

IN VITRO ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΤΗΣ ΚΑΣΤΑΝΙΑΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΝΘΡΑΚΙΚΩΝ ΙΟΝΤΩΝ ΣΤΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ Η/ΚΑΙ ΣΤΟ ΥΨΗΛΟ pH

Κ. Ανεστιάδου και Π. Ρούσσο

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Δενδροκομίας, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 118 55

Περίληψη

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της αιτίας που προκαλεί την ευαισθησία της καστανιάς (*Castanea sativa* Mill., cv. Marronia) σε ασβεστούχα εδάφη με τη χρήση της ιστοκαλλιέργειας και κατά πόσο οφείλεται στην παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ανθρακικών ιόντων στο εδαφικό διάλυμα, στις υψηλές τιμές εδαφικού pH ή αποτελεί αποτέλεσμα της συνεργιστικής δράσης των δυο αυτών παραγόντων. Στο στάδιο της βλαστογένεσης πραγματοποιήθηκαν 7 επεμβάσεις. Οι επεμβάσεις αυτές ήταν: 1η) μάρτυρας (pH 5.6), 2η) προσθήκη K_2CO_3 325mg/l + KNO_3 475 mg/l + NH_4NO_3 186mg/l και ρύθμιση του pH στο 5.6, 3η) προσθήκη K_2CO_3 650 mg/l + NH_4NO_3 374 mg/l και ρύθμιση του pH στο 5.6, 4η) ρύθμιση του pH στο 7.5, 5η) ρύθμιση του pH στο 9, 6η) προσθήκη K_2CO_3 650 mg/l + NH_4NO_3 374 mg/l και το pH είχε ρυθμιστεί στο 9, 7η) ρύθμιση του pH στο 10.5. Μετρήθηκε το μήκος και ο αριθμός των βλαστών ανά έκφυτο, ο αριθμός των κόμβων και κατά συνέπεια και το μέσο μήκος του μεσογονατίου διαστήματος και, τέλος, το ποσοστό βλαστογένεσης. Στο στάδιο της ριζοβολίας, πραγματοποιήθηκαν 6 επεμβάσεις. Τα έκφυτα που τοποθετήθηκαν σε κάθε επέμβαση ελήφθησαν από την αντίστοιχη επέμβαση της βλαστογένεσης, ενώ το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν κανονικό υπόστρωμα ριζοβολίας χωρίς καμία προσθήκη. Σε αυτό το στάδιο, μετρήθηκε το μέσο μήκος ρίζας, ο αριθμός ριζών ανά έκφυτο, μειώνοντας το μέσο και το συνολικό μήκος των βλαστών ανά έκφυτο β) Στην επέμβαση όπου είχαμε και τους δυο παράγοντες καταπόνησης (υψηλό pH και αυξημένη συγκέντρωση ανθρακικών ιόντων) παρουσιάστηκαν έκφυτα με συμπτώματα χλώρωσης τα οποία πιθανότατα να οφείλονται σε τροφопενία ενός ή και περισσοτέρων θρεπτικών στοιχείων και γ) Στις επεμβάσεις με τη μεγαλύτερη καταπόνηση το μήκος της ρίζας, ο αριθμός των ριζών και το ποσοστό ριζοβολίας ήταν αυξημένο.

Εισαγωγή

Η καστανιά θεωρείται ευαίσθητη σε αλκαλικά εδάφη λόγω της αυξημένης περιεκτικότητας τους σε ενεργό ασβέστιο. Η ευαισθησία αυτή εκδηλώνεται με κιτρίνισμα του φυλλώματος και με καχεκτική εμφάνιση του δένδρου, επακόλουθο της έλλειψης ενός ή περισσότερων θρεπτικών στοιχείων (Δημουλάς, 1986). Είναι απαραίτητη λοιπόν η μελέτη των πολύπλοκων μηχανισμών καταπόνησης των φυτών στα εδάφη με αυξημένη συγκέντρωση ανθρακικών ιόντων και αυξημένο εδαφικό pH. Η μέθοδος της ιστοκαλλιέργειας δίνει τη δυνατότητα να διερευνηθεί *in vitro* η ευαισθησία της καστανιάς στη παρουσία ανθρακικών ιόντων στο υπόστρωμα ανάπτυξης ή/και στο υψηλό pH. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να προσδιοριστεί αν οι δυσμενείς επιπτώσεις στη καστανιά προκαλούνται από την παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ανθρακικών στο εδαφικό διάλυμα ή από τις υψηλές τιμές εδαφικού pH ή αποτελούν συνέπεια της συνεργιστικής δράσης των δυο αυτών παραγόντων.

