

ΕΛΛΗΝΙΚΗ  
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ  
ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ  
ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ

## Πρακτικά

10<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο

*Η Βελτίωση των φυτών  
στον αιώνα  
της παγκοσμιοποίησης*

Αθήνα  
24 -26 Νοεμβρίου 2004

10<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο

10<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο  
10<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο

**ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ  
ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ**

**10<sup>ο</sup> ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ**

**ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ**

Πρόεδρος	Ξυνιάς Ιωάννης
Αντιπρόεδρος	Αραβανόπουλος Φίλιππος
Γ. Γραμματέας	Τσακτσιρά Μαρία
Ταμίας	Κουτσός Θεόδωρος
Μέλη:	Μαυρομάτης Αθανάσιος
	Τοκατλίδης Ιωάννης
	Φασούλα Διονυσία

**ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ 10<sup>ου</sup> ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ**

Πρόεδρος	Καλτσίκης Παντούσης
Αντιπρόεδρος	Μπεμπέλη Πηνελόπη
Γ. Γραμματέας	Συμιλλίδης Γεράσιμος
Ταμίας	Κατσιώτης Ανδρέας
Μέλη:	Γκόγκας Δημήτριος
	Μαυρομάτης Αθανάσιος
	Σκαράκης Γεώργιος
	Φανουράκης Νικόλαος
	Λίνος Αθανάσιος

**ΕΠΗΜΕΛΕΙΑ ΕΚΔΟΣΗΣ ΠΡΑΚΤΙΚΩΝ**

*Κατσιλέρος Αναστάσιος*

**Διάθεση:** Ελληνική Επιστημονική Εταιρεία Γενετικής Βελτίωσης Φυτών  
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού

Οι εργασίες του τόμου αυτού των Πρακτικών δημοσιεύονται με αποκλειστική ευθύνη των συγγραφέων, έπειτα από τις διορθώσεις των κριτών και ορισμένες διορθώσεις της Συντακτικής Επιτροπής ως προς τη σύνταξη και την ομοιομορφία παρουσίασης

Πρακτικά 10<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ  
ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ

---

**ΠΡΑΚΤΙΚΑ**  
**10<sup>ου</sup> ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ**

*«Η Βελτίωση των φυτών  
στον αιώνα της παγκοσμιοποίησης»*

ΑΘΗΝΑ

24–26 ΝΟΕΜΒΡΙΟΥ 2004

Παραγωγή:



Ευβοίας 5 Μαρούσι Τηλ: 210 6142550 & 210 8064002, Fax: 210 6125141  
E-Mail: sales@agrotipos.gr, www.agrotipos.gr

*Οι εργασίες του τόμου αυτού των πρακτικών δημοσιεύονται με αποκλειστική ευθύνη των συγγραφέων, μετά από τις διορθώσεις των κριτών και ορισμένες διορθώσεις της Επιστημονικής Επιτροπής όσον αφορά τη σύνταξη και την ομοιόμορφη παρουσίασή τους*

ISBN: 960-7667-28-X

Πρακτικά 10<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b>	<b>7</b>
<b><u>ΠΡΟΣΚΕΚΛΗΜΕΝΗ ΟΜΙΛΙΑ</u></b>	
Μια περιδιάβαση στο χώρο των ποσοτικών χαρακτηριστικών: Ιστορική αναδρομή και σημερινές γνώσεις. Κ. Κριμπάς	9
<b><u>ΕΝΟΤΗΤΑ Α: ΒΕΛΤΙΩΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ</u></b>	
Μεθοδολογία βελτίωσης. Α.Κ. Φασούλας	22
Αξιοποίηση ενδο-ποικιλιακής παραλλακτικότητας στο μαλακό σιτάρι. Τοκατλίδης Ι., Ξυνιάς Ι., Τσιάλτας Ι. και Ι. Παπαδόπουλος	29
Συμπεριφορά παλαιών (ντόπιων) και νέων ποικιλιών μαλακού και σκληρού σίτου σε περιβάλλον βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας. Κουτής Κ. και Στ. Γαλανοπούλου-Σενδουκά	35
Εκτίμηση της κληρονομικότητας από διασταυρώσεις μεταξύ Ελληνικών και Βουλγάρικων καθαρών σειρών καλαμποκιού. Ευγενίδης Γ., Μελλίδης Β., Καραμαλίκας Χ., Genova Ι., Vulchinkov St. και Ι. Σφακιανάκης	42
Αξιολόγηση υβριδίων γλυκού καλαμποκιού ως προς την ικανότητα αξιοποίησης των εισροών. Μυλωνάς Ι., Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου και Δ. Φασούλα	49
Σύγκριση ανάμεσα στη βελτίωση των φυτών με μοριακούς δείκτες και την κυψελωτή βελτίωση. Δ. Φασούλα	56
Επιλογή των αποδοτικότερων φυτών από δύο πληθυσμούς φασολιού στο θερμοκήπιο και την ύπαιθρο. Παπαδόπουλος Ι., Τοκατλίδης Ι., Κούτσικα-Σωτηρίου Μ. και Σπ. Κουτρούμπας	62
Αλλαγή στη γενετική παραλλακτικότητα των χαρακτηριστικών της τομάτας στις πρώτες γενεές επιλογής. Αυδίκος Η., Τράκα-Μαυρωνά Α. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	69
Η γενετική βελτίωση της βερικοκιάς στην Ελλάδα: Είκοσι πέντε χρόνια έρευνας. Σγούρου-Καραγιάννη Ειρ., Μάϊνου Α., Συργιαννίδης Γ., Στυλιανίδης Δ., Θωμίδης Θ., Παπαδόπουλος Αιμ., Νιάνιου Ειρ., Τσαγρή Μ. και Α. Τσαυτάρης	76
Σύγκριση αγρονομικής συμπεριφοράς παλαιών και νέων ποικιλιών κριθής ( <i>Hordeum vulgare L.</i> ) σε βιολογική και συμβατική καλλιέργεια. Κοπαράνης Θ., Μπλαδενόπουλος Κ. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	83
<b><u>ΕΝΟΤΗΤΑ Β: ΟΙΚΟΒΕΛΤΙΩΣΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΒΕΛΤΙΩΣΗ</u></b>	
Επίδραση συστημάτων κατεργασίας του εδάφους στην απόδοση χειμερινών σιτηρών και στον πληθυσμό της αγριοβρώμης και των εντόμων. Δήμας Κ., Λιθουργίδης Α., Βασιλάκογλου Ι. και Σ. Παπαδοπούλου	90
Επίδραση γενοτύπου και περιβάλλοντος στην προσβολή του ρυζιού από το μύκητα <i>Pyricularia oryzae</i> . Κουτρούμπας Σπ., Κατσαντώνης Δ. και Δ. Ντάνος	97
Μίγματα βίκου με χειμερινά σιτηρά για την παραγωγή ενσιρώματος και ο ανταγωνισμός τους με τα ζιζάνια. Λιθουργίδης Α., Κ. Δήμας, Ι. Βασιλάκογλου και Μ. Γιακουλάκη	104
Συμπεριφορά <i>In Vitro</i> οινοποίησης Ποικιλιών αμπέλου ( <i>Vitis Vinifera L.</i> ) πριν και μετά την εξυγίανση τους. Γραμματικάκη Γ., Αυγελής Α., Τσικαλάς Π. & Ι. Δανέλη	109

**ΕΝΟΤΗΤΑ Γ: Η ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ**

Ανταπόκριση στην ανθροκαλλιέργεια υψηλοαποδοτικών και χαμηλοαποδοτικών φυτών κριθαριού στην F <sub>3</sub> γενεά. Σιστάνης Ι., Λαζαρίδου Θ., Λιθουργίδης Α., Κοτζαμανίδης Σ. και Δ. Ρουπακιάς	116
Εκτίμηση της γενετικής ποικιλομορφίας ελληνικών ποικιλιών αγγουριού ( <i>Cucumis sativus</i> ) με ανάλυση μοριακών δεικτών (RAPDs) και περιγραφή μορφολογικών χαρακτηριστικών. Παυλικάκη Χ., Σίμος Ν. και Ν. Φανουράκης	122
Διερεύνηση των γενετικών σχέσεων μεταξύ εγχώριων ποικιλιών χειμερινού κολοκυθίου ( <i>Cucurbita spp.</i> ) με χρήση μοριακών δεικτών και μορφολογικών χαρακτηριστικών. Τσιβερίκας Α., Κουτίτα Ο., Αναστασιάδου Α., Σκαράκης Γ., Τράκα-Μαυρωνά Αικ. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	129
Ποσοτικός προσδιορισμός επιπέδων έκφρασης γονιδίων ζαχαροτεύτων με τη μέθοδο PCR πραγματικού χρόνου (Real-time PCR). Καρέτσου Κ., Κουτίτα Ο. και Γ. Σκαράκης	135
Η μετα-μεταγραφική RNA-σιώπηση γόνων (PTGS) στα φυτά. Α. Ε. Βολουδάκης	141

**ΕΝΟΤΗΤΑ Δ : ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΚΑΙ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ**

Γενετικό και πολλαπλασιαστικό υλικό: Δεσμεύσεις και επιλογές. Κούτσικα-Σωτηρίου Μ.	150
Διακυμάνσεις στην περιεκτικότητα φυτών ελληνικής καννάβευς σε Δ <sup>9</sup> -Τετραϋδροκανναβινόλη. Στεφανίδου Μ., Παπουτσής Ι. και Α. Ντονά	164
Γενετικά τροποποιημένος αραβόσιτος και οι οικονομικές διαστάσεις για τις επιχειρήσεις παραγωγής, εμπορίας και τον καταναλωτή. Αράπη Χρ., Οικονόμου Ι. και Π. Καλδής	168
Περιγραφή, αναπολλαπλασιασμός και αξιολόγηση της ανθεκτικότητας στο <i>Fusarium oxysporum</i> της Συλλογής <i>Cucurbita species</i> της Ελληνικής Τράπεζας Γενετικού Υλικού. Αναστασιάδου Α., Κούτσικα-Σωτηρίου Μ., Τράκα-Μαυρωνά Α. και Κ. Τζαβέλα-Κλωνάρη	174
Εκτίμηση της αντοχής στην ξηρασία είκοσι βιότυπων σκληρού σιταριού. Παπασταύρου Α., Λίβανος Γ., Οικονόμου Γ., Αυγουλάς Χρ. και Α. Καραμάνος	180
Ενδοπληθυσμιακή ποικιλογένεση οικονομικών χαρακτηριστικών του μελισσόχορτου ( <i>Melissa officinalis</i> L.). Πάνου-Φιλοθέου Ε., Κουνάνη Α. και Κ. Γεωργιάδης	187
Επίδραση ενδοσυσταδικών παραγόντων στη γενετική δομή των σπόρων ενός δάσους. Παπαγεωργίου Αρ., Κασσιμάδης Δ. και L. Leinemann	194
Μελέτη της γενετικής ποικιλογένεσης φυσικών πληθυσμών του δασοπονικού είδους <i>Fraxinus ornus</i> με τη χρήση μοριακών δεικτών. Παπή Ρ., Σπανός Κ. και Δ. Κυριακίδης	201
Φαινοτυπική μελέτη μερικών ξεχασμένων και μη οινόποισιμων ποικιλιών αμπέλου της χώρας μας. Ματθαίου Α. και Ν. Νικολάου	207
Κατασκευή στατιστικών μοντέλων γεωργικών πειραμάτων. Προσαρμογή του τυχαίου μοντέλου και προγραμματιστικός χειρισμός των δεδομένων για τις αναλύσεις παραλλακτικότητας. Ζ. Μιχαηλίδης	213

**ΓΡΑΠΤΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ**

Γενετικό υλικό εκκίνησης καλαμποκιού: Κριτήρια και επιλογή. Καραγκούνης Χρ. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	226
--	-----

<b>Διερεύνηση της αξιοποίησης της πολυμεταβλητής ανάλυσης στον προσδιορισμό επίλεκτου γενετικού υλικού εκκίνησης στο καλαμπόκι.</b> Τερτιβανίδης Κ., Κουτίτα Ο. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	231
<b>Σμιγδαλοποιητική συμπεριφορά ποικιλιών σκληρού σιταριού και παράγοντες που την επηρεάζουν.</b> Π. Λιακοπούλου-Γριβάκου	237
<b>Επίδραση πυκνότητας σποράς και τεχνικών μειωμένης κατεργασίας του εδάφους στην καλλιέργεια μαλακού σίτου.</b> Λιθουργίδης Α., Δήμας Κ. και Χ. Δαμαλάς	245
<b>Ταυτοποίηση Ελληνικών διαπλοειδών σειρών μαλακού σιταριού με βιοχημικούς δείκτες.</b> Ξυνιάς Ι., Κοζιούβ Ν., Σοζινόβ Ι., Λίσονα Γ., Ζαμάνη Ι., Γούλη-Βαβδινούδη Ε. και Δ. Ρουπακιάς	251
<b>Ηλεκτροφορητική ταυτοποίηση ποικιλιών σίτου που καλλιεργούνται στην Ελλάδα και ανίχνευση των γονιδίων ανθεκτικότητας στο ωίδιο.</b> Σαρδελής Σ., Hsam L. K. S. και Γ. Συμιλλίδης	256
<b>Εκτίμηση του δυναμικού παραγωγής έξι ποικιλιών κριθής (<i>H. Vulgare</i> L.).</b> Γρεβενιώτης Β., Κούτσικα-Σωτηρίου Μ. και Κ. Μπλαδενόπουλος	261
<b>Παρασκευή αντισώματος έναντι της πρωτεΐνης PnLHY για τη μελέτη του φωτοπεριοδισμού στο φυτό <i>Phaseolus vulgaris</i>.</b> Γιακουντής Α., Μαυρομάτης Α., Γούλας Χ. και Α. Προμπονά	266
<b>Γενετική σταθεροποίηση της ποικιλίας μελιτζάνας Λαγκαδά με γενεαλογική κυψελωτή επιλογή.</b> Μπλέτσος Φ. και Δ. Ρουπακιάς	273
<b>Θεοδώρα: Νέο Ελληνικό υβρίδιο τομάτας.</b> Τράκα-Μαυρωνά Α. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	277
<b>Μελέτη γενετικής παραλλακτικότητας φαινοτυπικών χαρακτηριστικών σε υλικά εκκίνησης τομάτας.</b> Τράκα-Μαυρωνά Α., Κούτσικα-Σωτηρίου Μ. και Κ. Τερτιβανίδης	282
<b>Βελτίωση στο μαρούλι.</b> Ποντίκη Μ., Τσαυτάρης Α., Γούλη-Βαβδινούδη Ε. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	288
<b>Αποκλίνουσα επιλογή για ανθεκτικότητα στο <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>melonis</i> σε εγχώρια ποικιλία πεπονιού.</b> Γιακαλής Λ. Α., Α. Αναστασιάδου, Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου, Αικ. Τράκα-Μαυρώνη και Κ. Τζαβέλα-Κλωνάρη.	295
<b>Η Βελτίωση στο σπαράγγι (<i>Asparagus officinalis</i> L.).</b> Τσιβελίκας Α., Γούλη-Βαβδινούδη Ε., Τσαυτάρης Α. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	301
<b>Έρευνα του γενετικού ελέγχου ορισμένων τερπενίων στη ρητίνη φλοιού του υβριδίου <i>P. brutia</i> (Ten.) x <i>P. halepensis</i> (Mill.).</b> Α. Γαλλής	307
<b>Συμπεριφορά υβριδίων αμπέλου (<i>Baresana</i> x <i>Baresana</i>) στη διαδικασία εξυγίανσης διαμέσου της θερμοθεραπείας <i>in vitro</i>.</b> Γραμματικάκη Γ., Αυγελής Α., Ταβουλάρης Π. και Μ. Δοξαστάκη	313
<b>Επίδραση του γενότυπου στον μικροπολλαπλασιασμό του σκλήθρου (<i>Alnus glutinosa</i>).</b> Δερβένη Α. και Ε. Μπάρμπας	317
<b>Βελτίωση στο χρυσάνθεμο (<i>Dendranthema grandiflorum</i> Kitam.).</b> Μέρμηγκα Γ., Τσαυτάρης Α., Γούλη-Βαβδινούδη Ε. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	322
<b>Μηχανισμοί αναπαραγωγής στη <i>Digitalis lanata</i> ehrh.</b> Μυλωνάς Ι., Βαβδινούδη-Γούλη Ε. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	328
<b>Ανάπτυξη γενετικού χάρτη με μικροδορυφορικούς δείκτες στην τριανταφυλλιά.</b> Hibrand-Saint Oyant L., Μπάρμπας Ε., Rajapakse S., Crespel L. και F. Foucher	332
<b>Τεχνική των διασταυρώσεων στην <i>Valeria officinalis</i>.</b> Καργιωτίδου Α., Γούλη-Βαβδινούδη Ε. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	337
<b>Τεχνική των διασταυρώσεων στην <i>Atropa belladonna</i> L.</b> Τσιροπούλου Χ., Γούλη-Βαβδινούδη Ε. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	342
<b>Υπέριχο το Διάρτητο: Ένα απομικτικό φαρμακευτικό φυτό.</b> Αυδίκος Η., Γούλη-Βαβδινούδη Ε. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	347
<b>Μηχανισμοί αναπαραγωγής και γενικά χαρακτηριστικά του <i>Salvia officinalis</i>.</b> Τζηκαλιός Γ., Γούλη-Βαβδινούδη Ε. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου	353
<b>ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ</b>	358

## **ΧΟΡΗΓΟΙ ΣΥΝΕΔΡΙΟΥ**

Η Οργανωτική Επιτροπή του 10<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών εκφράζει τις ευχαριστίες της προς τους παρακάτω χορηγούς, οι οποίοι με την οικονομική τους συνεισφορά συνέβαλαν στην κάλυψη των εξόδων του συνεδρίου.

**Bayer Crop Science Hellas**

**Bio Analytica**

**Monsanto Hellas**

**Σπύρου ΑΕΒΕ**

**Delta and Pine Land Hellas**

**Syngenta Hellas ΑΕΒΕ**

**Ελληνικά Θερμοκήπια**

**Σισμανίδης**

**Veterin ΑΕΒΕ**

**ChemBiotin ΜΕΠΕ**

**ΜΑΛΒΑ ΕΠΕ**

**Μιχάλης Μανούσος**

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Παρά την καθυστερημένη ανάθεση της διεξαγωγής του συνεδρίου, η Οργανωτική Επιτροπή πιστεύει ότι πέτυχε στο σκοπό της. Ως συνήθως η υποβολή των τελικών κειμένων των εργασιών που παρουσιάστηκαν στο συνέδριο καθυστέρησε.

Έτσι με κάποια καθυστέρηση ως προς τον αρχικό στόχο παραδίνουμε σήμερα στο επιστημονικό κοινό τα Πρακτικά του 10<sup>ου</sup> συνεδρίου της Ελληνικής Επιστημονικής Εταιρείας Γενετικής Βελτίωσης των Φυτών ευελπιστώντας ότι θα φανούν χρήσιμα.

Η ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

# ΠΡΟΣΚΕΚΛΗΜΕΝΗ ΟΜΙΛΙΑ

## ΜΙΑ ΠΕΡΙΔΙΑΒΑΣΗ ΣΤΟΝ ΧΩΡΟ ΤΩΝ ΠΟΣΟΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ: ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΚΑΙ ΣΗΜΕΡΙΝΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ

Κ.Β. Κριμπάς

Είναι προφανής η σημασία των ποσοτικών χαρακτηριστικών, τόσο στη γενετική βελτίωση των φυτών, που καλλιεργούνται, και των ζώων, που εκτρέφονται, όσον και στην νεοδαρβινική ή μάλλον την συνθετική θεωρία της εξέλιξης. Για να ανατρέξουμε στην ιστορική αρχή της διερεύνησης του θέματος πρέπει να θυμηθούμε ότι ο Δαρβίνος εθεωρούσε την εξέλιξη ως βαθμιαία διαδικασία, συνισταμένη από μικρές αλληπάλληλες αλλαγές χαρακτηριστικών, αλλαγές οφειλόμενες κυρίως στη δράση της φυσικής επιλογής. Οι αλληπάλληλες βαθμιαίες αλλαγές προϋποθέτουν συνεχείς κατανομές, δηλαδή ποσοτικά χαρακτηριστικά. Η εξέλιξη εβασίζετο στην βαθμιαία αλλαγή ποσοτικών χαρακτηριστικών ή χαρακτηριστικών που μπορούσαν να εκληφθούν ως ποσοτικά.

Μετά τον θάνατο του Δαρβίνου, η διαμάχη, που επακολούθησε στην Αγγλία, μεταξύ αφενός μεν των βιομετριστών, που θεωρούσαν τους εαυτούς τους ακραιφνείς δαρβινιστές, όπως ο Karl Pearson και ο W.F.R.Weldon, και αφετέρου των μενδελιστών, με εκπρόσωπό τους τον William Bateson, εστιάστηκε και στο θέμα των ποσοτικών χαρακτηριστικών. Ο ξάδελφος του Δαρβίνου Francis Galton ενέπνεε τους βιομετριστές χωρίς και πάντοτε να συμφωνεί μαζί τους. Είναι αυτός που ενεθάρρυνε τον Pearson να αναπτύξει την θεωρία του για το συντελεστή συσχέτισης και την παλινδρόμηση. Από τους βιομετριστές προέρχεται το μεγαλύτερο μέρος της σύγχρονης στατιστικής, αρχικά στην Αγγλία και ακολούθως στις ΗΠΑ. Οι βιομετριστές πίστευαν ότι η εξέλιξη είναι βαθμιαία και αποτυπώνεται στην αλλαγή χαρακτηριστικών με συνεχή κατανομή, κατανομή η οποία δεν υπόκειται εύκολα σε διαχωρισμό των μελών της σε διακριτές τάξεις. Επίστευαν ότι δεν ήταν δυνατόν η εξελικτική διαδικασία να βασισθεί σε μενδελίζοντα χαρακτηριστικά, δηλαδή σε χαρακτηριστικά ασυνεχή, που διέφεραν ποιοτικά. Αντίθετα οι μενδελιστές απαρνούσαν το βαθμιαίο της εξελικτικής αλλαγής και κατανοούσαν την εξέλιξη ως μια διαδικασία αλμάτων κάποιου μεγέθους. Για ορισμένους, μάλιστα, τα άλματα αυτά ήσαν μακρομεταλλαγές, μεγάλες αλλαγές του φαινοτύπου.

Ο Galton ετοποθετείτο ενδιάμεσα. Είχε πιστεύσει ότι η επιλογή δεν αλλάζει την μέση τιμή του χαρακτηριστικού στον πληθυσμό διότι παρατήρησε μια παλινδρόμηση του μέσου όρου τέκνων από επιλεγμένους γονείς για ορισμένο χαρακτηριστικό, παλινδρόμηση προς τον μέσο όρο του συνολικού πληθυσμού. Σε αυτό έσφαλε, όπως απέδειξε ο Pearson, δηλαδή παρά την παλινδρόμηση ο μέσος όρος των τέκνων διέφερε από εκείνον του πληθυσμού πριν την επιλογή, αλλά ο Galton ουδέποτε το παραδέχτηκε. Ως εκ τούτου η μόνη διέξοδος που απέμενε στον Galton για την σύσταση του εξελικτικού μηχανισμού ήταν να προσφύγει σε απότομες αλλαγές, δέχθηκε δηλαδή έναν αλματισμό. Έτσι ετοποθετήθηκε ενδιάμεσα, μεταξύ των βιομετριστών, τους οποίους εποδηγέται και ενέπνεε στην ενασχόλησή τους με τα ποσοτικά χαρακτηριστικά, και των μενδελιστών, που ήσαν και αυτοί αλματιστές, αλλά των οποίων ηρνεύετο τον μενδελικό μηχανισμό κληρονομικότητας προς όφελος ενός δικού του πολύπλοκου ποσοτικού κληρονομικού μηχανισμού. Αυτά ως προς τον Galton.

Οι δυο παρατάξεις, βιομετριστές και μενδελιστές, δεν έβλεπαν ότι ο δαρβινισμός και ο μενδελισμός αποτελούσαν αναγκαία συμπληρώματα. Μόνο μια μοναδιαία κληρονομικότητα, μια κληρονομικότητα μονάδων, οριστών ή γονιδίων, όπως αργότερα ονομάστηκαν, σε αντίθεση προς μια κληρονομική που συμπεριφέρεται σαν ένα αναμειγνυόμενο υγρό, επιτρέπει τη διατήρηση της φαινοτυπικής διακύμανσης από γενιά σε γενιά. Όντως ο μηχανικός Fleeming Jenkin είχε προβάλλει το 1867 την ακόλουθη ένσταση στον Δαρβίνο, ότι με μια αναμειγνυόμενη, δίκην υγρού, κληρονομική ουσία ο πληθυσμός σε κάθε γενιά θα έχανε την μισή «φαινοτυπική» του διακύμανση. Αντίθετα, ο άγγλος μαθηματικός G.Udny Yule παρατήρησε το 1902, ότι μια μενδελική, δηλαδή μοναδιαία κληρονομικότητα, επιτρέπει την διατήρηση της ποικιλότητας, δηλαδή της γενετικής και φαινοτυπικής διακύμανσης. Κανείς όμως δεν έδωσε προσοχή στον Yule. Το θέμα λύθηκε από τον Ronald Fisher με δημοσίευσή του το 1918 στην οποία η βιομετρία, ο δαρβινισμός και ο μενδελισμός συνετέθησαν σε μian αρμονική ενότητα. Πριν όμως από αυτήν την ένωση είχε επιτευχθεί ένα πολύ σημαντικό βήμα, η ένταξη των ποσοτικών χαρακτηριστικών στην μενδελιανή γενετική.

Από το 1908 μέχρι το 1916 διαμορφώθηκε το πρώτο μενδελιανό υπόδειγμα για τα ποσοτικά χαρακτηριστικά. Ο George H. Shull, το 1908, φέρεται να διατύπωσε πρώτος μια νύξη προ την κατεύθυνση αυτή στην προσπάθειά του να ερμηνεύσει γενετικά στο καλαμπόκι την ομοιογένεια εντός των καθαρών σειρών, που προέρχονται από αυτογονιμοποίηση, με την ετερογένεια που επικρατεί σε ένα παμμεικτικό του πληθυσμό. Από το σχήμά του εξυπονοείται ότι τα ποσοτικά χαρακτηριστικά έχουν μια γενετική βάση και μάλιστα μενδελική, αφού χάνεται η ετερογένεια με την αυτογονιμοποίηση. Ο Shull διαδραμάτισε πρωτεύοντα ρόλο στην υιοθέτηση του υβριδικού σπόρου του καλαμποκιού και στην γενική παραδοχή του φαινομένου της ετέρωσης, η οποία, κατ' αυτόν, εβασίζετο στην υπερκυριαρχία, δηλαδή στην ούτως ή άλλως ευρωστία και ανωτερότητα από απόψεως αποδόσεως των ετεροζυγωτών λόγω αυτής και μόνης της ετεροζυγωτίας των. Σήμερα γνωρίζουμε ότι η άποψη της υπερκυριαρχίας δεν φαίνεται να ανταποκρίνεται στην πραγματικότητα, ότι μάλλον θα έπρεπε να αντικατασταθεί με εκείνη της κυριαρχίας [πρόκειται δηλαδή για συνεταιρική υπερκυριαρχία, *associative overdominance*, μια υπερκυριαρχία στο επίπεδο όχι του γονιδίου αλλά συμπλόκων γονιδίων, ομάδων στενά συνδεδεμένων γονιδίων]. Μια μαζική επιλογή για την απόκτηση καθαρής σειράς απηλλαγμένης από ανεπιθύμητους υπολειπόμενους αλληλομόρφους, θα απέφερε ίσως πολύ περισσότερο από την δημιουργία καθαρών σειρών με γενική και με ειδική συνδυαστική ικανότητα για την παραγωγή καλού υβριδικού σπόρου. Φαίνεται, όπως έδειξε η διδακτορική διατριβή του Jean Pierre Berlan (1987, 2001), ότι η στροφή προς παραγωγή υβριδικού σπόρου, ο προσανατολισμός της κρατικής έρευνας στις ΗΠΑ για την παραγωγή των πρώτων καθαρών σειρών, οφείλετο εν πολλοίς στην επιρροή των μεγάλων εταιρειών, όπως της Pioneer, και στην κατεύθυνση που έδωσε ο ομοσπονδιακός γραμματέας επί της γεωργίας Henry C. Wallace το 1922. Όντως με την αποκλειστική χρήση καθαρών σειρών οι εταιρείες διασφάλιζαν την πατέντα, το *copyright*, του υβριδικού σπόρου όχι μόνο με νομικά αλλά, το κυριότερο, με ουσιαστικά, βιολογικά μέσα, δηλαδή με την αδυναμία αναπαραγωγής του από τον γεωργό.

Όπως και νάχει το πράγμα, το σημαντικό βήμα επραγματοποίησαν τρεις γενετιστές-βελτιωτές, ο σουηδός H. Nilsson-Ehle και οι αμερικανοί E.M. East και R.A. Emerson. Ο Nilsson-Ehle το 1909 δημοσιεύει τα αποτελέσματα διασταυρώσεών του στο στάρι για το χρώμα του σπόρου. Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρεί στα φυτά της  $F_2$  διασχίσεις 3:1 χρωματισμένων (ερυθρών) προς άχρους (κίτρινους) σπόρους, πράγμα που δηλώνει την διάσχιση μιας μενδελιανής μονάδας, σε άλλες όμως περιπτώσεις την διάσχιση 15:1 ή και 63:1. Προφανώς η ύπαρξη δύο ή τριών γονιδίων ανεξάρτητα διασχιζομένων γίνεται φανερή. Εξετάζοντας την τελευταία διάσχιση παρατήρησε και διαφορετικές εντάσεις στο χρωματισμό των σπόρων. Υπήρχαν λίγα φυτά με πολύ βαθύ κόκκινο χρώμα σπόρου [1/64], περισσότερα με βαθύ-κόκκινους σπόρους [6/64], ακόμα περισσότερα με λιγότερο βαθύ αλλά έντονο κόκκινο [15/64], με μέσο κόκκινο χρώμα [20/64], με λιγότερο έντονο κόκκινο χρώμα [15/64], με ελαφρά κόκκινο χρώμα [6/64] και χωρίς χρώμα [1/64]. Η ένταση του χρωματισμού παρουσίαζε μια σχεδόν συνεχή αλλαγή της έντασης, παρ' όλον ότι ήταν δυνατή η διάκριση τάξεων μεταξύ τους. Τούτο έδωσε την ιδέα στον Nilsson-Ehle να προτείνει ένα υπόδειγμα κληρονομικότητας των ποσοτικών χαρακτηριστικών. Στο στάρι το χρώμα και η έντασή του εξαρτάται από τρία ξεχωρά ανεξάρτητα γονίδια, το καθένα με δύο αλληλομόρφους, ένα που παράγει ερυθρό χρώμα και άλλον που δεν παράγει χρώμα. Δεν υπάρχει κυριαρχία. Ο αριθμός των αλληλομόρφων που παράγουν χρώμα συμβάλλει στην ένταση του χρωματισμού, ασχέτως εάν οι «κόκκινοι» αλληλομόρφοι βρίσκονται στο ίδιο ή σε διαφορετικά γονίδια. Έτσι δημιουργούνται τάξεις, οι γονότυποι των οποίων έχουν 6, ή 5, ή 4, ή 3, ή 2, ή ένα «ερυθρό» αλληλομόρφο, ή στερούνται παντελώς τέτοιου. Εάν τα γονίδια ήσαν περισσότερα στον αριθμό η κατανομή θα έτεινε σε μια συνεχή και κωδονοειδή κατανομή. Βέβαια σήμερα γνωρίζουμε ότι το μαλακό στάρι, *Triticum vulgare*, είναι αλλοεξαπλοειδές, με τρία διαφορετικά αλλά αρκετά όμοια γονιδιώματα, έτσι ώστε να εξηγείται η ομοιότης της συνεισφοράς των αλληλομόρφων των τριών γονιδίων και η προσθετικότης των. Ομοιότης, δηλαδή ισότης στην συνεισφορά, και προσθετικότης υπήρξαν από τις βασικές απλοποιητικές παραδοχές του πρώτου αυτού υποδείγματος. Η σεξουαλική αναπαραγωγή μπορεί να παράγει, με την διάσχιση των ετεροζυγωτών, σπάνιους φαινότυπους [όπως το βαθύ κόκκινο χρώμα] που ενίοτε θυμίζουν χαρακτηριστικά προγονικά. Έτσι ο Nilsson-Ehle αλλά και ο East εξηγούσαν τον αταβισμό, άτομα να παρουσιάζουν σπάνια φαινότυπο όμοιο με έναν μιας παρελθούσης γενεάς, ένα φαινότυπο που δεν βρίσκεται στους πληθυσμούς των γονέων τους, που τους υπερβαίνει. Πρόκειται για αυτό που ονομάστηκε αργότερα *transgression*, δηλαδή υπέρβαση των φαινοτυπικών ακραίων τιμών των δυο γονεϊκών γραμμών στην  $F_2$ .

Ο East (1910, 1911, 1916) και ο Emerson μόνος του (1910) ή μαζί με τον East (Emerson & East 1913) εδοκίμασαν το υπόδειγμα του Nilsson-Ehle σε αριθμό ειδών φυτών. Αν το υπόδειγμα ήταν σωστό θα έπρεπε η διασταύρωση δύο καθαρών σειρών καλαμποκιού, που διακρίνοντο για το μήκος του σπάδικος, η μία με μεγάλο μήκος και η άλλη με μικρό, να έδιδε μια ομοιόμορφη  $F_1$ , με ενδιάμεσο μήκος σπάδικος και μικρή διακύμανση, όπως εκείνη των γονεϊκών σειρών, αλλά μίαν  $F_2$  με την ίδια μέση τιμή αλλά με κατά πολύ

μεγαλύτερη διακύμανση λόγω των πολλών γονοτύπων που προέρχονται από την διάσχιση. Αυτή η μεγαλύτερη διακύμανση της δεύτερης θυγατρικής γενιάς ως προς την πρώτη και τους γονείς, απετέλεσε ισχυρή ένδειξη για την ορθότητα του υποδείγματος του Nilsson- Ehle και East.

