

ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙ ΑΣΜΟΣ *IN VITRO* ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ (*OLEA EUROPAEA L.*) ΠΟΙΚΙΛΙΑ «ΚΟΡΩΝΕΪΚΗ».

Π. Ρούσσος και Κ. Ποντίκης
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο
Δενδροκομίας, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 118 55

Περίληψη

Μονοκομβικά έκφυτα ελιάς ποικιλίας «Κορωνέϊκη» καλλιεργήθηκαν κατά το στάδιο της βλαστογένεσης σε τροποποιημένο υπόστρωμα DKW εφοδιασμένο με διάφορες συγκεντρώσεις βενζυλαμινοπουρίνης (BA), ισοπεντυλ-αδενίνης (2iP) ριβοζιδίου της ζεατίνης (Zr) και θειδιαζουρόν (TDZ). Μετά από ένα μήνα τα έκφυτα μεταφυτεύθηκαν σε φρέσκο υπόστρωμα για ακόμα ένα μήνα. Η ριζογένεση επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας τεχνική δύο σταδίων, (υγρό υπόστρωμα WPM εφοδιασμένο με αυξίνες και στερεό υπόστρωμα άνευ αυξινών). Τόσο στο υπόστρωμα βλαστογένεσης όσο και στο υπόστρωμα ριζοβολίας προστέθηκε αλκοολικό εκχύλισμα καρκινωμάτων ελιάς σε συνδυασμό με τις συγκεντρώσεις των φυτορρυθμιστικών ουσιών που έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα και μελετήθηκε η επίδρασή του. Το ριβοζίδιο της ζεατίνης αποδείχθηκε ανώτερο των άλλων κυτοκινινών όσον αφορά τη βλαστογένεση της ελιάς ποικιλίας «Κορωνέϊκη» *in vitro*. Στο στάδιο της ριζοβολίας τα καλύτερα αποτελέσματα επιτεύχθηκαν με το συνδυασμό των δύο αυξινών σε συγκέντρωση 1+1 ppm αντίστοιχα (76% ποσοστό ριζοβολίας). Η προσθήκη εκχυλίσματος καρκινωμάτων ελιάς αύξησε το ποσοστό ριζοβολίας στο 87%. Τα έρριζα έκφυτα εγκλιματίστηκαν επιτυχώς υπό τις συνθήκες υδρονέφωσης επιτυγχάνοντας ποσοστό επιβίωσης περί το 75%.

Εισαγωγή.

Ο πολλαπλασιασμός *in vitro* είναι μια σύγχρονη μέθοδος πολλαπλασιασμού που προσφέρει τη δυνατότητα παραγωγής φυτικού υλικού ανεξαρτήτως της εποχής του έτους (Standardi et al. 1998). Τις δύο τελευταίες δεκαετίες έγιναν σημαντικά βήματα προς την κατεύθυνση πολλαπλασιασμού της ελιάς *in vitro* (Rugini, 1986) Γενικά η ελιά θεωρείται φυτό που δεν ανταποκρίνεται εύκολα κατά τον μικροπολλαπλασιασμό (Mencuccini and Rugini, 1993). Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθούν οι παράγοντες που επηρεάζουν τον *in vitro* πολλαπλασιασμό της ποικιλίας «Κορωνέϊκη».

Υλικά και Μέθοδοι.

Κομβικά έκφυτα ελιάς ποικιλίας «Κορωνέϊκη» προερχόμενα από νεαρούς βλαστούς ενήλικων καρατομημένων δένδρων αποτέλεσαν την πηγή του φυτικού υλικού. Τα έκφυτα αυτά μετά την εγκατάστασή τους *in vitro* καλλιεργήθηκαν για ένα μήνα σε τροποποιημένο υπόστρωμα DKW εφοδιασμένο είτε με βενζυλαμινοπουρίνη (BA), είτε με ισοπεντυλ-αδενίνη (2iP) είτε με ριβοζίδιο της ζεατίνης (Zr) σε συγκεντρώσεις 0.5, 1, 2 και 4 ppm για κάθε μία είτε με θειδιαζουρόν (TDZ) σε συγκεντρώσεις 0.05, 0.1, 0.2 και 0.4 ppm. Τα έκφυτα μεταφυτεύθηκαν σε νέο υπόστρωμα εφοδιασμένο με τις ίδιες φυτορρυθμιστικές ουσίες για ακόμα ένα μήνα.

