



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

Κυτταρο-Ιστοκαλλιέργεια

Ενότητα 7^η

Καλλιέργεια ανθέρων και
πρωτοπλαστών
(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. Καλλιέργεια πρωτοπλαστών.
2. Καλλιέργεια ανθέρων.



Λέξεις - κλειδιά

- Λέξεις κλειδιά: Πρωτοπλάστες, Ανθήρες.
- Key words: Protoplast, Anthers.



Καλλιέργεια πρωτοπλάστων (α)

Τι είναι πρωτοπλάστης;

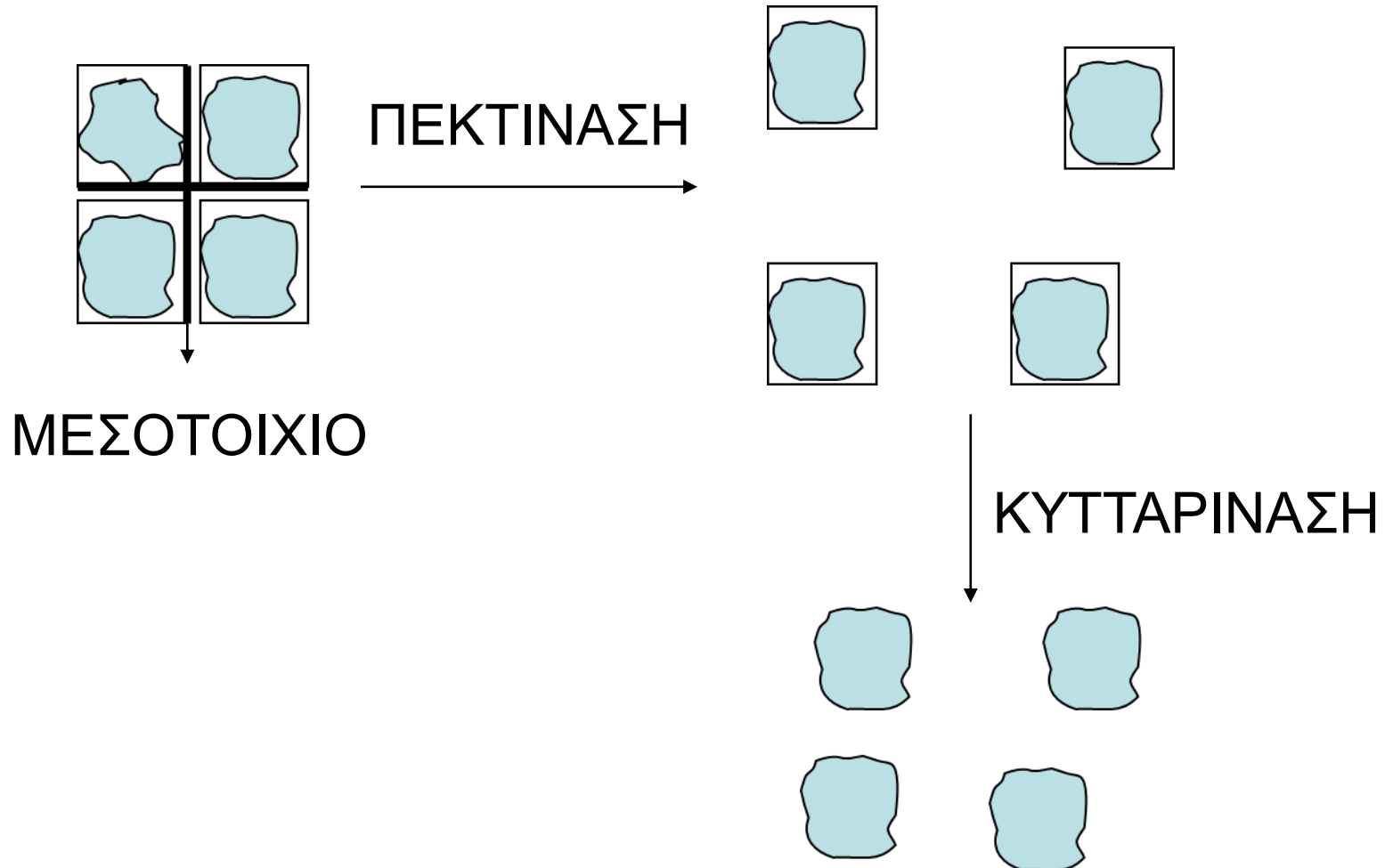
- Ένα φυτικό κύτταρο **χωρίς** κυτταρικό τοίχωμα.

Τι τους χρειαζόμαστε;

- Άμεση πρόσβαση στην **κυτταρική μεμβράνη**.
- Προϋπόθεση για **εισαγωγή γονιδίων**.
- **Σύντηξη** πρωτοπλάστων \Rightarrow δημιουργία **συβριδίων**.