Αργότερα στις δεκαετίες του 1940 και 1950 ο Keneth Mather, γενετιστής και στατιστικός, μαθητής του Ronald Fisher, πρότεινε μια παραλλαγή του υποδείγματος αυτού. Τα ποσοτικά χαρακτηριστικά κληρονομούνται από πολυγονίδια (polygenes), που ο Mather άφηγε να υπονοηθεί ότι μπορούν να αποτελούν και μια ιδιαίτερη κατηγορία γονιδίων, διάφορη από εκείνη που ελέγχουν ποιοτικά χαρακτηριστικά, των μειζόνων γονιδίων [major genes] και αρχικά υπεστήριξε ότι εδράζονται στην ετεροχρωματίνη. Κάθε πολυγονίδιο θα δρούσε κατά τον ίδιο τρόπο και είχε δυο μόνο αλληλομόρφους, έναν + που προσέθετε μια ποσότητα στο ποσοτικό χαρακτηριστικό, και έναν - που αφαιρούσε. Η σταθεροποιητική επιλογή θα επέφερε, κατά τον Mather, μια εξισορροπημένη δομή, εξισορρόπηση εντός του χρωματοσώματος (internal balance) καθώς και μεταξύ χρωματοσωμάτων (relational balance), [κάτι σαν την συμπροσαρμογή (coadaptation) του Dobzhansky] ώστε στο ένα χρωματοσώμα να εναλλάσσοντο + και - αλληλόμορφοι [μια δομή cis με συμπλέγματα γονιδίων ++-+....] ενώ στο άλλο, το ομόλογό του, μια συμπληρωματική δομή -+-+..... Μια κατευθυνόμενη επιλογή θα ανέτρεπε αυτές τις ισορροπίες δημιουργώντας συμπλέγματα ++++..... ή ----- δηλαδή μια transgression (K.Mather 1949, K.Mather & J.L.Jinks, 1982). Σήμερα δεν γίνονται δεκτές αυτές οι απόψεις, αλλά προσέφεραν έναυσμα για την ολοκλήρωση πολλών πειραματικών εργασιών που διευκρίνησαν πολλά θέματα.

Η πρώτη προσπάθεια χρωμοσωματικής εντόπισης γονιδίων ποσοτικών χαρακτηριστικών (για συντομία εφεξής αποκαλούμενα ποσοτικά γονίδια, πρόκειται για τα QTL= Quantitative Trait Loci) ανάγεται στο 1918, όταν ο F.Payne στη δροσόφιλα δημιούργησε με τεχνητή επιλογή σειρές με αυξημένο και μειωμένο αριθμό μικρών στεרνοπλευρικών σμυρίγγων (ποσοτικό χαρακτηριστικό) και ακολούθως με διασταυρώσεις μεταξύ τους έδειξε ότι το φυλετικό χρωματοσώμα X έφερε πολλά από αυτά τα γονίδια. Πάντως στον γερμανό K.Sax (1923) οφείλομε τον χαρτογραφικό καθορισμό ενός QTL στο φασόλι: έδειξε ότι το χρώμα του σπόρου (χρωματισμένο ή άχρουν) ήταν στενά συνδεδεμένο, ίσως και ταυτόσημο, με το βάρος του σπόρου, και επιπλέον ότι οι αλληλόμορφοι δρούσαν προσθετικά. Έκτοτε τέτοιες μελέτες, κυρίως σε φυτά, πολλαπλασιάστηκαν: του E.W.Lindstrom (1924) στις τομάτες [για σύνδεση χρώματος και μεγέθους καρπού], του H.H.Smith (1937) στον καπνό [για χρώμα και μέγεθος στις στεφάνης του άνθους], του E.W.Lindstrom (1931) αραβόσιτο, του J.Rasmusson (1927) στο μπιζέλι, του H.Wexelsen (1933, 1934) στο κριθάρι, του C.V.Green (1931, 1933) στο ποντίκι. Σε αυτήν την απαρίθμηση, παραλείποντας πολλούς ερευνητές που ενδιαμέσως προέβησαν σε εντοπισμό QTL σε χρωμοσώματα με τεχνικές όμοιες με αυτές που χρησιμοποίησε ο Th. Dobzhansky για τον εντοπισμό γονιδίων στείρτητας για τον αναπαραγωγικό φραγμό μεταξύ συγγενών ειδών δροσόφιλας, δεν πρέπει να ξεχάσουμε τον καταμερισμό των γονιδίων ανθεκτικότητας στο εντομοκτόνο DDT στα χρωμοσώματα της δροσόφιλας από τον J.F.Crow (και αργότερα για άλλα στελέχη, που προήλθαν από επιλογή, από τον J.King), όπως δεν πρέπει να παραλείψουμε την μνεία και του J.M.Thoday, ο οποίος, από το 1964 ως το 1979, μπόρεσε να εντοπίσει τα ποσοτικά γονίδια που ελέγχουν τον αριθμό των σμυρίγγων στην δροσόφιλα. Στον Thoday οφείλομε και την επινόηση μιας μεθόδου, που επιτρέπει να πάμε πιο πέρα από την απλή εντόπιση ποσοτικών γονιδίων σε ένα χρωμόσωμα: με χρήση δυο σημάνσεων εκατέρωθεν του ποσοτικού γονιδίου μπόρεσε στα προϊόντα ανασυνδυασμού τους να χαρτογραφήσει το ποσοτικό γονίδιο.

Θα πρέπει εδώ αναγκαστικά να διακόψω την αφήγηση για να σημειώσω παράπλευρες σημαντικές εξελίξεις, που επηρέασαν, τουλάχιστον εμμέσως, τη μελέτη των ποσοτικών χαρακτηριστικών. Το 1918, όπως ήδη ανέφερα, ο Ronald Fisher, στη μελέτη του, συνθέτει βιομετρία, δαρβινισμό και μενδελισμό. Η εργασία του Fisher είναι προπομπός των εργασιών των τριών μεγάλων μαθηματικών-γενετιστών που οδήγησαν, στα χρόνια της δεκαετίας του 1930, στη διατύπωση του νεοδαρβινισμού ή της συνθετικής θεωρίας της εξελίξεως, δηλαδή των Fisher, J.B.S.Haldane και Sewall Wright. Τόσον ο Fisher όσον και ο Wright ασχολήθηκαν και με τα ποσοτικά χαρακτηριστικά, μάλιστα αυτός ο τελευταίος μαζί με τον δάσκαλό του, τον γενετιστή W.E.Castle, διατύπωσαν έναν τύπο, ο οποίος μας δίνει την δυνατότητα να εκτιμήσουμε τον αριθμό των γονιδίων ποσοτικού χαρακτηριστικού στα οποία οφείλεται η φαινοτυπική διαφορά μεταξύ δυο σειρών, είναι ο τύπος των Castle-Wright. Είναι ορθός αν τον χρησιμοποιήσουμε με τις μεταβολές που του επέφεραν οι R. Lande (1981) και C.C.Cockerham (1986), και βεβαίως αν τηρούνται οι προϋποθέσεις, της αθροιστικότητας και της ίσης συμβολής εκάστου γονιδίου, αλλιώς μας δίνει έναν αριθμό «δραστικών» γονιδίων, δηλαδή με άλλα λόγια ποιος θα ήταν ο αντίστοιχος αυτός αριθμός γονιδίων στις ιδανικές συνθήκες που προϋποθέτει το υπόδειγμα. Ο προσδιορισμός «δραστικός» θυμίζει τον αντίστοιχο στο «δραστικό μέγεθος» του πληθυσμού, που υφίσταται αλλαγές του μεγέθους του. Και σε αυτήν την περίπτωση αντιστοιχεί με το μέγεθος του πληθυσμού υπό τις ιδανικές συνθήκες του υποδείγματος. Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε διάφορα φυτά (καλαμπόκι, είδη

φασολιού, πιπεριά ρύζι, καπνό, τομάτα) και σε ζώα (δρυσόφιλα, όρνιθα, ποντίκι και στο ψάρι Αστύναξ) για διάφορα ποσοτικά χαρακτηριστικά βρέθηκε ότι ο αριθμός των γονιδίων εποίκιλε μεταξύ ενός και μιας εικοσάδας. Όμως σε πολύ λίγες περιπτώσεις τα δεδομένα ακολουθούσαν το προσθετικό υπόδειγμα. Τον Wright δεν πρέπει να τον θυμόμαστε μόνο για την εξελικτική του θεωρία, της μεταβαλλόμενης ισορροπίας (Shifting Balance Theory, SBT), αλλά και για την εξαιρετικά χρήσιμη και ευφυή μέθοδο των συντελεστών βηματισμού (path coefficients) που είναι στο έπακρο βοηθητική για την επίλυση προβλημάτων ομομιξίας (inbreeding). Αυτή η μέθοδος είναι ασφαλώς γενικότερης εφαρμογής και ακόμα δεν έτυχε της αναγνώρισης που αξίζει και της ευρείας εφαρμογής στις κοινωνικές επιστήμες και ειδικά στην οικονομετρία.

Ο Fisher δεν υπήρξε μόνο ο «ιδρυτής» του μαθηματικού μοντέλου της εξελικτικής θεωρίας, αλλά επίσης αυτός που προήγαγε την στατιστική, δηλαδή την εξαγωγή στατιστικών επαγωγών (statistical inferences) από πειραματικά δεδομένα, και αυτός στον οποίο οφείλεται επίσης η σχεδίαση πειραμάτων. Στον Fisher πρέπει να αποδοθούν σε μεγάλο βαθμό οι τεχνικές της κατάτμησης ή ανάλυσης της διακύμανσης (variance) σε τμήματα (διακύμανσης, που λέγεται από μερικους διασπορά και από άλλους παραλλακτικότητας, παρ' όλο που οι δυο αυτοί όροι πρέπει να αποδίδουν άλλες έννοιες, την dispersion-στην οικολογία- και την variability) και της συνδιακύμανσης (ANOVA=ANALYSIS OF VARIANCE, ANCOVA=ANALYSIS OF COVARIANCE). Έτσι στον Fisher οφείλεται το πως διαμοιράζεται η φαινοτυπική διακύμανση ενός ποσοτικού χαρακτηριστικού σε γενετικό τμήμα, σε περιβαλλοντικό τμήμα, και σε τμήμα που οφείλεται στην αλληλεπίδραση γενετικού-περιβαλλοντικού, επίσης στο πως το γενετικό τμήμα διαχωρίζεται σε προσθετικό (additive), σε κυριαρχίας (dominance), σε επιστατικό (epistatic) κ.ο.κ. Η διακύμανση προκύπτει από δεδομένα πειραμάτων ορισμένου σχεδιασμού, που εποφελούνται των σχέσεων βιολογικής συγγένειας, και τούτο οφείλεται στον Fisher. Όλο από αυτόν καταγόμαστε πνευματικά και η επίδρασή του δεν εξαντλείται στους βιολόγους, στους ιατρούς, στους γεωπόνους και βελτιωτές αλλά υπερβαίνει τους θεωρητικούς και εφηρμοσμένους βιολογικούς κλάδους περνώντας και στην οικονομία και σε κοινωνικές επιστήμες. Η νεότερη βιομετρική σχολή που άνθισε στην Αγγλία και ιδίως στις ΗΠΑ (όπως στη Βόρεια Καρολίνα και τη Αϊόβα) αποτελεί συνέχιση της Φισεριανής παράδοσης. Ας θυμηθούμε τις συνεισφορές, στα κλασσικά συγγράμματά τους, των J.L.Lush (1937), I.M.Lerner (1950), O.Kempthorne (1957), R.W.Allard (1960), D.S.Falconer (1960,1981,1989), K.Mather (1949), K.Mather & J.L.Jinks, (1982), O.Mayo (1980), A.R.Hallauer & J.B.Miranda (1981), F.Pirchner (1983), G.Wricke & W.E.Weber (1986), D.S.Falconer & T.F.C.Mackay (1996), M.J.Kearsey & H.S.Pooni (1996), D.A.Roff (1997), M.Lynch & B.Walsh (1998), όπως και πλήθος άλλων ερευνητών βιομετρών. Βέβαια, οι βιομέτρες μελετούσαν τα ποσοτικά χαρακτηριστικά και κατέγραφαν τους τρόπους βελτίωσης αποκλειστικά με όρους κατάτμησης της διακύμανσης και έτσι παρουσιάζονταν απομακρυσμένοι από την άλλη παράδοση, εκείνη της γενετικής των σημάτων, των γονιδίων. Όπως όμως και στην περίπτωση της γενετικής των πληθυσμών, στην οποία η υιοθέτηση της ηλεκτροφόρησης και αργότερα των αλληλουχιών του DNA, επέτρεψε στους μελετητές για πρώτη φορά να μελετήσουν και να χειραγωγήσουν το υλικό τους στο επίπεδο των γονιδίων και ακολούθως του DNA, αντί για ολόκληρα χρωμοσώματα ή τμήματά τους (χρωμοσωμικές αναστροφές), τα οποία προηγουμένως μόνο μπορούσαν να μελετήσουν και κατά κύριο λόγο στη δρυσόφιλα, έτσι συνέβη και με τους βελτιωτές και τους γενετιστές των ποσοτικών χαρακτηριστικών: επεξέτειναν το πεδίο δρασεώς τους με την έλευση των υπολογιστών και με την πληρέστερη ανάλυση και γνώση των αλληλουχιών στο σύνολο του γονιδιώματος.

Όντως, μόνο η κατανόηση της δομής των γονιδίων που διέπουν τα ποσοτικά χαρακτηριστικά προσεγγίζει άμεσα την βιολογική πραγματικότητα. Πόσα γονίδια επηρεάζουν ένα τέτοιο χαρακτηριστικό, πως είναι κατανεμημένα στα χρωμοσώματα, σε ποιές θέσεις, πόσο το καθένα τους συμβάλλει στο χαρακτηριστικό, πόσο το επηρεάζει; Υπάρχουν σχέσεις κυριαρχίας, επίστασης, σε τι βαθμό το περιβάλλον συνεργεί στην διακύμανση; Μεταξύ συγγενών ειδών υπάρχουν διαφορές και ποιες, ποιες είναι οι διαφορές μεταξύ πληθυσμών που ανήκουν το ίδιο είδος; Ποιά είναι η εντός ενός πληθυσμού γενετική ποικιλότητα για το ποσοτικό χαρακτηριστικό, ποιες είναι οι συχνότητες των αλληλομόρφων των ποσοτικών γονιδίων; Σε ποιο βαθμό τα γονίδια αυτά επηρεάζουν και άλλα χαρακτηριστικά και με ποιο τρόπο; Ποιες είναι οι συχνότητες μεταλλαγής των ποσοτικών γονιδίων; Και τέλος ποιος είναι ο φυσιολογικός, ο βιοχημικός μηχανισμός με τον οποίον τα ποσοτικά γονίδια καθορίζουν το χαρακτηριστικό, τόσο κατά την ανάπτυξη όσο και στο στάδιο του ακμαίου; Την απάντηση σε αυτά και μερικά άλλα ερωτήματα επιδιώκουν οι μελετητές. Ερωτήματα που όμως είναι συχνά δύσκολο να απαντηθούν. Εδώ θα ασχοληθώ κυρίως με τις προσπάθειες εντοπισμού και ταυτοποίησης των ποσοτικών γονιδίων (QTL), και λιγότερο με τον τρόπο δράσης τους.

Από τον καιρό του Sax ο εντοπισμός εστιάσθηκε στην ανισορροπία συνδέσεως (linkage disequilibrium). Πολλοί την διακρίνουν από την απλή σύνδεση (association), χωρίς όμως να υπάρχει για την διάκριση αυτή αποχρών λόγος. Και τούτο γιατί πρόκειται για το ίδιο φαινόμενο. Το γονίδιο του ποσοτικού

χαρακτηριστικού, ή μάλλον ένας συγκεκριμένος αλληλόμορφός του, βρίσκεται σε έναν πληθυσμό μαζί με έναν αλληλόμορφο ενός άλλου γονιδίου συχνότερα από ότι κανείς θα ανέμενε από την τυχαία σύμπτωσή τους. Μπορεί μάλιστα να βρίσκονται και απόλυτα συνδεδεμένα. Το δεύτερο γονίδιο χρησιμεύει εδώ σαν σημαντής, η θέση του είναι ήδη γνωστή επιτρέπει τον καθορισμό της θέσεως του πρώτου γονιδίου.

Πως μπορεί να προκύψει μια ανισορροπία σύνδεσης; Η ανισορροπία σύνδεσης έχει συνήθως ιστορική προέλευση. Προϋπάρχει και εξακολουθεί να υπάρχει και στις επόμενες γενιές. Μια σημαντική προϋπόθεση της συνεχούς παρουσίας της είναι η ύπαρξη στενής χαρτογραφικής σύνδεσης μεταξύ των δύο γονιδίων, δηλαδή να βρίσκονται σε κοντινές θέσεις στο χρωμόσωμα. Οι διασκελισμοί (crossing over) μεταξύ τους, δηλαδή οι γενετικοί ανασυνδυασμοί, τείνουν να καταστρέφουν την αρχική ανισορροπία σύνδεσης. Τούτο γίνεται τόσο πιο αργά όσο πιο στενή είναι η σύνδεσή τους στο χρωματόσωμα, όσο πιο μικρή η μεταξύ τους χαρτογραφική απόσταση. Η ανισορροπία σύνδεσης ενισχύεται με την διέλευση του πληθυσμού από στενωπούς, από τα λεγόμενα στόμια μπουκάλας, από παροδικές απότομες σημαντικές μειώσεις του μεγέθους του πληθυσμού. Τότε, λόγω της μείωσης του πληθυσμιακού μεγέθους, και ως εκ τούτου του μικρού δείγματος της τυχαίας δειγματοληψίας των γαμετών που θα δημιουργήσουν την επόμενη γενιά, επειδή τα χρωμοσώματα σε ανισορροπία σύνδεσης είναι συχνότερα των ανασυνδυασμένων, έχουν και μεγαλύτερη πιθανότητα να βρεθούν στο τυχαίο γαμετικό δείγμα και έτσι αυξάνεται πάλι η συχνότητά τους. Άλλος τρόπος συγκρατήσεως της ανισορροπίας σύνδεσης είναι ένα είδος δράσης της φυσικής επιλογής που να τα κρατά ενωμένα μαζί. Πρόκειται για ένα ειδικό τρόπο επιλογής κατά τον οποίον υπάρχει μια επιστατική σχέση μεταξύ των αρμοστικότητων (fitnesses) των διάφορων γονοτύπων.

Πως όμως αρχικά πρωτοδημιουργήθηκε η ανισορροπία σύνδεσης; Είτε από την διέλευση ενός πληθυσμού, που βρίσκεται σε ισορροπία σύνδεσης, από στενωπό. Κατά την διέλευση τυχαία, λόγω του μικρού δείγματος, επικράτησαν τα χρωμοσώματα που είχαν έναν ορισμένο συνδυασμό αλληλομόρφων. Άλλος τρόπος δημιουργίας της ανισορροπίας σύνδεσης είναι με επιστατική φυσική επιλογή, όπως αυτήν που ανέφερα προηγουμένως. Ένας τρίτος τρόπος είναι με την κατευθυντήρια επιλογή (direct selection) μιας νέας ευνοϊκής μεταλλαγής, που πρόσφατα συνέβη. Η μεταλλαγή συνέβη σε ένα μόνο χρωμόσωμα, που έφερε ορισμένους αλληλομόρφους στα άλλα του γονίδια, ορισμένα από τα οποία κείνται κοντά στην μεταλλαγή. Η κατευθυντήρια επιλογή συμπαρασύρει, μαζί με την μεταλλαγή, και τους αλληλόμορφους των γονιδίων που συνδέονται με αυτήν (selective sweeps). Αυτή η διαδικασία ονομάζεται και hitch-hiking (ωτοστόπ) γιατί θυμίζει ότι οι επιβαίνοντες ενός οχήματος ακολουθούν παθητικά και συμπαρασύρονται από τον οδηγό, τον μόνο που κατευθύνει το όχημα (J. Maynard Smith & J. Haigh 1974).

Οι καθαρές σειρές έχουν εκ κατασκευής ισχυρές ανισορροπίες σύνδεσης (καθεμιά τους προήλθε από σειρά πληθυσμιακών στενωπών). Στις διασταυρώσεις τους εξακολουθούν να διατηρούν ορισμένες από αυτές τις ανισορροπίες σύνδεσης, τις οποίες μπορούμε να παρακολουθήσουμε προς όφελός μας στην προσπάθεια εντοπισμού ποσοτικών γονιδίων. Μπορεί επίσης να καταφύγει στη μελέτη οικογενειών, όταν ο ένας γονέας είναι ενδεικτικός, δηλαδή παρέχει δυνατότητα αντήσεως πληροφοριών. Πολλά και εκλεπτυσμένα προγράμματα έχουν συντεθεί για την σχεδίαση και ανάλυση τέτοιων αποτελεσμάτων. Όντως σήμερα τα προγράμματα αυτά δεν εμπιστεύονται το απλοϊκό υπόδειγμα της προσθετικότητας και της ίσης συμβολής. Πολλά προβλέπουν και άνισες συνεισφορές και κυριαρχικές και επιστατικές δράσεις και βεβαίως μη ανεξάρτητο διάσχιση διαφορετικών ποσοτικών γονιδίων, που είναι εκ των πραγμάτων συνδεδεμένα. Έχουν γίνει πολλές θεωρητικές συνεισφορές σε αυτόν τον τομέα, μνημονεύω τώρα εδώ μόνο εκείνες του Russell Lande, που άλλαξαν την εικόνα του πεδίου αυτού.

Στον άνθρωπο, τελευταία, γίνεται συχνά λόγος για την αναγνώριση των απλοτύπων του, μια επακόλουθη εργασία της αλληλουχίας του συνόλου γονιδιώματός του (genome sequencing). Όντως υπάρχουν, και εξακολουθούν να υφίστανται, ομάδες στενά συνδεδεμένων αλληλομόρφων γονιδίων, ομάδες που διαδέχονται η μια την άλλη κατά διαστήματα σε όλο το μήκος των χρωμοσωμάτων. Η γνώση αυτών των ομάδων, των απλοτύπων, είναι πολύτιμη και από θεωρητική πλευρά και για την ανίχνευση γονιδίων ασθενειών. Οι απλοτύποι οφείλονται πιθανώς στην διέλευση του συνόλου ανθρώπινου πληθυσμού, τουλάχιστον εκείνου εκτός Αφρικής αλλά που προήλθε από την Αφρική, από στενωπό εδώ και 40 000 ως 60 000 χρόνια, όπως δείχνουν τα μοριακά δεδομένα, τόσον τα μιτοχονδριακά όσον και του μη ανασυνδυαζόμενου τμήματος του φυλετικού χρωματοσώματος Y (L.L. Cavalli-Sforza 2004).

Για τον εντοπισμό των ποσοτικών γονιδίων χρησιμοποιούνται περισσότερες από μια σημάνσεις, κατανεμημένες, στις ευνοϊκές περιπτώσεις, σε ισομεγέθεις περίπου αποστάσεις στο χρωμόσωμα. Τέτοιες είναι οι μοριακές σημάνσεις που οφείλονται σε αλλαγή μιας βάσεως (και που ανιχνεύονται με περιοριστικά ένζυμα, RFLP, Restriction Fragment Length Polymorphism) ή άλλες μοριακές σημάνσεις (ενθέσεις, ελλείψεις, αγκυροβολημένα μεταθετά στοιχεία, διαφορικές tandem επαναλήψεις μικρών τμημάτων κ.α.) Ένας τρόπος

αξιολόγησης των ευρημάτων χρησιμοποιεί την εκτίμηση των LOD (Likelihood Of Odds, πιθανοφάνεια των δεδομένων, N.E Morton 1955, E.S.Lander & D.Botstein 1989). Πρόκειται για ένα λόγο, της συνάρτησης της μέγιστης πιθανοφάνειας για την περίπτωση της μηδενικής υπόθεσης, ότι δηλαδή δεν υπάρχει διάσχιση ενός ποσοτικού γονιδίου, QTL, προς την συνάρτηση της μέγιστης πιθανοφάνειας στην περίπτωση ενός QTL που διασχίζεται σε ορισμένη χαρτογραφική απόσταση  $c$  από τον σημαντή. Ο λόγος αυτός (ή ο φυσικός του λογάριθμος), όταν υπερβεί την τιμή που τον καθιστά στατιστικά σημαντικό, σημειώνει την παρουσία και θέση του ποσοτικού γονιδίου. Η πιθανότερη θέση είναι αυτή στην οποία το LOD ή ο λογάριθμός του είναι μέγιστος. Βέβαια τα πράγματα δεν είναι πάντοτε απλά, δυο ποσοτικά γονίδια που αλληλεπιδρούν ή που έχουν και αντίθετες επιδράσεις στο ποσοτικό χαρακτηριστικό, μπορούν να δυσκολεύσουν ή και να καταστήσουν άγονη την προσπάθεια εντοπισμού.

Τις πρόσφατες δεκαετίες έγιναν δραματικής εμβέλειας αλλαγές σε δυο τομείς που επηρέασαν σημαντικά στη μελέτη της ποσοτικής κληρονομικότητας. Η πρώτη αφορά στη γενικευμένη χρήση υπολογιστών μεγάλης ταχύτητας. Η συνεισφορά, που συνήθως αναφέρεται, είναι στην ανάλυση του τεράστιου γονιδιωματικού υλικού, που προήλθε από την ανάλυση των αλληλουχιών των βάσεων του DNA. Δεν πρόκειται όμως γι' αυτό. Με εξομοιώσεις είναι δυνατή η εκτίμηση του στατιστικού σφάλματος πολυπλόκων εκτιμήσεων, που η μέχρι τώρα θεωρία αδυνατούσε να προσφέρει. Και κάτι παραπάνω, μπορούμε να ελέγξουμε και την ευρωστία (robustness) ορισμένων δοκιμασιών που μέχρι τώρα χρησιμοποιούσαμε. Πολλές φορές παραβλέπομε τις προϋποθέσεις που τίθενται για την εφαρμογή μιας στατιστικής δοκιμασίας. Έτσι λ.χ. έγινε φανερό ότι η δοκιμασία  $t$  του Student είναι εύρωστη σε μεγάλο εύρος συνθηκών, ενώ η δοκιμασία  $F$ , του λόγου δυο διακυμάνσεων, δεν είναι. Οι εξομοιώσεις αυτές συχνά βασίζονται σε τεχνικές αναδειγματοληψίας. Από ένα μοναδικό δείγμα δημιουργούμε τεχνητά πλήθος δειγμάτων. Τούτο επιτυγχάνεται με την ανακύκλωση των ίδιων των μετρήσεων μιας δειγματοληψίας με νέες δειγματοληψίες επ' αυτής, είτε με αντικατάσταση μιας μέτρησης με άλλη από την ίδια ομάδα των μετρήσεων που έγιναν (resampling with replacement), είτε με την αποκοπή τμήματός τους κάνοντας χρήση μικρότερου δείγματος (συνήθως κατά μία μέτρηση). Οι ονομασίες της δεύτερης είναι jackknife και της πρώτης bootstrap (B.Efron 1982). Η αναδειγματοληψία κατά κάποιον τρόπο, αν και θεμιτή, αρύεται δεδομένα από το ίδιο πληροφοριακό σώμα δεδομένων. Αυτό και υποδηλώνει και το bootstrap: ο βαρώνος Μυγχάουζεν (Münchhausen), μέγας φαναρόνος και ψεύτης, διετεινέτο ότι ανέβηκε προς το φεγγάρι με το να τραβά τα κορδόνια (bootstraps) του δεξιού του παπουτσιού προς τα πάνω και όταν τούτο ανέβηκε λίγο να τραβά ακολούθως προς τα πάνω εκείνα του αριστερού του παπουτσιού και ούτω καθεξής. Φαίνεται ότι κάτι τέτοιο θεώρησαν ότι επραγματοποιείτο με την αναδειγματοληψία. Και όμως ως προς την εύρεση του στατιστικού σφάλματος οι τεχνικές αυτές είναι θεμιτές και είναι ότι καλύτερο έχουμε ανά χείρας.

Η δεύτερη πρόοδος βρίσκεται στις μοριακές τεχνικές και στα δεδομένα που προέκυψαν από αυτές. Με την πρόοδο των ερευνών φανερώθηκε μια διαφορετική εικόνα του γονιδιώματος από αυτήν που μέχρι τότε ιδεαζόμαστε. Το κομπολόι ή μάλλον τον κομποσκοίνι, στο οποίο οι κόμποι, δεμένοι σε σταθερά σημεία του σχοινοσίου, δηλαδή η εικόνα των γονιδίων σταθερά αγκυροβολημένων κατά μήκος του χρωμοσώματος είναι η εικόνα που μιάς χάρισε η σχολή του T.H.Morgan και των συνεργατών του C.Bridges, A.H.Sturtevant και Th.Dobzhansky. Αυτή η εικόνα αντικαταστάθηκε από μια πιο δυναμική παράσταση, ενός γονιδιώματος που βρίσκεται σε διαρκή αλλαγή. Αλλαγή που προκαλείται από άνισα crossing over (unequal c-o), που προκαλούν διπλοποιήσεις τμημάτων και ελλείψεις, από τον προσηλυτισμό γονιδίων (gene conversions), από μεταθέσεις (transpositions) μεταθετών στοιχείων, που εισέρχονται και εξέρχονται από ορισμένες θέσεις του χρωμοσώματος, ή από μια θέση μεταπηδούν σε άλλη, και δημιουργούν μεταλλαγές όταν προσγειώνονται σε κωδική περιοχή γονιδίου, μεταθετά στοιχεία που με την κινητικότητά τους προκαλούν θραύσεις του χρωμοσώματος και δημιουργούν αναστροφές, από ξεγλυστρίματα κατά την χρωμοσωματική ή μάλλον μοριακή αντιγραφή του DNA (replication slippages), που προκαλούν επαναλήψεις, από πλήθος διαδικασιών που αναμοχλεύουν το γενετικό υλικό. Ένα μεγάλο μέρος του DNA είναι σε μεγάλο βαθμό επαναλαμβανόμενο και προέρχεται από ενσωματωμένα ανενεργά, τρόπον τινά «απολιθωμένα», μεταθετά στοιχεία και ιούς, δηλαδή παράσιτά του. Αλλά πάλι μεταθετά στοιχεία είναι ενεργά.

Στη δράση ενεργών μεταθετών στοιχείων οφείλονται πολλές μεταλλαγές: υπολογίστηκε ότι ανέρχονται σε 50% των γνωστών μεταλλαγών στη δροσόφιλα. Πολλές είναι γνωστές στα φυτά και αφορούν γονίδια χρωματισμού, στο καλαμπόκι, στις πετούνιες και στο σκυλάκι. Στη δροσόφιλα σε ορισμένα γονίδια, όπως στην περιοχή *achaeta-scute*, περιοχή που επηρεάζει ένα ποσοτικό χαρακτηριστικό, τον αριθμό των μικρών στερνοπλευρικών σμυρίγγων, η ποικιλότητα που προέρχεται από την είσοδο και έξοδο μεταθετών στοιχείων βρέθηκε σημαντική. Μόνο οι ενθέσεις δικαιολογούσαν 5% της διακύμανσης του φυσικού πληθυσμού. Σε άλλο γονίδιο δικαιολογούσαν το 10% της συνολικής διακύμανσης. Ο αριθμός των πολλαπλών

κατά σειρά αντιγράφων (tandem) του 28S RNA στη δροσόφιλα είναι το πεδίο προσγειώσεως άλλου μεταθετού στοιχείου, του R1. Όταν στο 1/3 των αντιγράφων των γονιδίων εντεθεί το μεταθετό στοιχείο, εμφανίζονται τα πρώτα συμπτώματα της ανώμαλης κοιλίας, ενός παθολογικού συνδρόμου με ποσοτική έκφραση.

Πάντως η πιο σημαντική συνεισφορά της μελέτης του γενετικού υλικού στο επίπεδο του DNA, για τα ποσοτικά χαρακτηριστικά, προέχεται από την αλληλουχία των βάσεων όλου του γονιδιώματος με την εξαίρεση περιοχών που δεν αλληλουχήθηκαν και αποτελούν εξαιρετικά δύσκολες, περιοχές υψηλής επαναληπτικότητας ή περιοχές έρημες γονιδίων. Με αυτόν τον τρόπο είναι δυνατό να γνωρίζουμε εξαντλητικά όλα τα υπάρχοντα γονίδια, δηλαδή τις περιοχές που αποτελούν αναγνώσιμα πλαίσια (open reading frames, ORF). Έτσι, όταν με την χαρτογράφηση περιορισθεί τη θέση του ποσοτικού γονιδίου (QTL) σε μικρό τμήμα, το ψάρεμά του, καθίσταται ευκολότερο. Επίσης καθίσταται δυνατή η διάκρισή του με λειτουργικά κριτήρια μεταξύ των ολίγων σιμά τοποθετημένων γονιδίων της μικρής αυτής περιοχής. Δεν υπάρχουν ακόμα πολλά ευκαρυωτικά είδη στα οποία να είναι πλήρως αποκωδικοποιημένο το γονιδίωμα. Στα φυτά προς το παρόν έχουμε αποκωδικοποιημένο το πλήρες γονιδίωμα του *Arabidopsis thaliana*, των δύο υποειδών του καλλιεργουμένου ρυζιού και της λεύκης. Ίσως προσεχώς να προστεθούν σε αυτά και το γονιδίωμα της τομάτας και του αραβοσίτου. Στα σπονδυλωτά ζώα πλην των γονιδιωμάτων του ανθρώπου και του ποντικού σε λίγο αναμένεται η συμπλήρωση εκείνων της όρνιθας και του σκύλου, ενώ θα τα ακολουθήσει το γονιδίωμα της αγελάδας.

Μια σημαντική πρόοδος επετεύχθη με τη μέθοδο των E.S.Lander & D.Botstein (1989) για την χαρτογράφηση μενδελιανών παραγόντων ποσοτικών χαρακτηριστικών με την χρήση χαρτών RFLP, δηλαδή μοριακών σημάνσεων που να είναι κατάλληλα κατανομημένες κατά μήκος των χρωματοσωμάτων. Βέβαια η μέθοδός τους απευθύνθηκε αρχικά στον άνθρωπο, αργότερα όμως χρησιμοποιήθηκε και στην τομάτα. Ένα ενδιαφέρον και άξιο προσοχής μέρος της μεθόδου είναι η εξέταση εκείνων των ομάδων ατόμων, που προήλθαν από τεχνητή επιλογή και βρίσκονται να διαφέρουν πολύ από τον αρχικό μέσο όρο, λ.χ. σε απόσταση από αυτό 3σ και άνω. Σε αυτές τις ομάδες αναμένεται με μεγαλύτερη συχνότητα η συγκέντρωση των αλληλομόρφων των γονιδίων που επηρεάζουν θετικά (ή αρνητικά) το ποσοτικό χαρακτηριστικό.

