλιέργεια της. Το ακριβές μέρος καταγωγής της δεν είναι γνωστό, αλλά πιστεύεται ότι η καλλιέργεια Χουρμαδιάς κατάγεται από την Αραβία, όπου βρίσκεται αυτοφυής στην Μεσοποταμία από την 4ή χιλιετηρίδα π.χ. Οι φοίνικες είναι διαδεδομένοι στις τροπικές ζώνες και βρίσκονται σε μικρότερο βαθμό σε ορισμένες υποτροπικές ζώνες, όπως η Χουρμαδιά. Οι φοίνικες επίσης είναι ενδημικοί σε πολλές ηπείρους και η διάδοση τους ποικίλει από τον Ατλαντικό, έως τα νησιά του Ινδικού και Ειρηνικού ωκεανού. Η γεωγραφική κατανομή της Χουρμαδιάς είναι αρκετά μεγάλη στο Βόρειο ημισφαίριο ανάμεσα στο 10° και τον 38° παράλληλο. Στις περιοχές που εντοπίζεται η Χουρμαδιά επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες χωρίς βροχοπτώσεις και χαμηλή υγρασία κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των καρπών.

1.1 Προέλευση και διάδοση της καλλιέργειας της Χουρμαδιάς.

Η καλλιέργεια της Χουρμαδιάς είναι εκτενώς κατανεμημένη σ' όλη τη Βόρεια Αφρική, την Μέση Ανατολή, Κεντρική Αμερική και Νότια Αμερική. Οι Άραβες διάδωσαν την Χουρμαδιά στην Αίγυπτο, στις χώρες της Βόρειας Αφρικής, καθώς και στην Ισπανία, στην περιοχή της Αλικάντης όπου εκείνη την εποχή η περιοχή βρισκόταν σε Αραβική κατοχή. Οι Ισπανοί εξερευνητές εισήγαγαν την Χουρμαδιά στο Μεξικό γύρω από την περιοχή της Sonora και Sinaloa όπου οι φοίνικες ήταν μόνο σπορόφυτα. Στις Η.Π.Α. στην περιοχή της Καλιφόρνιας φυτεύτηκαν σπορόφυτα Χουρμαδιάς από τους Ιεραπόστολους το 1769. Το έτος 1890, το κράτος των Η.Π.Α. πραγματοποίησε πολυάριθμες εισαγωγές και σε άλλα ξηρότερα μέρη της Νότιας Αριζόνας, γύρω από την περιοχή του Φοίνιξ. Ο Paul και Wilson Poronoe το έτος 1912 αγόρασαν 16.000 παραφυάδες από επιλεγμένες ποικιλίες Χουρμαδιάς από Αλγερία, Ανατολική Αραβία και Ιράκ και τις μετέφεραν στην Καλιφόρνια, για να τις παραδώσουν στον πατέρα τους F.O.Poronoe που ήταν ο πρώτος στην ενθάρρυνση της καλλιέργειας Χουρμαδιάς στην Καλιφόρνια των Η.Π.Α. Τον Νοέμβριο του 1899 στάλθηκαν σπορόφυτα Χουρμαδιάς από την Αλγερία στην Τζαμαϊκά.

Επίσης η Χουρμαδιά έχει εισαχθεί στην Αυστραλία, στην Λατινική Αμερική στην Βορειοανατολική Αργεντινή αλλά και στην Βραζιλία, όπου έχει την μεγαλύτερη συγκέντρωση σε είδη φοίνικα (περίπου 1200) όπου οι 600 φοίνικες είναι ενδημικοί.

1.1.2 Οικονομική σημασία και σπουδαιότητα της Χουρμαδιάς.

Οι Χουρμαδιές είχαν οικονομικά και αγροτικά ωφέλη μέσα στην ανθρώπινη ιστορία. Η Χουρμαδιά χαρακτηρίζεται από το γεγονός, πως είναι ένα από τα παλαιότερα δέντρα που καλλιεργήθηκαν, λόγω της ουσιάς τους στην οικονομική και κοινωνική ζωή των κατοίκων των χωρών που την καλλιεργούσαν συστηματικά.

Οι κυριότερες χώρες που παράγουν Χουρμάδες είναι η Αίγυπτος, η Σαουδική Αραβία, το Ιράν, η Αλγερία, το Ιράκ, το Πακιστάν και το Σουδάν. Η συνολική παραγωγή Χουρμάδων

στον κόσμο είναι περίπου 2,4 εκατομμύρια τόνοι, ενώ ο συνολικός αριθμός δέντρων είναι περίπου 100 εκατομμύρια. Υπολογίζεται ότι η απόδοση είναι από 5 έως 50 kg καρπού ανά Χουρμαδιά το έτος, αν και με κατάλληλες καλλιεργητικές φροντίδες, οι αποδόσεις μπορούν να ξεπεράσουν τα 100 kg καρπού ανά Χουρμαδιά. Μεγάλες εξαγωγές Χουρμάδων γίνονται κάθε χρόνο στην Ευρώπη και την Αμερική, ιδίως από τις χώρες της βόρειας Αφρικής και του Περσικού κόλπου. Τα τελευταία χρόνια χρειάζονται για επαναφύτευση γύρω στα 6 εκατομμύρια δέντρα κάθε χρόνο.

Πίνακας 1.1: Κυριότερες χώρες παραγωγής χουρμάδων.

| Χώρα | Παραγωγή (1000 mt) | Χώρα | Παραγωγή (1000 mt) |
|------------|----------------------|---------------|----------------------|
| Αλγερία | 207 | Μπαχέιν | 40 |
| Τσάντ | 30 | Ιράν | 330 |
| Αίγυπτος | 450 | Ιράκ | 115 |
| Λιβύη | 98 | Ομάν | 75 |
| Μαυριτανία | 10 | Πακιστάν | 225 |
| Μαρόκο | 40 | Σαουδ. Αραβία | 450 |
| Νιγηρία | 6 | Τουρκία | 5 |
| Σομαλία | 9 | Υεμένη | 17 |
| Σουδάν | 115 | Ισπανία | 12 |
| Τυνησία | 50 | Η.Π.Α | 20 |
| Ισραήλ | 6 | Η.Α. Εμιράτα | 58 |

Η Χουρμαδιά καλλιεργείται κυρίως για τους καρπούς της, που σε πολλά μέρη αποτελεί την κύρια τροφή των φτωχών πληθυσμών που την καλλιεργούν. Ο καρπός είναι πολύ θρεπτικός, και περιέχει 20 - 25 % νερό, 2 % πρωτεΐνες, 1 - 5 % λιπαρές ουσίες, 1 % άλατα και 70 - 75 % σάκχαρα. Επίσης περιέχει βιταμίνες Α, Β, C και D.

Πολλά μέρη του φυτού μπορούν να χρησιμοποιηθούν απο τον άνθρωπο. Στην Μέση Ανατολή έχουν αναφερθεί περίπου 800 χρήσεις φυτικών μερών, απο το φυτό Χουρμαδιάς.

Οι Χουρμάδες τρώγονται νωποί, ξηροί ή αλευροποιημένοι, μπορούν να γεμιστούν ή ακόμα να χρησιμοποιηθούν με διάφορους τρόπους για παραγωγή άρτου, παγωτού και μπισκότων. Επίσης απ'αυτούς φτιάχνονται διάφορα γλυκίσματα, ένα είδος μέλι, ζύδι καθώς και κρασί (φοινικίτης οίνος).

Το ξύλο της Χουρμαδιάς χρησιμοποιείται στο φτιάξιμο σπιτιών, αντί για δοκάρια στις χώρες όπου καλλιεργείται. Οι ράχες των φύλλων είναι ραβδιά μακριά, εύκαμπτα, που δύσκολα σαπίζουν, γι' αυτό χρησιμοποιούνται για φράκτες επίσης περιέχουν πολύ δυνατές ίνες, κατάλληλες στο φτιάξιμο σχοινιών. Τα φυλλάρια είναι άριστο υλικό για κατασκευή ψαθών και καπέλων.

Η καρδιά της κορυφής της Χουρμαδιάς, δηλ. ο οφθαλμός της κορυφής του δέντρου, που αποτελείται από πολύ μικρά ακόμη, λευκά και τρυφερά φύλλα, που θεωρείται και σήμερα όπως και στην αρχαιότητα, εκλεκτό λαχανικό και τρώγεται ωμή ή μαγειρευμένη κατά διάφορους τρόπους. Για την αφαίρεση αυτής της καρδιάς, χρησιμοποιούνται τα περίσσεια αρσενικά δέντρα, οι γέρικες Χουρμαδιές καθώς και οι παραφυάδες που δεν χρησιμοποιούνται για τον πολλαπλασιασμό του δέντρου.

Η Χουρμαδιά χρησιμοποιείται ακόμα και για ιατρικές χρήσης, υπό την μορφή εγχύματος, σε εντερικά προβλήματα, για ανακούφιση από πυρετό και προβλήματα στο συκώτι.

Για την Ελλάδα η Χουρμαδιά δεν παρουσιάζει οικονομικό ενδιαφέρον, επειδή δεν καλλιεργείται προς το παρόν εμπορικά. Καλλιεργείται μόνο ως καλλωπιστικό δέντρο σε κήπους και πάρκα.

1.2 Βοτανική Ταξινόμηση

| | |
|-------------------|---|
| Τάξη | : <i>Palmales</i> |
| Οικογένεια | : <i>Palmae</i> ή <i>Palmaceae</i> (<i>Arecaceae</i>) |
| Γένος | : <i>Phoenix</i> |
| Είδος | : <i>Dactylifera</i> L. |

Το επιστημονικό ή βοτανικό όνομα της Χουρμαδιάς είναι *Phoenix* ή *Palma Dactylifera* L. δηλ. φοίνιξ ο Δακτυλοδόρος. Η Χουρμαδιά είναι ένα πολυετές μονοκοτυλήδονο φυτό και ζει περίπου 200 χρόνια. Είναι φυτό δίοικο ($2n = 36$) και ένα από τα πιο σημαντικά μέλη της οικογενείας *Palmaceae* ή *Aracaceae*. Στο γένος *Phoenix* υπάρχουν άλλα 16 είδη, μερικά από τα οποία χρησιμοποιούνται για διακοσμητικούς σκοπούς, ως καλλωπιστικά δέντρα, όπως είναι τα εξής :

- *P. Sylvestris*, *P. Spinososa*, *P. Acaulis*, *P. Farinifera*, *P. Paludosa*, *P. Rupicola* και *P. Canariensis*. Όλα τα προαναφερθέντα είδη είναι καλλωπιστικά.

Η Χουρμαδιά όπως και όλα τα είδη *Phoenix* είναι δίοικο με αρσενικά και θηλυκά άνθη να παράγονται σε διαφορετικούς φοίνικες, στις μασχάλες των φύλλων του προηγούμενου χρόνου.

Η οικογένεια *Palmae* είναι πολύ παλιά και αποτελείται από δασώδης φοίνικες που χρονολογούνται 120 εκατομμύρια χρόνια, μετά από μελέτη απολιθωμάτων. Οι περισσότερες πηγές αναζητούν την προέλευση των φοινικόδεντρων στους πρόγονους *Liliales*, αλλά δεν υπάρχουν φυτά τα οποία να τα συνδέουν με άλλες οικογένειες μονοκοτυλήδονων. Αυτοί οι πρόγονοι πρέπει να έχουν εξαφανιστεί.

Σ' αυτή την οικογένεια υπάρχουν περίπου 225 γένη και πάνω από 2.600 είδη κυρίως τροπικών και υποτροπικών φυτών που εκτείνονται σε ζεστές περιοχές, με το μεγαλύτερο αριθμό ειδών στην Μαλαισία και στην περιοχή του Αμαζονίου, ενώ είναι φτωχά εκπροσωπημένη στην Αφρική. Τα φυτά αυτής της οικογένειας διαμορφώνουν χαρακτηριστική φυσιογνωμία τροπικής βλάστησης και έχουν βρεθεί σε όλα τα περιβάλλοντα, όπως δάση, αλατούχες πηγές, βάλτους γλυκού νερού, σαβάνες, έρημους και βουνά.

Τυπικοί φοίνικες έχουν κορυφή από πτεροειδή ή παλαμοειδή φύλλα, στο τέλος ενός αδιακλάδιστου κορμού. Οι ρίζες τους είναι επίκτητες και δεν έχουν κάμβιο. Στην κορυφή υπάρχει ένα απλό ακραίο μερίστωμα προφυλαγμένο από το αναπτυσσόμενο φύλλο. Ο κορμός είναι κυλινδρικός με μικρά μεσογονάτια διαστήματα. Στη βάση του κορμού, των φοινικόδεντρων, παράγονται ένα-ένα ή σε συστάδα βλαστοί, λείοι ή αγκαθωτοί, οι οποίοι χρησιμοποιούνται στον πολλαπλασιασμό των ειδών.

1.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά

1.3.1. Ρίζα

Η Χουρμαδιά πολλαπλασιάζεται κυρίως με αγενή πολλαπλασιασμό αν και μπορεί να πολλαπλασιαστεί και εγγενώς αλλά δεν χρησιμοποιείται στην πράξη. Η εμβρυόριζα νεκρώνεται μετά από 1-2 χρόνια και αποκτάται επίκτητο ριζικό σύστημα, από το οποίο απουσιάζει το κάμβιο. Οι Χουρμαδιές που πολλαπλασιάζονται αγενώς, με την τεχνική των παραφυάδων, έχουν επιπόλαιο ριζικό σύστημα.

Οι Χουρμαδιές μπορούν να επιζήσουν και σε υγρά, κακώς αεριζόμενα εδάφη λόγω της δομής της ρίζας, που την κάνει ικανή να μεταφέρει αέρα από τον λαιμό του δέντρου προς τα απορροφητικά τριχίδια.

Το ριζικό σύστημα της Χουρμαδιάς σε υγρά εδάφη είναι επιφανειακό, ενώ σε εδάφη αμμώδη και ξηρά το ριζικό σύστημα μπορεί να φτάσει σε 6-7 m βάθος.

Κατά την διάρκεια της ζωής της Χουρμαδιάς πολλές ρίζες αναπτύσσονται από την βάση του κορμού. Είναι περίπου 1cm η διάμετρος τους και έχουν πολλές διακλαδώσεις, με αποτέλεσμα να διαμορφώνουν μία ινώδη στρώση, ικανή να εμποδίσει το στράγγισμα του εδάφους.

Οι ρίζες έχουν σκληρή, συνεχή επιδερμίδα και ένα κεντρικό αγωγό ιστό, ενώ ανάμεσα τους υπάρχει παρεγχυματικός ιστός.

1.3.2. Κορμός

Ο κορμός της Χουρμαδιάς είναι κυλινδρικός, ίσιος που σπάνια διακλαδίζεται και φτάνει σε ύψος 50m.

Έχει μικρά μεσογονάτια διαστήματα και η βάση των φύλλων είναι προσκολλημένη στον κορμό. Στην κορυφή του κορμού υπάρχουν 100-200 φύλλα και το ακραίο μερίστωμα. Το ακραίο μερίστωμα είναι απλό και προφυλαγμένο από το αναπτυσσόμενο φύλλο, που δεν έχει κάμβιο. Η κορυφή είναι σχηματισμένη μόλις το μερίστωμα φτάσει την τελική του διάμετρο, μετά την οποία δεν υπάρχει καμία αύξηση στους ιστούς της στήλης του κορμού, ούτε και στον αριθμό των αγγειακών δεσμίδων του κορμού. Η ετήσια αύξηση του δέντρου μπορεί να φτάσει τα 50cm.

1.3.3. Φύλλα

Τα φύλλα της Χουρμαδιάς είναι σύνθετα, πτεροειδή, δηλαδή ο άξονας του φύλλου επιμηκύνεται με διαστήματα πτυχών κατά μήκος. Με μεγάλη ξυλώδη ράχη μήκος 5-6m που κάμπτεται τοξωτά προς τα έξω και κάτω, με διάρκεια ζωής 3 έως 7 χρόνια. Η βάση του φύλλου είναι έντονα προσκολλημένη στον κορμό. Στις περιοχές όπου καλλιεργείται παράγονται περίπου 30 νέα φύλλα το χρόνο, με 2 ή 3 φύλλα σε κάθε σπονδύλωμα.

Τα φύλλα ξεδιπλώνονται ένα κάθε φορά από το ακραίο μερίστωμα, προς τη βάση και ανοίγουν από την κορυφή με προφυλαγμένη τη βάση των φύλλων. Ένα φύλλο πέφτει, όσο ένα νέο φύλλο ανοίγει, έτσι διατηρείται μια αδιάκοπη περιοχή για διαφυγή υγρασίας.

Τα φυλλάρια (φτερά) είναι γαλαζοπράσινα έχουν σχήμα κοίλο, και είναι διπλά σε τομή και το μήκος τους είναι 20-40 cm. Τα άκρα των φυλλαρίων είναι τροποποιημένα σε εύρωστα αγκάθια.

Πίνακας 1.2: Διαστάσεις φύλλων και φτερών Χουρμαδιάς.

| Ποσοτικά στοιχεία | Φύλλα (m) | Φτερά (cm) |
|--------------------------|------------------|-------------------|
| Πολύ κοντά | < 3 | < 25 |
| Κοντά | 3 – 35 | 25 – 30 |
| Αρκετά κοντά | --- | 30 – 40 |
| Αρκετά μακριά | 3,5 – 4 | 40 – 50 |
| Μακριά | 4 – 4,5 | 50 – 60 |
| Πολύ μακριά | > 4,5 | > 60 |
| Λεπτά | --- | > 2 |
| Λίγο πλατιά | --- | 2 – 2,5 |
| Αρκετά πλατιά | --- | 2,5 – 3 |
| Πλατιά | --- | 3 – 3,5 |
| Πολύ πλατιά | --- | > 3,5 |

1.3.4. Οφθαλμοί

Οι οφθαλμοί της Χουρμαδιάς σχηματίζονται στις μασχάλες των φύλλων και υπάρχουν τέσσερις διαφορετικοί τύποι οφθαλμών.

α. Βλαστικοί οφθαλμοί, οι οποίοι αναπτύσσονται σε παραφυάδες.

β. Ανθοφόροι γόνιμοι οφθαλμοί.

γ. Ανθοφόροι άγονοι οφθαλμοί.

δ. Μικτοί οφθαλμοί, με τα χαρακτηριστικά των δύο πρώτων κατηγοριών.

Οι ανθοφόροι οφθαλμοί είναι πιο άφθονοι από τους βλαστοφόρους. Γενικά μία Χουρμαδιά παράγει 75% ανθοφόρους οφθαλμούς, οι περισσότεροι των οποίων είναι άγονοι και 24% βλαστοφόρους οφθαλμούς, ενώ οι μικτοί οφθαλμοί είναι σπάνιοι, κάτω από 1% στις περισσότερες ποικιλίες.

Αντίθετα προς τις αρχικές υποθέσεις, οι Χουρμαδιές δεν παράγουν μόνο βλαστοφόρους οφθαλμούς κατά την διάρκεια της νεανικής τους περιόδου, αλλά και τα δύο είδη οφθαλμών και η κατανομή τους είναι τυχαία. Δεν υπάρχει σαφής διαχωρισμός στον σχηματισμό των βλαστοφόρων οφθαλμών, κάποιος από αυτούς θα μπορούσε να διαφοροποιηθεί και να γίνει ανθοφόρος οφθαλμός.

1.3.5 Άνθος

Στην Χουρμαδιά τα άνθη είναι χωριστά τα θηλυκά και χωριστά τα αρσενικά (φυτό δίκλινο), και βρίσκονται πάνω σε διαφορετικά δέντρα Χουρμαδιάς (φυτό δίοικο). Η ταξιανθία είναι ένας διακλαδισμένος σπάδικας, που περιβάλλεται από σκληρό περίβλημα (σπάδη), το οποίο σχίζεται όταν τα άνθη ωριμάσουν και πρέπει να γίνει η γονιμοποίηση. Μετά την γονιμοποίηση γίνεται σαν πέτσινη στη ραφή και ξυλοποιείται. Τα άνθη αναπτύσσονται πάνω στις διακλαδώσεις του σπάδικα. Οι ταξιανθίες είναι μασχαλιαίες και εμφανίζονται στις μασχάλες φύλλων προηγούμενης χρονιάς.

Η αρσενική ταξιανθία έχει 100-150 διακλαδώσεις, με άνθη χρώματος ανοικτού κίτρινου, μήκους 8mm, το καθένα από τα οποία έχει 6 στήμονες. Τα άνθη φέρονται πολλά μαζί.

Η θηλυκή ταξιανθία έχει 10-100 διακλαδώσεις που κρατούνται από ένα κεντρικό άξονα ο οποίος επιμηκύνεται καθώς ο καρπός μεγαλώνει. Τα άνθη είναι μικρά και είναι διαχωρισμένα σε ομάδες που αποτελούνται από 1 έως 3 άνθη. Το άνθος αποτελείται από τρία σέπαλα και

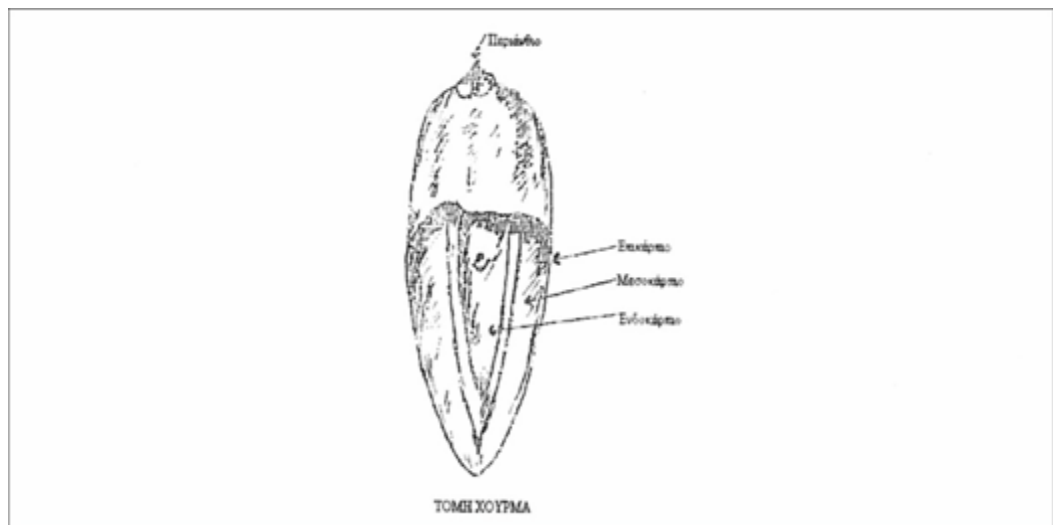
τρία πέταλα και έχει υπερυψωμένη ωθήκη και τρία καρπόφυλλα. Η δεκτικότητα του στίγματος διαρκεί 10-15 ημέρες. Από τα τρία καρπόφυλλα μόνο το ένα αναπτύσσεται μετά την επικονίαση και τα υπόλοιπα δύο εκφυλίζονται. Αγονιμοποίητα άνθη συχνά αναπτύσσονται σε μία ομάδα από τρεις άσπορους καρπούς, οι οποίοι δεν έχουν κουκούτσι ή έχουν και είναι ατελές, αλλά αυτοί δεν αναπτύσσονται μετά το στάδιο κατά το οποίο είναι σκληροί, γυαλιστεροί χρώματος κίτρινου ή κόκκινου.

1.3.6. Καρπός

Ο καρπός της Χουρμαδιάς (χουρμάς) είναι δρύπη και έχει σχήμα ελλειψοειδές αλλά υπάρχουν και ποικιλίες με σφαιρικό καρπό. Ο καρπός αποτελείται από:

- το επικάρπιο
- το μεσοκάρπιο ή σάρκα
- το ενδοκάρπιο

Το επικάρπιο αποτελείται από ένα λεπτό στρώμα επιφανειακών κυττάρων. Το μεσοκάρπιο αποτελείται από παρεγχυματικά κύτταρα και περιέχει πάνω από 40% σάκχαρα και 40% νερό, όταν ο καρπός είναι ώριμος και στην συνέχεια χάνει πάνω από το 20% του νερού. Το ενδοκάρπιο αποτελείται από το ξυλώδες, περίβλημα και το σπέρμα, είναι μήκους περίπου 2,5cm και έχει βαθιές αυλακιές. Το ενδοκάρπιο είναι μυτερό και μέσα σ'αυτό οι αποθηκευμένες ουσίες για το αναπτυσσόμενο έμβρυο δεν είναι σε μορφή αμύλου αλλά κυτταρίνης.



Εικόνα 1.1 : Τομή χουρμά.

Οι χουρμάδες είναι ενωμένοι από το περιάνθιο τους άμεσα με το μίσχο, ενώ η βάση του χουρμά ενώνεται άμεσα με το περιάνθιο. Οι χουρμάδες χρειάζονται για να ωριμάσουν σε κανονικές συνθήκες 6 περίπου μήνες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2°

Πολλαπλασιασμός Χουρμαδιάς

Η Χουρμαδιά μπορεί να πολλαπλασιαστεί με 3 τεχνικές που είναι οι ακόλουθες :

- α. Με σπόρο**, εγγενής πολλαπλασιασμός
- β. Με παραφυάδες**, αγενής πολλαπλασιασμός (παραδοσιακή τεχνική)
- γ. Με τεχνικές ιστοκαλλιέργειας.**

2.1 Εγγενής πολλαπλασιασμός.

