

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ ΤΗΣ ΡΙΖΟΒΟΛΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΟΝ *IN VITRO* ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΗΣ ΞΥΛΟΚΕΡΑΤΙΑΣ (*Ceratonia siliqua* L.)

Β. Στουρνάρας, Κ. Ποντίκης, Π. Α. Ρούσσος

Εργαστήριο Δενδροκομίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855, Αθήνα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ριζοβολία κατά τον πολλαπλασιασμό *in vitro* της ξυλοκερατιάς, με την ανάπτυξη μεθόδου που αποτελείται από δύο στάδια. Κατά το πρώτο τα έκφυτα τοποθετήθηκαν για ορισμένο χρονικό διάστημα σε υπόστρωμα που περιείχε αυξίνη και κατά το δεύτερο μεταφυτεύθηκαν στο ίδιο υπόστρωμα (με τη μισή συγκέντρωση μακροστοιχείων), που δεν περιείχε αυξίνη. Μελετήθηκαν τόσο η συγκέντρωση (1, 3 και 5 mg L⁻¹) του ινδολυλοβουτυρικού οξέος (IBA) στο θρεπτικό υπόστρωμα (MS) όσο και ο χρόνος παραμονής (4, 7 και 10 ημέρες) των εκφύτων στο υπόστρωμα, κατά το πρώτο στάδιο. Ως φυτικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν έκφυτα, με μήκος τουλάχιστον 1 cm, που καλλιεργούνταν σε υπόστρωμα MS, που περιείχε 1 mg L⁻¹ βενζυλαδεσίνη (BA). Από τα αποτελέσματα προέκυψε πως το ποσοστό ριζοβολίας των εκφύτων επηρεάζεται σημαντικά τόσο από τη συγκέντρωση του IBA όσο και από το χρόνο παραμονής των εκφύτων στο εφοδιασμένο με IBA υπόστρωμα. Ως καλύτερη επέμβαση είναι δυνατό να θεωρηθεί ο συνδυασμός 1 mg L⁻¹ IBA και χρόνου παραμονής 10 ημερών των εκφύτων στο IBA, καθώς έδωσε, μετά από συνολική παραμονή 3 εβδομάδων των εκφύτων στο θάλαμο ανάπτυξης, υψηλό ποσοστό ριζοβολίας (95 %), ικανοποιητικό αριθμό ριζών (σχεδόν 6 ρίζες ανά έκφυτο), μεγάλο μέσο μήκος (1,8 cm) και μικρό κάλλο. Τα έρριζα έκφυτα, μετά την ολοκλήρωση του σταδίου του εγκλιματισμού και της σκληραγώγησης, παρουσίασαν υψηλά ποσοστά επιβίωσης, περίπου 90 %.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ξυλοκερατιά ή αλλιώς χαρουπιά (*Ceratonia siliqua* L.), λόγω των ποικίλων χρήσεων και των περιορισμένων απαιτήσεών της σε έδαφος και καλλιεργητικές φροντίδες (Battle and Tous, 1997), αποτελεί ένα φυτικό είδος που θα μπορούσε να επεκταθεί και να αξιοποιηθεί περιοχές με ήπιες κλιματικές συνθήκες, κυρίως της νότιας Ελλάδας. Κατά συνέπεια ο πολλαπλασιασμός *in vitro*, που αποτελεί μία τεχνική που επιτρέπει το μαζικό και σε σύντομο χρονικό διάστημα πολλαπλασιασμό φυτών με συγκεκριμένα γενετικά χαρακτηριστικά, θα είχε ενδιαφέρον να διερευνηθεί στην ξυλοκερατιά.

