



Ευρωπαϊκή Ένωση

Ευρωπαϊκό Ταμείο
Περιφερειακής Ανάπτυξης



Επιχειρησιακό Πρόγραμμα:
«ΕΡΕΥΝΩ-ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ-ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ»
«ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ, ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ &
ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ» (ΕΠΑνεΚ)

Τίτλος έργου:

«Ενίσχυση της καλλιέργειας μαστιχόδεντρων με μοχλό τη χρήση καινοτόμων μοριακών μεθόδων».

ΑΚΡΩΝΥΜΙΟ: mast4trees

Συνοπτική Περιγραφή:

Το Έργο αποβλέπει στην ενίσχυση της καλλιέργειας του μαστιχόδεντρου για παραγωγή μαστίχας, που εντοπίζεται στο νότιο τμήμα της νήσου Χίου, με νέα στοιχεία χρησιμοποιώντας καινοτόμες μοριακές μεθόδους. Η μαστίχα συλλέγεται κυρίως από αρσενικά δέντρα έπειτα από μηχανικό τραυματισμό (“κέντημα”) του φλοιού του κορμού. Σε 65 παραγωγικά μαστιχόδεντρα (από τις καλλιεργούμενες ποικιλίες Μαυρόσχιнос, Μαρουλίτης, Βοτόμος και Πλατύφυλλος), τα οποία είχαν εντοπιστεί από προηγούμενη έρευνα και η θέση τους έχει καταγραφεί με GPS, θα μετρηθεί η παραγόμενη μαστίχα, θα αναλυθεί η σύστασή της με GC-MS και LC-MS και θα ακολουθήσει η γενετική ταυτοποίησή τους με χρήση των μοριακών δεικτών ITS1 και ITS2, ISSR και EST-SSRs προκειμένου να επιλεγούν τα καλύτερα αρσενικά και θηλυκά. Στη συνέχεια θα μελετηθεί ο εγγενής πολλαπλασιασμός (σπόρος) αλλά και ο πολλαπλασιασμός με ιστοκαλλιέργεια, χρησιμοποιώντας ως έκφυτα νεαρά σπορόφυτα από εκβλάστηση σπόρου in vitro. Παράλληλα θα ταυτοποιηθούν τα εδαφογενή παθογόνα που προσβάλλουν τα μαστιχόδεντρα, θα προσδιοριστεί η ανθεκτικότητα νεαρών δενδρυλλίων σε αυτά και θα γίνει προσπάθεια εξεύρεσης μοριακών δεικτών ικανών να αναδείξουν την αντοχή των φυτών στα εδαφογενή αυτά παθογόνα. Επειδή ο σπόρος παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για μαζική παραγωγή φυταρίων μαστιχόδεντρου (αρκεί αυτά να είναι αρσενικά γιατί παράγουν περισσότερη και καλύτερης ποιότητας μαστίχα), θα μελετηθούν τρόποι διάγνωσης του φύλου από το στάδιο ακόμη του σποροφύτου. Για τη διάγνωση του φύλου των νεαρών σποροφύτων θα γίνει αξιολόγηση της χρήσης κατάλληλων μοριακών δεικτών (ISSR και SCAR), εναλλακτικών μοριακών μεθόδων (RAD μοριακών δεικτών), μετρήσεων με αέρια και υγρή χρωματογραφία της περιεκτικότητας των φύλλων σε διάφορες ουσίες που ενδέχεται να διαφοροποιούνται ανάλογα με το φύλο, καθώς και κατάλληλων βιοχημικών και φαινοτυπικών δεικτών. Επίσης, θα διερευνηθεί ο μοριακός μηχανισμός βιοσύνθεσης και έκκρισης της μαστίχας μετά από μηχανικό τραυματισμό του φλοιού του κορμού του μαστιχόδεντρου. Για το σκοπό αυτό θα γίνει διαφορική ανάλυση της έκφρασης των γονιδίων (DEG analysis) πριν και μετά τον μηχανικό τραυματισμό του κορμού του μαστιχόδεντρου και μετά από αλληλούχηση RNA νέας γενιάς. Καθώς η μαστίχα με τις διάφορες ουσίες που

