

ΝΕΟΙ ΔΡΟΜΟΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ: Ι. ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΑΝΘΗΡΩΝ.

Δρ. Ιωάννης Ν. Ξυνιάς
ΕΘΙΑΓΕ-Ινστιτούτο Σιτηρών Θεσσαλονίκης
Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Βιοτεχνολογίας.

Η δημιουργία καθαρών σειρών έχει μεγάλη σημασία για τις περισσότερες καλλιέργειες. Στα αυτογονιμοποιούμενα φυτά είναι καθοριστική γιατί οι καλλιεργούμενες ποικιλίες είναι καθαρές σειρές. Στα σταυρογονιμοποιούμενα φυτά έχει ίση σημασία, γιατί οι καθαρές σειρές χρησιμοποιούνται στην παραγωγή εμπορικών υβριδίων. Η δημιουργία όμως των καθαρών σειρών με τη μέθοδο της αυτογονιμοποίησης είναι απαιτητική τόσο σε χρόνο όσο και σε χρήμα. Για το σιτάρι (μαλακό ή σκληρό) για παράδειγμα απαιτούνται περίπου δέκα χρόνια στον πειραματικό αγρό για να δημιουργηθεί μια ποικιλία.

Για τους παραπάνω λόγους έχουν προταθεί και εφαρμοσθεί διάφορες βιοτεχνολογικές τεχνικές, με σκοπό την επιτάχυνση των διαδικασιών εκείνων που οδηγούν στην ομοζυγωτία. Μια προσέγγιση του είδους αυτού είναι η χρησιμοποίηση απλοειδών φυτών, με την οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί γρήγορη παραγωγή καθαρών σειρών, μετά από διπλασιασμό του χρωμοσωμικού αριθμού των απλοειδών αυτών φυτών.

Οι τρόποι για να αποκτηθούν απλοειδή φυτά είναι

- (α) μέσω της *in vitro* καλλιέργειας ανθέρων και μικροσπορίων,
- (β) χρησιμοποιώντας θηλυκούς γαμέτες, και
- (γ) μέσω διγενικών ή διειδικών διασταυρώσεων, όπως π. χ. σιτάρι Χ καλαμπόκι (τεχνική του καλαμποκιού).

Από τους τρόπους αυτούς ιδιαίτερα αποτελεσματικοί είναι ο πρώτος, που είναι και το αντικείμενο του παρόντος άρθρου, και ο τρίτος ο οποίος θα παρουσιασθεί σε επόμενο άρθρο. Αντίθετα, ο δεύτερος τρόπος είναι μικρής αποτελεσματικότητας και επομένως μικρού ενδιαφέροντος και γι' αυτό δεν θα γίνει καμία επιπλέον αναφορά.

ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΜΕΣΩ ΤΗΣ *IN VITRO* ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΑΝΘΗΡΩΝ.

Η τεχνική αυτή εφαρμόστηκε σε διάφορα είδη του γένους *Triticum* με γεωργικό ενδιαφέρον για πρώτη φορά στις αρχές της δεκαετίας του 1970. Από τότε η τεχνική βελτιώθηκε αρκετά, κυρίως μετά την αποσαφήνιση του ρόλου που διαδραματίζουν ορισμένοι παράγοντες στην *in-vitro* καλλιέργεια ανθέρων. Οι παράγοντες αυτοί είναι το θρεπτικό υπόστρωμα, το στάδιο της ανάπτυξης των γυρεοκόκκων και οι μεταχειρίσεις τις οποίες δέχθηκαν τα στάχυα πριν από την αφαίρεση των ανθέρων. Σπουδαίο επίσης ρόλο βρέθηκε να παίζουν οι συνθήκες στις οποίες καλλιεργήθηκαν τα φυτά που χρησιμοποιούνται ως δότες ανθέρων, καθώς και η γενεά βελτίωσης στην οποία ευρίσκονται τα φυτά-δότες.

Η τεχνική της καλλιέργειας ανθέρων περιλαμβάνει τα παρακάτω βήματα.

