



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

# Κυτταρο-Ιστοκαλλιέργεια

## Ενότητα 1<sup>η</sup>

### Μικροπολλαπλασιασμός Φυτών (μέρος α)

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. Ιστορική αναδρομή.
2. Βασικοί όροι κυτταρο/ιστοκαλλιέργειας.
3. Μικροπολλαπλασιασμός.



# Λέξεις - κλειδιά

- Λέξεις κλειδιά: Μικροπολλαπλασιασμός, Έκφυτο, Διαφοροποίηση, Επιτυχής Ιστοκαλλιέργεια.
- Key words: Micropropagation, Explant, Differentiation, Successful Plant Tissue Culture.



# Ιστορική αναδρομή

1838	Διατύπωση της θεωρίας της <b>ολοδυναμίας</b> από τους Schwan και Schleiden.
1902	Πρώτη απόπειρα <b>ιστοκαλλιέργειας</b> από τον Haberlandt.
1909	Πρώτη απόπειρα σύντηξης πρωτοπλαστών (Kuster).
1934	Καλλιέργεια <b>ρίζας</b> τομάτας από τον White.
1939	Εγκατάσταση <b>συνεχώς αυξανόμενων καλλιεργειών κάλλου</b> (Gautheret, Nobécourt και White).
1948	Σχηματισμός <b>τυχαίων ριζών και βλαστών</b> σε κυτταροκαλλιέργειες καπνού με έλεγχο της σχετικής συγκέντρωσης <b>αυξίνης/αδενίνης</b> (κυτοκινίνης) (Skoog και Tsui).
1952	Παραγωγή φυτών ντάλιας <b>απηλλαγμένων ιών</b> μέσω καλλιέργειας <b>μεριστωμάτων</b> (Morel και Martin).
1954	Αναγέννηση φυτού <b>από ένα και μόνο κύτταρο</b> (Muir).
1955	Ανακάλυψη της <b>κινετίνης</b> , βασικής κυτοκινίνης (Miller).
1956	Παραγωγή <b>δευτερογενών μεταβολιτών</b> από κυτταροκαλλιέργειες (Tulecke και Nickell).

