



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

Κυτταρο-Ιστοκαλλιέργεια

Ενότητα 2^η

Ρυθμιστές αύξησης (μέρος β)

Όνομα καθηγητή: **Σ. Κίντζιος**

Τμήμα: **Βιοτεχνολογίας**



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης





Στόχοι ενότητας

1. Ρυθμιστές αύξησης.
2. Βασικά προβλήματα ιστοκαλλιέργειας.



Λέξεις - κλειδιά

- Λέξεις κλειδιά: Ρυθμιστές Αύξησης, Αυξίνες, Κυτοκινίνες, Ριζογένεση, Καλλογένεση, Βλαστογένεση, Μολύνσεις, Υαλοποίηση, Εγκλιματισμός, Παραλλακτικότητα *in vitro*.
- Key words: Growth Regulators, Auxins, Cytokinins, Root formation, Callus formation, Shoot formation, Contamination, Vitrification, Acclimatization, Variation *in vitro*.



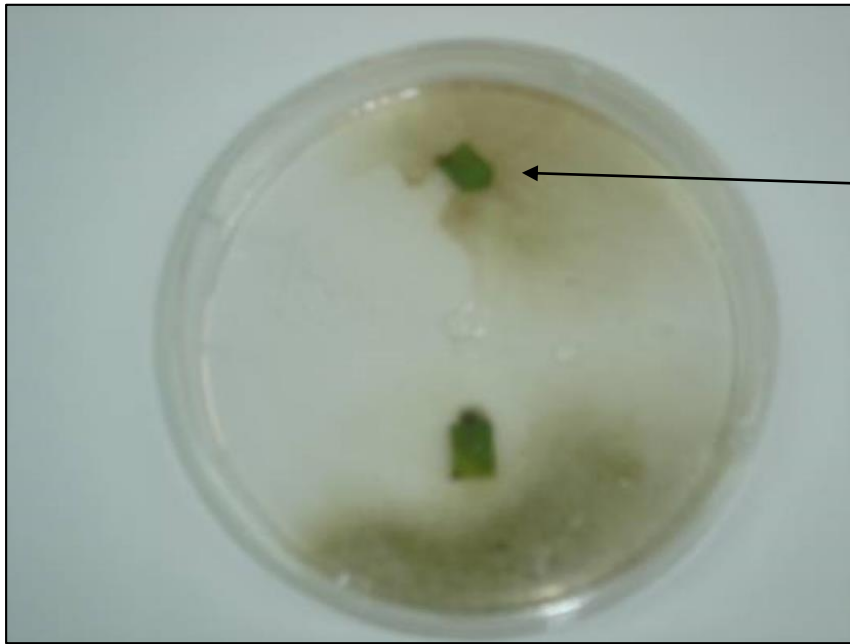
Προβλήματα ιστοκαλλιέργειας

Βασικά προβλήματα ιστοκαλλιέργειας:

- Μολύνσεις.
- Οξείδωση (κυρίως φαινολών \Rightarrow πολυφαινόλες \Rightarrow «μαύρισμα» καλλιεργειών).
- Υαλοποίηση.
- Εγκλιματισμός.
- Παραλλακτικότητα *in vitro*.



