

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ - ΦΥΤΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ

| |
|---|
| ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ & ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ |
| Αριθ. Πρωτοκ. <u>-10-</u> |
| Ημερομηνία <u>12-9-1994</u> |

"ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΑΣΥΜΒΙΒΑΣΤΟΥ
ΣΤΗ ΜΗΛΙΑ ΣΕ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ"

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΤΗΣ ΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΥ ΒΙΡΓΙΝΙΑΣ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Α.Γ. ΜΑΓΓΑΝΑΡΗΣ
Χ. ΓΟΥΛΑΣ
Π. ΛΟΛΑΣ

ΕΠ. ΚΑΘ. ΔΕΝΔΡΟΚΟΜΙΑΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ
ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘ. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΤΩΝ

ΒΟΛΟΣ 1994



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 84/1
Ημερ. Εισ.: 08-09-2003
Δωρεά:
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ - ΓΦΖΠ
1994
ΝΙΚ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000070235

στους γονείς μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αισθάνομαι την υποχρέωση να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Επίκουρο Καθηγητή Δενδροκομίας κ. Α. Μαγγανάρη για την εμπιστοσύνη που μου εδειξε αναθέτοντάς μου το θέμα αυτό καθώς και για την καθοδήγηση και συμπαράστασή του στη διεκπεραίωση του πειράματος και στη συγγραφή της Πτυχιακής μου Διατριβής.

Ευχαριστώ θερμά τους κ.κ. Π. Λόλα Αναπληρωτή Καθηγητή Φυσιολογίας Φυτών, Χ. Γούλα καθηγητή γενετικής βελτίωσης για τις χρήσιμες υποδείξεις τους στην ολοκλήρωση της διατριβής.

Επίσης την Διεύθυνση και το Προσωπικό του Ινστιτούτου Φυλλοβόλων Δένδρων για την ευγενική παραχώρηση των εργαστηρίων που συνέβαλαν στην πραγματοποίηση του πειραματικού μέρους.

Τέλος ευχαριστώ τον συνάδελφο κ. Δ. Τσελεμπή για την άριστη συνεργασία κατά την διάρκεια των δύο χρόνων πειραματισμού και τον εκλεκτό φίλο κ. Θ. Απλακίδη που επιμελήθηκε τη δακτυλογράφηση και την εκτύπωση του κειμένου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

| | | |
|-----|---|----|
| A. | Περίληψη..... | 1 |
| B. | Εισαγωγή..... | 3 |
| 1. | Το ασυμβίβαστο στα οπωροφόρα δένδρα..... | 3 |
| 1α. | Ορισμός και βασικές έννοιες..... | 3 |
| 1β. | Η γενετική βάση του ασυμβίβαστου..... | 5 |
| 1γ. | Η φυσιολογία του ασυμβίβαστου..... | 7 |
| 1δ. | Επίδραση ορισμένων παραγόντων στην εκδήλωση του ασυμβίβαστου..... | 9 |
| 2. | Επικονίαση - Γονιμοποίηση..... | 13 |
| 3. | Παρατήρηση γύρεος και γυρεοσωλήνων με τη χρήση του μικροσκοπίου φθορισμού..... | 18 |
| Γ. | Υλικά και μέθοδοι εργασίας..... | 20 |
| 1. | Επίδραση της θερμοκρασίας στο ασυμβίβαστο της μηλιάς..... | 20 |
| 1.1 | Φυτικό υλικό μηλιάς..... | 20 |
| 1.2 | Συλλογή ανθέων - Τεχνητή επικονίαση..... | 21 |
| 1.3 | Προετοιμασία των δειγμάτων..... | 25 |
| 2. | Test ζωτικότητας - βλαστικότητας γύρης..... | 27 |
| 2.1 | Συλλογή - Προετοιμασία γύρης..... | 27 |
| 2.2 | Μέθοδος μέτρησης ζωτικότητας γύρης..... | 28 |
| 2.3 | Μέθοδος μέτρησης βλαστικότητας γύρης..... | 28 |
| Δ. | Αποτελέσματα..... | 30 |
| α. | Ασυμβίβαστο..... | 30 |
| β. | Test ζωτικότητας γύρης..... | 32 |
| γ. | Test βλαστικότητας γύρης..... | 34 |
| Ε. | Συζήτηση-Συμπεράσματα..... | 36 |
| ΣΤ. | Βιβλιογραφία..... | 40 |

A. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ασυμβίβαστο είναι ένας από τους ειδικούς μηχανισμούς που θέτει σε εφαρμογή η φύση προκειμένου να εμποδισθεί η αυτογονιμοποίηση και να ευνοηθεί η παραγωγή ετεροζυγωτικών ατόμων. Τα φυτικά είδη στα οποία εμφανίζεται το ασυμβίβαστο ενώ παράγουν γόνιμους αρσενικούς και θηλυκούς γαμέτες δείχνουν αδυναμία να αναπαραχθούν μετά από αυτεπικονίαση. Ένα μεγάλο ποσοστό των καλλιεργούμενων ποικιλιών μηλιάς είναι οι αυτο-ασυμβίβαστες και επειδή στις περισσότερες ποικιλίες η καρπόδεση εξαρτάται από τη γονιμοποίηση και την ανάπτυξη των σπερμάτων, οι ποικιλίες - επικονιαστές είναι απαραίτητες σε εμπορικούς οπωρώνες. Το ασυμβίβαστο στη μηλιά είναι κάτω από γαμετοφυτικό έλεγχο και φαίνεται να ελέγχεται γενετικά από ένα γονίδιο S με πολλά αλληλόμορφα ($S_1 - S_n$).

Η μελέτη του ασυμβιβάστου εξάλλου επιτυγχάνεται :

- α) με test αγρού ή θερμοκηπίου λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό των καρπών που παράγονται από τεχνητά επικονιασθέντα άνθη.
- β) με μικροσκόπιο φθορισμού χρησιμοποιώντας την τεχνική Currier (1957) για την παρατήρηση της ανάπτυξης των γυρεοσωλήνων στο στύλο κάτω από υπεριώδες φως.

Το πειραματικό μέρος της παρούσης πτυχιακής διατριβής διεξήχθηκε εξ'ολοκλήρου στο Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων Νάουσας κατά τη διάρκεια των ετών 1993 και 1994. Χρησιμοποιήθηκαν δένδρα ηλικίας 12 ετών διαφόρων ποικιλιών από όπου συλλέχθηκαν τα απαραίτητα άνθη. Επιχειρήθηκε κατα-

μέτρηση των αναπτυσσομένων γυρεοσωλήνων στους στύλους ειδικά μεταχειρισμένων ανθέων, επικονιασθέντων στο εργαστήριο και αποθηκευμένων σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες, χωρίς επιτυχία ώστε να καταστεί δυνατή η διάκριση συμβιβαστών και ασυμβίβαστων επικονιάσεων που θα στηρίζονταν στο διαφορετικό αριθμό γυρεοσωλήνων που φθάνουν στη βάση του στύλου. Επίσης αποδείχθηκε ότι η γονιμότητα και η βλαστική ικανότητα της γύρης των πιο σημαντικών ποικιλιών μηλιάς που εμφανίζονται στην Ελλάδα επηρεάζονται αρνητικά από αποθήκευση 1 και 2 ετών σε χαμηλές θερμοκρασίες.

B. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Το ασυμβίβαστο στα σπυροφόρα είδη

1α. Ορισμός και βασικές έννοιες

Ο όρος ασυμβίβαστο περιγράφει το φαινόμενο όπου φυτά που έχουν καθ'όλα φυσιολογικούς γαμέτες αδυνατούν να δώσουν σπέρματα όταν αυτογονιμοποιηθούν ή όταν διασταυρωθούν με γενετικά, στενά συγγενή φυτά. Ο όρος αυτός προτάθηκε από τον Stout (1917) (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) αντί για τον μέχρι τότε χρησιμοποιούμενο αυτοστεριρότητα και υιοθετήθηκε μετά το 1940 από όλους τους ερευνητές. Το φαινόμενο του ασυμβιβάστου είχε παρατηρηθεί ήδη από την εποχή του Δαρβίνου (1876) (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) αλλά οι πρώτες απόπειρες γενετικής εξήγησης του μηχανισμού του βασίστηκαν σε πάνω από 10 χρόνια μελέτης του συστήματος στο καλλωπιστικό φυτό Nicotiana allata και παρουσιάστηκαν το 1925 από τους East και Mangelsdorf (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989).

Το ασυμβίβαστο είναι ένα γνώρισμα που απαντάται σε μεγάλο αριθμό φυτικών ειδών. Παρατηρείται σε περισσότερες από εβδομήντα οικογένειες και διακόσια πενήντα γένη των αγγειοσπέρμων (de Nettancourt, 1977, Heslop - Harrison, 1983, αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) ανάμεσα στα οποία περιλαμβάνονται πάνω από είκοσι μεγάλης οικονομικής σημασίας. Εκδηλώνεται αμέσως μετά τη μεταφορά της γύρης πάνω στο στίγμα ενός άνθους και κατά τη διάρκεια της αλληλεπίδρασης της γύρης με το σποροφυτικό ιστό του υπέρου. Θεωρείται ως ο κυριώτερος μηχανισμός αναγκαστικών διασταυ-

ρώσεων και διαρκούς ανταλλαγής γενετικού υλικού ανάμεσα στα άτομα ενός πληθυσμού. Παράλληλα με άλλους μηχανισμούς που αποτρέπουν την αυτογονιμοποίηση ενός φυτικού ατόμου, όπως η διχογαμία, η παρουσία δίοικων ατόμων σε ορισμένα είδη ή ο ανθικός ετερομορφισμός συντελεί στην επικράτηση ενός ελεγχόμενου βαθμού ετεροζυγωτίας σ'έναν πληθυσμό (Heslop - Harrison, 1975, αναφορά από Τσιράκογλου 1989).