Υλικά & Μέθοδοι

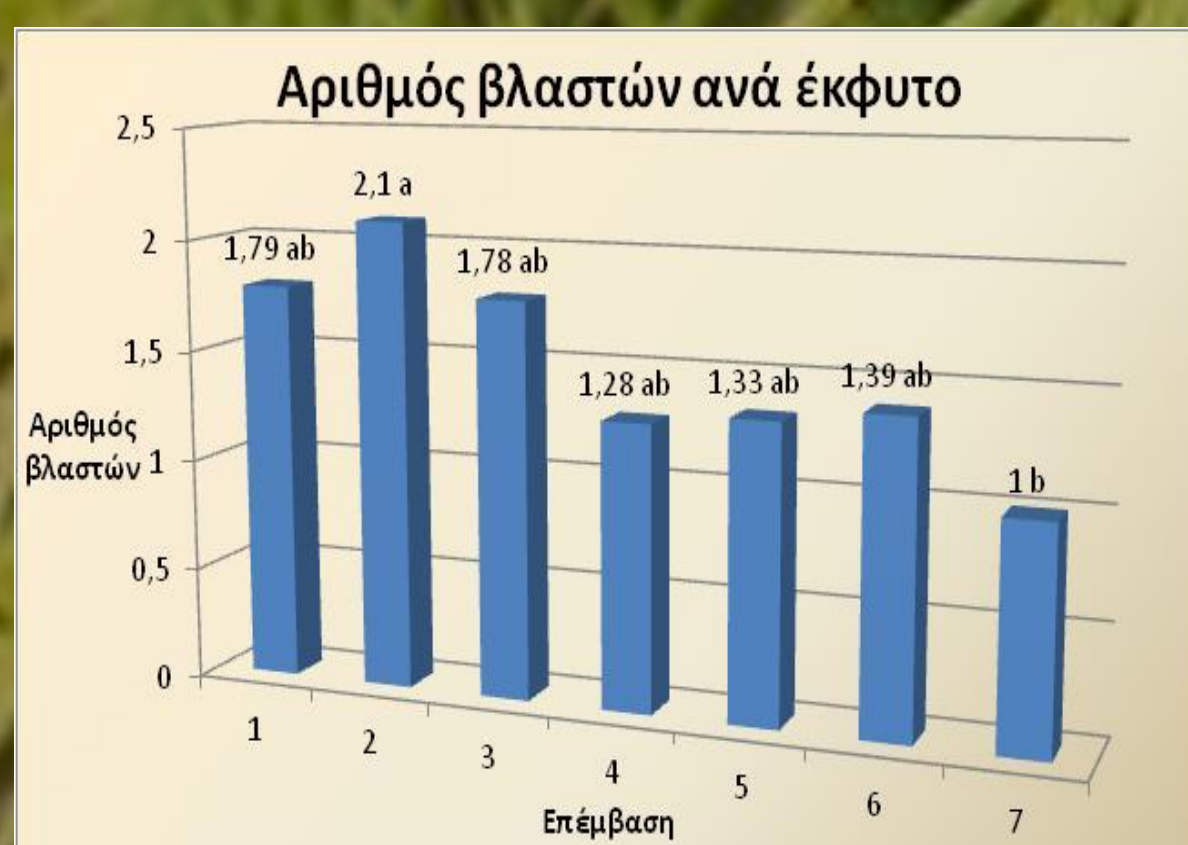
Στο στάδιο της βλαστογένεσης, εφαρμόστηκαν 7 επεμβάσεις και στην κάθε μια χρησιμοποιήθηκαν 20 δοκιμαστικοί σωλήνες που περιείχαν βασικό υπόστρωμα Murashige and Skoog (MS) (με κάποιες τροποποιήσεις ανάλογα με την επέμβαση). Στην πρώτη επέμβαση τα έκφυτα τοποθετήθηκαν σε σωλήνες που περιείχαν βασικό υπόστρωμα MS (μάρτυρας) και το pH ρυθμίστηκε στο 5.6 (M), στη δεύτερη επέμβαση τα έκφυτα τοποθετήθηκαν σε υπόστρωμα MS εφοδιασμένο με K_2CO_3 325mg/l + KNO_3 475 mg/l + NH_4NO_3 186mg/l και το pH είχε ρυθμιστεί στο 5.6 (CO1), στην τρίτη επέμβαση το υπόστρωμα ήταν εφοδιασμένο με K_2CO_3 650 mg/l + NH_4NO_3 374 mg/l και το pH είχε ρυθμιστεί στο 5.6 (CO2), στην τέταρτη επέμβαση το pH του υποστρώματος είχε ρυθμιστεί στο 7.5 (pH7.5), στην πέμπτη επέμβαση το pH αυξήθηκε περαιτέρω στο 9 (pH9), η έκτη επέμβαση ήταν συνδυασμός των δυο παραγόντων καταπόνησης, δηλαδή περιείχε K_2CO_3 650 mg/l + NH_4NO_3 374 mg/l και το pH είχε ρυθμιστεί στο 9 (CO2pH9) και τέλος στην έβδομη επέμβαση το pH ρυθμίστηκε στο 10.5 (pH10). Τα έκφυτα παρέμειναν στο υπόστρωμα αυτό για 7 εβδομάδες, οπότε μετρήθηκε το μήκος και ο αριθμός των βλαστών και των κόμβων και το ποσοστό βλαστογένεσης. Στο στάδιο της ριζοβολίας πραγματοποιήθηκαν 6 επεμβάσεις. Τα έκφυτα που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε επέμβαση ελήφθησαν από την αντίστοιχη επέμβαση της βλαστογένεσης ((PM), (PCO1), (PCO2), (PpH7.5), (PpH9), (PCO2pH9)), ενώ το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν βασικό υπόστρωμα ριζοβολίας χωρίς κάποιο παράγοντα καταπόνησης, εφοδιασμένο με αυξήνη ινδολοβουτυρικό οξύ (IBA) σε συγκέντρωση 4 mg/l. Μετά από 4 εβδομάδες μετρήθηκε το μήκος και ο αριθμός των ριζών ανά έκφυτο και το ποσοστό ριζοβολίας.