Με βάση τη διεθνή βιβλιογραφία λίγοι ερευνητές έχουν μελετήσει το στάδιο της ριζοβολίας στον *in vitro* πολλαπλασιασμό της ξυλοκερατιάς (Sebastian and McComb, 1986; Romano *et al.*, 2002; Custódio *et al.*, 2004; Gonçalves *et al.* 2005). Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη του σταδίου της ριζοβολίας, κατά τον *in vitro* πολλαπλασιασμό της ξυλοκερατιάς, με την ανάπτυξη της εξής μεθόδου: φύτευση εκφύτων σε υπόστρωμα με αυξίνη και μεταφύτευσή τους στο ίδιο υπόστρωμα με τη μισή συγκέντρωση μακροστοιχείων, το οποίο δεν περιέχει αυξίνη.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ως φυτικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν έκφυτα, με μήκος τουλάχιστον 1 cm, που καλλιεργούνταν σε υπόστρωμα MS, που περιείχε 1 mg L⁻¹ βενζυλαδεσίνη (BA). Τα έκφυτα τοποθετούνταν για ριζοβολία σε σωλήνες διαστάσεων 25 x 150 mm, οι οποίοι περιείχαν 10 mL θρεπτικού υποστρώματος MS. Εφαρμόστηκαν μέθοδοι που αποτελούνταν από δύο στάδια. Κατά το πρώτο τα έκφυτα τοποθετήθηκαν για ορισμένο χρονικό διάστημα (4, 7 και 10 ημέρες) σε υπόστρωμα MS που περιείχε ινδολυλοβουτυρικό οξύ (IBA) σε διάφορες συγκεντρώσεις (1, 3 και 5 mg L⁻¹), ενώ κατά το δεύτερο στάδιο μεταφυτεύθηκαν στο ίδιο υπόστρωμα (με τη μισή συγκέντρωση μακροστοιχείων), που δεν περιείχε αυξίνη. Κατά την παραμονή των εκφύτων στο θάλαμο ανάπτυξης καταγράφονταν στις τρεις και τις τέσσερις εβδομάδες το ποσοστό ριζοβολίας, ο αριθμός και το μέσο μήκος των ριζών ανά έρριζο έκφυτο, καθώς και ο κάλλος, με βάση την οπτική παρατήρηση ήτοι: καθόλου, μικρός, μέτριος, μεγάλος και πολύ μεγάλος. Ως κριτήριο ριζοβολίας των εκφύτων, θεωρήθηκε η έκπτυξη, έστω και μίας ρίζας, μήκους τουλάχιστον 0,1 cm. Τα έρριζα έκφυτα μεταφέρονταν στη συνέχεια σε σύστημα υδρονέφωσης για εγκλιματισμό και σκληραγώγηση.

Πίνακας. Ανάλυση της διασποράς των επιδράσεων της αυξίνης IBA στις συγκεντρώσεις 1, 3 και 5 mg L⁻¹ και του χρόνου παραμονής των εκφύτων σε υπόστρωμα που την περιέχει (4, 7 και 10 ημέρες) στο ποσοστό ριζοβολίας, τον αριθμό και το μέσο μήκος των ριζών ανά έρριζο έκφυτο, έπειτα από συνολική παραμονή των εκφύτων για 3 εβδομάδες σε θάλαμο ανάπτυξης.

Μετρούμενες Μεταβλητές		Ποσοστό ριζοβολίας (%)		Αριθμός ριζών/ έρριζο έκφυτο		Μέσο μήκος ριζών (cm) / έρριζο έκφυτο		Μέγεθος κάλλου			
Πηγή παρ/τας	Επίπεδα παρ/τας	P	Μέσος όρος	E.Σ.Δ. P≤0,05	P	Μέσος όρος	E.Σ.Δ. P≤0,05	P	Μέσος όρος	E.Σ.Δ. P≤0,05	Οπτική παρ/ση
Συγκέντρ. IBA	1 mg L ⁻¹	0,0006	71,70	b	<0,0001	3,6	b	0,0024	1,1	b	
	3 mg L ⁻¹		79,20	a		9,6	a		1,5	a	
	5 mg L ⁻¹		85,00	a		9,0	a		1,2	b	
Χρόνος παραμονής	4 ημέρες	<0,0001	70,00	b	0,0965	6,5		0,0998	1,3		
	7 ημέρες		80,30	a		7,7			1,4		
	10 ημέρες		85,00	a		8,0			1,2		
Συγκέντρ. IBA * Χρόνος παραμονής	1 mg L ⁻¹ , 4 ημ.	<0,0001	50,00	e	0,0010	2,0	e	<0,0001	0,7	d	καθόλου μικρός μέτριος μεγάλος Πολύ μεγάλος
	1 mg L ⁻¹ , 7 ημ.		60,00	d		3,0	e		0,9	c d	
	1 mg L ⁻¹ , 10 ημ.		95,00	a		5,8	d		1,8	a	
	3 mg L ⁻¹ , 4 ημ.		70,00	c d		8,0	b c		1,3	b	
	3 mg L ⁻¹ , 7 ημ.		87,50	a b		10,5	a		1,9	a	
	3 mg L ⁻¹ , 10 ημ.		80,00	b c		10,2	a		1,2	b c	
	5 mg L ⁻¹ , 4 ημ.		80,00	b c		10,0	a		1,8	a	
	5 mg L ⁻¹ , 7 ημ.		95,00	a		9,0	b		1,4	b	
	5 mg L ⁻¹ , 10 ημ.		80,00	b c		7,5	b c		0,6	d	