Τι μάθαμε μέχρι τώρα από τις σύγχρονες έρευνες για τα ποσοτικά γονίδια; Από μια σύγχρονη ανασκόπηση του θέματος από την Trudy Mackey (2004) δανείζομαι ορισμένες πληροφορίες. Η μεταλλαξιογένεση αποτελεί μια αποτελεσματική μέθοδο εντοπισμού και εκτιμήσεως του αριθμού των ποσοτικών γονιδίων. Οι μελέτες όμως αυτές είναι ελάχιστες και οι πληροφορίες που μας παρέχουν ανεπαρκείς. Μια εκτεταμένη έρευνα στον σακχαρομήκητα δίνει ότι αν γονίδια καταστούν ανενεργά (με ελλείψεις) το 17% από αυτά οδηγούν στην αβιωσιμότητα, ενώ τα 40% των γονιδίων μεταβάλλουν τον ρυθμό ανάπτυξής του. Δεδομένου ότι μελετήθηκε το 1/3 των άνω των 6 000 περίπου γονιδίων του μύκητος, μπορεί κανείς να συμπεράνει ότι περίπου 2 500 γονίδια επηρεάζουν και συμβάλλουν στο καθορισμό του ρυθμού ανάπτυξης του μύκητος. Σε διάφορες μελέτες αποδείχθηκε ότι η ενσωμάτωση μεταθετών στοιχείων αυξάνει την ποικιλότητα ποσοτικών χαρακτήρων σε καθαρές σειρές. Ειδικά, σε μελέτη στη δροσόφιλα, μεταθετά στοιχεία ενσωματούμενα μπορούν να αυξήσουν την δραστηριότητα ενζύμων του ενδιάμεσου μεταβολισμού. Όμως, και τούτο μου φαίνεται σημαντικό, η αύξηση της δραστηριότητας του ενδιάμεσου μεταβολισμού δεν οφείλετο στην αλλαγή της πρωτεϊνικής δομής των ενζύμων, στην αλλαγή αμινοξέων τους, δηλαδή σε αλλαγή κωδικής περιοχής. Προφανώς έχουμε να κάνουμε με αλλαγές έκφρασης των γονιδίων. Σε αλλαγές του ελέγχου παραγωγής τους ή αλλαγές της δραστηριότητάς τους, δηλαδή αλλαγές σε μηχανισμούς ελέγχου γονιδίων στο DNA (σε υποκινητές κλπ) ή σε μηχανισμούς ανάδρομου ελέγχου των μεταβολικών οδών.

Η μέθοδος του εντοπισμού και ταύτισης ποσοτικών γονιδίων που προτιμάται και σήμερα είναι εκείνη της ανισοροπίας συνδέσεως. Όπως ήδη προανέφερα η πυκνή μοριακή σήμανση καθιστά περισσότερο εφικτό τον εντοπισμό τους. Σε ένα πρώτο στάδιο εντοπίζονται αδρομερώς οι ενδιαφέρουσες περιοχές, σε ένα δεύτερο επιβεβαιώνονται τα αποτελέσματα με μια πιο εκλεπτυσμένη χαρτογράφηση, ενώ σε ένα τρίτο στάδιο γίνεται προσπάθεια ακριβούς εντοπισμού, την οποίαν επιβοηθούν και μελέτες λειτουργικής δραστηριότητας των γονιδίων στην συγκεκριμένη περιοχή. Αυτή η τακτική επιτρέπει οικονομία εργασίας και υλικών. Χρησιμοποιούνται καθαρές σειρές και προϊόντα τοπικού ανασυνδυασμού τους, τα RIL (Recombinant Inbred Lines). Αυτά τα RIL προέρχονται από μια αρχική διασταύρωση δυο καθαρών σειρών (ή ειδών, ή υποειδών), τα προϊόντα της οποίας επανειλημμένα αναδιασταυρώνονται με τον ένα γονέα ενώ στους απογόνους επιλέγονται εκείνοι που φέρουν ορισμένες σημάνσεις, έτσι ώστε να κρατιέται μια συγκεκριμένη μικρή περιοχή του ενός γονιδιώματος μέσα σε ένα καθαρό γενετικό background του άλλου γονιδιώματος. Μελετήθηκαν, όπως είναι φυσικό πολλοί ποσοτικοί χαρακτήρες που παρουσιάζουν γεωργικό ενδιαφέρον σε φυτά και ζώα όπως είναι επίσης και χαρακτηριστικά στο κατ' εξοχήν πειραματικό υλικό της γενετικής, την δροσόφιλα. Το όριο του επιτευχθέντος εντοπισμού, σε αυτό το τελευταίο είδος, φθάνει τα 9 cM, δηλαδή περίπου 4 500

χιλιοβάσεις. Δεδομένου ότι ένα σύνθετο γονίδιο έχει μήκος 9 χιλιοβάσεων, ο εντοπισμός περιλαμβάνει περίπου 500 γονίδια. Είμαστε ακόμα μακριά από τον εντοπισμό ενός μόνο γονιδίου. Από την άλλη μεριά ο αριθμός των περιοχών που φέρουν τέτοια γονίδια μπορεί να υποτιμάται, πρώτα διότι τα εξεταζόμενα άτομα είναι περιορισμένου πλήθους και έτσι διαφεύγουν περιοχές με γονίδια μικρής εμβείας, αφετέρου γιατί η μέθοδος εντοπίζει περιοχές στις οποίες διαφέρουν οι καθαρές σειρές μεταξύ τους, όχι όλα τα γονίδια που επηρεάζουν το χαρακτηριστικό.

Παρά ταύτα, σε ορισμένες ευνοϊκές και ειδικά μελετημένες περιπτώσεις, κατορθώθηκε ο εντοπισμός του ίδιου του γονιδίου. Μαζί με την ακριβή χαρτογραφική του θέση συνετέλεσαν σε τούτο και άλλες δοκιμασίες, όπως της λειτουργικής αναπλήρωσης. Αν λ.χ. έχουμε λόγους να θεωρούμε ορισμένο γονίδιο ως γονίδιο του ποσοτικού χαρακτήρος, τότε είτε με κατασκευή διαειδικών ατόμων (με διαειδική διάσωση ή έλλειψη διασώσεως), είτε με άλλο τρόπο, προσπαθούμε να δούμε αν μια μεταλλαγή του γονιδίου αυτού, που το καθιστά ανενεργό, αναπληρώνεται ή όχι (complementation test) με την προσθήκη ενός γονιδίου προερχόμενου από το άλλο είδος, που γνωρίζουμε ότι είναι QTL ή υποψήφιο QTL. Έτσι εντοπίστηκαν και ταυτίστηκαν λίγα ποσοτικά γονίδια:

-- ένα γονίδιο, το *teosinte-branched 1* που καθορίζει την διαφορά των ταξιανθιών μεταξύ αραβοσίτου και τεοσίτης. Είναι ένα από τα 5 γονίδια στα οποία τα δυο αυτά είδη διαφέρουν.

--στην τομάτα το γονίδιο *ORF X* καθορίζει, μαζί με 3 άλλα, το βάρος του καρπού, ενώ το γονίδιο μιας αποπλασματικής μβεράσης καθορίζει στον καρπό την συγκέντρωση της φρουκτόζης και της γλυκόζης.

--επίσης ταυτίστηκε ένα γονίδιο που προκαλεί είδος διαβήτη στο ποντίκι, ένα άλλο γονίδιο στον άνθρωπο, ένα τρίτο γονίδιο στο ποντίκι που παρεμποδίζει την ανάπτυξη καρκίνου, πρόκειται για ένα γονίδιο μιας εκκρινόμενης φωσφολιπάσης,

-- τέλος μερικά γονίδια σε κατοικίδια ζώα, το γονίδιο της διακυλογλυκερόλης ακυλοτρανσφεράσης, *DGAT*, και εκείνο του υποδοχέως της αυξητικής ορμόνης, *GHR*, φαίνεται να αποτελούν στην αγελάδα μείζονα γονίδια από την συνεισφορά τους στην γαλακτοπαραγωγή, και στους χοίρους τα γονίδια του παράγοντος αναπτύξεως παρόμοιου με ινσουλίνη, *IGF2*, και το υπεύθυνο για την κακοήγη υπερθερμία, που είναι του υποδοχέα της ρυανοδίνης, ενός διαύλου του ασβεστίου, *RYR1*, που και τα δύο συμβάλλουν στην ανάπτυξη μωών χωρίς λίπος (L.Andersson & M.Georges 2004) κ.ο.κ.

Οι περιπτώσεις όμως πλήρως καθορισμού είναι λιγιστές και ο κόπος για να επιτευχθούν δεν είναι αμελητέος. Πολύ περισσότερο γνωρίζουμε τον καθορισμό ευρύτερων περιοχών που φιλοξενούν QTL, όπως στην περίπτωση των διαφορών των εξωτερικών genitalia μεταξύ δυο ειδών δροσόφιλας, των *Drosophila simulans* και *D. mauritiana*.

Μερικά τα ευρήματα αυτά έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Όπως ότι στην περίπτωση του γονιδίου που αυξάνει την διακινδύνευση για τον διαβήτη τύπου 2 στον άνθρωπο, το γονίδιο *CAPN10* (καλαπίνη 10), οι διαφορές αλληλομόρφων δεν αφορούν δομικές διαφορές της πρωτεΐνης αλλά βρίσκονται στην μη κωδική περιοχή. Το ίδιο είδαμε πως συμβαίνει στη δροσόφιλα με την δραστηριότητα των ενζύμων του ενδιάμεσου μεταβολισμού. Μια τρίτη περίπτωση είναι του παράγοντα αναπτύξεως παρόμοιου με την ινσουλίνη, *IGF2*, στο οποίο εντοπίστηκε η αλλαγή μιας βάσεως σε μη κωδική περιοχή.

Εδώ προσεγγίζουμε μια άλλη, πολύ σημαντική διάσταση, τον έλεγχο λειτουργίας του γονιδίου. Τελευταία έχει γίνει γνωστό ότι διάφορα είδη RNA διαδραματίζουν ρόλο στην παρεμπόδιση της γονιδιακής έκφρασης στο μεταφραστικό επίπεδο. Παρεμποδίζεται δηλαδή το αγγελιοφόρο RNA (mRNA). Αρχικά βρέθηκε ότι δίκλωνο RNA (dsRNA= double stranded RNA), εξωτερικής προελεύσεως, κόβεται και ξετυλίγεται από ένζυμο του οργανισμού (Drosha, Dicer), καθίσταται μονόκλωνο και ένας από τους κλώνους του ενώνεται, λόγω συμπληρωματικότητας των βάσεων του, με περιοχές αγγελιοφόρου RNA (μάλιστα στην αμετάφραστη 3' περιοχή του, ενωνόμενο κατά διάφορους τρόπους με τμήματα, δημιουργώντας συμπλέγματα, τα RISC= RNA-induced silencing complex). Έτσι το αγγελιοφόρο RNA καθίσταται ανενεργό. Σήμερα γνωρίζουμε ότι το δίκλωνο αυτό RNA έχει ενδογενή προέλευση, υπάρχουν δηλαδή γονίδια που συνθέτουν αυτό το δίκλωνο παρεμποδιστικό RNA, δίκλωνο που κόβεται από το ένζυμο Drosha, εξέρχεται από τον πυρήνα του κυττάρου χάρις στην πρωτεΐνη exportin 5, και μετά την έξοδό του κόβεται πάλι αλλιώς από το ένζυμο Dicer καθιστάμενο μονόκλωνο. Πρόκειται για το μικροRNA (miRNA) μήκους 21 -25 βάσεων. Με αυτό ο ίδιος ο οργανισμός παρεμποδίζει σε ορισμένα τμήματά του και σε ορισμένη χρονική περίοδο της ανάπτυξής του την έκφραση γονιδίων του. Από την άλλη μεριά υπάρχουν ενδείξεις ότι αυτά τα RNA-γονίδια χρησιμεύουν στα φυτά και για την καταπολέμηση των ιών RNA, που τα μολύνουν (L.He & G.J.Hannon, 2004).

Μια επιπλέον πολυπλοκότητα προέρχεται από την επιγενετική κληρονομικότητα. Πρόκειται για μια μάλλον βραχυρόνια, μη μενδελιανή, κληρονομικότητα μεταβολών, που θα περιμέναμε να ανασκευάζονται σε κάθε νέο ζυγωτό, αλλά που δεν γίνεται. Ένας πρόδρομος των επιγενετικών φαινομένων ήταν η γονεϊκή

αποτύπωση (imprinting): τα γονίδια ενός εκ των δύο γονέων, συχνά του πατέρα, καθίστανται ανενεργά για ορισμένη περίοδο. Η απενεργοποίηση του ενός εκ των δύο χρωμοσωμάτων X στα θήλεα των θηλαστικών, που περιέγραψε η Mary Lyon, ανήκει στον ίδιο κύκλο φαινομένων, όπως ίσως και η paramutation στο καλαμπόκι που περιέγραψε ο R.A. Brink (ορισμένοι αλληλομόρφοι γονιδίων χρωματισμού αλλάζουν την έκφρασή τους αν συνευρεθούν μαζί με άλλους). Στα επιγενετικά φαινόμενα έχουμε αποσιωπήσεις γονιδίων. Οι αποσιωπήσεις οφείλονται σε μεταβολές αυτού τούτου του DNA με μεθυλίωση κυτοσινών της κωδικής περιοχής ή άλλου. Μπορεί όμως οι παρεμβάσεις να γίνονται και στις ιστόνες με μεθυλιώσεις, ακετυλιώσεις, φωσφορυλιώσεις, προσδέσεις συμπικουιτίνης κ.α. που μετατρέπουν την χρωματίνη σε ετεροχρωματίνη (δηλαδή καθιστούν πολύ συμπυκνωμένο το πακετάρισμα της χρωματίνης). Θα μπορούσε κανείς να περιγράψει τα επιγενετικά φαινόμενα ως ένα είδος καθυστερούμενου ελέγχου γονιδιακής έκφρασης. Σε αυτούς τους επιγενετικούς μηχανισμούς οφείλεται κάποιο τμήμα της φαινοτυπικής διακύμανσης του πληθυσμού.

Υπάρχουν δυο θεωρητικές προτάσεις για την κατανομή της συνεισφοράς των ποσοτικών γονιδίων. Η πρώτη, το απειροστικό υπόδειγμα (infinitesimal model) υποθέτει ότι τα γονίδια είναι πάμπολλα και το καθένα συνεισφέρει μια μικρή και ίση μεταξύ τους συμβολή. Η δεύτερη (του Alan Robertson) υποστηρίζει ότι ορισμένα γονίδια έχουν μεγαλύτερη, πιο σημαντική συμβολή από άλλα. Πρόκειται για τα μείζονα ποσοτικά γονίδια, ακολουθούμενα από πλήθος άλλων με μικρές συμβολές. Η κατανομή των συνεισφορών είναι εκθετική. Από τα μέχρι σήμερα δεδομένα η δεύτερη υπόθεση φαίνεται να επαληθεύεται. Όμως η μελέτη των ποσοτικών γονιδίων είναι δυσχερής, όπως παρατηρήσαμε ήδη. Αλληλεπιδράσεις του γενετικού με το περιβάλλον, καθώς και επιστατικές δράσεις δυσκολεύουν την μελέτη τους. Επιστατικές δράσεις συναντούμε και στο ρύζι, σε γονίδια ποσοτικά για την απόδοσή του. Διαλληλικές διασταυρώσεις στη ντομάτα δείχνουν επίσης μια ανταγωνιστική επίσταση στα γονίδια που αναφέρονται στις αποδόσεις. Το ίδιο δείχνουν έρευνες σε κατοικίδια ζώα (L. Andersson & M. Georges 2004). Προς την ίδια κατεύθυνση, της ύπαρξης επίστασης, οδηγούν οι μελέτες για την γενετική των ανθρώπινων ασθενειών (C.S. Carlson, M.A. Eberle, L. Krugliak & D.A. Nickerson, 2004).

Σε ορισμένα καλά μελετημένα φαινόμενα στον άνθρωπο, όπως είναι η πήξη του αίματος και ο σχηματισμός θρόμβου, γνωρίζουμε ότι συμμετέχουν πολλές πρωτεΐνες, που ενεργοποιούν ή παρεμποδίζουν άλλες, στις οποίες, δηλαδή, τα προϊόντα της δράσης ενός γονιδίου επηρεάζονται, θετικά ή αρνητικά, από τα προϊόντα της δράσης άλλων γονιδίων. Είναι προφανές ότι εξ αυτού παρατηρείται η παρουσία επιστατικών αλληλεπιδράσεων.

Οι ασθένειες του ανθρώπου (όπως του διαβήτη, της σχιζοφρένειας κ.α.) αποτελούν σύμπλοκα, πολύπλοκα σύνδρομα-χαρακτηριστικά, και η μελέτη της γενετικής τους αιτιολογίας μοιάζει πολύ με εκείνη των ποσοτικών χαρακτηριστικών. Ένα μάθημα από τις μελέτες εντοπισμού γονιδίων ασθενειών, όταν για την εντόπιση γονιδίων τους μελετούμε σπάνιες οικογένειες, μέλη των οποίων είναι ασθενή σε μερικές γενιές, δηλαδή οικογένειες πρόσφορες για μελέτες που δείχνουν εκ των προτέρων διάσχιση ενός γονιδίου, είναι ότι τα εντοπιζόμενα γονίδια δικαιολογούν ένα πολύ μικρό μέρος της συνολικής γενετικής διακύμανσης του πληθυσμού για την ασθένεια (λιγότερο από 5%)! Ένα μεγάλο μέρος της διακύμανσης πρέπει να οφείλεται σε πολλά αλλά ασθενούς επιδράσεως γονίδια, σε γονίδια μη σημαντικής επιδράσεως, σε αντίθεση με εκείνα τα ευκόλως εντοπιζόμενα στις σπάνιες πληροφοριακές οικογένειες. Αντιθέτως έρευνες σε φυτά έδειξαν ότι τα ποσοτικά γονίδια, που αδρομερώς εντοπίστηκαν, φαίνεται να δικαιολογούν τουλάχιστον το 20%, μερικές φορές και το 50%, της πληθυσμιακής γενετικής διακύμανσης. Ίσως τούτο δηλώνει ότι τα μείζονα ποσοτικά γονίδια συμμετέχουν περισσότερο στην συνολική διακύμανση.

Δυστυχώς η σημερινή γνώση δεν μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητική, στην καλύτερη περίπτωση ως μια υπόσχεση για ένα καλύτερο μέλλον ου διαγράφεται. Πρέπει όντως να δεχθούμε ότι, παρά τις επισταμένες και κοπιαστικές έρευνες, οι εγγενείς δυσκολίες στη μελέτη των ποσοτικών χαρακτηριστικών δεν μπορούν εύκολα να τιθασευθούν. Είναι δύσκολο να διαχωρίσει ο ερευνητής την μικρή, κυμαινόμενη και επηρεαζόμενη από άλλα γονίδια και από το περιβάλλον, συμβολή ενός μη μείζονος γονιδίου QTL από τις τυχαίες μεταβολές στις οποίες υπόκεινται οι μετρήσεις του. Για αρκετό χρόνο θα μας διαφεύγουν σημαντικές γενετικές πληροφορίες στον τομέα των ποσοτικών χαρακτηριστικών. Άλλωστε οι πρόσφατες έρευνες δείχνουν ανάγλυφα τις πολλαπλές δυσκολίες που σήμερα αντιμετωπίζονται σε αυτές τις έρευνες. Η συμβολή σας στον τομέα αυτόν είναι λοιπόν καλοδεχούμενη και άκρως βοηθητική.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

R.W. Allard, 1960. *Principles of Plant Breeding*, John Wiley & Sons, New York.

- L.Andersson & M.Georges, 2004. Domestic-animal genomics: decipher the genetics of complex traits. *Nature Reviews Genetics* 5: 202-212.
- J-P. Berlan, 1987. *Recherches sur l'économie politique d'un changement technique : les mythes du maïs hybride*, thèse d'Etat, Faculté des Sciences Economiques, Université Aix-Marseille II, 767 pp.
- J-P.Berlan, 2001. Political economy of agricultural genetics pp. 510-528 in R.S.Singh, C.B.Krimbas, D.B.Paul & J.Beatty (eds) *Thinking About Evolution-Historical, philosophical, and political perspectives*. Cambridge University Press, New York.
- C.S.Carlson, M.A.Eberle, L.Kruglyak & D.A.Nickerson, 2004. Mapping complex disease loci in whole-genome association studies. *Nature* 429: 446-452.
- L.L.Cavalli-Sforza, 2004. A scientific adventure: fifty years study of human evolution. pp.411-427 in R.S.Singh & M.K.Uyenoyama (eds) *The Evolution of Population Biology*, Cambridge University Press.
- C.C.Cockerham, 1986. Modifications in estimating the number of genes for a quantitative character. *Genetics* 114: 659-664.
- E.M.East, 1910. A Mendelian interpretation of variation that is apparently continuous. *Am. Nat.* 44: 65-82.
- E.M.East, 1911. The genotype hypothesis and hybridization. *Am. Nat.* 45: 160-174.
- E.M.East, 1916. Studies on size inheritance in *Nicotiana*. *Genetics* 1: 164-176.
- B.Efron, 1982. *The jackknife, the bootstrap and other resampling plans*. SIAM, Philadelphia.
- R.A.Emerson, 1910. The inheritance of sizes and shapes in plants. *Am. Nat.* 44: 739-746.
- R.A.Emerson & E.M.East, 1913. The inheritance of quantitative characters in maize. *Bull. Agric. Exp. Sta. Neb.* 2.
- D.S.Falconer, 1964. *Introduction to Quantitative Genetics*. Oliver & Boyd, Edinburgh and London, 1981<sup>2</sup> Longman, London and New York, 1989<sup>3</sup>, Longman Sci. and Tech., Harlow, UK.
- D.S.Falconer & T.F.C.Mackey, 1996<sup>4</sup>. *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman Sci. and Tech., Harlow, UK.
- R.A.Fisher, 1918. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. *Trans. Royal Soc. Edinburgh* 52: 399-433.
- R.Frankham & K.Weber, 2000. Nature of Quantitative Variation. In *Evolutionary Genetics-From Molecules to Morphology* R.S.Singh and C.B.Krimbas (eds), pp.351-368, Cambridge University Press.
- C.V.Green, 1931. Linkage in size inheritance. *Am. Nat.* 65: 502-511.
- C.V.Green, 1933. Further evidence of linkage in size inheritance. *Am. Nat.* 67: 377-380.
- A.R.Hallauer & J.B.Miranda, 1981. *Quantitative genetics in maize breeding*. Iowa State University Press, Ames.
- L.He & G.J.Hannon, 2004. MicroRNAs: Small RNAs with a big role in gene regulation. *Nature Reviews Genetics* 5:552-531.
- M.J.Kearsey & H.S.Pooni, 1996. *The genetical analysis of quantitative traits*. Chapman and Hall, London.
- O.Kempthorne, 1957. *An Introduction to Genetic Statistics*. John Wiley & Sons, N.York.
- R.Lande, 1981. The minimum number of genes contributing to a quantitative variation between and within populations. *Genetics* 99: 541-553.
- R.Lande, 2000. Quantitative Genetics and Phenotypic evolution. In *Evolutionary Genetics-From Molecules to Morphology* R.S.Singh and C.B.Krimbas (eds) pp.335-350. Cambridge University Press.
- E.S.Lander & D.Botstein, 1989. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199 (Correction 136:705).
- J.M.Lerner, 1950. *Population Genetics and Animal Improvement*. Cambridge University Press.
- E.W.Lindstrom, 1924. A genetic linkage between size and color factors in the tomato. *Science* 60: 182-183.
- E.W.Lindstrom, 1931. Genetic tests for linkage between row number and certain qualitative genes in maize. *Res. Bull. Iowa State Coll. Agric.* 142: 250-288.
- J.L.Lush, 1937 *Animal breeding plans*. Iowa State University Press, Ames.
- M.Lynch & B.Walsh, 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Ass., Sunderland, MA.
- T.F.C.Mackey, 2004. Genetic dissection of quantitative traits. pp 51-73 in R.S.Singh & M.K.Uyenoyama (eds) *The Evolution of Population Biology*, Cambridge University Press.
- K.Mather, 1949. *Biometrical Genetics*. Methuen & Co. London.
- K.Mather & J.L.Jinks, 1982<sup>3</sup>. *Biometrical Statistics*. Chapman & Hall, N.York.
- J.Maynard Smith & J.Haigh, 1974. The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genet. Res.* 23: 23-35.
- O.Mayo, 1980. *The Theory of Plant Breeding*. Clarendon Press, Oxford, UK.
- N.E.Morton, 1955. Sequential tests for the detection of linkage. *Am. J.Hum.Genet.* 10:344-349.
- H.Nilsson-Ehle, 1909. Kreuzungsuntersuchungen an Hafer und Weizen. *Lund Univ. Arsskrift*, n.s., series 2, vol.5, no 2: 1-222.
- F.Payne, 1918. The effect of artificial selection bristle number in *Drosophila ampelophila* [=melanogaster] and its interpretation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 4: 55-58.
- F.Pirchner, 1983<sup>2</sup>. *Population genetics and animal breeding*. Plenum, N.York.
- J.Rasmuson, 1927. Genetically changed linkage values in *Pisum*. *Hereditas* 10: 1-152.
- D.A.Roff, 1997, *Evolutionary Quantitative Genetics*. Chapman & Hall.

- K.Sax, 1923. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8: 552-560.
- G.E.Shull, 1908. The composition of a field of maize. *Rpt. Am. Beed. Assoc.* 4: 296-301.
- H.H.Smith, 1937. The relation between genes affecting size and color in certain species of *Nicotiana*. *Genetics* 22: 361-375.
- H.Wexelsen, 1933. Linkage between quantitative and qualitative characters in barley. *Hereditas* 17: 323-341.
- H.Wexelsen, 1934. Quantitative inheritance and linkage in barley. *Hereditas* 18: 307-348.
- G.Wricke & W.E.Weber, 1986. *Quantitative genetics and selection in plant breeding*. Walter de Gruyter & Co, N.York.
- G.U.Yule, 1902. Mendel's laws and their probable relation to intra-racial heredity. *New Phytol.* 1: 193-207, 222-238.



**ΕΝΟΤΗΤΑ Α:**  
**ΒΕΛΤΙΩΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ

A. K. Φασούλας

Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών, Α.Π.Θ.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ζητούμενο στη βελτιωτική πράξη είναι η δημιουργία γενετικά βελτιωμένων σπόρων που αξιοποιούν αποτελεσματικά τους διαθέσιμους πόρους ανάπτυξης κάθε περιοχής, εξασφαλίζοντας τρία πράγματα: (1) υψηλή παραγωγικότητα, (2) σταθερότητα συμπεριφοράς και (3) προϊόν καλής ποιότητας.

Για να επιτευχθεί αυτός ο στόχος χρησιμοποιούνται διάφορες μεθοδολογίες βελτίωσης. Τα κριτήρια που ξεχωρίζουν τις διάφορες μεθοδολογίες είναι δύο: το ένα είναι εάν κατά την αξιολόγηση και επιλογή των φυτών χρησιμοποιείται σαν κριτήριο ο φαινότυπος ή ο γενότυπος και το άλλο είναι αν μονάδα αξιολόγησης και επιλογής είναι το πυκνοφυτεμένο πειραματικό κομμάτι ή το ατομικό φυτό. Με βάση αυτά τα κριτήρια διακρίνουμε τρεις βασικές μεθοδολογίες:

1. Τη συμβατική, που αξιολογεί τα φυτά με βάση το φαινότυπο και έχει σαν πειραματική μονάδα το πυκνοφυτεμένο πειραματικό κομμάτι.
2. Την κυψελωτή, που αξιολογεί τα φυτά με βάση το φαινότυπο και έχει σαν πειραματική μονάδα το ατομικό φυτό αναπτυσσόμενο απουσία ανταγωνισμού.
3. Τη μοριακή, που αξιολογεί τα φυτά με βάση το γενότυπο και έχει σαν μονάδα το ατομικό φυτό.

Για να καταλήξει κάποιος στην καταλληλότερη μεθοδολογία ώστε να πετύχει τον στόχο του, είναι απαραίτητο να γνωρίζει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα κάθε μεθοδολογίας. Ένας τρόπος προσέγγισης είναι να αναφερθούμε σε καυτά ερωτήματα στα οποία δεν δίνουν σαφή απάντηση τόσο η συμβατική, όσο και η μοριακή βελτίωση και στη συνέχεια να δούμε πως τα απαντά η κυψελωτή βελτίωση. Ένα δείγμα τέτοιων ερωτημάτων είναι και τα παρακάτω.

1. Οι βελτιωμένοι σπόροι που δίνουμε στους γεωργούς πρέπει να είναι μίγμα διαφόρων γενοτύπων ή να αποτελούνται από ένα γενότυπο;
2. Σπόροι που αποτελούνται από ένα γενότυπο θα είναι καθαρές σειρές, υβρίδια, ή κλώνοι;
3. Γιατί δεν μπορούμε να επιλέξουμε για υψηλή και σταθερή απόδοση στις πρώτες γενιές που είναι και οι πλέον κρίσιμες;
4. Ποιοι είναι οι παράγοντες που μειώνουν την αποτελεσματικότητα της επιλογής;
5. Είναι δυνατό να επιλέξουμε αποτελεσματικά χωρίς να γνωρίζουμε τη γενετική βάση της προόδου με την επιλογή;
6. Μπορεί να έχουμε αξιόπιστη φαινοτυπική εκτίμηση χωρίς αυτή να αφορά το σύνολο των γονιδίων;
7. Υπάρχει τρόπος να απομονώσουμε γονείς οι οποίοι διασταυρούμενοι να δίνουν την ευνοϊκότερη γενετική παραλλακτικότητα για επιλογή;
8. Γιατί προτιμούμε τα υβρίδια αφού δεν γνωρίζουμε τη γενετική βάση της ετέρωσης;
9. Υπάρχει τρόπος να επιλέξουμε καθαρές σειρές που συνδυαζόμενες δίνουν τα παραγωγικότερα υβρίδια;

Η έλλειψη ικανοποιητικής απάντησης στα προηγούμενα ερωτήματα μειώνει την αποτελεσματικότητα της συμβατικής βελτίωσης, που αποκαλείται και εμπειρική βελτίωση, γιατί θεωρείται κυρίως τέχνη και εμπειρία, παρά επιστήμη. Η αναζήτηση των αιτιών όλων αυτών των αδυναμιών οδήγησαν σε έρευνα που κράτησε περισσότερο από τέσσερις δεκαετίες και κατέληξε στην κυψελωτή μεθοδολογία γενετικής βελτίωσης των φυτών. Η συμβολή της κυψελωτής βελτίωσης μπορεί να συνοψιστεί στη διασαφήνιση της σημασίας που έχουν (1) ο ανταγωνισμός στη στρεμματική απόδοση, (2) ο ανταγωνισμός στην πρόοδο με την επιλογή, (3) η κατανόηση της γενετικής βάσης της προόδου με την επιλογή, (4) η ανάγκη αξιολόγησης του φυτού στο σύνολό του και (5) το πειραματικό σχέδιο.

### 1. Στρεμματική απόδοση και ανταγωνισμός

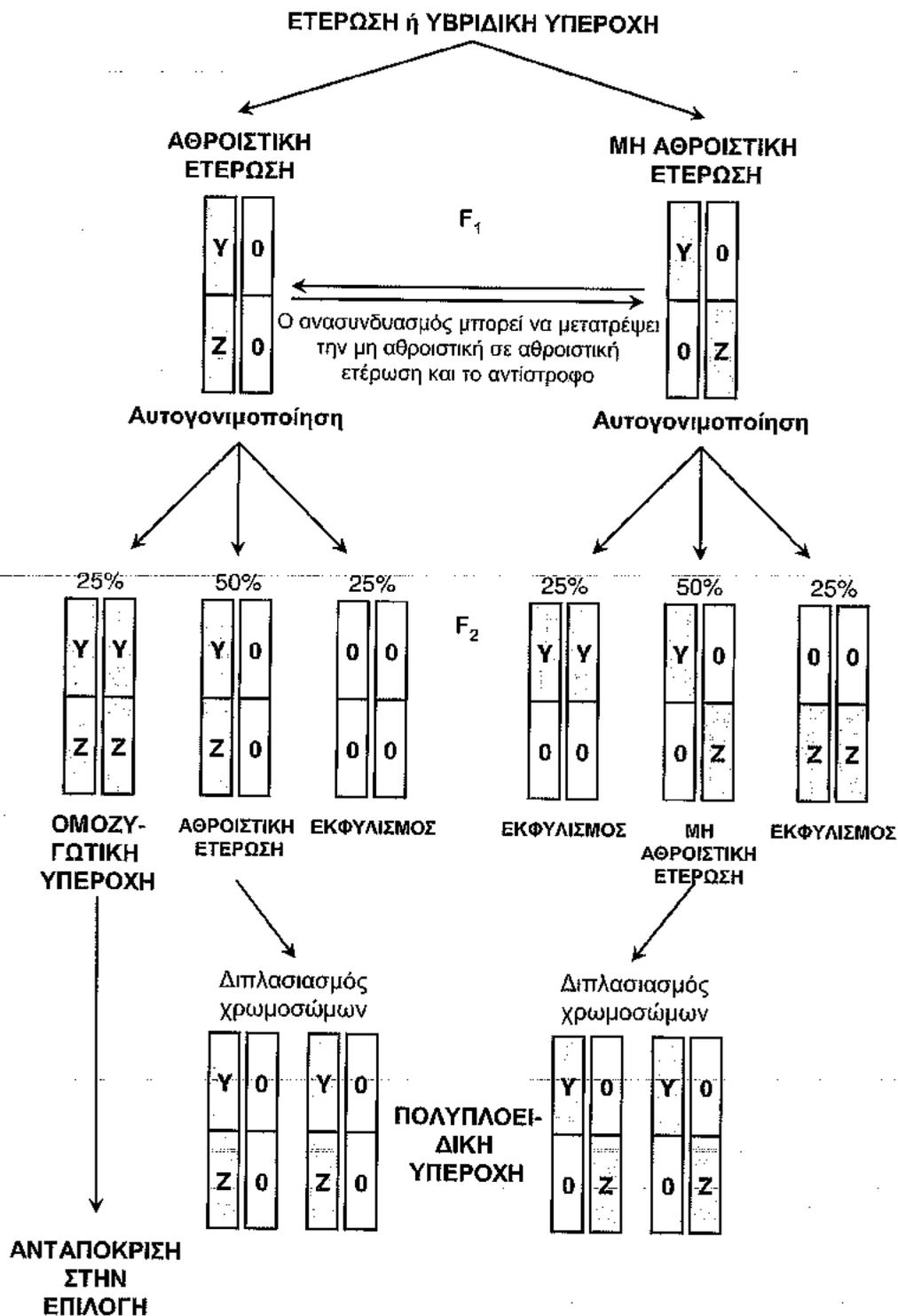
Η πρώτη αρχή αναφέρεται στις συνθήκες κάτω από τις οποίες μεγιστοποιείται η στρεμματική απόδοση. Για να μεγιστοποιηθεί η στρεμματική απόδοση πρέπει όλα τα φυτά να αποδώσουν το ίδιο. Τα φυτά δεν αποδίδουν το ίδιο εξαιτίας του ανταγωνισμού, δηλαδή της αρνητικής παρέμβασης στο ίσο μείρασμα των πόρων μεταξύ των φυτών που οφείλεται: (1) στις γενετικές και επίκτητες διαφορές μεταξύ των φυτών, και (2) σε κληρονομική προδιάθεση για ανταγωνισμό. Ο ανταγωνισμός που αυξάνεται σχεδόν ευθύγραμμα με την αύξηση της πυκνότητας, μετριέται με το συντελεστή παραλλακτικότητας (CV) της απόδοσης των ατομικών φυτών. Όσο μεγαλύτερος ο ανταγωνισμός, τόσο μεγαλύτερο και το CV. Γίνεται φανερό πως για να ελαττώσουμε τον ανταγωνισμό πρέπει να πάρουμε ορισμένα μέτρα. Πρώτο μέτρο είναι η χρησιμοποίηση μονογενεοτυπικών σπόρων για να εξαλειφθεί ο γενετικός ανταγωνισμός. Δεύτερο μέτρο είναι η χρησιμοποίηση χωραφιών με άφθονους και ομοιόμορφα κατανομημένους πόρους ανάπτυξης, ομοιόμορφη κατανομή φυτών στο χωράφι και εξασφάλιση σύγχρονου φυτρώματος και ανάπτυξης για να περιορίσουμε τον επίκτητο ανταγωνισμό. Ιδανικό παράδειγμα άφθονων και ομοιόμορφα κατανομημένων πόρων ανάπτυξης αποτελούν τα θερμοκήπια στην Ολλανδία όπου η τομάτα καλλιεργείται υδροπονικά και ελέγχεται ακόμη και το CO<sub>2</sub> της ατμόσφαιρας. Ως αποτέλεσμα, οι αποδόσεις κυμαίνονται από 60 έως 65 κιλά ανά μ<sup>2</sup>, όταν στα θερμοκήπια στην Ελλάδα η απόδοση είναι περίπου 15 κιλά/μ<sup>2</sup>. Τρίτο μέτρο είναι η ενσωμάτωση στον ένα γενότυπο γονιδίων που εξαλείφουν την κληρονομική προδιάθεση για ανταγωνισμό. Συμπέρασμα, οι σπόροι που θα δώσουμε στο γεωργό θα αποτελούνται από ένα γενότυπο με μεγάλη σταθερότητα συμπεριφοράς, για να περιορίσουμε τη μείωση της στρεμματικής απόδοσης που οφείλεται τόσο στο γενετικό, όσο και στον επίκτητο ανταγωνισμό.