Ο πολλαπλασιασμός της Χουρμαδιάς με σπόρο χρησιμοποιούνταν στο παρελθόν. Σήμερα, λόγω της ποικιλομορφίας που έχουν τα σπορόφυτα της Χουρμαδιάς, ο πολλαπλασιασμός με σπόρο χρησιμοποιείται για διάφορους σκοπούς όπως: για βελτίωση και παραγωγή ομόζυγων υβριδίων, για παραγωγή γύρης από τα αρσενικά φυτά, και για παραγωγή ανθεκτικών ποικιλιών π.χ σε ασθένειες.

Πολλοί άνθρωποι δεν θέλουν να καλλιεργούν την Χουρμαδιά για εμπορικό σκοπό, αλλά θέλουν την ανάπτυξη σπορόφυτων Χουρμαδιάς για διακόσμηση σαν καλλωπιστικό δέντρο ή χρησιμοποίηση για ανεμοφράκτη.

Οι καλλιεργητές που θέλουν να πολλαπλασιάσουν την Χουρμαδιά με σπόρο, μια αρχική μέθοδος είναι με τα ρηγά γλαστράκια ή κιβώτια, ή ακόμα με τα μαύρα πλαστικά σακούλακια. Πρώτα γίνεται απόρριψη των μικρών σπόρων και στην συνέχεια οι σπόροι που επιλέγονται για φύτευση καθαρίζονται και ενυδατώνονται με νερό για μία εβδομάδα. Έπειτα φυτεύονται στις πλαστικές σακούλες ή στα ρηγά γλαστράκια σε 2-5cm βάθος, με την βλάστηση να διαρκεί μερικές εβδομάδες και στην συνέχεια ακολουθεί η μεταφύτευση τους στο έδαφος.

Η απευθείας φύτευση του σπόρου στο έδαφος γίνεται με άνοιγμα τρύπας στο έδαφος με σκουπόξυλο ή με τα δάχτυλα και τοποθέτηση του σπόρου μέσα στην τρύπα, που καλύπτουμε στην συνέχεια με χώμα. Το χώμα πρέπει να κρατιέται σε υγρή κατάσταση και στις δύο περιπτώσεις.

Οι σπόροι μπορούν να φυτευτούν στην άμμο ή σε οποιοδήποτε συνηθισμένο χώμα, επιτυχώς από Σεπτέμβριο μέχρι Μάρτιο (εικόνα 2.1). Οι Χουρμαδιές που έχουν πολλαπλασιαστεί με σπόρο ονομάζονται Khalt Χουρμαδιές.

Στις περιοχές που παρουσιάζουν μεγάλη παραγωγή φυτών Χουρμαδιάς, οι Χουρμαδιές δεν προέρχονται από σπόρο. Οι λόγοι που είναι υπέρ της αποθάρρυνσης του πολλαπλασιασμού με σπόρο είναι οι ακόλουθοι:

- Η Χουρμαδιά είναι δίοικο δέντρο, συνεπώς οι μισοί από τους απογόνους θα είναι θηλυκοί και οι άλλοι μισοί απόγονοι αρσενικοί. Επομένως δεν είναι απαραίτητο τα αρσενικά φυτά να χρησιμοποιούνται σε πολλές διασταυρώσεις, αφού ένα αρσενικό είναι αρκετό να παράγει γύρη, για γονιμοποίηση 50 θηλυκών. Είναι δύσκολο σε νεαρή ηλικία να καθοριστεί το φύλο των απογόνων σε αρσενικά ή θηλυκά φυτά, για το λόγο αυτό όλοι οι απόγονοι πρέπει να διατηρηθούν ως την άνθηση, περίπου 6-7 έτη αργότερα, άρα μια χρονοβόρα μέθοδος με μεγάλο οικονομικό κόστος.
- Η Χουρμαδιά είναι ετεροζύγωτο δέντρο, άρα θα υπάρχει μεγάλη παραλλακτικότητα στους απογόνους και τα επιθυμητά χαρακτηριστικά του φοίνικα γονέα μπορούν να χαθούν, με αποτέλεσμα κανένα από τα σπορόφυτα δεν θα είναι όμοιο με το μητρικό φυτό.

- Οι θηλυκές Χουρμαδιές που προέρχονται από σπορόφυτα, παράγουν συνήθως καρπούς που έχουν όψιμη ωρίμανση και γενικά είναι κατώτερης ποιότητας από τους καθιερωμένους κλωνικούς φοίνικες, με αποτέλεσμα να τους καθιστά μη διαθέσιμους εμπορικά.
- Ο πολλαπλασιασμός με σπόρο δεν χρησιμοποιείται για παραγωγή κλώνων ποικιλιών, διότι οι σταυρογονιμοποιήσεις της Χουρμαδιάς πάντα καταλήγουν σε άγνωστες ποικιλίες.



Εικόνα 2.1: Καλλιέργεια σπορόφυτων Χουρμαδιάς. (Zaid A., 1990)

2.2. Πολλαπλασιασμός Χουρμαδιάς με παραφυάδες.

Τα τελευταία χρόνια, στις περιοχές με αυξημένη παραγωγή φυτών Χουρμαδιάς χρησιμοποιείται ευρύτερα στην πράξη ο πολλαπλασιασμός με παραφυάδες. Οι παραφυάδες είναι βλαστοί, που παράγονται από μασχαλιαίους οφθαλμούς που βρίσκονται στον κορμό του δέντρου.

Σε σύγκριση με την τεχνητή πολλαπλασιασμού με σπόρο, οι παραφυάδες προσφέρουν τα ακόλουθα πλεονεκτήματα.

- Τα φυτά που θα παραχθούν, θα είναι πανομοιότυπα με το μητρικό φοίνικα.
- Οι καρποί της παραφυάδας θα είναι της ίδιας ποιότητας και ομοιομορφίας με το μητρικό φοίνικα.
- Η παραφυάδα δίνει καρπούς σε 3 έως 4 έτη.

Ο πολλαπλασιασμός της Χουρμαδιάς με παραφυάδες παρουσιάζει διάφορα προβλήματα, που συνδέονται με την διαθεσιμότητα των παραφυάδων που παράγονται από κάθε μητρικό δέντρο Χουρμαδιάς, διότι ο αριθμός αυτός είναι πολύ μικρός, ακανόνιστος και δεν μπορεί να ελεγχθεί επιτυχώς, επιπλέον το ποσοστό των παραφυάδων που αντικαθίστανται επιτυχώς στο χώμα είναι ιδιαίτερα μεταβλητό (30 - 80%), (Porpenoe, 1973; Al-Khayri *et al*, 2001; Veramendi *et al*, 1996). Η μητρική Χουρμαδιά μπορεί να δώσει 20-30 παραφυάδες στην πρώτη ζωή της, μεταξύ 10-18 ετών, ανάλογα με την ποικιλία και την άρδευση. Η παραφυάδα πρέπει να παραμείνει συνδεδεμένη με το μητρική Χουρμαδιά το πολύ για 23 έτη έως ότου αναπτύξει ένα επαρκές ριζικό σύστημα (Bajaj, 1992). Κατά την διάρκεια της νεαρής ηλικίας της, αφήνουμε της παραφυάδες που βρίσκονται στο δέντρο για ένα διάστημα 4-5 ετών, μέχρι να αποκτήσουν το δικό τους ριζικό σύστημα.

Υπάρχουν ορισμένες εποχές του έτους για αφαίρεση των παραφυάδων και μεταφύτευση τους, στο φυτώριο για ριζοβολία. Είναι όταν αρχίζει να θερμαίνεται το έδαφος, δηλαδή προς το τέλος Άνοιξης και αρχές καλοκαιριού.

Στο νότιο ημισφαίριο (Σεπτέμβριος / Οκτώβριος) ενώ στο βόρειο (Μάρτιος / Απρίλιος) ή

Στο νότιο ημισφαίριο (Φεβρουάριος / Μάρτιος) ενώ στο βόρειο (Σεπτέμβριος / Οκτώβριος).

2.2.1. Ριζοβολία παραφυάδων

Σε ένα φυτό Χουρμαδιάς εμφανίζονται δύο τύποι παραφυάδων:

α). Οι υπόγειες παραφυάδες.

β). Οι επίγειες παραφυάδες, που αναπτύσσονται πάνω από την επιφάνεια του εδάφους, στον κορμό της Χουρμαδιάς.

Λόγω της υγρασίας του εδάφους θεωρείται ότι οι υπόγειες παραφυάδες είναι πιο μεγάλες σε μέγεθος και φυσιολογικά πιο ενεργές από τις επίγειες παραφυάδες και πιθανόν να αυξάνονται γρηγορότερα, διότι (τα παραγόμενα φύλλα αυξάνονται ανάλογα με την ηλικία.). Οι επίγειες παραφυάδες έχουν τους λιγότερους υδατάνθρακες, επειδή (δεν βρίσκονται σε άμεση επαφή με το έδαφος) από τις υπόγειες, με συνέπεια την χαμηλή παραγωγή ριζών, που έχει σαν αποτέλεσμα το χαμηλό ποσοστό επιβίωσης.

Σε περιοχές με υγρό κλίμα και σε μερικές ποικιλίες είναι πιθανόν να εμφανιστούν οι παραφυάδες πάνω από την επιφάνεια του εδάφους, στον κορμό της Χουρμαδιάς. Αν θέλουμε να καλλιεργήσουμε μία επίγεια παραφυάδα για μεταφύτευση, τότε πρέπει η βάση της παραφυάδας να έρθει σε επαφή με υγρό χώμα, τουλάχιστον δώδεκα μήνες πριν από την αφαίρεση. Μια τεχνική που εφαρμόζεται είναι με διάφορες πλαστικές τσάντες ή σακιά, που στερεώνονται γύρω από την βάση της παραφυάδας. (εικόνα 2.2). Μία άλλη τεχνική είναι να αφεθούν στη μητρική Χουρμαδιά, μέχρι να ριζοβολίσουν.

Σε πολλά μέρη του κόσμου έχει καθιερωθεί η φύτευση να γίνεται σε τρύπες ή λάκκους με μεγάλο βάθος 50-70cm για να αρχίσουν να αναπτύσσονται υπόγεια οι παραφυάδες, στο μητρικό φοίνικα.

Μια παραφυάδα για να ριζοβολήσει εξαρτάται από διάφορους παράγοντες:

- Το μέγεθος της παραφυάδας, (που εκφράζεται συχνά σε βάρος).
- Τον τύπο (υπόγεια ή επίγεια παραφυάδα).
- Προέλευση της παραφυάδας.
- Το ποσοστό της υγρασίας του περιβάλλοντος που αναπτύσσεται (υπόγεια ή επίγεια).
- Μέθοδοι αφαίρεσης και προετοιμασίας για μεταφύτευση.
- Καλλιεργητικές φροντίδες της παραφυάδας μετά την μεταφύτευση.

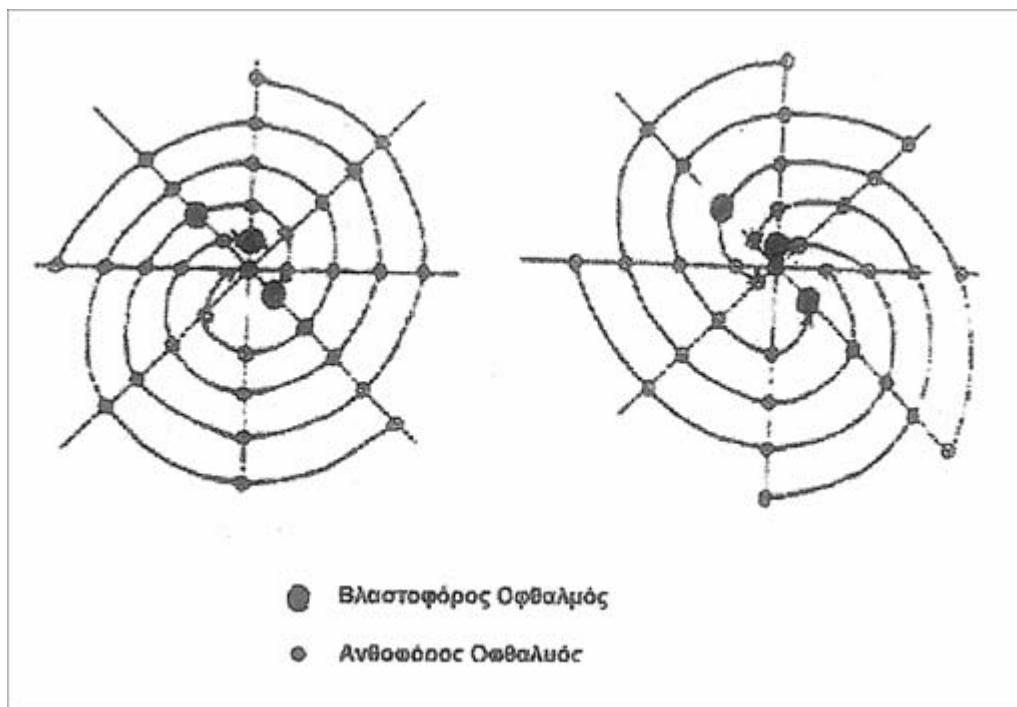


Εικόνα 2.2: Τοποθέτηση σακίων με χώμα, σε επίγειες παραφυάδες με σκοπό την ριζιβολία τους. (Zaid A., 1990).

Πίνακας 2.1: Σχέση μεταξύ της διαμέτρου και του βάρους της παραφυάδας.

| Διάμετρος βάσης (cm) | Βάρος παραφυάδας |
|----------------------|------------------|
| 12-15 cm | 4-8 kg |
| 15-20 cm | 8-15 kg |
| 25-35 cm | 22-35 kg |

Το φύλλωμα της Χουρμαδιάς έχει δεξιό ή αριστερό ελικοειδές προσανατολισμό, που δεν ελέγχεται από γενετικούς παράγοντες. Μετά από πειράματα που έγιναν στην Καλιφόρνια, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι Χουρμαδιές με αριστερή ελικοειδή διάταξη φύλλων παράγουν περισσότερους καρπούς από αυτές με δεξιά ελικοειδή διάταξη. Γι' αυτό το λόγο όταν γίνεται η επιλογή των βλαστών που θα γίνουν παραφυάδες, επιλέγονται οι βλαστοί εκείνοι οι οποίοι έχουν αριστερή ελικοειδή προσανατολισμό.



Εικόνα 2.3 : Φυλλοταξικό διάγραμμα και επίδραση αριστερής και δεξιάς ελικοειδούς διάταξης οφθαλμών.

2.3 Περικοπή παραφυάδων.

Όταν στόχος είναι η παραγωγή παραφυάδων, κανένα πράσινο φύλλο δεν πρέπει να αφαιρεθεί από μία παραφυάδα μέχρι να κοπεί ή να αφαιρεθεί, η παραφυάδα από τον μητρικό φοίνικα. Δεδομένο ότι η αύξηση μιας παραφυάδας είναι ανάλογη με τον αριθμό των φύλλων της. Επομένως οι μεγαλύτερες παραφυάδες που επιλέγονται για την κοπή του επόμενου έτους, διατηρούνται όλα τα φύλλα τους, μέχρι να αφαιρεθούν οι παραφυάδες από το μητρικό δέντρο.

Πάνω στο φυτό Χουρμαδιά αφήνονται οι μεγαλύτερες σε μέγεθος παραφυάδες, 4 έως 6 σε αριθμό αυτές δηλαδή που έχουν αναπτύξει ρίζες και φύλλα. Αφαιρούνται όλες οι μικρές σε μέγεθος παραφυάδες αν δεν χρησιμοποιηθούν στο μέλλον ή αφήνονται πάνω στην μητρική Χουρμαδιά και μειώνεται ο αριθμός των φύλλων τους που βρίσκονται κοντά στον οφθαλμό, για καθυστέρηση της αύξησής τους.

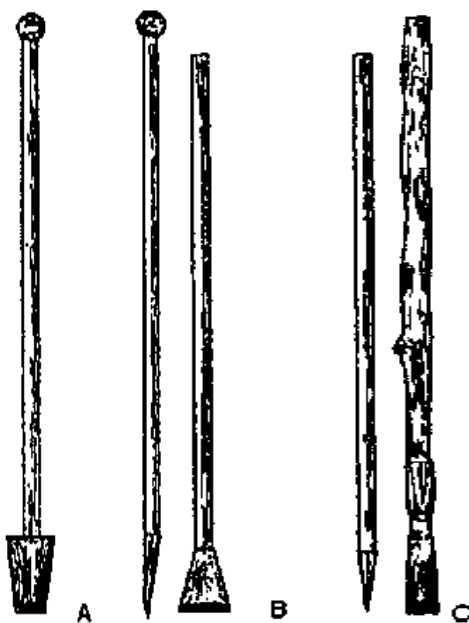
2.4 Αφαίρεση παραφυάδων.

Μετά από 3-5 έτη σύνδεσης της παραφυάδας με το μητρικό φοίνικα, ανάλογα με την ποικιλία, οι παραφυάδες θα έχουν ωριμάσει και διαμορφώσει τις ρίζες τους, που τότε αρχίζει μια δεύτερη γενεά παραφυάδων. Μόνο σε αυτή τη φάση είναι προβλεπόμενο να αφαιρεθούν.

Για την αφαίρεση των παραφυάδων από την μητρική Χουρμαδιά απαιτούνται μεγάλη προσοχή, ικανότητα και εμπειρία συνήθως από δύο έμπειρους εργάτες.

Η λειτουργία αφαίρεσης αρχίζει με την άρδευση της παραφυάδας αρκετές ημέρες πριν την κοπή. Το έδαφος σκάβεται με ένα φτυάρι σε σημείο που θα διακρίνονται οι ρίζες της παραφυάδας και εκτίθενται από κάθε πλευρά. Μεγάλη προσοχή δίνεται στο σημείο αυτό, διότι το μεγαλύτερο μέρος του ριζικού συστήματος της παραφυάδας, είναι ευαίσθητο στους τραυματισμούς, επομένως μεγάλος αριθμός παραφυάδων να καταστραφεί αν μεταφυτευθεί

στο φυτώριο με γυμνό ή τραυματισμένο ριζικό σύστημα. Μία ειδικά σχεδιασμένη σμίλη συστήνεται για την κοπή των παραφυάδων (εικόνα 2.4).



A. Αμερικάνικος τύπος. B. Κανονικός. C. Παραδοσιακός τύπος.

Εικόνα 2.4: Διάφοροι τύποι σμιλών που χρησιμοποιούνται για την αφαίρεση παραφυάδων (Munier P., 1973)

Για να διευκολυνθεί ο χειρισμός κοπής πρέπει να αφαιρεθούν μερικά από τα χαμηλότερα εξωτερικά φύλλα και όχι όλα, αφήνοντας έξω τα τρυφερά εσωτερικά φύλλα. Η σμίλη τοποθετείται στο σημείο ένωσης της παραφυάδας με τον μητρικό φυτό Χουρμαδιάς και με χειρισμό της σμίλης πάνω-κάτω η παραφυάδα αποσπάται από τον μητρικό φοίνικα. Η ζημιά πρέπει να αποφευχθεί επομένως, η τρυφερή καρδιά της παραφυάδας δεν πρέπει να τραυματιστεί και η τέμνουσα λειτουργία κοπής, πρέπει να είναι μόνο από την μία πλευρά για να έχουμε μία ομαλή επιφάνεια κοπής της παραφυάδας. Αποφεύγουμε το τράβηγμα της παραφυάδας προς τα κάτω προκειμένου να αποκοπεί από τον μητρικό φυτό Χουρμαδιάς.

Μετά την ολοκλήρωση της αφαίρεσης της παραφυάδας αφαιρούνται τα χαμηλότερα φύλλα και διατηρούνται 10-12 φύλλα γύρω από το κορυφαίο μερίστωμα (οφθαλμό) και συνδέονται κοντά 6-8cm και πάνω από το κορυφαίο μερίστωμα με ένα σπάγκο ή ταινία (εικόνα 2.5). Είναι σκόπιμο να καλυφθούν οι επιφάνειες κοπής με ένα σκεύασμα θειϊκού χαλκού ή μυκητοκτόνου για να αποφευχθεί η μόλυνση από *Diplodia* και άλλα παράσιτα.

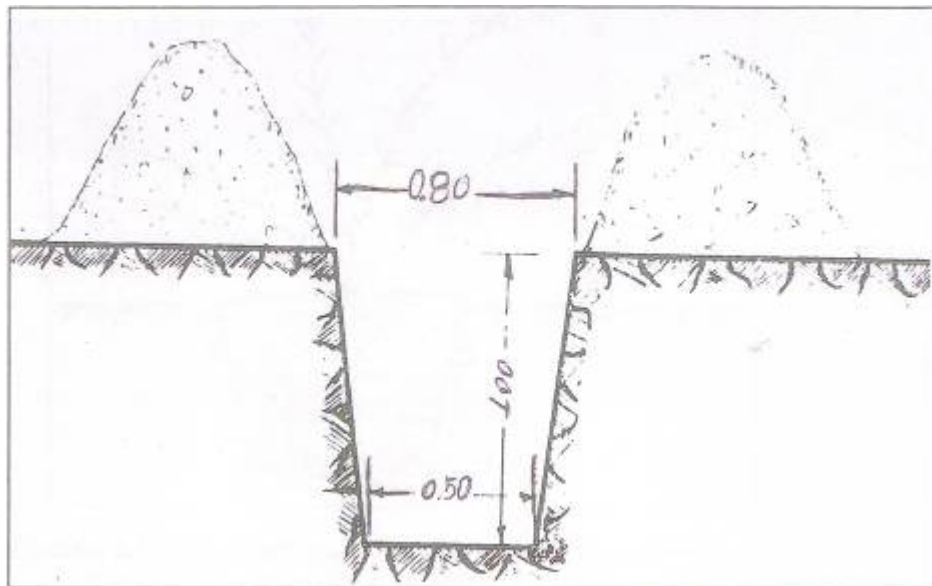


Εικόνα 2.5: Συλλογή παραφυάδων μετά από αφαίρεση από τον μητρικό φυτό Χουρμαδιάς και δέσιμο των φύλλων της πάνω από το ακραίο μερίστωμα (Zaid A., 1990).

2.5 Φύτευση των παραφυάδων.

Είναι ενδεδειγμένο ότι μία παραφυάδα δεν φυτεύεται ποτέ στο έδαφος (μόνιμη θέση), μετά την αφαίρεση της από το μητρικό φοίνικα. Μία περίοδος ριζοβολίας ενός έως δύο ετών σε ένα φυτώριο είναι ουσιαστική, προκειμένου να αποφύγει διάφορες ανωμαλίες στην ανάπτυξη της.

Οι διαστάσεις των λάκκων πρέπει να είναι 50X80cm και βάθος 1m. Οι λάκκοι αυτοί έχουν μεγαλύτερη την πάνω επιφάνεια από την κάτω κατά 20cm περίπου, δηλαδή είναι σχήματος κώνου (εικόνα 2.6).



Εικόνα 2.6: Άνοιγμα λάκκων για φύτευση Χουρμαδιάς

Δύο ημέρες πριν τη φύτευση γίνεται βρέξιμο του λάκκου με νερό μέχρι την φύτευση των παραφυάδων. Πριν από την φύτευση των παραφυάδων, τοποθετούνται στον πυθμένα του λάκκου χαλίκια σ' ένα στρώμα πάχους 15cm, για να διευκολύνεται η στράγγιση του νερού από

τον χώρο των ριζών. Έπειτα τοποθετείται ένα στρώμα χώματος πάχους 20cm. Ακολουθεί η τοποθέτηση λιπάσματος 11:15:15 1-2kg και στην συνέχεια 10cm χώμα. Τέλος τοποθετείται κοπριά, καλά αποσυντιθέμενη σ' ένα στρώμα πάχους περίπου 15cm και στην συνέχεια μία στρώση χώματος και μετά η παραφυάδα (εικόνα 2.8).

