

ΓΕΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε, μεταξύ των άλλων, το φαινόμενο του καφετιάσματος των εκφύτων ελιάς (*Olea europaea* L.) ποικιλίας “Κορωνέικη” κατά το στάδιο της εγκατάστασης *in vitro*, για δύο συνεχείς χρονιές. Παρατηρήθηκε ότι τα έκφυτα παρουσίαζαν διαφορετικό βαθμό καφετιάσματος ανάλογα με το είδος αυτών (βλαστοκορυφές ή κομβικά έκφυτα), την πηγή προέλευσής τους (από φυτά του δενδροκομείου ή του θερμοκηπίου) και την εποχή συλλογής (άνοιξη, καλοκαίρι, φθινόπωρο).

Για τον προσδιορισμό των παραγόντων εκείνων που επηρεάζουν το καφέτιασμα των εκφύτων ελιάς, μελετήθηκε η συμβολή των ενδογενών ολικών φαινολικών ουσιών, των ολικών ο-διφαινολών καθώς επίσης και έξι μεμονωμένων φαινολικών ουσιών με ο-διϋδρόξυ δομή στο μόριό τους.

Η μελέτη των παραγόντων αυτών έδειξε ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ των ενδογενών φαινολικών ουσιών των εκφύτων με το καφέτιασμα, που παρουσιάζουν αυτά κατά το στάδιο της εγκατάστασης *in vitro*. Βρέθηκε επίσης ότι η κατανομή των φαινολικών ουσιών ήταν διαφορετική μεταξύ των δύο ειδών εκφύτων, των δύο πηγών προέλευσης και μεταξύ των εποχών συλλογής, με αποτέλεσμα οι βλαστοκορυφές να εμφανίζουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα ποσοστά καφετιάσματος από τα κομβικά έκφυτα, όπως επίσης και τα έκφυτα που προέρχονταν από φυτά του δενδροκομείου έναντι των εκφύτων από φυτά του θερμοκηπίου.

Μελετήθηκε επίσης η συμμετοχή των οξειδωτικών ενζύμων, πολυφαινολοξειδάση και υπεροξειδάση, στο καφέτιασμα των εκφύτων της ελιάς, όπως και οι διαφορές που παρατηρούνται στην ενεργότητα αυτών των ενζύμων ανάμεσα στα δύο είδη εκφύτου, σε έκφυτα από τις δύο πηγές προέλευσης και κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η πολυφαινολοξειδάση σχετίζεται σε σημαντικό βαθμό με το καφέτιασμα των εκφύτων ελιάς, σε αντίθεση με την υπεροξειδάση. Επιπλέον, οι βλαστοκορυφές εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα ενεργότητας πολυφαινολοξειδάσης από τα κομβικά έκφυτα, ενώ το αντίθετο συνέβη όσον αφορά την ενεργότητα της υπεροξειδάσης. Επίσης, τα έκφυτα από φυτά του δενδροκομείου παρουσίασαν υψηλότερη ενεργότητα ενζύμων απ’ αυτή των εκφύτων από φυτά του θερμοκηπίου. Μεταβολές στην ενεργότητα της πολυφαινολοξειδάσης παρατηρήθηκαν και μεταξύ των εποχών συλλογής των εκφύτων, με τη μεγαλύτερη

ενεργότητα ενζύμου να παρουσιάζεται κατά το καλοκαίρι και το φθινόπωρο, ενώ η υπεροξειδάση παρουσίασε ελαχίστη ενεργότητα κατά το καλοκαίρι.

Επιπλέον, μελετήθηκε η ορμονική δράση εκχυλίσματος καρκινωμάτων ελιάς και βρέθηκε ότι το εκχύλισμα αυτό είναι σε θέση να προωθεί τη ριζοβολία σε μοσχεύματα φασολιού (*Phaseolus mungo* L.). Σε αναλύσεις, που έγιναν στο εκχύλισμα αυτό, βρέθηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις αυξητικών ουσιών, έναντι εκχυλίσματος υγιών βλαστών ελιάς, ενώ παράλληλα ανιχνεύτηκαν και πολλαπλάσιες συγκεντρώσεις φαινολικών ουσιών, οι οποίες μπορεί να συνεπενεργούν με τις αυξίνες, σε ό,τι αφορά την προώθηση της ριζοβολίας.

