

ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΜΕ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ

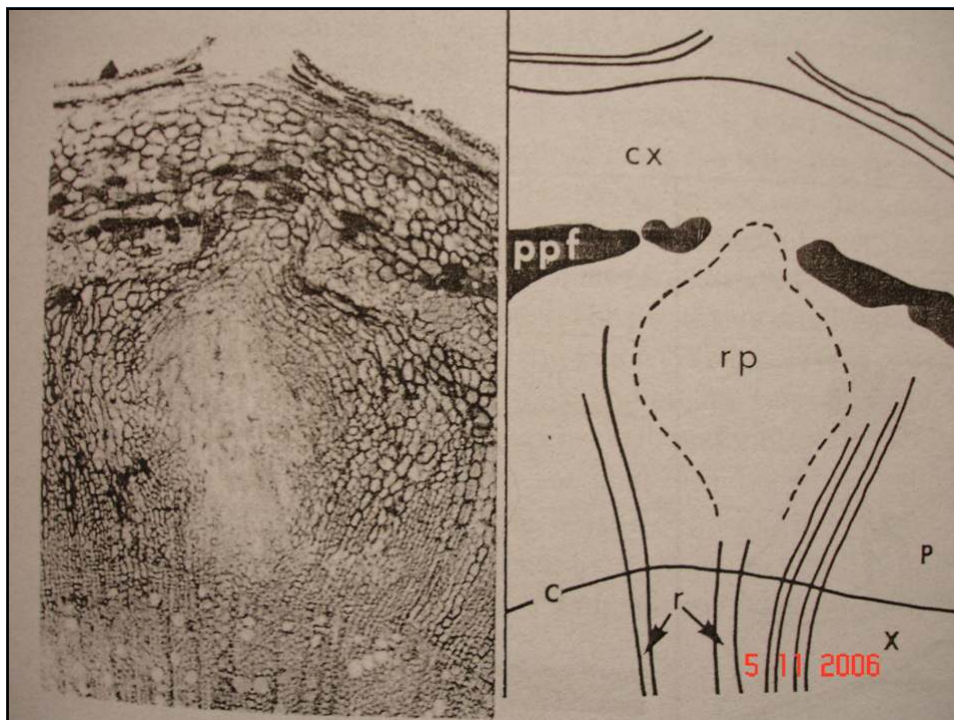
- Αγενής μέθοδος πολλαπλασιασμού
- Με χρήση μοσχευμάτων βλαστού και φύλλου-οφθαλμού το ζητούμενο είναι ο σχηματισμός ρίζας
- Με χρήση μοσχεύματος ρίζας και φύλλου πρέπει να δημιουργηθούν τόσο βλαστοί όσο και ρίζες

- Κατά τη διαδικασία ριζοβολίας μοσχευμάτων διακρίνουμε δύο στάδια:
 - Ριζογένεση (έναρξη σχηματισμού ριζών)
 - Ανάπτυξη ριζών
- Άρα θα πρέπει να έχουμε υπόψη μας ότι θα πρέπει να βελτιώσουμε την τεχνική και στα δύο στάδια

- Η χρησιμοποίηση και η επιτυχία μοσχευμάτων για πολλαπλασιασμό φυτών βασίζεται στην **αποδιαφοροποίηση** κυττάρων

- **Προέλευση ριζών σε μοσχεύματα**

Αποδιαφοροποίηση (dedifferentiation) είναι τα πρώτα στάδια σχηματισμού τυχαίων ριζών ή/και βλαστών όπου ήδη διαφοροποιημένα κύτταρα μετά από κάποιο ερέθισμα σχηματίζουν νέες μεριστωματικές περιοχές – σχηματίζουν κύτταρα με μεριστωματική δραστηριότητα



- Δύο τύποι τυχαίων ριζών:
 - Προσχηματισμένες ρίζες
 - Σχηματισμός ριζών μετά από τραυματισμό

