

Ιστοκαλλιέργεια και Εμβολιασμός

Εργαστήριο Δενδροκομίας

Τμήμα Γεωπονίας

Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου

Δ. Τσιλιάνος

Π. Καλογερόπουλος

Ιστοκαλλιέργεια

Άλλος τρόπος παραγωγής νέων φυτών είναι από καλλιέργεια ιστών μεμονωμένων κυττάρων ή ακόμη μέρους του κυττάρου (πρωτοπλάστες) πάνω σε τεχνητά θρεπτικά υποστρώματα.

Οι τεχνικές αυτές ονομάζονται *in vitro*. Τα τμήματα των φυτών που χρησιμοποιούνται συνήθως για *in vitro* πολλαπλασιασμό είναι ιστοί και στην περίπτωση αυτή έχει επικρατήσει ο όρος ιστοκαλλιέργεια. Εάν ο ιστός που θα χρησιμοποιηθεί είναι κορυφές βλαστών (μερίστωμα), τότε προτιμάται ο όρος μεριστωματικός πολλαπλασιασμός.

Η ιστοκαλλιέργεια είναι μέθοδος αγενούς πολλαπλασιασμού διότι τα παραγόμενα φυτά προέρχονται από μιτωτική διαίρεση σωματικών κυττάρων. Έτσι τα νέα φυτά είναι πανομοιότυπα αντίγραφα του μητρικού φυτού και κατά συνέπεια όμοια αναμεταξύ τους.

Σύμφωνα με τη μέθοδο της ιστοκαλλιέργειας τα φυτικά μέρη (κορυφή, φύλλο, μίσχος, ρίζα) απομονώνονται από το μητρικό φυτό υπό ασηπτικές συνθήκες τοποθετούνται πάνω σε κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα, συνήθως σε γυάλινες φιάλες και αφού τοποθετηθούν σε κατάλληλες – πάντα ασηπτικά – εξελίσσονται σε πλήρη φυτά. Στη συνέχεια τα νεαρά φυτά μεταφέρονται στο φυτώριο όπου και δέχονται τις κατάλληλες περιποιήσεις. Το τελευταίο στάδιο ονομάζεται σκληραγώγηση και χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή διότι ορισμένα φυτά ξηραίνονται από το σοκ της μεταφύτευσης.

Τα μητρικά φυτά πρέπει να είναι υγιή, απαλλαγμένα από ιώσεις και να έχουν λιπανθεί σωστά.

