

ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΑΣΤΑΝΙΑΣ (*CASTANEA SATIVA* MILL) *IN VITRO*

Α. Αρχιμανδρίτη, Π. Ρούσσος και Ι. Μπελδέκου

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

Περίληψη

Έκφυτα ενός κλώνου που συντηρούνταν σε *in vitro* συνθήκες σε τροποποιημένο θρεπτικό υπόστρωμα Murasigne και Skoog (MS) απετέλεσαν το φυτικό υλικό της παρούσας μελέτης. Για την εξεύρεση των καλύτερων συγκεντρώσεων κυτοκινίνης στο στάδιο βλαστογένεσης, έκφυτα μεταφέρθηκαν στο υπόστρωμα αυτό, σε κωνικές φιάλες, εφοδιασμένο με τις κυτοκινίνες βενζυλαδεσίνη (BA) και 2-ισοπεντυλαδεσίνη (2iP) σε συγκεντρώσεις 1, 2 και 4 mg l⁻¹, με σκοπό την παραγωγή βλαστών. Επιλέχθηκε η BA σε συγκέντρωση 2 mg l⁻¹ και η 2iP σε συγκέντρωση 2 mg l⁻¹, χωρίς ωστόσο να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά με τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν. Στη συνέχεια, για την εξεύρεση της καλύτερης αυξίνης στο στάδιο ριζοβολίας, έκφυτα μήκους 1 cm μεταφέρθηκαν για ριζοβολία στο ίδιο υπόστρωμα εφοδιασμένο με τις αυξίνες ινδολοβουτυρικό οξύ (IBA), α-ναφθαλινοξικό οξύ (α-NAA) και συνδυασμό τους (IN) σε συγκεντρώσεις 1, 2 και 4 mg l⁻¹. Τα καλύτερα αποτελέσματα παρουσίασε η προσθήκη IBA στο υπόστρωμα σε συγκέντρωση 4 mg l⁻¹. Για τη μελέτη της επίδρασης των παρεμποδιστών αύξησης κατά το στάδιο βλαστογένεσης, έκφυτα μεταφέρθηκαν σε σωλήνες με το ίδιο θρεπτικό υπόστρωμα όπου χρησιμοποιήθηκαν ξεχωριστά οι κυτοκινίνες BA και 2iP σε συγκέντρωση 2 mg l⁻¹ και συνδυάστηκαν με τους παρεμποδιστές αύξησης Meriquat chloridate και Paclobutrazol σε συγκεντρώσεις 0.01, 0.1 και 1 mg l⁻¹. Τα καλύτερα αποτελέσματα σε συνδυασμό με τη BA, με στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συγκεντρώσεων, έδωσαν το Paclobutrazol σε συγκέντρωση 0.01 mg l⁻¹ και το Meriquat chloridate σε συγκέντρωση 0.1 mg l⁻¹. Σε συνδυασμό με την 2iP πιο καλά αποτελέσματα έδωσαν το Paclobutrazol και το Meriquat chloridate σε συγκέντρωση 0.01 mg l⁻¹. Στο στάδιο ριζοβολίας χρησιμοποιήθηκε η αυξίνη ινδολοβουτυρικό οξύ σε συγκεντρώση 4 mg l⁻¹ σε συνδυασμό με τους παρεμποδιστές αύξησης Meriquat chloridate και Paclobutrazol σε συγκεντρώσεις 0.01, 0.1, 1 και 3 mg l⁻¹. Τα υψηλότερα ποσοστά ριζοβολίας επιτεύχθηκαν στη συγκέντρωση των 3mg l⁻¹ παρεμποδιστών αύξησης, χωρίς όμως να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Εισαγωγή

Η καστανιά πολλαπλασιάζεται με εμβολιασμό σε σπορόφυτα, ενώ ο πολλαπλασιασμός με μοσχεύματα θεωρείται δύσκολος. Τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να πολλαπλασιάζεται και με τη μέθοδο της ιστοκαλλιέργειας, κυρίως σε θρεπτικό υπόστρωμα Murashige και Skoog (MS) (Murashige and Skoog, 1962), με τη μισή συγκέντρωση νιτρικών ιόντων. Το υπόστρωμα αυτό έχει χρησιμοποιηθεί από αρκετούς ερευνητές (Corredoira et al., 2003) με πολύ καλά αποτελέσματα, σε συνδυασμό κυρίως με την κυτοκίνη BA. Χαρακτηριστικό του *in vitro* πολλαπλασιασμού της καστανιάς με βάση τα αποτελέσματα της βιβλιογραφίας είναι η έκπτυξη λίγων, μακρίων κύριων βλαστών, με μικρό αριθμό κόμβων κατά το στάδιο της βλαστογένεσης. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η επίδραση διαφόρων φυτορρυθμιστικών ουσιών (κυτοκινίνες, αυξίνες, παρεμποδιστές αύξησης) στα διάφορα στάδια της ιστοκαλλιέργειας της καστανιάς.