Ανάλογα με το βαθμό ανάπτυξης των γυρεοσωλήνων στο στύλο των ανθέων μια ποικιλία χαρακτηρίζεται ως πλήρως ασυμβίβαστη, μερικώς αυτο-ασυμβίβαστη ή μερικώς αυτογόνιμη και πλήρως συμβιβαστή ή αυτογόνιμη. Υπάρχει και το σταυρο-ασυμβίβαστο όταν υπάρξει αποτυχία γονιμοποίησης κατά την επικονίαση μιας ποικιλίας με γύρη άλλης ποικιλίας.

Το ασυμβίβαστο παρουσιάζεται με διαφορετικό τρόπο τόσο μεταξύ των διαφόρων οπωροφόρων ειδών όσο και μεταξύ των διαφόρων ποικιλιών κάθε είδους. Στην κερασιά και στην αμυγδαλιά οι περισσότερες ποικιλίες είναι αυτο-ασυμβίβαστες, υπάρχουν όμως και ποικιλίες μερικώς αυτο-ασυμβίβαστες. Εξαίρεση των παραπάνω αποτελούν για μεν την κερασιά η ποικιλία "Stella" ως αυτογόνιμη για δε την αμυγδαλιά η ποικιλία "Truoiτο" ως μερικώς αυτογόνιμη. Η βυσσινιά η οποία προέρχεται από διπλασιασμό των χρωμοσωμάτων της κερασιάς και επομένως είναι αυτοτετραπλοειδής, εμφανίζεται ως μερικώς αυτο-ασυμβίβαστη. Στη δαμασκηνιά υπάρχουν ποικιλίες που καλύπτουν όλες τις διαβαθμίσεις ασυμβίβαστου ενώ στη ροδακινιά και βερικοκκιά το σύνολο σχεδόν των ποικιλιών είναι αυτογόνιμες στην πράξη (με εξαίρεση

ορισμένες ποικιλίες όπως οι "Hale" και "Honey Dew Hale" οι οποίες παράγουν άγονη γύρη. Αρκετά πολύπλοκο εμφανίζεται το ασυμβίβαστο στα γιγαρτόκαρπα μηλιά και αχλαδιά. Στη μηλιά, τα 3/4 των ποικιλιών είναι αυτο-ασυμβίβαστες ενώ το υπόλοιπο 1/4 αυτών είναι μερικώς-συμβιβαστές. Εμφανίζεται ακόμη και σταυρο-ασυμβίβαστο αλλά είναι σπάνιο. Στην αχλαδιά οι διπλοειδείς ποικιλίες είναι πλήρως ή μερικώς αυτο-ασυμβίβαστες. Οι τριπλοειδείς ποικιλίες μηλιάς και αχλαδιάς εκτός από το πρόβλημα του ασυμβίβαστου παρουσιάζουν και γενετική στειρότητα στη γύρη τους λόγω της τριπλοειδίας τους.

1β. Η γενετική βάση του ασυμβίβαστου

Το ασυμβίβαστο είναι κληρονομούμενο γνώρισμα που καθορίζεται από τη δράση γονιδίων. Σύμφωνα με αρκετούς ερευνητές (Pandey, 1962, Lundovist, 1965, Mulcahy κ.α, 1983, αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) τα συστήματα ασυμβίβαστου ελέγχονται σε πολλές φυτικές οικογένειες από ένα μόνο γονίδιο με μία μεγάλη σειρά από πολλαπλά αλληλόμορφα που συμβολίζονται με το γράμμα S.

Το ασυμβίβαστο εκδηλώνεται με αναστολή της αύξησης του αρσενικού γαμετόφυτου που φέρει ένα συγκεκριμένο αλληλόμορφο μέσα σε στύλο που φέρει το ίδιο αλληλόμορφο. Αυτό είναι γνωστό σαν η υπόθεση του ανταγωνιστικού παράγοντα ή απώθησης του ομοίου που διατυπώθηκε για πρώτη φορά από τους East και Mangelsdorf (1925) (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989). Συνεπώς φυτό με γενετική σύσταση $S_1 S_2$ δεν

μπορεί να γονιμοποιηθεί από τη δική του γύρη ή άλλη γύρη που φέρει είτε το S_1 ή το S_2 αλληλόμορφο, ενώ είναι δυνατή η γονιμοποίηση του από γύρη που φέρει οποιοδήποτε άλλο από S_3 μέχρι S_n αλληλόμορφο.

Το 1965, ο Lewis, πρότεινε με βάση την περιοχή αναστολής του γυρεοσωλήνα στο στύλο, διάκριση του ασυμβιβαστού σε γαμετοφυτικό και σποροφυτικό τύπο. Στον γαμετοφυτικό τύπο ασυμβιβαστού ανήκουν οι οικογένειες Leguminosae, Solanaceae, Graminae, Liliaceae και Rosaceae. Στον τύπο αυτό η αντίδραση γύρης/υπέρου καθορίζεται γενετικά από το απλοειδές γονίωμα κάθε γυρεοκόκκου και το διπλοειδές γονίωμα του υπέρου. Ο μηχανισμός για αναγνώριση, εξάλλου, επενεργεί για να δεχθεί ή να απορρίψει τη γύρη κατά το χρονικό διάστημα που αυξάνεται ο γυρεοσωλήνας διαμέσου των ιστών του στύλου, έτσι στους ασυμβίβαστους συνδυασμούς ο γυρεοσωλήνας βλαστάνει πολύ σιγά, ενώ στους συμβιβαστούς συνδυασμούς η ταχύτητα αυξήσεως του γυρεοσωλήνα είναι μεγάλη και η κορυφή του γυρεοσωλήνα φθάνει στον εμβρυόσακο σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Στο σποροφυτικό τύπο ασυμβίβαστου η αντίδραση της γύρης καθορίζεται όχι από το γενότυπο του γυρεόκοκκου αλλά από το γενότυπο του φυτού (του σπορόφυτου) από το οποίο παράγεται. Διακρίνεται, εξάλλου, σε δύο επιμέρους τύπους, τον ετερομορφικό και τον ομομορφικό με βάση τη μορφολογία του άνθους. Στον τύπο αυτό ασυμβίβαστου ανήκουν οι οικογένειες Cruciferae, Compositae. Σε αντίθεση με το γαμετοφυτικό τύπο, ο μηχανισμός αναγνώρισεως λειτουργεί γρήγορα

μόλις ο γυρεόκοκκος έλθει σε επαφή με το στίγμα και η αντίδραση εκδηλώνεται αμέσως εμποδίζοντας τη βλάστηση της γύρης.

1γ. Η φυσιολογία του ασυμβίβαστου

Από κυτταρολογικές μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι το ασυμβίβαστο μπορεί να εκφραστεί κατά τρεις τρόπους :

- (1) μειώνεται το ποσοστό της γύρης που βλαστάνει
- (2) οι γυρεόκοκκοι βλαστάνουν κανονικά αλλά οι προβολές τους παρεμποδίζονται και δεν προχωρούν μέσα στο στύλο
- (3) οι προβολές αναπτύσσονται κανονικά, οι γαμέτες φτάνουν στη σπερμοβλάστη αλλά δεν παράγεται σπόρος.

Φαίνεται ότι σε αρκετές από τις περιπτώσεις του ασυμβίβαστου παρατηρείται μία ανοσιολογική αντίδραση.

Στα μπρόκολα παρατηρείται μειωμένη βλάστηση της γύρης. Η αντίδραση του ασυμβίβαστου παρατηρείται στο στίγμα. Μερική ή ολική απομάκρυνση ή και τραυματισμός του στίγματος, οδηγεί σε κανονική γονιμοποίηση.

Στο γένος Nicotiana η γύρη βλαστάνει κανονικά στις περιπτώσεις αυτογονιμοποίησης αλλά παρεμποδίζεται μερικά η ανάπτυξη της προβολής της καθώς διαπερνά το στίγμα. Επακολουθεί βραδεία ανάπτυξη της προβολής μέχρι που πέφτει το άνθος γιατί δεν έγινε η γονιμοποίηση. Σε μερικά είδη, η καθυστέρηση παρατηρείται αφού η προβολή έχει ξεπεράσει το μισό στύλο ενώ σε άλλα είδη παρατηρείται διάρρηξη της προβολής προτού να φτάσει στο τέλος του στύλου.

Η τρίτη περίπτωση (το ασυμβίβαστο παρατηρείται μετά

τη γονιμοποίηση) έχει μελετηθεί στο γένος Gasteria. Στην περίπτωση αυτή το ενδοσπέρμιο αρχίζει να αποδιοργανώνεται όταν βρίσκεται στο στάδιο των δύο πυρήνων και το έμβρυο στο στάδιο του ενός πυρήνα. Η αποδιοργάνωση αρχίζει στους χιτώνες και συνεχίζεται από εκεί και πέρα σα να μην έχει γίνει γονιμοποίηση.

Στο γαμετοφυτικό ασυμβίβαστο, η γύρη βλαστάνει ανεξάρτητα από το γενότυπο της και η προβολή της διαπερνά το στίγμα και αρχίζει να προχωρεί μέσα στο στύλο. Όταν ισχύουν οι συνθήκες για το ασυμβίβαστο, τότε η κορυφή της προβολής της γύρης παχύνεται και εναποτίθεται καλόζη με αποτέλεσμα τη διάρρηξη της προβολής. Στο σποροφυτικό ασυμβίβαστο, η παρεμπόδιση της γονιμοποίησης παρατηρείται στο στίγμα και συχνά συνοδεύεται από την εναπόθεση καλλόζης στα στιγματικά κύτταρα.