περιέχει προσελκύει έντονα το ενδιαφέρον της φαρμακοβιομηχανίας, θα αναζητηθούν βιο-δείκτες συνδεδεμένοι με την περιεκτικότητα της μαστίχας σε ουσίες με αντιδιαβητική και αντιβακτηριδιακή δράση (αντι-*H. pylori*). Έτσι, θα γίνει απομόνωση και λειτουργικός χαρακτηρισμός γονιδίων που σχετίζονται με τη βιοσύνθεση των βιοδραστικών μορίων της μαστίχας και θα ακολουθήσει η αξιολόγηση της δυνατότητας χρήσης των παραπάνω γονιδίων ως μοριακών δεικτών συνδεδεμένων με την περιεκτικότητα της μαστίχας σε δραστικά μόρια. Τέλος, αξιοποιώντας τα αποτελέσματα της έρευνας του Έργου θα γίνει παραγωγή αρσενικών μαστιχόδεντρων από σπόρο των παραγωγικότερων κλώνων και επίσης διασταυρώσεις μεταξύ των επιλεγμένων κλώνων για απόκτηση F1 υβριδίων ακολουθούμενα από γενετική ταυτοποίηση προκειμένου να χρησιμοποιηθούν για μελλοντική γενετική βελτίωση του μαστιχόδεντρου. Επιπλέον, θα γίνει εκτίμηση του κόστους της διάγνωσης του φύλου και του κόστους της παραγωγής ανά φυτό, θα επιδιωχθεί κατοχύρωση διπλωμάτων ευρεσιτεχνίας για τη χρήση των μοριακών δεικτών που αναπτύχθηκαν στα πλαίσια του Έργου και θα γίνει η διάχυση - δημοσιοποίηση των αποτελεσμάτων του παρόντος Έργου, προκειμένου να προωθηθεί η εξάπλωση της καλλιέργειας και σε άλλες περιοχές της Χίου, αλλά και της χώρας, με πιστοποιημένο και παραγωγικό φυτικό υλικό.

Ενδεικτικά αναμενόμενα οφέλη της συγκεκριμένης πράξης, μέσα από τις παρεμβάσεις που αυτή περιλαμβάνει, είναι:

- Επιλεγμένα παραγωγικά αρσενικά και θηλυκά μαστιχόδεντρα και γενετική ταυτοποίησή τους με μοριακούς δείκτες (ITS1 και ITS2, ISSR και EST-SSRs).
- Χημική ανάλυση της παραγόμενης μαστίχας από τα παραγωγικά μαστιχόδεντρα με αέρια και υγρή χρωματογραφία.
- Δημιουργία πρωτοκόλλων εγγενούς πολλαπλασιασμού (σπόρος) των μαστιχόδεντρων και πολλαπλασιασμού με ιστοκαλλιέργεια χρησιμοποιώντας ως έκφυτα νεαρά σπορόφυτα από εκβλάστηση σπόρου *in vitro*.
- Ταυτοποίηση εδαφογενών παθογόνων που προξενούν ζημιές και προσδιορισμός μοριακών δεικτών ανάδειξης της ανθεκτικότητας των μαστιχόδεντρων στα παθογόνα αυτά.
- Διάγνωση του φύλου στα νεαρά σπορόφυτα μαστιχόδενδρου με αξιολόγηση της χρήσης κατάλληλων μοριακών δεικτών (ISSR και SCAR), εναλλακτικών μοριακών μεθόδων (RAD μοριακών δεικτών), μετρήσεων με αέρια και υγρή χρωματογραφία καθώς και κατάλληλων βιοχημικών και φαινοτυπικών δεικτών.
- Γράφημα του μοριακού μηχανισμού βιοσύνθεσης και έκκρισης μαστίχας μετά από μηχανικό τραυματισμό (“κέντημα”) του φλοιού του κορμού του μαστιχόδεντρου.
- Ανάπτυξη βιο-δεικτών που συνδέονται με την περιεκτικότητα της μαστίχας σε ουσίες με αντιδιαβητική και αντιβακτηριδιακή δράση (αντι-*H. pylori*).
- Παραγωγή αρσενικών παραγωγικών μαστιχόδεντρων σε μαζική κλίμακα.
- Σπόρος από διασταυρώσεις των επιλεγμένων παραγωγικών κλώνων για απόκτηση F1 υβριδίων και δημιουργία συλλογής ταυτοποιημένου γενετικού υλικού μαστιχόδεντρων.
- Έκθεση εκτίμησης του κόστους της διάγνωσης του φύλου των σποροφύτων και του κόστους της παραγωγής ανά φυτό μαστιχόδεντρου.
- Διπλώματα ευρεσιτεχνίας για τη χρήση των μοριακών δεικτών που αναπτύχθηκαν στην υλοποίηση του Έργου.

Στόχος της πράξης είναι:

Το προτεινόμενο Έργο αποσκοπεί στην ενίσχυση της καλλιέργειας των μαστιχόδεντρων με στοιχεία από τη χρήση καινοτόμων βιοτεχνολογικών μεθόδων. Θα γίνει επιλογή από παραγωγικά μαστιχόδεντρα που είχαν εντοπιστεί από προηγούμενη έρευνα λόγω καλής παραγωγής και ποιότητας μαστίχας. Θα γίνει γενετική ταυτοποίηση αυτών με μοριακούς δείκτες (ITS1 και ITS2, ISSR και EST-SSRs) και προσδιορισμός του χημειότυπού τους με βάση τις αναλύσεις της μαστίχας με αέρια (GC-MS) και υγρή χρωματογραφία (LC-MS).

Θα μελετηθεί ο εγγενής πολλαπλασιασμός (σπόρος) αλλά και ο πολλαπλασιασμός με ιστοκαλλιέργεια, χρησιμοποιώντας νεαρά σπορόφυτα από εκβλάστηση σπόρων *in vitro*. Παράλληλα θα καταγραφούν τα εδαφογενή παθογόνα που προξενούν ζημιές και θα αναζητηθούν μοριακοί δείκτες ικανοί να αναγνωρίζουν την ανθεκτικότητα των φυτών.