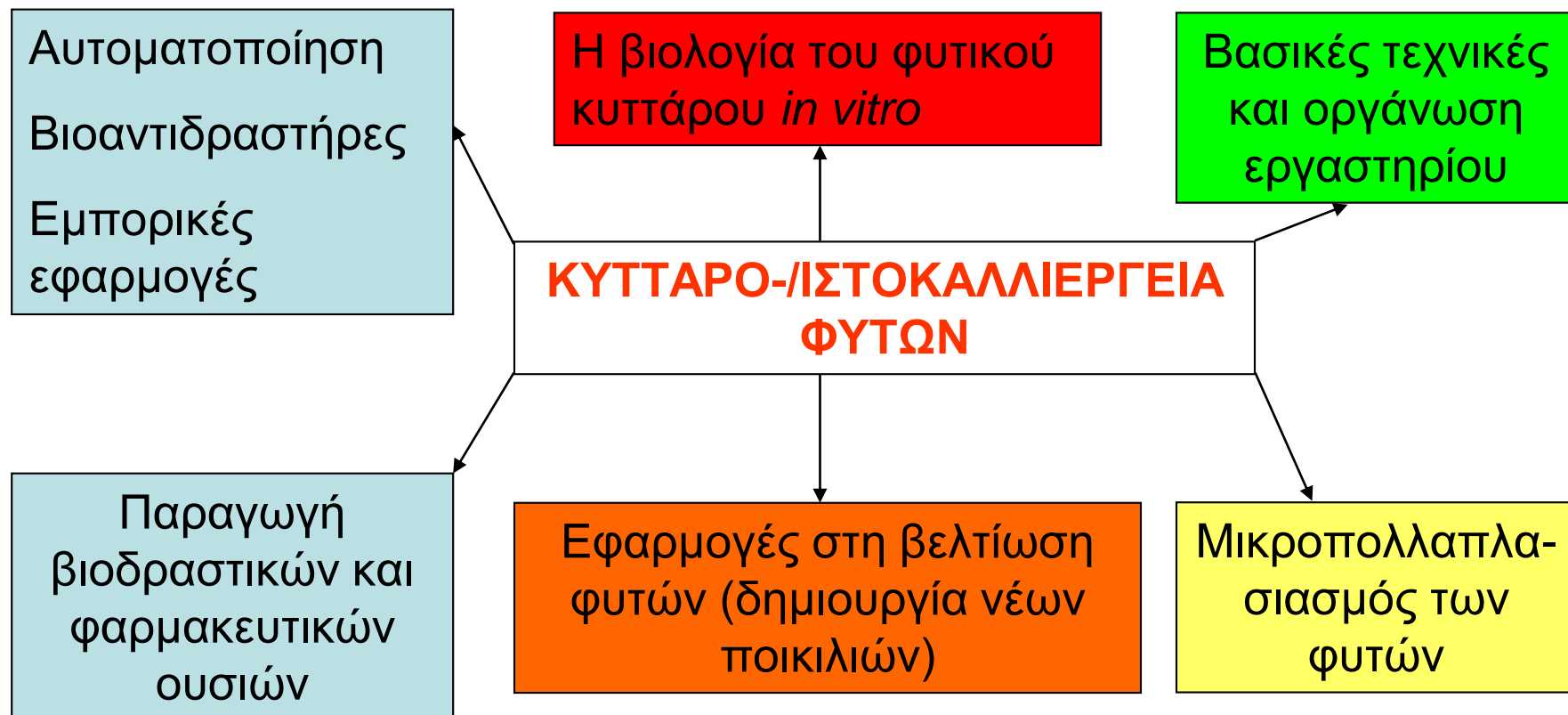


# Ιστορική αναδρομή (συνέχεια)

1958	Αναγέννηση φυτών μέσω <b>σωματικής εμβρυογένεσης</b> από το ενδοσπέρμιο του είδους Citrus ovules (Maheshwari και Rangaswamy).
1962	Δημιουργία του <b>θρεπτικού υποστρώματος Murashige και Skoog</b> , του διασημότερου και πλέον χρησιμοποιημένου βασικού θρεπτικού μέσου στην ιστοκαλλιέργεια των φυτών.
1967	Παραγωγή <b>απλοειδών φυτών</b> από γυρεόκοκκους καπνού (Bourgin και Nitsch).
1970	Πρώτη επιτυχημένη <b>χημική σύντηξη πρωτοπλαστών</b> (Power).
1974	<b>Βιομετατροπή</b> (Reinhard).
1980	<b>Ακίνητοποίηση</b> κυττάρων (Alfermann).
1982	<b>Ηλεκτροσύντηξη πρωτοπλαστών</b> (Zimmerman).
1984	<b>Μεταμόρφωση</b> φυτικών κυττάρων με πλασμιδιακό DNA (Paszkowski).
1984	Καλλιέργεια φυτικών κυττάρων σε <b>βιοαντιδραστήρα</b> (Smart και Fowler).
1991	<b>Μικροπολλαπλασιασμός</b> φυτών σε <b>βιοαντιδραστήρα</b> (Ziv).