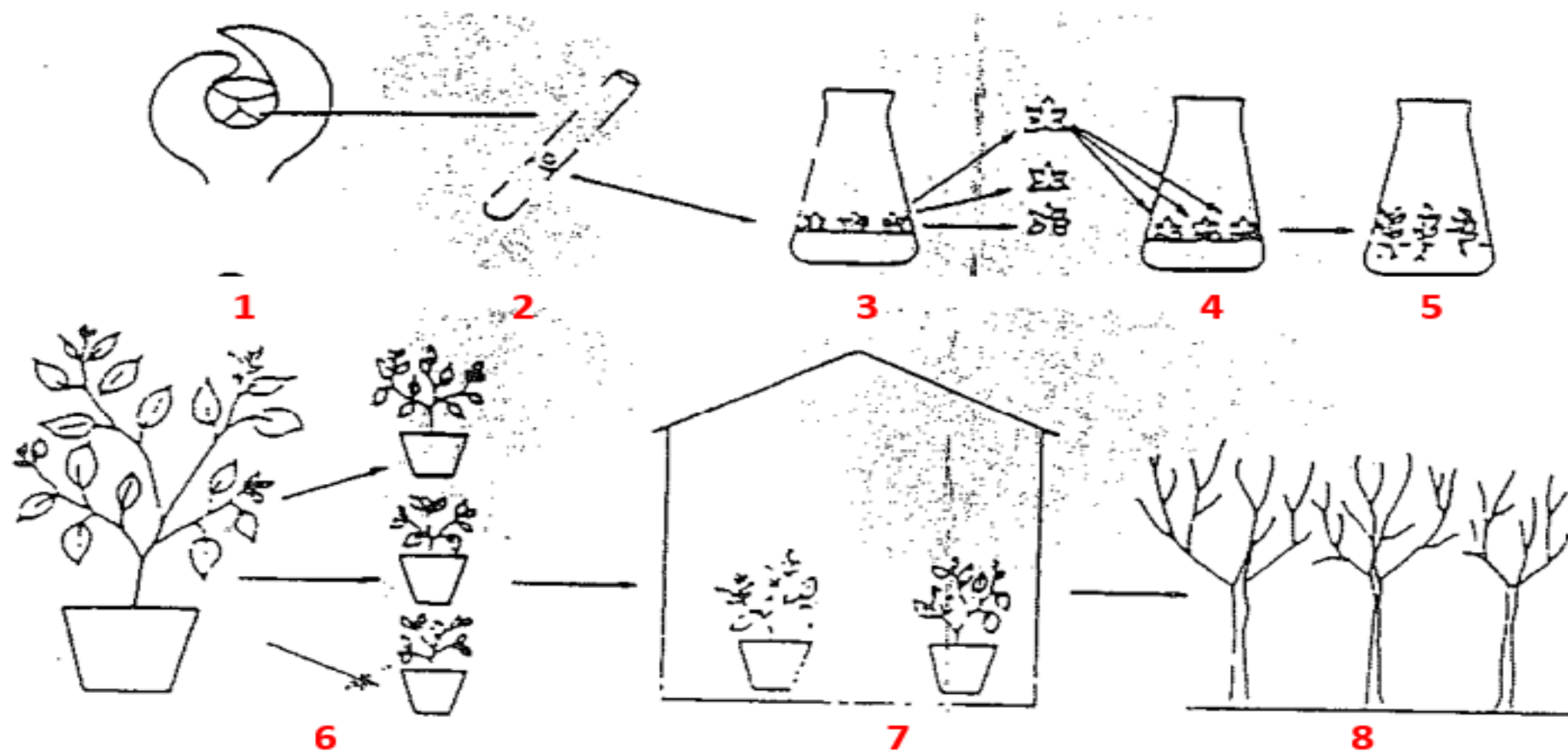
Το θρεπτικό υπόστρωμα πρέπει να περιέχει διάφορα στοιχεία, όπως οργανικές ενώσεις (αμινοξέα, βιταμίνες, σάκχαρα), φυτορμόνες (αυξίνες) μαζί με ένα αδρανές υλικό που συνήθως είναι άγαρ ή άλλη πηκτίνη. Η σύσταση του υποστρώματος εξαρτάται από το εκάστοτε χρησιμοποιούμενο είδος.

Οι φυτικοί ιστοί αφού τοποθετηθούν πάνω στο κατάλληλο υπόστρωμα επωάζονται μέσα σε ειδικούς θαλάμους κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, φωτισμού (ένταση, φάσμα, φωτοπερίοδος), αερισμού, διάρκειας επώασης, σχετικής υγρασίας κ.λπ.