Αποτελέσματα

Στο στάδιο της βλαστογένεσης, όπως προκύπτει από τη στατιστική ανάλυση οι επεμβάσεις επηρέασαν σημαντικά α) τον αριθμό των βλαστών ανά έκφυτο (Διάγραμμα 1) όπου η δεύτερη επέμβαση (CO1) έδειξε το μεγαλύτερο αριθμό βλαστών ανά έκφυτο και διέφερε στατιστικά σημαντικά από την έβδομη (pH10.5) η οποία έδειξε το μικρότερο, β) το μέσο μήκος βλαστού ανά έκφυτο (Διάγραμμα 2) όπου η επέμβαση 3 (CO2) έδειξε το μεγαλύτερο μέσο μήκος βλαστού ανά έκφυτο και διέφερε από την έβδομη (pH 10.5) η οποία παρουσίασε αντίστοιχα το μικρότερο, γ) όσον αφορά το συνολικό μήκος βλαστών ανά έκφυτο (Διάγραμμα 3) η επέμβαση 3 (CO2) παρουσίασε το μεγαλύτερο με διαφορά από τις επεμβάσεις 4 (pH7.5), 5 (pH9), 6 (CO2pH9), 7 (pH10.5). Ακόμη η επέμβαση 1 (M) (μάρτυρας) έδειξε το μεγαλύτερο αριθμό κόμβων ανά έκφυτο (Διάγραμμα 4) και διέφερε στατιστικά σημαντικά από τις επεμβάσεις 5 (pH9) και 7 (pH10.5). Τέλος, όσον αφορά στο ποσοστό βλαστογένεσης (Διάγραμμα 6), η επέμβαση 7 (pH10.5) έδειξε το μικρότερο ποσοστό και διέφερε στατιστικά σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες επεμβάσεις, ενώ οι επεμβάσεις δε διέφεραν μεταξύ τους ως προς το μήκος του μεσογονατίου διαστήματος (Διάγραμμα 5). Τα αποτελέσματα στο στάδιο της ριζοβολίας δεν έδειξαν στατιστικώς σημαντική επίδραση των επεμβάσεων στον αριθμό των ριζών (Διάγραμμα 7) και στο μέσο μήκος της ρίζας (Διάγραμμα 8). Όσον αφορά στο ποσοστό ριζοβολίας (Διάγραμμα 9), η επέμβαση 6 (PCO2pH9) έδειξε το μεγαλύτερο ποσοστό ριζοβολίας και διέφερε στατιστικά σημαντικά από τις επεμβάσεις 2 (PCO1), 3 (PCO2), και 4 (PpH7.5) η οποία εμφάνισε το μικρότερο ποσοστό ριζοβολίας.