Όσον αφορά στο μηχανισμό δράσης των γόνων του ασυμβίβαστου υπάρχουν δύο θεωρίες. Σύμφωνα με την πρώτη το γονίδιο S παράγει την ίδια πρωτεΐνη στη γύρη και στο στίγμα. Όταν τα δύο αυτά μόρια ενωθούν παράγουν ένα διμερές προϊόν που οδηγεί στο ασυμβίβαστο. Σύμφωνα με τη δεύτερη θεωρία το γονίδιο S παράγει δύο διαφορετικά αλλά συμπληρωματικά προϊόντα στη γύρη και στο στύλο. Το προϊόν αυτό στη μεν προβολή της γύρης βρίσκεται στα τοιχώματα των κυττάρων ενώ στο στίγμα και στο στύλο εκκρίνεται στον εξωκυτταρικό χώρο.

18. Επίδραση ορισμένων παραγόντων στην εκδήλωση του ασυμβίβαστου.

Η αναπαραγωγική διαδικασία μετά την επικονίαση του άνθους (βλάστηση γύρης, αύξηση γυρεοσωλήνων) έχει δειχθεί ότι παρουσιάζει μία εξάρτηση από τις επικρατούσες κλιματικές συνθήκες και ιδιαίτερα τη θερμοκρασία. Σχετικά με τη βλάστηση της γύρης από τους Godini κ.α (1987) (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) βρέθηκε ότι γύρη από ποικιλίες αμυγδαλιάς μπορούσε να βλαστήσει in vitro ικανοποιητικά στους 5 °C αλλά μετά από παρέλευση 24 ωρών, ενώ το άριστο της βλαστικότητας σημειώθηκε σε θερμοκρασία μεταξύ 15 και 20 °C. Ανάλογα αποτελέσματα αναφέρθηκαν από τους Weinbaum κ.α (1984) (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) όπου τα μεγαλύτερα ποσοστά βλάστησης επιτεύχθηκαν για γύρη αμυγδαλιάς σε περίπου 16 °C και για γύρη ροδακινιάς στους 25 °C, ενώ υπερείχε το ποσοστό βλάστησης στην αμυγδαλιά σε σχέση με τη ροδακινιά όταν η θερμοκρασία ήταν μικρότερη των 9 °C.

Σημαντικός φαίνεται επίσης ο ρόλος της θερμοκρασίας στην μετά την βλάστηση αύξηση και διεύδυση μέσα στο στύλο συμβιβαστών ή μη γυρεοσωλήνων. Σύμφωνα με τον Griggs κ.α (1975) (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) οι σχετικές έρευνες σε διάφορα είδη οπωροφόρων έδειξαν ικανοποιητική αύξηση των γυρεοσωλήνων σε θερμοκρασίες κυμαινόμενες μεταξύ 15.6 και 21.1 °C και για τις ποικιλίες αμυγδαλιάς Nonpareil και "Texas" μεταξύ 10 και 15 °C κατά τους Weinbaum κ.α (1984) (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) η μέγιστη in vitro επιμήκυνση των γυρεοσωλήνων στην αμυγδαλιά παρουσιάσθηκε μεταξύ

21 και 24 °C, ενώ κατά τους Socias i Compani κ.α (1976) (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) στην ποικιλία αμυγδαλιάς "Ne Plus Ultra" οι άριστες θερμοκρασίες για την αύξηση των γυρεοσωλήνων ήταν 15 °C μετά από αυτό και 25 °C μετά από σταυρεπικονίαση. Για την ποικιλία αμυγδαλιάς "Truóito" η αύξηση των γυρεοσωλήνων ήταν παρόμοια στους 20 και 25 °C σε στύλους που αυτο- και σταυρεπικονιάσθηκαν, ενώ η άριστη θερμοκρασία βρισκόταν ανάμεσα σ'αυτά τα όρια (Vasilakakis και Porlingis, 1984). Από τους ίδιους ερευνητές βρέθηκε αναστολή της αύξησης των γυρεοσωλήνων στους μισούς περίπου αυτεπικονιασθέντες στύλους της ποικιλίας "Truóito" σε θερμοκρασία 30 °C.

Από τους Raff κ.α (1982) (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) αναφέρθηκε επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό αύξησης και τη διείσδυση των ασυμβίβαστων γυρεοσωλήνων μέσα σε στύλους κερασιάς και μάλιστα αυξημένη διείσδυση γυρεοσωλήνων μετά από αυτεπικονίαση σε χαμηλές θερμοκρασίες. Επίσης σύμφωνα με τους Raff κ.α (1981) (αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) η ακριβής περιοχή του στύλου όπου ανακόπτεται η παραπέρα αύξηση των ασυμβίβαστων γυρεοσωλήνων ποικίλει ανάλογα με την εξωτερική θερμοκρασία. Από τη θερμοκρασία επηρεάζεται στην κερασιά και ο χρόνος εισόδου του γυρεοσωλήνα στη μικροπύλη (Guerrero - Prieto κ.α 1985, αναφορά από Τσιράκογλου, 1989) έπειτα από επικονίαση της ποικιλίας "Napoleon" με συμβιβαστή γύρη τη ποικιλίας "Bada", οπότε παρατηρήθηκε καθυστέρηση όταν η θερμοκρασία ήταν 10 °C.

Το μήκος που αποκτούν οι γυρεοσωλήνες μπορεί να επηρεασθεί επίσης και από τις θερμοκρασίες που επικρατούν στην περίοδο της ανάπτυξης της γύρης και του στύλου. Τέλος, σημαντική συμμετοχή στη συμπεριφορά των ασυμβίβαστων γυρεοσωλήνων μέσα στο στύλο μπορεί να έχει και η ηλικία του στύλου, ιδιαίτερα όταν επικονιάζονται άνθη των οποίων το στίγμα και ο στύλος δεν είναι τελείως ώριμα ή όταν τα άνθη αυτά βρίσκονται κοντά στο γηρασμό (Ascher και Pelouquin, 1966, αναφορά από Τσιράκογλου, 1989). Δοκιμές με ανώριμους στύλους δεν παρουσίασαν διαφορές ως προς το φαινόμενο του ασυμβίβαστου ανάμεσα σε αυτο- και σταυρεπικονίαση, ενδεικτικό του ότι είναι δυνατόν ασυμβίβαστοι γυρεοσωλήνες να αυξάνονται σε ανώριμους στύλους (Van Herpen, 1981, αναφορά από Τσιράκογλου, 1989).

Στην πτυχιακή αυτή διατριβή επιχειρήθηκαν δύο πράγματα :

- i) μελέτη του ασυμβίβαστου και εξέταση της ανάπτυξης των γυρεοσωλήνων στους στύλους ειδικά μεταχειρισμένων ανθέων, επικονιασθέντων στο εργαστήριο και αποθηκευμένων σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες. Το πείραμα διεξήχθη κατά τα έτη 1993 και 1994 και χρησιμοποιήθηκαν οι ποικιλίες "Golden Delicious", "Imperial", "Mutsu" και "Starking No 2".
- ii) υπολογισμός της γονιμότητας και της βλαστικής ικανότητας της γύρης των πιο σημαντικών ποικιλιών μηλιάς που εμφανίζονται στην Ελλάδα και πως επηρεάζονται μετά από αποθήκευση 1 και 2 χρόνων σε χαμηλές θερμο-

κρασίες. Χρησιμοποιήθηκε γύρη ορισμένων βασικών ποικιλιών μηλιάς συλλεχθείσα κατά τα έτη 1992, 1993 και 1994.

2. Επικονίαση – Γονιμοποίηση

Στα περισσότερα είδη οπωροφόρων η επικονίαση και η γονιμοποίηση είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την καρποφορία τους. Αν για οποιοδήποτε λόγο δε γίνει επικονίαση και στη συνέχεια γονιμοποίηση, η αύξηση της ωοθήκης διακόπτεται και το άνθος πέφτει μετά την πτώση των πετάλων μέσα σε λίγες ημέρες. Η επικονίαση με τη γονιμοποίηση και η κανονική εξέλιξη του ζυγώτη φαίνεται να δρα ως ερέθισμα στην ανάπτυξη του εμβρυόσاکου και των ιστών που βρίσκονται κοντά στα σπέρματα. Το ερέθισμα από τη γονιμοποίηση μεταδίδεται και στους γειτονικούς ιστούς της ωοθήκης ή και στους ιστούς της ανθοδόχης και αρχίζει να σχηματίζεται ο καρπός.

Κατά την επικονίαση γύρη μεταφέρεται από τον ανθήρα ενός άνθους στο στίγμα του ίδιου ή άλλου άνθους. Η γύρη αποτελείται από γυρεοκόκκους οι οποίοι περιέχουν τους χαρακτήρες του αρσενικού γαμέτη. Οι γυρεόκοκκοι παράγονται με μικροσπορογένεση στις δύο σειρές γυρεοσάκων που εντοπίζονται σε κάθε λοβό των ανθέρων. Από πολύ νωρίς εμφανίζεται μέσα στους γυρεόσακους μια μάζα μεριστωματικών κυττάρων. Από τα κύτταρα αυτά διαφοροποιούνται νωρίς τα μητρικά κύτταρα των γυρεοκόκκων, κάθε ένα από τα οποία παράγει με δύο διαδοχικές διαιρέσεις μια τετράδα κυττάρων, τα μικροσπόρια. Στα περισσότερα φυλλοβόλα οπωροφόρα το στάδιο αυτό των κυτταροδιαιρέσεων και ο σχηματισμός μικροσπορίων ολοκληρώνεται από το φθινόπωρο ως τις αρχές του χειμώνα. Κάθε μικροσπόριο έχει απλοειδή αριθμό χρωμοσωμάτων, δηλαδή το

1/2 του αριθμού των χρωμοσωμάτων των σωματικών κυττάρων. Τα μικροσπόρια καλύπτονται εξωτερικά από δύο στρώματα κυτταρικών τοιχωμάτων (intine και exine) και τα κύτταρα παίρνουν τη μορφή των γυρεοκόκκων. Παράλληλα χαλαρώνει ο ιστός που συνδέει τις δύο σειρές λοβών, ο ανθήρας σχίζεται κατά μήκος και αφήνεται να χυθεί η γύρη προς τα έξω για επικονίαση.