Μόλυνση από μύκητες



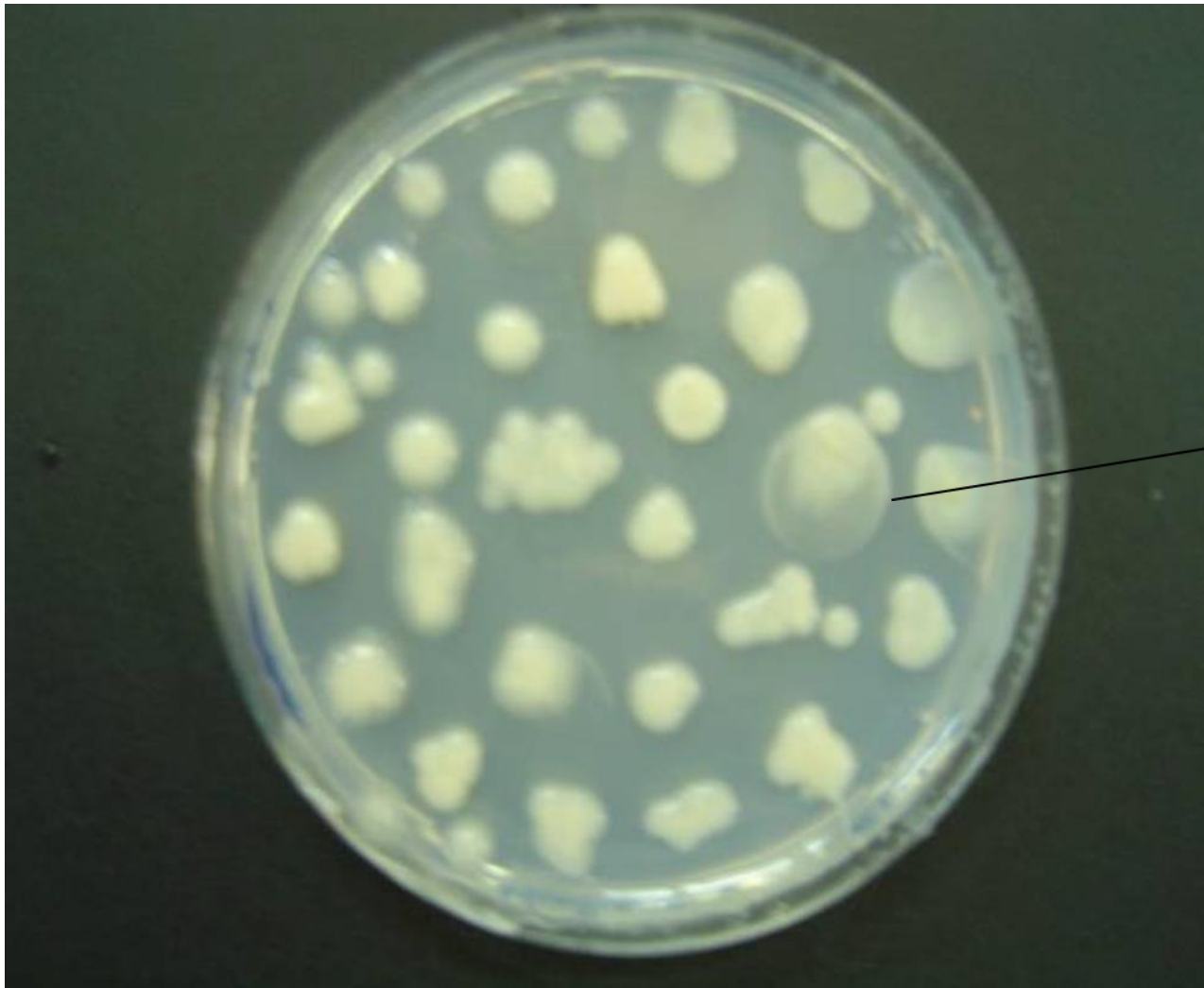
Η μόλυνση ξεκινά από ανεπαρκώς απολυμανθέντα έκφυτα.

Οι μυκητιακές μολύνσεις εξαπλώνονται πολύ γρήγορα.