# ΚΥΤΤΑΡΟ-ΙΣΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ



Αυξανόμενος βαθμός δυσκολίας ή μειούμενη διαθεσιμότητα πληροφοριών



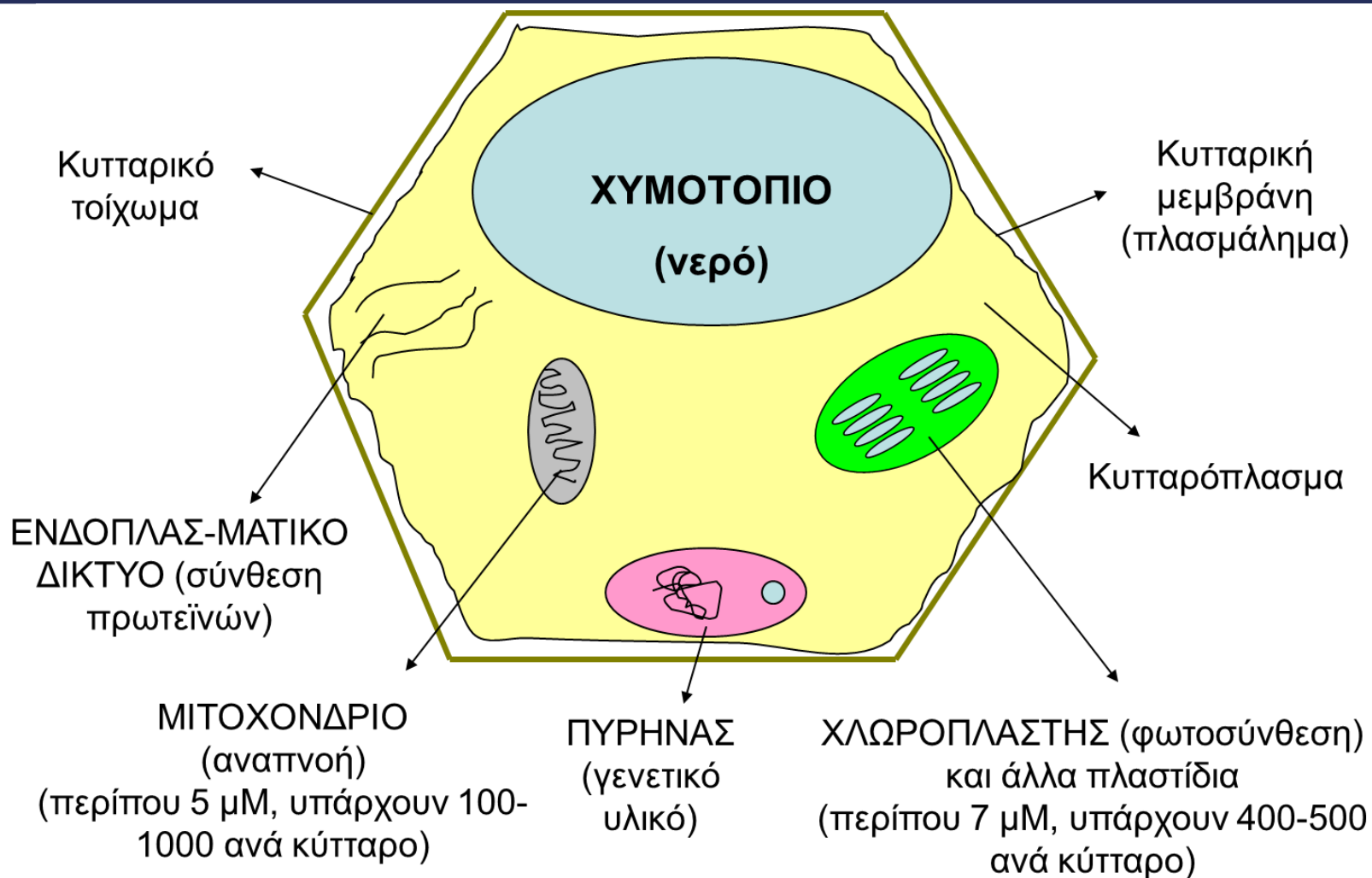
# Φυτικό κύτταρο (α)

Τα φυτικά κύτταρα είναι διαφορετικά από τα ζωικά:

- Έχουν **κυτταρικό τοίχωμα**.
- Συνήθως έχουν **χλωροπλάστες** και μπορούν να αφομοιώσουν  $\text{CO}_2$  μέσω της φωτοσύνθεσης.
- Το εσωτερικό τους απαρτίζεται (έως το 95%) από ένα ή περισσότερα **χυμοτόπια**.
- Τα φυτικά κύτταρα αναπτύσσονται και διαφοροποιούνται κατά τρόπο μη προπροσδιορισμένο (είναι **ολοδύναμα**).



# Φυτικό κύτταρο (β)







# Καλλιεργούμενοι τύποι φυτικών κυττάρων (α)

Συνηθέστερα καλλιεργούμενοι τύποι φυτικών κυττάρων:

- **Μεριστωματικά** (διάμετρος ~ 20 μ, ικανά για συνεχή διαίρεση, εξαιρετική απόκριση στην ιστοκαλλιέργεια).
- **Μεσοφυλλικά** (διάμετρος ~ 50 μ, ικανά για αρκετό αριθμό διαιρέσεων, καλή έως μέτρια απόκριση στην ιστοκαλλιέργεια).



# Καλλιεργούμενοι τύποι φυτικών κυττάρων (β)

Συνηθέστερα καλλιεργούμενοι τύποι φυτικών κυττάρων: (συνέχεια)

- Κύτταρα **ηθμού/ξύλου** (ικανά για λίγες μόνο διαιρέσεις, κακή απόκριση στην ιστοκαλλιέργεια).
- **Επιδερμικά** (ελάχιστα διαιρούμενα, ελάχιστη απόκριση στην ιστοκαλλιέργεια).