### 2. Πρόδος με την επιλογή και ανταγωνισμός

Ο ανταγωνισμός, που αυξάνει όσο αυξάνει η πυκνότητα, εξαλείφει κάθε δυνατότητα πρόδου για απόδοση με την επιλογή με πέντε διαφορετικούς τρόπους: (1) Με τη μείωση του διαφορικού επιλογής. (2) Με τη μείωση του συντελεστή κληρονομικότητας. (3) Με το να συσχετίζει αρνητικά το μέσο όρο και το CV της απόδοσης των ατομικών φυτών. (4) Με το να μην επιτρέπει επιλογή για παραγωγικότητα εξαιτίας της αρνητικής συσχέτισης μεταξύ παραγωγικής και ανταγωνιστικής ικανότητας. (5) Με τη μείωση της απόδοσης ανά φυτό. Πρώτο συμπέρασμα είναι πως επιλογή για υψηλή και σταθερή απόδοση στο επίπεδο του ατομικού φυτού είναι αποτελεσματική μόνο όταν γίνεται στην απόσταση μεταξύ φυτών η οποία ελαχιστοποιεί το CV της απόδοσης τους. Δεύτερο συμπέρασμα είναι ότι μονάδα αξιολόγησης και επιλογής σε όλα τα στάδια του βελτιωτικού προγράμματος είναι το ατομικό φυτό αναπτυσσόμενο απουσία ανταγωνισμού. Τρίτο συμπέρασμα είναι ότι αν είχε δοθεί ορισμός στον ανταγωνισμό και είχε μελετηθεί η επίδρασή του τόσο στη στρεμματική απόδοση, όσο και στην πρόοδο με την επιλογή, θα διαπιστωνόταν έγκαιρα πως η εκλογή του πυκνοφυτεμένου πειραματικού κομματιού σαν μονάδα αξιολόγησης και επιλογής, παρόλη την αληθοφάνεια που περιέχει, δεν είναι επιστημονικά ορθή.

### 3. Η γενετική βάση της πρόδου με την επιλογή

Πρόοδο με την επιλογή έχουμε όταν τα επιλεγόμενα φυτά έχουν σε ομόζυγη κατάσταση το μεγαλύτερο δυνατό αριθμό ευνοϊκών αθροιστικών γονιδίων. Αυτό σημαίνει πως η ομόζυγη κατάσταση είναι υπέρτερη της ετερόζυγης και κατ'επέκταση, η ομοζυγωτική ευρωστία είναι υπέρτερη της ετερωτικής. Η Εικόνα 1 δείχνει πως αυτό γίνεται μόνο όταν ευνοϊκά αθροιστικά αλληλόμορφα έρχονται σε ομόζυγη κατάσταση. Στο παράδειγμα της Εικ. 1 δίνονται τέσσερις μορφές του ίδιου γονιδίου. Στην πρώτη, το γονίδιο έχει ενεργές και τις δύο περιοχές που συμβολίζονται με Y και Z και επομένως παράγει ένα ολοκληρωμένο προϊόν. Στη δεύτερη, το γονίδιο έχει ενεργή μόνο την περιοχή Y και επομένως δεν παράγει ολοκληρωμένο προϊόν. Στην τρίτη έχει ενεργό τη Z περιοχή και συνεπώς και αυτό δεν παράγει ολοκληρωμένο προϊόν. Στην τέταρτη μορφή και οι δύο περιοχές είναι ανενεργές και επομένως δεν παράγεται κανένα προϊόν.



**Εικόνα 1:** Πρόοδο με την επιλογή έχουμε κάθε φορά που το επιλεγέν φυτό έχει σε ομόζυγη κατάσταση το μεγαλύτερο δυνατό αριθμό ευνοϊκών αθροιστικών γονιδίων. Ευνοϊκά θεωρούνται τα γονίδια που παράγουν ολοκληρωμένο προϊόν σε ικονοποιητικές ποσότητες, οι οποίες αθροιζόμενες συμβάλλουν στην πρόοδο με την επιλογή (από Fasoula and Fasoula, 2005).

Γίνεται αντιληπτό ότι δύο αλληλόμορφα, για να παράγουν ολοκληρωμένο προϊόν, πρέπει ή να είναι ολοκληρωμένα, οπότε δρουν ανεξάρτητα και συμπληρώνει το ένα το άλλο ποσοτικά, δηλαδή αθροιστικά, ή το ένα να συμπληρώνει το έλλειμμα του άλλου, οπότε η δράση τους είναι εξαρτημένη και η συμπλήρωση είναι ποιοτική, δηλαδή μη αθροιστική. Πρόοδο με την επιλογή, δηλαδή υπέρβαση του φαινότυπου της ετερόζυγης κατάστασης, έχουμε σε μια περίπτωση μόνο, όταν δηλαδή φέρουμε σε ομόζυγη κατάσταση ευνοϊκά

αθροιστικά αλληλόμορφα. Ευνοϊκά χαρακτηρίζονται εκείνα τα αθροιστικά αλληλόμορφα που παράγουν την μεγαλύτερη δυνατή ποσότητα ολοκληρωμένου προϊόντος. Σ' αυτή την περίπτωση συμπεριφέρονται σαν κυρίαρχα, ενώ σε περίπτωση μειωμένης ποσότητας ονομάζονται μερικώς κυρίαρχα. Συμπέρασμα, η πρόοδος με την επιλογή οφείλεται αποκλειστικά και μόνον σε ομοζυγοποίηση ευνοϊκών αθροιστικών γονιδίων και ενσωμάτωσή τους σε ένα ή λίγα άτομα. Αυτό έχει σα συνέπεια (1) η ομοζυγωτική ευρωστία να είναι δυνητικά υπέρτερη της ετερωτικής, (2) οι καθαρές σειρές να είναι δυνητικά καλύτερες των υβριδίων, και (3) η αυτογονιμοποίηση να είναι προτιμότερη της σταυρογονιμοποίησης.

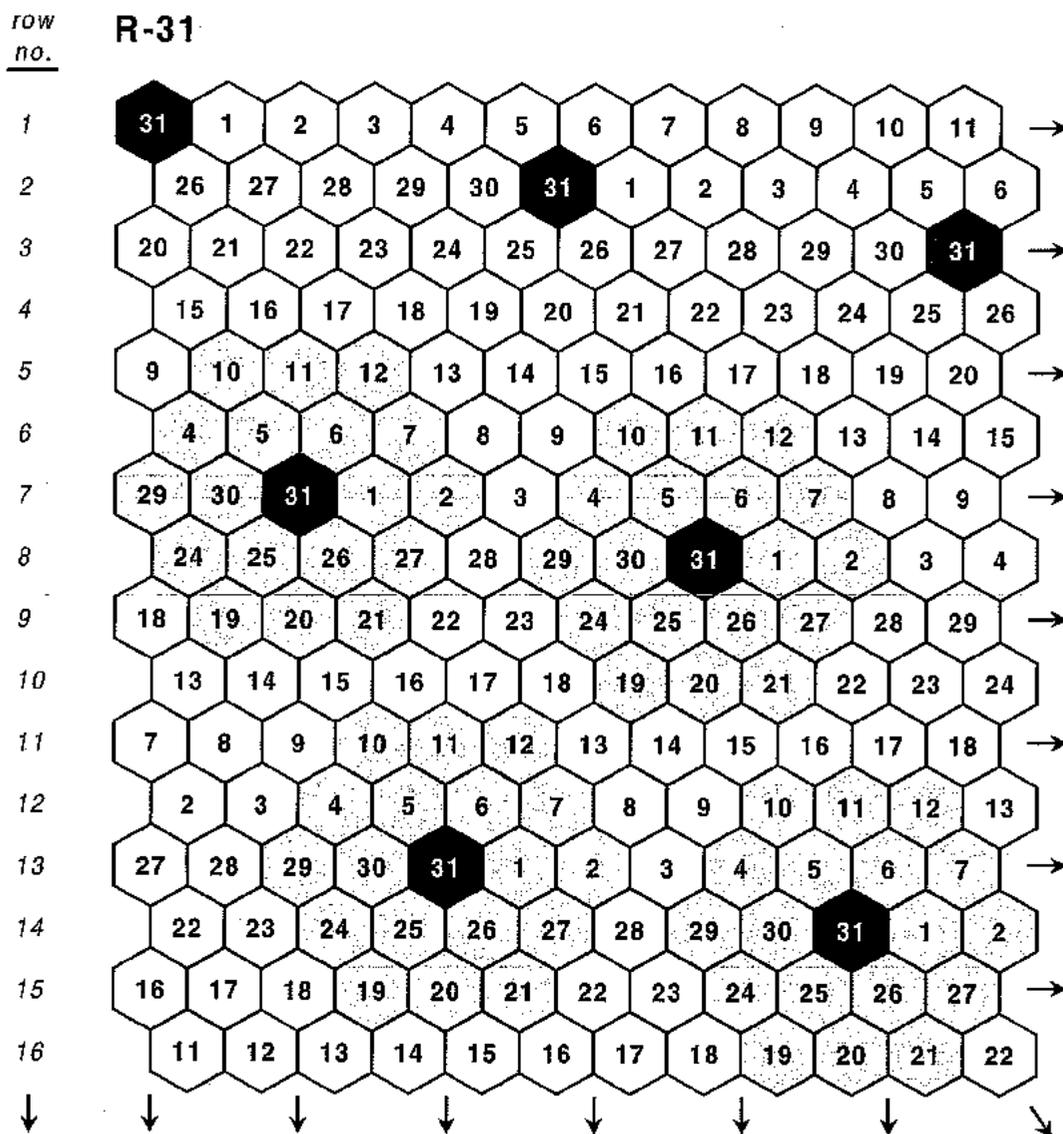
#### 4. Η φαινοτυπική αξιολόγηση του φυτού στο σύνολό του

Η ύπαρξη των γονιδίων σε διαφορετικές μορφές (αλληλόμορφα), συνεπάγεται ότι πολλοί συνδυασμοί αλληλομόρφων μπορεί να δώσουν γενοτύπους με παρόμοια ικανότητα αξιοποίησης των διαθέσιμων πόρων ανάπτυξης. Αυτό σημαίνει ότι η επιλογή γίνεται αποτελεσματική όταν είναι σε θέση να αξιολογήσει τα γονίδια κάθε φυτού στο σύνολό τους. Η φαινοτυπική αξιολόγηση του γενοτύπου στο σύνολό του έγινε πραγματικότητα με την ανάλυση του παραγωγικού δυναμικού κάθε φυτού σε τρία γενετικά συστατικά που εκτιμούνται με απλές παραμέτρους και αφορούν: το πρώτο, τα γονίδια που ελέγχουν το παραγωγικό δυναμικό του γενοτύπου και μετριοούνται με το μέσο όρο της απόδοσης των απογόνων του ( $\bar{x}$ ). Το δεύτερο, τα γονίδια που ελέγχουν τη σταθερότητα συμπεριφοράς, που μετριοούνται με τον τυποποιημένο μέσο όρο των απογόνων του ( $\bar{x}/s$ ). Τα γονίδια του δεύτερου συστατικού ελέγχουν στην ουσία κάθε επί μέρους γνώρισμα που συμβάλλει στη σταθερότητα συμπεριφοράς, όπως π.χ. η ομοζυγωτία, η κληρονομική ικανότητα, η ομοιομορφία της καλλιέργειας, η μειωμένη αλληλεπίδραση γενοτύπου και περιβάλλοντος, καθώς επίσης και η αυξημένη αντοχή στις καταπονήσεις του περιβάλλοντος, τον ανταγωνισμό, την πυκνότητα και τα λοιπά. Το τρίτο συστατικό αποτελούν τα γονίδια που ελέγχουν την ικανότητα του γενοτύπου να αξιοποιεί βελτιωμένα περιβάλλοντα και μετριοούνται με το τυποποιημένο διαφορικό επιλογής των απογόνων  $[(\bar{x}_{sel} - \bar{x})/s]$ , που αντιστοιχεί σε προκαθορισμένη ένταση. Τα τρία γενετικά συστατικά του παραγωγικού δυναμικού του γενοτύπου αξιολογούν το γενότυπο στο σύνολό του φαινοτυπικά και οδηγούν στη δημιουργία ποικιλιών, η απόδοση των οποίων είναι ανεξάρτητη της πυκνότητας σποράς. Αυτό γίνεται γιατί τα γονίδια του πρώτου συστατικού εξασφαλίζουν άριστες αποδόσεις σε αραιές σπορές, ενώ του δεύτερου συστατικού σε πολύ πυκνές σπορές.

**Συμπέρασμα:** Η σημασία της ανάλυσης του παραγωγικού δυναμικού κάθε γενοτύπου σε τρία γενετικά συστατικά έγκειται στο ότι επιτρέπει την αξιολόγηση κάθε γενοτύπου στο σύνολό του και οδηγεί στην απομόνωση γενοτύπων που αξιοποιούν τους πόρους ανάπτυξης κάθε περιοχής με τον καλύτερο τρόπο, αποτελώντας παράλληλα τα καλύτερα υλικά για διασταύρωση και συνέχιση της πρόοδου με την επιλογή.

#### 5. Ο ρόλος των πειραματικών σχεδίων αγρού

Είναι σχεδόν αδύνατο να συσχετίσει κανείς τις αποδόσεις από τη μία γενιά στην άλλη χωρίς να διερευνήσει και αξιοποιήσει τις επιδράσεις που ασκούν πάνω στην αποτελεσματικότητα της επιλογής (1) ο ανταγωνισμός και η πυκνότητα, (2) η ετεροζυγωτία, (3) η αλληλεπίδραση μεταξύ γονιδίων, (4) η αλληλεπίδραση γενοτύπου και περιβάλλοντος, (5) η νεογενής (de novo) παραλλακτικότητα, και (6) η εδαφική ετερογένεια. Η αντιμετώπιση της επίδρασης του ανταγωνισμού και της πυκνότητας οδήγησε στην ανάδειξη ως μονάδας αξιολόγησης και επιλογής το ατομικό φυτό αναπτυσσόμενο απουσία ανταγωνισμού. Έτσι, η ανάδειξη του ατομικού φυτού σα μονάδα αξιολόγησης και επιλογής, η κατανόηση της γενετικής βάσης της πρόοδου με την επιλογή, η μετέπειτα ανάλυση του παραγωγικού δυναμικού των φυτών σε τρία γενετικά συστατικά και η ανάπτυξη των κυψελωτών σχεδίων αγρού, οδήγησαν στη δημιουργία της κυψελωτής βελτίωσης των φυτών. Πράγματι, ο βελτιωτής πρέπει σε κάθε γενιά να είναι σε θέση να επιλέξει αποτελεσματικά δύο πράγματα: (1) τις καλύτερες απογονικές σειρές και (2) τα καλύτερα φυτά μέσα σε κάθε επιλεγόμενη σειρά. Για να γίνει αυτό πρέπει οι αρνητικές επιδράσεις της ετερογένειας του χωραφιού, της αλληλεπίδρασης γενοτύπου και περιβάλλοντος και της ετεροζυγωτίας, να ελεγχθούν αποτελεσματικά. Αυτό το πετυχαίνουν τα κυψελωτά σχέδια αγρού με το να δειγματίζουν αποτελεσματικά την παραλλακτικότητα του περιβάλλοντος.



**Εικόνα 2:** Στο επαναλαμβανόμενο κυψελωτό R-31, κάθε αριθμός αντιπροσωπεύει ένα φυτό που ανήκει σε μια από 31 διαφορετικές απογονικές σειρές (1 έως 31). Τα κυψελωτά σχέδια επιτρέπουν αντικειμενική επιλογή μεταξύ μεγάλου αριθμού απογονικών σειρών, καθώς επίσης και αντικειμενική επιλογή μεταξύ ατομικών φυτών μέσα στη σειρά. Η επιλογή μεταξύ σειρών βασίζεται στην τοποθέτηση των φυτών κάθε σειράς στις γωνίες πλέγματος ισοπλεύρου τριγώνου, που εξασφαλίζει συγκρίσιμες συνθήκες, και αξιολόγηση των σειρών με βάση τα τρία γενετικά συστατικά. Η επιλογή ατομικών φυτών μέσα στη σειρά βασίζεται σε κοινό μάρτυρα πολλών φυτών, ο μέσος όρος των οποίων χρησιμοποιείται για να εκφραστεί η απόδοση κάθε φυτού επί τοις εκατό του μάρτυρα και να επιλεγούν εκείνα με τη μεγαλύτερη εκατοστιαία υπεροχή (από Fasoula and Fasoula, 2005).

Η Εικόνα 2 παριστάνει ένα επαναλαμβανόμενο κυψελωτό σχέδιο ικανό να αξιολογήσει 31 συνολικά απογονικές σειρές που αριθμούνται από το 1 έως το 31. Οι ιδιότητες που θα αναφερθούν για το κυψελωτό της εικόνας 2 ισχύουν για κάθε κυψελωτό σχέδιο από το μεγάλο αριθμό που μπορεί να κατασκευαστούν. Πρώτη ιδιότητα είναι η εύκολη εγκατάσταση στο χωράφι, αφού τα ατομικά φυτά κάθε σειράς σπέρνονται με αύξοντα αριθμό σε οριζόντιες σειρές με μόνη διαφορά τον αριθμό έναρξης που αλλάζει από σειρά σε σειρά. Δεύτερη ιδιότητα είναι ότι τα φυτά κάθε απογονικής σειράς καταλαμβάνουν τις γωνίες πλέγματος ισοπλεύρων τριγώνων, που δειγματίζει την ετερογένεια του χωραφιού καλύτερα από την τυχαία τοποθέτηση και επιτρέπει αξιόπιστη επιλογή μεταξύ των σειρών με βάση τα τρία συστατικά του παραγωγικού δυναμικού. Τρίτη ιδιότητα είναι ότι κάθε φυτό οποιασδήποτε απογονικής σειράς περιβάλλεται από συγκεντρικούς δακτυλίους που περικλείουν τις ίδιες οικογένειες και επομένως ο μέσος όρος τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κοινός

μάρτυρας για την επιλογή των καλύτερων φυτών μέσα στην απογονική σειρά. Τέταρτη ιδιότητα είναι ότι το ίδιο πείραμα μπορεί να εγκατασταθεί σε διάφορες τοποθεσίες, ώστε να αξιοποιηθεί αποτελεσματικά η αλληλεπίδραση γενοτύπου και περιβάλλοντος. Πέμπτη ιδιότητα είναι ότι χάρη στα αντικειμενικά κριτήρια αξιολόγησης, μπορεί να εφαρμοστούν μεγάλες εντάσεις επιλογής (0.5 έως 1%), οι οποίες αυξάνουν την πρόοδο με την επιλογή με το να ομοζυγοποιούν ευνοϊκά αθροιστικά γονίδια. Στην ομοζυγοποίηση ευνοϊκών αθροιστικών γονιδίων συμβάλλουν καθοριστικά (1) η αυτογονιμοποίηση, (2) η υψηλή ένταση επιλογής, και (3) η μεγάλη απόσταση μεταξύ των φυτών. Έκτη ιδιότητα είναι ότι επιτρέπουν την πλήρη εκμηχάνιση σποράς και συγκομιδής, αλλά και την αυτοματοποίηση της επιλογής με τη χρήση υπολογιστών και ρομπότ. Οι αριθμοί (R) που σχηματίζουν κυψελωτά σχέδια δίνονται από τον τύπο  $R=X^2+XY+Y^2$ , όπου X και Y είναι ακέραιοι αριθμοί από το μηδέν έως το άπειρο.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Επιλογή για υψηλή και σταθερή απόδοση στη βάση του ατομικού φυτού κάτω από ανταγωνισμό είναι αδιανόητη. Συνεπώς, μονάδα αξιολόγησης και επιλογής γίνεται το ατομικό φυτό αξιολογούμενο απουσία ανταγωνισμού.
2. Αντικειμενική αξιολόγηση του φυτού προϋποθέτει φαινοτυπική αξιολόγηση των γονιδίων στο σύνολό τους. Αυτό είναι απαραίτητο, γιατί τους πόρους ανάπτυξης μιας περιοχής, είτε αυτοί είναι μειωμένοι είτε αυξημένοι, μπορεί να αξιοποιήσουν με την ίδια επιτυχία διάφοροι συνδυασμοί γονιδίων (γενότυποι). Για να επιλεγούν όλοι αυτοί οι γενότυποι που συμβάλλουν στη διατήρηση της βιοποικιλότητας, πρέπει να υπάρχει τρόπος αξιολόγησης των γονιδίων στο σύνολό τους.
3. Η φαινοτυπική αξιολόγηση του γενώματος στο σύνολό του επιτεύχθηκε με την ανάλυση του παραγωγικού δυναμικού των φυτών σε τρία γενετικά συστατικά, που είναι: (1) τα γονίδια που ελέγχουν το δυναμικό απόδοσης του γενοτύπου και μετριούνται με το μέσο όρο της απόδοσης των απογόνων του, (2) τα γονίδια που ελέγχουν τη σταθερότητα συμπεριφοράς του γενοτύπου και μετριούνται με τον τυποποιημένο μέσο όρο της απόδοσης των απογόνων του, και (3) τα γονίδια που ελέγχουν την ικανότητα του γενοτύπου να αξιοποιεί αυξημένες εισροές και μετριούνται με το τυποποιημένο διαφορικό επιλογής της απόδοσης των απογόνων του γενοτύπου για μια ορισμένη ένταση.
4. Αποτέλεσμα της αξιολόγησης με βάση τα τρία γενετικά συστατικά είναι ότι οι ποικιλίες που δημιουργούνται αποδίδουν ανεξάρτητα της πυκνότητας σποράς. Αυτό σημαίνει πως η πυκνότητα δεν επηρεάζει την παραγωγικότητα όταν ελέγχονται τα ζιζάνια. Τέτοιες ποικιλίες αποτελούν επίσης τους καλύτερους γονείς για διασταύρωση προς συνέχιση της επιλογής.
5. Η εξουδετέρωση των επισκιαστικών επιδράσεων που ασκούν στην πρόοδο με την επιλογή η ετεροζυγωτία, η εδαφική ανομοιομορφία, και η αλληλεπίδραση γενοτύπου και περιβάλλοντος, αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά με τη χρήση των κυψελωτών σχεδίων αγρού.
6. Τα κυψελωτά σχέδια, με το να εξασφαλίζουν συγκρίσιμες συνθήκες ανάπτυξης σε ατομικά φυτά και στους απογόνους τους, επιτρέπουν εφαρμογή υψηλών εντάσεων επιλογής (0.5 έως 1%) τόσο μεταξύ όσο και εντός ενός μεγάλου αριθμού απογονικών σειρών σε μεγάλο εύρος περιβαλλόντων.
7. Η υπεροχή των αθροιστικών γονιδίων έναντι των μη αθροιστικών, συνεπάγεται υπεροχή των καθαρών σειρών έναντι των υβριδίων, καθώς επίσης και υπεροχή της αυτογονιμοποίησης έναντι της σταυρογονιμοποίησης.
8. Οι κρισιμότερες γενιές για πρόοδο με την επιλογή είναι η  $F_2$  και η  $F_3$  γενιά, όπου έχουμε τη μεγαλύτερη πρόοδο εξαιτίας της αυξημένης ομοζυγωτίας, αλλά και της αυξημένης γενετικής παραλλακτικότητας. Έτσι, ποικιλίες σαφώς υπέρτερες των υπαρχόντων, δίνονται για καλλιέργεια στην  $F_6$  αντί στην  $F_{12}$  και μετέπειτα γενιές, όπως συμβαίνει με τη συμβατική βελτίωση.
9. Η χρησιμοποίηση αντικειμενικών κριτηρίων φαινοτυπικής αξιολόγησης οδηγεί σε κατακόρυφη αύξηση της αποτελεσματικότητας για τον πρόσθετο λόγο ότι επιτρέπει την ανάθεση της επιλογής σε μηχανές, υπολογιστές και ρομπότ, ώστε στο μέλλον οι βελτιωτές να ασχολούνται κύρια με το επιστημονικό μέρος της βελτίωσης.
10. Η επιλογή των ποικιλιών πρέπει να γίνεται στις συνθήκες καλλιέργειας των περιοχών, τους πόρους ανάπτυξης των οποίων πρόκειται να εκμεταλλευτούν οι ποικιλίες. Επίσης, η επιλογή πρέπει να είναι συνεχής, ώστε να αξιοποιείται η αέναη νεογενής παραλλακτικότητα (*de novo variation*), που το γένωμα δημιουργεί με τις ικανότητές του για αυτορύθμιση και αυτοπροσαρμογή. Η αέναη βελτίωση της ποικιλίας, εξαιτίας της συνεχιζόμενης επιλογής έχει ανάγκη ενημέρωσης και κατοχύρωσης, που μπορεί

να γίνουν με την προσθήκη αύξοντα αριθμού, ο οποίος ανταναικλά τα έτη βελτίωσης, π.χ. Acala-1, Acala-2, κοκ.

#### **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Christakis, P.A., Fasoulas, A.C., 2001. The recovery of recombinant inbreds outyielding the hybrid in tomato. *J. Agric. Sci.* 137:179-183.
- Fasoula, D.A., Fasoula, V.A., 2005. Bridging the productivity gap between maize inbreds and hybrids by replacing gene and genome dichotomization with gene and genome integration. *Maydica* (in press).
- Fasoula, V.A., Fasoula, D.A., 2000. Honeycomb breeding: principles and applications. *Plant Breed. Rev.* 18:177-250.
- Fasoula, V.A., Fasoula, D.A., 2003. Partitioning crop yield into genetic components. In: Kang, M.S. (Ed.) *Handbook of Formulas and Software for Plant Geneticists and Breeders*. The Haworth Press Inc., New York, pp. 321-327.
- Ntanos, D.A., Roupakias, D.G., 2001. Comparative efficiency of two breeding methods for yield and quality in rice. *Crop Sci.* 41:345-350.
- Ntanos, D.A., Roupakias, D.G., 2003. Rice F<sub>1</sub> hybrids: the breeding goal or a costly solution? *Austr. J. Agric. Res.* 54:1005-1011.
- Tokatlidis, I.S., Koutsika-Sotiriou, M., Fasoulas, A.C., 2001. The development of density-independent hybrids in maize. *Maydica* 46:21-25.

## ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΔΟ-ΠΟΙΚΙΛΙΑΚΗΣ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

### ΣΤΟ ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ

Ιωάννης Τοκατλίδης<sup>1</sup>, Ιωάννης Ξυνιάς<sup>2</sup>, Ιωάννης Τσιάλας<sup>3</sup>, Ιωάννης Παπαδόπουλος<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 682 00 Ορεστιάδα

<sup>2</sup> ΤΕΙ Καλαμάτας, 241 00 Καλαμάτα

<sup>3</sup> Ελληνική Βιομηχανία Ζάχαρης, 411 10 Λάρισα

<sup>4</sup> ΤΕΙ Δ. Μακεδονίας, 531 00 Φλώρινα

#### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Διερευνήθηκε η δυνατότητα αξιοποίησης της ενδο-ποικιλιακής παραλλακτικότητας στην ποικιλία μαλακού σιταριού (*Triticum aestivum* L.) *Νέστος*. Με εφαρμογή κυψελωτής επιλογής ατομικών φυτών στη χαμηλή πυκνότητα των 1,2 φυτών/μ<sup>2</sup> σε δύο διαδοχικές γενεές προέκυψαν 10 και 20 οικογένειες, αντίστοιχα. Ο απογονικός έλεγχος έγινε σε δύο περιοχές, τόσο στην προαναφερθείσα χαμηλή πυκνότητα, όσο και στην τυπική πυκνότητα των 500 φυτών/μ<sup>2</sup>. Συγκριτικά με την αρχική ποικιλία, πέντε από τις 10 αρχικά επιλεγέντες οικογένειες είχαν σημαντικά υψηλότερες μέσες αποδόσεις ανά φυτό (κατά 26-38%) στις συνθήκες χαμηλής πυκνότητας, και δύο από αυτές υπερτερούσαν σημαντικά ως προς τη μέση απόδοση ανά πειραματικό τεμάχιο (κατά 19 και 22%) στις συνθήκες της τυπικής πυκνότητας. Δεκαπέντε από τις 20 οικογένειες που προέκυψαν από ενδο-οικογενειακή επιλογή, υπερτερούσαν κατά 18-53% της ποικιλίας στη χαμηλή πυκνότητα, ενώ στην τυπική πυκνότητα τέσσερις από αυτές υπερτερούσαν της ποικιλίας κατά 17-20%. Κατά μέσο όρο, οι αρχικές 10 οικογένειες ξεπερνούσαν την ποικιλία κατά 20 και 4% στη χαμηλή και τυπική πυκνότητα, αντίστοιχα. Η μέση απόδοση των 20 οικογενειών της 2<sup>ης</sup> γενιάς ξεπερνούσε την απόδοση της ποικιλίας κατά 24% στη χαμηλή πυκνότητα και κατά 9% στην τυπική πυκνότητα. Βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των αποδόσεων των οικογενειών στη χαμηλή και την τυπική πυκνότητα, ενώ οι τιμές CV της απόδοσης των ατομικών φυτών στη χαμηλή πυκνότητα συσχετίστηκαν αρνητικά με τις αποδόσεις στη χαμηλή και τυπική πυκνότητα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι με κατάλληλη μέθοδο επιλογής η ενδο-ποικιλιακή παραλλακτικότητα είναι αξιοποιήσιμη ώστε να αναβαθμιστεί η παραγωγικότητα της ποικιλίας.

#### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ενδο-ποικιλιακή παραλλακτικότητα έχει αναφερθεί σε διάφορα είδη, τόσο με βάση τη φαινοτυπική διαφοροποίηση των φυτών όσο και με τη χρήση μοριακών τεχνικών, με το μεγαλύτερο όγκο σχετικών δεδομένων να υπάρχει στο καλαμπόκι. Μελέτη ποσοτικών χαρακτήρων σε μακροχρόνια διατηρημένες καθαρές σειρές έδειξε γενετικές αλλαγές μεγαλύτερες από αυτές που θα περίμεναν οι βελτιωτές. Σημαντική παραλλακτικότητα για διάφορα αγρονομικά χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένης και της απόδοσης, αναφέρεται από τους Fleming κ.α. (1964), Higgs και Russell (1968), Fleming (1971), Grogan και Francis (1972), Bogenschutz και Russell (1986). Οι Sprague κ.α. (1960) βρήκαν σημαντική παραλλακτικότητα για απόδοση και πέντε αγρονομικά χαρακτηριστικά ακόμη και μέσα σε σειρές που προέκυψαν με διπλασιασμό χρωμοσωμάτων σε απλοειδείς σειρές. Οι Gethi κ.α. (2002) εκτίμησαν το επίπεδο γενετικής διαφοροποίησης μέσα σε έξι καθαρές σειρές με τη χρήση μικροδορυφόρων (SSR) και βρήκαν ότι από τη συνολική γενετική παραλλακτικότητα 7,6% οφείλονταν σε παραλλακτικότητα μεταξύ διαφορετικών πηγών της ίδιας σειράς και 4,6% σε παραλλακτικότητα μέσα σε μια σειρά από την ίδια πηγή. Σε άλλα είδη επίσης αναφέρεται αξιοσημείωτη ενδο-ποικιλιακή παραλλακτικότητα. Οι Byth και Weber (1968) αναφέρουν γενετική παραλλακτικότητα για διάφορα αγρονομικά χαρακτηριστικά μέσα σε F<sub>3</sub> σειρές σόγιας. Οι Gordon και Byth (1972) βρήκαν σημαντική διαφοροποίηση μέσα σε μια ποικιλία καπνού. Μοριακή ανάλυση με την τεχνική RFLP σε καθαρές σειρές ηλιάνθου έδειξε την ύπαρξη ενδο-ποικιλιακής παραλλακτικότητας (Zhang κ.α., 1995). Οι Olufofote κ.α. (1997) επίσης βρήκαν ενδο-ποικιλιακή παραλλακτικότητα σε ποικιλίες ρυζιού με τη χρήση μικροδορυφόρων και RFLP ανάλυσης.