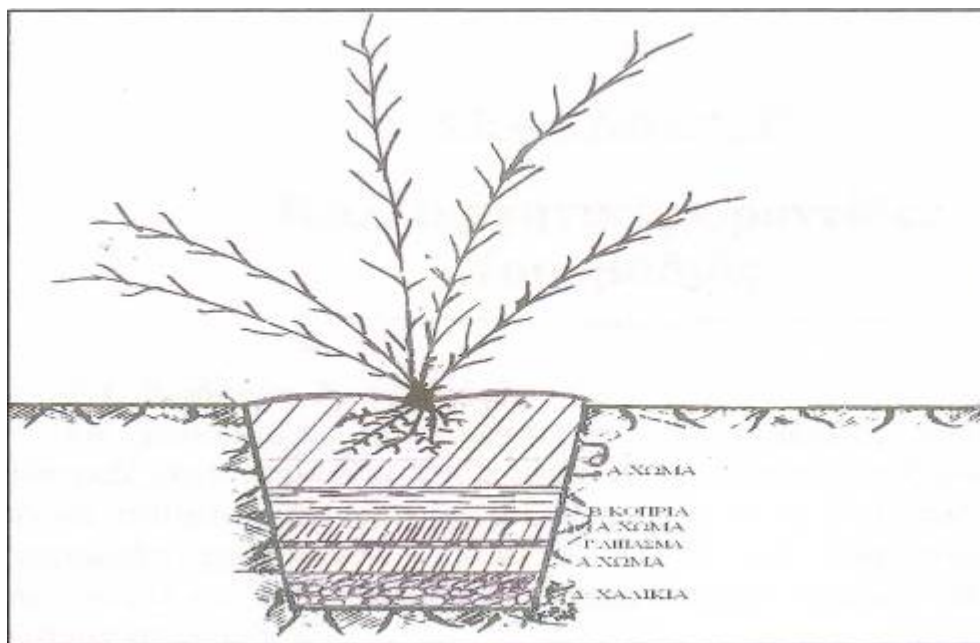
Η παραφυάδα πρέπει να τοποθετηθεί στον λάκκο με προσοχή και τα φύλλα της να βρίσκονται πάνω από το έδαφος. Γεμίζουμε τον λάκκο με χώμα μέχρι 5-10cm πάνω από την επιφάνεια του εδάφους. Ακολουθεί ένα ισχυρό πάτημα με σκοπό να έρθουν σε επαφή οι ρίζες με το χώμα.

Μετά την φύτευση η παραφυάδα πρέπει να ποτιστεί το συντομότερο δυνατόν. Η συχνότητα άρδευσης εξαρτάται από τον τύπο του εδάφους. Τα πολύ αμμώδη εδάφη απαιτούν την καθημερινή άρδευση κατά την διάρκεια του πρώτου καλοκαιριού. Τα βαριά εδάφη απαιτούν την άρδευση μόνο μία φορά την εβδομάδα ενώ στα περισσότερα εδάφη η άρδευση απαιτείται κάθε 2 έως 3 ημέρες. Μετά τον πρώτο μήνα και μέχρι το τέλος της πρώτης ανάπτυξης, γίνεται άρδευση κάθε 5 με 7 ημέρες.

Ο καλλιεργητής κατά την διάρκεια των πρώτων έξι εβδομάδων πρέπει πάντα να επιθεωρεί της φυτεμένες παραφυάδες, για να σιγουρευτεί ότι το έδαφος γύρω από της παραφυάδες δεν ξεραίνεται. Τοποθέτηση γύρω από την παραφυάδα άχυρου ή σανού θα ενισχύσει το επίπεδο υγρασίας του εδάφους γύρω από τον νεαρό φοίνικα και τον έλεγχο ζιζανίων. Πλέον ο νέος φοίνικας πρέπει να προστατεύεται από τις δυσμενείς κλιματικές συνθήκες (ήλιος και αέρας κατά την διάρκεια του πρώτου καλοκαιριού και από το κρύο του επόμενου χειμώνα). Έτσι λοιπόν για προστασία συστήνεται, το τύλιγμα γύρω από τα φύλλα της Χουρμαδιάς με Hessian (ειδικό ύφασμα) ή με ψάθα (εικόνα 2.7).



Εικόνα 2.7: Προστασία με τύλιγμα προστατευτικού καλλύματος γύρω από τα φύλλα της Χουρμαδιάς και τοποθέτηση άχυρου στο έδαφος για βελτίωση της υγρασίας του. (Zaid A., 1990).



Εικόνα 2.8: Σχηματική παράσταση φύτευσης Χουρμαδιάς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3°

Πολλαπλασιασμός Χουρμαδιάς με την μέθοδο της ιστοκαλλιέργειας.

Ο πολλαπλασιασμός της Χουρμαδιάς με καλλιέργεια ιστών, δεν είναι ευρέως γνωστή μέθοδος από την άποψη της δυνατότητας κατανόησης της εφαρμογής της τεχνικής, ως προς την ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό των φυταρίων. Επομένως απαιτείται εξειδικευμένο προσωπικό με πείρα και γνώση της εφαρμογής της τεχνικής του μικροπολλαπλασιασμού. Στο κεφάλαιο αυτό ο όρος “καλλιέργεια” δεν ταυτίζεται με την καλλιέργεια των φυτών σε εδαφικές συνθήκες, αλλά με την αύξηση φυτικών τμημάτων σε τεχνικές συνθήκες, όπου μεγάλη σημασία δίνεται στην αναγέννηση των φυτών σε αυστηρά αποστειρωμένο περιβάλλον.

Η εφαρμογή της ιστοκαλλιέργειας στην Χουρμαδιά, αποκαλούμενη επίσης *in vitro* πολλαπλασιασμός, είναι μία τεχνική πολλά υποσχόμενη λόγω των πολλών πλεονεκτημάτων σε σύγκριση με τις άλλες μεθόδους πολλαπλασιασμού της Χουρμαδιάς και επιτρέπει τα εξής:

- Πολλαπλασιασμό υγιών επιλεγμένων ποικιλιών (απαλλαγμένων από ασθένειες και παράσιτα).
- Καμιά εποχιακή επίδραση επειδή η καλλιέργεια εφαρμόζεται υπό ελεγχόμενες συνθήκες (φωτός, θερμοκρασίας, σύνθεση θρεπτικού υποστρώματος, ορμονών) στο εργαστήριο όλη την διάρκεια του έτους.
- Πολλαπλασιασμό μεγάλης κλίμακας, που έχει την δυνατότητα μαζικής παραγωγής κλωνικών φυτών.
- Πολλαπλασιασμό των αρσενικών ποικιλιών που έχουν την ανθοταξία με ποιοτικότερη γύρη, που μπορούν εύκολα και γρήγορα να πολλαπλασιάσουν.
- Εξασφάλιση μίας εύκολης και γρήγορης ανταλλαγής φυτικού ιστού μεταξύ διαφορετικών περιοχών μίας χώρας ή διεθνώς, χωρίς να υπόκειται υγειονομικούς ελέγχους για οποιοδήποτε κίνδυνο εξάπλωσης ασθενειών ή παρασίτων.
- Οικονομικά αξιόπιστη μέθοδος πολλαπλασιασμού, όταν απαιτείται μαζική παραγωγή.
- Η παραγωγή φυτών με ιστοκαλλιέργεια ελέγχεται ευκολότερα γενετικά από ότι ελέγχεται η παραγωγή φυτών με παραφυάδες.

Η Χουρμαδιά μπορεί να πολλαπλασιαστεί με την μέθοδο της ιστοκαλλιέργειας με 3 τεχνικές, ονομαζόμενες επίσης *in vitro* καλλιέργειες.

α. Καλλιέργεια εμβρύων.

β. Καλλιέργεια μεριστωματικών ιστών (οφθαλμοί, ακραίες βλαστικές κορυφές).

γ. Καλλιέργεια διαφοροποιημένων σωματικών ιστών (τμήματα φύλλων, μίσχων, άνθους και ριζών).

Οι μελέτες πάνω στην ιστοκαλλιέργεια φυτών φοίνικα έχουν διαχωριστεί σε 2 κατηγορίες, κάθε μία με ξεχωριστούς στόχους.

α. Μαζικός πολλαπλασιασμός.

β. Εμβρυοκαλλιέργεια.

Ο μαζικός πολλαπλασιασμός μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε μέσω **αγενούς εμβρυογέννησης** π.χ.(σχηματισμός φυταρίων με εκβλάστηση και αύξηση ενός αγενούς εμβρύου), είτε με **οργανογέννηση** π.χ.(παραγωγή ριζών και βλαστών με καλλιέργεια μεριστωματικών ιστών ή οργάνων). Ο μαζικός πολλαπλασιασμός φυτών Χουρμαδιάς

θεωρείται πως είναι μία μέθοδος, για παραγωγή ενός μεγάλου αριθμού φυτών ομοιόμορφων γενετικά.

Εμβρυοκαλλιέργεια θεωρείται η απομόνωση και εκβλάστηση ενός εμβρύου που χρησιμοποιείται, για διατήρηση μίας σπάνιας ποικιλίας ή για τη διευκόλυνση της ανάπτυξης φυτών, που δεν θα μπορούσαν να παραχθούν φυσικά.

3.1 Βιβλιογραφικές μελέτες και πειράματα που έγιναν στην Χουρμαδιά, με την μέθοδο της *in vitro* καλλιέργειας.

Μελέτες και πειράματα που αφορούσαν το μικροπολλαπλασιασμό του φοίνικα Date palm για την βελτίωση των μεθόδων και των θρεπτικών μέσων για τις καλλιέργειες ιστού μελετήθηκαν από διάφορους ερευνητές (Tisserat, 1979; Baskaran και Smith, 1992; Abo El-mide'n, 1986; Al-Khalfah, 2000).

3.1.1 Καλλιέργεια εμβρύων.

Η αρχική μελέτη ιστοκαλλιέργειας Χουρμαδιάς αφορούσε την ανάπτυξη απομονωμένων εμβρύων σε τροποποιημένο θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε βολφραμιούχο άνθρακα (cw) (Cutter and Wilson, 1954).

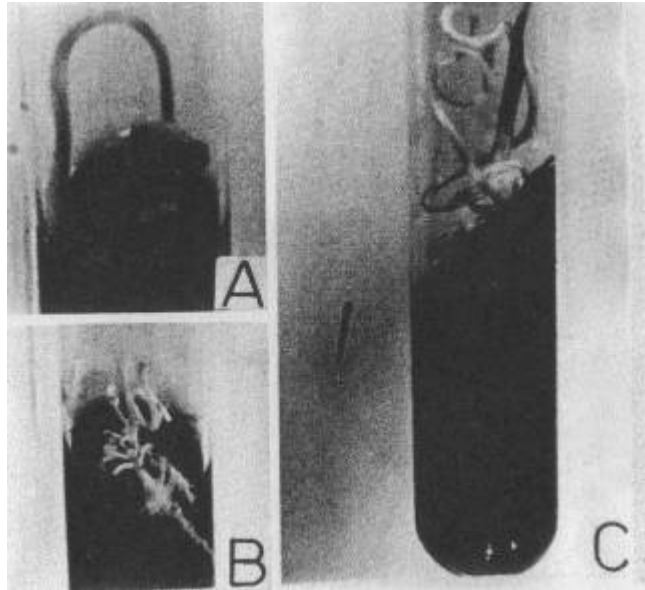
Η καλλιέργεια εμβρύων περιλαμβάνει την αφαίρεση του εμβρύου από τον σπόρο και φύτευσή του σ' ένα αποστειρωμένο θρεπτικό μέσο (Hoded, 1977). Η καλλιέργεια εμβρύων χρησιμοποιείται για να σώσει τα έμβρυα που αποτυγχάνουν να αναπτυχθούν φυσικά, ή για την διατήρηση μίας σπάνιας διασταύρωσης (Johnston and Stern, 1957). Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να μειώσει την μεγάλη περίοδο λήθαργου, λόγω φυσικών ή και χημικών ανασταλτικών παραγόντων στους σπόρους Χουρμαδιάς (Hoded, 1977).

Στην καλλιέργεια *in vitro* τα έμβρυα είναι απαλλαγμένα από αυτούς τους ανασταλτικούς παράγοντες και βλασταίνει συνήθως αμέσως. Τα απομονωμένα έμβρυα επιλέχτηκαν ως έκφυτο υλικό στις μεταβολικές μελέτες (Raghavan, 1976). Ανώριμα (Reynolds and Murashige, 1979; Matel, 1983) και ώριμα (Reuveni, 1979; Tisserat, 1979; Zaid and Tisserat, 1984) ζυγωτικά έμβρυα, έχουν καλλιεργηθεί *in vitro* ως πηγή για καλογέννεση. Κατά την καλλιέργεια εμβρύων στην Χουρμαδιά, η βλάστηση αρχίζει μέσα στην πρώτη εβδομάδα. Η μεγέθυνση του εμβρύου και η παραγωγή του αρχικού ριζικού συστήματος και των πρώτων φύλλων επιτυγχάνεται ύστερα από 4-8 εβδομάδες (εικόνα 3.1).



Εικόνα 3.1: Στάδια ανάπτυξης εμβρύου Χουρμαδιάς (*Phoenix Dactylifera* L.) σε καλλιέργεια *in vitro*, σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιέχει 0,3g ενεργό άνθρακα. (Zaid A., 1990).

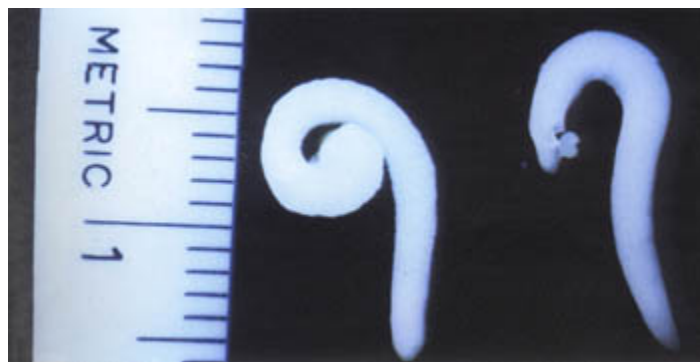
Μέρη από τις κοτυληδόνες έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για καλλιέργεια και έχουν δείξει διαφορετικές αντιδράσεις (εικόνα 3.2), (Reuveni, 1979; Ammar and Benbadis, 1977; Omar, 1988b). Επίσης ο (Reuveni, 1979) ανέφερε ότι ο κάλος και οι ρίζες αναπτύχθηκαν από ιστό κοτυληδόνας εμβρύου Χουρμαδιάς, όταν το θρεπτικό υπόστρωμα περιείχε νοφθαλινοξικό οξύ (NAA). Αυτός ο κάλος υποκαλλιεργήθηκε και συνέχισε να πολλαπλασιάζεται και να διαφοροποιεί τις ρίζες. Ζυγωτικοί και εμβρυογενετικοί πρόδρομοι, διαπιστώθηκε πως επιδεικνύουν παρόμοια ανάπτυξη στο σχηματισμό νέων φυτών (Tisserat and De Mason, 1980).



Εικόνα 3.2: Έναρξη της οργανογέννησης, από τμήμα κοτυληδόνας . **A.** Βλαστός (MS + 1 mg/l NAA + 3 mg/l 2-ip). **B.** Ρίζα (MS + 10 mg/l NAA + 3 mg/l 2-ip). **C.** Ολοκληρωμένο φυτό (MS + 3 mg/l + 3 mg/l 2-ip). Επώαση σε θερμοκρασία 28°C, για 2 μήνες. (Omar M.S., Hameed M.K., and Al-Rawi M.S., 1988).

Οι Reynolds and Murashige, (1979) ως πηγή έκφυτου καλλιέργησαν έμβρυα, που πάρθηκαν από ανώριμους καρπούς Χουρμαδιάς που συγκομίστηκαν δύο ή τρεις μήνες μετά από τη γονιμοποίηση, και φυτεύθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα που εμπλουτίστηκε με 2,4-D και στην συνέχεια αναπτύχθηκε ένας κοκκώδης κάλος. Η μεταφορά αυτού του κάλου σε θρεπτικό υπόστρωμα που δεν περιείχε αυξίνη, οδήγησε στην ανάπτυξη πολυάριθμων αγενών ή άφυλων εμβρύων.

Ωριμα ζυγωτικά έμβρυα που καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικά υποστρώματα που περιείχαν τον ξυλάνθρακα με υψηλά επίπεδα αυξίνης 10 και 100mg/L NAA, επίσης παράχθηκε κονδυλώδης κάλος και η επαναλαμβανόμενη υποκαλλιέργεια οδήγησε στον σχηματισμό φυταρίων (Tisserat, 1979).



Εικόνα 3.3: Σύγκριση μεταξύ αγενούς εμβρύου (δεξιά) με ζυγωτικό έμβρυο (αριστερά), με εμφανές το στάδιο ανάπτυξης της κοτυληδόνας. (Zaid A., 1990).

3.2. Καλλιέργεια μεριστωματικών ιστών Χουρμαδιάς.

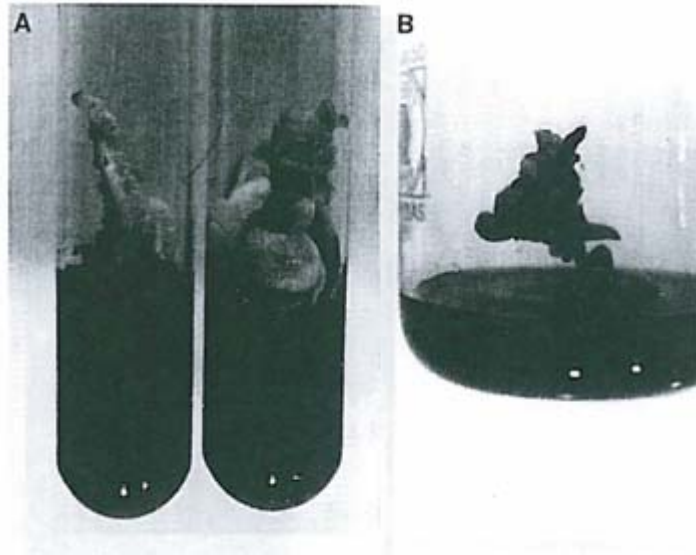
Οι βλαστικές κορυφές και οι πλευρικοί οφθαλμοί πλεονεκτούν σε σύγκριση με άλλες πηγές εκφύτων στα εξής:

- Οι βλαστικές κορυφές και οι πλευρικοί οφθαλμοί προστατεύονται από τα μικρά φύλλα των οφθαλμών και συνήθως η αποστείρωση τους είναι ευκολότερη λόγω της επιφάνειάς τους (Morel, 1960).
- Με την καλλιέργεια των βλαστικών κορυφών ή των οφθαλμών, ένας ολόκληρος βλαστός είναι ήδη παρών έτσι απαιτείται μόνο η επαγωγή ρίζας, για να παραχθεί ένα ολόκληρο φυτάριο (Morel, 1965; Williams, 1974).
- Τα κύτταρα των βλαστικών κορυφών και οφθαλμών είναι διπλοειδή, συνεπώς πιο ομοιόμορφα από εκείνα που προέρχονται από λιγότερες μεριστωματικές περιοχές. Τα φυτάρια που προέρχονται από τις φυσικές μεριστωματικές περιοχές, πιθανών να είναι κλωνικά και να παράγονται γρηγορότερα από άλλες εκφυτες περιοχές (Murashige, 1975).

Μία διάκριση στην καλλιέργεια μεταξύ των οφθαλμών και των ακραίων μεριστωμάτων είναι ότι η καλλιέργεια πλευρικού οφθαλμού περιλαμβάνει την αύξηση ενός ολόκληρου στοιχειώδους φυτικού βλαστού, ενώ η καλλιέργεια ακραίου μεριστώματος περιλαμβάνει ιδανικά μόνο την αποκοπή και στην συνέχεια την αύξηση του ακραίου θόλου του βλαστού (Cutter, 1965).

3.2.1 Καλλιέργεια ακραίων βλαστικών κορυφών Χουρμαδιάς.

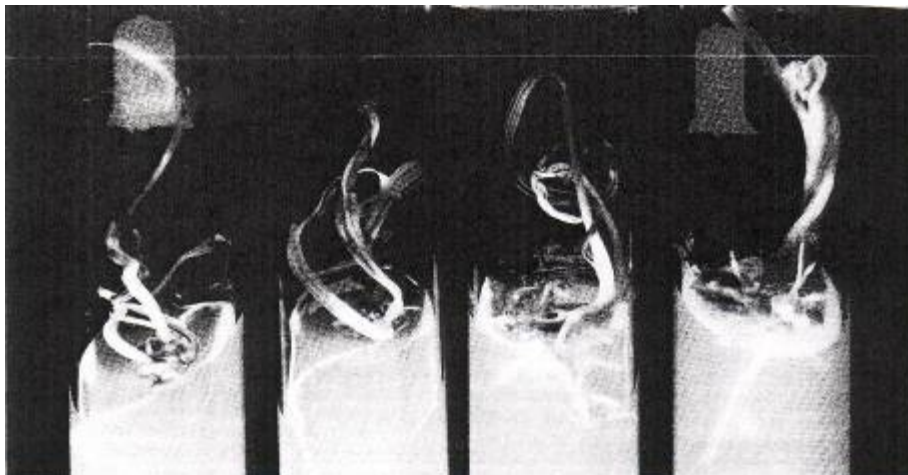
Ο Schroeder, (1970) και οι (Poulain *et al.* 1979; Reuveni and Lilien-Kipnis, 1974; Rhiss *et al.*, 1979; Tisserat, 1979a) μπόρεσαν να παράγουν ολόκληρα φυτάρια από βλαστικές κορυφές με κάποια επιτυχία, μέσω επίτευξης σχηματισμού ριζών. Οι Reuveni *et al* (1972) διαπίστωσαν ότι η καλλιέργεια αυξανόμενων κορυφών, λειτούργησαν ακανόνιστα στους ρυθμιστές αύξησης, αλλά η εξέλιξη τους βελτιώθηκε με την εμφάνιση φύλλων όταν τα θρεπτικά μέσα περιείχαν 0,1mg/L NAA και 0,01mg/L κινετίνη. Κάλος διαμορφώθηκε περιστασιακά στην άκρη της επιφάνειας περικοπών, ιδιαίτερα στο αμυδρό φώς και όταν η συγκέντρωση αυξίνης και κιτοκινίνης είναι χαμηλές. Οι EL Hennawy και Wally (1978) ανέφεραν κάποια διαμόρφωση οφθαλμών στην καλλιέργεια Χουρμαδιάς, που διαπίστωσαν ότι με την προσθήκη 200mg/L “Fermantol” στο θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 10mg/L αυξίνη και κινετίνη και στην συνέχεια χρησιμοποίησή τους για επώαση σε θερμοκρασία 25C°, εμφανίστηκε διαφοροποίηση οφθαλμών σε ποσοστό 60%.



Εικόνα 3.4: Α) Καλλιέργεια ακραίων βλαστών, που παρουσιάζουν ανάπτυξη φύλλων σε θρεπτικό υπόστρωμα που συμπληρώθηκε με 0,01 mg/l BAP και σχηματισμός μασχαλιαίων βλαστών Β) σε θρεπτικό υπόστρωμα που εμπλουτίστηκε με 10 mg/l NAA και 3mg/l 2-iP σε (16h/ημέρας στα 1000lux). (Omar M.S., Hameed M.K., and Al-Rawi M.S., 1988)

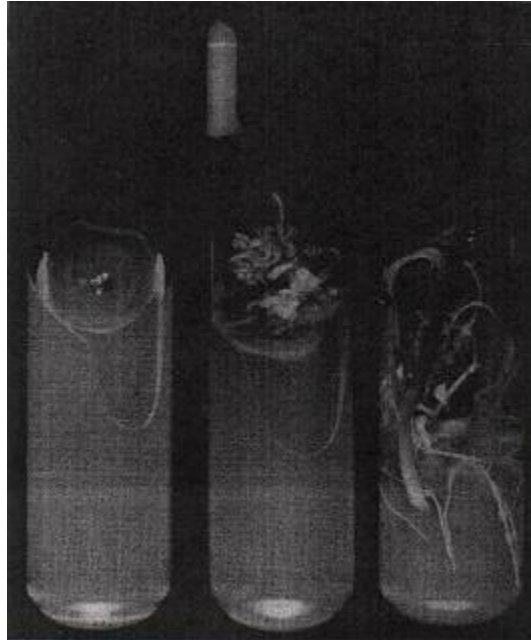
Οι Sharma *et al*, (1980) χρησιμοποίησαν της βλαστικές κορυφές Χουρμαδιάς με περιορισμένη επιτυχία στην ανάπτυξη, λόγω αμαύρωσης (επιμόλυνσης) των ιστών και του θρεπτικού υποστρώματος.

Απομονωμένες βλαστικές κορυφές Χουρμαδιάς έχουν καλλιεργηθεί με *in vitro* μεθόδους και η επαγωγή ριζών προωθήθηκε ανακαλλιερτώντας αυτές τις κορυφές σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 0,54μM NAA (εικόνα 3.5).



Εικόνα 3.5: Παραγωγή φυταρίου από βλαστική κορυφή. Τα έκφυτα καλλιεργούνται σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιέχει 0.5 μM NAA για την επαγωγή σχηματισμού ριζών. Παρατηρείστε τον σχηματισμό των επίκτητων ριζών. (Tisserat B, 1984b)

Οι καλλιεργούμενες κορυφές παρουσιάζουν μεγέθυνση και παράγουν νέα φύλλα μέσα σε 2 εβδομάδες από την έναρξη της καλλιέργειας (εικόνα 3.6). Ύστερα από 8 εβδομάδες προβάλλουν αρκετά πράσινα φύλλα με φωτοσυνθετική ικανότητα.