Επειδή στην καλλιέργεια του μαστιχόδενδρου χρησιμοποιούνται μόνο αρσενικά φυτά, για τον προσδιορισμό του φύλου θα γίνει αξιολόγηση της χρήσης κατάλληλων μοριακών δεικτών (ISSR και SCAR), εναλλακτικών μοριακών μεθόδων (RAD μοριακών δεικτών), μετρήσεων με αέρια και υγρή χρωματογραφία της περιεκτικότητας των φύλλων σε ουσίες που πιθανώς σχετίζονται με το φύλο, καθώς και κατάλληλων βιοχημικών και φαινοτυπικών δεικτών.

Για αύξηση της παραγόμενης μαστίχας, θα διερευνηθεί ο μοριακός μηχανισμός βιοσύνθεσης και έκκρισης μαστίχας μετά από μηχανικό τραυματισμό (“κέντημα”) του κορμού του, με διαφορική ανάλυση της έκφρασης των γονιδίων (DEG) πριν και μετά τον τραυματισμό του κορμού. Επειδή η μαστίχα έχει και ιατροφαρμακευτικές ιδιότητες, θα αναζητηθούν βιο-δείκτες συνδεδεμένοι με την περιεκτικότητα της μαστίχας σε ουσίες με αντιδιαβητική και αντιβακτηριδιακή δράση (αντι-*H.pylori*). Θα γίνει απομόνωση και λειτουργικός χαρακτηρισμός γονιδίων που σχετίζονται με τη βιοσύνθεση των βιοδραστικών μορίων της μαστίχας και αξιολόγηση των παραπάνω γονιδίων ως μοριακών δεικτών συνδεδεμένων με την περιεκτικότητα της μαστίχας σε δραστικά μόρια. Από την αξιοποίηση των αποτελεσμάτων, θα γίνει παραγωγή αρσενικών μαστιχόδεντρων από σπόρο των παραγωγικότερων κλώνων για άμεση χρήση καθώς και διασταυρώσεις μεταξύ των επιλεγμένων παραγωγικών κλώνων για δημιουργία F1 υβριδίων συνοδευόμενα από γενετική ανάλυσή τους με σκοπό τη μελλοντική χρήση τους στη βελτίωση του μαστιχόδενδρου.

Τέλος, θα γίνει εκτίμηση του κόστους διάγνωσης του φύλου και της παραγωγής ανά φυτό μαστιχόδενδρου, θα επιδιωχθεί κατοχύρωση διπλωμάτων ευρεσιτεχνίας για τη χρήση των μοριακών δεικτών που αναπτύχθηκαν στο Έργο και θα ακολουθήσει η διάχυση των αποτελεσμάτων.

Οι Στόχοι του Έργου είναι:

- Επιλογή των παραγωγικότερων μαστιχόδεντρων, από μία συλλογή 65 προεπιλεγμένων παραγωγικών κλώνων, με βάση την παραγωγή τους σε μαστίχα και το χημειότυπό τους
- Γενετική ταυτοποίηση των επιλεγμένων παραγωγικών μαστιχόδεντρων με μοριακούς δείκτες
- Ανάπτυξη πρωτοκόλλων εγγενούς πολλαπλασιασμού (σπόρος) των μαστιχόδεντρων και πολλαπλασιασμού με ιστοκαλλιέργεια από σπόρο που εκβλάστησε *in vitro*
- Καταγραφή ζημιογόνων εδαφογενών παθογόνων και εξεύρεση μοριακών δεικτών ανάδειξης της ανθεκτικότητας των μαστιχόδεντρων στα παθογόνα αυτά
- Διάγνωση του φύλου νεαρών σποροφύτων με χρήση μοριακών δεικτών (ISSR, SCAR), εναλλακτικών μοριακών μεθόδων (RAD), αέριας και υγρής χρωματογραφίας και βιοχημικών & φαινοτυπικών δεικτών
- Εξερεύνηση του μοριακού μηχανισμού βιοσύνθεσης και έκκρισης της μαστίχας μετά από μηχανικό τραυματισμό του κορμού του μαστιχόδενδρου μέσω της διαφορικής ανάλυσης της έκφρασης των γονιδίων (DEG)
- Αναζήτηση βιο-δεικτών συνδεδεμένων με την περιεκτικότητα της μαστίχας σε ουσίες με

αντιδιαβητική και αντιβακτηριδιακή δράση (αντι-*H. pylori*)

- Παραγωγή σπόρου από διασταυρώσεις των επιλεγμένων παραγωγικών κλώνων για δημιουργία F1 υβριδίων για μελλοντική γενετική βελτίωση του μαστιχόδεντρου
- Παραγωγή από σπόρο αρσενικών παραγωγικών μαστιχόδεντρων μαζί
- Κοστολόγηση της διάγνωσης του φύλου και της παραγωγής ανά φυτό
- Κατοχύρωση διπλωμάτων ευρεσιτεχνίας για τη χρήση των μοριακών δεικτών

Προϋπολογισμός ΕΚΕΤΑ: **175.000,00 €**

Το έργο συγχρηματοδοτείται από το **Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης**.