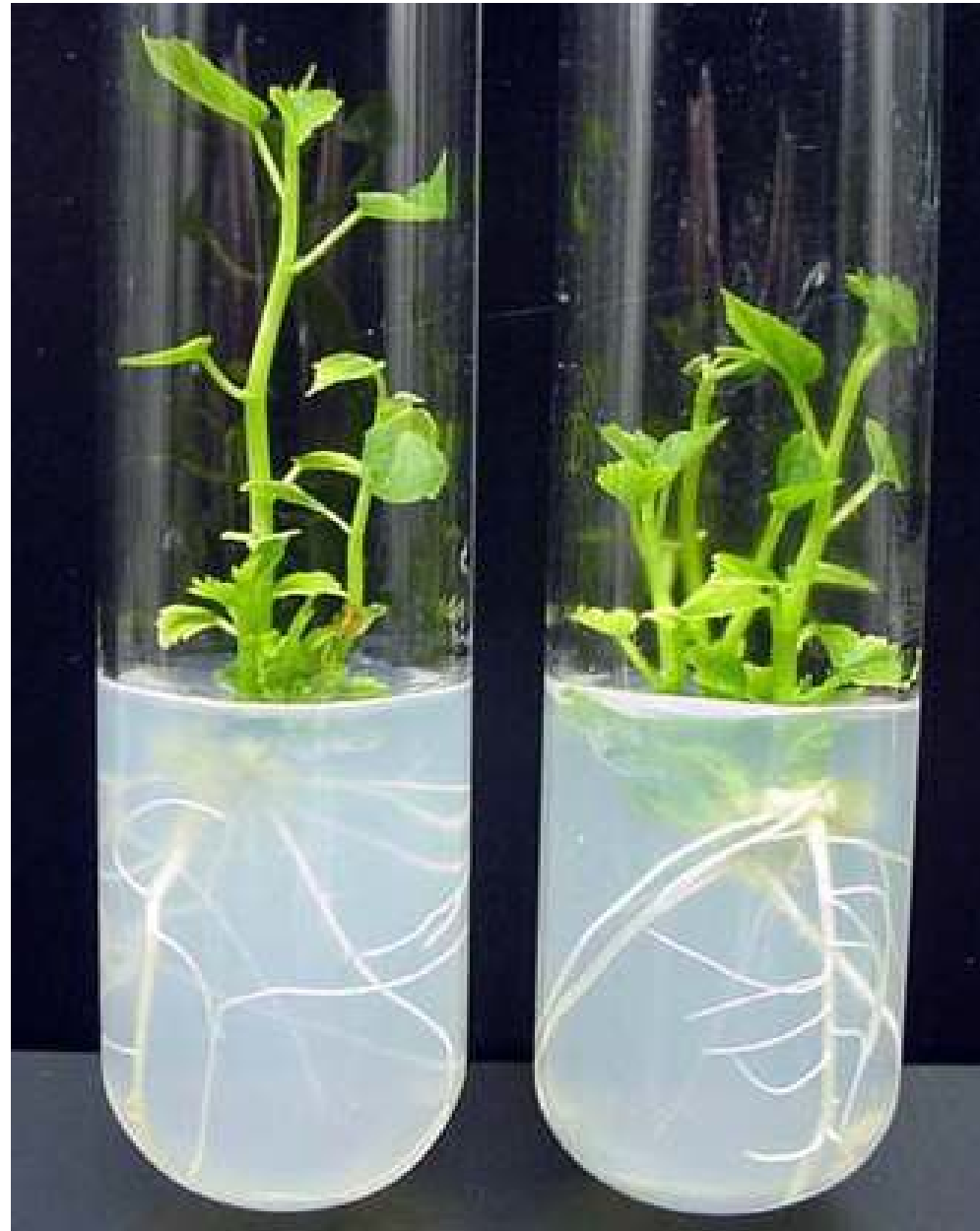
Η ιστοκαλλιέργεια προσφέρει την δυνατότητα παραγωγής σε σύντομο χρονικό διάστημα μεγάλου αριθμού νέων φυτών ανεξαρτήτου εποχής. Επίσης επιτυγχάνεται μαζική παραγωγή χαμηλού κόστους φυτών (λόγω της μαζικής παραγωγής) και διατήρηση γενετικού υλικού επί μακρόν σε τράπεζες. Είναι όμως μια τεχνική που απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό και εξοπλισμό.



Φυτά από Ιστοκαλλιέργεια.



(1) παίρνεται από μητρικό φυτό κάτω από ασηπτικές συνθήκες, τοποθετείται σε κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα (2) και με διαδοχικές καλλιέργειες αποκτά βλαστούς (3), (4) και ρίζες (5). Τα νεαρά φυτά αναπτύσσονται με κατάλληλες συνθήκες (6) και αποτελούν το πρώτο υλικό για πολλαπλασιασμό με υδρονέφωση ή άλλο τρόπο. Τα νεαρά δενδρύλλια καλλιεργούνται στο θερμοκήπιο (7) ή στο φυτώριο και δίνουν μεγάλο αριθμό δενδρυλίων (8).