Το * υποδηλώνει αλληλεπίδραση, το P την πιθανότητα και τα διαφορετικά γράμματα του λατινικού αλφαβήτου στατιστικά σημαντικές διαφορές (δοκιμή Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς, E.Σ.Δ.), για επίπεδο σημαντικότητας P≤0,05.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Με βάση τον Πίνακα προκύπτει πως το ποσοστό ριζοβολίας των εκφύτων επηρεάζεται σημαντικά τόσο από τη συγκέντρωση του IBA όσο και από το χρόνο παραμονής των εκφύτων στο εφοδιασμένο με IBA υπόστρωμα. Σε ό,τι αφορά το συνολικό χρόνο που απαιτείται για την επίτευξη ριζοβολίας, ορισμένες επεμβάσεις έδωσαν υψηλά ποσοστά ριζοβολίας ακόμη και σε χρονικό διάστημα μόλις δύο εβδομάδων (δεν παρουσιάζονται τα δεδομένα) μετά την αρχική φύτευση των εκφύτων. Ως καλύτερη επέμβαση είναι δυνατό να θεωρηθεί ο συνδυασμός 1 mg L⁻¹ IBA και χρόνου παραμονής 10 ημερών των εκφύτων στο IBA, καθώς έδωσε, μετά από συνολική παραμονή 3 εβδομάδων των εκφύτων στο θάλαμο ανάπτυξης, υψηλό ποσοστό ριζοβολίας (95 %), ικανοποιητικό αριθμό ριζών (σχεδόν 6 ρίζες ανά έκφυτο), μεγάλο μέσο μήκος (1,8 cm) και μικρό κάλλο. Τα έρριζα έκφυτα, μετά την ολοκλήρωση του σταδίου του εγκλιματισμού και της σκληραγώγησης, παρουσίασαν υψηλά ποσοστά επιβίωσης, περίπου 90 %.

Η εφαρμόζομενη μέθοδος των δύο σταδίων έδωσε υψηλά ποσοστά ριζοβολίας καθώς είναι γνωστή τόσο η παρεμποδιστική επίδραση του IBA στην επιμήκυνση των ριζών όσο και το γεγονός ότι η συνεχής παρουσία αυξίνης οδηγεί στο σχηματισμό μεγάλου κάλλου στη βάση των βλαστών. Άλλοι ερευνητές στην προσπάθειά τους να αυξήσουν τα ποσοστά ριζοβολίας εκφύτων ξυλοκερατιάς έχουν αναπτύξει διαφορετική μέθοδο που αποτελείται από δύο στάδια (Romano *et al.*, 2002), διερεύνησαν την επίδραση διαφόρων σακχάρων (Custódio *et al.*, 2004) και ασχολήθηκαν με την εύρεση ενός νέου θρεπτικού υποστρώματος με βάση τη συγκέντρωση των μακροστοιχείων στα φύλλα της ξυλοκερατιάς (Gonçalves *et al.*, 2005).



Έκφυτα ξυλοκερατιάς στο στάδιο της ριζοβολίας με μικρό (I) και μεγάλο αριθμό ριζών (II)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Battle, I. and Tous J., 1997. Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and the use of underutilized and neglected crops.17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy
- Custódio, L., Martins-Louçã, M.A. and Romano, A., 2004. Influence of sugars on *in vitro* rooting and acclimatization of carob tree. *Biologia Plantarum* 48:469-472.
- Gonçalves S., Correia, P.J., Martins-Louçã M.A. and Romano A. (2005). A new medium formulation for *in vitro* rooting of carob tree based on leaf macronutrients concentrations. *Biologia Plantarum* 49:277-280.
- Romano, A., Barros, S. and Martins-Louçã, M.A., 2002. Micropropagation of the Mediterranean tree *Ceratonia siliqua*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68:35-41.
- Sebastian, K.T. and McComb, J.A., 1986. A micropropagation system for carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Scientia Horticulturae* 28:127-131.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της παρούσης εργασίας υποστηρίχθηκε οικονομικά από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (I.K.Y.), μέσω υποτροφίας στον κ. Βασίλειο Στουρνάρα.