# Κυρίως όμως...

- Το γονίωμα των φυτικών κυττάρων είναι πολύ πιο **εύπλαστο** από αυτό των ζωϊκών (όσον αφορά μερικά οργανίδια, π.χ. μιτοχόνδρια) και των μικροβιακών, δηλαδή τα φυτικά γονίδια μπορούν να **εξαναγκάζονται** να αντιγράφονται ή να «σιωπούν» (π.χ. μέσω μεθυλίωσης) με πολύ μεγαλύτερη ευχέρεια.
- Αντίστοιχες παρεμβάσεις σε ζωϊκά κύτταρα συνήθως οδηγούν σε **θάνατο** ή **καρκινογένεση**.



# Μορφολογικές αλλαγές (α)

Κατά τη καλλιέργεια, τα φυτικά κύτταρα υφίστανται μια σειρά μορφολογικών αλλαγών:

- Το **πάχος** του κυτταρικού τοιχώματος μεταβάλλεται ανάλογα με την φάση της κυτταρικής αύξησης.
- Η **διαπερατότητα** του κυτταρικού τοιχώματος γενικά αυξάνει.
- Τα **χυμοτόπια** ενώνονται μεταξύ τους.



# Μορφολογικές αλλαγές (β)

- Οι **χλωροπλάστες** εξαφανίζονται ή καθίστανται μη λειτουργικοί, ανάλογα με το επίπεδο του CO<sub>2</sub>, την ένταση του φωτισμού και τη δράση ρυθμιστών αύξησης.
- Η **κυτταρική μεμβράνη** παρουσιάζει αυξημένους ρυθμούς δυναμικής ανακύκλωσης.
- Εξαφανίζονται οι **πλασμοδεσμοί**.
- Τα κύτταρα (εκτός από τους πρωτοπλάστες) σχηματίζουν **συσσωματώματα** 5-1000 κυττάρων.



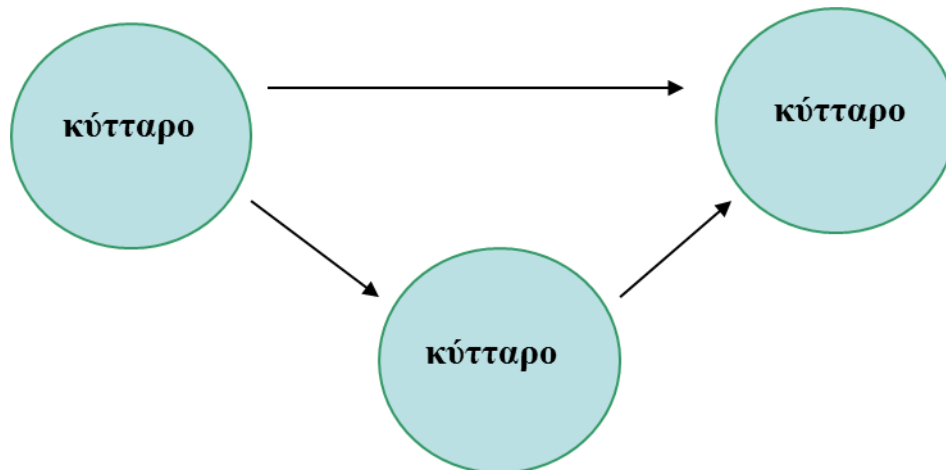
# Τι είναι το έκφυτο;

- **Ένα έκφυτο** είναι κάθε τύπος κυττάρου, κυτταρικού συσσωματώματος, ιστού ή ακόμα και οργάνου (όπως ρίζα, βλαστός ή άνθος) που μπορεί να καλλιεργηθεί *in vitro*.
- Κάθε έκφυτο σε καλλιέργεια υπόκειται σε μία σειρά από διεργασίες **διαφοροποίησης ή αποδιαφοροποίησης**.