Αναμφισβήτητα οι γενετικές διαφορές μέσα σε μια ποικιλία αναμένεται να είναι μικρές και φαινοτυπικά αναγνωρίσιμες σε συνθήκες που μεγιστοποιούν τη φαινοτυπική έκφραση και διαφοροποίηση. Συνθήκες μειωμένου ανταγωνισμού, έτσι ώστε να ελαχιστοποιούνται οι μεταξύ των φυτών παρεμβάσεις για την αξιοποίηση των πόρων, έχουν προταθεί ως οι ιδανικές για την ικανοποίηση της προϋπόθεσης αυτής (Fasoula και Fasoula, 2002). Επιλογή ατομικών φυτών σε συνθήκες μειωμένου ανταγωνισμού έχει βρεθεί να είναι αποτελεσματικές στην αποκάλυψη ενδο-ποικιλιακής παραλλακτικότητας σε διάφορα είδη, όπως στο μαλακό σιτάρι για απόδοση (Fasoula, 1990), στο χλωρό φασόλι για τον αριθμό και το βάρος λαβών (Τρακα κ.α., 2000), σε δύο καθαρές σειρές καλαμποκιού, με την παραλλακτικότητα μάλιστα να μεταβιβάζεται και στις διασταυρώσεις τους (Tokatlidis, 2000), σε μια ποικιλία βαμβακιού για απόδοση και αντοχή στο μύκητα *Verticillium* (Fasoulas, 2000), και σε τρεις ποικιλίες σόγιας για την περιεκτικότητα των σπόρων σε πρωτεΐνες, έλαια και λιπαρά οξέα (Fasoula και Boerema, 2004). Σε πρόσφατη εργασία (Tokatlidis κ.α., 2004) βρέθηκε παραλλακτικότητα μέσα στην ποικιλία μαλακού σιταριού *Νέστος* για απόδοση, περιεκτικότητα των σπόρων σε πρωτεΐνες, τη διάκριση ισotόπων άνθρακα (προσδιορισμένη σε σπόρους) και την περιεχόμενη στους σπόρους τέφρα, σε συνθήκες τόσο έλλειψης ανταγωνισμού, όσο τυπικής πυκνότητας. Έτσι σκοπός της εργασίας ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας αξιοποίησης της παραλλακτικότητας αυτής με στόχο την αναβάθμιση της παραγωγικότητας της ποικιλίας.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ο πειραματισμός έγινε σε δύο περιοχές, το αγρόκτημα του ΤΕΙ Α. Μακεδονίας στη Φλώρινα και το αγρόκτημα του Σταθμού Γεωργικής Έρευνας Ν. Ζωής Ημαθίας, σε τέσσερις διαδοχικές καλλιεργητικές περιόδους. Τα σχέδια πειραματισμού ήταν κυψελωτά με αποστάσεις μεταξύ των φυτών 100 cm (πυκνότητα 1,2 φυτά/m<sup>2</sup>) για επιλογή και απογονικό έλεγχο και σχέδια με πλήρεις τυχαιοποιημένες ομάδες (RCB) στην τυπική πυκνότητα των 500 φυτών/m<sup>2</sup> για απογονικό έλεγχο. Στα πειραματικά τεμάχια των RCB η ποσότητα σπόρου που σπάρθηκε προσδιορίστηκε με βάση το βάρος 1000 κόκκων και την επιδιωκόμενη πυκνότητα. Σε όλα τα πειράματα εφαρμόστηκαν οι προβλεπόμενες καλλιεργητικές φροντίδες λίπανσης, ζιζανιοκτονίας και αντιμετώπισης των εντόμων.

### *Απογονική αξιολόγηση 1<sup>ης</sup> γενιάς.*

Τον Οκτώβριο του 1998 εγκαταστάθηκε στη Φλώρινα κυψελωτό NR0 με βασικό σπόρο της ποικιλίας *Νέστος* και συνολικά 1054 φυτά. Με βάση την απόδοση επιλέχθηκαν 10 φυτά ο σπόρος των οποίων χρησιμοποιήθηκε χωριστά, οπότε προέκυψαν 10 οικογένειες. Την καλλιεργητική περίοδο 1999-00 οι οικογένειες και η αρχική ποικιλία αξιολογήθηκαν σε κυψελωτά R21 με 55 φυτά ανά οικογένεια και στις δύο περιοχές. Ο σπόρος του συνόλου των φυτών κάθε οικογένειας αναμίχτηκε, κοσκινίστηκε και οι 10 οικογένειες με τη *Νέστος* αξιολογήθηκαν την επόμενη περίοδο στις δύο περιοχές σε πειράματα RCB των τριών επαναλήψεων. Κάθε πειραματικό τεμάχιο αποτελούνταν από οκτώ γραμμές μήκους 5 m που απείχαν μεταξύ τους 17 cm, από τις οποίες συγκομίστηκαν οι έξι μεσαιές.

### *Απογονική αξιολόγηση 2<sup>ης</sup> γενιάς.*

Με επιλογή ατομικών φυτών μέσα στις πέντε από τις 10 οικογένειες στα πειράματα R21 της 1<sup>ης</sup> γενιάς (1999-00) προέκυψαν 20 οικογένειες 2<sup>ης</sup> γενιάς. Ο απογονικός έλεγχος των οικογενειών αυτών έγινε στις επόμενες δύο καλλιεργητικές περιόδους με τον τρόπο που περιγράφηκε για την 1<sup>η</sup> γενιά.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### *Επιλογή ατομικών φυτών για τη δημιουργία οικογενειών 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> γενιάς.*

Η μέση απόδοση ανά φυτό του αρχικού υλικού της ποικιλίας *Νέστος* ήταν 30,5 g, με τις αποδόσεις των ατομικών φυτών να κυμαίνονται από 1 έως 90 g (τυπική απόκλιση 17,1 g, CV=56,2%). Τα 10 φυτά που επιλέχθηκαν και έδωσαν τις οικογένειες 1<sup>η</sup> γενιάς είχαν απόδοση από 51 έως 83 g. Κατά την απογονική αξιολόγηση 1<sup>ης</sup> γενιάς στη χαμηλή πυκνότητα, από πέντε οικογένειες επιλέχθηκαν τέσσερα φυτά (με αποδόσεις από 46 έως 96 g), και προέκυψαν οι 20 οικογένειες 2<sup>ης</sup> γενιάς.

#### Απογονική αξιολόγηση 1<sup>ης</sup> γενιάς.

Στη χαμηλή πυκνότητα η μέση παραγωγικότητα των πειραμάτων στη Φλώρινα και Νέα Ζωή ήταν 26,3 και 32,2 g/φυτό, αντίστοιχα, με διαφορετική κατάταξη των οικογενειών λόγω αλληλεπίδρασης γενοτύπου-περιβάλλοντος. Η μέση απόδοση των οικογενειών στο σύνολο των δύο πειραμάτων κυμάνθηκε από 24,6 έως 34,1 g/φυτό, ενώ της *Νέστος* ήταν 24,8 g/φυτό (πίν. 1). Πέντε οικογένειες υπερέιχαν σημαντικά της *Νέστος* κατά 25 έως 38%. Στο σύνολό τους οι οικογένειες απέδωσαν 29,8 g/φυτό, δηλ. κατά 20% περισσότερο της *Νέστος*. Οι συντελεστές παραλλακτικότητας των οικογενειών κυμάνθηκαν από 47,1 έως 67,9%, με μέση τιμή CV 57%, ενώ η τιμή CV της *Νέστος* ήταν 63%.

**Πίνακας 1.** Μέση απόδοση των οικογενειών της 1<sup>ης</sup> γενιάς και της ποικιλίας *Νέστος* στη χαμηλή πυκνότητα 1,2 φυτά/m<sup>2</sup> (ΧΠ), και στην τυπική πυκνότητα 500 φυτά/m<sup>2</sup> (ΤΠ), σε g/φυτό και g/plot, αντίστοιχα. (n=αριθμός φυτών, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας).

ΧΠ				ΤΠ	
οικογένεια	n	g/φυτό *	CV%	οικογένεια	g/plot **
4	91	34,1 a	53,4	2	1922 a
7	95	33,4	47,1	10	1885 b
8	92	32,1 b	50,7	5	1723 c
10	97	31,2 c	59,5	4	1679 d
2	101	31,1	49,6	7	1666 a
3	97	28,8 ad	54,7	6	1615 b
6	96	28,0	62,8	8	1594 e
9	100	27,4 b	67,9	<i>Νέστος</i>	1580
5	103	27,0 c	62,3	9	1523 c
<i>Νέστος</i>	100	24,8	63,0	3	1432 d
1	90	24,6 d	60,7	1	1336 e
M.O. οικ.		29,8	57,0	M.O. οικ.	1643
				LSD	276

Μέσες αποδόσεις που βρίσκονται ανάμεσα στα όρια του ίδιου γράμματος δεν διαφέρουν σημαντικά (P<5%): \* z-test για ανεξάρτητα δείγματα και διαφορετικές τυλικές αποκλίσεις, \*\* LSD test.

Στην τυπική πυκνότητα η μέση παραγωγικότητα των δύο πειραμάτων ήταν παρόμοια, 1635 και 1629 g/plot στη Φλώρινα και τη Νέα Ζωή αντίστοιχα. Η ανάλυση παραλλακτικότητας στα δύο πειράματα έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των οικογενειών, όχι όμως σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ οικογενειών και περιοχών. Η μέση απόδοση των οικογενειών κυμάνθηκε από 1336 έως 1922 g/plot, και της *Νέστος* ήταν 1580 g/plot (πίν. 1). Δύο οικογένειες υπερέιχαν σημαντικά της *Νέστος* κατά 19 και 22%. Στο σύνολό τους οι οικογένειες απέδωσαν 1643 g/plot, δηλ. κατά 4% περισσότερο της *Νέστος*.

#### Απογονική αξιολόγηση 2<sup>ης</sup> γενιάς

Στη χαμηλή πυκνότητα η μέση παραγωγικότητα των πειραμάτων στη Φλώρινα και Νέα Ζωή ήταν 22,6 και 24,3 g/φυτό, αντίστοιχα, με διαφορετική κατάταξη των οικογενειών λόγω αλληλεπίδρασης γενοτύπου-περιβάλλοντος. Η μέση απόδοση των οικογενειών στα δύο πειράματα κυμάνθηκε από 18,0 έως 29,3 g/φυτό, και της *Νέστος* ήταν 19,1 g/φυτό (πίν. 2). Δεκαπέντε οικογένειες υπερέιχαν σημαντικά της *Νέστος* κατά 18 έως 53%. Στο σύνολό τους οι οικογένειες απέδωσαν 23,7 g/φυτό, δηλ. κατά 24% περισσότερο της *Νέστος*. Οι συντελεστές παραλλακτικότητας των οικογενειών κυμάνθηκαν από 43,3 έως 60,8%, με μέση τιμή CV 50,3%, ενώ η τιμή CV της *Νέστος* ήταν 58,0%.

**Πίνακας 2.** Μέση απόδοση των οικογενειών της 2<sup>ης</sup> γενιάς και της ποικιλίας *Νέστος* στη χαμηλή πυκνότητα 1,2 φυτά/m<sup>2</sup> (ΧΠ), και στην τυπική πυκνότητα 500 φυτά/m<sup>2</sup> (ΤΠ), σε g/φυτό και g/plot, αντιστοίχα. (n=αριθμός φυτών, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας).

		ΧΠ		ΤΠ	
οικογένεια	n	g/φυτό *	CV%	οικογένεια	g/plot **
2-1	103	29,3 a	48,3	2-4	1818 a
2-3	100	27,2 b	46,4	10-4	1815
2-4	90	26,2 ac	44,3	10-1	1783 b
7-4	97	25,2 d	49,1	8-4	1769
10-4	93	25,1	48,1	8-2	1720 c
7-2	98	25,0	49,7	4-1	1717
7-3	92	25,0 e	47,0	2-2	1711
10-2	90	24,9	43,3	10-2	1710
10-1	91	24,8	46,1	2-1	1671
7-1	90	24,5	56,3	2-3	1668
8-4	78	23,9	48,3	7-1	1659
2-2	97	23,9 b	50,0	4-4	1649
10-3	93	23,5	48,6	10-3	1636 d
4-2	102	23,1 cf	58,1	7-3	1611
4-1	95	22,6 dg	55,6	4-3	1590 a
8-2	73	21,5 eh	52,4	7-2	1564
4-4	94	20,2	49,1	7-4	1563 b
4-3	81	19,7 f	54,5	<i>Νέστος</i>	1516
8-1	80	19,6 g	50,8	8-1	1497
<i>Νέστος</i>	100	19,1	58,0	8-3	1490 c
8-3	66	18,0 h	60,8	4-2	1408 d
M.O. οικ.		23,7	50,3	M.O. οικ.	1652
				LSD	232

Μέσες αποδόσεις που βρίσκονται ανάμεσα στα όρια του ίδιου γράμματος δεν διαφέρουν σημαντικά (P<5%):

\* z-test για ανεξάρτητα δείγματα και διαφορετικές τυπικές αποκλίσεις, \*\* LSD test.

Στην τυπική πυκνότητα η μέση παραγωγικότητα των δύο πειραμάτων ήταν 1694 και 1598 g/ plot στη Φλώρινα και τη Νέα Ζωή αντιστοίχα. Η ανάλυση παραλλακτικότητας στα δύο πειράματα έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των οικογενειών, όχι όμως σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ οικογενειών και περιοχών. Η μέση απόδοση των οικογενειών κυμάνθηκε από 1408 έως 1818 g/plot, και της *Νέστος* ήταν 1516 g/ plot (πίν. 2). Τέσσερις οικογένειες υπερέχουν σημαντικά της *Νέστος* κατά 17 έως 20%. Στο σύνολό τους οι οικογένειες απέδωσαν 1652 g/plot, δηλ. κατά 9% περισσότερο της *Νέστος*.

#### Συσχετίσεις μεταξύ αποδόσεων και τιμών CV

Με βάση τους συντελεστές γραμμικής συσχέτισης (r) βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των αποδόσεων στη χαμηλή και την τυπική πυκνότητα, τόσο για την 1<sup>η</sup> όσο και για τη 2<sup>η</sup> γενιά (πίν.3). Οι τιμές CV των ατομικών φυτών στη χαμηλή πυκνότητα συσχετίστηκαν αρνητικά με τις αποδόσεις στη χαμηλή και τυπική πυκνότητα, με εξαίρεση στην περίπτωση της τυπικής πυκνότητας για την 1<sup>η</sup> γενιά για την οποία η τιμή r ήταν -0,31 και μη σημαντική.

**Πίνακας 3.** Συντελεστές γραμμικής συσχέτισης μεταξύ των αποδόσεων στη χαμηλή πυκνότητα (g/φυτό), των αντιστοιχών τιμών CV και των αποδόσεων στην τυπική πυκνότητα (g/plot).

	1 <sup>η</sup> γενιά		2 <sup>η</sup> γενιά	
	g/plot	CV	g/plot	CV
g/φυτό	0,53 (P<1%)	-0,77 (P<7%)	0,48 (P<3%)	-0,66 (P<2%)
CV	-0,31 (P<36%)		-0,63 (P<3%)	
	n=11		n=21	

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά ως προς το ενδεχόμενο η ενδο-ποικιλιακή παραλλακτικότητα να είναι αξιοποιήσιμη ώστε να βελτιωθεί η παραγωγικότητα της ποικιλίας. Η ενδο-ποικιλιακή γενετική παραλλακτικότητα αναμένεται να είναι μικρή και η αξιολόγησή της φαινοτυπικά διευκολύνεται σε συνθήκες μειωμένου ανταγωνισμού, καθώς αυτές επιτρέπουν μέγιστη φαινοτυπική έκφραση και διαφοροποίηση (Fasoula και Fasoula, 2002). Η επιλογή που εφαρμόστηκε κάτω από τέτοιες συνθήκες φαίνεται να το επιβεβαιώνουν καθώς και στις δύο γενιές βρέθηκαν οικογένειες να υπερέχουν σημαντικά της αρχικής ποικιλίας. Με αποκλίνουσα επιλογή στη χαμηλή πυκνότητα 1,2 φυτά/m<sup>2</sup> μέσα στην ποικιλία σιταριού *Siette Cerros* απομονώθηκαν τρεις υψηλοαποδοτικές και τρεις χαμηλοαποδοτικές οικογένειες (Fasoula, 1990). Ο απογονικός έλεγχος στην τυπική πυκνότητα έδειξε οι υψηλοαποδοτικές να υπερτερούν κατά 2-16% της αρχικής ποικιλίας. Επιλογή σε χαμηλή πυκνότητα μέσα στην ποικιλία χλωρού φασιολιού *Zarγάνα* οδήγησε στη λήψη οικογενειών των οποίων οι αποδόσεις υπερέχαν της αρχικής ποικιλίας κατά 219 έως 279% (Traka κ.α., 2000). Επιλογή μέσα στην ποικιλία βαμβακιού *Σίνδος* με τα φυτά να απέχουν 125 cm, οδήγησε στη δημιουργία της ποικιλίας *Μακεδονία* που με βάση πειραματικά δεδομένα από 16 περιοχές βρέθηκε να υπερέχει της *Σίνδος* κατά 10% ως προς την απόδοση σε σύσπορο βαμβάκι (Fasoulas, 2000). Η μακρόχρονη διατήρηση και αναπαραγωγή μιας ποικιλίας σε συνθήκες πυκνής σποράς και χωρίς να εφαρμόζεται επιλογή ίσως οδηγεί σε γενετική παραλλακτικότητα ως αποτέλεσμα επιγενετικών μεταβολών και συσσώρευσης μεταλλάξεων. Οι Peng κ.α. (1999) αναφέρουν ότι σε μια από τις δημοφιλέστερες ποικιλίες ρυζιού στις Φιλιππίνες, 30 χρόνια μετά τη δημιουργία της, βρέθηκε η παραγωγικότητά της να έχει μειωθεί κατά 200 κιλά ανά στρέμμα, ήτοι κατά 20%. Οι Gethi κ.α. (2002) πρότείνουν οι βελτιωτές πρέπει να έχουν σοβαρά υπόψη τους την παραλλακτικότητα μέσα σε καθαρές σειρές καλαμποκιού, και κυρίως σε παλιότερες. Σύμφωνα με τους Rasmusson και Philips (1997) σε elite γονιδιακές δεξαμενές υπάρχουν μηχανισμοί που αποτελούν μια συνεχή πηγή νέας κληρονομήσιμης γενετικής παραλλακτικότητας, και η επιλογή μπορεί να οδηγήσει σε πρόοδο χάρις σε παραλλακτικότητα που είτε προϋπάρχει, είτε δημιουργείται εκ νέου.

Συμπερασματικά συνθήκες χαμηλής πυκνότητας, έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται η αλληλεπίδραση μεταξύ των φυτών, επιτρέπει τη φαινοτυπική έκφραση της ενδο-ποικιλιακής παραλλακτικότητας και δίνει τη δυνατότητα αποτελεσματικής αξιοποίησής της. Ενδεικτική άλλωστε είναι και η θετική συσχέτιση που βρέθηκε μεταξύ των αποδόσεων των οικογενειών στη χαμηλή και την τυπική πυκνότητα. Θετική συσχέτιση ( $r = 0,56-0,94$ ) μεταξύ αποδόσεων σε χαμηλή και τυπική πυκνότητα, οικογενειών που απομονώθηκαν από μια ποικιλία σιταριού, βρέθηκε και από τη Fasoula (1990). Από την άλλη η αρνητική συσχέτιση των τιμών CV στη χαμηλή πυκνότητα με τις αποδόσεις στη χαμηλή και τυπική πυκνότητα είναι αξιοσημείωτη, καθώς το CV προτείνεται ως κριτήριο επιλογής στις συνθήκες χαμηλής πυκνότητας για αντοχή σε διάφορες καταπονήσεις (Fasoula και Fasoula, 2002). Αρνητική συσχέτιση μεταξύ τιμών CV της απόδοσης ατομικών φυτών και της ανθεκτικότητας στο μύκητα *Verticillium* βρέθηκε στο βαμβάκι (Fasoulas, 2000). Στην παρούσα εργασία οι τιμές CV των οικογενειών στο σύνολο ήταν μικρότερες σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές CV της ποικιλίας (πίν. 1 και 2), ένα ακόμη ενδεικτικό στοιχείο αποτελεσματικής επιλογής μέσα στην ποικιλία.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bogenschütz, T.G., and W.A. Russell. 1986. An evaluation for genetic variation within inbred lines maintained by sib-mating and self-pollination. *Euphytica* 35:403-412.
- Byth, D.E., and C.R. Weber. 1968. Effects of genetic heterogeneity within two soybean populations. I. Variability within environments and stability across environments. *Crop Sci.* 8:44-47.
- Fasoula, D.A. 1990. Correlations between auto-, allo- and nil-competition and their implications in plant breeding. *Euphytica* 50:57-62.
- Fasoula, V.A., and D.A. Fasoula. 2002. Principles underlying genetic improvement for high and stable crop yield potential. *Field Crops Res.* 75:191-209.
- Fasoula, V.A., and H.R. Boerma. 2004. Divergent selection at ultra-low plant density for seed protein and oil content within soybean cultivars. *Field Crops Res.* (in press).
- Fasoulas, A.C. 2000. Building up resistance to *Verticillium* wilt in cotton through honeycomb breeding: *In* Gillham, F.M. (Ed.), *New frontiers in Cotton Research. Proc. of the 2<sup>nd</sup> World Cotton Research Conference*, Athens, Greece, September 6-12, 1998, pp. 120-124.
- Fasoulas, A.C., and Fasoula V.A. 1995. Honeycomb selection designs. *Plant Breed. Rev.* 13:87-139.
- Fleming, A.A. 1971. Performance of stocks within long-term inbred lines of maize in testcrosses. *Crop Sci.* 11:620-622.

- Fleming, A.A., G.M. Kozelnicky, and E.B. Browne. 1964. Variations between stocks within long-time inbred lines of maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci.* 4:291-295.
- Gethi, J.G., J.A. Labate, K.R. Lamkey, M.E. Smith, and S. Kresovich. 2002. SSR variation in important U.S. maize inbred lines. *Crop Sci.* 42:951-957.
- Gordon, I.L., and D.E. Byth. 1972. Comparisons among strains of the tobacco cultivar Hicks illustrating variability within a single cultivar. *Qld. J. Agric. Anim. Sci.* 29:255-264.
- Grogan, C.O., and C.A. Francis. 1972. Heterosis in inbred source crosses of maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci.* 12:729-730.
- Higgs, R.L., and W.A. Russell. 1968. Genetic variation in quantitative characters in maize inbred lines, I. Variation among and within Corn Belt seed sources of six inbreds. *Crop Sci.* 8:345-348.
- Olufowote, J.O., Y. Xu, X. Chen, W.D. Park, H.M. Beachell, R.H. Dilday, M. Goto, and S.R. McCouch. 1997. Comparative evaluation of within-cultivar variation of rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite and RFLP markers. *Genome* 40:370-378.
- Peng, S., K.G. Cassman, S.S. Virmani, J. Sheehy, and G.S. Khush. 1999. Yield potential trends of tropical rice since the release of IR8 and the challenge of increasing rice yield potential. *Crop Sci.* 39:1552-1559.
- Rasmusson, D.C., and R.L. Phillips. 1997. Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. *Crop Sci.* 37:303-310.
- Sprague, G.F., W.A. Russell, and L.H. Penny. 1960. Mutations affecting quantitative traits in the selfed progeny doubled monoplloid maize stocks. *Genetics* 45:855-866.
- Tokatlidis, I.S. 2000. Variation within maize lines and hybrids in the absence of competition and relation between hybrid potential yield per plant with line traits. *J. Agr. Sci.* 134:391-398.
- Tokatlidis, I.S., J.T. Tsialtas, I.N. Xynias, E. Tamoutsidis, and M. Irakli. 2004. Variation within a bread wheat cultivar for grain yield, protein content, carbon isotope discrimination and ash content. *Field Crops Res.* 86:33-42.
- Traka-Mavrana, E, D. Georgakis, M. Koutsika- Sotiriou, and T. Pritsa. 2000. An integrated approach of breeding and maintaining an elite cultivar of snap bean. *Agron. J.* 92:1020-1026.
- Zhang, Y.X., L. Gentzbittel, F. Veat, and P. Nicolas. 1995. Assessment of inter- and intra-inbred line variability in sunflower (*Helianthus annuus*) by RFLPs. *Genome* 38:1040-1048

## SUMMARY

The possibility to exploit the intra-cultivar variation within a bread wheat (*Triticum aestivum* L.) variety was investigated. Honeycomb single-plant selection under the low density of 1.2 plants/m<sup>2</sup> in two successive generations led to 10 and 20 families, respectively. Progeny evaluation was conducted in two locations, under both the low and the typical density of 500 plants/m<sup>2</sup>. Compared to the original variety, five out of the 10 1<sup>st</sup> generation families had significantly higher grain yield (by 26-38%) under the low density, and two of them were significantly superior under the typical density (by 19 and 22%). Fifteen out of the 20 2<sup>nd</sup> generation families outperformed by 18-53% the original variety under the low density, while four of them exhibited by 17-20% higher grain yield than the source material under the typical density. On average, the 1<sup>st</sup> generation families were by 20 and 4% more productive than the original variety under the low and the typical density, respectively. The respective superiority of the 2<sup>nd</sup> generation families was 24 and 9%. High yield under the low density was found to be associated with high yield under the typical density, whereas CV of individual plant yields under low density was negatively associated with yielding ability under both low and typical density. Results were indicative of effective single-plant selection within a variety under very low density.

## ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΠΑΛΑΙΩΝ (ΝΤΟΠΙΩΝ) ΚΑΙ ΝΕΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΜΑΛΑΚΟΥ ΚΑΙ ΣΚΛΗΡΟΥ ΣΙΤΟΥ ΣΕ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΣΥΜΒΑΤΙΚΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Κ. Κουτής και Στ. Γαλανοπούλου – Σενδουκά

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος,  
Εργαστήριο Γεωργίας και Εφαρμοσμένης Φυσιολογίας Φυτών  
Οδός Φυτόκου, 384 46 Ν. Ιωνία Μαγνησίας

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αγρονομική συμπεριφορά παλαιών και νέων ποικιλιών μαλακού και σκληρού σίτου μελετήθηκε την καλλιεργητική περίοδο 2002-2003, σε περιβάλλον συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας, ώστε να μπορέσουν να αξιοποιηθούν σε συστήματα χαμηλών εισροών και ιδιαίτερα βιολογικής καλλιέργειας, με απώτερο στόχο την παραγωγή προϊόντων υψηλής ποιότητας. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι η βιολογική καλλιεργητική πρακτική και ιδιαίτερα η αμειψισπορά διατήρησε και βελτίωσε τη γονιμότητα του εδάφους και επιπλέον έκανε μη αναγκαία την εφαρμογή εξωτερικής λίπανσης και ζιζανιοκτονίας, μειώνοντας έτσι σημαντικά το κόστος παραγωγής. Από την άλλη οι εισροές (λίπανση, ζιζανιοκτονία) στον συμβατικό αγρό, αύξησαν την ομοιομορφία των φυτών καθώς και την παραγωγή σε σπόρο 10%, έναντι του βιολογικού αγρού.

Οι σύγχρονες ποικιλίες μαλακού σιταριού Ωρωπός και Ελισάβετ αντέδρασαν καλύτερα και στα δύο συστήματα παραγωγής, ήταν πιο ομοιόμορφες και δεν πλάγιασαν. Επιπλέον μπόρεσαν να αξιοποιήσουν καλύτερα τις αποθησαυριστικές ουσίες, να συντηρήσουν μεγαλύτερο αριθμό γόνιμων στάχων ανά επιφάνεια και τελικώς να έχουν μεγαλύτερη απόδοση σε καρπό σε σχέση με τις αντίστοιχες παλαιές. Οι παραδοσιακές ποικιλίες σκληρού σίτου, γενικά, απέδωσαν περισσότερο και στα δύο συστήματα παραγωγής από τις σύγχρονες αντίστοιχες ποικιλίες, επιβεβαιώνοντας ότι αποτελούν πολύτιμη πηγή γενετικού πλούτου για την γεωργία της Μεσογείου. Από αυτές, οι παλιές ποικιλίες Σκληρόπετρα Πτολεμαΐδας και Μαυραγάκι Αργολίδας είχαν γενικά καλή αγρονομική συμπεριφορά και απέδωσαν περισσότερο από όλες τις ποικιλίες με το βιολογικό τρόπο παραγωγής.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η βελτίωση στην απόδοση του σιταριού, ιστορικά, βασίστηκε στην αύξηση του Δείκτη Συγκομιδής (Harvest Index : HI) (1981; Siddique *et al.*, 1989; Slafer *et al.*, 1990), ο οποίος συσχετίζεται με χαρακτηριστικά του ιδεότυπου όπως π.χ. νανισμό, αύξηση της βιομάζας (Perry and D'Antuono, 1989; Siddique *et al.*, 1989), ή αύξηση συγχρόνως του HI όσο και της συσσωρευσης ξηράς ουσίας (Wych and Stuthman, 1983). Άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν πως παρά την αύξηση του HI, δεν προέκυψε καμμία αλλαγή στη βιομάζα (Waddington *et al.*, 1986).

Η υπεροχή των βελτιωμένων ποικιλιών έναντι των παλαιών οφείλεται στην προιμότητα, νανισμό, ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα. Επίσης, με τη βελτίωση επιτεύχθηκε η δημιουργία καινούριων ποικιλιών που παράγουν περισσότερους κόκκους από δεδομένη βιομάζα, σε σύγκριση με τις παλιές, και με μεγαλύτερη ικανότητα γεμίσματος αυτού του αυξημένου αριθμού κόκκων (Donmez *et al.*, 2001). Τις τελευταίες δεκαετίες υπήρχε η τάση για δημιουργία ποικιλιών με ισχυρή αντίδραση σε εισροές όπως άρδευση-λίπανση, π.χ. ποικιλίες Borlaug. Σήμερα διαμορφώνονται τάσεις για χρήση περιορισμένων εισροών (LISA = Low input sustainable agriculture) και επομένως υπάρχει τάση για να δημιουργηθούν λιτοδίαιτες ποικιλίες. Επιπλέον, λόγω πλεονασμάτων σιταριού και ανάγκης προστασίας του περιβάλλοντος (Οικολογική Γεωργία), δεν ενδιαφέρει τόσο η μεγιστοποίηση των αποδόσεων όσο η μείωση του κόστους παραγωγής (ώστε να μειωθούν οι επιδοτήσεις) με τον περιορισμό και των εισροών (Γαλανοπούλου-Σενδουκά, 2002).

Τα χειμερινά σιτηρά θεωρούνται από τις σχετικώς εύκολα μετατρέπόμενες βιολογικές καλλιέργειες γιατί γενικώς απαιτούν λίγες εισροές. Εξάλλου είναι από τις κύριες καλλιέργειες που πρέπει να εμπλέκονται στην αμειψισπορά, τόσο στις ξηρικές, όσο και στις αρδευόμενες εκτάσεις, ώστε να αμβλύνονται τα προβλήματα έλλειψης αρδευτικού ύδατος. Ιδιαίτερα το σιτάρι που αποτελεί βασικό στοιχείο διατροφής, αλλά και τα υπόλοιπα χειμερινά σιτηρά, που είναι γενικώς κτηνοτροφικά, επιβάλλεται να μούνε πιο δυναμικά στη

βιολογική γεωργία (Γαλανοπούλου-Σενδουκά και Κουτής, 2004). Σε πολλές δημοσιευμένες μελέτες οι αποδόσεις των βιολογικών καλλιεργειών είναι σχετικά χαμηλότερες σε σύγκριση με τις συμβατικές. Πειράματα 21 ετών, κυρίως με αροτραίες καλλιέργειες, που έγιναν από το Βιολογικό Ινστιτούτο της Ελβετίας FiBL (Mader *et al.*, 2002) υποστηρίζουν ότι:

- Οι βιολογικοί αγροί έδωσαν μόνο 20% μειωμένη απόδοση σε σχέση με τους συμβατικούς.
- Οι εισροές για τη λίπανση και ενέργεια ήταν μειωμένες κατά 34 και 53%, επομένως ήταν πιο αποτελεσματικές στους βιολογικούς αγρούς.
- Στον τρίτο κύκλο αμειψισποράς η απόδοση του βιολογικού σταριού πλησίασε στο 90% του συμβατικού.
- Η βιολογική δράση των μικροοργανισμών, η βιομάζα των γαιοσκωλήκων και η συμβίωση των ριζών με μυκόρριζες, στοιχεία που συμβάλλουν στη διατήρηση και αύξηση της γονιμότητας του εδάφους, είναι αυξημένα στους βιολογικούς αγρούς.

Οι ντόπιες ποικιλίες είναι κατά κανόνα προσαρμοσμένες σε καλλιεργητικά συστήματα μειωμένων εισροών (Brancourt *et al.*, 2003) και υπερέχουν ως προς την ποιότητα (κατά κανόνα αρνητική γενετική συσχέτιση ποιότητας και ποσότητας), η οποία γενικώς, κατά την διαδικασία της βελτίωσης, θυσιάστηκε στο βωμό των υψηλών αποδόσεων. Στην Ελλάδα όμως σήμερα απουσιάζει ακόμη και η αξιολόγηση των παλαιών ποικιλιών (αλλά και των νέων) ως προς την προσαρμοστικότητα σε καλλιεργητικά συστήματα Βιολογικής Γεωργίας, καθώς και ως προς την ποιότητα στα πλαίσια της Σύγχρονης Ποιοτικής Γεωργίας.

Σκοπός της παρούσης εργασίας ήταν να ερευνηθεί την αγρονομική συμπεριφορά των παλαιών και νέων ποικιλιών μαλακού και σκληρού σίτου ώστε να μπορέσουν να αξιοποιηθούν σε συστήματα χαμηλών εισροών και ιδιαίτερα βιολογικής καλλιέργειας, με απώτερο στόχο την παραγωγή προϊόντων υψηλής ποιότητας, με βάση τις νέες απαιτήσεις των καταναλωτών και τη αγροπεριβαλλοντική γεωργική πολιτική της Ε.Ε.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο Δίλοφο Φαρσάλων, σε δύο χωριστά αγροτεμάχια της περιοχής, γειτονικά μεταξύ τους, τα οποία αποτελούν τμήματα αγρών που συνορεύουν και είναι παρόμοια από εδαφολογικής άποψης. Στους αγρούς αυτούς εφαρμόζεται, στο μεν ένα κλασική συμβατική καλλιέργεια και στο άλλο βιολογική καλλιέργεια από 15ετία.