Υλικά & Μέθοδοι

Κομβικά έκφυτα και βλαστοκορυφές μεταφέρθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα Murashige και Skoog (MS), με τη μισή συγκέντρωση νιτρικών ιόντων, σε κωνικές φιάλες, εφοδιασμένο με τις κυτοκινίνες βενζυλαδεσίνη (BA) και 2-ισοπεντυλαδεσίνη (2iP), σε συγκεντρώσεις 1, 2 και 4 mg l⁻¹. Μετά από διάστημα 6 εβδομάδων έκφυτα μήκους 1 cm μεταφέρθηκαν για ριζοβολία στο ίδιο θρεπτικό υπόστρωμα, σε δοκιμαστικούς σωλήνες, εφοδιασμένο με τις αυξίνες ινδολοβουτυρικό οξύ (IBA) (I), α-ναφθαλινοξικό οξύ (NAA) (N) και συνδυασμό τους (IN), σε συγκεντρώσεις 1, 2 και 4 mg l⁻¹ όπου παρέμειναν στο στάδιο αυτό για 6 εβδομάδες.

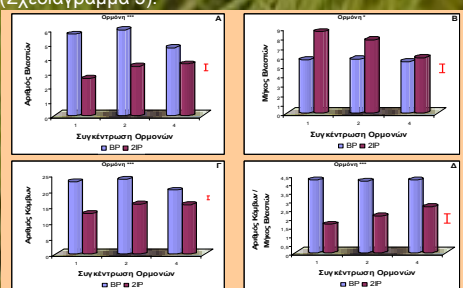
Για τη μελέτη της επίδρασης παρεμποδιστών αύξησης στην *in vitro* καλλιέργεια της καστανιάς, βλαστοκορυφές και κομβικά έκφυτα μεταφέρθηκαν για βλαστογένεση, σε σωλήνες με το ίδιο θρεπτικό υπόστρωμα, όπου χρησιμοποιήθηκαν ξεχωριστά οι κυτοκινίνες BA και 2iP σε συγκεντρώσεις 2 mg l⁻¹ (οι συγκεντρώσεις αυτές έδωσαν τα καλύτερα αποτελέσματα στο στάδιο βλαστογένεσης) και συνδυάστηκαν με τους παρεμποδιστές αύξησης Meriquat chloridate και Paclobutrazol σε συγκεντρώσεις 0, 0.01, 0.1 και 1 mg l⁻¹, όπου παρέμειναν για 4 εβδομάδες. Κατά το στάδιο της ριζοβολίας έκφυτα μήκους 1 cm μεταφέρθηκαν σε σωλήνες οι οποίοι περιείχαν το ίδιο θρεπτικό υπόστρωμα εφοδιασμένο με την αυξίνη IBA σε συγκέντρωση 4 mg l⁻¹ (η συγκέντρωση αυτή έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα στο στάδιο ριζοβολίας) σε συνδυασμό με τους παρεμποδιστές αύξησης Meriquat chloridate και Paclobutrazol σε συγκεντρώσεις 0, 0.01, 0.1, 1 και 3 mg l⁻¹, όπου παρέμειναν για διάστημα 6 εβδομάδων.

Αποτελέσματα

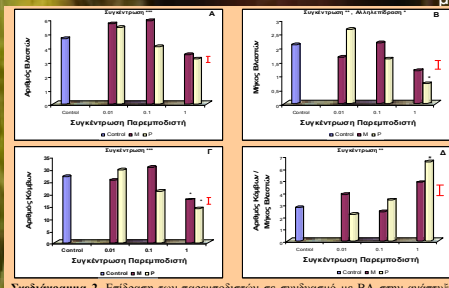
Η προσθήκη BA στο υπόστρωμα στη συγκέντρωση των 2 mg l⁻¹ αύξησε τον αριθμό και το μέσο μήκος των βλαστών ανά έκφυτο και τον αριθμό των κόμβων, ενώ και η 2iP στην ίδια συγκέντρωση αύξησε τον αριθμό των βλαστών και των κόμβων ανά έκφυτο (Σχεδιάγραμμα 1). Παρόλα αυτά δεν υπήρξε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά με τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις. Η συγκέντρωση των παρεμποδιστών σε συνδυασμό με την BA επηρέασε στατιστικά σημαντικά τις μετρούμενες μεταβλητές. Η προσθήκη Meriquat chloridate σε συγκέντρωση 0.1 mg l⁻¹ αύξησε τον αριθμό και το μήκος των βλαστών ανά έκφυτο και τον αριθμό των κόμβων ανά έκφυτο, ενώ και η προσθήκη Paclobutrazol σε συγκέντρωση 0.01 mg l⁻¹ είχε τα ίδια αποτελέσματα (Σχεδιάγραμμα 2). Σε συνδυασμό με την 2iP, όσο το Meriquat chloridate όσο και το Paclobutrazol σε συγκέντρωση 0.01 mg l⁻¹ παρουσίασαν αύξηση σε όλα τα μετρούμενα βιομετρικά χαρακτηριστικά των εκφύτων (Σχεδιάγραμμα 3). Στη ριζοβολία, το IBA σε συγκέντρωση 4mg l⁻¹ έδωσε το μεγαλύτερο ποσοστό ριζοβολίας σε σχέση με τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις και τις υπόλοιπες αυξίνες (Σχεδιάγραμμα 4). Τέλος υψηλότερο ποσοστό ριζοβολίας και στους δύο παρεμποδιστές έδωσε η μεγαλύτερη συγκέντρωση, χωρίς όμως να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά με το μάρτυρα (Σχεδιάγραμμα 5).