Ο ύπερος αποτελείται από το στίγμα όπου επικάθεται και βλαστάνει η γύρη, το στύλο μέσα στον οποίο αυξάνονται οι γυρεοσωλήνες και την ωοθήκη όπου συντελείται η διπλή γονιμοποίηση.

Το στίγμα που παρέχει την επιφάνεια υποδοχής της γύρης απαρτίζεται από λίγα ή πολλά επιδερμικά κύτταρα αδενικού τύπου που σχηματίζουν επιμήκεις μόνο - ή πολυκυτταρικές λοβοειδείς προεξοχές (θηλές) με επιφάνεια στο σύνολο επίπεδη ή κυματοειδή (Κnox, 1984, αναφορά από Τσιράκογλου, 1989). Τα στίγματα διακρίνονται σε αυτά του "ξηρού" τύπου με ένα λεπτό προσκολλητικό επίστρωμα στην περίοδο υποδεκτικότητάς τους και εκείνα του "υγρού" τύπου με ύπαρξη άφθονων ρευστών εκκρίσεων στο αντίστοιχο χρονικό διάστημα. Τον τύπο του υγρού στίγματος με λοβοειδή κύτταρα έχουν τα σπουδαιότερα γένη των οπωροφόρων δένδρων. Λίγο πριν την άνθιση εμφανίζονται ίχνη εκκρίσεων μέσα στις θηλές που αυξάνονται κατά τη διάρκεια της άνθισης σε ευδιάκριτη ποσότητα υγρών εκκρίσεων και καλύπτουν την επιφάνεια του στίγματος.

Τρεις τύποι στύλων (Κnox, 1984) έχουν περιγραφεί με βάση τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά :Ο ανοικτός όπου η διέλευση των αυξανόμενων γυρεοσωλήνων γίνεται από ένα ανοικτό κανάλι του στύλου γεμάτο με βλεννώδες υλικό, ο κλειστός που είναι συμπαγής και οι γυρεοσωλήνες περνούν μέσα από ένα σχηματιζόμενο ιστό μεταφοράς και ο ημί-κλειστός με ενδιάμεσα γνωρίσματα. Στον κλειστό τύπο στύλου, χαρακτηριστικό πολλών δικοτυλήδων και ανάμεσά τους ειδών της οικογένειας Rosaceae, τα κύτταρα του ιστού μεταφοράς εκκρίνουν το περιεχόμενό τους μέσα στους μεσοκυττάριους χώρους για να διαμορφώσουν την δίοδο μέσα στην οποία αυξάνονται οι γυρεοσωλήνες (Heslop - Harrison, 1983). Η δίοδος διακρίνεται σε δύο ζώνες, μια αρχική κοντά στο στίγμα που ονομάζεται λαιμός όπου φθάνουν οι γυρεοσωλήνες που έχουν περάσει το στίγμα και στη συνέχεια εκείνη του ιστού μεταφοράς του στύλου για την παραπέρα αύξησή τους (Κnox, 1984).

Η βλάστηση της γύρης επάνω στο στίγμα και η ανάπτυξη του γυρεοσωλήνα μέσα στους ιστούς του στύλου είναι λειτουργία με μεγάλη σημασία στη φυσιολογία της αναπαραγωγής των φυτών. Ο γυρεοσωλήνας πριν αφήσει τους σπερματικούς πυρήνες μέσα στον εμβρύοσακο αναπτύσσεται ως παράσιτο διαμέσου των ιστών του στύλου.

Μεταξύ της γύρης και των ιστών του στύλου αναπτύσσεται μια αλληλεπίδραση που εισάγει μηχανισμούς για αναγνώριση του γαμέτη και παρεμβάλλει ένα φράγμα για να παρεμποδισθούν ανεπιθύμητοι γυρεοσωλήνες να βλαστήσουν πολύ πριν

έλθουν σε στενή επαφή οι γαμέτες μέσα στον εμβρυόσακο (Heslop - Harrison, 1978, αναφορά από Σφακιωτάκη, 1987). Στην πραγματικότητα η αλληλεπίδραση αυτή αναπτύσσεται σε διάφορα στάδια :

- α. κατά τη βλάστηση της γύρης επάνω στο στίγμα
- β. κατά τη βλάστηση του γυρεοσωλήνα δια μέσου των ιστών του στύλου και
- γ. κατά την είσοδο της κορυφής του γυρεοσωλήνα και την απελευθέρωση των σπερματικών πυρήνων μέσα στον εμβρυόσακο.

Κατά το πρώτο στάδιο για να βλαστήσει η γύρη είναι απαραίτητο μετά την επαφή της με το στιγματικό υγρό να βρει ευνοϊκούς παράγοντες. Το στιγματικό υγρό με διάφορες ουσίες που περιέχει δρα οσμωτικώς στη διόγκωση του γυρεόσακου και με ένζυμα που περιέχει διευκολύνει τη διαλυτοποίηση του εξωτερικού στρώματος των γυρεοκκόκων και αρχίζει να σχηματίζεται η προβολή του γυρεοσωλήνα. Μετά το σχηματισμό της προβολής της γύρης ο γυρεοσωλήνας πρέπει να περάσει το στρώμα της εφυμενίδας και να μπει μέσα στους ιστούς του στύλου που οδηγούν στην σπερμοβλάστη.

Κατά το στάδιο της βλάστησης του γυρεοσωλήνα μέσα στους ιστούς του στύλου ο γυρεόκοκκος αφού εξαντλήσει τα δικά του θρεπτικά αποθέματα προσλαμβάνει τις απαραίτητες ουσίες από τα γειτονικά κύτταρα και με την αύξηση του γυρεοσωλήνα καλύπτει την απόσταση από το στίγμα ως τη σπερμοβλάστη.

Κατά το τρίτο στάδιο, μετά το τέλος της διαδρομής του

γυρεοσωλήνα η κορυφή του οδηγείται χημοτακτικά στη μικρο-
πύλη και ύστερα αφήνει τους σπερματικούς πυρήνες μέσα στον
εμβρυόσακο.

Οποιαδήποτε ανωμαλία κατά την έκβαση των τριών στα-
δίων έχει σαν συνέπεια τη διακοπή στην όλη πορεία της
γονιμοποίησης.

3. Παρατήρηση γύρεος και γυρεοσωλήνων με τη χρήση μικροσκοπίου φθορισμού

Η μικροσκοπική παρατήρηση γυρεοκκόκων όπως φαίνεται παρακάτω οδηγεί στην εξαγωγή συμπερασμάτων ως προς τη γονιμότητα και τη βλαστικότητα της. Επίσης συμβάλλει στην εξέταση των αυξανόμενων γυρεοσωλήνων μέσα στο στύλο κατά συνέπεια στη μελέτη του ασυμβιβάστου. Φυσικά αυτά επιτυγχάνονται με την εφαρμογή κατάλληλης τεχνικής.

Η καλλόζη είναι ένας πολυσακχαρίτης που εμφανίζεται σε πολλά φυτικά όργανα μεταξύ των οποίων και στους γυρεόκοκκους και στους γυρεοσωλήνες (Courrier, 1957). Εντοπίζεται στα κυτταρικά τοιχώματα με άχρωμη, άμορφη και ζελατινώδη μορφή και αποτελείται κυρίως από 1,3-β-γλυκάνες.

Στη διάρκεια της ενυδάτωσης και βλάστησης της γύρης συμβαίνει γρήγορη σύνθεση και εναπόθεση καλλόζης στα τοιχώματα των αυξανόμενων γυρεοσωλήνων, πράγμα που δεν παρατηρείται στον υπόλοιπο ιστό του στύλου (Heslop - Harrison, 1978). Στους γυρεοσωλήνες εναποτίθεται ακανόνιστα και σχηματίζει την εσωτερική από τις δύο στοιβάδες που αποτελούν το τοίχωμά τους (αντίδραση καλλόζης). Επιπρόσθετα εμφανίζονται συσσωρεύσεις καλλόζης και στο άκρο του γυρεοσωλήνα που καταλήγουν σε διάρρηξή του ύστερα από επικοινωνία με ασυμβίβαστη γύρη (Dumas και Knox, 1983, αναφορά από Τσιράκογλου, 1989). Ως προς τον πιθανό ρόλο της καλλόζης, που παραμένει ανεξακρίβωτος, έχουν διατυπωθεί αρκετές θεωρίες. Σύμφωνα με ορισμένες από αυτές που έχουν ανασκοπηθεί από τους Dumas και Knox (1983) η καλλόζη ή προλαβαίνει την

αφυδάτωση των ιστών με τον έλεγχο της ισορροπίας του κυτταρικού νερού, ή κινητοποιεί εφεδρικούς υδατάνθρακες ή παίρνει μέρος σε αμυντικές αντιδράσεις ή λόγω του σχηματισμού της καταναλώνει θρεπτικά στοιχεία στερώντας τα από τον αυξανόμενο γυρεοσωλήνα. Επίσης πιθανόν συνδέεται με φυσιολογικό ρόλο στην αύξηση του γυρεοσωλήνα δια μέσου της διατάραξης της ισορροπίας των ενζύμων που συντηρούν την επιμήκυνση του άκρου του γυρεοσωλήνα.