- Στάδια σχηματισμού ριζών μετά από τραυματισμό
 - Σχηματισμός νεκρωτικής ζώνης και εναπόθεση συμπερίνης στο τραύμα για προστασία
 - Τα ζωντανά κύτταρα κάτω από αυτό το στρώμα σχηματίζουν ένα στρώμα από παρεγχυματικά κύτταρα που αναπτύσσεται σε περίδερμα
 - Κάποια κύτταρα κοντά στην περιοχή του καμβίου ή του φλοιού διαιρούνται και σχηματίζουν τυχαίες ρίζες

- Στάδια σχηματισμού τυχαίων ριζών κατά τη διαίρεση των κυττάρων:
 - Αποδιαφοροποίηση συγκεκριμένων διαφοροποιημένων κυττάρων
 - Σχηματισμός ριζικών καταβολών (κοντά σε αγγειώδη ιστό)
 - Ανάπτυξη ριζικών καταβολών σε οργανωμένα ριζικά αρχέτυπα (ριζίδια – primordia)
 - Έξοδος ριζιδίων και σχηματισμός αγγειακής σύνδεσης με το αγγειακό σύστημα του βλαστού

- Το σημείο σχηματισμού ριζιδίων σε ένα βλαστό ξυλώδους πολυετούς φυτού βρίσκεται
 - στα αγγεία του δευτερογενούς ηθμού, ή μερικές φορές
 - στα κύτταρα καμβίου,
 - ηθμού,
 - αγγειώδεις δεσμίδες κτλ.

- Σχέση σκληρεγχοματικού ιστού και ριζοβολίας (όχι αξιόπιστο κριτήριο)
- Η παρουσία κάλλου στη βάση του μοσχεύματος σε μερικά είδη είναι ένδειξη ριζοβολίας ενώ σε άλλα όχι (όχι αξιόπιστο κριτήριο)

Δεν φαίνεται να παίζει κάποιο μηχανικό ρόλο στην επαγωγή ριζοβολίας, μπορεί να παίζει όμως κάποιο βιοχημικό ρόλο (λιγνίνη)

- Ρόλος των ορμονών στο σχηματισμό ρίζας και βλαστού
 - Υπόθεση ριζοκαλίνης
 - Η παρουσία των οφθαλμών σε ένα μόσχευμα θεωρείται απαραίτητη προϋπόθεση ριζοβολίας
 - Σημαντική η παρουσία τους κατά τις τρεις – τέσσερις πρώτες ημέρες μετά τη δημιουργία των μοσχευμάτων
 - Μετά από αυτόν τον χρόνο δεν κρίνεται αναγκαία η παρουσία τους
 - Σημαντική και η παρουσία των φύλλων

■ Ριζοκαλίνη → Σύμπλεγμα ενός γενικού χημικού ερεθίσματος



Πιθανόν:

- Αυξίνη → Εξωγενώς εφαρμοζόμενη
- Σάκχαρα → Θρεπτική κατάσταση μοσχεύματος?
- Οξυγόνο



Παροχή οξυγόνου στο μόσχευμα?
Το υπεροξειδίο του οξυγόνου ελευθερώνει οξυγόνο – εφαρμογή κατά τη ριζοβολία?

■ Φυτορυθμιστικές ουσίες

■ Αυξίνες

- IBA, IAA, α-NAA
- Δεσμευμένες μορφές (αμιδικό δεσμό, εστερικό δεσμό) → πιο ενεργές μορφές αυξινών
- Το εξωγενώς εφαρμοζόμενο IBA αυξάνει την ευαισθησία των ιστών στο IAA

■ Κυτοκινίνες

- BA, KINETIN, TDZ, ZEATIN, 2iP
- Σε ποικιλίες όπου βρέθηκαν υψηλά επίπεδα κυτοκινινών τα μοσχεύματα δε ριζοβολούν εύκολα

■ Γιββερελλίνες

■ Αιθυλένιο

■ Αμπισισικό οξύ

- Άλλοι φυτορυθμιστικοί παράγοντες (φαινολικές ενώσεις, παρεμποδιστές / επιβραδυντές αύξησης κτλ)