Τέλος, σε πειράματα καλλιέργειας *in vitro* κομβικών εκφύτων ελιάς, βρέθηκε ότι τα έκφυτα αναπτύσσονταν καλύτερα σε υπόστρωμα εφοδιασμένο με μαννιτόλη, ως πηγή άνθρακα, έναντι της σακχαρόζης, ενώ το ριβοζίδιο της ζεατίνης αποδείχτηκε αποτελεσματικότερο της βενζυλαδενίνης, της 2iP και του θειδιαζουρόν, όσον αφορά την προώθηση της ανάπτυξης των εκφύτων. Η παρουσία εκχυλίσματος στο υπόστρωμα του σταδίου βαστογένεσης μείωσε την ανάπτυξη των εκφύτων, όταν συνδυάστηκε με τις προαναφερθείσες κυτοκινίνες.

Κατά το στάδιο της ριζοβολίας, εφαρμόστηκε μια νέα τεχνική επαγωγής σχηματισμού ριζών, η οποία περιελάμβανε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο τα έκφυτα, μετά τη διενέργεια δύο μικρών τομών στη βάση τους, καλλιεργούνταν για μία εβδομάδα σε υγρό υπόστρωμα εφοδιασμένο με αυξίνες, στο σκοτάδι. Στη συνέχεια μεταφέρονταν σε στερεό υπόστρωμα, χωρίς αυξίνες, με μία μικρή στρώση περλίτη στην επιφάνεια αυτού, υπό συνθήκες φωτισμού. Ο συνδυασμός δύο αυξινών, του ινδολο-3-βουτυρικού οξέος και του α -ναφθαλινοξικού οξέος, έδωσε το υψηλότερο ποσοστό ριζοβολίας, ενώ η προσθήκη του εκχυλίσματος καρκινωμάτων ελιάς βελτίωσε ακόμα περισσότερο το ποσοστό ριζοβολίας. Αντίθετα, η τεχνητή μόλυνση των εκφύτων με το βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* παρεμπόδισε τη ριζοβολία των εκφύτων.

Abstract.

The present study was conducted in order to examine the phenomenon of olive (*Olea europaea* L.) cv. 'Koroneiki' explant browning during the establishment stage *in vitro*, for two successive years. It was observed that the explants exhibited different degree of browning, depending on their type (shoot tips or single node explants), the source of explants (from plants growing in the field or in the glasshouse) and the season of explant collection (spring, summer, autumn).

The contribution of the total endogenous phenolic compounds, the total o-diphenol content and six individual phenolic compounds, with o-dihydroxy structure in their molecule, was studied in order to determine the factors which influence olive explant browning.

After thorough examination of these factors, it was concluded that there is a significant relationship between the endogenous phenolic compounds of the explants and the browning during the establishment stage *in vitro*. Moreover, it has been shown that the contribution of the phenolic compounds differed between the two types, the two sources and the season of explant collection, so that, statistically, the shoot tips exhibit a considerably higher browning percentage than the node explant. The same applies for the explants from the fields growing trees against explants from the glasshouse ones.

Also studied was the contribution of the oxidative enzymes, polyphenoloxidase and peroxidase, to the browning of olive explants, as well as the difference in the activity of these enzymes between the two types of explant, the two sources of explant collection and during the growing season. It was concluded that, in contrast to peroxidase, polyphenoloxidase had a strong relation to the browning of olive explants. Moreover, the shoot tips exhibited higher levels of polyphenoloxidase activity than the node explants, while the opposite stood for peroxidase. The explants from field growing trees also presented higher enzyme activities than those explants from glasshouse growing trees. Changes in the activity of polyphenoloxidase were observed between the seasons of explant collection, with the highest enzyme activity presented in summer and autumn, while peroxidase presented the lowest activity during summer.

Further research over the possible hormonal action of olive knot extract showed that this extract can promote rhizogenesis in mung bean (*Phaseolus mungo* L.) cuttings. Through chemical analysis of this extract, auxins were found in higher concentrations than in the crude extract of uninfected olive shoots; the higher concentrations of phenolic compounds that were also found could act as co-factors with the auxins in rooting promotion.

During the *in vitro* experiments of olive node explants, the explants were better growing in a growth medium supplemented with mannitol as carbon source, than with sucrose, while zeatin riboside proved to be more efficient in promoting shoot proliferation of olive explants, than benzyladenine, 2iP and thidiazuron. The addition of olive knot extract to the growth medium during the proliferation stage, reduced the explant growth when combined with the prementioned cytokinins.

During the rooting stage, a new technique of rooting induction was applied which consisted of two stages. In the first stage, the explants, after two longitudinal cuts had been made in their base, were incubated in liquid growth medium supplemented with auxins for one week in the dark. Afterwards, they were transferred to auxin-free solid medium with a thin layer of perlite on its surface, under 16 h illumination. The combination of two auxins, indole-3-butyric acid and α -naphthalene acetic acid, presented the highest rooting percentage of all, while the addition of olive knot extract showed further improvement of the rooting percentage. On the contrary, the artificial infection of the explants with the bacterium *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* inhibited explant rooting.