Η παρατήρηση των γυρεοκόκκων και των γυρεοσωλήνων στο μικροσκόπιο γίνεται μετά από χρώση της καλλόζης με ανιλίνη μπλε. Η ανιλίνη μπλε είναι ένα διάλυμα γνωστό από τον Wilhelm, 1880 (αναφορά από Currier, 1957) ειδικό να χρωματίζει την καλλόζη και να της δίνει ένα καθαρό και γυαλιστερό μπλε χρώμα.

Η χρήση του μικροσκοπίου φθορισμού για τη μελέτη της καλλόζης παρουσιάστηκε από τον Arens (1949) (αναφορά από Currier, 1957) που ανέφερε ότι η παρουσία της καλλόζης στους γυρεοκόκκους, γυρεοσωλήνες και στα μυκήλια πολύ καθαρά αποκαλύπτεται μετά από χρωματισμό της με ένα αμμωνιακό διάλυμα της υδατοδιαλυτής ανιλίνης μπλε και παρατήρηση σε UV. Η μέθοδος επεκτάθηκε από τον Fidalgo (1954) (αναφορά από Currier, 1957). Εξάλλου, η μέθοδος φθορισμού είναι πολύ πιο ευαίσθητη από τον ορατό χρωματισμό σε συνηθισμένο φως.

1'. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

1. Επίδραση της θερμοκρασίας στο ασυμβίβαστο της μηλιάς

1.1. Φυτικό Υλικό

Χρησιμοποιήθηκαν δένδρα μηλιάς ηλικίας 12 ετών (*Malus x domestica* Borkh). Τα δένδρα ανήκαν στις ποικιλίες "Mutsu", "Golden Delicious", "Imperial" και "Starking No 2" φυτευμένες στους οπωρώνες του Ινστιτούτου Φυλλοβόλων Δένδρων Νάουσας. Κάθε παραπάνω ποικιλία βρίσκονταν εμβολιασμένη πάνω σε υποκείμενο M7.

Και οι τέσσερις ποικιλίες είναι διαδεδομένες και εμπορικά καλλιεργούμενες και έχουν διαφορά μόνο λίγων ημερών στο χρόνο άνθησης. Από την άποψη του ασυμβιβάστου η "Golden Delicious" είναι μερικώς αυτογόνιμη ενώ η "Starking No 2", η "Imperial" και η "Mutsu" είναι αυτόστειρες.

Από τις προαναφερθέντες ποικιλίες μόνο η "Mutsu" είναι τριπλοειδής ενώ οι υπόλοιπες τρεις είναι διπλοειδείς. Αυτό σημαίνει ότι η "Mutsu" παράγει γαμέτες που δεν είναι εξισορροπημένοι, πράγμα που έχει ως αποτέλεσμα και τη στειρότητά της (το ποσοστό των εξισορροπημένων γαμετών δεν ξεπερνά ποτέ το 1%).

Η "Starking" είναι ο πιο δημοφιλής Standard κλώνος της "Red Delicious", λόγω των εξαιρετικών ποιοτικών χαρακτηριστικών του. Προέκυψε από σωματική μεταλλαγή οφθαλμού της "Delicious" και δόθηκε στην καλλιέργεια το 1924. Η "Starking No 2" είναι επιλογή της "Starking" που έγινε με

βάση το κόκκινο επίχρωμα του καρπού.

Η "Golden Delicious" προέκυψε σαν τυχαίο σπορόφυτο και δόθηκε στην καλλιέργεια το 1914.

Η "Imperial" προέκυψε από σωματική μεταλλαγή της "Starking Delicious" και δόθηκε στην καλλιέργεια το 1957.

Η "Mutsu", τέλος, δημιουργήθηκε από διασταύρωση των ποικιλιών "Golden Delicious" x "Indo".

1.2. Συλλογή ανθέων - Τεχνητή επικονίαση

Η συλλογή ανθέων πραγματοποιήθηκε στην περίοδο ανθοφορίας των δύο ποικιλιών και στις δύο διαδοχικές χρονιές 1993-1994. Επιλέχθηκαν άνθη που βρίσκονταν σε μονοετείς και διετείς βλαστούς στην περιφέρεια κυρίως της κόμης και σε παρόμοιο ύψος 2-3 δένδρων για κάθε ποικιλία. Τα άνθη αυτά συλλέγονταν όταν ακόμη οι στύλοι και οι ανθήρες τους ήταν προφυλαγμένοι και τα πέταλα μόλις άρχιζαν να χωρίζουν (στάδιο "μπαλονιού"). Για τη μετάβασή τους από τον αγρό στο εργαστήριο αποθηκεύονταν σε πλαστικές σακκούλες και σε σκιερό μέρος με σκοπό την αποφυγή της αφυδάτωσης.

Στο εργαστήριο ακολουθούσε η προετοιμασία των ανθέων για την τεχνητή επικονίαση. Πρώτα γίνονταν η αποπετάλωσή τους και στη συνέχεια η αποστημόνωσή τους με ειδική λαβίδα και προσεκτικά για αποφυγή καταστροφής ενός ή περισσότερων στύλων. Αποστημόνωση πραγματοποιούνταν μόνο στις περιπτώσεις εκείνες που ακολουθούσε επικονίαση των ανθέων με γύρη άλλης ποικιλίας.

Τα αποπεταλωμένα και ευνουχισμένα άνθη στη συνέχεια

τοποθετούνταν προσεκτικά μέσα σε πλαστικά κουτιά σε ειδικά προετοιμασμένες θέσεις (οπέδες) πάνω σε υγρή "Οαση" και ακολουθούσε επικονίασή τους με γύρη άλλης ή της ίδιας ποικιλίας που είχε συλλεχθεί είτε κατά το προηγούμενο είτε κατά το ίδιο έτος. Για την εργασία της επικονίασης, εξάλλου, χρησιμοποιήθηκε ειδικό μικρών διαστάσεων πινέλο, το οποίο μεταξύ δύο διαδοχικών επικονιάσεων τοποθετούνταν σε δοχείο με αλκοόλη και αφήνονταν να στεγνώσει ώστε νεκρώνονταν γυρεόκοκκοι της προηγούμενης ποικιλίας και μειώνονταν οι πιθανότητες λάθους αποτελεσμάτων. Ακολουθούσε κλείσιμο των κουτιών με ειδικά καπάκια και αποθήκευσή τους σε θαλάμους με ελεγχόμενη θερμοκρασία.

Μετά την περίοδο επώασης που αναφέρθηκε τα άνθη απομακρύνονταν από την "Οαση" και αφού ξεπλένονταν εμβαπτίζονταν σε προσηλωτικό διάλυμα FAA (40% φορμαλδεΰδη : οξεικό οξύ : 70% αιθανόλη σε αναλογία 5:5:90 ml αντίστοιχα), αφαιρούνταν ο αέρας του διαλύματος σε αντλία κενού και εκεί συντηρούνταν μέχρι τη χρησιμοποίησή τους.

Πιο συγκεκριμένα :

1993

Οι παραπάνω εργασίες πραγματοποιήθηκαν κατά το χρονικό διάστημα από 16 έως 23 Απριλίου και με την εξής σειρά

1. Συλλογή 120 ανθέων από τις ποικιλίες "Golden Delicious", "Mutsu", "Imperial", "Starking No 2" - Αποπετάλωση - Αποστημόνωση.
2. Τοποθέτησή τους σε πλαστικά κουτιά με υγρή "Οαση".
3. Τεχνητή επικονίαση των ποικιλιών με γύρη από τις

ποικιλίες "Golden Delicious" και "Imperial" ως εξής

Imperial x Golden Delicious

Starking No 2 x Golden Delicious

και

Mutsu x Imperial

Golden x Imperial

4. Αποθήκευση των κουτιών στις εξής θερμοκρασίες :
 - α. 10 °C (σχετική υγρασία : 60%)
 - β. 18 °C (σχετική υγρασία : 66.5%)
 - γ. 25 °C με όχι ελεγχόμενη σχετική υγρασία.
5. Αφαίρεση των επικονιασθέντων ανθέων από τις προαναφερθείσες θερμοκρασίες (1/3 αυτών κάθε δύο ημέρες και εμφάπτισή τους στο προσηλωτικό διάλυμα FAA. Ακολουθούσε απαέρωση του διαλύματος για διευκόλυνση εισόδου του στους εσωτερικούς ιστούς.

Σημειώνεται ότι το 1993 πλήρης ανθοφορία επιτεύχθηκε στις 19-20 Απριλίου ακριβώς δηλαδή την περίοδο διεξαγωγής του πειράματος.

1994

Το 1994 η διαδικασία συλλογής ανθέων και τεχνητής επικονιάσεώς τους πραγματοποιήθηκε από τις 11 Απριλίου και για χρονική περίοδο μιας εβδομάδας. Η έναρξη ανθοφορίας τη χρονιά αυτή εντοπίσθηκε στις 7-8 Απριλίου.

1. Συλλογή 120 ανθέων (στάδιο "μπαλονιού") από τις ποικιλίες "Golden Delicious", "Mutsu", "Imperial", "Starking No 2" - Αποπελάτωση, αποστημόνωση τους.
2. Τοποθέτησή τους σε πλαστικά κουτιά με υγρή "Οάση".