Μόλυνση από βακτήρια

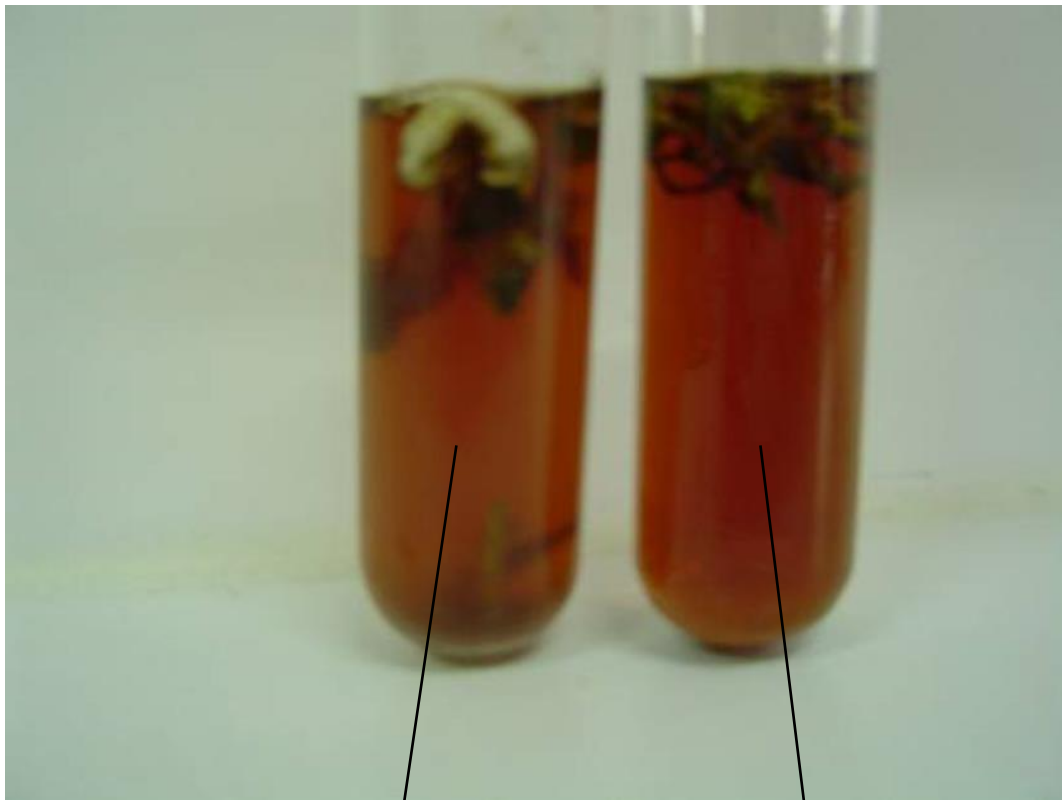


Βακτηριακή
άλως



Υπόστρωμα δοκιμής (α)

Υπόστρωμα δοκιμής στειρότητας των Leifert & Waites.



Μολυσμένο
υπόστρωμα

«Καθαρό»
υπόστρωμα

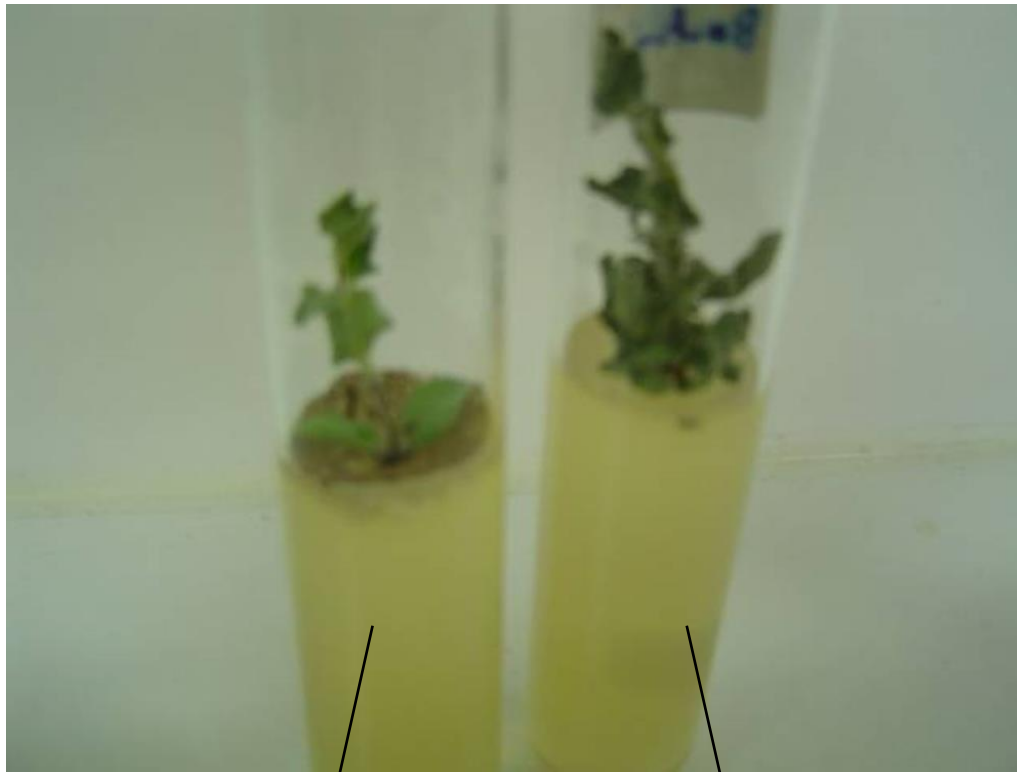


Υπόστρωμα με προχωρημένη
μόλυνση από μύκητες.



Υπόστρωμα δοκιμής (β)

Υπόστρωμα δοκιμής βακτηρίων.