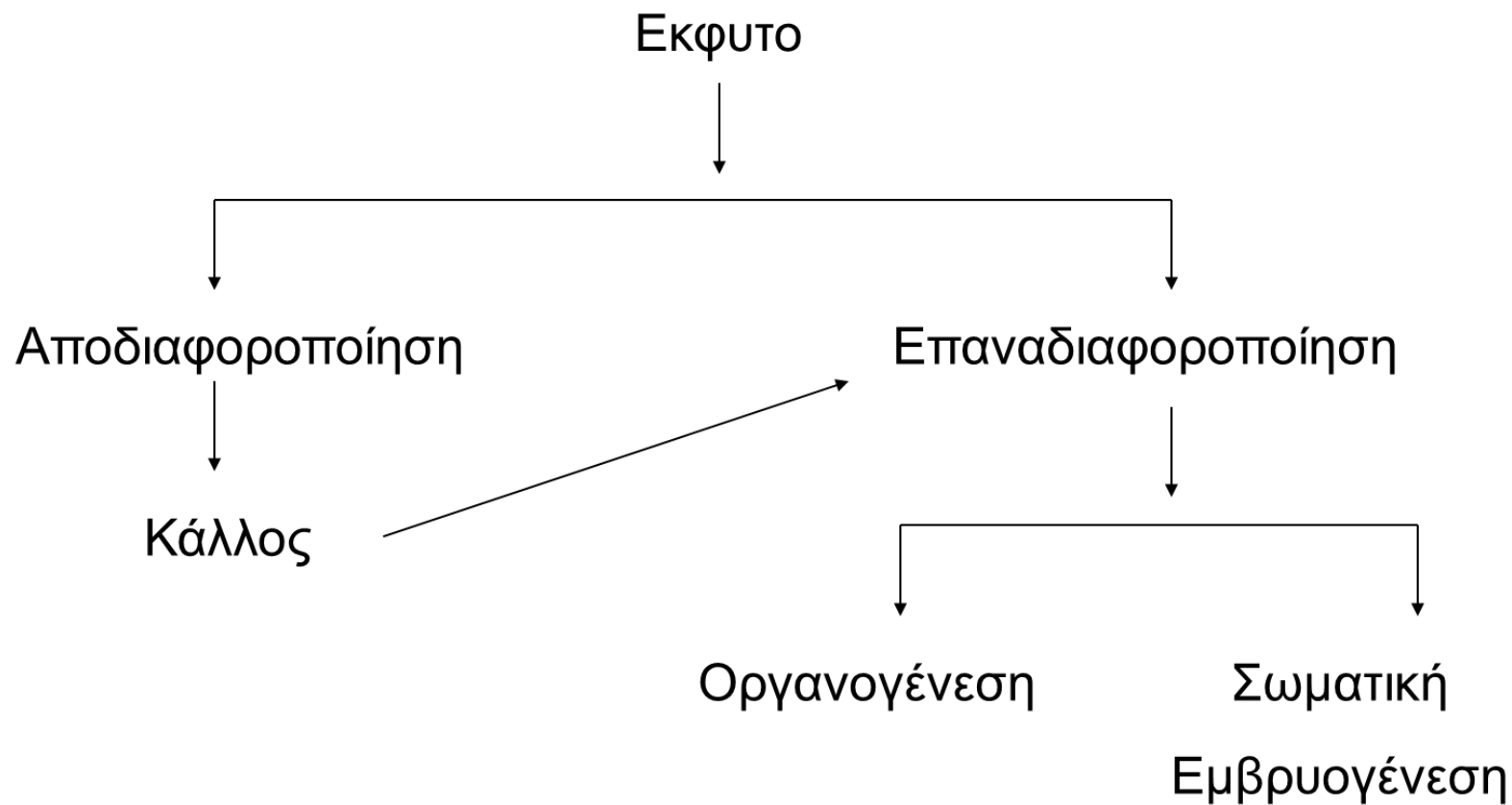
# Κυτταροδιαίρεση

- Η κυτταροδιαίρεση απαιτεί ένα ελάχιστο μέγεθος εμβολίου ( $> 10^4$  κύτταρα/ml).
- Τα κύτταρα ανταλλάσσουν σήματα (**ΚΥΤΟΚΙΝΙΝΕΣ**, **α-θειοκινίνες**) που διεγείρουν την κυτταροδιαίρεση. Για το λόγο αυτό είναι σημαντική μια υψηλή κυτταρική πυκνότητα.