Κατά το στάδιο της ριζοβολίας τα έκφυτα φυτεύτηκαν για μία εβδομάδα σε υγρό υπόστρωμα WPM εφοδιασμένο με αυξίνες (ινδολοβουτυρικό οξύ-IBA και α-

ναφθαλινοξικό οξύ α -NAA, μόνες τους ή σε συνδυασμό σε συγκεντρώσεις 1, 2 και 4 ppm ή 1+1, 2+2 και 4+4 ppm, όπου αναφέρονται στο εξής ως χαμηλή, μεσαία και υψηλή) στο σκοτάδι και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν για πέντε εβδομάδες σε στερεό υπόστρωμα άνευ αυξινών με μία μικρή στρώση περλίτη στην επιφάνειά του σε συνθήκες φωτισμού. Τόσο στο υπόστρωμα βλαστογένεσης όσο και στο υπόστρωμα ριζοβολίας προστέθηκε αλκοολικό εκχύλισμα καρκινωμάτων ελιάς σε συνδυασμό με τις συγκεντρώσεις των φυτορρυθμιστικών ουσιών που έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα και μελετήθηκε η επίδρασή του. Το εκχύλισμα καρκινωμάτων ελιάς παράχθηκε όπως περιγράφεται από τους Roussos et al. (2002) και προσθέτονταν στο υπόστρωμα σε συγκεντρώσεις 25 και 50ppm στο στάδιο βλαστογένεσης και 50ppm στο στάδιο της ριζοβολίας. Στη συνέχεια τα έρριζα έκφυτα μεταφέρονταν σε μονάδα υδρονέφωσης προς εγκλιματισμό και σκληραγώγηση.

Το πείραμα ακολούθησε το εντελώς τυχαιοποιημένο σχέδιο με έξι επαναλήψεις των δέκα εκφύτων. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση διασποράς παραγοντικού πειράματος με δύο παράγοντες και οι διαφορές προσδιορίζονται στα σχεδιαγράμματα με τη χρήση του τυπικού σφάλματος της ανάλυσης (η κάθετη γραμμή στα σχεδιαγράμματα).

Αποτελέσματα.

Στον Πίνακα 1 και στο σχεδιάγραμμα 1 παρατηρείται ότι η φυτορρυθμιστική ουσία επηρέασε σημαντικά την ανταπόκριση των εκφύτων ελιάς όπως επίσης και η συγκέντρωση αυτής, πλην του αριθμού των κόμβων ανά μήκος βλαστού.

Πίνακας 1. Ανάλυση διασποράς των επιδράσεων της φυτορρυθμιστικής ουσίας (Φ.Ο.) και της συγκέντρωσης (ΣΥΓΚ) αυτής στα μετρούμενα βιομετρικά χαρακτηριστικά των εκφύτων στο στάδιο βλαστογένεσης *in vitro*.