Εικόνα 3.6: Πολλαπλασιασμός Χουρμαδιάς με *in vitro* καλλιέργεια βλαστικών κορυφών. Από αριστερά προς δεξιά: Βλαστική κορυφή περίπου 2 εβδομάδων που υποβάλλεται σε αύξηση και επαγωγή φύλλων. Καλλιέργεια βλαστικής κορυφής που δίνει πρόσθετους βλαστούς μέσω της ανάπτυξης μασχαλιαίων οφθαλμών. Βλαστός με ρίζες έτοιμος να μεταφερθεί στο έδαφος. (Tisserat B, 1984b)

Ο Tisserat, (1979) διαπίστωσε σε καλλιέργεια βλαστικών κορυφών Χουρμαδιάς ότι μια υψηλή συγκέντρωση αυξίνης 10 και 100mg/L NAA και 2,4-D προκάλεσε παρεμπόδιση της αύξησης βλαστών, αλλά προώθησε το σχηματισμό άσπρο-κίτρινου κάλου. Αυτός ο κάλος ήταν πρόδρομος για τα αγενή έμβρυα. Η μεταφορά του κάλου στο θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε τα χαμηλότερα επίπεδα αυξίνης όπως 0,1mg/L NAA ή 2,4-D επιτρέπει την εμφάνιση και εξέλιξη βλαστικών κορυφών.

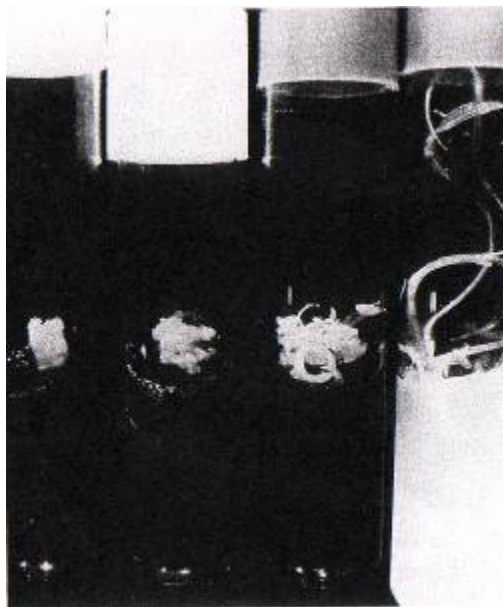
Οι Zaid and Tisserat, (1983a) καλλιέργησαν βλαστικές κορυφές από ενήλικες Χουρμαδιές, που πάρθηκαν έκφυτα από παραφυάδες, σπορόφυτα και αγενή φυτάρια που τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 10mg/L NAA. Οι ίδιοι ερευνητές επίσης καθόρισαν τη διαφορά της δράσης αυξίνης και κιτοκινίνης στην ανάπτυξη βλαστικών κορυφών σπορόφυτων Χουρμαδιάς και ακραίων μεριστωμάτων. Το έκφυτο από βλαστική κορυφή πάρθηκε από τον ακραίο θόλο μαζί με 2-4 φύλλα, και ποίκιλε σε μέγεθος από 0,5 έως 1mm². Το μερίστωμα και οι βλαστικές κορυφές καλλιεργήθηκαν στο τροποποιημένο θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 3mg L⁻¹ ενεργό άνθρακα, 0,1-300mg L⁻¹ NAA, indoleacetic acid (IAA), indolebutyric acid (IBA), 4-Chlorophenoxyacetic acid and 2iP. Η καλύτερη αναγέννηση βλαστών εμφανίστηκε στα θρεπτικά υποστρώματα που περιείχαν 10mg L⁻¹ NAA. Αυτοί οι βλαστοί επανακαλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα απαλλαγμένο από τον ξυλάνθρακα, που

3.2.2 Καλλιέργεια οφθαλμών.

Οι περισσότεροι οφθαλμοί που παρουσιάστηκαν σε φυτάρια Χουρμαδιάς δεν επέζησαν, μέσα στις πρώτες 30-50 ημέρες μετά την φύτευση τους σε *in vitro* συνθήκες (Reuveni and Kirnis, 1974; Schroeder, 1970). Μόνο οι μεγαλύτεροι και οι πιο ευδιάκριτοι διαφοροποιημένοι οφθαλμοί αυξήθηκαν. Οι οφθαλμοί αυτοί παρουσίασαν επέκταση φύλλων και παρήγαγαν επιπρόσθετα φύλλα.

Οι Tisserat, (1979) και Zaid, (1981) επίσης ερεύνησαν όρους για την ανάπτυξη οφθαλμών και διαπίστωσαν ότι στο ίδιο θρεπτικό υπόστρωμα για καλλιέργεια βλαστικών κορυφών αναπτύχθηκαν εξίσου καλά και οι οφθαλμοί.

Η καλλιέργεια κάλων άρχισε από τους μασχαλιαίους οφθαλμούς παραφυάδων ηλικίας 2 έως 4 ετών. Οι Tisserat and Zaid, (1983b) διαπίστωσαν ότι ο υποκαλλιεργούμενος πλευρικός κάλος οφθαλμών, στα θρεπτικά υποστρώματα απαλλαγμένα από ξυλάνθρακα και συμπληρώθηκαν με 0,1mg/L NAA, παρήχθησαν τυχαία φυτάρια.(εικόνα 3.7)



Εικόνα 3.7: Αγενή εμβρυογέννεση και αναγέννηση φυτού από πλευρικό οφθαλμό. (Omar M.S., Hameet M.K., and Al-Rawi M.S., 1988).

Έκφυτα που πάρθηκαν από το κατώτερο σημείο των νέων φύλλων, των μαλακών ιστών, των ακραίων βλαστών ή των μασχαλιαίων οφθαλμών από παραφυάδας Χουρμαδιάς και χρησιμοποιήσής τους, σε μεσαία περιεκτικότητα συγκέντρωσης θρεπτικών συστατικών (MS) ή του θρεπτικού υποστρώματος του Beauchesne, που συμπληρώθηκε από διάφορες αυξίνες σε χαμηλή συγκέντρωση, έδωσαν οφθαλμούς μετά από έξι μήνες *in vitro* καλλιέργειας

(Beauchesne *et al*, 1986). Η πρόωγη ριζοβολία των ιστών, μειώνει την αύξηση των οφθαλμών και είναι αρμόδια για την παρεμπόδιση της έναρξης των οφθαλμών (Anjarne and Zaid, 1993).

3.3 Καλλιέργεια διαφοροποιημένων σωματικών ιστών Χουρμαδιάς.

3.3.1 Καλλιέργεια φύλλων.

Καλλιέργεια σωματικών ιστών με *in vitro* έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζουν υψηλή διαφοροποίηση στην Χουρμαδιά.

Κάλος αναπτύχθηκε επιτυχώς από ένα φύλλο (τμήματα φύλλου) Χουρμαδιάς, που πάρθηκε από σπορόφυτο (Schroeder, 1970) και προκάλεσε ρίζες αρκετούς μήνες αργότερα. Παρόμοια αποτελέσματα επιτεύχθηκαν από Reuveni and Kirpis (1974). Στην μελέτη τους, τα αρχέγονα φύλλα επέζησαν στην καλλιέργεια *in vitro* και επεκτάθηκαν, ειδικά στην παρουσία φωτός. Στα έκφυτα φύλλων προστέθηκαν ρυθμιστές αύξησης στις συγκεντρώσεις 0,1mg/L, με αποτέλεσμα να αποβούν επιβλαβείς στα καλλιεργούμενα φύλλα. Κάλος αναπτύχθηκε επιτυχώς από τμήματα φύλλων (πρωταρχικά φύλλα) από παραφυάδες 3 έως 4 ετών όπου παρήγαγαν αγενή εμβρυογέννεση και ακολούθησε αναγέννηση φυτών (Rhiss *et al*, 1979; Drira, 1981; Omar, 1988b).

Οι Eeuwens and Blake (1977) που εργάστηκαν με τμήμα φύλλου Χουρμαδιάς ανακάλυψαν ότι αναπτύχθηκαν αρχικές ρίζες που ενισχύθηκαν από την παρουσία χαμηλής συγκέντρωσης αυξίνης και από την μείωση είτε των μετάλλων είτε της σακχαρόζης στο θρεπτικό υπόστρωμα. Έκφυτα από μίσχους φύλλων της Χουρμαδιάς ανέπτυξαν ρίζες μέσα σε 6 εβδομάδες όταν καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε υψηλή συγκέντρωση αυξίνης (Eeuwens, 1978). Δεν απετράπηκε η παρουσία έναρξης ρίζας, από την παρουσία υψηλής συγκέντρωσης κυτοκινίνης ή από την χαμηλή συγκέντρωση σακχαρόζης, αλλά εμφανίστηκε συχνότερα η απουσία ρίζας στα θρεπτικά υποστρώματα που περιείχαν υψηλή συγκέντρωση σακχαρόζης και μειωμένη συγκέντρωση κυτοκινίνης.

Οι Roulain *et al*(1979) έλαβαν κάποιο κάλο στην βάση των νέων φύλλων, ενώ οφθαλμοί αναπτύχθηκαν στην ζώνη μεταξύ των νέων φύλλων και του κεντρικού νεύρου. Οι ρίζες παρουσιάστηκαν στα θρεπτικά υποστρώματα MS που συμπληρώθηκαν με ένα συνδυασμό χαμηλών επιπέδων αυξίνης όπως 1, 2 και 3mg/L NAA, IBA, και IAA αντίστοιχα.

Ο Zaid (1981) πειραματίστηκε με έκφυτα από φύλλα από ενήλικες παραφυάδες Χουρμαδιάς,, σπορόφυτα και άφυλλα φυτάρια και διαπίστωσε ότι μόνο ο υποκαλλιεργούμενος κάλος φύλλων από σπορόφυτα και από άφυλλα φυτάρια παρήγαγαν ρίζες.

3.3.2 Καλλιέργεια μίσχων.

Η ανάπτυξη κάλλου από ιστό μίσχου έχει επίσης αναφερθεί από τον Eeuwens (1978), ο οποίος έλαβε κάλο από ιστό μίσχου σε μερικές καλλιέργειες *in vitro*, αλλά οι περαιτέρω προσπάθειες να υποκαλλιεργηθεί ο κάλος, απέτυχαν. Ο Tisserat (1979) αναφέρει ότι έκφυτα που πάρθηκαν από ιστό μίσχου Χουρμαδιάς, διευρύνθηκαν αρκετά σε μέγεθος κατά την διάρκεια των πρώτων εβδομάδων σε καλλιέργεια *in vitro*. Η επαναλαμβανόμενη καλλιέργεια στα φρέσκα υποστρώματα οδήγησε στο σχηματισμό μη εύθραυστου κονδυλώδη κάλου.

3.3.3 Καλλιέργεια άνθους.

Η καλλιέργεια άνθους σε *in vitro*, έχει τραβήξει την προσοχή πολλών ερευνητών, παρ'όλα αυτά δεν έχει επιτευχθεί μεγάλη πρόοδος.

Διαφορετικά όργανα από θηλυκό άνθος έχουν καλλιεργηθεί *in vitro* συμπεριλαμβανόμενων των ωαρίων (Sharma *et al*, 1980; Omar and Arif, 1985), καρπόφυλλων (Tisserat, 1979b; Omar and Arif, 1985) και παρθενοκαρπικού ενδοσπερμίου (Reuveni *et al*, 1972), παρ'όλα αυτά, μικρά αποτελέσματα έχουν επιτευχθεί.

Έκφυτα από θηλυκά και αρσενικά άνθη καλλιεργήθηκαν σε ποικίλα θρεπτικά υποστρώματα, που αναπτύχθηκαν κάπως κανονικά, αλλά δεν λήφθηκε κάλος (Smith and Thomas, 1973).

Οι Reuveni and Kirpnis (1974) αναφέρουν ότι τα ωάρια, ιστός από καρπόφυλλο και παρθενοκαρπικό ενδοσπέρμιο μαύρισαν μέσα στα θρεπτικά υποστρώματα σε 24 ώρες σε *in vitro* καλλιέργεια και επομένως δεν αναπτύχθηκαν. Επίσης καλλιέργεια, αρσενικών ανθών συνήθως γινόταν καφετή και απεβίωσαν μετά από μερικές εβδομάδες (Tisserat *et al*, 1979).

3.3.4 Καλλιέργεια ιστών ρίζας.

Η *in vitro* καλλιέργεια ιστών ρίζας Χουρμαδιάς έχει επιχειρηθεί από σπορόφυτα. Ο Schroeder (1970) παρατήρησε ότι ιστοί ρίζας ανέπτυξαν στην συνέχεια δευτερεύοντα ριζίδια, αλλά δεν παρήχθησαν βλαστοί.

Αναγέννηση φυτού προκλήθηκε όταν από νέα σπορόφυτα Χουρμαδιάς, λήφθηκε ιστός από την κορυφή της ρίζας που καλλιεργήθηκε *in vitro* και παρουσίασε κάλο, στην συνέχεια ακολούθησε ανάπτυξη βλαστού και ρίζας (Smith, 1975; Smith and Thomas, 1973).

Άλλοι ερευνητές όπως οι Sharma *et al*, (1980) δεν επέτυχαν καμία αύξηση των καλλιεργούμενων ριζών. Τα έκφυτα από ιστό ρίζας, μαύρισαν και απεβίωσαν μέσα στις πρώτες εβδομάδες της καλλιέργειας. Εντούτοις οι Zaid and Tisserat (1983a; 1983b), έλαβαν κάλο από σπορόφυτα και από τις ρίζες αγενών φυταρίων, αλλά απέτυχε ο κάλος να εκθέσει οποιαδήποτε μορφογενή λειτουργία.

3.4 Πηγές έκφυτων Χουρμαδιάς για *in vitro* καλλιέργεια.

Ένας σημαντικός παράγοντας για την ανάπτυξη ιστών για καλλιέργεια *in vitro* είναι η επιλογή του αρχικού υλικού. Η καλύτερη ανάπτυξη, προέρχεται από έκφυτα απομονωμένα από μεριστωματικές περιοχές της Χουρμαδιάς, που περιλαμβάνουν ζυγωτικά έμβρυα, βλαστικές κορυφές και πλευρικούς οφθαλμούς (Tisserat, 1979a, b, 1981a).

Έκφυτα από μεριστώματα όπως κεντρικό νεύρο φύλλων, μίσχους φύλλων, βλαστούς και ρίζες, παρόλο που μπορούν να παραχθούν εύκολα, έχουν μικρή αξία στην παραγωγή κάλου, ο οποίος μπορεί να παράγει έμβρυο (Aparatjrut and Blake, 1977; Eeuwens, 1976, 1978; Eeuwens and Blake, 1977; Reuveni and Lilien-Kirpnis, 1974; Reuveni *et al*, 1972; Tisserat, 1979a).

Απομονωμένα ζυγωτικά έμβρυα αποτελούν μία πηγή εμβρυογενετικού κάλου, για την Χουρμαδιά (Ammar and Benbadis, 1977; Reynolds and Murashige, 1979; Tisserat, 1979a, b). Επίσης ανώριμα (Reynolds and Murashige, 1979) και ώριμα (Tisserat, 1979a,b) έμβρυα Date palm αποτελούν πηγές εμβρυογενετικού κάλου.

Μετά τη βλάστηση του εμβρύου, ο προσανατολισμός των έκφυτων Χουρμαδιάς που προέρχονται από νεαρά φυτά ή δέντρα, έχει δείξει μειωμένη ικανότητα κάλου και υποβολής αγενούς εμβρυογένεσης (Ammar and Benbadis, 1977; Reuveni and Lilien-Kirpnis, 1974; Schroeder, 1970). Εμβρυογενετικός κάλος έχει παραχθεί από κολεό κοτυληδόνας, εμβρύων

Χουρμαδιάς που είχαν βλαστήσει (Ammar and Benbadis, 1977). Επίσης κάλος έχει παραχθεί από ιστό μίσχου και φύλλων Χουρμαδιάς (Eeuwens, 1978; Eeuwens and Blake, 1977; Sharma *et al.*, 1980). Παρόλα αυτά, τα έκφυτα που απομωνώνονται από ειδικά όργανα του φοίνικα, παράγουν κάλο που στην συνέχεια δίνει μόνο ρίζες (Eeuwens, 1978; Tisserat, 1979a). Άνθη Χουρμαδιάς έχουν καλλιεργηθεί *in vitro* και συνεχίζουν να αναπτύσσονται (Celos, 1971; Tisserat, 1981a; De Mason and Tisserat, 1980).

Μεριστωματικοί ενεργοί πλευρικοί οφθαλμοί με προσχηματισμένα φύλλα καθώς και βλαστικές κορυφές Χουρμαδιάς, έχει διαπιστωθεί πως συνεχίζουν να αναπτύσσονται *in vitro*, μέσω έναρξης της διαδικασίας ανάπτυξης-μεγέθυνσης των φύλλων (El Hennawy and Wally, 1978; Tisserat, 1979a). Σε αντίθεση με τους μεριστωματικούς οφθαλμούς, που χωρίς φύλλα σπάνια επιζούν πέρα των πρώτων εβδομάδων *in vitro* καλλιέργειας (Tisserat, 1979a).

Πίνακας 3.1: Μορφογενετικά αποτελέσματα από διάφορα έκφυτα Χουρμαδιάς (*Phoenix Dactylifera L.*) με την μέθοδο της *in vitro* καλλιέργειας.

| Έκφυτο / πηγή ιστού | Αποτέλεσμα ανάπτυξης |
|--|---|
| Ακραίες κορυφές και πλευρικοί οφθαλμοί. | Κάλος Διαφοροποίηση φύλλου Διαφοροποίηση φύλλου, παραγωγή ρίζας. Κάλος / αγενή έμβρυα. Σχηματισμός μασχαλιαίων οφθαλμών, κάλος / αγενές έμβρυο. |
| Βλαστική κορυφή από σπορόφυτο. | Κάλος / αγενές έμβρυο / φυτό. Διαφοροποίηση φύλλου Διαφοροποίηση φύλλου / ριζογέννεση. Διαφοροποίηση οφθαλμών. Σχηματισμός τυχαίων οφθαλμών. |
| Βλαστικές κορυφές από παραφυάδα. | Κάλος / ρίζες. Ριζογέννεση, φυτό. |
| Πλευρικοί οφθαλμοί από παραφυάδα. Τμήματα φύλλου από σπορόφυτο. | Κάλος. Κάλος / αγενές έμβρυο. Κάλος / αγενές έμβρυο. |
| Ιστός μίσχου από σπορόφυτο. | Κάλος / φυτό. |
| Ανθοταξία (κεντρικό νεύρο). | Κάλος. Κάλος, ρίζες. Δευτερογενείς ρίζες. Κάλος / βλαστούς. Κάλος. |
| .Μίσχος | Κάλος / αγενή έμβρυο / σπορόφυτο. |
| .Ιστός ρίζας. | Κάλος / ρίζες. |
| Καρπόφυλλο. | Οργανογενετικός κάλος. |
| Τμήμα ωαρίου. | Οργανογενετικές ρίζες και βλαστούς. |
| Τμήματα κοτυληδόνας. | Βλάστηση. Κάλος / αγενή έμβρυα. Κάλος / αναγέννηση φυτού. Κάλος / αγενή έμβρυα. |
| Ζυγωτικό έμβρυο. | Κάλος. |
| Σπόρος. | |
| Προτοπλάστες | |

3.5 Οργανογέννεση και αγενή εμβρυογέννεση της Χουρμαδιάς.

Τα φυτάρια Χουρμαδιάς (*Phoenix Dactylifera* L.) μπορούν να παραχθούν μέσω **αγενοῦς εμβρυογέννεσης** δηλαδή, έναρξη και βλάστηση των σωματικών εμβρύων από τον κάλο ή με **οργανογέννεση** δηλαδή, ανάπτυξη ρίζας (ριζογέννεση) και βλαστού (βλαστογέννεση) από τμήμα ακραίου βλαστού ή πλευρικού οφθαλμού.

Η τεχνική της οργανογέννεσης, βασίζεται στην δυνατότητα των μεριστωματικών ιστών, που αποφεύγουν το σχηματισμό κάλου και δεν χρησιμοποιείται το 2,4-D. Οι ρυθμιστές αύξησης που χρησιμοποιούνται και περιλαμβάνονται στα θρεπτικά υποστρώματα είναι όσο το δυνατόν, σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις.

Η τεχνική της οργανογέννεσης αποτελείται από 4 στάδια :α) Έναρξη των μεριστωματικών οφθαλμών (αποκαλούμενο αρχικό στάδιο), β) πολλαπλασιασμός, γ) επιμήκυνση και δ) ριζοβολία (επόμενο βήμα). Η επιτυχία μιας τέτοιας τεχνικής εξαρτάται πάρα πολύ από την επιτυχία του πρώτου σταδίου (έναρξης). Επιπλέον τα διάφορα προβλήματα που συναντάμε σε άλλα επίπεδα έχουν την προέλευσή τους από την φάση έναρξης. Αυτά τα τεχνικά προβλήματα μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

***φάση έναρξης.**

- Το φυσιολογικό στάδιο της παραφυάδας, όπως βάρος, ηλικία, περίοδο κοπής.
- βακτηριακή μόλυνση.
- Αμαύρωση των έκφυτων και του θρεπτικού υποστρώματος.
- Διαφορετική αντίδραση μερικών κλώνων και ποικιλιών.
- Πρόωρη ανάπτυξη ρίζας.
- Έλλειψη επανάληψης των αποτελεσμάτων.

* **Φάση πολλαπλασιασμού.**

- Χαμηλό ποσοστό πολλαπλασιασμού.
- Μείωση της αναγέννησης (πρόωρη ριζοβολία).

* **Ριζοβολία και επιμήκυνση.**

- Χαμηλή τάση ριζοβολίας.

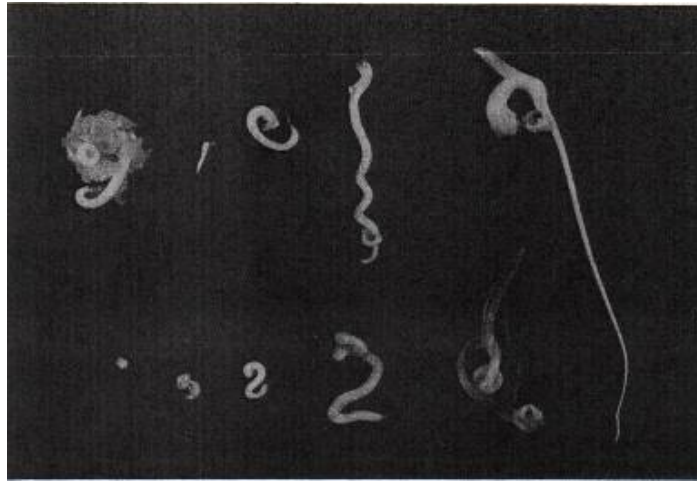
* **Φάση εγκλιματισμού.**

- Χαμηλό ποσοστό επιβίωσης.

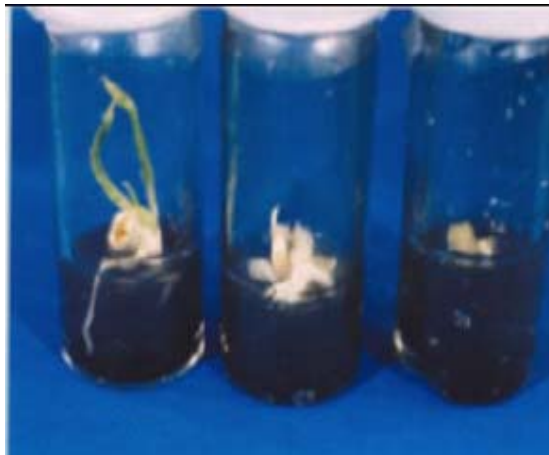
Αγενή εμβρυογέννεση (επικαλούμενη και σωματική) βασίζεται στην παραγωγή και τον πολλαπλασιασμό κάλων, που προκύπτουν από τη βλάστηση και επιμήκυνση των σωματικών εμβρύων. Αυτή η τεχνική έχει παρουσιάσει έναν ανεξάρτητο γενότυπο με υψηλό ποσοστό πολλαπλασιασμού και ένα επίσης υψηλό ποσοστό επιβίωσης στην μεταφύτευση στο έδαφος (πίνακας 3.2).

Έχουν υπάρξει μελέτες για τον μικροπολλαπλασιασμό της Χουρμαδιάς που αφορούν την παραγωγή κάλου μέσω της σωματικής εμβρυογέννεσης, (Tisserat, 1979; Sharma *et al*, 1984; Daquin and Letouze, 1988; Letouze *et al*, 2000; Al-Baiz *et al*, 2000; Al-Khayri *et al*, 2001; Al-Khalifah, 2000).