Μολυσμένο
υπόστρωμα

«Καθαρό»
υπόστρωμα



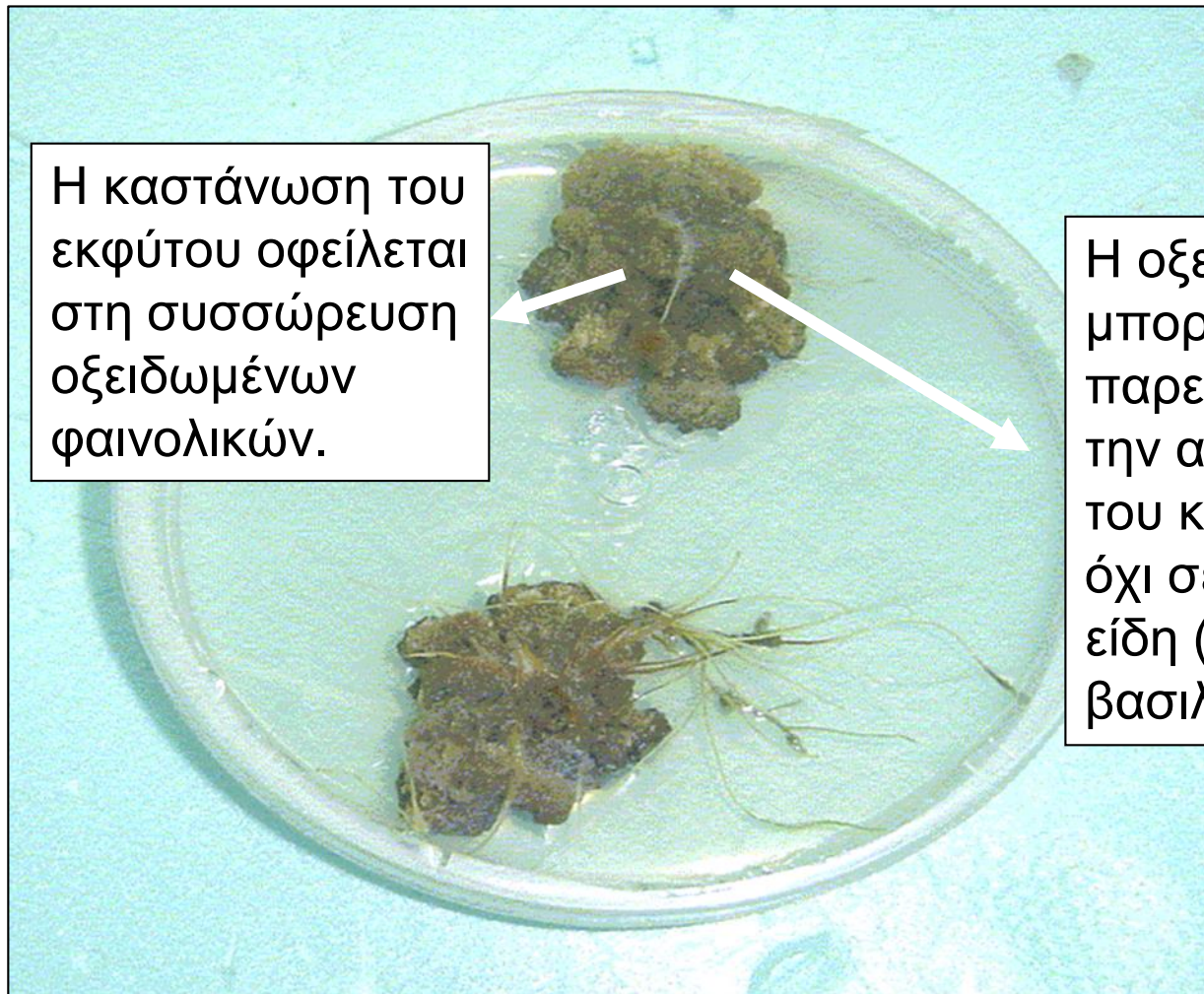
Αντιμετώπιση μολύνσεων

Μέτρα αντιμετώπισης μολύνσεων:

- Τήρηση ασηπτικών συνθηκών.
- Αντιβιοτικά (⚡ μπορεί να επηρεάσουν τις καλλιέργειες).
- Προσθήκη ανταγωνιστικών μικροβίων στο υπόστρωμα.



Οξείδωση (α)



Η καστάνωση του εκφύτου οφείλεται στη συσσώρευση οξειδωμένων φαινολικών.