Νέα φυτά από Ιστοκαλλιέργεια.

Εμβολιασμός καρποφόρων δένδρων

Εμβολιασμός είναι η τοποθέτηση ενός φυτικού τμήματος (εμβόλιο) σε ένα άλλο φυτό (υποκείμενο) κατά τρόπο ώστε να ζήσουν ενωμένα σχηματίζοντας ένα νέο φυτό το οποίο συνδυάζει τους χαρακτήρες και των δύο δηλ. εμβολίου και υποκειμένου, δισυπόστατο φυτό και όχι μόνο το εμβολιασμένο. Το υποκείμενο συνίσταται από τις ρίζες και το κατώτερο τμήμα του κορμού, ενώ το εμβόλιο από το ανώτερο τμήμα του κορμού και την κόμη του δένδρου.

Εάν το εμβόλιο είναι ένας οφθαλμός με ένα τμήμα φλοιού ο εμβολιασμός ονομάζεται ενοφθαλμισμός, ενώ αν είναι τμήμα βλαστού με δύο ή περισσότερους οφθαλμούς ο εμβολιασμός λέγεται εγκεντρισμός.

Ο εμβολιασμός είναι τρόπος αγενούς πολλαπλασιασμού των καρποφόρων δένδρων.

Με την τεχνική του εμβολιασμού είναι δυνατόν:

- να πολλαπλασιασθούν τα φυτά αυτά τα οποία πολλαπλασιάζονται δύσκολα ή και καθόλου με αγενή πολλαπλασιασμό π.χ. μοσχεύματα, καταβολάδες ή παραφυάδες,
- να αντικαταστήσουμε κάποια ποικιλία, είτε γιατί δεν παρουσιάζει εμπορικό ενδιαφέρον, είτε γιατί δεν είναι ο κατάλληλος επικονιαστής, είτε για κάποιον άλλο λόγο, σε συντομότερο χρονικό διάστημα από το να φυτέψουμε νέα δένδρα.

Τα υποκείμενα μπορεί να είναι κλωνικά ή και σπορόφυτα. Τα κλωνικά υποκείμενα, αντίθετα από τα σπορόφυτα, επειδή πολλαπλασιάζονται αγενώς από το μητρικό φυτό, έχουν όλα τον ίδιο γονότυπο (αναμεταξύ τους και με το μητρικό φυτό) με αποτέλεσμα να εξασφαλίζουν ομοιόμορφη ανάπτυξη στην ποικιλία του εμβολίου.

Επίσης, προέρχονται από συγκεκριμένα δένδρα με αξιόλογους χαρακτηρισμούς τους οποίους “μεταφέρουν” στην ποικιλία του εμβολίου π.χ. επιταχύνουν το χρόνο εισόδου στην καρποφορία, δίνουν μικρά δένδρα και αυξάνουν την παραγωγικότητα του εμβολίου.

Επιπλέον, αντέχουν σε διάφορες προσβολές του ριζικού συστήματος όπως π.χ. τα αμερικανικά υποκείμενα Αμπέλου που αντέχουν στη ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας, στην κόπωση του εδάφους όπως π.χ. το υποκείμενο GF 677 στη Ροδακινιά, στην υπερβολική υγρασία του εδάφους όπως π.χ. το υποκείμενο Marianna 2624 στη Βερικοκιά κ.α.

Προϋποθέσεις για την επιτυχία του εμβολιασμού

Βοτανική συγγένεια

Η επιτυχία του εμβολιασμού εξαρτάται από τη βοτανική συγγένεια μεταξύ υποκειμένου και εμβολίου. Όσο μεγαλύτερη η βοτανική συγγένεια, τόσο περισσότερες οι πιθανότητες επιτυχίας του εμβολιασμού. Δηλαδή, οι συνδυασμοί μεταξύ ποικιλιών του αυτού είδους παρουσιάζει απόλυτη συμφωνία.