- (α) ελέγχεται το στάδιο ανάπτυξης των γυρεοκόκκων και επιλέγονται εκείνα τα στάχυα στα οποία οι ανώριμοι γυρεόκοκκοι βρίσκονται στο στάδιο του ενός πυρήνα (μονοπύρηνο στάδιο). Μορφολογικά τα στάχυα συνήθως βρίσκονται στο στάδιο αυτό με την εμφάνιση του φύλλου σημαία.
- (β) αφού απολυμανθούν τα στάχυα, αρχίζει η αφαίρεση και μεταφορά των ανθέρων σε ειδικό για το σκοπό αυτό θρεπτικό υπόστρωμα, που ονομάζεται υπόστρωμα εκκίνησης, όπου παραμένουν για ένα περίπου μήνα.
- (γ) στους ανθήρες που αντιδρούν εμφανίζονται κάποιες εμβρυοειδείς δομές (Σχήμα 1). Οι εμβρυοειδείς αυτές δομές μεταφέρονται σε ειδικό για το σκοπό αυτό υπόστρωμα, που ονομάζεται υπόστρωμα αναγέννησης, σε συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας και φωτισμού.
- (δ) Τα εμβρυοειδή που αντιδρούν (Σχήμα 2) μεταφέρονται σε υπόστρωμα ριζοβολίας (Σχήμα 3) και τοποθετούνται σε θάλαμο ανάπτυξης, σε συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας και φωτισμού, και
- (ε) Μόλις το ριζικό σύστημα των φυτών που θα αποκτηθούν αναπτυχθεί κανονικά, γίνεται η μεταφορά τους σε μικρές γλάστρες, οι οποίες τοποθετούνται στο θάλαμο ανάπτυξης υπό κάλυψη, για να βοηθηθεί η προσαρμογή των φυτών.

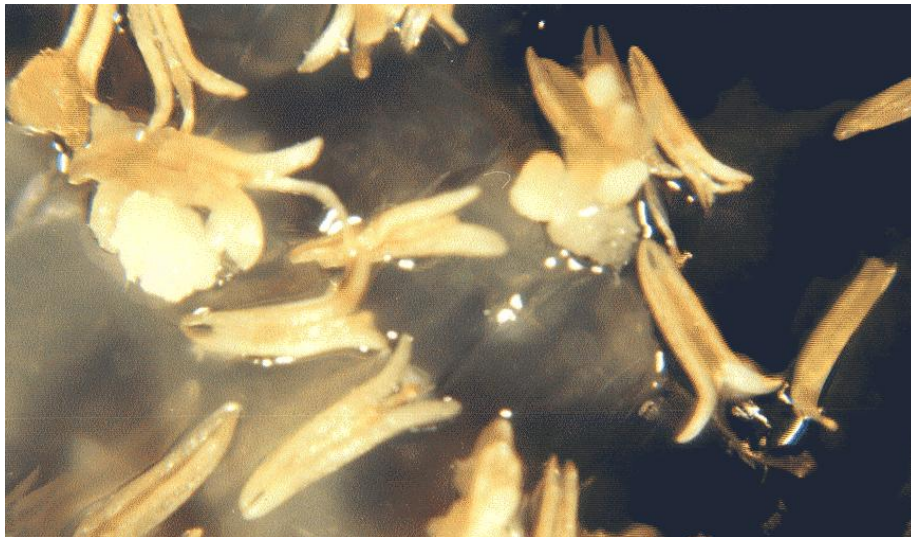
Τα φυτά που αποκτώνται μετά από την εφαρμογή της τεχνικής αυτής είναι απλοειδή, δηλαδή έχουν τα χρωμοσώματά τους σε μια δόση και συνεπώς στείρα. Ο χρωμοσωμικός τους όμως αριθμός πολλές φορές αυτοδιπλασιάζεται, χωρίς τη χρησιμοποίηση χημικών ουσιών και έτσι τα φυτά γίνονται γόνιμα. Επειδή δε έχουν

προέλθει από χρωμοσωμικό διπλασιασμό είναι 100% ομοζύγωτα, δηλαδή καθαρές σειρές. Όσα από τα παραπάνω φυτά είναι ομοζύγωτα ως προς κάποιο/α θανατηφόρο υποτελές γονίδιο δεν μπορούν να επιβιώσουν. Τα φυτά που επιβιώνουν πολλαπλασιάζονται και αξιολογούνται ως προς διάφορα αγρονομικά γνωρίσματα.