3. Τεχνητή επικονίασή τους με γύρη των ίδιων ποικιλιών
ως εξής :

| | | |
|--------|---|---------------|
| Golden | x | Mutsu |
| Golden | x | Starking No 2 |
| Golden | x | Golden |
| Golden | x | Imperial |

| | | |
|-------|---|---------------|
| Mutsu | x | Mutsu |
| Mutsu | x | Starking No 2 |
| Mutsu | x | Golden |
| Mutsu | x | Imperial |

| | | |
|----------|---|---------------|
| Imperial | x | Mutsu |
| Imperial | x | Starking No 2 |
| Imperial | x | Golden |
| Imperial | x | Imperial |

| | | |
|---------------|---|---------------|
| Starking No 2 | x | Mutsu |
| Starking No 2 | x | Starking No 2 |
| Starking No 2 | x | Golden |
| Starking No 2 | x | Imperial |

4. Αποθήκευση των κουτιών στις εξής θερμοκρασίες :
5 °C, 18 °C και 25 °C σε μη ελεγχόμενη σχετική
υγρασία.
5. Αφαίρεση των επικονιασθέντων ανθέων από τις παραπάνω
θερμοκρασίες σε δύο χρονικές περιόδους (το 1/2 αυτών

κάθε δύο ημέρες) και εμβάπτισή τους στο προσηλωτικό διάλυμα FAA μέχρι να εξετασθούν στο μικροσκόπιο.

3.3. Προετοιμασία των δειγμάτων

Οι στύλοι κάθε δείγματος εξετάσθηκαν στο μικροσκόπιο ύστερα από κατάλληλη προετοιμασία. Πρώτα απομακρύνονταν τα άνθη από το διάλυμα φιξαρίσματος FAA και αφού ξεπλένονταν με άφθονο νερό για αρκετή ώρα εμβαπτιζόνταν σε υδατικό διάλυμα 4 N NaOH για 8-12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου για να μαλακώσουν οι ιστοί τους και να αφαιρεθούν εύκολα στη συνέχεια. Μετά το διάλυμα NaOH τα άνθη ξεπλένονταν για μία ακόμη φορά με νερό βρύσης πολύ προσεκτικά και τοποθετούνταν σε διάλυμα χρωστικής για τουλάχιστον μισή ώρα. Ως χρωστική χρησιμοποιήθηκε 0.1% διάλυμα ανιλίνης μπλε. Επόμενο στάδιο ήταν η απομάκρυνση των ανθέων από το διάλυμα χρωστικής, η αφαίρεση των άχρηστων ιστών τους η τοποθέτησή τους σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλύπτρίδα και η παρατήρησή τους σε μικροσκόπιο φθορισμού.

Τη μέθοδο αυτή προετοιμασίας των δειγμάτων την ακολουθήσαμε τόσο το 1993 όσο και το 1994. Τη δεύτερη χρονιά όμως, λόγω μη ικανοποιητικών αποτελεσμάτων προχωρήσαμε σε μια ακόμη μέθοδο παρατήρησης δειγμάτων αυτή του Sodium Sulphate. Αρχικά απομακρύνονταν τα άνθη από το διάλυμα FAA και αφού ξεπλένονταν πάρα πολύ καλά με νερό βρύσης όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, τοποθετούνταν σε διάλυμα 5% Sodium sulphate. Ακολουθούσε εισαγωγή των δειγμάτων σε

κλίβανο στους 120 °C για 25 λεπτά. Μετά την εξαγωγή τους από τον κλίβανο απομακρύνονταν όλοι οι ιστοί των ανθέων εκτός από τους στύλους και την ωοθήκη που τοποθετούνταν σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Στο δείγμα αυτό εφαρμόζαμε 1-2 σταγόνες χρωστικής 0.1% ανιλίνης μπλε και τοποθετούσαμε την καλυπτρίδα συνθλίβοντας τους ιστούς των στύλων και αποκάλυπτοντας τους γυρεοσωλήνες. Κατόπιν αυτό το σύστημα αντικειμενοφόρος - δείγμα + χρωστική - καλυπτρίδα το περνούσαμε πάνω από φλόγα λύχνου Bunsen για να σταθεροποιήσουμε το δείγμα μας. Τέλος γίνονταν παρατήρηση του παρασκευάσματος στο μικροσκόπιο φθορισμού Leitz τύπου Laborlux S με φίλτρο BP 340-380 για ανιλίνη μπλε κάτω από υπεριώδες φως, σε μήκος κύματος μεταξύ 350 και 400 nm.

Σε κάθε εξεταζόμενο στύλο επιδιωκόμενος σκοπός ήταν η μέτρηση του αριθμού των γυρεοσωλήνων στο στίγμα και στη βάση του.

2. Τεστ ζωτικότητας - βλαστικότητας γύρης

Οι μετρήσεις της ζωτικότητας και της βλαστικότητας της γύρης είναι απαραίτητες προκειμένου να προχωρήσουμε στη διαδικασία της τεχνητής επικονίασης στο εργαστήριο. Μας ενδιαφέρει η γύρη που θα χρησιμοποιήσουμε να είναι υψηλής βλαστικής ικανότητας έτσι ώστε να επιτύχουμε τη μέγιστη δυνατή γονιμοποίηση.

Και στις δύο περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε γύρη των εξής ποικιλιών : "Imperial", "Golden", "Mutsu", "Prima", "Granny Smith", "Cox", "Φυρτίκι Σκύδρας", "Gala", "Wijcik", "Jdared", "M. Floribunda", "Starking No 2", "Nova Easy Grow" "Elstar", "Gloster", "Florina". Η γύρη αυτή είχε συλλεχθεί κατά τα έτη 1992, 1993, 1994.



2.1. Συλλογή - Προετοιμασία γύρης

Κατά την περίοδο της άνθησης των παραπάνω ποικιλιών συγκεντρώθηκαν από παρόμοιας ανάπτυξης δένδρα και βλαστούς άνθη στο στάδιο του "μπαλονιού". Τα άνθη αυτά στη συνέχεια αποπεταλώθηκαν, και ευνουχίστηκαν με τη βοήθεια ειδικής εργαστηριακής λεπίδας. Οι ανθήρες όμως τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri και αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο με ρεύμα αέρα θερμοκρασίας 35 °C. Μετά από την παραμονή μιας-δύο ημερών στις συνθήκες αυτές οι ανθήρες ήταν πλέον ώριμοι και με μια απλή ανατάραξη του τρυβλίου η γύρη προσκολλώνταν στα τοιχώματά του από όπου ένα μέρος της παραλαμβάνονταν με ειδικό πινέλο ενώ το υπόλοιπο παρέμενε στο τρυβλίο και διατηρούνταν στο ψυγείο σε πολύ χαμηλή θερμοκρασία μέχρι

τιν επόμενη χρησιμοποίησή της.

2.2. Μέθοδος μέτρησης ζωτικότητας γύρης ή μέθοδος του Sodium diacetate

Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης διάλυμα που παρασκευάσθηκε με τα εξής συστατικά.

- α. 40 mg ή 0.040 g Sodium diacetate
- β. 20 ml Ακετόνη
- γ. 3.4 g Ζαχαρόζη
- δ. Νερό

Σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα τοποθετήσαμε μια σταγόνα από το παραπάνω διάλυμα (μετά την ανάδευσή του) και με τη βοήθεια πινέλου μεταφέραμε μία μικρή ποσότητα γύρης από το τρυβλίο και την τινάξαμε πάνω στη σταγόνα. Τέλος καλύψαμε το δείγμα μας με μια καλυπτρίδα και είμασταν έτοιμοι για παρατήρηση στο μικροσκόπιο φθορισμού. Σε κάθε δείγμα μετρούσαμε τους γόνιμους γυρεόκοκκους οι οποίοι ήταν χρωματισμένοι κίτρινοι (λόγω της καλλόζης που περιέχουν και η οποία αλλάζει χρώμα παρουσία της ανιλίνης μπλε) και τους μη γόνιμους γυρεόκοκκους οι οποίοι διακρίνονταν λόγω του θαμπού κίτρινου χρώματός τους.

2.3. Μέθοδος μέτρησης βλαστικότητας γύρης

- Χρησιμοποιήθηκαν :
- Άγαρ 1%
 - 10% Ζαχαρόζη
 - 50 ppm βόριο
 - Τρυβλία Petri (διαμέτρου 30 mm)

Ίσρη συλλεγμένη κατά τα έτη 1992, 1993 και 1994 τοποθετήθηκε στο ανώτερο υπόστρωμα και στη συνέχεια σε κλίβανο θερμοκρασίας 25 °C για τέσσερις ώρες.

Μετά την περίοδο εκκόλαψης τα τρυβλία απομακρύνθηκαν από τον κλίβανο και ένα καπάκι τοποθετήθηκε στην επιφάνειά τους. Ακολούθησε παρατήρησή τους στο μικροσκόπιο με μεγένθυση μεγαλύτερη των 100.

Σε κάθε δείγμα μετρούσαμε τους γυρεοκόκκους οι οποίοι είχαν βλαστήσει δηλαδή είχαν αναπτύξει γυρεοσωλήνα ανεξαρτήτως μήκους.

Δ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Ασυμβίβαστο

Η παρακολούθηση και μέτρηση της αύξησης των γυρεοσωλήνων μέσα στους στύλους με τη χρήση μιας ορισμένης τεχνικής επιτρέπει την οπτική ανίχνευση της συμπεριφοράς των γυρεοσωλήνων που βλαστάνουν έπειτα από αυτο- ή σταυρεπικονίαση των ανθέων μιας ποικιλίας. Τέτοια μελέτη παρέχει τη δυνατότητα για άμεση εκτίμηση της εμφάνισης ή όχι ασυμβίβαστου στη συγκεκριμένη σύζευξη καθώς και της έντασης εκδήλωσής τους.