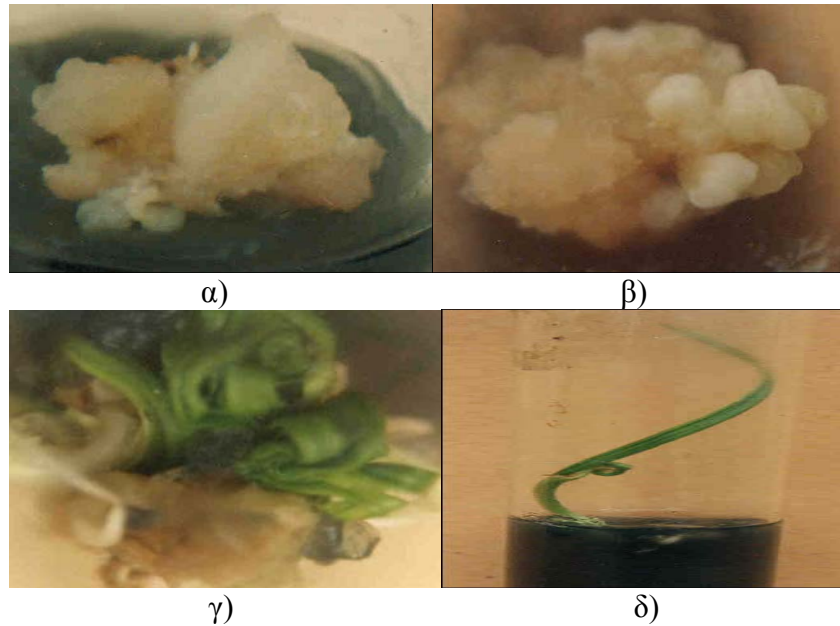
Σε μελέτες που έγιναν οι ερευνητές (Al-Khayri *et al*, 2001; Al-Baiz *et al*, 2000; Al-Khalifah, 2000) αναφέρουν ότι δεν υπάρχει κάποιο γενικό πρωτόκολλο για τον μικροπολλαπλασιασμό της Χουρμαδιάς μέσω της σωματικής εμβρυογέννεσης, διότι η σύνθεση του θρεπτικού υποστρώματος με τους συγκεκριμένους συνδυασμούς ρυθμιστών αύξησης στις ιδιαίτερες συγκεντρώσεις και ο χρόνος παραμονής των έκφυτων στις *in vitro* καλλιέργειες, διαφέρει από ποικιλία σε ποικιλία, και παρουσιάζει διαφορετική επίδραση στην παραγωγή κάλου και στην επαγωγή σωματικών εμβρύων.



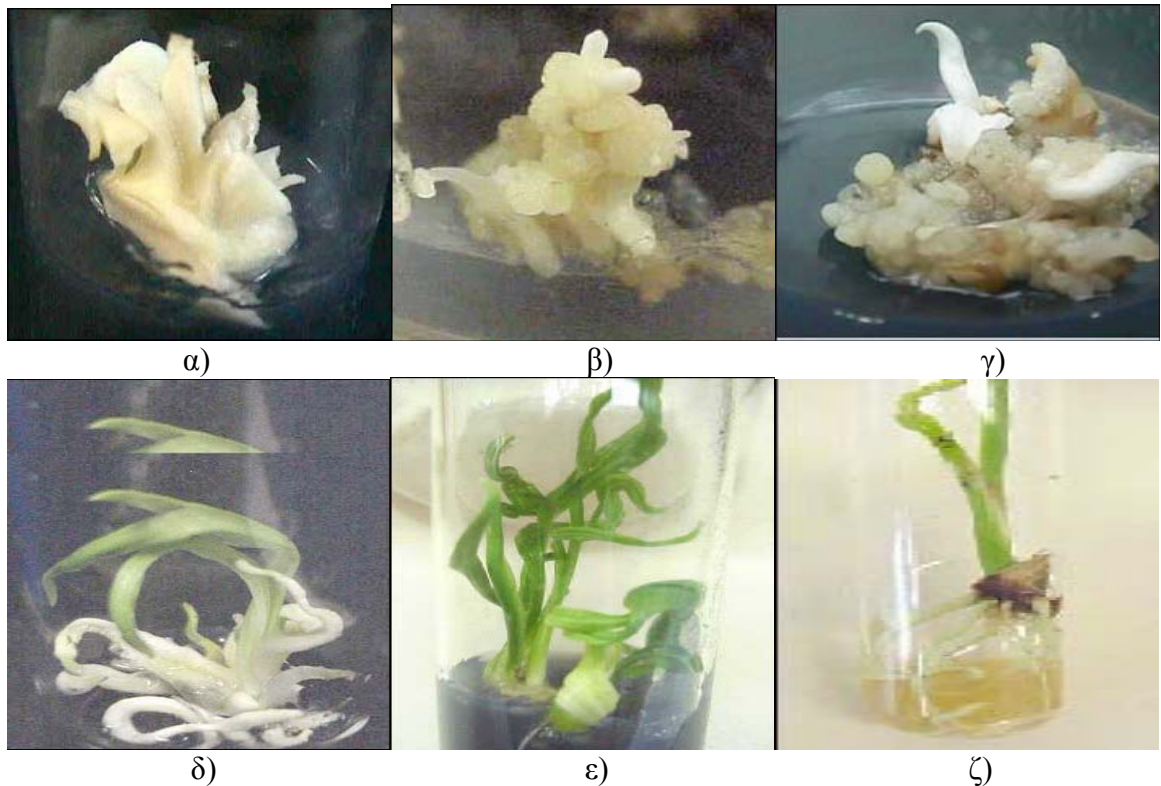
Εικόνα 3.8: Σύγκριση μεταξύ αγενούς και ζυγωτικής εμβρυογένεσης *in vitro*. Φάσεις ανάπτυξης αγενούς εμβρυογένεσης (αριστερά προς δεξιά, στην πάνω σειρά): Η μάζα του κάλου δίνει αφυλετικό έμβryo. Το αρχικό αφυλετικό έμβryo αυξάνει την κοτυληδόνα του. Περαιτέρω επιμήκυνση της κοτυληδόνας. Βλάστηση της αρχικής ρίζας. Αφυλετικό φυτάριο με τα πρώτα του φύλλα και το αρχικό ριζικό του σύστημα. Φάσεις ανάπτυξης ζυγωτικής εμβρυογένεσης (αριστερά προς δεξιά, στην κάτω σειρά): Το απομονωμένο έμβryo επιμηκύνει την κοτυληδόνα του. Περαιτέρω επιμήκυνση της κοτυληδόνας. Το ζυγωτικό φυτάριο με 2 φύλλα αλλά μη αναπτυγμένη αρχική ρίζα. (Tisserat B, 1984b).



Εικόνα 3.9: Κάλος που υποκαλλιεργήθηκε σε θρεπτικό υπόστρωμα MS που περιείχε επιπλέον με 54 μ M NAA, 148 μ M 2iP, και 1,5g ενεργού άνθρακα. Από δεξιά προς αριστερά, παρατηρήθηκαν τα ακόλουθα στάδια: α) Υποκαλλιεργημένος κάλος, β) Ανάπτυξη εμβρύων, γ) Ανάπτυξη βλαστού και ρίζας (Al-Khayri *et al*, 2001).



Εικόνα 3.10: Στάδια *in vitro* ανάπτυξης της Χουρμαδιάς μέσω της σωματικής εμβρυογένεσης. α) Ανάπτυξη κάλου. β) Εμφάνιση σωματικών εμβρύων. γ) Εμφάνιση και ανάπτυξη βλαστού. δ) Ανάπτυξη απομονωμένου βλαστού (Al-Baiz *et al*, 2000).



Εικόνα 3.11: Στάδια *in vitro* καλλιέργειας Χουρμαδιάς για παραγωγή φυταρίων, μέσω της σωματικής εμβρυογένεσης από την ποικιλία “Mosaiifah”. α) Έκφυτο Χουρμαδιάς. β) Εμβρυογενής κάλος. γ) Εμβρυογένεση. δ) Πολλαπλασιασμός και βλάστηση έμβρυων. ε) Αύξηση φυτάριου. ζ) Απομονωμένο φυτάριο με αναπτυγμένο ριζικό σύστημα. (Al-Khalifah, 2000).

Πίνακας 3.2: Καταγραφή του ποσοστού εμφάνισης των μορφογενετικών σχηματισμών από έκφυτα Χουρμαδιάς (*Phoenix Dactylifera* L.).

| Έκφυτο | Ποσοστό εμφάνισης % | Μορφογενετική σχηματισμοί |
|---|---------------------|--|
| Πλευρικοί οφθαλμοί παραφυάδας. | 100 | Καλογένεση προκύπτει από αγενή εμβρυογένεση ή από τυχαίους οφθαλμούς. |
| Ιστός ρίζας από σπορόφυτο. | 100 | Επιμήκυνση πλευρικών ριζών. |
| Βλαστική κορυφή από σπορόφυτο. | 100 | Μασχαλιαίες διακλαδώσεις. |
| Αρχέγονα φύλλα από παραφυάδα | 85 | Παραγωγή κάλου από αγενή εμβρυογένεση ή οργανογένεση. |
| Βλαστική κορυφή παραφυάδας. | 80 | Μασχαλιαία διακλάδωση, από παραγωγή κάλου από εμβρυογένεση ή οργανογένεση. |
| Τμήμα ιστού από κοτυληδόνα. | 80 | Κάλος, ρίζες, βλαστοί ή ολόκληρο φυτό. |
| Τμήμα φύλλου από σπορόφυτο. | 75 | Παραγωγή κάλου από τυχαίους οφθαλμούς. |
| Τμήμα από ανώριμα ωάρια. | 72 | Παραγωγή κάλου από αγενή εμβρυογένεση. |
| Μερίστωμα από παραφυάδα | 40 | Παραγωγή κάλου από εμβρυογένεση ή από τυχαίους οφθαλμούς. |
| Κεντρικό νεύρο φύλλου από ενήλικο φυτό. | 20 | Κάλος, αγενής εμβρυογένεση ή μόνο ριζοβολία. |
| Τμήμα από μεσοκάρπιο | 0 | Χωρίς αποτέλεσμα. |

3.6 Θρεπτικό υπόστρωμα για καλλιέργεια *in vitro*.

Η επιτυχία της ιστοκαλλιέργειας εξαρτάται από μία πλειάδα παραγόντων, οι οποίοι προκαλούν φυσιολογικές μεταβολές στις μονάδες αναπαραγωγής και επηρεάζουν την ανάπτυξή τους. Οι σπουδαιότεροι παράγοντες είναι οι ακόλουθοι: α) η κατάσταση υποστρώματος (υγρή, στερεή ή ημιστερεή), β) η σύνθεση υποστρώματος, γ) το είδος του έκφυτου (τμήμα ρίζα, βλαστική κορυφή, κ.α.), δ) η ένταση φωτισμού, ε) η θερμοκρασία, ζ) η φωτοπερίοδος.

Στην Χουρμαδιά βασικός παράγοντας για την επιτυχία της ιστοκαλλιέργειας είναι το θρεπτικό υπόστρωμα, που πρέπει να παρέχει τα βασικά συστατικά για την ανάπτυξη και επιβίωση του έκφυτου και δευτερευόντως να ελαχιστοποιεί τις πιθανότητες μαρασμού του έκφυτου και του θρεπτικού υποστρώματος.

3.6.1. Σύνθεση θρεπτικού υποστρώματος.

Όπως όλα τα φυτά που αναπτύσσονται σε εδαφικές συνθήκες έτσι και τα ασυπτικά καλλιεργούμενα έκφυτα για να αναπτυχθούν χρειάζονται μακρο-μικροστοιχεία, τα οποία προστίθενται στο θρεπτικό υπόστρωμα με την μορφή ανόργανων αλάτων.

- **Μακροστοιχεία:** Τα βασικότερα από αυτά είναι το N, P, K, Ca και Mg, τα οποία περιέχουν τα κύρια ιόντα που χρειάζονται τα έκφυτα.

- **Μικροστοιχεία:** Άλλα μεταλλικά στοιχεία απαραίτητα για το φυτικό μεταβολισμό και επομένως για την ανάπτυξη του έκφυτου είναι το θείο (S), το μαγγάνιο (Mn), ο ψευδάργυρος (Zn), το βορικό οξύ H_3BO_3 , ο χαλκός (Cu), το Μολυβδαίνιο (Mo), ο σίδηρος (Fe), κ.ά.

Παρουσία οργανικών ενώσεων.

➤ βιταμίνες. Είναι οργανικά συστατικά που προωθούν την αύξηση και ανάπτυξη των φυτικών ιστών *in vitro*. Στα θρεπτικά υποστρώματα χρησιμοποιούνται το μυο-ινοσιτόλ, η θειαμίνη, το νικοτικό οξύ, η βιοτίνη κ.ά. Όμως οι πλέον απαραίτητες είναι οι θειαμίνη και το μυο-ινοσιτόλ.

➤ Αμινοξέα και αμίδια. Τα συστατικά αυτά προστίθενται συνήθως στο υπόστρωμα καλλιέργειας ως ευκολοδιαθέσιμη πηγή αζώτου. Χρησιμοποιούνται η γλυκίνη, η γλουταμίνη και η κιστεΐνη, η οποία οξειδώνεται σε κυστίνη και κυστεϊκό οξύ που εμποδίζει το μαύρισμα των υπο καλλιέργεια εκφύτων.

➤ Σάκχαρα. Συνήθως χρειάζεται η σακχαρόζη (δισακχαρίτης) ή η γλυκόζη (μονοσακχαρίτης). Η προσθήκη του σακχάρου είναι απαραίτητη επειδή τα καλλιεργούμενα φυτικά έκφυτα δεν είναι σε θέση να παράγουν τις αναγκαίες ποσότητες υδατανθράκων (διαμέσου της φωτοσύνθεσης), προκειμένου να καλύψουν τις ανάγκες τους.

Ρυθμιστές.

Ρυθμιστές της αύξησης και της ανάπτυξης των έκφυτων *in vitro* είναι οργανικές ενώσεις που επηρεάζουν την κυτταρική διαίρεση και μορφογένεση και ρυθμίζουν την κατανομή των οργανικών ενώσεων τις οποίες βιοσυνθέτει το έκφυτο. Οι φυσικοί ρυθμιστές των φυτών/έκφυτων είναι οι ορμόνες. Οι ορμόνες συντίθενται σε πολύ μικρές ποσότητες. Εκτός από τις φυσικές ορμόνες υπάρχουν και οι συνθετικές ορμόνες, που έχουν παρόμοια δομή με τις φυσικές και συνήθως είναι πιο δραστικές. Οι πιο σημαντικοί ρυθμιστές είναι οι αυξίνες και οι κυτοκινίνες.

➤ Αυξίνες. Εξυπηρετούν την φυτική αύξηση, τη ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης και επιμήκυνσης, το σχηματισμό κάλου και την έκπτυξη των επίκτητων ριζών. Οι αυξίνες που χρησιμοποιούνται στην ιστοκαλλιέργεια είναι: το ινδολυλοξικό οξύ (IAA), το ινδολυλοβουτυρικό οξύ (IBA), το ναφθαλινοξικό οξύ (NAA) και το 2,4-διχλωροφαινοξυξικό οξύ (2,4-D).

➤ Κιτοκινίνες. Σχεδόν όλες οι κιτοκινίνες είναι παράγωγα της αδεΐνης. Οι κυριότερες κιτοκινίνες είναι η κινεΐνη, ζεαΐνη, 6-ισοπεντυλ-αδεΐνη (6-IPA), η 6-βενζυλ-αμινοπουρίνη (BAP), η 6-βενζυλ-αδεΐνη (BA) και η 2-iP. Οι κιτοκινίνες προάγουν την κυτταρική διαίρεση (υπερπλασίες) τους λεγόμενους όγκους. Έχει αποδειχθεί ότι εκείνο που έχει μεγαλύτερη σημασία είναι η σχετική αναλογία κυτοκινίνης / αυξίνης παρά η ακριβής ποσότητα τους. Συγκεκριμένα όταν στο θρεπτικό υπόστρωμα υπάρχει μία ορισμένη αναλογία κιτοκινίνης και IAA, τότε έχουμε σχηματισμό αδιαφοροποίητης μάζας κυττάρων (κάλος). Όταν αυξηθεί η συγκέντρωση της κιτοκινίνης σε σχέση με την αυξίνη, τότε θα υπάρξει διαφοροποίηση των κυττάρων σε βλαστικές κορυφές. Σε αντίθετη περίπτωση, δηλαδή εάν αυξηθεί η συγκέντρωση της αυξίνης σε σχέση με εκείνη της κιτοκινίνης τότε θα υπάρξει διαφοροποίηση των κυττάρων σε ρίζες.

Νερό.

Η προσθήκη του στοιχείου αυτού θεωρείται απαραίτητη σε όλα τα θρεπτικά υποστρώματα. Χρησιμοποιείται από τα φυτικά κύτταρα κατά την διάρκεια της φωτοσύνθεσης για το σχηματισμό των υδατανθράκων.

Άγαρ.

Είναι απαραίτητο για την παρασκευή των στερεών θρεπτικών υποστρωμάτων και χρησιμοποιείται για την στερεοποίηση των υποστρωμάτων.

3.6.2 Αναφορές και πειράματα που έγιναν για την βασική σύσταση θρεπτικού υποστρώματος για την Χουρμαδιά.

Ο Shroeder (1970) πρότεινε ένα τροποποιημένο θρεπτικό υπόστρωμα WH εμπλουτισμένο με IAA και κινετίνη για την καλλιέργεια διάφορων ιστών Χουρμαδιάς. Οι Ammar and Benbadis (1977) πρότειναν θρεπτικό υπόστρωμα Knob για την βλάστηση σπόρων Χουρμαδιάς. Η προσθήκη (βολφραμιούχου άνθρακα)_{sw} στο θρεπτικό υπόστρωμα MS για την βλάστηση εμβρύων Χουρμαδιάς δεν είναι απαραίτητη. Επίσης αναφέρουν ότι σε διάφορα είδη φοίνικα έχουν βλαστήσει έμβρυα, σε τροποποιημένο θρεπτικό υπόστρωμα MS που περιείχε 0,3% άνθρακα χωρίς ορμόνες ή _{sw} (Reuveni and Lilien-Kipnis, 1969; Tisserat, 1979a). Για την παραγωγή κάλου από σωματικούς ιστούς Χουρμαδιάς, ένα τροποποιημένο MS θρεπτικό υπόστρωμα εμπλουτισμένο με αυξίνη (είτε 2,4-D, είτε NAA) είναι κατάλληλο (Ammar and Benbadis, 1977; Reuveni and Lilien-Kipnis 1974). Χρησιμοποίηση ενεργού άνθρακα σε τροποποιημένο θρεπτικό υπόστρωμα MS και αύξηση των επιπέδων των αυξινών σε 0,05, με 0,5mM επέτρεψε τη δημιουργία “πλούσιου” κάλου από διάφορα έκφυτα Χουρμαδιάς (Reynold and Murashige, 1979; Tisserat, 1979a,b). Ο Reuveni (1979) υποστήριξε πως μειώνοντας τα ανόργανα άλατα κατά το μισό της συγκέντρωσής τους, σε θρεπτικό υπόστρωμα MS και προσθέτοντας υδρογονάνθρακα, NAA, κινετίνη, IBA, και 2,4-D με ενεργό άνθρακα κατάφερα να αποκτήσει εμβρυογενετικό κάλο από απομονωμένα πολυεμβρυογονικά έμβρυα.

Η σημασία των υδρογονανθράκων στην επιβίωση απομονωμένων βλαστικών κορυφών Χουρμαδιάς έχει καταγραφεί (Tisserat, 1979a). Έκφυτα Χουρμαδιάς κατάφεραν να επιβιώσουν και να αναπτυχθούν σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 3% σουκρόζη, ανεξάρτητα με την παρουσία ή απουσία ανόργανων αλάτων, βιταμινών και ορμονών. Παρόλα αυτά τα τελευταία συστατικά ήταν απαραίτητα για την ολοκλήρωση της *in vitro* καλλιέργειας.

Ο ρόλος των βιταμινών στην παραγωγή κάλου είναι άγνωστος ακόμα, παρόλα αυτά inositol και thiamine-HCl έχουν συχνά προστεθεί στο θρεπτικό υπόστρωμα και έχουν αποτέλεσμα (Reynold and Murashige, 1979; Tisserat, 1981a; Omar, 1988a,b). Άλλοι ερευνητές (Rhiss *et al.* 1979; Poulain *et al.* 1979) παρατήρησαν, ότι για την επιβίωση και ανάπτυξη των ακραίων βλαστών ήταν απαραίτητη η χρησιμοποίηση στο θρεπτικό υπόστρωμα, διάφορες βιταμίνες μαζί με nicotinic acid, pyridoxine-HCl, thiamine-HCl, biotin and inositol.

3.6.3 Θρεπτικό υπόστρωμα κατάλληλο για ιστοκαλλιέργεια Χουρμαδιάς (*Phoenix Dactylifera L.*).

Για την παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού Date Palm σε συνθήκες *in vitro* προτείνεται συνήθως το υπόστρωμα των Murashige and Skoog (1962) γνωστού και ως μέσου MS. Είναι ένα υπόστρωμα βάσης, το οποίο περιέχει τα μικροστοιχεία, μακροστοιχεία και βιταμίνες των Murashige and Skoog (πίνακας 3.3 και 3.4).

Το θρεπτικό υπόστρωμα διατίθεται στο εμπόριο σε μορφή σκόνης 4,3g, όμως μπορεί να παρασκευαστεί και στο εργαστήριο που διαθέτει την κατάλληλη υποδομή. Δηλαδή χρησιμοποιούνται οι προτεινόμενες από τους Murashige and Skoog ποσότητες

μακροστοιχείων, μικροστοιχείων και βιταμινών και παρασκευάζονται μητρικές διαλύσεις οι οποίες διατηρούνται στη θερμοκρασία των 4-5 C° για λίγες ημέρες ή στην κατάψυξη για μερικούς μήνες. Από τα μητρικά διαλύματα λαμβάνονται εκείνα τα ml, που περιέχουν τις συγκεκριμένες ποσότητες μακροστοιχείων, μικροστοιχείων και βιταμινών που αναγράφονται στους (πίνακες 3.3 και 3.4) και τοποθετούνται σε κωνική φιάλη όπου υπάρχει απιονισμένο νερό.

Διάφορες συστάσεις θρεπτικών υποστρωμάτων έχουν αναφερθεί για την καλλιέργεια Χουρμαδιάς. Τα ανόργανα άλατα που προτάθηκαν από τον MS (1962) έχουν χρησιμοποιηθεί από πολλούς ερευνητές για την ιστοκαλλιέργεια Χουρμαδιάς (Eeuwens, 1978; El-Hennawy and Wally, 1978; Reynolds and Murashige, 1979; Tisserat, 1981a; Tisserat *et al.* 1981; Omar 1987, 1988a). Αυτός ο συνδυασμός αλάτων έχει αποδειχθεί επαρκής για την καλλιέργεια έκφυτων Χουρμαδιάς (Tisserat, 1979a; Tisserat and De Mason, 1980; Omar and Arif, 1985) καλογένεσης (Zaid and Tisserat, 1983a,b; Omar 1987) και για την αγενή εμβρυογένεση και αναγέννηση φυτών (Reynold and Murashige, 1979; Omar, 1988a, b).

Πίνακας 3.3 Θρεπτικά συστατικά υποστρώματος MS για εμβρυογένεση και οργανογένεση, Χορμαδιάς (Date palm).

| Συστατικά (mg/l) | Εκβλάστηση ζυγωτικού εμβρύου | Σωματική εμβρυογένεση από κάλο | Ανάπτυξη βλαστικής κορυφής και πλευρικών οφθαλμών | Βλαστικός πολλαπλασιασμός | Εκβλάστηση ρίζας | Ρίζα Βλαστός | Κοτυλιδόνα Φύλλο |
|---|------------------------------|--------------------------------|---|---------------------------|------------------|--------------|------------------|
| Murashige and Skoog (1962) | + | + | + | + | + | + | + |
| ανόργανα άλατα | 170 | 170 | - | - | 170 | 170 | 170 |
| NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O | 3000 | 30000 | 30000 | 30000 | 30000 | 30000 | 30000 |
| Sucrose | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Inositol | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 |
| Thiamine. HCl | - | - | 40 | 40 | - | - | - |
| Adnine sulfatε | 8000 | 8000 | 8000 | 8000 | 8000 | 8000 | 8000 |
| Agar | - | - | - | - | - | - | - |
| Activated charcoal | 0.3 | 300 | - | 300 | 300 | 300 | 300 |
| 2,4-D | - | - | - | - | - | - | - |
| NAA | - | - | - | 10 | 0.1 | 10 | 1 |
| 2- iP | - | - | - | 3 | - | 3 | 3 |
| BAP | 0.01 | - | 0.01 | - | 0.01 | - | - |
| pH | 5.7 | 5.7 | 5.7 | 5.7 | 5.7 | 5.7 | 5.7 |

Πίνακας 3.4. Θρεπτικά συστατικά υποστρώματος MS για καλογέννηση από διαφορετικά έκφυτα Χουρμαδιάς (Date palm).

| Συστατικά (mg/l) | Έκφυτα | | | | | | |
|---|---|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------|--------------------|--|
| | Βλαστικές κορυφές και πλευρικοί οφθαλμοί παραφυάδας | Βλαστικές κορυφές από σπορόφυτο | Αρχέγονα φύλλα από παραφυάδα | Τμήμα ωαρίου | Κοτυληδόνα | Μερίστωμα ράχης | |
| Myrshige and Skoog (1962) | + | + | + | + | + | + | |
| ανόργανα άλατα | 170 | - | 170 | 170 | - | 170 | |
| NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O | 30000 | 30000 | 30000 | 30000 | 30000 | 30000 | |
| Sucrose | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | |
| Inositol | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | |
| Thiamine. HCl | 40 | 40 | - | 40 | - | - | |
| Adenine sulfate | 8000 | 8000 | 8000 | 8000 | 8000 | 8000 | |
| Agar | | | | | | | |
| Activated charcoal | 300 | 300 | 300 | 300 | 300 | 300 | |
| 2,4-D | 100 | - | - | 100 | - | - | |
| NAA | - | 100 | 100 | - | 10 | 100 | |
| 2-iP | 3 | - | - | - | 3 | 3 | |
| KIN | - | - | 3 | 2 | - | - | |
| pH | 5.7 | 5.7 | 5.7 | 5.7 | 5.7 | 5.7 | |

Πίνακας 3.5. Θρεπτικά υποστρώματα MS για *in vitro* καλλιέργεια Χουρμαδιάς (Date palm).

| Συστατικά | Τύπος θρεπτικού υποστρώματος | | | |
|--|------------------------------|----------------|-----------------|---------------------|
| | Εκβλάστηση εμβρύου | Παραγωγή κάλου | Βλαστική κορυφή | επίτευξη ριζοβολίας |
| Murashige and Skoog (1962) | + | + | + | + |
| Ανόργανα άλατα | 0.087 | 0.087 | 0.087 | 0.087 |
| Πηγές υδρογονάνθρακα | 0.46 | 0.46 | 0.46 | 0.46 |
| Sucrose (M) | 1.2 | 1.2 | 1.2 | 1.2 |
| Πηγές βιταμινών | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 |
| Meso-Inositol dihydrate (Mm) | 0.3 | 0.3 | 0.3 | — |
| Thiamine·HCl (μM) | — | — | — | — |
| Σύνθετα συστατικά | — | — | — | — |
| Phytagar (%) | — | — | — | — |
| Charcoal, activated, neutralized (Sigma) (%) | — | — | — | — |
| Φυτορμόνες | — | — | — | — |
| 2,4-D (μM) | — | — | 44.0 | — |
| 2iP (μM) | — | — | 14.5 | — |
| NAA (μM) | — | — | — | 0.54 |

3.6.4 Μαύρισμα των φυτικών ιστών και του θρεπτικού υποστρώματος στις *in vitro* καλλιέργειες Χουρμαδιάς (*Phoenix dactylifera L.*) και μέθοδοι απολύμανσης των εκφύτων.