Η οξείδωση μπορεί να παρεμποδίσει την ανάπτυξη του κάλλου αλλά όχι σε όλα τα είδη (π.χ. στον βασιλικό).



Οξείδωση (β)

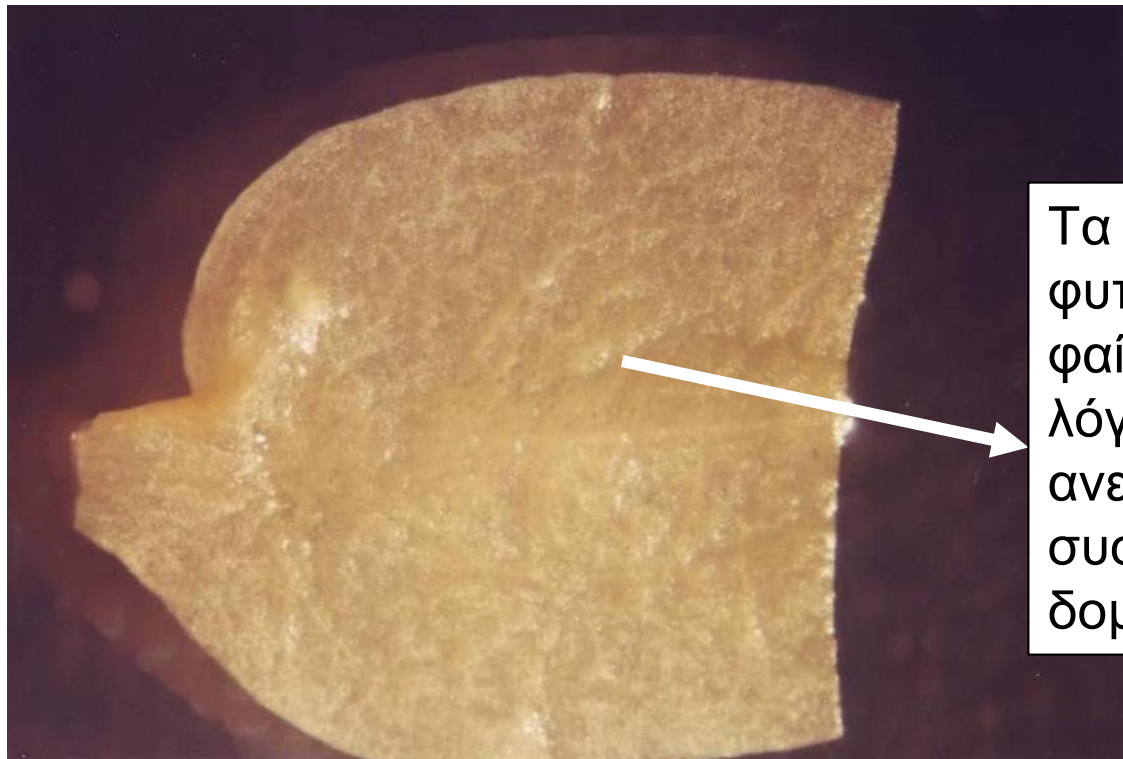
Μέτρα αντιμετώπισης οξείδωσης:

- Προσθήκη **αντιοξειδωτικών**.
- Προσθήκη **λεπτής στοιβάδας νερού** στο υπόστρωμα.
- Αποφυγή **εκτεταμένου τραυματισμού του εκφύτου**.
- Προσθήκη **απορροφητικού υλικού** (π.χ. ενεργός άνθρακας, AgNO_3 , Co).



Υαλοποίηση (α)

- Η υαλοποίηση είναι το αποτέλεσμα ανεπαρκούς **εγκλιματισμού**.
- Γενικά, τα υαλοποιημένα φυτά δεν επιβιώνουν.



Τα αναγεννημένα φυτά *in vitro* φαίνονται διαφανή λόγω της ανεπαρκούς συσσώρευσης δομικών στοιχείων.



Υαλοποίηση (β)

Μέτρα αντιμετώπισης υαλοποίησης:

- Επιλογή κατάλληλων ποικιλιών.
- Σωστή διαδικασία **εγκλιματισμού**.
- Εφαρμογή κυτοκινινών.
- **Ωφέλιμο** φαινόμενο για ορισμένα είδη (π.χ. κωνοφόρα).