Η διατήρηση των επικονιασθέντων ανθέων σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες και τα δύο χρόνια πειραματισμού, εξάλλου, αποβλέπει στην εξαγωγή συμπερασμάτων για την επίδρασή τους στην αύξηση των γυρεοσωλήνων μέσα στους στύλους.

Παρά την εντατική εργασία δύο χρόνων πειραματισμού (1993-1994) στο Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων και κάτω από την καθοδήγηση του καθηγητή κ. Α. Μαγγανάρη η μέθοδος που προαναφέρθηκε για το ασυμβίβαστο δεν απέδωσε τα αναμενόμενα.

Αυτό που περιμέναμε ήταν η σαφής διάκριση των γυρεοσωλήνων είτε σε μεγάλους αριθμούς στο στίγμα είτε σε μικρούς (1-2 ή κανένα) στη βάση του στύλου. Σε αντίθεση παρατηρήσαμε κατεστραμμένους γυρεοσωλήνες και τμήματα αυτών διάσπαρτα κατά μήκος του στύλου οπότε δεν ήταν δυνατή η εκτίμηση του αριθμού τους εκτός ελαχίστων περιπτώσεων.

Οι ελάχιστες περιπτώσεις όπου οι γυρεοσωλήνες ήταν ευδιάκριτοι στη βάση του υπέρου βρέθηκε ότι ανήκαν σε συμβατές διασταυρώσεις, όμως απουσία γυρεοσωλήνων στη βάση του υπέρου παρατηρήθηκε τόσο σε συμβατές διασταυρώσεις όσο και σε αυτογονιμοποιήσεις. Με τα περιορισμένα αυτά αποτελέσματα δεν ήταν εφικτή η στατιστική ανάλυση.

2. Test ζωτικότητας γύρης

Τα αποτελέσματα του test ζωτικότητας γύρης όπως διεξήχθησαν μετά από παρατήρηση στο μικροσκόπιο φθορισμού δίνονται αναλυτικά στον πίνακα 1. Όπως ήταν αναμενόμενο η γύρη που συλλέχθηκε το 1994 είχε μεγαλύτερο ποσοστό γονιμότητας από τη γύρη που συλλέχθηκε το 1993 και αυτή αντίστοιχα από εκείνη του 1992. Εξαιρέση στον προαναφερθέντα κανόνα αποτέλεσαν οι γύρεις των ποικιλιών "IMPERIAL", "PRIMA", "GRANNY - SMITH", "Φυρρίκι Σκύδρας", "GLOSTER", "NOVA EASY GROW". Στις εν λόγω ποικιλίες η γύρη της προηγούμενης χρονιάς εμφάνισε υψηλότερη γονιμότητα από εκείνη της επόμενης. Αυτό πολύ απλά αποδόθηκε σε διαφορετικές συνθήκες συντήρησης των δύο γύρεων που οδήγησε σε εσφαλμένα αποτελέσματα. Ιδιαίτερα έντονες ήταν οι διαφορές αποτελεσμάτων γονιμότητας μεταξύ γύρεων των ετών 1992, 1993. Η γύρη του 1992 είχε συντηρηθεί σε δοκιμαστικούς σωλήνες ενώ η γύρη των 1993 και 1994 σε τρυβλία Petri οπότε γίνεται αμέσως σαφές ότι οι πιθανότητες εισροής υγρασίας και επομένως νέκρωσης της γύρης ήταν πολύ μεγαλύτερες στα τρυβλία Petri όπου επικρατούσαν και οι δυσμενέστερες συνθήκες ασφαλείας σε σχέση με τους δοκιμαστικούς σωλήνες.

Από τα υπόλοιπα αποτελέσματα επισημαίνουμε την υπεροχή ως προς τη γονιμότητα των γύρεων των ποικιλιών "Cox" για το έτος 1994 και "Gala" για το έτος 1993. Οι ποικιλίες με τη χαμηλότερη γονιμότητα των γύρεών τους ήταν οι "Starking No 2" και "M. Floribunda" για το 1994 και "Φυρρίκι Σκύδρας" και "Prima" για το έτος 1993.

Πίνακας 1. Δοκιμή ζωτικότητας γύρης διαφορετικής ηλικίας σε 17 ποικιλίες μηλιάς.

| ΠΟΙΚΙΛΙΑ | Ζωτικότητα % | | |
|----------------|--------------|-----------|-----------|
| | ΕΤΟΣ 1992 | ΕΤΟΣ 1993 | ΕΤΟΣ 1994 |
| IMPERIAL | - | 83 | 77 |
| GOLDEN | - | 70 | 81 |
| MUTSU | - | 55 | 82 |
| PRIMA | 67 | 36 | - |
| GRANNY - SMITH | 71 | 69 | - |
| NOVA EASY GROW | - | 86 | 81 |
| ELSTAR | 87 | - | - |
| GLOSTER | 92 | 47 | - |
| FLORINA | - | 68 | 71 |
| COX | - | 79 | 91 |
| ΦΥΡΙΚΙ Σκύδρας | 82 | 26 | - |
| GALA | 75 | 91 | - |
| WIJCIK | 54 | - | - |
| IDARED | - | - | 89 |
| M. FLORIBUNDA | - | - | 69 |
| STARKING No 2 | - | - | 67 |

ΣΗΜΕΙΩΣΗ : Οι παύλες υποδηλώνουν έλλειψη στοιχείων λόγω μη επαρκούς γύρης για εξέταση.

3. Test βλαστικότητας γύρης

Τα αποτελέσματα του test βλαστικότητας της γύρης παρουσιάζονται στον πίνακα 2. Όπως φαίνεται και στην περίπτωση της βλαστικότητας της γύρης ισχύουν τα ίδια με τη γονιμότητα της γύρης. Δηλαδή γύρη του 1994 έχει υψηλότερη βλαστική ικανότητα από τη γύρη του 1993 και αυτή από εκείνη του 1992. Πάλι, εξαίρεση στον κανόνα αποτελούν ορισμένες ποικιλίες όπως οι "Granny - Smith", "Φυρίκι Σκύδρας" και "Gala". Και στις τρεις παραπάνω ποικιλίες διαφορές στη βλαστική ικανότητα εμφανίζεται μεταξύ των γύρων των ετών 1992 και 1993. Η εξήγηση του φαινομένου αυτού δόθηκε ήδη στο test γονιμότητας γύρης δηλαδή ενώ η γύρη του 1992 είχε αποθηκευθεί σε δοκιμαστικούς σωλήνες κάτω από αυστηρές συνθήκες ασφαλείας, η γύρη του 1993 είχε αποθηκευθεί σε τρυβλία Petri με όχι και τόσο καλή προστασία της. Σαν αποτέλεσμα των προαναφερθέντων η γύρη του 1993 απορρόφησε υγρασία από το περιβάλλον με τελικό αποτέλεσμα τη νέκρωσή της.

Στα αποτελέσματα του πίνακα 2 επίσης διακρίνουμε γενικά χαμηλές τιμές βλαστικής ικανότητας σε αντίθεση με τις τιμές της γονιμότητας της γύρης του πίνακα 1 που είναι ιδιαίτερα υψηλές. Μόνο οι ποικιλίες "Imperial" και "Starking No 2" για το 1994 και "Prima" για το 1993 παρουσιάζουν υψηλή τιμή βλαστικότητας ενώ ιδιαίτερα χαμηλή τιμή βλαστικότητας εμφανίζουν οι γύρες των ποικιλιών "Nova-Easy Grow" και "Cox" για το 1994 και "Nova-Easy Grow" "Φυρίκι Σκύδρας" και "Idared" για το έτος 1993.

Πίνακας 2. Δοκιμή βλαστικότητας γύρης διαφορετικής ηλικίας σε 14 ποικιλίες μηλιάς.

| % βλαστώνοντες γυρεόκοκκοι | | | |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|
| ΠΟΙΚΙΛΙΑ | ΕΤΟΣ 1992 | ΕΤΟΣ 1993 | ΕΤΟΣ 1994 |
| IMPERIAL | - | 4 | 74 |
| GOLDEN | - | 5 | 22 |
| MUTSU | - | 7 | 12 |
| PRIMA | 22 | 61 | - |
| GRANNY - SMITH | 43 | 4 | - |
| NOVA EASY GROW | - | 2 | 6 |
| ELSTAR | 28 | 44 | - |
| FLORINA | - | 3 | 15 |
| COX | - | 4 | 5 |
| ΦΥΠΙΚΙ Σκύδρας | 14 | 3 | - |
| GALA | 52 | 4 | - |
| IDARED | - | 3 | - |
| M. FLORIBUNDA | - | 44 | - |
| STARKING No 2 | - | - | 97 |

ΣΗΜΕΙΩΣΗ : Οι παύλες υποδηλώνουν έλλειψη στοιχείων λόγω μη επαρκούς γύρης για εξέταση.

Κ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ασυμβίβαστο

Όπως προαναφέρθηκε σκοπός της εν λόγω εργασίας ήταν η προσπάθεια εκτίμησης της εμφάνισης ή όχι ασυμβιβάστου σαν αποτέλεσμα σύζευξης μεταξύ δύο ποικιλιών καθώς και ο βαθμός εκδήλωσής του. Με τη βοήθεια του μικροσκοπίου και χρησιμοποιώντας το υπεριώδες φως προσπαθήσαμε να εντοπίσουμε την ύπαρξη γυρεοσωλήνων στο στίγμα καθώς και στη βάση των στύλων και να προχωρήσουμε στην καταμέτρησή τους.

Επίσης με την τοποθέτηση, των ανθέων σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες θέλαμε να αποδείξουμε την επίδρασή τους στην ταχύτητα αύξησης των γυρεοσωλήνων μέσα στους στύλους.