Συζήτηση

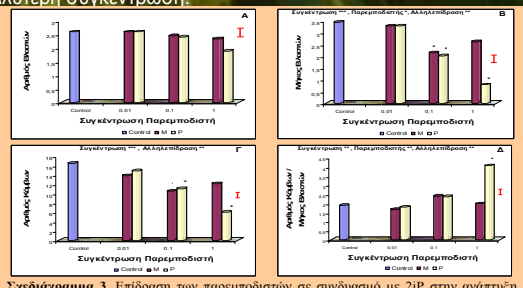
Από τα αποτελέσματα της παρούσης έρευνας βλέπουμε πως η καστανιά ανταποκρίνεται καλύτερα κατά το στάδιο της βλαστογένεσης όταν το υπόστρωμα είναι εφοδιασμένο με BA στη συγκέντρωση των 2 mg l⁻¹. Η BA είναι η κυτοκίνη η οποία έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως κατά τον *in vitro* πολλαπλασιασμό της καστανιάς και από άλλους ερευνητές με τα καλύτερα μέχρι στιγμής αποτελέσματα. Το Meriquat chloridate στη συγκέντρωση των 0,1 mg l⁻¹ αύξησε τον αριθμό των βλαστών και των κόμβων ανά έκφυτο. Κατά το στάδιο της ριζοβολίας η προσθήκη IBA στο υπόστρωμα στη συγκέντρωση των 4 mg l⁻¹ δίνει το μεγαλύτερο ποσοστό ριζοβολίας και αριθμό παραγόμενων ριζών ανά έρριζο έκφυτο. Σε συνδυασμό με τους παρεμποδιστές, μεγαλύτερο ποσοστό ριζοβολίας έδωσε το Meriquat chloridate στη μεγαλύτερη συγκέντρωση.



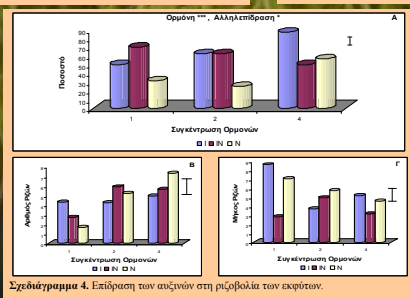
Σχεδιάγραμμα 1. Επίδραση των κυτοκινίνων στην ανάπτυξη των εκφύτων κατά το στάδιο βλαστογένεσης.



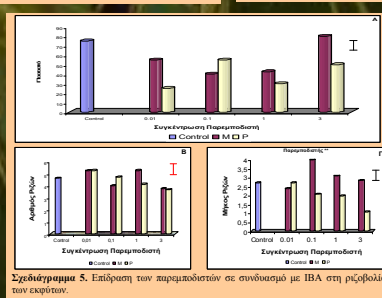
Σχεδιάγραμμα 2. Επίδραση των παρεμποδιστών σε συνδυασμό με BA στην ανάπτυξη των εκφύτων κατά το στάδιο βλαστογένεσης. Τα αστέρια πάνω από μπάρα δείχνουν σημαντική διαφορά σε σχέση με το μάρτυρα (δοκιμασία της Dunnett).



Σχεδιάγραμμα 3. Επίδραση των παρεμποδιστών σε συνδυασμό με 2iP στην ανάπτυξη των εκφύτων κατά το στάδιο βλαστογένεσης. Τα αστέρια πάνω από μπάρα δείχνουν σημαντική διαφορά σε σχέση με το μάρτυρα (δοκιμασία της Dunnett).



Σχεδιάγραμμα 4. Επίδραση των αυξινών στη ριζοβολία των εκφύτων.



Σχεδιάγραμμα 5. Επίδραση των παρεμποδιστών σε συνδυασμό με IBA στη ριζοβολία των εκφύτων.

Βιβλιογραφία

- Corredoira E., Ballester A. and Vieitez A. M., 2003. Proliferation, Maturation and Germination of *Castanea sativa* Mill. Somatic Embryos Originated from Leaf Explants. *Annals of Botany* 92:129-136, 2003.
Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15:437-497