Ένα από τα κύρια εμπόδια στην ιστοκαλλιέργεια Χουρμαδιάς είναι οι μολύνσεις που εμφανίζονται ύστερα από το φύτεμα των έκφυτων στο θρεπτικό υπόστρωμα, τα οποία έχουν υποστεί επιφανειακή απολύμανση (Reuveni *et al.*, 1972; Smith and Thomas, 1973; Tisserat, 1979b). Η μόλυνση μπορεί να παραχθεί εβδομάδες ή μήνες αργότερα από την έναρξη της *in vitro* καλλιέργειας Χουρμαδιάς, όπου πιστεύεται ότι παρατηρείται λόγω εσωτερικού φυλακισμένου μολύσματος ή ανθεκτικού μολύσματος στις μεθόδους απολύμανσης (Bajaj, 1992; Sharma *et al.*, 1980; Tisserat, 1979). Αρκετοί ερευνητές έχουν επισημάνει τα προβλήματα που δημιουργούνται από αδυναμία παραγωγής επαρκών απολυμασμένων εκφύτων (Fisher and Tsai, 1978; Reuveni *et al.*, 1972; Smith and Thomas, 1973; Al- Khalfah, 2001; Zaid, 1984; Tisserat, 1979a).

Οι ιστοί της Χουρμαδιάς είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι, επειδή αμέσως μετά την κοπή του ιστού ακολουθεί έκκριση ουσίας η οποία προκαλεί θανατηφόρο μαύρισμα στο θρεπτικό υπόστρωμα (Al-Mendi and Hogan, 1979; Oppenheimer and Reuveni, 1972; Reuveni and Lilien-Kipnis, 1974; Tisserat, 1979a). Η χρήση αντιβιοτικών ή χημικών απολυμαντικών έχει αποδειχθεί ότι είναι μία αποτελεσματική μέθοδος στην ιστοκαλλιέργεια Χουρμαδιάς, για τον έλεγχο εσωτερικού μολύσματος. Για την ελαχιστοποίηση του μαυρίσματος, ο Murashige, (1974) είχε προτείνει προεβάπτιση των έκφυτων και προσθήκη ασκορβικού οξέος και κιτρικού οξέος στα θρεπτικά υποστρώματα. Οι Zaid and Tisserat (1983a, 1983b) ενυδάτωσαν τα έκφυτα Χουρμαδιάς με ένα αντιοξειδωτικό διάλυμα (150mg/l κιτρικού οξέος και 100mg/l ασκορβικού οξέος) πριν τις επεξεργασίες αποστείρωσης της επιφάνειάς τους. Η προσθήκη ενός συνδυασμού αντιβιοτικών, συμπεριλαμβανομένου του κιτρικού άλατος, της αδενίνης και της γλουταμίνης, καθυστέρησε το μαύρισμα των έκφυτων Χουρμαδιάς (Rhiss *et al.*, 1979). Η προσθήκη αντιβιοτικών στα θρεπτικά υποστρώματα όπως το dihydroxyphtalene, dimethylsulfoxide και polyvinylpyrrolidone αποδείχθηκαν αποτελεσματικά (Reuveni and Lilien-Kipnis, 1974; Zaid, 1984). Οι Aparatjrut and Blake (1977) πρότειναν, ότι το μαύρισμα θα μπορούσε να αντιμετωπιστεί από ένα ισορροπημένο θρεπτικό υπόστρωμα. Η χρήση του ενεργού άνθρακα προτιμάται από την κιστεΐνη και αντιβιοτικά, επειδή τα τελευταία είναι συχνά τοξικά στους ιστούς Χουρμαδιάς σε υψηλές συγκεντρώσεις (Zaid, 1981; 1990). Επίσης για να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα θανάτου των ιστών από μαύρισμα ενεργός άνθρακας έχει προστεθεί στο θρεπτικό υπόστρωμα με ευεργετικά αποτελέσματα στους ιστούς (Zaid and Hughes, 1989a,b; Fisher and Tsai, 1978, 1979; Oppenheimer and Reuveni, 1972; Reuveni and Lilien-Kipnis, 1974; Tisserat, 1979a, b; Tisserat *et al.*, 1979; Wang and Huang, 1976). Οι Thomas and Smith (1973) υποστήριξαν πως οι αφαίρεση των μαύρων ιστών κατά την διάρκεια της καλλιέργειας αποτρέπει αυτό το πρόβλημα.

Η πιο συνηθισμένη και αποτελεσματική μέθοδος για την επιφανειακή απολύμανση των έκφυτων Χουρμαδιάς, αποτελεί η εμφύσηση του έκφυτου σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου NaOCI (0,26-2,6% που περιέχει μερικές σταγόνες tween- 20) για 15-30 λεπτά, έτσι ώστε το απολυμαντικό να μπορεί να εισχωρήσει καλά στους ιστούς. Κατόπιν τα έκφυτα ξεπλένονται 3 φορές με απιονισμένο νερό, ώστε να απομακρυνθούν τα χημικά κατάλοιπα. Ο Tisserat (1979a), πρότεινε μία τελική εμφύσηση των έκφυτων σε NaOCI για 5-10 δευτερόλεπτα, χωρίς ξέπλυμα πριν από την *in vitro* καλλιέργεια. Αυτή η μέθοδος έχει αποδειχθεί αποτελεσματική για απολύμανση αναπτυγμένων βλαστικών κορυφών και πλευρικών οφθαλμών (Tisserat, 1979a) ωαρίων (Omar and Arif, 1985; Omar, 1988a). Απολύμανση ανθοταξίας μπορεί να

επιτευχθεί με τρίψιμο του κλειστού σπάδικα με ένα κομμάτι βαμβακιού που υγραίνεται με 95% οινόπνευμα, συνήθως είναι ικανοποιητικό για την αποστείρωση της επιφάνεια του, χωρίς την ανάγκη απολυμαντικών θεραπειών (Eeuwens, 1976, 1978).

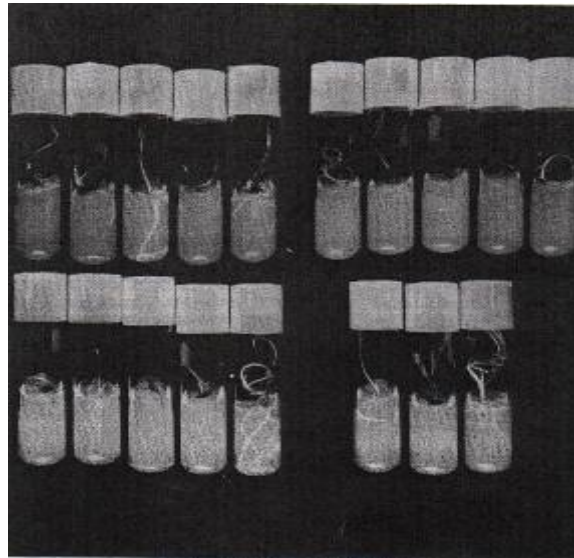
3.7 Πρωτόκολλα.

Τα ακόλουθα πρωτόκολλα δεν είναι κατ' ανάγκη απόλυτα αλλά πρέπει να αποτελούν οδηγό και μπορούν να τροποποιηθούν για έρευνες πάνω σε άλλα είδη Φοινικόδενδρων. Όλες οι παρακάτω διαδικασίες γίνονται σε θάλαμο νηματικής ροής σε αποστειρωμένες συνθήκες.

3.7.1 Εκβλάστηση εμβρύων Χουρμαδιάς (*Phoenix dactylifera* L.).

1. Διαβροχή σπόρων για 24-28 ώρες σε νερό βρύσης για ενυδάτωση εμβρύου και διευκόλυνση του ανοίγματος του σπόρου.
2. Εμβάπτιση των σπόρων σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 2,6% (που περιέχει μία σταγόνα Tween-20 ανά 100ml διαλύματος) για περίπου 15-20 λεπτά. Απορροή σε απολυμαντικό διάλυμα και μεταφορά των σπόρων σε 15 X 150 δοχεία Petri. Πραγματοποιήστε όλες τις ακόλουθες εργασίες σε θάλαμο νηματικής ροής με αποστειρωμένες συνθήκες.
3. Χρησιμοποιώντας λαβίδες μήκους 7,5 ιντσών επιλέξτε σπόρους από το δοχείο Petri για εξαγωγή του εμβρύου. Τοποθετήστε το σπόρο μεταξύ του αντίχειρα και του δείκτη και χρησιμοποιώντας κόφτη (ο οποίος έχει εμβαπτιστεί σε αιθανόλη 95% και τοποθετηθεί σε φλόγα), πραγματοποιήστε μία διαμήκη τομή μήκους 2 cm στην πλευρά του σπόρου αντίθετα από το αυλάκι. Ο τεμαχισμένος σπόρος θα διασπαστεί, επιτρέποντας στο έμβρυο να αφαιρεθεί χωρίς ζημιά.
4. Χρησιμοποιώντας χειρουργικό νυστέρι με λαβίδες Νο.11 απομακρύνεται το έμβρυο από το τεμαχισμένο σπόρο είτε (α) τρυπώντας στην βάση του εμβρύου στο σημείο, δηλαδή στην άκρη που είναι περισσότερο σφηνωμένο στο σπόρο, είτε (β) ανυψώνοντας το έμβρυο από τη κοιλότητα του ενδοσπερμίου εφαρμόζοντας πίεση με την αμβλύα μεριά της χειρουργικής λεπίδας.
5. Τοποθετήστε προσεκτικά το απομονωμένο έμβρυο στην επιφάνεια του άγαρ. Αποφύγετε οποιαδήποτε ζημιά στο έμβρυο και την βύθιση του εμβρύου στο άγαρ.
6. Επώαστε τα έμβρυα σε θρεπτικό υπόστρωμα που αναφέρεται στον (πίνακα 3.5), (θρεπτικό υπόστρωμα για εκβλάστηση εμβρύου) σε ένταση φωτός 50 Fc παρεχόμενο από Gro-Lux λαμπτήρες φθορισμού στους 28°C σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών.
7. Τα έμβρυα θα αρχίσουν να μεγαλώνουν και θα βλαστήσουν μέσα σε 1-2 εβδομάδες. Μετά από 8 εβδομάδες καλλιέργειας τα έκφυτα θα αποκτήσουν μήκος 2-6 cm με αρχικό ριζικό σύστημα και πρώτα φύλλα. Μπορεί να είναι απαραίτητη η επανατοποθέτηση του εμβρύου κατά την διάρκεια αυτής της πρώτης καλλιέργειας έτσι ώστε το μέρος της ρίζας να βυθιστεί στο άγαρ και το μέρος των φύλλων να μεγαλώσει προς τα πάνω.
8. Για την μεταφορά των έκφυτων σε συνθήκες περιβάλλοντος, τα έκφυτα προσεκτικά απομακρύνονται από το άγαρ χωρίς το ριζικό σύστημα να υποστεί ζημιά και εμβαπτίζονται σε αποσταγμένο νερό για 15 λεπτά ώστε να αποφευχθεί αφυδάτωση και να αφαιρεθεί θρεπτικό υπόστρωμα που έχει προσκολληθεί στις ρίζες. Τα φυτάρια ξεπλένονται 3 φορές με αποσταγμένο νερό, στην συνέχεια ψεκάζονται με διάλυμα 0,5 % benolate μηκυτοκτόνο (DuPont, Wilmington, Delaware) και μεταφέρονται σε χώμα. Το χώμα αποτελείται από αποστειρωμένη τύρφη, βρύα και βερμικουλίτη σε σχέση 1:1. Τα φυτάρια φυτεύονται είτε σε πλαστικές γλάστρες με διάμετρο 3 ιντσών ή σε γλάστρες Jiffy peat και κλείνονται με μία διαφανή τέντα από λεπτή πολυστερίνη.

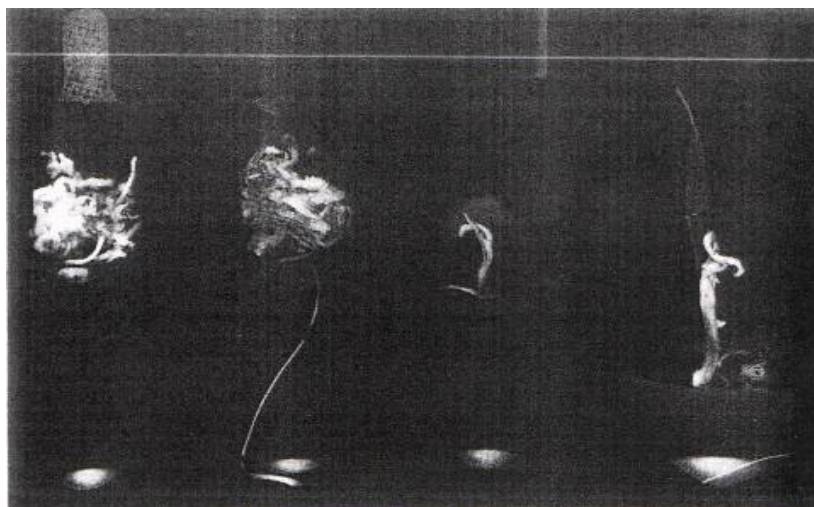
9. Παρέχετε 1 εβδομαδιαία εφαρμογή 0,5% benolate στο φύλλωμα για να ελαχιστοποιήσετε την ανάπτυξη μηκύτων. Ποτίστε τις γλάστρες κάθε 2 ημέρες με αποσταγμένο νερό και μία φορά την εβδομάδα διάλυμα Hoagland's μισής δύναμης για τους πρώτους 2 μήνες. Επωάστε τα φυτά αρχικά σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών με 800 Fc ένταση φωτισμού, 16 ώρες φωτοπερίοδο και 20°C θερμοκρασία για 2 εβδομάδες. Μεταφέρετε τα φυτά σε σκιαζόμενο θερμοκήπιο. Σταδιακά εγκλιματίστε τα φυτά στην υγρασία του θερμοκηπίου δημιουργώντας τρύπες στο πλαστικό κάλυμμα. Μετά από 2 μήνες τα καλύμματα μπορούν να απομακρυνθούν και τα φυτά να αντιμετωπιστούν σαν σπορόφυτα Χουρμαδιάς.



Εικόνα 3.12: Εκβλάστηση εμβρύων Χουρμαδιάς σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 45 μM 2.4-D μετά από 24 εβδομάδες από την έναρξη της καλλιέργειας. (Tisserat B, 1984b)

3.7.2 Φυτάρια από κάλο εμβρύου Χουρμαδιάς (*Phoenix dactylifera L.*).

1. Απομονώστε και εμφυτεύστε τα ζυγωτικά έμβρυα όπως περιγράφουν τα στάδια 1-5 του πρωτόκολλου για εμφύτευση εμβρύων.
2. Επωάστε τα έμβρυα σε υπόστρωμα παραγωγής κάλου (πίνακας 3.5) στους 28°C σε σκοτάδι.
3. Επανακαλλιεργήστε τα έκφυτα ανά διαστήματα 8 εβδομάδων. Ο σχηματισμός του κάλου είναι εμφανής μετά από 2-3 υποκαλλιέργειες.
4. Όταν ο εύθραυστος, άσπρος, οξώδης κάλος είναι εμφανής, υποκαλλιεργήστε τμήματα 1-2 cm σε θρεπτικό υπόστρωμα εκβλάστησης εμβρύου (πίνακας 3.5) και επωάστε τα έκφυτα στους 28°C θερμοκρασία, 16 ώρες φωτοπερίοδο και ένταση φωτισμού 50Fc. Τα αγενή έμβρυα και τα πράσινα φυτάρια συνήθως γίνονται εμφανή μέσα στις πρώτες 2-4 εβδομάδες καλλιέργειας.
5. Ακολουθήστε τα στάδια 7-9 του πρωτόκολλου εκβλάστησης εμβρύου για την παραγωγή των φυταρίων.



Εικόνα 3.13: Ιδανική αναπαράσταση της παραγωγής αφυλετικών φυταρίων Χουρμαδιάς από κάλλο. Από αριστερά προς δεξιά: Μάζα κάλλου που παράγει έμβρυο. Μεγέθυνση εμβρύων και σχηματισμός φύλλων και αρχικών ριζών. Απομονωμένο αφυλετικό έμβρυο. Αφυλετικό φυτάριο έτοιμο να μεταφερθεί σε συνθήκες εδάφους. (Rabechault και Cas, 1974)

3.7.3 Φυτάρια από βλαστικές κορυφές και κάλο πλευρικών οφθαλμών Χουρμαδιάς (*Phoenix dactylifera* L.).

1. Κάντε τομή σε παραφυάδες ή δέντρα Χουρμαδιάς χρησιμοποιώντας hachet ή οδοντωτό μαχαίρι. Απομακρύνεται φύλλα με οφθαλμούς στη μασχάλη. Οι βλαστικές κορυφές απομακρύνονται από το τελευταίο τμήμα του βλαστού αφού τα ώριμα φύλλα του έχουν απομακρυνθεί. Αποθηκεύστε τους οφθαλμούς και τις κορυφές σε κρύο αντιξειδωτικό διάλυμα (0,73mM κιτρικό οξύ και 0,57mM ασκορβικό οξύ. Διατηρήστε τα έκφυτα στο ψυγείο σε 0°C μέχρι την επιφανειακή απολύμανσή τους.
2. Αφαιρέστε τα εξωτερικά φύλλα του οφθαλμού και των κορυφών για να αποκτήσετε έκφυτα με μέγεθος 0,5 cm².
3. Απολυμάνετε τα έκφυτα περιτυλίγοντάς τα σε γάζα για να αποτρέψετε απώλειες κατά τους χειρισμούς και τοποθετήστε σε σωλήνες καλλιέργειας 25 X 150 mm. Απολυμάνετε σε διάλυμα 2,6% υποχλωριώδους νατρίου (που περιέχει μία σταγόνα Tween-20 ανά 100ml διαλύματος) για 15 λεπτά. Αποκολλήστε τις φυσαλίδες αέρα από τους ιστούς ταρασσοντας περιοδικά τους σωλήνες. Απομακρύνετε τους ιστούς από το διάλυμα του υποχλωριώδους νατρίου και ξεπλύνετε τους με αποσταγμένο νερό. Απομακρύνεται τα έκφυτα και μεταφέρεται τα ασυπτικά σε αποστειρωμένα τρυβλία Petri διαστάσεων 15 X 150 χιλιοστά.
4. Αφαιρέστε τα πρόσθετα φύλλα από τις βλαστικές κορυφές και τους οφθαλμούς για να αποκτήσετε έκφυτα με μέγεθος 1-3 mm². Εμβάπτιση για 10 δευτερόλεπτα σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου μπορεί να μειώσει τις πιθανότητες μόλυνσης πριν την εμφύτευση των έκφυτων στους σωλήνες καλλιέργειας.
5. Εμφυτεύστε τα έκφυτα σε θρεπτικό υπόστρωμα για παραγωγή κάλλου που περιγράφεται στον (πίνακα 3.5).
6. Ακολουθήστε τα στάδια 3-5 του πρωτόκολου φυτάρια από κάλο εμβρύου Χουρμαδιάς για να αποκτήσετε φυτάρια.

3.7.4 Πολλαπλασιασμός Χουρμαδιάς (*Phoenix dactylifera* L.) μέσω ριζοβολίας βλαστικών κορυφών.

1. Ακολουθήστε τα βήματα 1-4 του προηγούμενου πρωτόκολλου για να παράγετε φυτά από κάλο βλαστικών κορυφών και πλευρικών οφθαλμών.
2. Εμφυτεύστε τα έκφυτα σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιγράφεται στον (πίνακα 3.5) για βλαστικές κορυφές.
3. Επώαστε την καλλιέργεια σε ένταση φωτισμού 50Fc, φωτοπερίοδο 16 ώρες και 28°C σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών.
4. Τα έκφυτα θα αρχίσουν να παράγουν φύλλα και θα αυξηθούν σημαντικά σε μέγεθος μέσα στις πρώτες 4-6 εβδομάδες καλλιέργειας. Υποκαλλιεργήστε τα έκφυτα σε νέο θρεπτικό υπόστρωμα μετά από 8 εβδομάδες καλλιέργειας.
5. Ακολουθήστε τα βήματα 8-9 του πρωτόκολλου για εκβλάστηση εμβρύου Χουρμαδιάς, για να αποκτήσουν ρίζες τα έκφυτα οφθαλμοί και βλαστικές κορυφές ώστε να παραχθούν φυτάρια ικανά να επιβιώσουν σε ελεύθερες συνθήκες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4°

Εγκληματισμός και σκληραγώγηση φυταρίων Χουρμαδιάς σε εδαφικές συνθήκες.

Γενικά.

Τα φυτάρια στις *in vitro* καλλιέργειες αναπτύσσονται ετερότροφα και εξαρτώνται αποκλειστικά από το θρεπτικό υπόστρωμα για την διατροφή τους, κατά την διάρκεια του σταδίου μεταφοράς, από τις *in vitro* ελεγχόμενες συνθήκες στο εργαστηριακό θερμοκήπιο τα φυτάρια γίνονται αυτότροφα και φωτοσυνθέτουν. Αυτό το στάδιο μετάβασης (από ετεροτροφικό σε αυτοτροφικό) είναι σχετικά μακροχρόνιο στη Χουρμαδιά και συνήθως περιπλέκεται από την αργή αύξηση, όπου τα νέα φύλλα παράγονται, 2 έως 3 μήνες μετά την μεταφορά.

Ένα από τα σημαντικότερα εμπόδια σχετικά για την εφαρμογή και την πρακτική εγκατάσταση, καλλιέργειας ιστών με προοπτική την μαζική παραγωγή είναι η δυσκολία της επιτυχείς μεταφοράς των φυταρίων από τις *in vitro* ελεγχόμενες συνθήκες, σε ένα εδαφικό μέσο. Επομένως αυτή η διαδικασία πρέπει να οργανωθεί πολύ προσεκτικά, διότι τα φυτάρια είναι ευαίσθητα, μη συναγωνίσιμα και ευπαθή σε παθογόνα.

Στης εγκαταστάσεις *in vitro* καλλιέργειας, ως εμπορικό μέσο μαζικής παραγωγής, η επιτυχία εξαρτάται από την δυνατότητα μεταφοράς μίας μεγάλης κλίμακας φυταρίων από τις *in vitro* καλλιέργειες, με χαμηλότερο κόστος και με ένα υψηλό ποσοστό επιβίωσης. Πολλοί επιστήμονες έχουν ενδιαφερθεί για την διαδικασία εγκληματισμού και σκληραγώγησης των φυταρίων Χουρμαδιάς.