TABLE 9-4 Plant Growth Regulator Effects on Adventitious Root and Bud (and Shoot) Formation

Plant growth regulator	Adventitious root formation	Adventitious bud and shoot formation
Auxins	Promote	Inhibit; low auxin: high cytokinin ratio promote
Cytokinins	Inhibit; high auxin: low cytokinin ratio promote	Promote
Gibberellins	Inhibit	Inhibit; can enhance shoot elongation <i>after</i> organ formation
Ethylene	Can promote with auxin-induced rooting of some herbaceous plants; with woody plants generally not directly involved in rooting	Not promotive
ABA	Inhibit; however, used in combination with auxin can promote rooting in some species	Inhibits; however was reported to stimulate adventitious bud formation of a herbaceous species
Ancillary compounds Retardants/inhibitors, polyamines, jasmonate, brassinosteroids, phenolics	Used in combination with auxin can promote rooting in some species	Not promotive; may depress shoot development

- Πως μπορώ να αυξήσω την παραγωγή ή τη συγκέντρωση IAA ενδογενώς?



- Χαραγή των μητρικών βλαστών?
- Εξωγενής εφαρμογή IAA ή προδρόμων ουσιών?

- Μπορώ να χρησιμοποιήσω δεσμευμένες μορφές αυξινών? (είναι καλύτερες πηγές αυξίνης για τη ριζοβολία)
- Κατά τις πρώτες 4 ημέρες μετά την τοποθέτηση στην υδρονέφωση συμβαίνουν κάποιες διεργασίες (σχηματισμός ριζικών καταβολών) που απαιτούν παρουσία αυξίνης. Μπορώ να έχω συνεχή παρουσία αυξίνης?

• Διαφυλλικά

• Εφαρμογή με ριζοπότισμα στο υπόστρωμα

- Εφόσον οι κυτοκινίνες έχουν αρνητική επίδραση στη ριζοβολία, μήπως οι δύσκολες να ριζοβολήσουν ποικιλίες έχουν υψηλά επίπεδα κυτοκινινών?
- Μπορώ να βρω τρόπο να αποπλύνω τις ενδογενείς κυτοκινίνες?
- Εφαρμογή UV ακτινοβολίας στα μοσχεύματα πριν την εφαρμογή αυξίνης τι μπορεί να κάνει?

- Εμβάπτιση μοσχευμάτων σε ζεστό νερό βοήθησε τη ριζοβολία με την παραγωγή αιθυλενίου. Αν εφαρμόσουμε εξωτερικά αιθυλένιο τι μπορεί να γίνει?
- Εφόσον το ABA ανταγωνίζεται τις κυτοκινίνες και τις γιββερελλίνες μήπως εξωγενής εφαρμογή του στα μητρικά φυτά επιτρέψει υψηλότερα ποσοστά ριζοβολίας?

■ Συνεργιστικοί παράγοντες ριζοβολίας

- Φαινολικές ενώσεις
- Πολυαμίνες
- Επιβραδυντές/παρεμποδιστές βλάστησης
- Brassinosteroids
- Jasmonates
- Σαλικιλικό οξύ

Εξωγενής εφαρμογή?

- Εφόσον κάποιοι από τους συνεργιστές ριζοβολίας παρεμποδίζουν την οξειδωση του IAA από το **ένζυμο οξειδάση του IAA**

Μήπως θα μπορούσαμε να εφαρμόσουμε εξωγενώς παρεμποδιστές της οξειδάσης του IAA?