Συζήτηση

Από το στάδιο της βλαστογένεσης φαίνεται ότι το αυξημένο pH είναι ο κύριος παράγοντας που προκαλεί καταπόνηση στα έκφυτα, αφού τόσο το μέσο μήκος βλαστού ανά έκφυτο όσο και το συνολικό μήκος βλαστού είναι μειωμένο στις επεμβάσεις 4 (pH7.5), 5 (pH9.0) και 7 (pH10.5). Στην 6^η επέμβαση (PCO2pH9) είχαμε έκφυτα με χλωρωτικά συμπτώματα, τα οποία πιθανόν να οφείλονται σε τροφопενία ενός ή και περισσοτέρων θρεπτικών στοιχείων. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στο ότι η συνεργιστική δράση των δυο αυτών παραγόντων οδηγεί στην εμφάνιση των συμπτωμάτων της χλώρωσης, ενώ άλλοι ερευνητές αναφέρουν ως κύριο παράγοντα χλώρωσης την αυξημένη συγκέντρωση ανθρακικών ιόντων, χωρίς όμως να κάνουν λόγο για το pH (Zhou *et al.* 1984; Coulombe *et al.* 1984a). Όσον αφορά στο στάδιο της ριζοβολίας, οι επεμβάσεις 5 (PpH9) και 6 (PCO2pH9) τα έκφυτα από τις οποίες είχαν υποστεί μεγαλύτερη καταπόνηση κατά το στάδιο της βλαστογένεσης παρουσίασαν αυξημένο μέσο μήκος ρίζας και ποσοστό ριζοβολίας σε σύγκριση με τις υπόλοιπες επεμβάσεις. Στην 6^η επέμβαση (PCO2pH9) εμφανίστηκε αυξημένη διακλάδωση της ρίζας σε σύγκριση με την επέμβαση 1 (PM). Αυτό συμφωνεί με τους Rengel (2005) και Ramirez-Rodriguez *et al.* (2005) οι οποίοι αναφέρουν ότι σε περιβάλλοντα με περιορισμένη διαθεσιμότητα Fe μια από τις ιστολογικές και μορφολογικές αλλαγές στη ρίζα είναι η αυξημένη διακλάδωση της. Συμπερασματικά, το υψηλό pH ήταν ο παράγοντας καταπόνησης ο οποίος μείωσε την ανάπτυξη των εκφύτων, αλλά η συνεργιστική δράση του υψηλού pH και της αυξημένης συγκέντρωσης των ανθρακικών ιόντων ήταν υπαίτια για την ανάπτυξη του φαινομένου της χλώρωσης των φύλλων σε αυτό το στάδιο.