Έξι ποικιλίες μαλακού (*Triticum aestivum* L.), (4 παλαιές και δύο νέες) και έξι σκληρού (*Triticum turgidum* L. var. durum) σταριού, (4 παλαιές και δύο νέες) αντίστοιχα, δοκιμάστηκαν την καλλιεργητική περίοδο 2002-2003 σε περιβάλλον συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας. Οι ποικιλίες προήλθαν, οι μεν νεότερες από το Ινστιτούτο Σιτηρών Θεσ/νίκης (Ι.Σ.), οι δε παλαιές από την Ελληνική Τράπεζα Γενετικού Υλικού (Ε.Τ.Γ.Υ.). Οι νεότερες ποικιλίες είναι δημιουργίες του Ι.Σ. εγγεγραμμένες στον Εθνικό Κατάλογο Ποικιλιών και οι παλαιές είναι όλες ντόπιες ελληνικές ποικιλίες.

Το πειραματικό σχέδιο ήταν το ίδιο και στους δύο αγρούς και ήταν αυτό των πλήρως τυχαιοποιημένων ομάδων (RCB) με 12 ποικιλίες και πέντε (5) επαναλήψεις. Κάθε τεμάχιο (ποικιλία) περιελάμβανε 6 γραμμές μήκους 3 μέτρων, οι οποίες απείχαν 20 cm η μία από την άλλη. Μεταξύ των επαναλήψεων, καθώς και μεταξύ των ποικιλιών μέσα στην επανάληψη η απόσταση ήταν 1 m.

Ως προς την προετοιμασία των αγρών και τις υπόλοιπες καλλιεργητικές φροντίδες ακολουθήθηκε η συνήθης καλλιεργητική πρακτική. Ο συμβατικός αγρός την προηγούμενη καλλιεργητική περίοδο είχε χρησιμοποιηθεί για την καλλιέργεια σίτου, ενώ στο βιολογικό είχε καλλιεργηθεί φακή (*Lens esculentus*), σύμφωνα με το σύστημα αμειψισποράς που ακολουθά ο βιοκαλλιεργητής (χειμερινό σιτηρό-εαρινό ψυχανθές-χειμερινό ή εαρινό σιτηρό- χειμερινό ψυχανθές). Στον συμβατικό αγρό έγινε προσπαρτικά εφαρμογή χημικής λίπανσης 8 μονάδων αζώτου (N) και 4 μονάδων φωσφόρου (P) ενώ κατά το στάδιο του 3ου φύλλου των ζιζανίων, έγινε χημική ζιζανιοκτονία ταυτόχρονα για πλατύφυλλα και αγροστώδη ζιζάνια. Για την σπορά χρησιμοποιήθηκε ποσότητα σπόρου ίση με 15 Kg/στρ και στα δύο αγροτεμάχια. Λίπανση και χημική ζιζανιοκτονία στον βιολογικό αγρό δεν έγιναν. Σπορά και συγκομιδή έγιναν στα τέλη Νοεμβρίου και Ιουνίου αντίστοιχα.

Εφαρμογή νερού έγινε μια φορά και στους δύο πειραματικούς αγρούς, το 1ο δεκαήμερο του Μαΐου, λόγω εξαιρετικά επικίνδυνων για την παραγωγή συνθηκών ξηρασίας.

Κατά τη διάρκεια του πειράματος έγιναν οι μετρήσεις για τα ακόλουθα χαρακτηριστικά :

- Ποσοστό φυτρώματος, πυκνότητα φυτών.
- Βιομάζα ζιζανίων.

- Ύψος φυτών, αριθμός αδελφιών, Δείκτης Φυλλικής Επιφάνειας (Δ.Φ.Ε), βιομάζα.
- Φαινοτυπική ομοιομορφία, πλάγισμα κατά το στάδιο της ωρίμανσης
- Συντελεστές απόδοσης (στάχεις ανά επιφάνεια, αριθμός κόκκων, βάρος 1000 κόκκων), Δείκτης Συγκομιδής, τελική απόδοση σε σπόρο.

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων περιελάμβανε ανάλυση της παραλλακτικότητας ξεχωριστά για το κάθε ένα σύστημα παραγωγής (συμβατικό, βιολογικό). Για την ενίσχυση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων έγινε συνδυασμένη ανάλυση παραλλακτικότητας των δυο μεθόδων καλλιέργειας, που έχει μόνο ενδεικτική σημασία γιατί, όπως προαναφέρθηκε, αξιολογούνταν σε διαφορετικούς αγρούς.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μετρήσεις του Σταθμού Φαρσάλων, καθ όλη την καλλιεργητική περίοδο έδειξαν σταδιακή άνοδο της θερμοκρασίας μετά το δεύτερο 10ήμερο του Φεβρουαρίου, οι οποίες συνδυάστηκαν με χαρακτηριστική ανομβρία- με εξαίρεση το 1ο δεκαήμερο Απριλίου. Η ξηρασία ήταν έντονη το 1ο δεκαπενθήμερο του Μαΐου, περίοδο κατά την οποία τα φυτά ήταν στα ευαίσθητα στάδια του ξεσταχύσματος και άνθησης, δηλαδή στην κριτική περίοδο του φυτού.

Στον Πίνακα 1 αναφέρονται χαρακτηριστικά με σημαντική διαφορά μεταξύ συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας ενώ στους Πίνακες 2 και 3 οι συντελεστές απόδοσης στον βιολογικό και συμβατικό αγρό, αντίστοιχα.

Πίνακας 1 Χαρακτηριστικά με σημαντική διαφορά μεταξύ συμβατικής και βιολογικής καλλιέργειας

Χαρακτηριστικά	Μέση τιμή		Επίπεδο Σημαντικότητας
	Συμβατική	Βιολογική	
Φύτρωμα (1-10)	7,1	7,5	*
Αδέρφια ανά φυτό	2,92	1,94	***
Ύψος φυτών στο αδέρφωμα (cm)	5,5	6,2	*
Φυλλική Επιφάνεια στο αδέρφωμα (cm/φυτό <sup>2</sup> )	22	16	***
Ξηρό βάρος φυτού στο αδέρφωμα (gr)	0,63	0,46	**
Ύψος φυτών στο καλάμωμα (cm)	29,2	24,7	**
Φυλλική Επιφάνεια στο καλάμωμα (cm <sup>2</sup> /φυτό)	61	34	***
Ξηρό βάρος στο καλάμωμα (gr)	2,8	1,6	***
Ύψος στο ξεστάχυασμα (cm)	56,4	50,9	***
Φυλλική επιφάνεια κατώτερων φύλλων στο ξεστάχυασμα (cm <sup>2</sup> /φυτό)	23	35	*
Φαινοτυπική Ομοιομορφία (1-10)	8,1	7,5	*
Πλάγισμα (1-9)	2,0	2,6	**
Δείκτης Συγκομιδής (HI)	0,42	0,35	**
Κόκκοι ανά στάχυ	24,5	20,1	**
Βάρος 1000 κόκκων (gr)	37,0	39,7	***
Απόδοση σε σπόρο (Kg/στρ)	289	260	*

\*, \*\*, \*\*\* : Σημαντικότητα για το επίπεδο 0.05, 0.01 και 0.001, αντίστοιχα

Πίνακας 2 Συντελεστές απόδοσης στο βιολογικό αγρό

Ποικιλία	Δείκτης Συγκομιδής (Η)		Φυτά ανά m <sup>2</sup>	Στάχεις ανά m <sup>2</sup>		Κόκκοι ανά στάχυ		Απόδοση σε σπόρο	Βάρος 1000 κόκκων	
							kg/στρ	g		
Ωρωπός (M <sub>1</sub> )	0,37	ABCD	245	660	A	25,2	A	289	30,5	E
Ελισάβετ (M <sub>1</sub> )	0,34	BCDE	214	502	ABC	26,8	A	282	30,2	F
Ασπρόσταρο Λάρισας (M <sub>2</sub> )	0,32	DE	212	350	C	18,2	BC	234	30,9	CD
Ξυλόκαστρο Λαμίας (M <sub>2</sub> )	0,38	ABC	198	381	BC	17,3	C	248	40,3	AB
Μαυραγάκι Αιτωλνίας (M <sub>2</sub> )	0,40	A	194	394	BC	15,2	C	211	40,2	B
Γκρινιάς Ευβοίας (M <sub>2</sub> )	0,35	ABCD E	241	445	BC	17,5	C	240	40,1	BC
Άθως (Σ <sub>1</sub> )	0,38	ABC	248	443	BC	18,5	BC	278	40,5	A
Μεξικάλι (Σ <sub>1</sub> )	0,31	E	207	361	C	16,7	C	247	40,5	A
Σκληρόπετρα Πτολεμαΐδας (Σ <sub>2</sub> )	0,33	CDE	219	466	BC	28,7	A	337	30,5	E
Τσιπούρα Σάμου (Σ <sub>2</sub> )	0,39	AB	207	423	BC	16,9	C	243	40,3	AB
27 Μούνδρος 5 (Σ <sub>2</sub> )	0,31	E	270	537	AB	16,2	C	217	40,1	BC
Μαυραγάκι Αργολίδας (Σ <sub>2</sub> )	0,34	CDE	209	366	C	24,0	AB	292	30,7	DE
Μέσος Όρος	0,35		222	444		20,1		260	40,0	
C.V.%	12,6		26	28,7		23,2		23,4	5,6	
E.S.A. <sub>05</sub>	0,06		NS	40,61		5,96		NS	0,28	
<b>ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ</b>	<b>**</b>			<b>*</b>		<b>***</b>			<b>***</b>	
*, **, *** Σημαντικότητα για το επίπεδο 0.05, 0.01 και 0.001, αντίστοιχα										
Ποικιλίες που περιέχουν ίδια γράμματα ( A,B, C,... ) στην ίδια στήλη, δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους στο επίπεδο σημαντικότητας 5%										
M <sub>1</sub> , Σ <sub>1</sub> : Σύγχρονες ποικιλίες μαλακού και σκληρού σίτου , αντίστοιχα										
M <sub>2</sub> , Σ <sub>2</sub> : Παραδοσιακές ποικιλίες μαλακού και σκληρού σίτου , αντίστοιχα										

Πίνακας 3 Συντελεστές απόδοσης στον συμβατικό αγρό

Ποικιλίες	HI	Φυτά ανά m <sup>2</sup>		Στάχεις ανά m <sup>2</sup>		Κόκκοι ανά στάχυ		Απόδοση σε σπόρο	Βάρος 1000 κόκκων	
								Kg/στρ	g	
Ωρωπός (M <sub>1</sub> )	0,57	267	A	550	AB	34,5	AB	353	30,1	H
Ελισάβετ (M <sub>1</sub> )	0,44	240	ABC	650	A	38,0	A	337	20,7	I
Ασπρόσταρο Λάρισας (M <sub>2</sub> )	0,40	180	E	420	BCD	23,8	BCD	282	30,6	EFG
Ευλόκαστρο Λαμίας (M <sub>2</sub> )	0,42	184	DE	428	BCD	18,9	CD	253	40,0	BCD
Μαυραγάκι Αιτωλίας (M <sub>2</sub> )	0,40	194	CDE	419	BCD	24,3	BCD	303	30,7	DEF
Γκρινάς Ευβοίας (M <sub>2</sub> )	0,51	196	BCDE	446	BCD	20,4	CD	270	40,1	BC
Άθος (Σ <sub>1</sub> )	0,45	184	DE	332	CD	19,2	CD	272	40,3	AB
Μεξικάλι (Σ <sub>1</sub> )	0,36	202	BCDE	325	CD	23,8	BCD	280	30,4	FGH
Σκληρόπετρα Πτολεμαΐδας (Σ <sub>2</sub> )	0,36	232	ABC D	499	ABC	25,7	BC	283	30,3	GH
Τσιπούρα Σάμου (Σ <sub>2</sub> )	0,34	152	E	294	D	13,5	D	198	40,5	A
27 Μούνδρος 5 (Σ <sub>2</sub> )	0,33	244	AB	450	BCD	25,2	BC	318	30,9	CDE
Μαυραγάκι Αργολίδας (Σ <sub>2</sub> )	0,47	198	BCDE	412	BCD	27,3	ABC	316	30,5	FG
Μέσος Όρος	0,42	207		435		24,5		289	30,7	
C.V.%	32,4	18,6		32,2		36,7		37,5	7,4	
E.S.A. 0.5	NS	12,2 7		44,66		11,47		NS	0,34	
ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ		***		*		**			***	
*, **, *** : Σημαντικότητα για το επίπεδο 0.05, 0.01 και 0.001, αντίστοιχα										
Ποικιλίες που περιέχουν ίδια γράμματα ( A,B, C,.. ) στην ίδια στήλη, δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους στο επίπεδο σημαντικότητας 5%										
M <sub>1</sub> , Σ <sub>1</sub> : Σύγχρονες ποικιλίες μαλακού και σκληρού σίτου , αντίστοιχα										
M <sub>2</sub> , Σ <sub>2</sub> : Παραδοσιακές ποικιλίες μαλακού και σκληρού σίτου , αντίστοιχα										

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

### Σύγκριση συμβατικού και βιολογικού συστήματος καλλιέργειας.

Είναι χαρακτηριστικό ότι, ενώ ο συμβατικός και βιολογικός αγρός συνορεύουν και ανήκουν στον ίδιο τύπο εδάφους, η καλλιεργητική βιολογική πρακτική και ιδιαίτερα η αμειψισπορά που ακολουθήθηκε τα τελευταία 15-20 χρόνια είχε τελικό αποτέλεσμα τη βελτίωση της δομής του εδάφους και την αύξηση της γονιμότητας του βιολογικού αγρού με άμεση συνέπεια την έλλειψη ανταγωνισμού από ζιζάνια και το καλύτερο φύτρωμα (Πίνακας 1). Επιπλέον έκανε μη αναγκαία την εφαρμογή εξωτερικής λίπανσης και ζιζανιοκτονίας, μειώνοντας έτσι σημαντικά το κόστος παραγωγής.

Ο συμβατικός τρόπος παραγωγής και ιδιαίτερα η μονοκαλλιέργεια επηρέασε δυσμενώς την καλλιέργεια στα αρχικά στάδια λόγω κακής δομής και ζιζανίων και έκανε επιτακτική την εφαρμογή ζιζανιοκτονίας. Χαρακτηριστικά, κατά το στάδιο του αδερφώματος και πριν την εφαρμογή ζιζανιοκτόνου στο συμβατικό αγρό, ο μέσος όρος ξηράς βιομάζας ζιζανίων ήταν πενταπλάσιος από τον αντίστοιχο στον βιολογικό αγρό στον οποίο επιπλέον υπήρχε μεγαλύτερη ποικιλία ζιζανίων (στοιχεία που δεν αναφέρονται στους πίνακες). Η βελτίωση των συνθηκών καλλιέργειας λόγω εισροών (λίπανση, ζιζανιοκτονία) στο συμβατικό αγρό, ενίσχυσε την ανάπτυξη της καλλιέργειας σε επόμενα στάδια, και προκάλεσε αύξηση της παραγωγής σε σπόρο κατά 10%, έναντι του βιολογικού αγρού (Πίνακας 1).

Ωστόσο ο Δ.Φ.Ε. (και του φύλλου-σημαία) μετά το ξεστάχιασμα στο βιολογικό αγρό ήταν μεγαλύτερος ( Πίνακας 1) και αυτό θα πρέπει να θεωρηθεί πλεονέκτημα καθώς μελέτες έδειξαν θετική συσχέτιση της Φ.Ε. και της συγκέντρωσης ξηράς ουσίας όσο και σημαντικό ρόλο του κορυφαιού φύλλου στο βάρος των κόκκων και στον καθορισμό της απόδοσης (Καλτσίκης, 1992).

Επίσης η καλλιεργητική πρακτική επηρέασε σε τέτοιο βαθμό την αγρονομική συμπεριφορά του σιταριού ώστε το τελικό προϊόν, δηλαδή η απόδοση σε σπόρο, να ανέρχεται στο 90% της αντίστοιχης συμβατικής παραγωγής, με σοβαρά μειωμένο κόστος παραγωγής (κατεργασίας εδάφους, λίπανσης, φυτοπροστασίας)

#### *Αξιολόγηση των παλαιών και νέων ποικιλιών στα δύο συστήματα καλλιέργειας*

Στο συγκεκριμένο πείραμα οι σύγχρονες ποικιλίες μαλακού σίτου είχαν μεγαλύτερο αριθμό κόκκων ανά στάχυ και όχι οι σκληρού τύπου. Το γεγονός, επίσης, ότι η απόδοση στις μαλακές σύγχρονες ποικιλίες ήταν μεγαλύτερη, μπορεί να αποδοθεί κυρίως στο μεγαλύτερο αριθμό στάχων ανά επιφάνεια και το μικρότερο βάρος 1000 κόκκων (Πίνακες 2,3). Σε ότι αφορά τις ποικιλίες σκληρού σίτου δεν επιβεβαιώθηκε ότι οι σύγχρονες ποικιλίες έχουν υψηλότερο ΗΙ και υψηλότερο βάρος 1000 κόκκων από τις αντίστοιχες παλιές ποικιλίες, όπως βρήκαν άλλοι ερευνητές (Agorastos *et al.*, 2000).

Η εργασία επιβεβαιώνει ότι ο αριθμός των στάχων ανά μονάδα επιφάνειας και κόκκων ανά στάχυ έχει μεγάλη συσχέτιση με την απόδοση (Donmez *et al.*, 2001). Οι καινούριοι γενότυποι αξιοποίησαν καλύτερα τις αποθησαυριστικές ουσίες για την ανάπτυξη των αδελφιών απ' ότι οι παλιοί με αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των γόνιμων αδελφιών ανά επιφάνεια. Αξίζει, πάντως να σημειωθεί ότι στον βιολογικό αγρό πιο υψηλοαποδοτικές ποικιλίες ήταν οι ντόπιες ενώ στον συμβατικό αγρό οι σύγχρονες ποικιλίες (Πίνακες 2,3).

Οι σύγχρονες ποικιλίες μαλακού σιταριού Ωρωπός και Ελισάβετ αντέδρασαν καλύτερα και στα δύο συστήματα παραγωγής, ήταν πιο ομοιόμορφες και δεν πλάγιασαν. Επίσης μπόρεσαν να αξιοποιήσουν καλύτερα τις αποθησαυριστικές ουσίες, να συντηρήσουν μεγαλύτερο αριθμό γόνιμων στάχων ανά επιφάνεια και τελικώς να έχουν μεγαλύτερη απόδοση σε καρπό σε σχέση με τις αντίστοιχες παλαιές. Επιπλέον ήταν οι πιο αποδοτικές ποικιλίες στο συμβατικό σύστημα παραγωγής (Πίνακας 3).

Οι παραδοσιακές ποικιλίες σκληρού σίτου Μαυραγάκι Αργολίδας και Σκληρόπετρα Πτολεμαΐδας είχαν καλή αγρονομική συμπεριφορά, μικρή ευαισθησία στο πλάγιασμα και απέδωσαν καλύτερα και στα δύο συστήματα παραγωγής σε σύγκριση με τις σύγχρονες ποικιλίες σκληρού τύπου. Επιπλέον ήταν οι πιο αποδοτικές ποικιλίες στο βιολογικό σύστημα παραγωγής (Πίνακας 2).

Η σημαντική αλληλεπίδραση γενοτύπου περιβάλλοντος και καλλιεργητικού συστήματος δείχνει ότι απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να επισημανθούν ποιες ποικιλίες είναι οι πλέον κατάλληλες για την κάθε περιοχή και καλλιεργητικό σύστημα ώστε να εξασφαλιστούν συνθήκες σχετικής οικονομικότητας της παραγωγικής διαδικασίας. Περαιτέρω έρευνα, επίσης, θα πρέπει να δώσει στοιχεία ποιότητας και συμβατότητας των ποικιλιών με τις απαιτήσεις των καταναλωτών.

#### **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Γαλανοπούλου – Σενδουκά, Σ. 2002. Ειδική Γεωργία Ι. Πανεπιστημιακές Παραδόσεις. Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Βόλος.
- Γαλανοπούλου-Σενδουκά, Σ. και Κ. Κουτής. 2004. Βιολογική Γεωργία στις αροτρατές καλλιέργειες. Ημερίδα : Βιολογική γεωργία στην Περιφέρεια Δ. Ελλάδος, Πάτρα, 20 Μαρτίου, 2004. (Πρακτικά υπό έκδοση).
- Καλτσίκης, Π. 1992. Ειδική Βελτίωση Φυτών. Εκδόσεις Σταμούλη. Πειραιάς
- Agorastos, A., Ch. Goulas, S. Stratilakis and A. Korkovelos. 2000. Variability of Harvest Index in local durum wheat landraces. Publication, Abstract book EC Cost 828 Work Group 2 Meeting. Self pollinated field of crops for grain use. Espoo, Finland, December 14-17.
- Brancourt-Humel M., G. Doussinault, C. Lecomte, P. Berard, B. Le Buanec and M. Trottet. 2003. Genetic improvement of agronomic traits of winter wheat cultivars released in France from 1946 to 1992. *Crop Science* 43: 37-45.
- Donmez, E., R. Sears, J. Shroyer and G. Paulsen. 2001. Genetic gain in yield attributes of winter wheat in the Great Plains. *Crop Science* 41: 1412-1419
- Mader, P., A. Fliessbach, D. Dubois, L. Gunst, P. Fried, U. Niggli. 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*. 296:1694-1697.
- Perry, M., and M. D'Antuono. 1989. Yield improvement and associated characteristics of some Australian spring wheat cultivars introduced between 1860 and 1982. *Aust. J. Agric. Res.* 40: 457-472.

Siddique, K., R. Belford, M. Perry, and D. Tennant. 1989. Growth, development and light interception of old and modern wheat cultivars in a Mediterranean-type environment. *Aust. J. Agric. Res.* 40: 473-487

Slafer, G., F. Andrade and S. Feingold. 1990. Genetic improvement of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) in Argentina : Relationships between nitrogen and dry matter. *Euphytica* 50: 63-71.

Waddington, S., J. Ransom, M. Osmanzai and D. Saunders. 1986. Improvement in the yield potential of bread wheat adapted to Northwest Mexico. *Crop Science* 26: 698-703.

Wych, R. and D. Stuthman. Genetic improvement in Minnesota-adapted oat cultivars since 1923. *Crop Sci.* 23:879-881

## **PERFORMANCE OF OLD AND NEW VARIETIES OF BREAD AND DURUM WHEAT IN BIOLOGICAL AND CONVENTIONAL AGRICULTURAL ENVIRONMENT**

**K. Koutis and St. Galanopoulou – Sendouka**

University of Thessaly, Fitokou str, 384 46 N. Ionia Magnesia

### **SUMMARY**

The agronomical performance of old and new bread and durum wheat varieties were studied in biological and conventional agricultural environment, during the period 2003 – 2003, so as to be utilized in low input systems and especially in organic farming for the production of high quality products. The results show that organic practice and especially crop rotation conserved and improved soil fertility. Additionally, there was no need for external inputs (fertilizers, herbicides, e.t.c.). On the other hand, chemical inputs, in the conventional system, increased plant similarity and the seed yield was 10% more than organic yield. The modern bread wheat varieties "Oropos" and "Elisavet" performed better in both cropping systems, were more similar and showed no lodging. Moreover, they preserved more fertile heads – in comparison with old ones – and proved to be more productive. The old durum varieties, generally, were more productive in both cropping systems – compared with modern ones – and confirmed that they consist valuable and promising material for Mediterranean agriculture. The old durum varieties "Skliropeira Ptolemaidas" and "Mauragani Argolidas" revealed good field performance and proved to be the most productive among the others in organic system.

## ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΠΟ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΟΥΛΓΑΡΙΚΩΝ ΚΑΘΑΡΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ

Γεώργιος Ευγενίδης<sup>1</sup>, Βασίλειος Μελλίδης<sup>1</sup>, Χαράλαμπος Καραμαλίγκας<sup>2</sup>, Ivanka Genova<sup>3</sup>,  
Stefan Vulchinkov<sup>3</sup> και Ι. Σφακιανάκης<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. – Ινστιτούτο Σιτηρών Θεσσαλονίκης - 570 01 Θέρμη.

<sup>2</sup> ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. – Κέντρο Εφαρμογής Αγροτικής Έρευνας Νομού Καρδίτσας.

<sup>3</sup> Maize Research Institute – Kneja.

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Προκειμένου να εκτιμηθεί η κληρονομικότητα και η επίδραση του περιβάλλοντος από διασταυρώσεις μεταξύ Ελληνικών και Βουλγάρικων καθαρών σειρών καλαμποκιού, οκτώ καθαρές σειρές από κάθε πλευρά διαμόρφωσαν δύο ομάδες διασταυρώσεων προκειμένου να σχηματισθούν νέα υβρίδια αραβόσιτου. Η πρώτη ομάδα έγινε με την διαλληλική διασταύρωση με όλους τους δυνατούς συνδυασμούς μεταξύ έξι πρώιμων καθαρών σειρών (δύο ελληνικών και τεσσάρων βουλγάρικων-15 υβρίδια). Η δεύτερη διασταύρωση κατά ομάδες (mating design II) περιελάμβανε δέκα μέσο-όψιμες καθαρές σειρές, έξι ελληνικές (γονέας Α) και τέσσερις βουλγάρικες (γονέας Β) και έδωσε 24 υβρίδια. Κάθε χώρα προετοίμασε τους σπόρους των νέων υβριδίων κατά τη καλλιεργητική περίοδο του πρώτου έτους, 1998. Οι διασταυρώσεις έγιναν με το χέρι, χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 20 φυτά από κάθε γονέα για κάθε διασταύρωση. Τα υβρίδια που δημιουργήθηκαν από αυτές τις διασταυρώσεις αξιολογήθηκαν το προσεχές έτος σε δύο διαφορετικούς πειραματικούς και σε έξι τοποθεσίες. Εκτός από την απόδοση λήφθηκαν παρατηρήσεις για το ύψος φυτών, το ύψος του ανώτερου σπάδικα, τον αριθμό ημερών από τη σπορά και την υγρασία σπόρων στη συγκομιδή. Από τα αποτελέσματα της αξιολόγησης φαίνεται ότι οι καθαρές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν δεν έχουν σημαντική γενική συνδυαστική ικανότητα. Υπάρχει όμως πολύ σημαντική ειδική συνδυαστική ικανότητα, και πολλά από τα νέα υβρίδια, ιδιαίτερα από την όψιμη ομάδα διασταυρώσεων παρουσίαζαν την ίδια απόδοση και προσαρμοστικότητα με τα εμπορικά υβρίδια που χρησιμοποιήθηκαν σαν μάρτυρες. Ακόμη πολλά από τα υβρίδια και των δυο ομάδων πρωιμότητας είναι πολύ καλύτερα προσαρμοσμένα σε συνθήκες χαμηλών εισροών, πλεονεκτώντας σε περιβάλλοντα όπως της Βουλγαρίας αλλά και σε ορισμένες περιοχές της δυτικής και βορείου Ελλάδος, κυρίως λόγω του μειωμένου κόστους παραγωγής.

Λέξεις κλειδιά: Διαλληλική διασταύρωση, συνδυαστική ικανότητα, προσαρμοστικότητα, καλαμπόκι.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εκλογή του κατάλληλου αρχικού υλικού για την υλοποίηση ενός βελτιωτικού προγράμματος, έχει μεγάλη σημασία. Κατά τον Sprague (1984), ως τελικός στόχος κάθε βελτιωτικού προγράμματος θα πρέπει να είναι η δημιουργία κατάλληλων ποικιλιών, που θα γίνουν αποδεκτές από τους καλλιεργητές. Γι' αυτό το λόγο, θα πρέπει όχι μόνο να μην αγνοηθούν οι υπάρχουσες ποικιλίες, αλλά αντίθετα να χρησιμοποιηθούν ως πρότυπα για τον σχηματισμό της ποικιλίας που πρόκειται να δημιουργηθεί. Ένας από τους παράγοντες που καθορίζουν το μέγεθος της ετέρωσης, είναι η γενετική διαφορά των καθαρών σειρών. Όσο η γενετική διαφορά μεταξύ των γονέων (καθαρών σειρών) αυξάνει τόσο αυξάνει η ετέρωση (Moll et al. 1962, Hallauer & Eberhart 1966). Σημαντικό ρόλο παίζει η καταγωγή των καθαρών σειρών στην εκδήλωση της ετέρωσης (Han et al., 1991). Για να ευρεθεί η συνδυαστική ικανότητα, πρέπει να γίνουν οι διασταυρώσεις μεταξύ των καθαρών σειρών και να αξιολογηθούν τα υβρίδια που σχηματίζονται. Η διαλληλική ανάλυση παρέχει πληροφορίες για την επίδραση της ετέρωσης μεταξύ των γενετικών υλικών (πληθυσμοί, καθαρές σειρές κ.λ.π.). Για αυτόν το λόγο η μέθοδος αυτή είναι δημοφιλής μεταξύ των βελτιωτών αραβόσιτου. Έχουν αναπτυχθεί και έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα πρότυπα (models) διαλληλικών αναλύσεων (Griffing 1956, Lonnquist & Gardner 1961, Moll et al., 1965, Castro et al., 1968, Prasad & Singh 1986, Misevic 1990, Sfakianakis & et al., 1996, Evgenidis et al., 2000). Η εκτίμηση των γενοτύπων μπορεί να γίνει σε περισσότερες τοποθεσίες και έτη, ώστε να γενικευθούν τα αποτελέσματα των μετρήσεων. Αυτή η γενίκευση μπορεί να γίνει μόνο κατόπιν εγκατάστασης δικτύου πειραματικών. Κατά τον Sprague (1984), ένα τέτοιο δίκτυο, μπορεί να δώσει

πληροφορίες για την σχετική αποδοτικότητα των υλικών σε μία γεωγραφική περιοχή, αποκαλύπτοντας τυχόν αλληλεπιδράσεις υβριδίων και περιβάλλοντος. Οι μέχρι τώρα πληροφορίες, δείχνουν ότι σχεδόν πάντα υπάρχουν ισχυρές αλληλεπιδράσεις γενοτύπου και περιβάλλοντος στο καλαμπόκι (Eberhart & Russell 1969, Wright & συν. 1971, Moll & συν. 1978, Ευγενίδης & συν. 1993). Πληροφορίες για την σταθερότητα των υβριδίων στα διάφορα περιβάλλοντα, μπορούν να ληφθούν χρησιμοποιώντας διάφορες προσεγγίσεις, όπως αυτές που ανέπτυξαν οι Finlay & Wilkinson (1963), Eberhart & Russell (1966), κτλ, με την χρήση των δεικτών περιβάλλοντος. Εάν δεν υπάρχουν τέτοιοι περιβαλλοντικοί δείκτες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι μέσοι όροι των ποικιλιών που καλλιεργούνται στο περιβάλλον αυτό ως δείκτες γονιμότητας.