Οι φαινολικές ενώσεις φαίνεται να παίζουν κάποιο ρόλο

- Οι μονο-phenols φαίνεται να δρουν παρεμποδιστικά (p-coumaric acid)
- Οι polyphenols (chlorogenic acid, catechol, caffeic acid κτλ) φαίνεται να δρουν συνεργιστικά (όπως και όλες οι φαινολικές ενώσεις με τα -OH σε όρθο θέση και ελεύθερη την πάρα θέση)

- Η ανανεωμένη θεωρία ριζοκαλίνης:



Αποτελείται από τρία συστατικά

- Ειδικός παράγοντας (πιθανόν ο-διφαινόλη) που παράγεται από τα φύλλα
- Μη ειδικός παράγοντας (αυξίνη) που μεταφέρεται από τα φύλλα
- Ειδικό ένζυμο (πιθανόν πολυφαινολοξειδάση, υπεροξειδάση, καταλάση?)

- Βιοχημική βάση ανάπτυξης τυχαίων ριζών
 - Ισορροπία παρεμποδιστών και ουσιών που προωθούν **τη ριζοβολία**

Ποικιλίες που ριζοβολούν δύσκολα ή και καθόλου είτε δεν έχουν ενδογενείς ουσίες που προωθούν τη ριζοβολία είτε έχουν υψηλά επίπεδα παρεμποδιστών ριζοβολίας

Υπάρχουν όμως και ενδείξεις ότι στις δύσκολες να ριζοβολήσουν ποικιλίες ίσως να φταίει η μειωμένη ευαισθησία στις αυξίνες παρά η ελλιπή **συγκέντρωση αυτών**



Πως μπορώ να μειώσω τους παρεμποδιστές ριζοβολίας?

Πως μπορώ να αυξήσω την ευαισθησία στην αυξίνη?

**Χειρισμοί μητρικών φυτών προς
αύξηση ριζοβολίας μοσχευμάτων
τους**

Χειρισμοί μητρικών φυτών προς αύξηση ριζοβολίας μοσχευμάτων τους

- Γνωρίζουμε ότι τα μοσχεύματα από φυτά σε νεανική φάση ριζοβολούν σε ψηλότερο ποσοστό

↓
Πως διατηρούμε ή επαναφέρουμε ένα μητρικό φυτό σε **νεανική κατάσταση**?

1. Προωθώντας το σχηματισμό οφθαλμών σε τεμάχια ριζών και χρησιμοποιώντας τους βλαστούς ως μοσχεύματα
2. Ψεκάζοντας με γιββερελλίνη ή και μίγματα με κυτοκίνη, παρεμποδιστές αύξησης και αυξίνες
3. Χρησιμοποιώντας σφαιροβλάστες
4. Χρησιμοποιώντας φυτά παραγόμενα από ιστοκαλλιέργεια
5. Εμβολιάζοντας σε υποκείμενο που βρίσκεται σε νεανική φάση

- Συσκότιση και ριζοβολία μοσχευμάτων
 - **Ολική συσκότιση (etiolation)**
 - **Μερική συσκότιση (banding)**
 - Καλό είναι η συσκότιση να γίνεται όσο τα κύτταρα είναι αδιαφοροποίητα
- **Τι συμβαίνει κατά τη συσκότιση**
 - **Χλωρωτικά φυτά** (η χλωροφύλλη δεν συνδέεται με τη ριζοβολία όμως)
 - Υπερ-ενυδάτωση
 - Αύξηση μεσογονατίων διαστημάτων
 - Μειωμένη μηχανική αντίσταση

- Επιπλέον:

- Αύξηση αδιαφοροποίητων κυττάρων στην περιοχή του ηθμού και στο περικύκλιο



Μεταπίπτουν πιο εύκολα σε μεριστωματική κατάσταση ώστε να παραχθούν ριζικές καταβολές

- Μειωμένη εναπόθεση σουμπερίνης
- IAA →
 - Η ενδογενής δραστηριότητα όχι σημαντικά διαφορετική
 - Αυξημένη κινητικότητα στα ηλιαζόμενα
 - Αυξημένη όμως ευαισθησία των μοσχευμάτων σε παρεχόμενη αυξίνη

- Με τη συσκότιση βρέθηκε επίσης ότι:

- Αυξάνεται η συγκέντρωση των φαιολικών ουσιών
- Μειώνεται η ενεργότητα της υπεροξειδάσης

Αύξηση των ο-διφαινολών με ταυτόχρονη συνεισφορά τους στην παρεμπόδιση της δράσης της οξειδάσης του IAA



ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΕΡΗ ΕΠΟΧΗ ΛΗΨΗΣ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΩΝ

- Η καλύτερη εποχή ριζοβολίας σχετίζεται με τη φυσιολογική κατάσταση του φυτού και όχι με το **ημερολογιακό έτος**.