Εγκλιματισμός (α)

Ο **εγκλιματισμός** είναι η διαδικασία που επιτρέπει την ορθή προσαρμογή ενός φυτού ανεπτυγμένου *in vitro* στις συνθήκες εκτός του δοχείου καλλιέργειας (*ex vitro*), όπως αυτές που επικρατούν στο θερμοκήπιο ή το χωράφι.



Εγκλιματισμός (β)

Τα φυτά δεν αναπτύσσονται σωστά *in vitro* ...

Αίτια

Φωτισμός << ηλιακό.

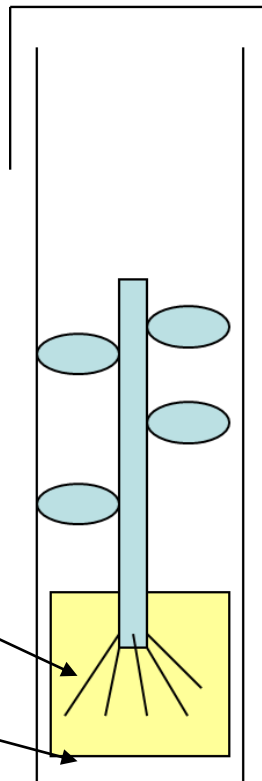
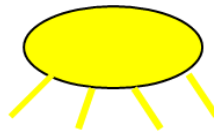
Εφαρμογή ορμονών.

Εφαρμογή σακχάρων.

Υπερβολική σχετική υγρασία (>60%).

Ανεπαρκές σκότος.

Ανεπαρκής διακύμανση θερμοκρασίας.



Επιδράσεις

Φωτοσύνθεση ↓.



Χλωροπλάστες ↓.

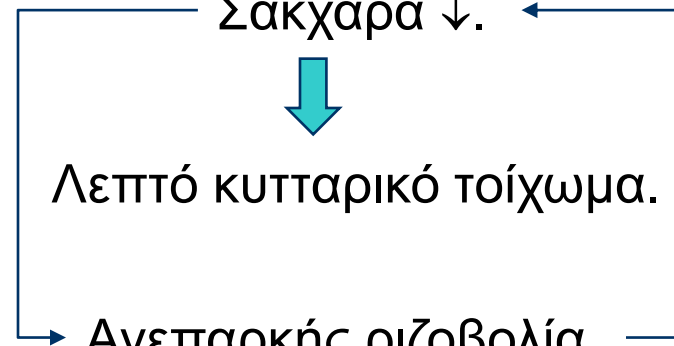


Σάκχαρα ↓.



Λεπτό κυτταρικό τοίχωμα.

Ανεπαρκής ριζοβολία.





Εγκλιματισμός (γ)

Και τι μπορεί να κάνει για αυτό ο σωστός εγκλιματισμός...

Μέτρα

Αύξηση φωτισμού.

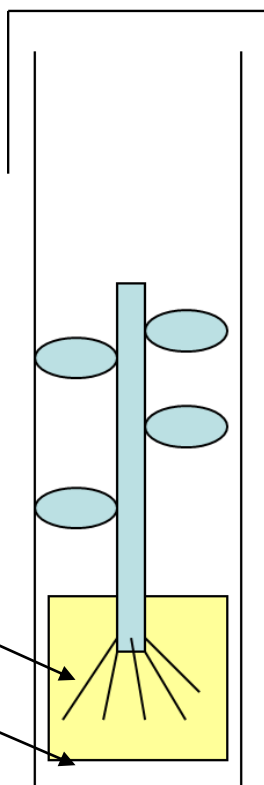
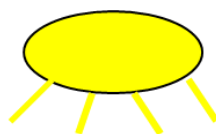
Εφαρμογή CO₂.

Σταδιακή μείωση σακχάρων.

Σταδιακή μείωση σχετικής υγρασίας (40%).

Σκοτιζόμενη βάση.

Ελεγχόμενη εναλλαγή θερμοκρασίας βάσης.



Αποτελέσματα

Πρόβλημα: Αύξηση θερμοκρασίας!!!

Χλωροπλάστες ↑.



Σάκχαρα ↑.



Ισχυρό κυτταρικό τοίχωμα.

Κανονική ριζοβολία.



Εγκλιματισμός (δ)

Βασικές προσεγγίσεις στον εγκλιματισμό:

- Φθηνή (χειρωνακτική).
- Ακριβή (αυτοματοποιημένη).