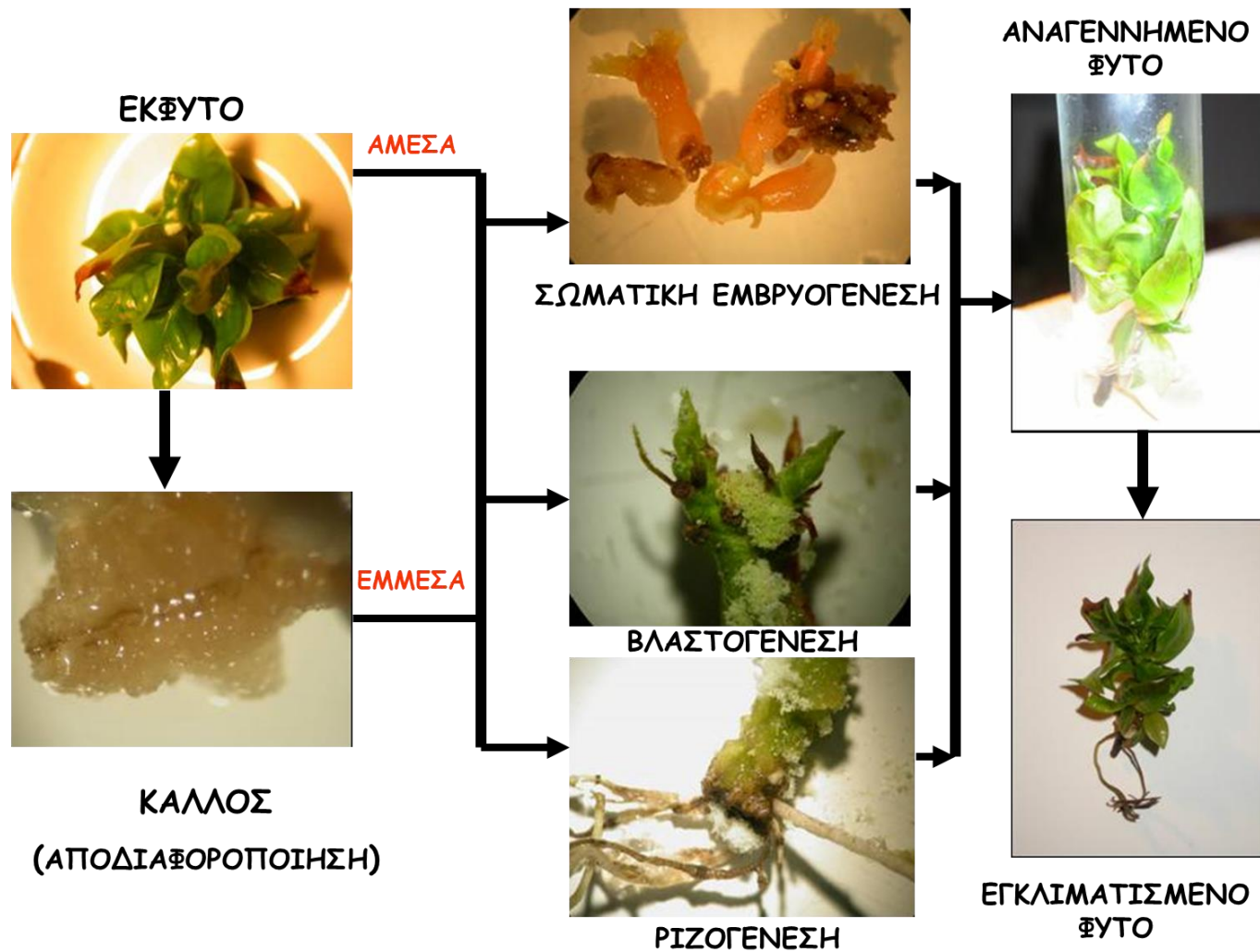
# Οδοί διαφοροποίησης (α)







# Οδοί διαφοροποίησης (β)





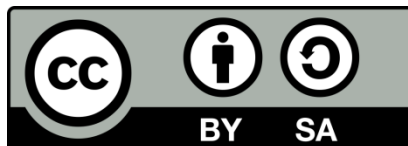
# Βιβλιογραφία

- Plants from Test Tubes: An Introduction to Micropropagation by Kyte Lydiane, Timber Press, 1996.
- 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.





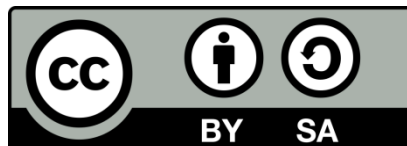
# Σημείωμα Αναφοράς

- 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.