Πως μπορούμε να διατηρήσουμε το μητρικό φυτό σε αυτήν την κατάσταση που δίνει υψηλά ποσοστά ριζοβολίας των μοσχευμάτων του?

Αυστηρό κλάδεμα

Το υψηλότερο ποσοστό ριζοβολίας δεν οφείλεται στο ότι είναι πιο ζωηροί, μάλλον το αντίθετο:

Οι λιγότερο ζωηροί βλαστοί ριζοβολούν σε υψηλότερα ποσοστά

Επηρεάζοντας τις περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης των μητρικών φυτών

Επηρεάζοντας τις περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης των μητρικών φυτών

- Υδατική κατάσταση
- Θερμοκρασία (μικρή σημασία)
- Φως (ένταση, φωτοπερίοδος)



- Σκίαση → αυξάνει την ευαισθησία στην εφαρμογή αυξίνης,
 - αυξάνονται τα ποσοστά ριζοβολίας,
 - οι φαινολικές ενώσεις δεν καταναλώνονται για σχηματισμό λιγνίνης και έτσι χρησιμοποιούνται για τη ριζοβολία των μοσχευμάτων

- Χαραγή
- Εμπλουτισμός με διοξείδιο του άνθρακα
- Υδατάνθρακες → παίζουν κάποιο ρόλο αλλά όχι **ρυθμιστικό**

↓
Μεγάλη σημασία έχει ο λόγος
C/N

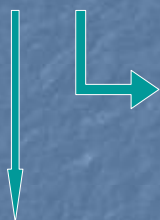
↓
Ρυθμιστικό ρόλο παίζει
στο λόγο αυτό το
άζωτο

→ Πως ρυθμίζουμε το
επίπεδο του αζώτου
άρα και το λόγο C/N?

Μεταχείριση μοσχευμάτων

Μεταχείριση μοσχευμάτων

- Αποθήκευση μοσχευμάτων και **προ-μεταχειρίσεις**



Πρέπει να αποφύγουμε απώλειες νερού από τα μοσχεύματα

Καλύτερα να αποθηκεύονται σε χαμηλή θερμοκρασία και υψηλή σχετική υγρασία

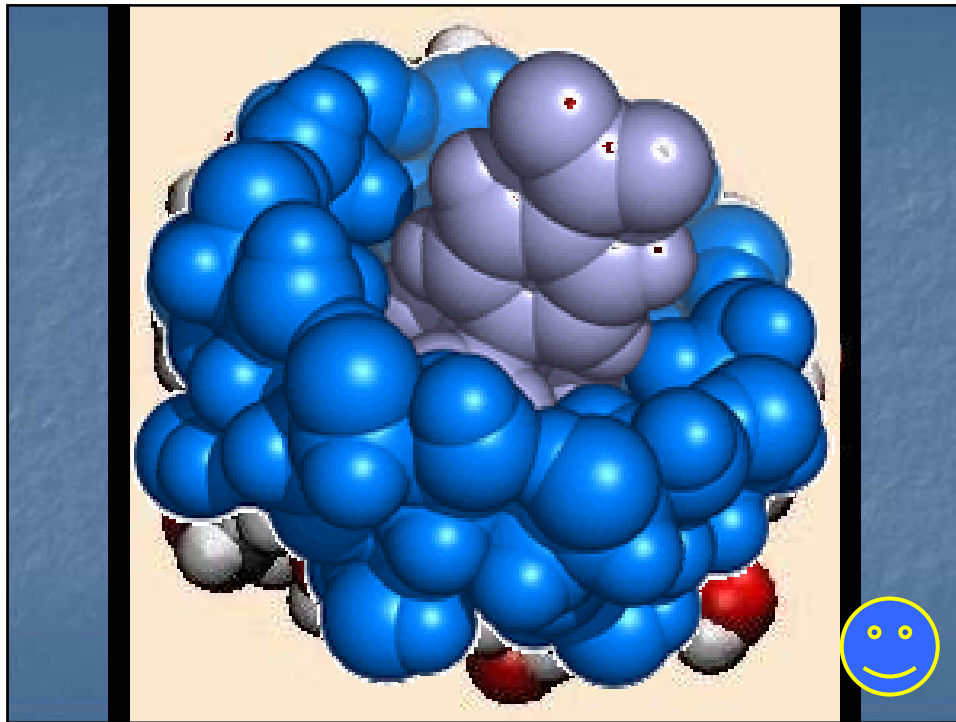
Προμεταχειρίσεις:

- ABA που ρυθμίζει το κλείσιμο των στοματίων
- Εμβάπτιση σε διάλυμα σακχαρόζης 2-5% για 24 ώρες

■ Αυξίνες

Υψηλή συγκέντρωση αυξίνης όμως δρα ανασταλτικά στην έκπτυξη των οφθαλμών του **μοσχεύματος**

- Κυρίως χρησιμοποιούνται IBA και α-NAA μόνα τους ή σε μίγμα
- Επίσης και το 2,4 D
- Μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε και κάποια ένωση τύπου φαινόξυ – που φαίνεται να αυξάνουν τα ποσοστά ριζοβολίας μαζί με αυξίνη
- Η όξινη μορφή αυξίνης διαλύεται πρώτα σε αλκοόλη (30% κ.ο.) ή σε υδροξείδιο αμμωνίου, ενώ υπάρχουν πλέον και τα υδατοδιαλυτά άλατά τους
- Εστέρες και αμίδια των IAA και IBA χρησιμοποιούνται επίσης με καλά αποτελέσματα. Πιθανόν γιατί όταν διασπώνται εντός του φυτού ελευθερώνουν αυξίνη και φαινολική ένωση
- Χρησιμοποίηση κυκλοδεξτρινών για προστασία των **αυξινών**



**Θρεπτική κατάσταση μοσχευμάτων
και ριζοβολία**

Θρεπτική κατάσταση μοσχευμάτων (ανόργανα στοιχεία)

- **Ρόλος N** → πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα
- Zn → προωθεί το σχηματισμό τρυπτοφάνης
- Fe, Cu, Mo → αυξάνονται κατά τα πρώτα στάδια ριζοβολίας
- Mn → ενεργοποιητής IAA οξειδάσης
- B → αυξάνει ενεργότητα **IAA οξειδάσης**

Θέλουμε χαμηλή ενεργότητα IAA οξειδάση στην αρχή και ίσως υψηλότερη αργότερα

Υψηλή συγκέντρωση Mn σε φύλλα δύσκολης για ριζοβολία ποικιλίας αβοκάντο

Τι κάνουμε με αυτά τα στοιχεία?

Απόπλυση θρεπτικών στοιχείων

- N, P, K, Ca, Mg αποπλένονται από τα φύλλα υπό συνθήκες υδρονέφωσης

N, Mn > Ca, Mg, S, K > Fe, Zn, P, Cl

- Τι κάνουμε σε **αυτήν την περίπτωση?**

• Διαφυλλική λίπανση μέσω υδρονέφωσης

• Εμπλουτισμός υποστρώματος με αργής αποδέσμευσης λιπάσματα ή επιφανειακή εφαρμογή