Διάγραμμα 1. Αριθμός βλαστών ανά έκφυτο



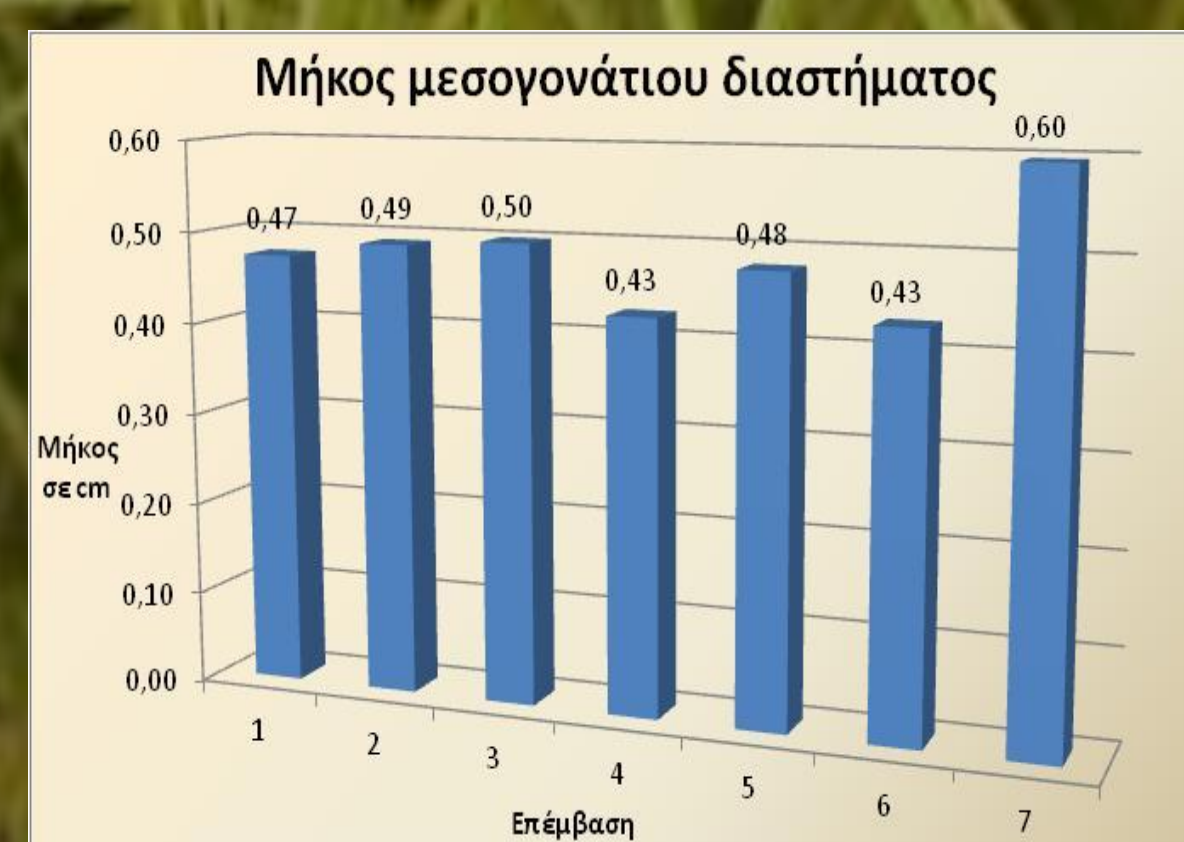
Διάγραμμα 2. Μέσο μήκος βλαστού (cm) ανά έκφυτο.



Διάγραμμα 3. Συνολικό μήκος βλαστού (cm) ανά έκφυτο.