Εναλλακτικές προσεγγίσεις στον εγκλιματισμό:

- Υποκατάσταση τεχνητού φωτισμού με ηλιακό φως (π.χ. Μπανάνα).
- Ριζοβολία *ex vitro* σε απλά υποστρώματα (π.χ. σε άμμο).



Παραλλακτικότητα *in vitro* (α)

Τα φυτά από ιστοκαλλιέργεια δεν είναι πάντα όμοια μεταξύ τους (ακόμα και αν προέρχονται από το ίδιο φυτό).





Παραλλακτικότητα *in vitro* (β)

- Συχνότητα ***in vitro* παραλλακτικότητας**:
⇒ (2-30%).
- Συχνότητα **αυθόρμητης μεταλλαγής**:
⇒ (10^{-4} - 10^{-6}).



Που οφείλεται;

Σωμακλωνική:

- Αλλαγές σε:
 - αριθμό των χρωματοσωμάτων.
 - δομή των χρωματοσωμάτων.
 - συχνότητα crossing-over.
- Σημειακές μεταλλαγές.
- Δράση μεταθετών στοιχείων.
- Μιτωτικό crossing-over.
- Ενίσχυση γόνων.

Γαμετοκλωνική:

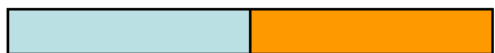
- όπως παραπάνω και ακόμα,
- έκφραση υπολλειπόμενων μεταλλαγών.



Crossing-over

Η επίδραση του crossing-over:

Συχνότητα του μειωτικού C.O. >> συχνότητα μιτωτικού C.O.



ΜΕΙΩΤΙΚΟ



ΜΙΤΩΤΙΚΟ

Γαμετοκλωνική παραλλακτικότητα >> Σωμακλωνική παραλλακτικότητα.



Παραλλακτικότητα *in vitro* (γ)

Η *in vitro* παραλλακτικότητα αυξάνεται με:

- Την αναγέννηση φυτών **μέσω κάλλου** (αποδιαφοροποίηση).
- Την **ηλικία** του έκφυτου.
- Το **επίπεδο** πλοειδίας.
- Τη **διάρκεια** της καλλιέργειας (2-3 μήνες).
- Τη **μεταλλαξιογένεση** (φυσική και/ή χημική).



Παραλλακτικότητα *in vitro* (δ)

Μέτρα αντιμετώπισης *in vitro* παραλλακτικότητας:

- Αποφυγή αναγέννησης φυτών **από κάλλο!**
- **Συχνή υποκαλλιέργεια ιστών** (μεταφορά σε φρέσκο υπόστρωμα κάθε 2-4 εβδομάδες)!
- Χρήση **νεαρών ιστών!**
- Αποφυγή προσπάθειας αναγέννησης **υπερβολικά μεγάλου αριθμού φυτών** (π.χ. 1000) από **ένα και μόνο έκφυτο!**



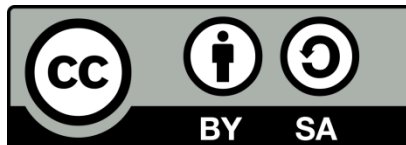
Βιβλιογραφία

- Introduction to Plant Tissue Culture by M. K. Razdan
Science Publishers, 2003.
- Plant Tissue Culture: An Introductory Text by Sant
Saran Bhojwani, Prem Kumar Dantu, Springer, 2013.



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδεια χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.





Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.





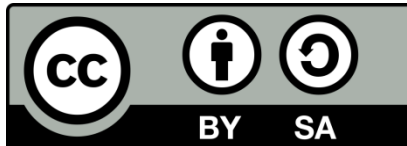
Σημείωμα Αναφοράς

- Copyright Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών 2014, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Κίντζιος Σπυρίδων, «Βιοτεχνολογία Τροφίμων». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2014. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση: <https://mediasrv.aua.gr/eclass/courses/OCDB102/>



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων, π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Η άδεια αυτή ανήκει στις άδειες που ακολουθούν τις προδιαγραφές του Ορισμού Ανοικτής Γνώσης [2], είναι ανοικτό πολιτιστικό έργο [3] και για το λόγο αυτό αποτελεί ανοικτό περιεχόμενο [4].

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

[2] <http://opendefinition.org/okd/ellinika/>

[3] <http://freedomdefined.org/Definition/EI>

[4] <http://opendefinition.org/buttons/>



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει) μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.