Οι συνδυασμοί όμως φυτών (εμβολίου και υποκειμένου) που ανήκουν στο ίδιο γένος και διαφορετικό είδος είναι δυνατόν να παρουσιάζουν προβλήματα ασυμφωνίας, π.χ. η Αμυγδαλιά (*Prunus amygdalus*) μπορεί να εμβολιαστεί στη Ροδακινιά (*Prunus persica*), δεν μπορεί όμως να εμβολιαστεί στη Βερικοκιά (*Prunus armeniaca*).

Πίνακας 1. Συμφωνία εμφολίου - υποκειμένου των σπουδαιότερων σπωροφόρων

Εμφόλιο	Υποκείμενο						
	Αμυγδαλιά	Αχλαδιά	Βερικοκιά	Καροδιά	Κυδωνιά	Μηλιά	Ροδακινιά
Αμυγδαλιά	+++	—	+	—	—	—	+++
Αχλαδιά	—	+++	—	—	+++ ^ο	+	—
Βερικοκιά	+	—	+++	—	—	—	+++
Καροδιά	—	—	—	+++	—	—	—
Κυδωνιά	—	+	—	—	+++	+	—
Μηλιά	—	+	—	—	+	+++	—
Ροδακινιά	++	—	++	—	—	—	+++

— Ασυμφωνία που εκδηλώνεται με ξήρανση του εμφολίου

+++ Ικανοποιητική συμφωνία

++ Μερική συμφωνία

+ Ανεπαρκής συμφωνία που εκδηλώνεται με απρόθυμη βλάστηση του εμφολίου

^ο Μερικοί συνδυασμοί με ορισμένες ποικιλίες δεν έχουν καλή συμφωνία

Η ανικανότητα των δύο φυτών να ενώνονται μεταξύ τους χαρακτηρίζεται ως ασυμφωνία εμβολίου – υποκειμένου ή ασυμβίβαστο εμβολιασμού. Όταν υπάρχει καλή συμφωνία δεν παρατηρείται καμία ανωμαλία στο σημείο εμβολιασμού. Αντίθετα, όταν δεν υπάρχει καλή συμφωνία παρατηρούνται τα παρακάτω συμπτώματα:

- Το υποκείμενο αναπτύσσει πολλές παραφυάδες.
- Στο σημείο εμβολιασμού υπάρχει διαχωριστική ζώνη η οποία παραμένει ευδιάκριτη για πολλά χρόνια, πολλές φορές επίσης προς το μέρος του εμβολίου σχηματίζεται ένα εξόγκωμα.
- Δένδρα τα οποία προέρχονται από όχι καλή συμφωνία μεταξύ εμβολίου – υποκειμένου σπάζουν εύκολα στο σημείο εμβολιασμού όταν εκτεθούν σε ισχυρό άνεμο στο φυτώριο ή και στον οπωρώνα.

Επίσης, η ασυμφωνία μπορεί να εκδηλωθεί μετά από μερικά χρόνια (αρμονικής συμφωνίας), ιδίως όταν το δένδρο "στρεσαριστεί" από κάποιο δυσμενή παράγοντα όπως από ακραίες θερμοκρασίες, από προσβολή κάποιου παθογόνου κ.λ.π.



Ασυμφωνία εμφολίου - υποκειμένου.

Κλιματικές συνθήκες

Μεγάλη επίδραση στην επιτυχία του εμβολιασμού έχει η θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Θερμοκρασία από 13 έως 32° C είναι κατάλληλη για την εκτέλεση εμβολιασμών, με άριστο εύρος 20 – 30° C .

Η άριστη σχετική υγρασία που πρέπει να έχει το περιβάλλον για τη δημιουργία συγκολλητικού ιστού είναι 100%. Κατά συνέπεια όσο μικρότερη η σχετική υγρασία του περιβάλλοντος, τόσο λιγότερες πιθανότητες έχει να πετύχει ο εμβολιασμός. Τα παρεγχυματικά κύτταρα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στις απώλειες υγρασίας, γι' αυτό πρέπει να έχουμε λείες τομές, τέλεια επαφή μεταξύ υποκειμένου και εμβολίου και να ακολουθεί καλό δέσιμο ή και επάλειψη με αλοιφή εμβολιασμού.