• Μειώνει το ποσοστό ριζοβολίας

• Σχηματισμός από άγλη στην επιφάνεια των φύλλων

• Αύξηση αλατότητας υποστρώματος



Επιδρούν θετικά κατά το δεύτερο στάδιο ριζοβολίας (ανάπτυξη ριζών) και όχι κατά τη ριζογένεση

- Το Β επηρεάζει κυρίως την ανάπτυξη των ριζών (2ο στάδιο) και λιγότερο τη ριζογένεση (ίσως μέσω της επίδρασής του στην IAA-ox αλλά και στις συζευγμένες μορφές με φαινολικές ενώσεις)
- Η εφαρμογή Ca (δυσκίνητο εντός του φυτού) φαίνεται ότι μαζί με Β αυξάνει τη ριζοβολία σε κάποια είδη
- Δεν έχει γίνει πολύ έρευνα με τη θρέψη και τους συνεργιστές ριζοβολίας
- Τελικά είναι σημαντικότερο να φροντίσουμε να έχουμε τη μητρική φυτεία σε καλή θρεπτική κατάσταση

Τραυματισμός μοσχευμάτων

■ Τραυματισμός μοσχευμάτων



- Είσοδος ορμονών στο μόσχευμα
- Αύξηση έντασης αναπνοής
- Έκλυση αιθυλενίου που έμμεσα σχετίζεται με το σχηματισμό ριζών
- Αύξηση συγκέντρωσης **φαινολικών ουσιών**

Μπορούμε να αυξήσουμε την ενεργότητα των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή φαινολικών ουσιών?

Περιβαλλοντικοί παράγοντες κατά τη διάρκεια ριζοβολίας

- Περιβαλλοντικοί παράγοντες κατά τη διάρκεια ριζοβολίας
 - Τα συστήματα ριζοβολίας έχουν σχεδιαστεί με γνώμονα:
 - Διατήρηση ατμόσφαιρας με χαμηλό δυναμικό εξατμισοδιαπνοής
 - Διατήρηση επιτρεπτών θερμοκρασιών
 - Διατήρηση επιπέδου φωτισμού

- Το μόσχευμα δεν αναπληρώνει το νερό που χάνει από τα φύλλα (πολύ μικρή σημασία έχουν τα φύλλα σε αυτό)
- Η απορρόφηση νερού από τα μοσχεύματα μειώνεται αφότου αυτά έχουν τοποθετηθεί στον πάγκο ριζοβολίας, πιθανόν λόγω εμβολής των αγγείων του ξύλου ή των **τραχειΐδων**

↓
Το ίδιο που συμβαίνει και με τα κομμένα λουλούδια

→ Τι κάνουμε σε αυτήν την περίπτωση?

■ Θερμοκρασία

- Η επαγωγή ριζικών καταβολών εξαρτάται άμεσα από τη θερμοκρασία, η αύξηση όμως των ριζών εξαρτάται άμεσα από το επίπεδο των διαθέσιμων υδατανθράκων
- Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης ενός φυτού είναι πιθανόν η βέλτιστη για ριζοβολία των μοσχευμάτων του

■ Φως

- Ένταση φωτισμού → μερικά είδη ριζοβολούν καλύτερα υπό χαμηλής έντασης φωτισμό
- Φωτοπερίοδος → σε μερικά φυτά παίζει ρόλο σε άλλα όχι
- Μήκος κύματος → αντικρουόμενες απόψεις όσον αφορά το μήκος κύματος που επιδρά θετικά

■ Φωτοσύνθεση μοσ

ΔΕΝ είναι απόλυτη προϋπόθεση για ριζοβολία μοσχευμάτων

• Η φωτοσυνθετική δραστηριότητα άρριζων μοσχευμάτων φθάνει το μέγιστο υπό χαμηλές τιμές PAR

• Υψηλές τιμές PAR δεν βελτιώνουν τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα και υπάρχει κίνδυνος να αφυδατωθεί το μόσχευμα

• Η φωτοσύνθεση είναι σημαντική κατά τη φάση επιμήκυνσης των ριζών