Με τον όρο σκληραγώγηση εννοούμε την προετοιμασία των φυταρίων Χουρμαδιάς, για να μπορέσουν να ξεπεράσουν τις δύσκολες συνθήκες του οπωρώνα, που μπορεί να επικρατούν τις πρώτες μέρες, μετά την μεταφύτευση, όπως π.χ. χαμηλές θερμοκρασίες, υψηλή ακτινοβολία (ηλιοφάνεια), ξηροί άνεμοι, έλλειψη εδαφικής και ατμοσφαιρικής υγρασίας, προσβολή από παθογόνα εδάφους λόγω ευαισθησίας, όπως επίσης και για να ξεπεράσουν πιο γρήγορα τη μεταφυτευτική διαταραχή (από ετερότροφα σε αυτότροφα). Αξίζει να αναφερθεί ότι η σκληραγώγηση επιφέρει στα παραχθέντα *in vitro* καλλιεργούμενα φυτάρια Χουρμαδιάς ορισμένες μορφολογικές, δομικές, φυσιολογικές και βιοχημικές διαφορές, σε σχέση με εκείνα τα φυτά που παράχθηκαν συμβατικά όπως π.χ. τα σπορόφυτα. Οι πιο σημαντικές διαφορές είναι: α). ανακοπή βλάστησης, β) μετάλλαξη ανατομίας του φύλλου και πάχυνση της επιδερμίδας του (εικόνα 4.1), γ). Υπερβολική απώλεια ύδατος που υπάρχει στα κύτταρα και δ). Ανωμαλίες στα στομάτια των φύλλων, λόγω περιβαλλοντικών συνθηκών που επικρατούν στο θερμοκήπιο π.χ. χαμηλή εδαφική υγρασία και υψηλή θερμοκρασία (Zaid and Hughes, 1995b).



Εικόνα 4.1: Μετάλλαξη ανατομίας φύλλου Χουρμαδιάς και πάχυνση της επιδερμίδας του, (αριστερά φυσιολογικό φύλλο, δεξιά αποτέλεσμα μετάλλαξης του φύλλου). (Zaid A., 1990).

Ακόμα και όταν η βαθμιαία σκληραγώγηση γίνεται σε φυτώριο έχει αναφερθεί, η φτωχή επιβίωση και η αργή αύξηση των φυταρίων Χουρμαδιάς. Ένα τέτοιο χαμηλό ποσοστό επιβίωσης μπορεί να φθάσει και κάτω από 50% και προκαλείται από διάφορους παράγοντες:

- Το φυσιολογικό στάδιο των φυταρίων, για μεταφορά τους από *in vitro* καλλιέργειες στο εδαφικό μέσο.
- Ανεπαρκές ριζικό σύστημα.
- Ανεπαρκές πρόγραμμα άρδευσης στο θερμοκήπιο ή φυτώριο.
- Έλλειψη προσοχής στα τεχνικά εργαστηριακά στάδια της *in vitro* καλλιέργειας.

Διάφορες τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί για να εγκληματίσουν τα φυτάρια Χουρμαδιάς και να βελτιώσουν την επιβίωση τους κατά την διάρκεια καθιέρωσή τους, υπό τους όρους θερμοκηπίου. Οι σημαντικότεροι παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται από έναν διευθυντή ενός εργαστηρίου μαζικού πολλαπλασιασμού Χουρμαδιάς, προκειμένου να εξασφαλίσει ένα υψηλό ποσοστό επιβίωσης και μία γρήγορη αυξανόμενη κατάσταση της καλλιέργειας των παραχθέντων από ιστοκαλλιέργεια φυταρίων Χουρμαδιάς είναι οι ακόλουθοι.

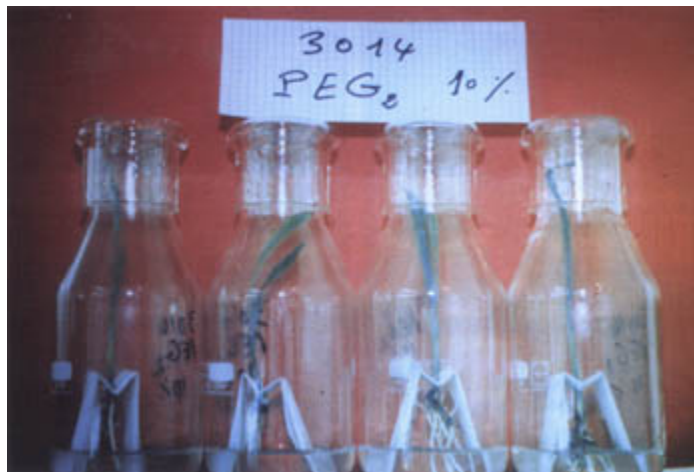
- α). Το φυσιολογικό στάδιο των φυταρίων Χουρμαδιάς στις *in vitro* καλλιέργειες.
- β). Μεταφύτευση και σκληραγώγηση των φυταρίων σε εδαφικό μέσο.
- γ). Μεταφορά και μεταφύτευση των φυταρίων στο φυτώριο.

4.1 Φυσιολογικό στάδιο των φυταρίων Χουρμαδιάς στις *in vitro* καλλιέργειες.

Τα φυτάρια Χουρμαδιάς θα μπορούν να προωθηθούν για μεταφύτευση μόνο όταν αποκτήσουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- Δύο έως τρία υγιή και διευρυμένα φύλλα, που να μην παρουσιάζουν φαινόμενο κατασρώματος.
- Ένα μήκος βλαστών τουλάχιστον 10 έως 15 cm από τη βάση των μίσχων στο υψηλότερο σημείο των φύλλων.
- Ένα καλό αναπτυγμένο ριζικό σύστημα κατά μέσο όρο 5 cm μήκος.

Τα φυτάρια Χουρμαδιάς μπορούν να αποκτήσουν τα παραπάνω χαρακτηριστικά, όταν σε *in vitro* καλλιέργεια επανακαλλιεργηθούν σε ένα θρεπτικό υπόστρωμα με 0,1mg/l NAA για να ενισχυθεί η ριζοβολία και 0,01mg/l BA για ανάπτυξη βλαστών (εικόνα 4.2). Πριν όμως από την επαναφύτευση στο θρεπτικό υπόστρωμα εφαρμόζεται κόψιμο των αρχικών ριζών σε μήκος 1-5 cm. Ακολουθεί τοποθέτηση της καλλιέργειας σε εγκληματιζόμενες συνθήκες για επώαση σε έκθεση 16 ώρες φως την ημέρα στα 1000 lux και 8 ώρες φως την νύχτα για 6 εβδομάδες. Η καλλιέργεια φθάνει στο επιθυμητό μέγεθος, με την επανακαλλιέργεια σε θρεπτικό υπόστρωμα MS (Inositol, 100mg/l; thiamine-HCl, 0.4mg/l; sucrose, 30g/l) για 2 εβδομάδες, με επώαση κάτω από φωτισμό 10.000 lux.



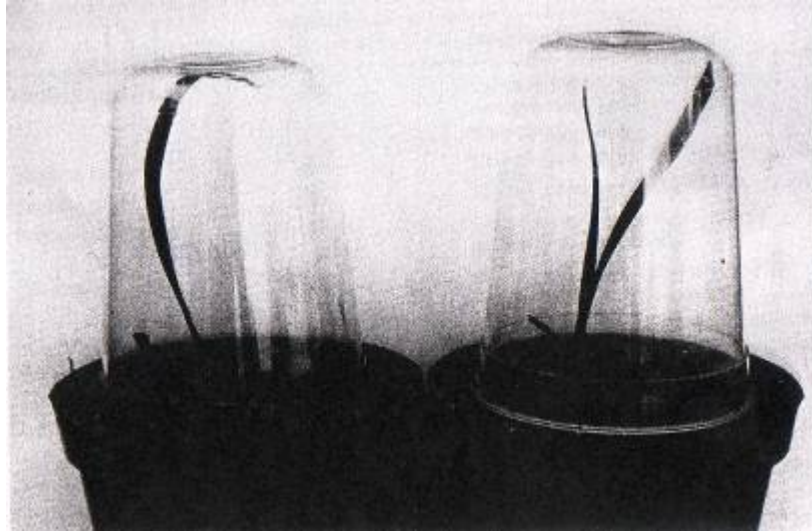
Εικόνα 4.2: Επαναφύτευση των φυταρίων Date palm σε ειδικά τροποποιημένο θρεπτικό υπόστρωμα MS για ενίσχυση ριζοβολίας και ανάπτυξη βλαστών. (Zaid A., 1990)

4.2 Μεταφορά και σκληραγώγηση των φυταρίων Χουρμαδιάς σε εδαφικό μέσο.

Η μεταφορά της *in vitro* καλλιέργειας σε εδαφικό μέσο πρέπει να αντιμετωπιστεί πολύ προσεκτικά. Τα φυτάρια αφαιρούνται από τα βάζα της *in vitro* καλλιέργειας, με ένα ζευγάρι μακριών αποστειρωμένων λαβίδων και συλλέγονται σε ένα πιάτο, που γεμίζεται με αποιονισμένο νερό για αποφυγή της αποξήρανσης των ιστών. Ακολουθεί καλό ξέπλυμα των έκφυτων για απομάκρυνση του άγαρ από τις ρίζες τους. Τα έκφυτα βυθίζονται για 10 sec. σ' ένα αιώρημα μηκυτοκτόνου π.χ. 0,5% w/v benolate, για να ελεγχθεί η μόλυνση πριν την μεταφορά τους σε εδαφικό μέσο.

Ακολουθεί η μεταφορά των έκφυτων σε μικρά δοχεία (γλαστράκια) 10 εκ. περίπου, που περιέχουν αποστειρωμένο εδαφικό μέσο αποτελούμενο συνήθως από μίγμα τύρφη / βερμικουλίτη σε αναλογία 1 : 1 v / v . Τα δοχεία ή γλαστράκια μεταφέρονται σε ένα

περιβαλλοντικά ελεγχόμενο θερμοκήπιο και που καλύπτονται με διαφανές πλαστικό ή διαφανές κούπες (εικόνα 4.3) για να διατηρήσουν την υψηλή υγρασία που είναι απαραίτητη για τα αρχικά στάδια ανάπτυξης.



Εικόνα 4.3: Κάλυμα των φυταρίων Χουρμαδιάς με διαφανείς πλαστικές κούπες για διατήρηση υψηλής υγρασίας. (Omar M.S., Hameet M.K., and Al-Rawi M.S., 1988).

Αυτές οι τεχνικές περιβαλλοντικές συνθήκες, θα εξασφαλίσουν μία σχετική υγρασία 90-95% και μία σταθερή θερμοκρασία 22-26°C την ημέρα και 21-25°C την νύχτα. Τα φυτάρινα ποτίζονται αμέσως με το 10% της ποσότητας των ανόργανων αλάτων MS, πριν από την επώαση τους στο θερμοκήπιο για 2-3 εβδομάδες κάτω από την ένταση 10.000 lux και περίπου 16 ώρες φως. Το φυτοφάρμακο benlate εφαρμόζεται στο φύλλωμα μία φορά την εβδομάδα και η άρδευση που περιέχει τα ανόργανα άλατα MS σε ποσότητα 10% κάθε 3η ή 4η ημέρα ανάλογα με το υγρομετρικό επίπεδο του χώρου διατήρησής τους.

Για να εγκλιματιστούν τα έκφυτα στις συνθήκες του θερμοκηπίου, τότε πρέπει μετά από 2 εβδομάδες καλλιέργειας να μειώσουμε την υγρασία (μπορούμε να δημιουργήσουμε τρύπες στο πλαστικό κάλυψης ή να ανυψώσουμε ελαφρά τις κούπες).

Όταν τα φυτάρινα αποκτήσουν νέα φύλλα μετά από 2 μήνες, μπορούν να απομακρυνθούν από το ελεγχόμενο περιβάλλον. Στη συνέχεια τα φυτάρινα Χουρμαδιάς μπορούν να αναπτυχθούν στις κανονικές συνθήκες θερμοκηπίου για άλλους 2 μήνες.

4.3 Μεταφορά και μεταφύτευση των φυταρίων Χουρμαδιάς, στο φυτώριο.

Τα φυτάρινα Χουρμαδιάς που παραλαμβάνονται για σκληραγώγηση, έχουν μήκος 35 - 45 εκ. με 4 έως 5 φύλλα. Η βάση των βλαστών πρέπει να έχει μέγεθος μεγάλου βολβού (κρεμμυδιού) και όπως αναφέρθηκε προηγουμένως να έχει καλά αναπτυγμένο ριζικό σύστημα.

Η μεταφορά αυτών των φυταρίων, πρέπει να πραγματοποιηθεί με τρόπο κατάλληλο και δεν πρέπει τα φυτά να συσσωρευτούν το ένα πάνω από το άλλο, για να αποφύγουμε τη θραύση των μίσχων ή και την ζημιά των φύλλων.

Τα φυτάρινα μεταφέρονται σε μεγαλύτερες γλάστρες 20 εκ. διάμετρος (εικόνα 4.4) ή σε μαύρα πλαστικά σακουλάκια που περιέχουν ένα επαρκές υπόστρωμα συνήθως άμμο ή χώμα,

βερμικουλίτη, αμμοχάλικο σε αναλογία 1 : 1 : 1, αντίστοιχα. Η μεταφύτευση πρέπει να γίνει κατάλληλα χωρίς διαταραχή του ριζικού συστήματος των φυταρίων. Τα φυτάρια αφήνονται στο φυτώριο για 8 έως 12 μήνες, ανάλογα με τους περιβαλλοντικές συνθήκες και την προσοχή που δίνεται, μέχρι να αναπτυχθούν 4 μικρά φύλλα.

Ο καλλιεργητής Χουρμαδιάς πρέπει να συντονίσει την αγορά και την σκληραγωγική περίοδο, έτσι ώστε να μπορεί να εξασφαλίσει την εφαρμογή της φύτευσης κατά τη διάρκεια του Φεβρουαρίου / Μαρτίου για το νότιο ημισφαίριο και του Σεπτεμβρίου / Οκτωβρίου για το βόρειο ημισφαίριο.

Το φυτώριο πρέπει να δημιουργεί σκιά σε ποσοστό 80% από τις υπεριώδης ακτίνες του ήλιου την διάρκεια των πρώτων 6 μηνών, που μπορεί να επιτευχθεί με κάλυμα από λεπτό δίχτυ (εικόνα 4.5).



Εικόνα 4.4: Μεταφορά των φυταρίων Χουρμαδιάς σε μεγαλύτερες γλάστρες, διαμέτρου 20 εκ. (Omar M.S., Hameet M.K., and Al-Rawi M.S., 1988).



Εικόνα 4.5: Καλλιέργεια φυταρίων Χουρμαδιάς σε μαύρα πλαστικά σακουλάκια, σε φυτώριο με εμφανές το κάλυμα από δίχτυ. (Zaid A., 1990).

Τα φυτάρια τοποθετούνται σε μία προστατευτική ζώνη για αποφυγή από θύελλες άμμου ή από δυνατό άνεμο. Ενώ το καλοκαίρι καλό είναι, να καλύπτεται το φυτώριο από διπλό στρώμα δίχτυ για καλύτερη σκίαση.

Η άρδευση είναι ένας σημαντικός παράγοντας και πρέπει να εφαρμόζεται μία φορά την εβδομάδα και 2 φορές την εβδομάδα το καλοκαίρι. Οι εγκαταστάσεις του φυτωρίου δεν πρέπει

να τροφοδοτούν το νερό με την μορφή ψεκασμού στα φυτάρια, παρά μόνο στο χώμα γύρω από την βάση των φυταρίων.

Ο έλεγχος των ασθενειών και των παρασίτων γίνεται με χρήση benolate ή οποιοδήποτε μυκηκοκτόνου μεγάλου φάσματος, έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα αποτελεσματική. Ο νεφελώδης ψεκασμός benlate μπορεί να εφαρμόζεται κάθε 3 έως 4 εβδομάδες.

Η στενή παρακολούθηση πρέπει να ενθαρρύνεται από τον καλλιεργητή Χουρμαδιάς, γιατί τα λάθη μπορεί να είναι καταστροφικά. Εάν όλες οι παραπάνω συστάσεις και παρατηρήσεις γίνονται με σεβασμό από τον καλλιεργητή Χουρμαδιάς, θα μπορεί να επιτευχθεί ένα ποσοστό επιβίωσης 90-95%.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5°

Γενετική σταθερότητα του πολλαπλασιαστικού υλικού Χουρμαδιάς (*Phoenix dactylifera* L.).

Μία ειδική επισήμανση πρέπει να γίνει σχετικά με τη κλωνική φύση αγενών φυταρίων που παράγονται από κάλο. Γενετικές μεταλλάξεις μεταξύ των πολλαπλασιασμένων φυταρίων, που έχουν προέλθει από κάλο έχουν επισημανθεί για άλλες οικογένειες και δεν πρέπει να παραβλέπεται και για την περίπτωση της Χουρμαδιάς.

Οι διαφοροποιήσεις των αποδόσεων σε καρπό είναι μικρότερες για φυτά ιστοκαλλιέργειας, που έχουν παραχθεί από ένα μόνο κλώνο, σε σχέση με τις συμβατικές καλλιέργειες. Ένας τρόπος για να αξιολογηθεί η κλωνική φύση, των φυτών που έχουν παραχθεί από ιστοκαλλιέργεια είναι η καλλιέργεια τους και η σύγκριση με τους γονικούς κλώνους. Αυτό επιφέρει μία χρονοβόρα διαδικασία διότι, χρειάζονται 6-12 μήνες σε *in vitro* καλλιέργεια για να παραχθούν φυτάρια από αρχικά σωματικά έκφυτα και δυστυχώς τα φυτάρια που παράγονται αγενώς από κάλο, μόλις φυτευτούν στο έδαφος χρειάζονται 2-3 έτη για να καρποφορήσουν.

Πάντα υπάρχει μία διαφωνία μεταξύ των καλλιεργητών, των τεχνικών και των επιστημόνων για τον αληθινό γενότυπο των παραχθέντων φυταρίων από *in vitro* καλλιέργεια. Αξίζει να αναφερθεί ότι, φυτάρια παραγόμενα από *in vitro* καλλιέργεια υπόκεινται ειδικά στην σωμακλωνική παραλλακτικότητα και στις γενετικές παραλλαγές, με αποτέλεσμα οι γενετικές παραλλαγές να έχουν επιπτώσεις στο γονιδίωμα και συνεπώς είναι κληρονομήσιμες. Γενικά οι μεταλλάξεις που σημειώνονται στην ιστοκαλλιέργεια φυτών περιέχουν, απώλειες ή προσθήκη χρωμοσωμάτων, μεταλλάξεις γονιδίων ή συνδυασμό και των δύο (Pierik, 1987; Zaid, 1987a,b,c and 1990).

Σύμφωνα με αυτούς τους ερευνητές, οι παράγοντες που προκαλούν τις παραλλαγές στην ιστοκαλλιέργεια είναι:

- Η τεχνική που χρησιμοποιείται στην *in vitro* καλλιέργεια.
- Η κατάσταση (φύση) του μητρικού φυτού.
- Τύπος ρυθμιστών αύξησης που χρησιμοποιήθηκαν.
- Ηλικία καλλιέργειας (> ένα έτος).
- Η ποσότητα συγκέντρωσης των οργανικών αλάτων στο θρεπτικό υπόστρωμα.
- Όροι επώασης.

Τα περισσότερα από τα εμπορικά εργαστήρια κάνουν το καλύτερο για να εξασφαλίσουν τον αληθινό γενότυπο στα φυτάρια που παράχθηκαν από ιστούς Χουρμαδιάς. Έλεγχος επιτυγχάνεται με κατάλληλες τεχνικές όπως με RFLP (restriction fragment length polymorphism,) και RAPD (random amplified polymorphic DNA,) που πιστοποιούν και ανιχνεύουν τη σωμακλωνική παραλλακτικότητα, που πιθανόν να προκλήθηκε από την *in vitro* καλλιέργεια ή να προϋπήρχε στο αρχικό έκφυτο και με την *in vitro* καλλιέργεια μεγενθύθηκε.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6°

Μελλοντικές δυνατότητες και εμπορικές πτυχές του μικροπολλαπλασιασμού της Χουρμαδιάς.

Αρκετοί φοίνικες παρέχουν σημαντικά γεωργικά οφέλη αλλά δεν έχουν εκμεταλλευτεί εμπορικά. Σήμερα, υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός ανεκμετάλλευτων αυτοφυών φυτών Χουρμαδιάς που θα μπορούσαν να παρέχουν μία πηγή εισοδήματος, αν καλλιεργούνταν συστηματικά σε φυτείες (Balick, 1979; Kitzke and Johnson, 1975).

Η εκμετάλλευση της Χουρμαδιάς έχει παρεμποδιστεί λόγω της έλλειψης διαθέσιμων τεχνικών μαζικής κλωνικής αναπαραγωγής. Οι τεχνικές της ιστοκαλλιέργειας θα μπορούσαν να αποτελέσουν απάντηση σε αυτό το πρόβλημα. Τεχνικές που διεξάγονται σε συνθήκες *in vitro* θα μπορούσαν να επιτρέψουν τη συστηματική μελέτη των φυτών αυτών, ώστε να χρησιμοποιηθούν πιο αποτελεσματικά, προς όφελος του ανθρώπου. Πολλοί ερευνητές πιστεύουν ότι οι Χουρμαδιές είναι πολύ παραμελημένα φυτά όσον αφορά την μελέτη της ανάπτυξής τους και της φυσιολογία τους.

Η εμπορική διάδοση της Χουρμαδιάς μέσω της ιστοκαλλιέργειας έχει ήδη αρχίσει και έχει ειδικευτεί από επιχειρήσεις στην Αγγλία και Γαλλία, για τη διάδοση και το μάρκετινγκ σε μία μεγάλη εμπορική κλίμακα φυτών παραγόμενων από ιστό Χουρμαδιάς. Πολλά εργαστήρια στον κόσμο έχουν κάνει προσπάθειες να διαδοθεί η Χουρμαδιά με τεχνικές της ιστοκαλλιέργειας. Μερικά από αυτά τα εργαστήρια είναι πρόσφατα (2 έως 3 έτη), ενώ άλλα έχουν λειτουργήσει για περίπου 15 έτη. Υπάρχουν 9 λειτουργικά εργαστήρια που είναι γνωστά στους επιστήμονες και βρίσκονται στην Αγγλία (1), Γαλλία (2), Ισραήλ (1), Μαρόκο (1), Ναμίμπια (1), Ε.Α.Εμιράτα (1), Όμαν (1) και Ινδία (1). Τα εργαστήρια της Αγγλίας, Γαλλίας, Ισραήλ και της Ναμίμπιας παράγουν *in vitro* φυτά Χουρμαδιάς σε εμπορική κλίμακα.

Ο μικροπολλαπλασιασμός της Χουρμαδιάς είναι μία οικονομική μέθοδος, δεδομένου ότι ένας μεγάλος αριθμός φυτών μπορεί να αναπαραχθεί σε μία μικρή σχετικά περίοδο έναντι της συμβατικής μεθόδου.

Η έρευνα είναι αναγκαία ώστε να βελτιωθούν οι τεχνικές καλλιέργειας για εμπορικές εφαρμογές και για να αναπτυχθούν κατάλληλα test ελέγχου ποιότητας, προκειμένου να διακριθεί η κλωνική φύση των φυταρίων που παράγονται από κάλο. Η μελέτη της ιστοκαλλιέργειας για την Χουρμαδιά στο μέλλον θα πρέπει να επικεντρωθεί (α) στο μαζικό πολλαπλασιασμό φυτών από κάλο, χρησιμοποιώντας μία απλή αλυσίδα παραγωγής και (β) στην αποσαφήνιση του μηχανισμού διαίρεσης και ριζοβολίας των πλευρικών οφθαλμών και βλαστικών κορυφών με την μέθοδο της *in vitro* καλλιέργειας.

Τεχνικές ιστοκαλλιέργειας μπορούν να χρησιμοποιηθούν και από άλλους επιστημονικούς κλάδους σαν ένα εργαλείο, όπως ο μικροπολλαπλασιασμός μπορεί να συνδυαστεί με τη κρυογενετική ψύξη, για τη διατήρηση σπάνιων ή υπο-κίνδυνο γενότυπων Χουρμαδιάς ή άλλων ειδών φοίνικα, για μελλοντικές βελτιώσεις και γενετικές μελέτες. Προκαταρκτικές έρευνες έχουν δείξει πως ο κάλος της Χουρμαδιάς μπορεί να αποθηκευτεί σε μικρές θερμοκρασίες με ελάχιστο κόστος και απαιτήσεις σε συντήρηση (Tisserat *et al.*, 1981). Τεχνικές γενετικής όπως η σύμπτυξη πρωτοπλαστών και καλλιέργεια ανθέρων μπορούν να συμβάλουν σημαντικά στις έρευνες για βελτίωση της Χουρμαδιάς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7°

Δυνατότητες καλλιέργειας της Χουρμαδιάς στην Κρήτη.

Η καλλιέργεια Χουρμαδιάς, απαιτεί θερμοκρασίες οι οποίες το καλοκαίρι να μην ξεπερνούν τους 35°C και το χειμώνα να μην είναι κάτω από 8 έως 10°C, ενώ οι βροχοπτώσεις θα πρέπει να είναι μικρότερες από 10 mm το φθινόπωρο, όταν ωριμάζουν οι καρποί. Οι συνθήκες αυτές που επικρατούν στην Κρήτη (πίνακας 7.1), η καλλιέργεια της Χουρμαδιάς θα μπορούσε να έχει οικονομική σημασία για την Κρήτη. Στην νότια Κρήτη οι συνθήκες που επικρατούν είναι καλύτερες για την καλλιέργεια της Χουρμαδιάς ενώ στην βόρεια Κρήτη το μόνο πρόβλημα που παρουσιάζεται στην καλλιέργεια είναι οι φθινοπωρινές βροχοπτώσεις οι οποίες δεν αφήνουν τους καρπούς να ωριμάσουν κανονικά, γι' αυτό το λόγο θα πρέπει να προτιμούνται οι πρώιμες ποικιλίες.