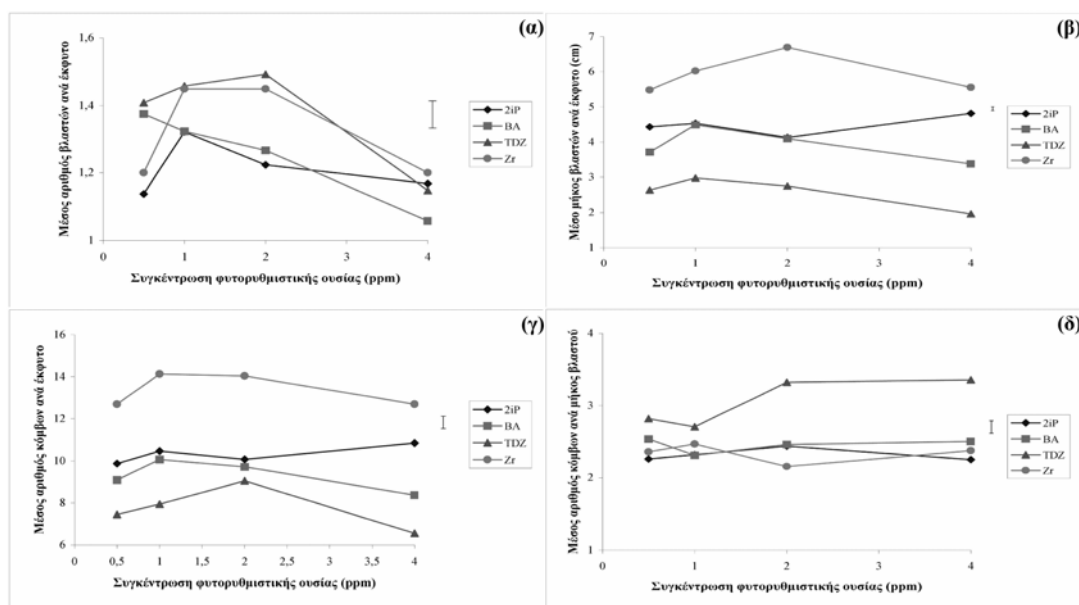
Μετρούμενες μεταβλητές	Πηγή παραλλακτικότητας		
	ΦΟ	ΣΥΓΚ	ΦΟ*ΣΥΓΚ
Αριθμός βλαστών ανά έκφυτο	<0,05	<0,001	ns
Μήκος βλαστών ανά έκφυτο	<0,001	<0,05	ns
Αριθμός κόμβων ανά έκφυτο	<0,001	<0,05	ns
Αριθμός κόμβων ανά μήκος βλαστών	<0,001	ns	ns

Επεξηγήσεις $p < 0.001$, $p < 0.05$ σημαντική επίδραση σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,001$ και $\alpha = 0,05$ αντίστοιχα – ns, μη σημαντική επίδραση.

Το ριβοζίδιο της ζεατίνης (2 ppm) προώθησε σημαντικά όλα τα μετρούμενα βιομετρικά χαρακτηριστικά έναντι των υπολοίπων κυτοκινινών. Η προσθήκη εκχυλίσματος καρκινωμάτων ελιάς παρεμπόδισε τη βλαστογένεση μειώνοντας τόσο το μήκος όσο και τον αριθμό των κόμβων και βλαστών ανά έκφυτο.

Στον Πίνακα 2 και στο σχεδιάγραμμα 2 παρατηρείται ότι το είδος της φυτορρυθμιστικής ουσίας επηρεάζει σημαντικά όλα τις μετρούμενες μεταβλητές κατά το στάδιο ριζοβολίας. Καλύτερα αποτελέσματα επιτεύχθηκαν με την προσθήκη στο υπόστρωμα IBA 1 ppm, α -NAA 4 ppm και IBA + α -NAA 1 + 1 ppm.

Η προσθήκη του εκχυλίσματος καρκινωμάτων ελιάς αύξησε σημαντικά το ποσοστό ριζοβολίας χωρίς να έχει κάποια σημαντική επίδραση στο μέσο αριθμό και μέσο μήκος ριζών ανά έκφυτο, όπως φαίνεται και από το σχεδιάγραμμα 3. Περίπου το 75% των έρριζων εκφύτων εγκλιματίστηκαν με επιτυχία και συνέχισαν την ανάπτυξή τους.