Διάγραμμα 4. Αριθμός κόμβων ανά έκφυτο



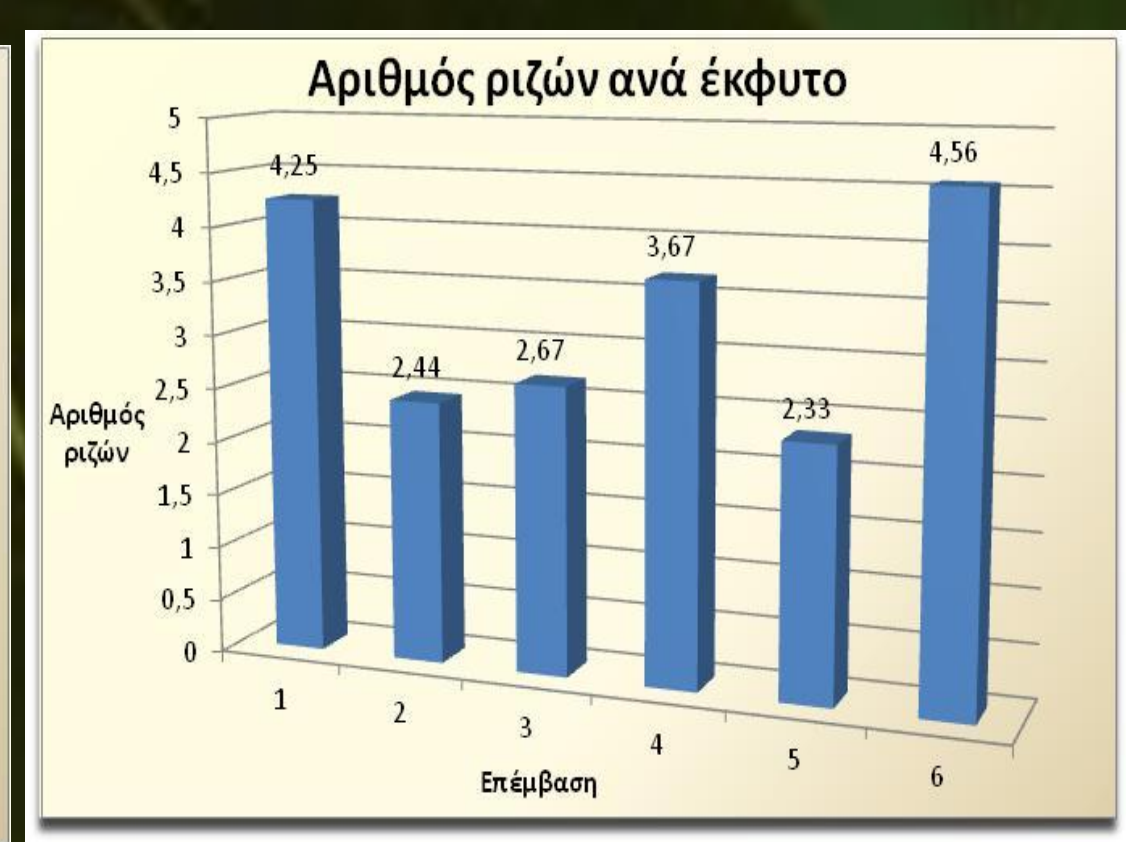
Διάγραμμα 5. Μέσο μήκος μεσογονατίου διαστήματος.



Διάγραμμα 6. Ποσοστό βλαστογένεσης.



Διάγραμμα 7. Ποσοστό ριζοβολίας



Διάγραμμα 8. Μέσος αριθμός ριζών ανά έκφυτο



Διάγραμμα 9. Μέσος μήκος (cm) ριζών.

Βιβλιογραφία

- Coulombe, B. A., Chaney, R. L. and Wiebold, W. J. 1984. Bicarbonate directly induced iron-chlorosis in susceptible soybean cultivars. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 1297-1301.
- Δημουλάς, Ι. 1986. Η Καστανιά. Εκδόσεις Αγροτική Τράπεζα Ελλάδος, Αθήνα.
- Ποντίκης, Κ. Α. 1996. Ειδική Δενδροκομία, Ακρόδρυα-Πυρηνόκαρπα-Λοιπά Καρποφόρα, Τόμος Δεύτερος. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης σελ 135-163.
- Ramirez-Rodriguez, V., Lopez Bucio, J. and Herrera Estrella, L. 2005. Adaptive responses in plants to non optimal soil pH. In: Jenks MA, Hasegawa PM (Eds) *Plant Abiotic stress*. Blackwell, Oxford, UK, pp 145-170.
- Rengel Z. 2005. Breeding crops for adaptation to environments with low nutrient availability. In: *Abiotic Stresses — Plant resistance through breeding and molecular approaches*, Ashraf M., Harris P. J. C. (Eds.), Food Products Press 239-276 pp.
- Zhou, Hou. Ji., Korcak, R. F., Fan, F. and Faust, M. 1984. The effect of bicarbonate induced Fe chlorosis on mineral content and Ca45 uptake of apple seedlings. *J. Plant Nutr.* 7, 1355-1364.