Πίνακας 7.1: Κλιματικές συνθήκες που επικρατούν στην Κρήτη.

| Περιοχή της Κρήτης | Μέση θερμοκρασία καλοκαιριού (°C) | Μέση θερμοκρασία χειμώνα (°C) | Ύψος βροχοπτώσεων το φθινόπωρο (mm) |
|--------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| ΧΑΝΙΑ | 26.5 | 13.7 | 18.2 |
| ΡΕΘΥΜΝΟ | 26.3 | 14.5 | 16.2 |
| ΗΡΑΚΛΕΙΟ | 25.7 | 14.6 | 17.7 |
| ΣΗΤΕΙΑ | 24.9 | 13.2 | 19.7 |
| ΙΕΡΑΠΕΤΡΑ | 27 | 15.2 | 20.4 |
| ΤΥΜΠΑΚΙ | 26.6 | 13.9 | 11.7 |
| ΠΑΛΑΙΩΧΩΡΑ | 27.6 | 13.5 | 14.1 |

Η νότια Κρήτη έχει θερμοκρασίες κατάλληλες για την καλλιέργεια της Χουρμαδιάς όπως και χαμηλή σχετική υγρασία στην ατμόσφαιρα και συνήθως δεν έχει βροχοπτώσεις το φθινόπωρο, περίοδο που ωριμάζουν οι καρποί. Επιπλέον η παρουσία ισχυρών ανέμων στην περιοχή της νότιας Κρήτης καθώς και η ύπαρξη νερού άρδευσης που περιέχει άλατα, δεν αποτελούν περιοριστικούς παράγοντες για την καλλιέργεια Χουρμαδιάς, επειδή το φυτό ανέχεται αυτές τις αντίξοες για άλλα δέντρα συνθήκες. Βέβαια θα πρέπει να σημειωθεί ότι χρειάζεται να γίνει σχετική έρευνα ώστε να επιλεγούν οι κατάλληλες ποικιλίες που προσαρμόζονται καλύτερα στις συνθήκες της Κρήτης.

Στην Κρήτη υπάρχουν σε διάφορες περιοχές φοίνικες Χουρμαδιάς, οι οποίες χρησιμοποιούνται για παραγωγή καρπών ή σαν καλλωπιστικό δέντρο σε κήπους ή πάρκα. Προς το παρόν υπάρχει μία μόνο οργανωμένη φυτεία Χουρμαδιάς στην Κρήτη η οποία ανήκει στο Ινστιτούτο Ελιάς και Υποτροπικών φυτών Χανίων, που εγκαταστάθηκε το 1999 στην περιοχή Νεροκούρου Χανίων (εικόνα 7.1 και 7.2). Αυτή η πειραματική φυτεία έχει έκταση 4 περίπου στρέμματα και αποτελείται από 13 ποικιλίες που εισήχθησαν από τα Κανάρια νησιά το 1998.

Ευνόητο είναι ότι η Χουρμαδιά θα μπορούσε να καλλιεργηθεί με επιτυχία όχι μόνο στην περιοχή της Κρήτης αλλά και σε ορισμένες κατάλληλες περιοχές της υπόλοιπης νότιας Ελλάδας.



Εικόνα 7.1: Πειραματική φυτεία Χουρμαδιάς στο Ινστιτούτο Ελιάς και Υποτροπικών φυτών Χανίων, ηλικίας 9 ετών μετά την φύτευση τους στο χωράφι.



Εικόνα 7.2: Πειραματική φυτεία Χουρμαδιάς στο Ινστιτούτο Ελιάς και Υποτροπικών φυτών Χανίων, ηλικίας 9 ετών μετά την φύτευση τους στο χωράφι.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8°

Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις της Χουρμαδιάς.

8.1 Οικολογικοί παράγοντες.

Για την εγκατάσταση μιας καλλιέργειας Χουρμαδιάς πρέπει να ληφθούν υπόψη διάφοροι σημαντικοί οικολογικοί παράγοντες, όπως το κλίμα (θερμοκρασία, υγρασία, άνεμος) και το έδαφος μιας περιοχής. Το κλίμα αποτελεί τον κυριότερο παράγοντα που καθορίζει την καταλληλότητα μιας καλλιέργειας σε μία περιοχή, γιατί δεν μπορεί να επηρεασθεί σε μεγάλο βαθμό από τον άνθρωπο.

8.1.1 Εδαφικές απαιτήσεις.

Η Χουρμαδιά ευδοκιμεί μόνο όπου υπάρχει υπόγειο νερό στο οποίο και βυθίζει το πυκνό ριζικό της σύστημα. Γι' αυτό και αναπτύσσεται σε οάσεις και σε κάθε πράσινη νησίδα μέσα στην τεράστια αμμώδη θάλασσα των ερήμων. Επίσης μπορεί να αναπτυχθεί σχεδόν σε κάθε έδαφος εκτός από τα πετρώδη και βαριά εδάφη. Ωστόσο αναπτύσσεται ικανοποιητικά σε ελαφρά, μέτρια εδάφη, ουδέτερα ή αλκαλικά (μέχρι 1,5% σε αλκαλικά) και σε αμμοαργιλώδη εδάφη. Η Χουρμαδιά είναι ανθεκτική στην ξηρασία αλλά και σε υψηλά επίπεδα νερού στο έδαφος, όπως περιοδικές πλημμύρες αρκεί τα εδάφη να στραγγίζουν καλά.

Καρποφορεί όμως καλύτερα στα λιγότερα αλμυρά εδάφη και σε αυτά που έχουν καλή φυσική σύσταση. Ένας υπερβολικός βαθμός αλατότητας μπορεί να επιβραδύνει την ανάπτυξη αλλά και να χαλάσει την ποιότητα των καρπών. Καλύτερα αποτελέσματα έχουμε σε καλά αεριζόμενα εδάφη και όταν η αγωγιμότητα του νερού άρδευσης να μην υπερβαίνει τα 1500 mm hos/cm. Η αντοχή της Χουρμαδιάς στα χλωριούχα άλατα είναι αρκετά μεγάλη. Σαν όριο αντοχής της στα χλωριούχα άλατα είναι, 15gr σε 1L εδαφικού διαλύματος.

8.1.2 Κλιματικές απαιτήσεις.

Η Χουρμαδιά είναι δέντρο υποτροπικών κλιμάτων, αλλά αναπτύσσεται ικανοποιητικά και σε περιοχές με εύκρατο κλίμα. Με ιδιαίτερες απαιτήσεις σε ξηρή ατμόσφαιρα και μεγάλη θερινή περίοδο αλλά και απαιτήσεις σε υψηλές θερμοκρασίες κατά την διάρκεια της ανάπτυξης και ωρίμανσης των καρπών, οι οποίες όμως το καλοκαίρι να μην ξεπερνάνε τους 35°C. Ενώ αντίθετα τον χειμώνα, η ελάχιστη θερμοκρασία είναι -10°C. Είναι δέντρο των θερμών, ξηρών (ερημικών) περιοχών και δίνει πολύ καλές αποδόσεις κάτω από το 33° γεωγραφικό πλάτος, εφ' όσον θα έχει στην διάθεσή της άφθονο νερό.

Για μία εννιάμηνη αναπτυξιακή περίοδο θα πρέπει η θερμοκρασία τον Φεβρουάριο να είναι πάνω από 12°C και τον Μάρτιο πάνω από 15°C. Κατά τους 4-6 μήνες από την γονιμοποίηση έως την πλήρη ωρίμανση των καρπών, η Χουρμαδιά πρέπει να συγκεντρώνει περίπου 6000°C. Για τον υπολογισμό των μονάδων θερμότητας γίνεται άθροισμα των μέσων όρων των θερμοκρασιών, από την άνθιση μέχρι την πλήρη ωρίμανση των καρπών. Χωρίς αυτή τη θερμοκρασία οι καρποί δεν ωριμάζουν πλήρως. Εννοείται ότι παίζει μεγάλο ρόλο η έκθεση της τοποθεσίας αλλά και η περιεκτικότητα σε σάκχαρα που έχουν κάποιες ποικιλίες. Σύμφωνα με μετρήσεις, οι πιο κοινές ποικιλίες Χουρμαδιάς απαιτούν 1800°C μονάδες θερμότητας. Οι ποικιλίες που έχουν μικρή περιεκτικότητα σε σάκχαρα απαιτούν και λιγότερες μονάδες θερμότητας και επιλέγονται σε περιοχές που η θερμοκρασία δεν είναι σε υψηλά επίπεδα. Έτσι πχ στη « Μυρτιδιώτισσα » στην Κέρκυρα ωριμάζουν σχεδόν τελείως τα « τάταλα » δηλ. οι

χουρμάδες, κι'άς είναι κοντά στις 40° μοίρες β.πλάτους. Γι'αυτό και στην Ελλάδα η Χουρμαδιά ευδοκμεί μόνο στα νησιά, νότια Πελοπόννησο και την Κρήτη. Ως προ το ψύχος, η Χουρμαδιά σαν δέντρο αντέχει σε -12°C έως -16°C. Τα φύλλα καταστρέφονται στους -6°C, γι' αυτό βλέπουμε την Χουρμαδιά να αναπτύσσεται για καλλωπισμό κήπων, σε περιοχές που δεν είναι αρκετά θερμές.

α). Άνεμος.

Η Χουρμαδιά αντέχει σε δυνατούς ανέμους, γι' αυτό φυτεύονται μεμονωμένα ή σε δεντροστοιχίες κατάλληλα και για παραθαλάσσιες περιοχές. Αυτό οφείλεται στη δομή της ρίζας και στον τρόπο που ξεδιπλώνονται τα φύλλα. Οι καρποί είναι ενωμένοι από το περιάνθιο τους άμεσα με το μίσχο με αποτέλεσμα να μην πέφτουν εύκολα από τους δυνατούς ανέμους.

β). Σχετική υγρασία.

Η Χουρμαδιά απαιτεί χαμηλή υγρασία και λίγες βροχοπτώσεις καθώς οι καρποί της ωριμάζουν και μαλακώνουν. Έτσι προτιμάται η φύτευση της σε ξηρές και θερμές περιοχές. Ακόμα κατά την άνθηση ο καιρός δεν πρέπει να είναι για μεγάλο χρονικό διάστημα βροχερός, γιατί θα έχουμε την εμφάνιση της σήψης της ανθοταξίας (Khamedj) μίας παρασιτικής ασθένειας. Η μέση βροχόπτωση θα πρέπει να είναι μικρότερη από 25mm το καλοκαίρι, ενώ το φθινόπωρο οι όψιμες ποικιλίες απαιτούν λιγότερο από 10mm βροχής.

BIBLIOΓΡΑΦΙΑ

1. Al-Miden, N. (1986). Effect of different auxins on callus induction and growth of Date palm *in vitro*. A structure and function study. Proc. Second sympo. On Palm. KFU, AL-Hassa, Date palm. pp. 51-57.
2. Al-Baiz A.A, Mouli C.K., Al-Oraini F. (2000). Suspension culture from embryogenesis. In proceedings of the Date palm international symposium, Windhoek, Namibia, pp. 36-40.
3. Al-Khalifah N.S. (2000). *In vitro* culture studiew in date palm. Plant tissue culture. 10 (1): 1-8.
4. Al-Khayri J.M, Al-Bahrany A.M. (2001). Silver nitrate and 2-isopentyladenine promote somatic embryogenesis in date palm (P.d.c). Scientia Horticulturae. 89: 291-298.
5. Al-Mehdi, A.A. and Hogan, L. (1979). *In vitro* growth and development of papaya (*Carica papaya* L.) and date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Plant Physiol (Suppl) 63:100.
6. Ammar S., and Benbadis A. (1977). Multiplication vegetative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par la culture de tissus de jeunes issues de semis. CR Acad Sci Paris 284:1789-1792.
7. Anjarne M, and Zaid A. (1993). Etute de l'enracinement precoce des tissus du palmier dattier. AL AWAMIA 82:197-210.
8. Apavatjirut P. and Blake J. (1977). Tissue culture of stem explants of coconut (*Cocos nucifera* L.). Oleagineux 32:267-271.
9. Bajaj YPS. (1992). Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol.18, High-Tech and Micropropagation, Springer-verlag. Berlin Heidelberg. pp. 471-492.
10. Balick M.J (1979). Amazonian oil palms of promise: A survey. Econ. Bot. 33:11-28.
11. Baskaran S. and Smith R.H. (1992). Somatic embryogenesis from shoot tip and immature inflorescence of *Phoenix dactylifera* cv. Barhee. Plant Cell Report. 12: 22-25.
12. Beauchesne G, Zaid A, and Rhiss A. (1986). Meristimatic potentialities of bottom of young leaves to rapidly propagate date palm. Second Symposium on date palm, Saudi Arabia, 3-6 March:87-95.
13. Celos S. (1971). Tissue culture of the oil palm (*Elaies guineensis* Jacq.). CELOS Bull. 13:10-11.
14. Cutter E.G. (1965). Recent experimental studies in the shoot apex and shoot morphogenesis. Bot. Rev. 31:7-113.
15. Cutter V.M. and Wilson K.S. (1954). Effect of coconut endosperm and other growth stimulants upon the development *in vitro* of embryos of (*Cocos nucifera* L.). Bot. Gaz. 115:234-240.
16. Daquin F., Letouze R. (1988). Regeneration of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by somatic embryogenesis improved effectiveness by dipping in a stirred liquid medium. Fruits 43: 191-194.
17. Drira N. (1981). Multiplication vegetative et micropropagation du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) a partir d'organes preleves sur la phase a dulce cultives "*in vitro*". These pour le titre de Docteur de Specialite. Faculte des Scienses de Tunis. 138 pp.
18. Eeuwens D.J. (1976). Mineral requirement for growth and callus initiation of tissue explants from mature coconut palm (*Cocos nucifera* L.) cultured *in vitro*. Physiol Plant 36:23-28.
19. Eeuwens D.J. (1978). Effects of organic nutriens and hormones on growth and development of tissue explants from coconut (*Cocos nucifera* L.) and date (*Phoenix dactylifera* L.) palms cultured *in vitro*. Physiol plant. 42:173-178.
20. Eeuwens D.J., and Blake J. (1977). Culture of coconut and date palm tissue with a view to vegetative propagation. Acta Hortic 78:277-286.
21. El-Hennawy H.M., and Wally Y.A. (1978). Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) bud differentiation *in vitro*. Egypt J Hortic 5:81-82.
22. Fisher J.B., and Tsai J.H. (1978). *In vitro* growth of embryos and callus of coconut palm. *In vitro* 14:307-311.
23. Hodel D. (1977). Notes on embryo culture of palm. Principes 21:103-108.
24. Johnston F.B. and Stern H. (1957). Mass isolation of viable wheat embryos. Nature. 179:160-161.
25. Kitzke E.D. and Johnson D. (1975). Commercial palm products other than oils. Principes 19:3-26.
26. Letouze R. Daquin F. Hamama L. Paquier K. Marionnet F. Javouney M. (2000). Mass propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) through somatic embryogenesis. Histological study of embryo

- formation and cultivar identification by RAPD marker. In proceedings of the date palm international symposium. Windhoek, Namibia. Pp. 55-64.
27. Mater A.A. (1983). Plant regeneration from callus cultures of (*Phoenix dactylifera* L.). Date palm J 2:57-73.
 28. Morel G. (1960). Producing virus-free cymbidiums. Am. Orch. Soc. Bull. 29:495-497.
 29. Morel G. (1965). Clonal propagation of orchids by meristem culture. Cymbidim Soc. News. 20:3-11.
 30. Munier P. (1973). Le palmier dattier en Mauritanie. Ann. Ist. Fruits et Agrumes Coloniaux 12, 66pp.
 31. Murashige T. (1974). Plant propagation through tissue culture. Biologist 21:87-93.
 32. Murashige T. (1975). Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Physiol. 24:135-165.
 33. Murashige T, and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15:473-497.
 34. Omar M.S. (1987). Vegetative propagation of date palm. In: Proc 12th Conf Biol Soc, Mosul Univ, Iraq, April 1987, p 39.
 35. Omar M.S. (1988a). Callus initiation, asexual embryogenesis and plant regeneration in (*Phoenix dactylifera* L.). Date palm J 6:265-271.
 36. Omar M.S., and Arif M.S (1985). An investigation of the (*Phoenix dactylifera* L.). Carpels cultured *in vitro*. Date palm J 4:15-24.
 37. Omar M.S., Hameet M.K., Al-Rawi M.S., (1988). *In vitro* propagation of (*Phoenix dactylifera* L.) In: Proc Iraq-Fr Symp. Date palm, Baghdad, Iraq, Sept 1988, pp 1-10.
 38. Oppenheimer C., and Reuveni O. (1972). Development of a method for quick propagation of new and superior Date varieties. Agricultural research Organization, the Volcani center, bet Dagan, Israel.
 39. Pierik R.L.M. (1987). *In vitro* culture of hingher plants. Martinus nijhoff publishers. 343pp.
 40. Poulain C, Rhiss A, and Beauchesne G. (1979). Multiplication vegetative en culture *in vitro* du palmier-dattier (*Phoenix dactylifera* L.). C.R.Seances Acad. Agric. Fr. 11:1151-1154.
 41. Rabechault H, and Cas S. (1974). Recherches sur la culture *in vitro* des embryons de palmier a huile (*Elaeis guineensis* Jacq.var. *dura* Becc.). X.Culture de palmier segments d'embryons. Oleagineux 29:73-78.
 42. Raghavan V. (1976). Experimental embryogenesis in vascular plant. Acad. Press Inc. (London). 603 pp.
 43. Reuveni O. (1979). Embryogenesis and plantlets growth of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) derived from callus tissue. Plant Physiol (Suppl) 63:138.
 44. Reuveni O., and kipnis H. (1974). Studies of the *in vitro* culture of date palm (*P. dactylifera* L.) tissues and organs. The volcani. Inst. Agric. Research Pamphlet No:145.
 45. Reuveni O., and Lilien - Kipnis H. (1969). Date palm. Volcani inst. Agricultural res.div. Sci. Publ. Pam. (1960-69). Pp. 143-180. Bet Dagan, Israel.
 46. Reuveni O, Adato Y, and Lilien-Kipnis H. (1972). A study of new and rapid methods for the vegetative propagation of date palm. Date Grow. Inst. Rep. 49:17-24.
 47. Reuveni O, and Lilien – Kipnis H. (1974). Studies of the *in vitro* culture of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissues and organs. Volcani Inst. Agric. Res. Div. Sci. Publ. Pam. 145, Bet Dagan, Isreal.
 48. Reynolds J.F., and Murashige T. (1979). Asexual embryogenesis in callus cultures of palms. *In vitro* 15:383-387.
 49. Rhiss A, Poulain C., and Beauchesne G. (1979). La culture *in vitro* appliquée a la multiplication vegetative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Fruits 34:551-554.
 50. Schroeder C.A. (1970). Tissue culture of date shoots and seedlings. Date Growers inst. Rep. 47:25-47.
 51. Sharma D.R, Kumari R., and Chowdhury J.B. (1980). *In vitro* culture of female date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissues. Euphytica 29:169-174.
 52. Sharma D.R, Dawra S, Chowdhury J.B. (1984). Somatic embryogenesis and plant regeneration in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Khadraj through tissue culture. Ind. J. Exptl. Biol. 22: 496-598.
 53. Smith S.N. (1975). Vegatative propagation of the date palm by root-tip culture. Bull. Agron. Saharienne 1:67.

54. Smith W.K and Thomas J.A. (1973). The isolation and *in vitro* cultivation of cells of *Elaeis quineensis*. *Oleagineaux* 28:123-127.
55. Tisserat B. (1979a). Tissue culture of the date palm. *J Hered* 70:221-222.
56. Tisserat B. (1979b). Propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro*. *J Exp Bot* 30:1275-1283.
57. Tisserat B. (1981b). Production of free-living palm through tissue culture. *Date palm J.* 1:43-54.
58. Tisserat B. (1982). Factors involved in the production of plantlets from date palm callus cultures. *Euphytica* 31: 201-267.
59. Tisserat B. (1984b). Date palm. In: Sharp WR, Evans DA, Ammirato PV, Yamada Y (eds) *Handbook of plant cell culture*, vol 2. McMillan, New York, pp 505-545.
60. Tisserat B., and DeMason D. (1980). A histological study of the development of adventive embryos in organ culture of (*Phoenix dactylifera* L.) *Ann Bot (London)* 46:465-472.
61. Tisserat B., Foster G., and DeMason D. (1979). Plantlet production *in vitro* from (*Phoenix dactylifera* L.). *Date palm Growers Inst Rep.* 54:19-23.
62. Tisserat B., Ulrich J.M, and Finkle B.J. (1981). Cryogenic preservation and regeneration of date palm. *HortScience* 16:47-48.
63. Veramendi J. Navarro L. (1996). Influence of physical conditions of nutrient medium and sucrose on somatic embryogenesis of date palm. *Plant Cell. Tissue and organ culture.* 45: 159-164.
64. Wang P and Huang L. (1976). Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and organ culture. *In vitro* 12:260-262.
65. Williams R.F. (1974). The shoot apex and leaf growth. A study in quantitative biology. Printed in great Britain. Cambridge Univ. Printer:256 pp.
66. Zaid A. (1981). Rapid propagation of the date palm through tissue culture. Master of Sciences thesis prepared at the U.S. Date and Citrus Station, Indio, California (U.S.A.) 178 pp.
67. Zaid A. (1984). *In vitro* browning of tissues and media, with special emphasis to date palm culture – a review. *Date Palm J* 3:269-275.
68. Zaid A. (1987a). Branching Phenomenon in Date palm. *Date palm Journal* 5: 48-58.
69. Zaid A. (1987b). Morphogenetic variation in Date palm embryos *in vitro*. *Date palm Journal* 5 (1): 36-47.
70. Zaid A. (1987c). ReFl exions sur la conformite genetique des *in vitro*-Plants: Cas du Palmier Dattier. *Bulletin du Reseau Maghrebin de Recherche Sur la phoeniciculture et la production du palmier dattier.* Vol.1. No.4. :12
71. Zaid A. (1990). *In vitro* hardening-off date palm (*Phoenix dactylifera* L.) plantlets. Ph-D Thesis, Colorado State University, USA. 160pp.
72. Zaid A., and Tisserat B. (1983a). *In vitro* shoot tip differentiation in (*Phoenix dactylifera* L.). *Date palm J* 2:163-182.
73. Zaid A., and Tisserat B. (1983b). Morphogenetic responses obtained from a variety of somatic explant tissues. *Bot. Mag. Tokyo* 96:67-73.
74. Zaid A., and Tisserat B. (1984). Survey of the morphogenetic potential of excised palm embryos *in vitro*. *Crop Res* 24:1-9.
75. Zaid A., and Hughes H. (1989a). *In vitro* acclimatization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) plantlets: I effect of polyethylene glycol on water stress. Third Interm. Conf. of IPBNET. p 43 (Abstract).
76. Zaid A., and Hughes H. (1989b). II. A quantitative comparaisn of epicuticular leaf wax as a function of polyethylene glycol threatment. *Hortscience* 24:122 (Abstract).
77. Zaid A., and Hughes H. (1995b). A comparison of stomatal function and frequency of *in vitro*, polyethylene glycol treated, and greenhouse-grown plants of date palm, (*Phoenix dactylifera* L.). *Trop. Agric. (Trinidad)* Vol. 72: N 2:130-134.
78. Αγάθος Ν. Σύγχρονη δεντροκομία. Γενική και ειδική.Κεφ.32. φρουτόδεντρα. Αγροτικός εκδοτικός οίκος. Αθήνα 1975. Σελ. 665-672.
79. Μαλανδράκης Ι. Δυνατότητες καλλιέργειας της Χουρμαδιάς στην Κρήτη. Πτυχιακή εργασία. Ηράκλειο 2005.
80. Νούσης, Κ.Ι. Η νέα δενδροκομία. Τόμος Β΄. Ειδική δενδροκομία, έκδοση δεύτερη. Αθήνα 1984. Σελ 535-540.

81. Δρ. Γραμματικάκη-Αυγελή. Από τις παραδόσεις των εργαστηρίων παραγωγής πολλαπλασιαστικού υλικού στα Τ.Ε.Ι. Ηρακλείου.

Βιβλιογραφία μέσω internet

<http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4360E/y4360e09.htm>

<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/Date.htm>

<http://www.redpalmweevil.com/introDatepalm.htm>

<http://www.en.wikipedia.org/wiki/Phoenixdactylifera>

<http://www.academicjournals.org/AJB/PDF/Pdf2005/Mar/Eke%20et%20al.pdf>

<http://www.academicjournals.org/AJB/PDF/Pdf2005Nov/Eshraghi%20et%20al.pdf>

http://www.psipw.org/English_PDF/2_Dry/E2-13.pdf