Σχεδιάγραμμα 1. Επίδραση των φυτορρυθμιστικών ουσιών κατά το στάδιο της βλαστογένεσης *in vitro* στα μετρούμενα βιομετρικά χαρακτηριστικά των εκφύτων. Το TDZ προστέθηκε σε υποδεκαπλάσια συγκέντρωση στο υπόστρωμα.

Πίνακας 2. Ανάλυση διασποράς των επιδράσεων της αυξητικής ουσίας (Φ.Ο.) και της συγκέντρωσης αυτής (ΣΥΓΚ), στα μετρούμενα βιομετρικά χαρακτηριστικά των εκφύτων στο στάδιο ριζοβολίας *in vitro*.

Μετρούμενες μεταβλητές	Πηγή παραλλακτικότητας		
	ΦΟ	ΣΥΓΚ	ΦΟ*ΣΥΓΚ
Ποσοστό ριζοβολίας	<0,01	ns	ns
Αριθμός ριζών ανά έκφυτο	<0,001	<0,05	ns
Μήκος ριζών ανά έκφυτο	<0,01	ns	<0,01

Επεξηγήσεις: $p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.05$ σημαντική επίδραση σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,001$, $\alpha = 0,01$ και $\alpha = 0,05$ αντίστοιχα -ns, μη σημαντική επίδραση.

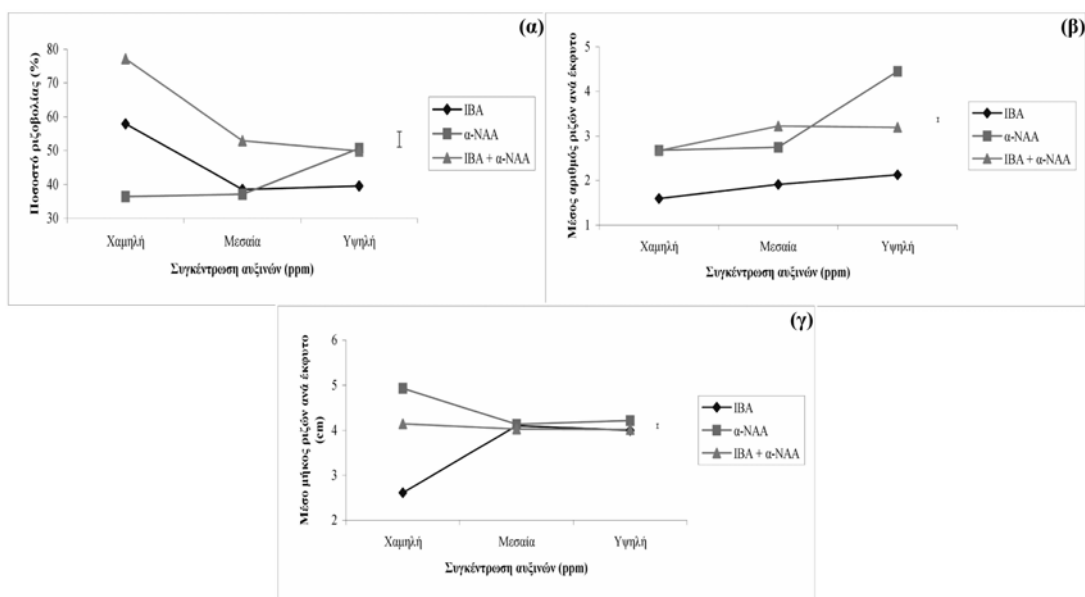
Συζήτηση.

Κατά το στάδιο της βλαστογένεσης στην καλλιέργεια *in vitro* της ποικιλίας «Κορωνέϊκη» τα έκφυτα αναπτύχθηκαν καλύτερα όταν στο υπόστρωμα προστέθηκε ριβοζίδιο της ζεατίνης, όπως άλλωστε αναφέρεται και στη βιβλιογραφία. Κατά το στάδιο της ριζοβολίας ο συνδυασμός δύο αυξινών έδωσε καλύτερα αποτελέσματα, όπως αναφέρεται εξάλλου και για άλλα είδη. Η προσθήκη εκχυλίσματος καρκινωμάτων ελιάς προώθησε μόνο τη ριζοβολία, πιθανόν λόγω της ύπαρξης τόσο αυξινών όσο και πολυαμινών, ουσίες που προωθούν τη ριζογένεση (Roussos et al. 2002).