Το πειραματικό μέρος της παρούσας Πτυχιακής Διατριβής διεξήχθηκε για πρώτη φορά τον Απρίλιο του 1993 (περίοδος ανθοφορίας της μηλιάς) και επαναλήφθηκε τον Απρίλιο του 1994, χωρίς τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Δεν έχει γίνει ακόμη σαφές σε ποιό σημείο απέτυχε η μέθοδος που ακολουθήσαμε. Έγιναν όμως αρκετές υποθέσεις.

Η πρώτη μέθοδος που αναφέραμε ήταν αυτή με το NaOH η οποία παρατίθεται στη διδακτορική διατριβή του κ. Β. Τσιράκογλου με θέμα "Διερεύνηση με βιοχημικές μεθόδους του μηχανισμού του ασυμβιβάστου στα οπωροφόρα δένδρα". Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε από τον κ. Τσιράκογλου σε φυτικό υλικό κερασιάς. Υποθέτουμε λοιπόν ότι ίσως η μέθοδος αυτή δεν αποδίδει το ίδιο όταν εφαρμόζεται σε φυτικό υλικό μηλιάς.

Μια δεύτερη υπόθεση ήταν ως προς το χρόνο που τα άνθη παρέμειναν αρχικά στο προσηλωτικό διάλυμα FAA και στη συνέχεια στο NaOH και στο διάλυμα της ανιλίνης μπλε. Το 1993 τα άνθη παρέμειναν στο διάλυμα FAA από τον Απρίλιο μέχρι τον Αύγουστο που εξετάστηκαν. Ίσως λοιπόν κατά το χρονικό αυτό διάστημα οι φυτικοί ιστοί των ανθέων να υπέστησαν αλλοιώσεις. Το 1994 ο χρόνος αυτός μετατράπηκε σε διάστημα 15 ημερών αλλά τα αποτελέσματα παρέμειναν τα ίδια. Ως προς το NaOH τα πράγματα ελέγχθηκαν ακόμη περισσότερο. Όπως αναφέραμε ήδη στη μέθοδο εργασίας τα άνθη διατηρούνταν στο NaOH για 8-12 ώρες. Για να καταλήξουμε όμως στο χρονικό αυτό διάστημα δοκιμάσαμε όλες τις δυνατές περιπτώσεις. Αρχικά αφήσαμε το φυτικό υλικό στο NaOH για πολλές ώρες μέχρι να μαλακώσει. Παρατηρήσαμε όμως ότι οι ιστοί μαλάκωναν τόσο πολύ ώστε τελικά ήταν αδύνατο να δουλευτούν ικανοποιητικά. Έτσι διαδοχικά μειώσαμε το χρονικό αυτό διάστημα στις ώρες που αναφέρθηκαν παραπάνω και όπου μας έδωσαν ευκολία επεξεργασίας. Τέλος, εξετάσαμε και το χρόνο παραμονής των δειγμάτων μας στο διάλυμα ανιλίνης μπλε. Στην αρχή εμβαπτίσαμε τα άνθη μας στο διάλυμα της χρωστικής ενώ στη συνέχεια πρώτα τοποθετούσαμε τους φυτικούς ιστούς στην αντικειμενοφόρο πλάκα και έπειτα τους διαβρέχαμε με σταγόνες του διαλύματος. Και στις δύο περιπτώσεις τα αποτελέσματα ήταν ίδια.

Η τρίτη υπόθεση που έγινε αφορούσε την ικανοποιητική λειτουργία του μικροσκοπίου. Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιήσαμε ήταν της εταιρίας Leitz, τύπου Laborlux S, με

φίλτρο κατάλληλο για χρωστική μπλε τύπου BP 340-380 προτεινόμενο από την εταιρία. Μπορεί όμως το φίλτρο να μην ήταν το κατάλληλο στην περίπτωση αυτή γι' αυτό και να μην ήταν ευδιάκριτη η ανάπτυξη των γυρεοσωλήνων στους στύλους των επικονιασθέντων άνθρων.

Ζωτικότητα - Βλαστικότητα γύρης

Από τα αποτελέσματα είναι φανερό ότι γύρη που συλλέχθηκε κατά το έτος 1994 διατηρεί μεγαλύτερη γονιμότητα και βλαστικότητα από τη γύρη που συλλέχθηκε κατά το έτος 1993. Η διαφορά αυτή γίνεται ακόμη μεγαλύτερη εάν τη συγκρίνουμε με τη γύρη που συλλέχθηκε κατά το έτος 1992. Στην περίπτωση των ποικιλιών "Granny Smith", "Φυρίκι Σκύδρας", "Gala" στο test βλαστικότητας γύρης και των ποικιλιών "Imperial", "Prima", "Granny Smith", "Φυρίκι Σκύδρας", "Gloster", "Nova Easy Grow", στο test ζωτικότητας της γύρης τα αποτελέσματα αντιστρέφονται. Στις ποικιλίες αυτές παρατηρούμε γύρη του 1992 ή του 1993 να έχει υψηλότερη τιμή γονιμότητας και βλαστικότητας από εκείνη του 1993 και 1994 αντίστοιχα. Η αντίφαση αυτή οφείλεται στις διαφορετικές συνθήκες διατήρησης της γύρης κάθε ποικιλίας.

Η γύρη των παραπάνω ποικιλιών κατά το 1994 διατηρήθηκε σε τρυβλία Petri αφού χρησιμοποιήθηκε για τεχνητές διασταυρώσεις. Η παραμονή της γύρης των ποικιλιών αυτών για ορισμένο χρονικό διάστημα σε συνθήκες περιβάλλοντος είναι η πιθανότερη αιτία της μειωμένης βλαστικής ικανότητάς τους. Επιπλέον τα τρυβλία Petri δεν προστατεύ-

ουν τη γύρη από την υγρασία η οποία επίσης δρα αρνητικά στη διατήρηση της βλαστικότητας τους. Αυτό αποδεικνύει τη σημασία των συνθηκών διατήρησης της γύρης προκειμένου να χρησιμοποιηθεί την επόμενη χρονιά. Γύρη από προηγούμενη χρονιά είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στους γενετιστές-βελτιωτές όταν προέρχεται από οψιμανθή ποικιλία που πρόκειται να επικονιάσει μια πρωιμανθή ποικιλία.

Όπως προκύπτει εξάλλου, από το κεφάλαιο "Αποτελέσματα" κάθε ποικιλία έχει τις δικές της τιμές βλαστικότητας και γονιμότητας. Το χαρακτηριστικό αυτό είναι χρήσιμο να το γνωρίζουμε προκειμένου να επιλέξουμε για τα πειράματά μας εκείνη την ποικιλία της οποίας η γύρη μπορεί να διατηρηθεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα από τις άλλες και με μικρότερο ποσοστό μείωσης των παραπάνω τιμών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

α. Ελληνική Βιβλιογραφία

1. Βασιλακάκης Δ.Μ, Πορλίγγης Ι., Ρούμπος Α 1980
Αξιολόγηση παραγόντων που επηρεάζουν την επικονίαση και καρπόδεση της αχλαδιάς : Περίοδος ανθήσεως, βλαστικότητας γύρεος και ασυμβίβαστο. Επιστημονική Επετηρίδα της Γεωπ. και Δασολ. Σχολής (Τμήμα Γεωπονίας), 23:17-27.
2. Καλτσίκης Ι.Π. 1989. Βελτίωση φυτών, 17:281-311
3. Ποντίκης Α. Κωνσταντίνος, 1994. Ειδική Δενδροκομία - Μηλοειδή, 1:15-100
4. Σφακιωτάκης Μ. Ευάγγελος, 1987. Μαθήματα Γενικής Δενδροκομίας, 8:164-182.
5. Τσιράκογλου Βασίλειος, 1989. Διερεύνηση με βιοχημικές μεθόδους του μηχανισμού του ασυμβιβάστου στα οπωροφόρα δένδρα. Διδακτορική Διατριβή, Σχολή Γεωτεχνικών Επιστημών, 1-102.

β. Ξένη Βιβλιογραφία

1. Asher D. Peter, 1976. Self-incompatibility systems in floriculture crops. Acta Horticulturae, 63:205-213.
2. Currier B.H. 1957. Callose substance in plant cells. American Journal of Botany Vol. 44:478-488.
3. Heslop - Harrison J. and Heslop - Harrison Y., 1970, Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence, intracellular hydrolysis of

- fluorescein diacetate. Stain technology, Vol. 45:115-117.
4. Jefferies J.C., 1977. Sequential staining to assess viability and starch content in individual pollen grains. Stain technology, Vol 52:277-283.
 5. Montalti Patrizia and Filicity Nadia, 1984. Mentor pollen effect on the in-vivo germination of self-incompatible apple pollen. Scientia Horticulture, 23:337-343.
 6. Petropoulou S.P., 1985. Temperature related factors as selection criteria in apple breeding, 7:60-123.
 7. Ramming W. David and Hinrichs A. Herman, 1973. Sequential staining of callose by aniline blue and lacmoid for fluorescence regular microscopy on a durable preparation of the same specimen. Stain technology, Vol. 48:133-134.
 8. Vasilakakis D. Miltiadis and Polringis C.I., 1984. Self-compatibility in 'Truuito' Almond and the effect of temperature on selfed and crossed Pollen tube growth. Hortscience, 19:659-661.
 9. Visser T, Verhaegh J. J., Marcucci Clara and Vijtewaal A. B., 1982. Pollen and pollination experiments VIII. The effect of successive pollinations with compatible and self-compatible pollen in apple and pear. Euphytica, 32:57-64.
 10. Williams R. R., Church M. Ruth, 1975. The effect of killed compatible pollen on self-compatibility in

apple. J. Hortscience, 50:457-461.