Σκοπός αυτού του προγράμματος ήταν μελέτη της ετέρωσης των διασταυρώσεων μεταξύ καθαρών σειρών που προέρχονται από τις δύο χώρες και η αξιολόγηση της προσαρμοστικότητας των διασταυρώσεων αυτών στις συνθήκες της ευρύτερης περιοχής.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στα πλαίσια διμερούς συνεργασίας μεταξύ του Ινστιτούτου σιτηρών Θεσσαλονίκης και του Ινστιτούτου καλαμποκιού της Κνεja Βουλγαρίας κατά τα έτη 1998-99, οκτώ καθαρές σειρές από κάθε πλευρά διαμόρφωσαν δύο ομάδες διασταυρώσεων προκειμένου να σχηματισθούν νέα υβρίδια αραβοσίτου. Οι καθαρές σειρές χωρίστηκαν σε δυο ομάδες ανάλογα με την πρωιμότητα. Η πρώτη ομάδα περιελάμβανε έξι καθαρές σειρές (δύο ελληνικές και τέσσερις βουλγαρικές) με δείκτη FAO 500-600. Η όψιμη ομάδα περιελάμβανε δέκα καθαρές σειρές, έξι ελληνικές (γονέας Α) και τέσσερις βουλγαρικές (ο γονέας Β), με δείκτη FAO 600-700. Οι κωδικοί των καθαρών σειρών που θα χρησιμοποιηθούν στο εξής, τα γενεαλογικά τους ονόματα και η χώρα προέλευσης φαίνεται παρακάτω:

<u>Πρώιμη ομάδα</u>			<u>Όψιμη ομάδα</u>		
<u>Κωδικός</u>	<u>Όνομα κ. σ.</u>	<u>Χώρα προέλευσης</u>	<u>Κωδικός</u>	<u>Όνομα κ. σ.</u>	<u>Χώρα προέλευσης</u>
a	ΙΣ-42388	Ελλάδα	A	L3	Ελλάδα
b	ΙΣ-41734	Ελλάδα	B	ΙΣ-38868	Ελλάδα
c	ΧΜ-96-103	Βουλγαρία	C	B-297	Ελλάδα
d	kB-11	Βουλγαρία	D	Γ1/16	Ελλάδα
e	K-4652	Βουλγαρία	E	A1/45	Ελλάδα
f	24/87b	Βουλγαρία	F	B-311	Ελλάδα
			G	K-4640b	Βουλγαρία
			H	Γb-1129/80	Βουλγαρία
			I	CD-79-192	Βουλγαρία
			J	ΧΜ-91-229	Βουλγαρία

Στην πρώτη ομάδα έγιναν διασταυρώσεις μεταξύ καθαρών σειρών σε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς (διαλληλική ομάδα έξι καθαρών σειρών-15 υβρίδια). Στην δεύτερη ομάδα οι δέκα μέσο-όψιμες καθαρές σειρές ομαδοποιήθηκαν ανάλογα με την χώρα προέλευσης και οι έξι ελληνικές αποτέλεσαν τον γονέα Α, ενώ οι τέσσερις βουλγαρικές τον γονέα Β. Κάθε γονέας της μιας ομάδας διασταυρώθηκε με όλους τους γονείς της άλλης ομάδας για να δώσουν έτσι 24 όψιμα υβρίδια. Κάθε χώρα προετοίμασε τους σπόρους των νέων υβριδίων κατά τη καλλιεργητική περίοδο του πρώτου έτους. Οι διασταυρώσεις έγιναν με το χέρι, χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 20 φυτά ως αρσενικά και θηλυκά για κάθε διασταύρωση. Τα υβρίδια που δημιουργήθηκαν από αυτές τις διασταυρώσεις αξιολογήθηκαν το προσεχές έτος σε δύο διαφορετικούς πειραματικούς και σε έξι περιβάλλοντα. Τα δεκαπέντε πειραματικά απλά υβρίδια που προήλθαν από τις δύο ελληνικές και τέσσερις βουλγαρικές πρώιμες καθαρές σειρές μαζί με τα εμπορικά υβρίδια Secilia, Costanza και ZP704 απετέλεσαν το υλικό αξιολόγησης του πρώτου πειραματικού. Το πειραματικό σχέδιο ήταν το πλήρως τυχαίοποιημένων ομάδων (RCBD). Κατά τον ίδιο τρόπο τα 24 πειραματικά απλά υβρίδια που προήλθαν από έξι ελληνικές και τέσσερις βουλγαρικές καθαρές σειρές, μαζί με τους εμπορικούς μάρτυρες Secilia, Costanza, Dias και ZP704 απετέλεσαν το υλικό αξιολόγησης του δεύτερου πειραματικού. Κάθε πλευρά εγκατέστησε τρεις δοκιμές σε τρία διαφορετικά περιβάλλοντα. Στην Ελλάδα χρησιμοποιήθηκαν οι τρεις τοποθεσίες (Θεσσαλονίκη, Λουδίας και Παλαμάς Καρδίτσας) με τέσσερις επαναλήψεις σε κάθε τοποθεσία. Κάθε πειραματικό τεμάχιο περιελάμβανε δύο σειρές μήκους 5 μέτρων, με απόσταση 0.80 μέτρων

μεταξύ των σειρών (πυκνότητα 6250 φυτά / στρέμμα). Οι τρεις δοκιμές ποτίστηκαν πλήρως. Η λίπανση ήταν περίπου 250-80-0 και όλες οι άλλες εργασίες έγιναν προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η παραγωγή σε κάθε τοποθεσία. Στην Βουλγαρία δημιουργήθηκαν τα περιβάλλοντα με σπορές σε διαφορετικούς τύπους εδαφών, με τρεις διαφορετικές πυκνότητες σποράς και διαφορετικές μεταχειρίσεις ως προς την άρδευση και λίπανση, χρησιμοποιήθηκαν δε τρεις επαναλήψεις σε κάθε τοποθεσία. Οι πυκνότητες σποράς (πληθυσμοί φυτών) ήταν 4500, 4600 και 5000 φυτά / στρέμμα για την πρώιμη ομάδα και 4300, 4500 και 6000 φυτά / στρέμμα για την όψιμη ομάδα. Άρδεύσεις έγιναν μόνο στη όψιμη ομάδα, όταν υπήρχε ανάγκη και οι λιπάνσεις ήταν αισθητά μειωμένες σε σχέση με τις δοκιμές της Ελλάδας και προσαρμοσμένες ανάλογα με την γονιμότητα του εδάφους και τις ανάγκες της καλλιέργειας. Εκτός από την απόδοση λήφθηκαν παρατηρήσεις για το ύψος φυτών, το ύψος του ανώτερου σπάδικα, τον αριθμό ημερών από τη σπορά, την υγρασία σπόρων στη συγκομιδή και την αντοχή στο πλάγιασμα. Έγινε συνδυασμένη ανάλυση παραλλακτικότητας χωριστά για κάθε ομάδα πρωιμότητας. Η κατανομή της παραλλακτικότητας των νέων πειραματικών ατλών υβριδίων σε γενική και ειδική συνδυαστική ικανότητα έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο 2 Griffing (1956) για την πρώιμη ομάδα και σύμφωνα με το σχέδιο ζευγαρώματος II (mating design II, Comstock & Robinson 1948). Για τα νέα υβρίδια που επιλέγονται και τους μάρτυρες, οι αποδόσεις από όλα τα περιβάλλοντα χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των παραμέτρων σταθερής συμπεριφοράς στα διάφορα περιβάλλοντα. Σαν περιβαλλοντικοί δείκτες χρησιμοποιήθηκαν οι μέσες αποδόσεις όλων των υβριδίων σε κάθε περιβάλλον.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στον πίνακα 1 δίνονται οι μέσοι όροι της απόδοσης, του ύψους φυτών, του αριθμού ημερών από την σπορά μέχρι την άνθηση των θηλυκών ταξιανθιών και της υγρασίας σπόρων κατά την συγκομιδή, για κάθε περιβάλλον και στο σύνολο, για τα πρώιμα και τα όψιμα υβρίδια χωριστά.

**Πίνακας 1:** Μέσες τιμές απόδοσης και άλλων τριών χαρακτηριστικών κατά τοποθεσία και στο σύνολο για τα 18 πρώιμα και 28 όψιμα υβρίδια, που αξιολογήθηκαν κατά το έτος 1999.

Περιβάλλον	Πρώιμα Υβρίδια				Όψιμα υβρίδια			
	Απόδοση	Ύψος φυτού	Άνθηση	Υγρασία	Απόδοση	Ύψος φυτού	Άνθηση	Υγρασία
	<u>Kg/Στρέ</u>	<u>cm</u>	<u>ημέρες</u>	<u>%</u>	<u>Kg/Στρέ</u>	<u>cm</u>	<u>ημέρες</u>	<u>%</u>
Θεσσαλονίκη	1087	191	69	15,4	1240	213	70	17,2
Λουδίας	907	228	67	15,0	861	241	69	15,4
Παλαμάς	903	247	70	10,5	1205	247	69	18,2
Φυτά 4500*	458	245	66	17,8	481	261	69	20,2
Φυτά 4600*	880	240	64	17,3	759	266	73	20,1
Φυτά 5000*	643	236	64	20,5	864	199	70	19,1
<b>Μ. Ο.</b>	<b>813</b>	<b>231</b>	<b>67</b>	<b>16,1</b>	<b>901,7</b>	<b>238</b>	<b>70</b>	<b>18,4</b>

\*Για τα όψιμα υβρίδια τα φυτά ήταν 4300, 4500 και 6000.

**Πίνακας 2:** Βαθμοί ελευθερίας, τιμές του F και CV, από την συνδυασμένη ανάλυση παραλλακτικότητας 18 πρώιμων και 28 όψιμων υβριδίων, που αξιολογήθηκαν σε έξι περιβάλλοντα για την απόδοση και άλλα τρία χαρακτηριστικά που μετρήθηκαν.

Πηγή παραλλακτικότητας	Β. Ε.	Τιμές του F			
		Απόδοση	Ύψος φυτού	Άνθηση	Υγρασία
Περιβάλλοντα	5	66,16	68,05	57,05	92,66
Περιβάλλοντα εντός Επαναλήψεων	15				
Πρώιμα Υβρίδια	17	3,41	9,67	5,30	5,48
Περιβάλλοντα X Υβρίδια	85	7,18	18,51	20,19	26,32
Σφάλμα	255				
Συντελεστής παραλλακτικότητας (CV) %		10,9	7,12	3,87	4,99
Περιβάλλοντα	5	83,34	123,29	53,81	35,59
Περιβάλλοντα εντός Επαναλήψεων	15				
Όψιμα Υβρίδια	27	6,83	12,59	3,03	5,30
Περιβάλλοντα X Υβρίδια	135	2,92	5,95	15,06	7,55
Σφάλμα	405				
Συντελεστής παραλλακτικότητας (CV) %		12,9	8,32	5,08	6,15

Στον πίνακα 2 φαίνονται οι βαθμοί ελευθερίας, οι τιμές του F και οι συντελεστές παραλλακτικότητας από την συνδυασμένη ανάλυση παραλλακτικότητας της αξιολόγησης των 15 πρώιμων και 24 όψιμων υβριδίων (και των μαρτύρων) που έγινε σε έξι διαφορετικά περιβάλλοντα, τρία στην Ελλάδα και τρία στην Βουλγαρία. Η κατανομή της παραλλακτικότητας των πειραματικών υβριδίων (χωρίς τους μάρτυρες) σε γενική και ειδική συνδυαστική ικανότητα των καθαρών σειρών φαίνεται στον πίνακα 3. Για τα πρώιμα υβρίδια η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε (μέθοδος 2 Griffing) ήταν κατάλληλη για την αξιολόγηση των υβριδίων μιας διαλληλικής χωρίς τους γονείς και τα αντίστροφα. Για τα όψιμα υβρίδια η κατανομή της παραλλακτικότητας σε γενική και ειδική συνδυαστικότητα έγινε με τον χωρισμό των γονέων σε δυο ομάδες.

**Πίνακας 3:** Ανάλυση παραλλακτικότητας για συνδυαστική ικανότητα από την αξιολόγηση για απόδοση (Kg/στρέμμα) 15 πρώιμων υβριδίων και 24 όψιμων υβριδίων, που προήλθαν από διαλληλική διασταύρωση 6 καθαρών σειρών και την διασταύρωση mating design II 10 καθαρών σειρών αντίστοιχα (δεδομένα από έξι περιβάλλοντα του έτους 1999).

Πηγή Παραλλακτικότητας	Β. Ε.	Μέσα Τετράγωνα	Τιμές του F
<i>Διαλληλική ανάλυση έξι πρώιμων καθαρών σειρών</i>			
Γενική συνδυαστική ικανότητα	5	51,16	0,04
Ειδική συνδυαστική ικανότητα	9	10232,52	8,33**
Σφάλμα	70	1227,90	
<i>Mating design II έξι Ελληνικών επί τεσσάρων Βουλγάρικων όψιμων καθαρών σειρών</i>			
Γενική συνδυαστική ικανότητα Ελληνικών	5	157,2	0,07
Γενική συνδυαστική ικανότητα Βουλγάρικων	4	196,5	0,09
Ειδική συνδυαστική ικανότητα	14	26406,4	12,00**
Σφάλμα	115	2200,5	

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 3, και στις δυο περιπτώσεις των πρώιμων όσο και των όψιμων καθαρών σειρών, η γενική συνδυαστική ικανότητα ήταν μη σημαντική. Έτσι στους επόμενους δυο πίνακες 4 και 5 φαίνονται μόνο οι αναλύσεις της ειδικής συνδυαστικής ικανότητας. Η εκτίμηση της επίδρασης της ειδικής συνδυαστικής ικανότητας από την διαλληλική ανάλυση κατά Griffing (πίνακας 4) δείχνει καθαρά ποιοι από τους συνδυασμούς υπερέχουν και πρέπει να προτιμηθούν για την καλή αποδοτικότητά τους.

**Πίνακας 4:** Εκτίμηση της επίδρασης της Ειδικής συνδυαστικής ικανότητας από την διαλληλική ανάλυση κατά Griffing.

	<u>b</u>	<u>c</u>	<u>d</u>	<u>e</u>	<u>f</u>
<u>a</u>	-11,84	10,43	-76,71	42,57	35,55
<u>b</u>		41,98	-35,87	-0,06	5,80
<u>c</u>			42,01	-73,64	-20,78
<u>d</u>				61,14	9,43
<u>e</u>					-30,00

**Πίνακας 5:** Μέσες αποδόσεις (Kg/στρέμμα) των όψιμων υβριδίων και μέσοι όροι αυτών που έχουν τον ίδιο γονέα από την ανάλυση Mating design II.

	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>	<u>D</u>	<u>E</u>	<u>F</u>	<u>M. O.</u>
<u>G</u>	812	941	907	664	825	1001	<b>858</b>
<u>H</u>	961	896	867	970	886	979	<b>926</b>
<u>I</u>	945	1053	1045	1002	927	940	<b>985</b>
<u>J</u>	809	867	949	613	684	1003	<b>821</b>
<u>M. O.</u>	<b>882</b>	<b>939</b>	<b>942</b>	<b>812</b>	<b>830</b>	<b>981</b>	<b>898</b>

**Πίνακας 6:** Αποδόσεις (X), συντελεστές συμμεταβολής (b), με το τυπικό τους σφάλμα (StE) και οι συντελεστές συσχέτισης (r), για 39 υβρίδια και δύο εμπορικούς μάρτυρες που αξιολογήθηκαν σε 6 περιβάλλοντα.

<u>Κατάταξη</u>	<u>Υβρίδιο</u>	<u>X</u>	<u>b<sup>1</sup></u>	<u>StE</u>	<u>r</u>	<u>Κατάταξη</u>	<u>Υβρίδιο</u>	<u>X</u>	<u>b</u>	<u>StE</u>	<u>r</u>
1	M2	918	0,50	± 0,117	0,90	22	AJ	809	0,87	± 0,062	0,99
2	CJ	802	0,53	± 0,107	0,93	23	CG	892	0,88	± 0,107	0,97
3	DH	970	0,53	± 0,093	0,94	24	BG	941	0,89	± 0,276	0,85
4	M1	1070	0,54	± 0,113	0,92	25	EJ	684	0,90	± 0,177	0,93
5	FJ	1003	0,62	± 0,079	0,97	26	df	860	0,91	± 0,178	0,93
6	EH	886	0,69	± 0,159	0,91	27	EG	825	0,91	± 0,174	0,93
7	FG	1001	0,69	± 0,181	0,89	28	FI	940	0,91	± 0,113	0,97
8	bc	809	0,71	± 0,225	0,84	29	EI	927	0,93	± 0,332	0,81
9	DG	664	0,75	± 0,181	0,90	30	BH	896	0,99	± 0,149	0,96
10	CH	867	0,76	± 0,085	0,98	31	ce	706	1,00	± 0,259	0,89
11	cd	803	0,77	± 0,271	0,82	32	ad	653	1,04	± 0,197	0,94
12	DJ	613	0,77	± 0,101	0,97	33	bd	713	1,04	± 0,168	0,95
13	AH	961	0,78	± 0,124	0,95	34	af	873	1,07	± 0,276	0,89
14	BJ	815	0,78	± 0,141	0,94	35	bf	862	1,09	± 0,439	0,78
15	DI	1002	0,79	± 0,285	0,81	36	AI	945	1,10	± 0,146	0,97
16	cf	848	0,84	± 0,288	0,82	37	BI	1053	1,16	± 0,116	0,98
17	CI	1045	0,85	± 0,124	0,96	38	ab	724	1,27	± 0,347	0,88
18	ac	758	0,86	± 0,205	0,90	39	de	823	1,28	± 0,292	0,91
19	FH	979	0,86	± 0,118	0,96	40	ae	791	1,46	± 0,263	0,94
20	ef	839	0,87	± 0,248	0,87	41	be	767	1,82	± 0,728	0,78
21	AG	812	0,87	± 0,123	0,96						

Η ειδική συνδυαστική ικανότητα για τις όψιμες καθαρές σειρές μπορεί να εκτιμηθεί από τον πίνακα των αποδόσεων (πίνακας 5), όπου φαίνονται τόσο οι αποδόσεις των συνδυασμών (υβριδίων) όσο και οι μέσες αποδόσεις των υβριδίων στα οποία συμμετέχει η κάθε καθαρή σειρά (τελευταία γραμμή και τελευταία στήλη του πίνακα).

Η προσαρμοστικότητα όλων των υβριδίων και των δύο μαρτύρων που συμμετείχαν και στις δύο ομάδες πρωιμότητας μπορεί να εκφραστεί με τον συντελεστή συμμεταβολής *b*, που εμφανίζεται στην τέταρτη στήλη του πίνακα 6.

Η κατάταξη των υβριδίων στον πίνακα αυτόν έγινε με βάση τον συντελεστή αυτόν. Ακόμη στον ίδιο πίνακα φαίνονται η μέση απόδοση, το τυπικό σφάλμα του δείκτη *b* και ο συντελεστής συσχέτισης. Η συμμεταβολή του μέσου όρου της απόδοσης του κάθε υβριδίου έγινε με τον μέσο όρο όλων των υβριδίων του πειραματικού (περιβάλλον).

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως φαίνεται από τις μέσες τιμές κυρίως της απόδοσης κατά πειραματικό (πίνακας 1) τα περιβάλλοντα που επιλέχθηκαν για την αξιολόγηση διέφεραν αρκετά μεταξύ τους αφού οι μέσες αποδόσεις κυμαίνονταν από τα 458 έως 1087 Kg/στρέμμα και από 481 έως 1240 Kg/στρέμμα για τα πρώιμα και όψιμα υβρίδια αντίστοιχα. Οι συνθήκες του έτους που έγινε η αξιολόγηση ήταν φυσιολογικές και έτσι μπορούμε να θεωρήσουμε ότι τα περιβάλλοντα που επιλέχθηκαν ήταν αρκετά αντιπροσωπευτικά για την περιοχή που θέλαμε να καλύψουμε. Οι αποδόσεις στην Ελλάδα είναι γενικά μεγαλύτερες από τις αποδόσεις της Βουλγαρίας, λόγω της μεγαλύτερης ηλιοφάνειας αλλά και (κυρίως) λόγω των μεγαλύτερων εισροών που χρησιμοποιούν οι έλληνες αγρότες. Οι τιμές του *F* στον πίνακα 2 είναι στατιστικά σημαντικές σε επίπεδο σημαντικότητας 1%. Μεγάλο ποσοστό της παραλλακτικότητας οφείλεται στη επίδραση του περιβάλλοντος. Το φαινόμενο αυτό είναι συνηθισμένο όταν γίνονται αξιολογήσεις σε πολύ διαφορετικά περιβάλλοντα και κυρίως όταν υπάρχουν περιβάλλοντα με άρδευση και χωρίς άρδευση και επικρατήσουν συνθήκες ξηρασίας. Σε αξιολογήσεις του CIMMYT αναφέρεται ότι περίπου το 96% της παραλλακτικότητας αναλογούσε στις συνθήκες του περιβάλλοντος και της αλληλεπίδρασης μεταξύ γενοτύπου και περιβάλλοντος (Edmeades et al, 1994). Οι συντελεστές παραλλακτικότητας, ακόμη και για την απόδοση, ήταν αρκετά χαμηλοί, αυξάνοντας έτσι την αξιοπιστία των αξιολογήσεων. Οι πολύ μικρές τιμές του *F* για την γενική συνδυαστική ικανότητα σημαίνουν ότι οι καθαρές σειρές που εξετάστηκαν δεν έχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ως προς την γενική συνδυαστική ικανότητα ή με άλλα λόγια ότι δεν υπάρχουν καθαρές σειρές που να συνδυάζονται με όλη την ομάδα των καθαρών σειρών που έγιναν οι διασταυρώσεις. Έτσι θα πρέπει να επιλεγούν οι καλύτεροι συνδυασμοί (υβρίδια) από την κάθε ομάδα για την συνέχιση της αξιολόγησης. Αυτό μπορεί να γίνει από τις εκτιμήσεις της ειδικής συνδυαστικής ικανότητας του πίνακα 4 και από τις μέσες αποδόσεις κατά υβρίδιο και στο μέσο όρο των υβριδίων κάθε καθαρής σειράς του πίνακα 5.

Από τον πίνακα 4 τα πρώιμα υβρίδια *de*, *ae*, *cd* και *bc* εκτιμώνται κατά σειρά ως οι καλύτεροι συνδυασμοί. Για να αποκλεισθεί η επίδραση της γενικής συνδυαστικής ικανότητας η επιλογή στα όψιμα υβρίδια έγινε με κριτήριο την υπεροχή του υβριδίου από τον μέσο όρο των υβριδίων που σχηματίζονται από τους δυο γονείς. Έτσι κατά σειρά επιλέγονται τα υβρίδια *DH*, *DI*, *FJ*, *BI*, *FG* και *CI*. Στον πίνακα 6 τα υβρίδια που είναι πρώτα στην κατάταξη είναι τα πιο απαιτητικά σε ευνοϊκές συνθήκες καλλιέργειας (εισορές γονιμότητα εδάφους μεγάλες πυκνότητες σποράς κλπ), ενώ αυτά που βρίσκονται στο τέλος της κατάταξης είναι και τα λιγότερο απαιτητικά. Τα υβρίδια που προσαρμόζονται καλύτερα σε όλα τα περιβάλλοντα που έγινε η αξιολόγηση έχουν τιμή *b* κοντά στο 1 (Finlay & Wilkinson, 1963). Αυτό εξηγεί για πιο λόγο οι μάρτυρες *M1* και *M2*, που είναι εμπορικά υβρίδια ξένης εταιρίας καθώς και τα περισσότερα όψιμα υβρίδια βρίσκονται σε υψηλές θέσεις στην κατάταξη. Από τα υβρίδια που επιλέγονται (υπογραμμισμένα στον πίνακα 6) τα δυο πρώιμα *bc* και *cd* είναι απαιτητικά σε ευνοϊκές συνθήκες και συνεπώς πιο κατάλληλα για να καλλιεργηθούν στη χώρα μας, ενώ τα άλλα δύο πρώιμα *de* και *ae*, προσαρμόζονται καλύτερα σε λιγότερο απαιτητικά περιβάλλοντα. Από τα όψιμα υβρίδια τα τέσσερα είναι κατάλληλα για ευνοϊκές συνθήκες καλλιέργειας, ενώ τα *CI* και *BI* είναι πιο κοντά στο να θεωρηθούν γενικής προσαρμοστικότητας. Αν θα έπρεπε να επιλέξουμε κάποιο για μη ευνοϊκά περιβάλλοντα αυτό θα ήταν το υβρίδιο *BI*, το μόνο που έχει συντελεστή *b* μεγαλύτερο από την μονάδα.

Από τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας επιβεβαιώνεται η άποψη ότι τα σύγχρονα εμπορικά υβρίδια έχουν επιλεγεί σε ιδανικές συνθήκες καλλιέργειας και συνεπώς είναι απαιτητικά σε υψηλές εισροές για να πετύχουν το μέγιστο της απόδοσης. Οι καλλιεργητές στην χώρα μας το γνωρίζουν αυτό και προσφέρουν αφειδώς τις εισροές σε ενέργεια, νερό, λιπάσματα και φυτοφάρμακα στα υβρίδια που καλλιεργούν, ώστε το κόστος της να είναι πολύ μεγάλο και πολλές φορές να προκαλείται ζημιά στο περιβάλλον εξαιτίας της υπερβολικής χρήσης αζωτούχων λιπασμάτων και της αλόγιστης άντλησης των υπογείων υδάτων. Οι

καλλιεργητές της γειτονικής χώρας, μη έχοντας τις επιδοτήσεις των ελλήνων καλλιεργητών, αλλά και την ευχέρεια της χρήσης υπερβολικών εισροών, δεν επιτυγχάνουν τόσο υψηλές αποδόσεις, έχουν όμως χαμηλότερο κόστος παραγωγής. Στην χώρα μας υπάρχουν περιοχές οι οποίες ίσως να μην έχουν τις βροχοπτώσεις της βορείου Βουλγαρίας, αλλά όπου είναι δυνατόν με πολύ λιγότερες εισροές να επιτευχθούν ικανοποιητικές αποδόσεις. Τέτοιες περιοχές είναι τα οροπέδια της δυτικής και βορείου Ελλάδος και εκεί θα πρέπει ίσως να καλλιεργηθούν τα υβρίδια στο εγγύς μέλλον. Για τα περιβάλλοντα αυτά είναι πιο κατάλληλα υβρίδια που προέρχονται από γονείς καλά προσαρμοσμένους στις τοπικές συνθήκες, όπως είναι οι καθαρές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν στην εργασία αυτή.

#### **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Eberhart, S.A. and W.A. Russel. 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci.* 6: 36-41.
- Edmeades, G. O., H. Lafitte, J. Bolanos, S. Chapman, M. Banziger and J. Deutsch. 1994. Developing maize that tolerates drought or low nitrogen conditions. P. p. 21-84. In: *Stress tolerance breeding: Maize that resists insect, drought, low nitrogen and acid soils.* CIMMYT, Mexico.
- Evgenidis, G., N. Fotiadis, S. Georgiadis, E. Ligos, V. Mellidis And J. Sfakianakis, 2001. Analysis of diallel crosses among CIMMYT'S subtropical temperate and U.S. corn belt populations. *Maydica*, 46: 47-52.
- Gogas, D.M. 1989. Yield stability and quality fluctuations in five breadwheat varieties cultivated in Greece. *Agr. Med.* Vol. 119, 361-365.
- Finlay K.W. & Wilkinson. 1963. The analysis of adaptation in plant breeding programmes. *Aust. J. Agr. Res.*, 14: 742-754.
- Sprague, G.F. 1985. Organization of Breeding Programs. Presented at 21st Ann. III. Corn Breeders School.
- Johnson, V.A., S.L. Shaffer and W. Schmidt. 1968. Regression analysis of general adaptation in hard red winter wheat (*T. aestivum* L.). *Crop Sci.*, 8: 187-191.
- Sfakianakis J., N. Fotiadis, G. Evgenidis, N. Katranis. 1996. Genetic analysis of maize variety diallel crosses and related populations. *Maydica* 41: 113-117.

#### **ESTIMATION OF HEREDITY FROM CROSSES BETWEEN GREEK AND BULGARIAN INBRED LINES OF MAIZE.**

**Evgenidis, Georgios, Vasilios Mellidis, Charalampos Karamaligas, Ivanka Genova, Stefan Vulchinkov and John Sfakianakis.**

#### **SUMMARY**

In order to estimate the genetic components and the environmental effects from crosses between Greek and Bulgarian inbred lines of maize, eight inbreds from each side configured two groups of mating designs so that take form 39 new hybrids of maize. The first group became with a diallel between six inbred lines of early maturity (two Greek and four Bulgarian-15 hybrids). The second group formed by a mating design II, from six Greek (parent A) and four Bulgarian (parent B) late maturity inbred lines and gave 24 hybrids. Each country prepared the seeds of new hybrids at the farming period of the year 1998. The crosses became with the hand, by using at least 20 plants of the parents for each cross. The hybrids that were created by these mating were evaluated the following year in two trials established in six locations. Apart from the yield were received observations on the height of plants, the height of upper most ear, the number of days from the seeding to silking and the seeds moisture at harvest. From the results of evaluation it appears that the inbred lines that were used do not have significant general combining ability. However, it exists very significant specific combining ability and many from the new hybrids, particular from the late maturity group, had the same yield and adaptability with the commercial hybrids that were used as checks. Also many of the hybrids of both groups of maturity are much better adapted in conditions of low inputs, having an advantage in environments like Bulgaria but also in certain regions the western and northern Greece, mainly because the decreased cost of production.

## ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΓΛΥΚΟΥ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΕΙΣΡΟΩΝ

Μυλωνάς Ι.Γ., Μ.Σ. Κούτσικα-Σωτηρίου και Δ.Α. Φασούλα

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Γενετικής και  
Βελτίωσης των Φυτών, 541 24 Θεσσαλονίκη

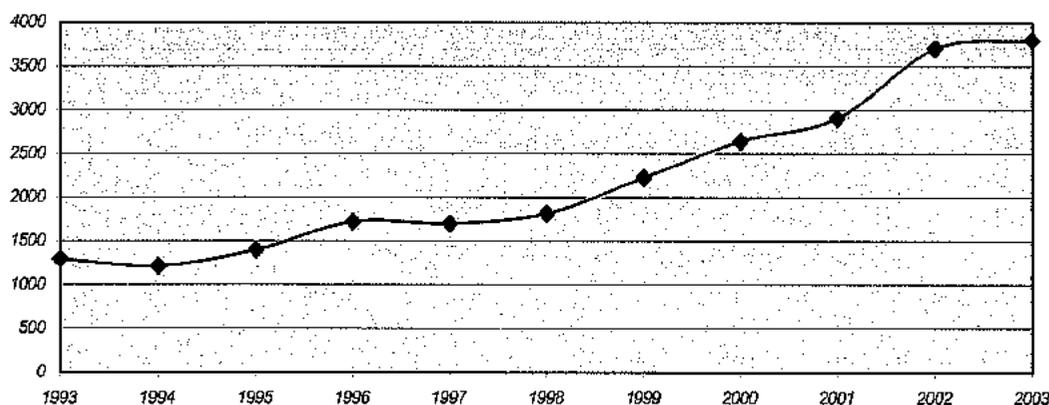
### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το γλυκό καλαμπόκι ή σακχαρώδης αραβόσιτος (*Zea saccharata*) ανήκει στην οικογένεια *Graminae*. Διαφέρει από το κοινό καλαμπόκι σε μία ή περισσότερες γονιδιακές θέσεις που αλλάζουν τη σύνθεση των υδατανθράκων του ενδοσπερμίου. Καταναλώνεται ως λαχανικό γι' αυτό συγκομίζεται με ποσοστό υγρασίας περίπου 70%. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η αξιολόγηση επτά εμπορικών υβριδίων γλυκού καλαμποκιού ως προς τα τρία συστατικά του παραγωγικού δυναμικού και ιδιαίτερα ως προς την ικανότητα αξιοποίησης των εισροών. Χρησιμοποιήθηκαν τα υβρίδια Bonanza, Challenger, Exculibur, Legend, Tasty Sweet και Z sweet corn με FAO 400 και το Forte 67 με FAO 350. Εγκαταστάθηκε πείραμα στο Ομόλιο Λάρισας με πειραματικό σχέδιο σε κυβελωτή διάταξη R-7, με 100 περίπου επαναλήψεις για το κάθε υβρίδιο, ήτοι συνολικά το πείραμα αποτελούσαν 735 φυτά. Για το κάθε υβρίδιο μετρήθηκαν χαρακτηριστικά του φυτού όπως ο αριθμός αδερφών, το ύψος του φυτού και του πρώτου σπάδικα σε cm και μεσογονάτια διαστήματα σε κάθε φυτό χωριστά. Επίσης πάρθηκαν χαρακτηριστικά του σπάδικα όπως ο αριθμός σειρών, το μήκος και η διάμετρος του για τον α' σπάδικα κάθε φυτού. Επιπλέον, σε κάθε φυτό χωριστά συγκομίστηκαν σε δύο συγκομιδές οι σπάδικες του και ζυγίστηκαν. Με βάση τα δεδομένα τα υβρίδια αξιολογήθηκαν ως προς τα τρία συστατικά του παραγωγικού δυναμικού και βρέθηκε υπεροχή των υβριδίων Exculibur και Bonanza.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γλυκό καλαμπόκι είναι ένα από τα πιο δημοφιλή λαχανικά στις Η.Π.Α., όπου ως φρέσκο προϊόν έρχεται 6<sup>ο</sup> σε κατανάλωση, ενώ σε επεξεργασμένη μορφή έρχεται δεύτερο μετά την τομάτα (Kaukis και Davis, 1986). Στην Ελλάδα η κατανάλωση του έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια (Εκ. 1). Καλλιεργείται σε μικρές εκτάσεις σε διάφορες περιοχές, χωρίς ωστόσο η παραγωγή να καλύπτει τις ανάγκες της εγχώριας αγοράς (Μυλωνάς και Κούτσικα, 2003), με αποτέλεσμα να εισάγονται μεγάλες ποσότητες από χώρες όπως η Ουγγαρία, οι Η.Π.Α, η Βουλγαρία κ.α.

Το γλυκό καλαμπόκι ή σακχαρώδης αραβόσιτος ή *Zea saccharata* ανήκει στην οικογένεια *Graminae* και στην υποοικογένεια *Panicoidae* (Kaukis και Davis, 1986). Κατάγεται από την Βόρεια Αμερική, Μεξικό και δημιουργήθηκε από μια μετάλλαξη στη γονιδιακή θέση *Su1* στο χρωμόσωμα 4 του κοινού καλαμποκιού (Tracy, 1997). Η σημαντικότερη διαφορά του με το κοινό καλαμπόκι είναι σε κάποιες γονιδιακές θέσεις που τροποποιούν τη σύνθεση των υδατανθράκων του ενδοσπερμίου. Μέχρι τώρα στο γλυκό καλαμπόκι έχουν βρεθεί 14 μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη σύνθεση υδατανθράκων του ενδοσπερμίου και 8 από αυτές έχουν χρησιμοποιηθεί για εμπορικούς σκοπούς. Οι μεταλλάξεις αυτές κυρίως συντελούν σε υψηλότερη περιεκτικότητα σακχάρων και φυτογλυκογόνου και χαμηλότερη περιεκτικότητα αμύλου. Επιπλέον, υπάρχει διαφορά και σε άλλες γονιδιακές θέσεις που επηρεάζουν όλα τα στάδια ανάπτυξης του φυτού.



Εικ. 1. Ποσότητες κατεψυγμένου και επεξεργασμένου γλυκού καλαμποκιού σε τόνους που έχουν εισαχθεί στην Ελλάδα από το 1993 μέχρι το 2003 (FAO, 2004).

Στο γλυκό καλαμπόκι υπάρχουν χαρακτηριστικά για τα οποία θεωρείται λαχανοκομικό είδος, από τα οποία σημαντικότερα είναι η περιεκτικότητα των σπόρων σε υγρασία κατά τη συγκομιδή (70%) και η γλυκιά γεύση με την κρεμώδη υφή, το μέγεθος των σπείρων αυξάνει όσο αυξάνει η περιεκτικότητα του ενδοσπερμίου σε σάκχαρα και φυτογλυκογόνο (Tracy, 2000).

Η διαχρονική μελέτη της παραγωγικότητας κάθε φυτικού είδους αποτελεί αντικείμενο ερμηνείας των παραγόντων που συμβάλουν σ' αυτή. Στο σιτάρι στις Η.Π.Α., η αύξηση της παραγωγικότητας κατά 32% από το 1958 μέχρι το 1980 (Heid, 1980) αποδόθηκε στη συμβολή της βελτίωσης στην απόδοση κατά 17% και κατά 15% στη βελτίωση των τεχνικών καλλιέργειας. Στο κοινό καλαμπόκι η αύξηση της παραγωγικότητας ξεκίνησε από την εισοδο των υβριδίων στην καλλιέργεια. Το 1930 τα διπλά υβρίδια υπερείχαν από τους πληθυσμούς 25-35% (Russell, 1974) και το 1968 η υπεροχή των απλών υβριδίων έφθασε το 56% (Frey, 1971). Η αύξηση της παραγωγής σε σπόρο στις Η.Π.Α., για τα τελευταία χρόνια υπολογίζεται σε 1,1q/ha (Duvick, 1980). Από το ποσοστό αυτό της αύξησης, στη βελτίωση καταλογίζεται το 57-60% (Duvick, 1977). Συνοψίζοντας τη συμβολή της βελτίωσης στην παραγωγικότητα ο Evans (1980) αναφέρει τρεις κύριους παράγοντες που συμβάλουν σ' αυτή: α) η αύξηση της προσαρμοστικότητας, β) η αύξηση της ανθεκτικότητας στα έντομα και στα παθογόνα και γ) η πλαστικότητα στην αξιοποίηση εισροών και στις αλλαγές της καλλιεργητικής τεχνικής.