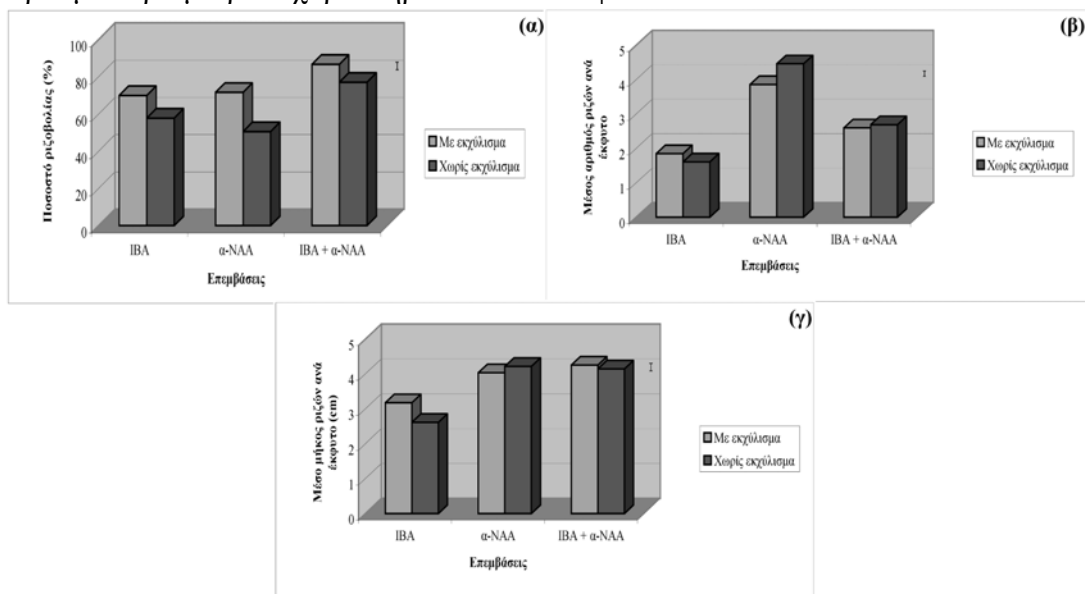
Βιβλιογραφία.

Mencuccini, M. and Rugini, E., 1993. *In vitro* shoot regeneration from olive cultivar tissues. Pl. Cell Tis. Org. Cult. 32: 283-288.

Rugini, E., 1986. Olive (*Olea europea* L.) In: Y.P.S. Bajaj (Ed.), Biotechnology in Agriculture and Forestry, Trees I Springer Verlag Berlin Heidelberg, pp. 253-267.
 Standardi, A., Micheli, M. and Piccioni, E., 1998. Propagazione “*in vitro*” dell’ olivo: acquisizioni e prospettive. Rivista di Frutticoltura 7/8: 19-23.
 Roussos, P.A., Pontikis, C.A. and Tsantili, E., 2002. Root promoting compounds detected in olive knot extract in high quantities as a response to infection by the bacterium *Pseudomonas savastanoi* p.v. *savastanoi*. Plant Sci. 163: 533-541.



Σχεδιάγραμμα 2. Επίδραση των αυξινών κατά το στάδιο της ριζοβολίας *in vitro* στα μετρούμενα βιομετρικά χαρακτηριστικά των εκφύτων.



Σχεδιάγραμμα 3. Επίδραση του εκχυλίματος καρκινωμάτων ελιάς στα μετρούμενα βιομετρικά χαρακτηριστικά των εκφύτων κατά το στάδιο της ριζοβολίας *in vitro*.