Από αυτά που αναφέρθηκαν έως τώρα προκύπτει ότι το κύριο πλεονέκτημα της καλλιέργειας ανθήρων είναι η επιτάχυνση της διαδικασίας με την οποία δημιουργείται μια 100% καθαρή σειρά. Ένα δεύτερο και πολύ σπουδαίο πλεονέκτημα είναι ο γρήγορος εντοπισμός και απομάκρυνση όλων των μειονεκτικών ή προβληματικών φυτών. Το σχετικά υψηλό κόστος εφαρμογής της, η αναγκαιότητα κατάλληλα εκπαιδευμένου προσωπικού και κυρίως οι μικρότερες ευκαιρίες γενετικού ανασυνδυασμού που έχουν οι γενότυποι είναι ίσως τα κυριότερα μειονεκτήματά της. Φαίνεται όμως ότι τα τελευταία δεν είναι μάλλον τόσο αποφασιστικά. Έτσι, η τεχνική αυτή έχει γίνει σχεδόν ρουτίνα σε κάποιες καλλιέργειες όπως είναι το μαλακό σιτάρι, το κριθάρι και το ρύζι, ενώ σε κάποιες άλλες όπως είναι η σιταρόβριζα χρησιμοποιείται με αρκετή επιτυχία. Ιδιαίτερα στο μαλακό σιτάρι ήδη κυκλοφορούν, τόσο στην Ευρώπη (τέσσερις ποικιλίες μόνο στην Ουγγαρία), όσο και στην Αμερική και Ασία (περισσότερες από είκοσι στην Κίνα) πολλές ποικιλίες που έχουν δημιουργηθεί με καλλιέργεια των ανθήρων. Με μικρότερη επιτυχία έχει χρησιμοποιηθεί στη βρίζα, που γενικά θεωρείται ως μια αρκετά δύστροπη καλλιέργεια για παρόμοιους χειρισμούς. Τέλος, σε ορισμένα άλλα φυτικά είδη με ιδιαίτερη οικονομική σημασία για την Ελλάδα, όπως το σκληρό σιτάρι και το καλαμπόκι, τα αποτελέσματα της εφαρμογής της τεχνικής αυτής ήταν έως τώρα απογοητευτικά. Ο μεγάλος αριθμός αλβίνων φυτών (φυτών δηλαδή που δεν έχουν χλωροφύλλη και συνεπώς δεν φωτοσυνθέτουν, Σχήμα 3) είναι το πιο σοβαρό εμπόδιο όσον αφορά την καλλιέργεια ανθήρων στο σκληρό σιτάρι. Στο καλαμπόκι ενώ αποκτώνται απλοειδή φυτά με την τεχνική αυτή, ο χρωμοσωμικός τους διπλασιασμός για να γίνουν γόνιμα, είναι ο κύριος απαγορευτικός παράγοντας.

Όσον αφορά την Ελλάδα, στο Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Βιοτεχνολογίας του Ινστιτούτου Σιτηρών του ΕΘΙΑΓΕ, σε συνεργασία με το Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών του ΑΠΘ, έχει αρχίσει εδώ και τέσσερα περίπου χρόνια μια προσπάθεια ενσωμάτωσης της νέας αυτής τεχνολογίας στο πρόγραμμα βελτίωσης του σιταριού. Ήδη έχουν δημιουργηθεί αρκετές καθαρές σειρές μαλακού σιταριού, οι οποίες ευρίσκονται αυτή τη στιγμή στο στάδιο της αξιολόγησης τους. Στην εικόνα 4

παρουσιάζονται κάποιες από τις σειρές αυτές κατά τη διάρκεια της αρχικής τους δημιουργίας. Αρκετά από τα πορίσματα που έχουν προκύψει από την έρευνα αυτή έχουν ανακοινωθεί σε διάφορα συνέδρια, τόσο του εξωτερικού όσο και του εσωτερικού, ή έχουν αποσταλεί για δημοσίευση σε Ελληνικά και Διεθνή περιοδικά. Η προσπάθεια αυτή αναμένεται να συνεχισθεί και στο μέλλον και να επεκταθεί και σε άλλες καλλιέργειες με μεγάλο ενδιαφέρον για τη χώρα μας όπως είναι το σκληρό σιτάρι. Για το σκοπό αυτό θα χρησιμοποιηθεί κυρίως η τεχνική των διγενικών ή διειδικών διασταυρώσεων (μέθοδος καλαμποκιού), για την οποία θα αναφερθούμε με περισσότερες λεπτομέρειες σε προσεχές τεύχος.