Στο αμπέλι, οι φυτωριούχοι , μετά τον εμβολιασμό κάνουν επάλειψη με κερι, "βουτάνε" δηλαδή το εμβολιασμένο τμήμα σε πυκνόρρευστο κερι το οποίο στη συνέχεια "παγώνει" και έτσι βοηθά και στο να μην αφυδατωθεί η πληγή αλλά και να έρθουν σε καλύτερη επαφή οι τομές. Διακρίνεται το κερι (με το βυσσινί χρώμα στο επάνω μέρος) στο σημείο του εμβολιασμού.

Εποχή εμβολιασμού

Απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχία του εμβολιασμού είναι ο σχηματισμός "κάλου". Για να σχηματισθεί κάλος πρέπει το κάμβιο να βρίσκεται σε δραστηριότητα. Το κάμβιο βρίσκεται σε δραστηριότητα μετά το "φούσκωμα" των οφθαλμών μέχρι το τέλος του Καλοκαιριού (μετά από συνεχή ποτίσματα) δηλαδή από τον Αύγουστο μέχρι τον Οκτώβριο. Μερικά είδη όπως π.χ. η Άμπελος και η Καστανιά επειδή παρουσιάζουν έκκριση μεγάλης ποσότητας χυμού ο οποίος εμποδίζει το σχηματισμό "κάλου", πρέπει να εμβολιάζονται όταν δεν παρατηρείται το φαινόμενο αυτό, ή άλλως πρέπει να γίνεται μια τομή ψηλότερα από το σημείο εμβολιασμού λίγες ημέρες πριν τον εμβολιασμό, για να φεύγει η περίσσεια χυμού.

Επαφή των καμβίων

Η καλή επαφή των καμβίων είναι και αυτή απαραίτητη προϋπόθεση γιατί οδηγεί στο σχηματισμό "κάλου" και τελικά στην επιτυχημένη συνένωση εμβολίου και υποκειμένου. Για το σκοπό αυτό οι τομές πρέπει να είναι ομαλές και να γίνεται δέσιμο στο σημείο εμβολιασμού. Τέλος, η επιτυχία του εμβολιασμού εξαρτάται από το είδος του φυτού. Μερικά φυτά και κυρίως αυτά με χονδρούς οφθαλμούς, πολλές ταννίνες και παχύ φλοιό όπως η Καρυδιά, ο Λωτός και το Αβοκάντο εμβολιάζονται σχετικά δύσκολα, γι' αυτό πρέπει οι εμβολιασμοί να διενεργούνται από έμπειρους εμβολιαστές. Αξίζει, να σημειωθεί ότι τα μονοκοτυλήδονα είδη (όπως η Μπανανιά, ο Ανανάς και ο Φοίνικας) που δεν διαθέτουν κάμβιο δεν μπορούν να πολλαπλασιαστούν με εμβολιασμό.

Τα εμβόλια λαμβάνονται από υγιή φυτά τα οποία είναι παραγωγικά και ιδιαίτερα από παραγωγικά κλαδιά. Τα κλαδιά θα πρέπει να είναι μέτριας ζωηρότητας, καλά ξυλοποιημένα, διαμέτρου 1-1,5 εκ. και οι οφθαλμοί (μάτια όπως τα ονομάζουν οι εμβολιαστές) να προέρχονται από το μεσαίο και κάτω μέρος του εμβολιοφόρου βλαστού. Οι οφθαλμοί που υπάρχουν στο κορυφαίο μέρος του βλαστού καλό είναι να μην χρησιμοποιούνται για εμβόλια διότι δεν είναι καλοαναπτυγμένοι. Καλό επίσης είναι να αποφεύγουμε να χρησιμοποιούμε λαίμαργους διότι δίνουν φυτά που καθυστερούν να μπούν στην καρποφορία. Πλην όμως στην πράξη πολλές φορές χρησιμοποιούνται λαίμαργοι γιατί δίνουν μεγάλο αριθμό βλαστοφόρων οφθαλμών.