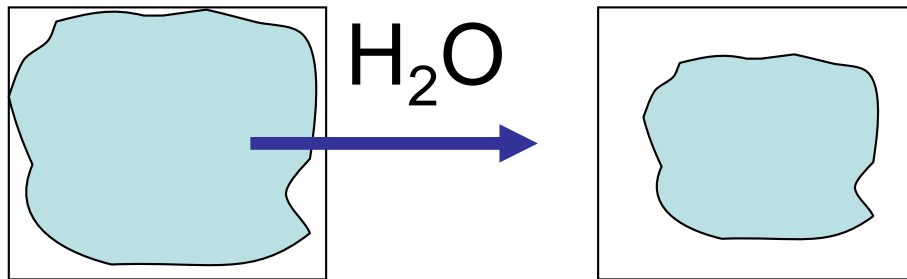


Καλλιέργεια πρωτοπλαστών (β)





Προπλάσμός





Καλλιέργεια πρωτοπλαστών (γ)

ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΗΤΡΙΚΟΥ ΦΥΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ (νεαρός ιστός ή κάλλος)



ΕΙΔΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ (ειδικά υψηλή αρχική ένταση φωτισμού και φωτοπερίοδος)



ΠΡΟΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ ΜΗΤΡΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ (απομάκρυνση επιδερμίδας, ελαφρά πλασμólυση)



ΛΥΣΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ (επώαση με ένζυμα αποδόμησης στο σκοτάδι, 4-20 ώρες)



ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΟΠΛΑΣΤΩΝ (διήθηση, φυγοκέντρωση)



ΕΛΕΓΧΟΣ ΛΥΣΗΣ

ΕΛΕΓΧΟΣ ΖΩΤΙΚΟΤΗΤΑΣ



Καλλιέργεια πρωτοπλαστών (δ)

ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗ ΠΡΩΤΟΠΛΑΣΤΩΝ (PLATING) & ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ



ΕΠΑΝΑΣΥΣΤΑΣΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ (24-40 ώρες)



ΕΠΙΜΗΚΥΝΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΥ



ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΙΑΙΡΕΣΗ (2-7 μέρες)



ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΜΙΚΡΟΚΑΛΛΟΥ (τουλάχιστον 100 κύτταρα/κάλλο)



ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΕΜΒΡΥΟΓΕΝΕΣΗ

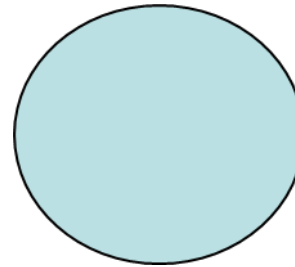
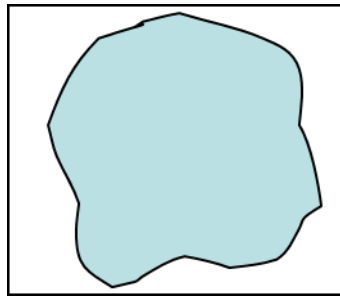
ΟΡΓΑΝΟΓΕΝΕΣΗ



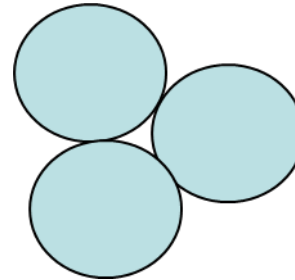
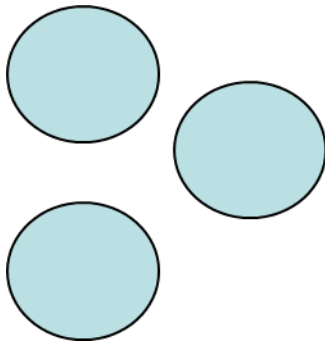
ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΦΥΤΩΝ



Έλεγχος λύσης

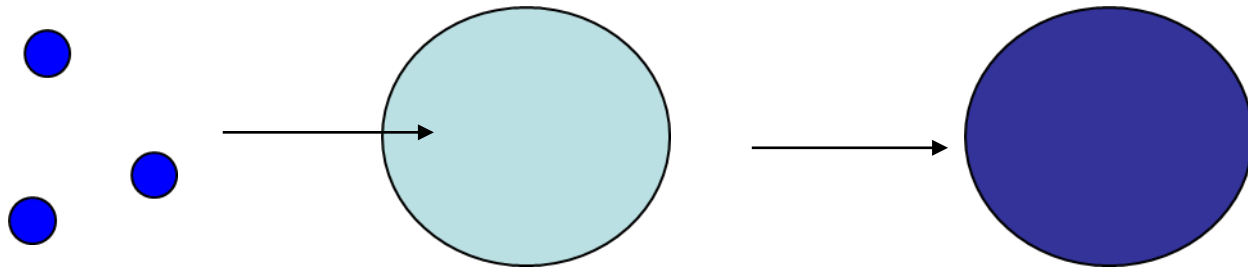


H₂O





Έλεγχος ζωτικότητας



ΧΡΩΣΤΙΚΗ

(π.χ. Evans Blue, FDA)



Υπολογισμός τελικής ποσότητας πρωτοπλαστών

Συνολικοί πρωτοπλάστες/ml = $A \times B \times \Gamma$.

- Συνολικά μοναδιαία κύτταρα/ml (A).
- % πρωτοπλάστες στα μοναδιαία κύτταρα (B).
- % ζωντανά κύτταρα στα μοναδιαία κύτταρα (Γ).
- Χρειάζονται τουλάχιστον 200-500 πρωτοπλάστες/ml για επιτυχημένη εγκατάσταση καλλιέργειας (plating).



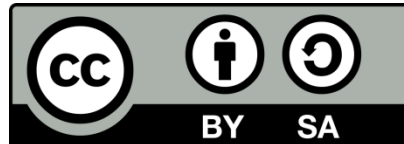
Βιβλιογραφία

- Plant Tissue Culture: Theory and Practice by S.S. Bhojwani, M.K. Razdan, Elsevier Science, 1996.



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.





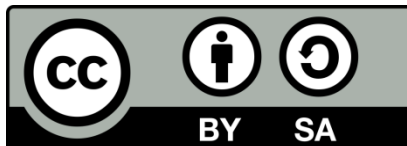
Σημείωμα Αναφοράς

- 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.