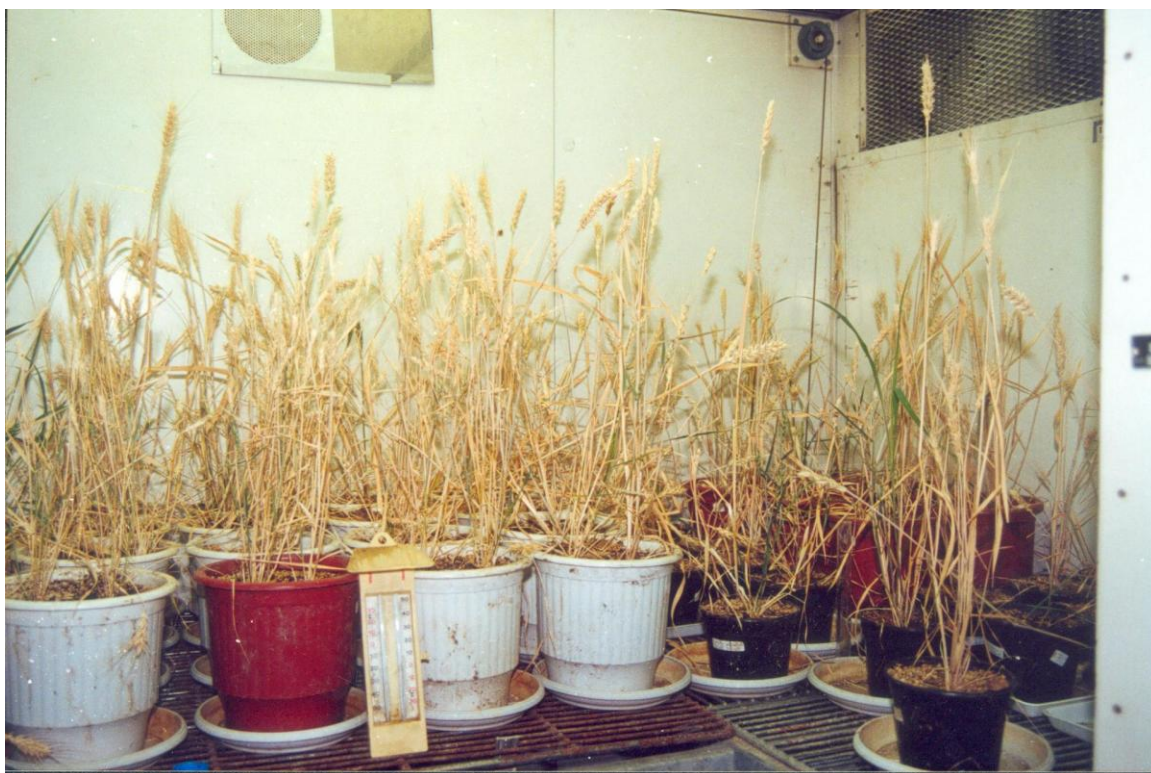
Σχήμα 1. Εμβρυοειδείς δομές σε καλλιέργεια ανθέρων μαλακού σιταριού.



Σχήμα 2. Εμβρυοειδή που έχουν αντιδράσει στην καλλιέργεια ανθέρων.



Σχήμα 3. Νεαρά φυτάρια μαλακού σιταριού σε υπόστρωμα ριζοβολίας. Δεξιά διακρίνεται ένα αλβίνο φυτό.



Σχήμα 4. Φυτά καθαρών σειρών μαλακού σιταριού που προήλθαν από καλλιέργεια ανθήρων σε θάλαμο ανάπτυξης.