Ανάλυση του παραγωγικού δυναμικού επιχειρήθηκε από τις Fasoula και Fasoula (2000), με ταυτόχρονη πρόταση για τρία πειραματικά κριτήρια αξιολόγησης του παραγωγικού δυναμικού των γενοτύπων/ποικιλιών. Αναφέρουν ότι τα γενετικά συστατικά στα οποία αναλύεται το παραγωγικό δυναμικό των γενοτύπων είναι τρία. Το πρώτο γενετικό συστατικό περιλαμβάνει τα γονίδια που ελέγχουν την απόδοση ανά φυτό. Τα γονίδια αυτά κάνουν τη στρεμματική απόδοση ανεξάρτητη της πυκνότητας σποράς με το να εξασφαλίζουν άριστη απόδοση σε χαμηλές πυκνότητες σποράς. Τα γονίδια του συστατικού αυτού εντοπίζονται και επιλέγονται με το μέσο όρο της απόδοσης των απογόνων κάθε γενοτύπου ( $\bar{X}$ ). Το δεύτερο γενετικό συστατικό περιλαμβάνει τα γονίδια που προσδίδουν αντοχή στις βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις, συμπεριλαμβανομένης και της πυκνής σποράς. Τα γονίδια αυτά εντοπίζονται και επιλέγονται με το μέσο όρο των απογόνων του γενοτύπου εκφρασμένο σε τυπικές αποκλίσεις ( $\bar{X}/s$ ). Το τρίτο γενετικό συστατικό περιλαμβάνει τα γονίδια που ελέγχουν την ανταπόκριση στις εισροές, δηλαδή την ικανότητα αξιοποίησης ευνοϊκών περιβαλλόντων. Τα γονίδια αυτά εντοπίζονται και επιλέγονται με το διαφορικό επιλογής των απογόνων εκφρασμένο σε τυπικές αποκλίσεις ( $\bar{X}_{sel} - \bar{X}$ )/s. Οι καλύτερες απογονικές σειρές είναι εκείνες που συγκεντρώνουν τις υψηλότερες τιμές ως προς τα τρία συστατικά του παραγωγικού δυναμικού.

Σκοπός του πειράματος ήταν η αξιολόγηση επτά εμπορικών υβριδίων γλυκού καλαμποκιού ως προς τα τρία συστατικά του παραγωγικού δυναμικού, με ιδιαίτερη έμφαση στο τρίτο. Επιπλέον, σε κάθε συστατικό διερευνήθηκαν παράγοντες που το επηρεάζουν, όπως π.χ. ο αριθμός των επαναλήψεων στο πρώτο και δεύτερο συστατικό και η ένταση επιλογής στο τρίτο συστατικό.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στην αγροτική περιοχή Ομολίου Λάρισας κατά την διάρκεια της άνοιξης και του καλοκαιριού του 2004. Το πειραματικό υλικό αποτέλεσαν 7 εμπορικά υβρίδια γλυκού καλαμποκιού: το Bonanza με κωδικό 1 (FAO 400, Γεωπονικό σπίτι) το Challenger με κωδικό 2 (FAO 400, Υβρίδια Ελλάς), το Exculibur με κωδικό 3 (FAO 400, Γενική φυτοτεχνική), το Forte 67 με κωδικό 4 (FAO 350, Γεωπονικό σπίτι), το Z sweet corn με κωδικό 5 (FAO 400, Ζουλιάμης), το Legend με κωδικό 6 (FAO 400, Γεωπονικό σπίτι) και το Tasty sweet με κωδικό 7 (FAO 400, Enotris). Το πειραματικό σχέδιο ήταν κυψελωτή διάταξη R-7 (Fasoulas, 1977) με 21 γραμμές 35 φυτών η καθεμία, δηλαδή ο συνολικός αριθμός φυτών ήταν 735 και ο αριθμός επαναλήψεων για το κάθε υβρίδιο ήταν 105. Η απόσταση από γραμμή σε γραμμή ήταν 108 cm και 125 cm από φυτό σε φυτό πάνω στην ίδια γραμμή. Η σπορά έγινε στις 10 Μαΐου του 2004. Σε κάθε θέση τοποθετήθηκαν 4 σπόροι και 17 ημέρες μετά το φύτεμα έγινε αραίωμα έτσι ώστε σε κάθε θέση να μείνει ένα μόνο φυτό. Η λίπανση χωρίστηκε σε βασική και επιφανειακή. Κατά την πρώτη ενσωματώθηκαν στο χωράφι 50 Kg (11-15-15) (N-P-K) και στην δεύτερη ρίχτηκαν επιφανειακά σε δύο δόσεις συνολικά 50 Kg (34,5-0-0). Σε όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης των φυτών έγιναν οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες που απέβλεπαν στην μεγιστοποίηση της απόδοσης. Μετρήθηκαν τα εξής χαρακτηριστικά: ο αριθμός αδελφών, το ύψος του φυτού και του α' σπάδικα σε cm και αριθμό μεσογονατίων διαστημάτων και το μήκος, η διάμετρος και ο αριθμός σειρών του α' σπάδικα. Επιπλέον, για την μελέτη του παραγωγικού δυναμικού συγκομίστηκαν σε δύο συγκομιδές οι σπάδικες κάθε φυτού ξεχωριστά και ζυγίστηκαν. Τα δεδομένα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα ηλεκτρονικού υπολογιστή HONEY (Batzios και Roupakias, 1997).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Για την μελέτη της αγρονομικής συμπεριφοράς των υβριδίων, στα μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού (Πίν. 1) βρέθηκε ότι τα υβρίδια έχουν μικρό ύψος το οποίο κυμαίνεται από 130-190 cm. Στα χαρακτηριστικά του α' σπάδικα (Πίν. 2) βρέθηκε ότι ο αριθμός σειρών των υβριδίων κυμαίνεται από 12-18, ενώ το μήκος τους από 18-22 cm.

Ο πρώτος παράγοντας που διερευνήθηκε η επίδραση του στα συστατικά του παραγωγικού δυναμικού, ήταν ο αριθμός επαναλήψεων ενός πειράματος. Για την μελέτη του παράγοντα αυτού στην απόδοση ανά φυτό, ο πειραματικός αγρός χωρίστηκε σε τρία κομμάτια το πρώτο με 35 επαναλήψεις, το δεύτερο με 70 επαν. και το τρίτο με 105 επαν. όσο ήταν και όλο το πειραματικό τεμάχιο. Έγινε κατάταξη των υβριδίων με τις μέσες τιμές απόδοσης ( $\bar{X}$ ) που έδιναν για τον αντίστοιχο αριθμό επαναλήψεων (Πίν. 3) και βρέθηκε ότι δεν υπάρχει σημαντική αλλαγή στην κατάταξη των υβριδίων για 105, 70 και 35 επαν. σύμφωνα με το συντελεστή Spearman ( $r_s(35-70)=0,964$ ,  $r_s(35-105)=0,964$ ,  $r_s(70-105)=1,00$ ). Για την απόδοση ανά φυτό στις 105 επαναλήψεις, τα υβρίδια Bonanza (100%) και Exculibur (91%) υπερέρχουν έναντι των υπολοίπων.

Για τη σταθερότητα συμπεριφοράς διερευνήθηκε ο ίδιος παράγοντας. Από την κατάταξη των υβριδίων με τις τιμές τυποποιημένου μέσου όρου για τον αντίστοιχο αριθμό επαναλήψεων (Πίν. 4), βρέθηκε ότι η κατάταξη στις 35 επαν. διαφέρει σημαντικά σύμφωνα με το συντελεστή Spearman ( $r_s(35-70)=0,429$ ,  $r_s(35-105)=0,464$ ) με την κατάταξη στις 70 επαν. και στις 105 επαν. Δεν βρέθηκε σημαντική αλλαγή στην κατάταξη μεταξύ 70 επαν. και 105 επαν. σύμφωνα με το συντελεστή Spearman ( $r_s(70-105)=0,964$ ). Για την σταθερότητα συμπεριφοράς στις 105 επαν. υπερέρχουν τα υβρίδια Tasty sweet (100%) και Forte 67 (96%) και στην συνέχεια ακολουθούν τα υβρίδια Bonanza και Exculibur, τα οποία είναι ταυτόχρονα και τα πιο παραγωγικά όπως είχε αναφερθεί και προηγουμένως (Πίν. 3).

Για την ικανότητα αξιοποίησης εισροών διερευνήθηκε η επίδραση της έντασης επιλογής στην τελική διαμόρφωση της τιμής. Χρησιμοποιήθηκαν οι εντάσεις επιλογής 14,3% και 5,3% και έγινε κατάταξη των υβριδίων για τις δύο αυτές εντάσεις επιλογής (Πίν. 5). Βρέθηκε ότι οι δύο κατατάξεις διαφέρουν σημαντικά σύμφωνα με τον συντελεστή Spearman ( $r_s(14,3\%-5,3\%)=0,536$ ). Για ένταση επιλογής 14,3% τα υβρίδια Legend (100%) και Forte 67 (98%) υπερέρχουν ως προς την ικανότητα αξιοποίησης εισροών, ενώ για ένταση επιλογής 5,3% υπερέρχουν τα υβρίδια Challenger (100%) και Z sweet corn (99%). Συνοψίζοντας τη συμβολή και των τριών συστατικών βρέθηκε ότι τα υβρίδια Exculibur και Bonanza υπερέρχουν για το παραγωγικό δυναμικό και για τις δύο εντάσεις επιλογής (Πίν. 6).

Η συσχέτιση των συστατικών του παραγωγικού δυναμικού έδειξε ότι μεταξύ του πρώτου και του δεύτερου υπάρχει θετική συσχέτιση και μεταξύ του τρίτου και των άλλων δύο αρνητική συσχέτιση (Πίν. 7). Ακόμη βρέθηκε ότι οι συσχετίσεις μεταξύ των τριών συστατικών του παραγωγικού δυναμικού είναι μη σημαντικές ( $p < 0,05$ ) για ένταση επιλογής 5,3%.

Πίν. 1. Η μέση τιμή των μορφολογικών χαρακτηριστικών κάθε υβριδίου.

Υβρίδιο	Αριθμός αδελφών	Ύψος φυτού		Ύψος α' σπάδικα	
		Σε cm	Σε αριθμό μεσογονατίων	Σε cm	Σε αριθμό μεσογονατίων
Bonanza	0,4 <sup>d*</sup>	190,8 <sup>a</sup>	10,8 <sup>b</sup>	63,8 <sup>a</sup>	6,0 <sup>a</sup>
Challenger	0,2 <sup>e</sup>	142,1 <sup>d</sup>	10,1 <sup>c</sup>	43,3 <sup>d</sup>	4,8 <sup>c</sup>
Exculibur	2,0 <sup>a</sup>	158,7 <sup>b</sup>	11,1 <sup>a</sup>	58,0 <sup>b</sup>	5,7 <sup>b</sup>
Forte	0,6 <sup>c</sup>	132,4 <sup>f</sup>	8,2 <sup>f</sup>	37,0 <sup>e</sup>	3,8 <sup>e</sup>
Z sweet corn	0,3 <sup>de</sup>	150,2 <sup>c</sup>	10,2 <sup>c</sup>	47,0 <sup>c</sup>	4,9 <sup>c</sup>
Legend	0,2 <sup>de</sup>	137,4 <sup>e</sup>	9,3 <sup>d</sup>	32,6 <sup>f</sup>	3,1 <sup>e</sup>
Tasty sweet	1,6 <sup>b</sup>	139,5 <sup>de</sup>	8,7 <sup>e</sup>	45,2 <sup>cd</sup>	4,0 <sup>d</sup>

\* Μέσοι όροι της ίδιας στήλης με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν σημαντικά για  $p < 0,05$  (t test)

Πίν. 2. Η μέση τιμή των μορφολογικών χαρακτηριστικών του α' σπάδικα κάθε υβριδίου.

Υβρίδιο	Μήκος (cm)	Διάμετρος (cm)	Αριθμός σειρών
Bonanza	22,2 <sup>a*</sup>	5,4 <sup>a</sup>	16,3 <sup>b</sup>
Challenger	19,1 <sup>e</sup>	4,5 <sup>e</sup>	15,5 <sup>c</sup>
Exculibur	20,3 <sup>d</sup>	5,1 <sup>b</sup>	19,6 <sup>a</sup>
Forte	21,0 <sup>c</sup>	4,8 <sup>c</sup>	12,3 <sup>e</sup>
Z sweet corn	20,5 <sup>d</sup>	4,8 <sup>cd</sup>	15,5 <sup>c</sup>
Legend	18,4 <sup>f</sup>	4,7 <sup>d</sup>	16,3 <sup>b</sup>
Tasty sweet	21,3 <sup>b</sup>	5,1 <sup>b</sup>	13,3 <sup>d</sup>

\* Μέσοι όροι της ίδιας στήλης με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν σημαντικά για  $p < 0,05$  (t test)

Πίν. 3. Κατάταξη των υβριδίων με βάση τη μέση τιμή της απόδοση που αντιστοιχεί σε 105, 70 και 35 επαναλήψεις και εκατοστιαία έκφραση αυτής.

Υβρίδιο	Αριθμός επαναλήψεων							
	105		70		35			
( $\bar{X}$ ) σε gr	%	Υβρίδιο ( $\bar{X}$ ) σε gr	%	Υβρίδιο ( $\bar{X}$ ) σε gr	%			
1 <sup>a*</sup>	524,7	100	1 <sup>a</sup>	520,5	100	1 <sup>a</sup>	502,5	100
3 <sup>b</sup>	478,5	91	3 <sup>a</sup>	490,2	94	3 <sup>a</sup>	466,2	93
7 <sup>c</sup>	355,6	68	7 <sup>b</sup>	367,6	71	7 <sup>b</sup>	325,2	65
5 <sup>d</sup>	309,5	59	5 <sup>c</sup>	307,3	59	5 <sup>bc</sup>	283,8	56
4 <sup>de</sup>	303,3	58	4 <sup>cd</sup>	293,2	56	4 <sup>bcd</sup>	271,4	54
2 <sup>e</sup>	280,7	53	2 <sup>cd</sup>	278,3	53	6 <sup>cd</sup>	247,1	49
6 <sup>f</sup>	252,0	48	6 <sup>d</sup>	260,5	50	2 <sup>d</sup>	214,1	42

\* Μέσοι όροι της ίδιας στήλης με διαφορετικά γράμματα διαφέρουν σημαντικά για  $p < 0,05$  (t test)

**Πίν. 4.** Κατάταξη των υβριδίων με βάση την τιμή της σταθερότητας συμπεριφοράς που αντιστοιχεί σε 105, 70 και 35 επαναλήψεις και εκατοστιαία έκφραση αυτής.

Υβρίδιο	Αριθμός επαναλήψεων							
	105		70		35			
	$\bar{X}/s$	%	Υβρίδιο	$\bar{X}/s$	%	Υβρίδιο	$\bar{X}/s$	%
7	3,37	100	7	3,65	100	2	3,84	100
4	3,23	96	4	3,18	87	7	3,63	95
1	3,05	90	3	3,05	83	4	3,40	89
3	2,94	87	1	2,98	82	1	3,16	82
6	2,69	80	6	2,69	74	3	3,11	81
2	2,51	75	2	2,62	72	6	2,76	72
5	2,42	72	5	2,55	70	5	2,58	67

**Πίν. 5.** Κατάταξη των υβριδίων με βάση την τιμή της ικανότητας αξιοποίησης εισροών, για 14,3% και 5,3% ένταση επιλογής και εκατοστιαία έκφραση αυτής.

Υβρίδιο	14,3%		Υβρίδιο	5,3%	
	$(\bar{X}_{sel} - \bar{X})/s$	%		$(\bar{X}_{sel} - \bar{X})/s$	%
6	1,86	100	2	2,41	100
4	1,83	98	5	2,38	99
2	1,77	95	6	2,36	98
5	1,73	93	3	2,35	97
7	1,66	89	4	2,12	88
3	1,63	88	7	2,07	86
1	1,41	75	1	1,72	71

**Πίν. 6.** Κατάταξη των υβριδίων με βάση την τιμή για το άθροισμα των τριών συστατικών του παραγωγικού δυναμικού, για τις εντάσεις επιλογής 14,3% και 5,3%.

Υβρίδιο	14,3%		Υβρίδιο	5,3%	
	Άθροισμα τριών συστατικών του παραγωγικού δυναμικού			Άθροισμα τριών συστατικών του παραγωγικού δυναμικού	
3	266		3	275	
1	265		1	261	
7	257		7	254	
4	252		4	242	
6	228		5	230	
5	224		2	228	
2	223		6	226	

**Πίν. 7.** Συσχετίσεις των τριών συστατικών του παραγωγικού δυναμικού για ένταση επιλογής 5,3%.

	$\bar{X}$	$\bar{X}/s$	$(\bar{X}_{sel} - \bar{X})/s$
$\bar{X}$			
$\bar{X}/s$	0,37	0,37	-0,66
$(\bar{X}_{sel} - \bar{X})/s$	-0,66	-0,64	-0,64

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα υβρίδια Exculibur και Bonanza υπερέχουν για το παραγωγικό δυναμικό και στις δύο εντάσεις επιλογής. Διερευνήθηκαν οι ακόλουθοι παράμετροι: α) ο αριθμός των επαναλήψεων. Στην εκτίμηση της απόδοσης ανά φυτό οι 35 επαν. έδωσαν ίδια κατάταξη των υβριδίων με τις 70 επαν. και τις 105 επαν. Άρα για την εκτίμηση του συστατικού αυτού αξιόπιστα αποτελέσματα δίνουν και οι 35 επαν. Στην σταθερότητα συμπεριφοράς χρειάζονται τουλάχιστον 70 επαν. για τη σωστή εκτίμηση της, δεδομένου ότι η κατάταξη στις 35 επαν. διαφέρει σημαντικά με την κατάταξη στις 70 επαν. και στις 105 επαν. Αναμένονταν ότι για τον υπολογισμό της σταθερότητας συμπεριφοράς θα χρειάζονταν περισσότερες επαν. από ότι για τον υπολογισμό της απόδοσης ανά φυτό, αφού πρόκειται για γνώρισμα που χρειάζεται πολλές επαν. και σε διαφορετικά περιβάλλοντα για να μην χαθεί (Allard, 1960). β) η ένταση επιλογής. Βρέθηκε ότι επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα αξιοποίησης εισροών και πρέπει να αναφέρεται κάθε φορά που εκτιμάται το συστατικό αυτό. Τα καλύτερα αποτελέσματα δίνει η ένταση επιλογής 5,3% σύμφωνα με την εξίσωση του Falconer (1989)  $R=i\sigma_p h^2$ .

Η εύρεση θετικής συσχέτισης μεταξύ πρώτου και δεύτερου συστατικού και η αρνητική συσχέτιση αυτών με το τρίτο συστατικό υποδηλώνει ότι: σ' ένα βελτιωτικό πρόγραμμα υβριδίων γλυκού καλαμποκιού είναι δυνατόν να δημιουργηθούν ποικιλίες που πρωτεύουν ως προς τα δύο συστατικά. Ωστόσο, θα είναι πιο δύσκολο αλλά όχι αδύνατο να ενσωματωθεί το τρίτο συστατικό λόγω της αρνητικής συσχέτισης του με τα άλλα δύο συστατικά.

Η διαχρονική μελέτη της παραγωγικότητας και της σταθερότητας κάθε φυτικού είδους αποτελεί κύριο μέλημα των βελτιωτών και πληθώρα ερευνών αναφέρεται σ' αυτό (Frey, 1971). Η αξιοποίηση των εισροών, για την οποία υπάρχει γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ των γενοτύπων, ούτε είχε διερευνηθεί ούτε είχε προταθεί τρόπος μέτρησης της στο επίπεδο του ατομικού φυτού. Στην παρούσα εργασία αξιολογήθηκαν οι γενότυποι και ως προς το τρίτο συστατικό και βρέθηκε ότι επηρεάζεται από την ένταση επιλογής. Ωστόσο, υπολείπεται διατοπικός και διαχρονικός πειραματισμός για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων. Τελικά, το τρίτο συστατικό του παραγωγικού δυναμικού δηλ. η ικανότητα αξιοποίησης εισροών αποτελεί απαραίτητη ένδειξη για κάθε γενότυπο/ποικιλία που απευθύνεται σε μια γεωργία με προϊόντα φιλικά ως προς το περιβάλλον και τον καταναλωτή. Στο μέλλον αναμένεται να δοθεί ιδιαίτερη έμφαση στο συστατικό αυτό, εφόσον συνεχώς αυξάνεται η τάση καλλιέργειας ποικιλιών με μειωμένες απαιτήσεις σε εισροές.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Allard, R.W., 1960. Principles of Plant Breeding. New York: John Wiley & Sons.
- Batzios, D.P. and D.G. Roupakias, 1997. HONEY: a microcomputer programme for plant selection and analysis of the honeycomb designs. *Crop Sci.* 37: 744-747.
- Duvick, D.N., 1977. Genetic rates of gain in hybrid maize yields during the past 40 years. *Maydica* 22:187-196.
- Duvick, D.N., 1980. Recent advance in maize breeding with a view of raising yield and quality. In *Symposium on Production Processing and Utilization of Maize*. Belgrade, Yugoslavia: United Nations, Economics Commission for Europe, pp. 1-10.
- Evans, L.T., 1980. The natural history of crop yield. *American Scientists* 68:388-397.
- Falconer, D.S., 1989. Introduction to Quantitative Genetics. 3<sup>rd</sup> Ed. Longman, London, p. 438.
- Fasoulas, A.C., 1977. Field Designs for Genotypic Evaluation and Selection. *Plant Breed.*, Aristotelian Univ., Thessaloniki, Greece, Publication 3.
- Fasoula, V.A., and D.A. Fasoula, 2000. Honeycomb breeding: Principles and applications. *Plant Breeding Reviews* 18:177-250.
- Frey, K.J., 1971. Improving crop yields through plant breeding. In J.D. Eastin and R.D. Munson (eds.), *Moving Off the Yield Plateau*. Madison, WI: American Society of Agronomy, pp. 15-58.
- Heid, W.G.Jr., 1980. Wheat industry. USDA-ESCS, Agric. Econ. Report no 432, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Kaukis, K. and D.W. Davis, 1986. Sweet corn breeding. In M.J. Bassett (ed.), *Breeding Vegetables Crops*. AVI Pub., Westport, Conn., USA., pp. 475-519.
- Μυλωνάς, Ι.Γ. και Μ.Σ. Κούτσικα-Σωτηρίου, 2003. Το γλυκό καλαμποκι ή σακχαρώδης αραβόσιτος. *Γεωργία και Κτηνοτροφία* 10:90-96.
- Russell, W.A., 1974. Comparative performance for maize hybrids representing different eras of maize breeding. *Proceedings of the Annual Corn and Sorghum Industrial Research Conference* 29:81-101.
- Tracy, W.F., 1997. History, Genetics, and Breeding of Supersweet (shrunken 2) Sweet Corn. *Plant Breeding Reviews* 14:189-236.
- Tracy, W.F., 2000. Sweet Corn. In A.R. Hallauer (ed.), *Specialty Corns*. CRC press, New York, pp. 155-197.

## EVALUATION OF SWEET CORN HYBRIDS FOR RESPONSIVENESS TO INPUTS

Milonas J.G, M. Koutsika-Sotiriou and D.A. Fasoula

Aristotelian University of Thessaloniki, School of Agriculture, Dept. of Genetics and Plant Breeding,  
541 24 Thessaloniki

### ABSTRACT

Sweet corn belongs to the family *Graminae*. It is differentiated from other types of corn by the presence of a gene or genes that affect starch synthesis in the endosperm, and its use as a vegetable. The study was conducted for evaluation of 7 sweet corn hybrids for the three components of crop yield potential. The three components of crop yield (i.e. yield per plant, tolerance to stress, and responsiveness to inputs) are predicted and quantified in the absence of competition by the parameters  $\bar{X}$  (mean),  $\bar{X}/s$  (standardized mean), and  $(\bar{X}_{sel} - \bar{X})/s$  (standardized selection differential), respectively. The 7 sweet corn hybrids were: Bonanza, Challenger, Exculibur, Forte 67, Z sweet corn, Legend and Tasty sweet. Experiment design was the replicated-7 honeycomb design. Each entry was planted in 105 replicated i.e.  $105 \times 7 = 735$  plant positions. For each hybrid the following plant characters were observed: tillers number, plant height, and placement of first ear in cm and in nodes number, for each plant. Besides, ear characters were recorded: ear rows, ear length and ear diameter, for the first ear of every plant. At last, ears from each plant were measured at two harvests. The genetic analysis of yield potential for the hybrids in three components was applied. Exculibur and Bonanza exhibited superiority for crop yield potential.

## ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΜΕ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΚΥΨΕΛΩΤΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ

Λιονυσία Α. Φασούλα-Ιωαννίδου

Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,  
Θεσσαλονίκη 54124

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην εργασία αυτή αναπτύσσεται το κοινό υπόβαθρο, οι παραλληλισμοί και οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των διαδικασιών της κυψελωτής βελτίωσης και της μοριακής βελτίωσης και γίνονται εισηγήσεις για την αποτελεσματική ενοποίησή τους. Και οι δύο προσεγγίσεις στοχεύουν στην αύξηση της αποτελεσματικότητας της συμβατικής βελτίωσης. Η κυψελωτή βελτίωση αναφέρεται στην αξιολόγηση του φαινότυπου του ατομικού φυτού και των απογόνων του σε συνθήκες που ελαχιστοποιούν το CV της απόδοσης των ατομικών φυτών με τη χρήση των κυψελωτών σχεδίων επιλογής και των τριών κριτηρίων εκτίμησης του παραγωγικού δυναμικού. Οι συνθήκες ελαχιστοποίησης του CV της απόδοσης προσεγγίζονται στην πράξη με την αξιολόγηση των ατομικών φυτών σε συνθήκες απουσίας ανταγωνισμού μεταξύ φυτών. Η μοριακή βελτίωση επιδιώκει την αξιοποίηση της τεχνολογίας των μοριακών δεικτών και γενικότερα της προόδου της γονιδιωματικής στα προγράμματα βελτίωσης και επίσης επικεντρώνεται στην αξιολόγηση του ατομικού φυτού. Η αξιολόγηση στη βάση του ατομικού φυτού διαφοροποιεί τις δύο προσεγγίσεις από τη συμβατική βελτίωση, που έχει μονάδα αξιολόγησης και επιλογής το πυκνοφυτεμένο πειραματικό κομμάτι. Η ενοποίηση των δύο προσεγγίσεων, της κυψελωτής και της μοριακής, προσφέρει πολλές δυνατότητες αύξησης της αποτελεσματικότητας της επιλογής.

Λέξεις κλειδιά: κυψελωτά σχέδια αγρού, μοριακοί δείκτες, φαινοτυπική αξιολόγηση

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρόσφατες εξελίξεις στη μοριακή γενετική των φυτών δημιούργησαν την ανάγκη εμπλουτισμού της επιστημονικής ορολογίας με νέους όρους, ώστε να εξυπηρετείται η σύγχρονη επιστημονική έκφραση. Οι όροι «γενότυπος» και «φαινότυπος», που έχουν ελληνικές ρίζες και χρησιμοποιούνταν μέχρι πρόσφατα ως ουσιαστικά στην αγγλική βιβλιογραφία, έχουν πάρει και τη θέση ρημάτων. Μπορούμε λοιπόν να αναλύσουμε γενοτυπικά (να γενοτυπήσουμε – to genotype) και φαινοτυπικά (να φαινοτυπήσουμε – to phenotype) τα άτομα του πληθυσμού που μας ενδιαφέρει. Συνδυάζεται δηλαδή η ανάλυση αλληλουχιών του DNA ενός ατομικού γενότυπου και η φαινοτυπική αξιολόγηση του ίδιου γενότυπου ως προς ένα συγκεκριμένο γνώρισμα.

Κατά τη διαδικασία βελτίωσης φυτών με μοριακούς δείκτες είναι αναγκαία η φαινοτυπική αξιολόγηση στο επίπεδο του ατομικού φυτού, η οποία, για να επιτελέσει το σκοπό της, πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο ακριβής και αξιόπιστη (Koozeef, Alonso-Blanco and Vreugdenhil, 2004). Η αξιοπιστία της φαινοτυπικής αξιολόγησης δεν αποτελεί πρόβλημα όταν πρόκειται για ποιοτικά γνωρίσματα, αποτελεί όμως σημαντική πρόκληση όταν πρόκειται για ποσοτικά γνωρίσματα, όπως για παράδειγμα η απόδοση και η σταθερότητα συμπεριφοράς. Παράγοντες που περιπλέκουν την κατάσταση και δυσκολεύουν περισσότερο τη φαινοτυπική αξιολόγηση ποσοτικών γνωρισμάτων στο επίπεδο του ατομικού φυτού, είναι η ύπαρξη πολλαπλών αλληλομόρφων (Fu and Dooner, 2002), οι αλληλεπιδράσεις γονιδίων μεταξύ τους και οι αλληλεπιδράσεις γονιδιώματος και περιβάλλοντος (Hospital, 2003). Επιπλέον περιοριστικό παράγοντα αποτελεί και η περιορισμένη ποσότητα σπόρου που συνήθως υπάρχει διαθέσιμη στις πρώτες γενιές επιλογής.

Για την επιτυχή αντιμετώπιση των παραπάνω, προσφέρεται ιδιαίτερα η χρήση των αρχών της κυψελωτής βελτίωσης. Η κυψελωτή βελτίωση έχει κοινό σημείο αναφοράς με τη μοριακή βελτίωση την επικέντρωση στο ατομικό φυτό και στο ατομικό γονιδίωμα και περιλαμβάνει την αξιόπιστη φαινοτυπική αξιολόγηση του ατομικού φυτού και των απογόνων του σε συνθήκες που ελαχιστοποιούν το CV της απόδοσης των ατομικών φυτών με τη χρήση των κυψελωτών σχεδίων επιλογής και των τριών κριτηρίων εκτίμησης του παραγωγικού δυναμικού (Fasoula and Fasoula, 2003). Η αξιοπιστία της φαινοτυπικής αξιολόγησης ενισχύεται

με τη δυνατότητα χειρισμού πολλών επαναλήψεων για την ακριβή εκτίμηση των μέσων όρων και των διακυμάνσεων των απογονικών σειρών (Fasoulas and Fasoula, 1995).

Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται μία μεθοδολογία δημιουργίας γενετικών υλικών που αποτελούν κατάλληλο υπόβαθρο για ανάλυση ποσοτικών γνωρισμάτων με μοριακούς δείκτες και συντελούν στο επιτυχές πάντρεμα της βελτίωσης φυτών με μοριακούς δείκτες και της κυψελωτής βελτίωσης.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ως αρχικό υλικό χρησιμοποιήθηκε σπόρος βελτιωτή από 2 ποικιλίες (καθαρές σειρές) σιτηρών, την ποικιλία κριθαριού (*Hordeum vulgare*) Αθηναΐδα και την ποικιλία σκληρού σίτου (*Triticum durum*) Κυπερούντα. Το Δεκέμβριο του 2001 έγινε εγκατάσταση 1000 φυτών από κάθε ποικιλία σε μη επαναλαμβανόμενα κυψελωτά πειράματα στην περιοχή Αθαλάσσα της Κύπρου και η συγκομιδή έγινε τον Μάιο-Ιούνιο του 2002. Σε όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου ο πειραματικός αγρός διατηρήθηκε καθαρός από ζιζάνια και έγιναν οι συνήθειες για την περιοχή επεμβάσεις φυτοπροστασίας. Με βάση την αρχή του κινητού δακτυλίου (Fasoulas and Fasoula, 1995; Fasoula and Fasoula, 2000), έγινε επιλογή 19 ατομικών φυτών από κάθε ποικιλία, που αντιπροσώπευαν 9 υψηλοαποδοτικούς και 10 χαμηλοαποδοτικούς γενότυπους. Σπόρος από τις 19 επιλογές κάθε ποικιλίας εγκαταστάθηκαν σε δύο επαναλαμβανόμενα R-19 κυψελωτά πειράματα την καλλιεργητική περίοδο 2002-2003. Το κυψελωτό πείραμα της ποικιλίας Αθηναΐδας εγκαταστάθηκε στην περιοχή Αθαλάσσας και το κυψελωτό της Κυπερούντας στην περιοχή Αχέλειας της Κύπρου. Η εγκατάσταση, καλλιεργητικές φροντίδες και συγκομιδή έγιναν όπως την προηγούμενη καλλιεργητική περίοδο. Από τα πειράματα αυτά, επιλέγηκαν για κάθε ποικιλία 3 οικογένειες που είχαν υψηλά σχετικά ποσοστά ως προς τα τρία συστατικά του παραγωγικού δυναμικού και την ανταπόκριση στην επιλογή και 3 οικογένειες με χαμηλά αντίστοιχα ποσοστά (πρόγραμμα HONEY, Batzios and Roupakias, 1997).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

**Πίνακας 1:** Δημιουργία αποκλιόντων γενεοτόπων κριθαριού με κυψελωτή βελτίωση για προγράμματα μοριακής βελτίωσης. Η κατάταξη των 19 απογονικών σειρών της ποικιλίας κριθαριού Αθηναΐδας έγινε με βάση τα τρία συστατικά του παραγωγικού δυναμικού και την προβλεπόμενη ανταπόκριση στην επιλογή. Μέσοι όροι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά για  $p < .05$ . Το  $\bar{x}_{sel}$  αντιστοιχεί σε ένταση επιλογής 8.5%.

Κωδικός σειράς	Δυναμικό απόδοσης γραμμάρια/φυτό		Σταθερότητα συμπεριφοράς σε τυπικές αποκλίσεις		Ανταπόκριση στις εισροές σε τυπικές αποκλίσεις		Ανταπόκριση στην επιλογή σε τυπικές αποκλίσεις	
	$\bar{x}$	%	$\bar{x}/s$	%	$(\bar{x}_{sel} - \bar{x})/s$	%	$\bar{x}(\bar{x}_{sel} - \bar{x})/s^2$	%
6	125.23 <sup>a</sup>	100	2.98	100	1.58	66	4.71	79
19	117.32 <sup>ab</sup>	94	2.66	89	1.63	68	4.34	73
7	115.93 <sup>abc</sup>	93	2.17	73	2.05	86	4.45	75
2	114.87 <sup>abc</sup>	92	2.46	83	2.18	91	5.36	90
12	111.05 <sup>abc</sup>	89	2.61	88	1.68	70	4.38	74
17	110.05 <sup>abc</sup>	88	2.46	83	1.79	75	4.40	74
16	109.21 <sup>abc</sup>	87	2.28	77	1.48	62	3.37	57
15	107.65 <sup>abc</sup>	86	2.57	86	2.16	90	5.55	93
3	105.86 <sup>bc</sup>	85	2.40	81	1.69	71	4.06	68
8	105.79 <sup>bc</sup>	84	2.16	72	2.14	90	4.62	78
1	105.75 <sup>bc</sup>	84	2.40	81	1.74	73	4.18	70
9	105.31 <sup>bc</sup>	84	2.48	83	2.13	89	5.28	89
13	105.15 <sup>bc</sup>	84	2.73	92	2.18	91	5.95	100
5	104.18 <sup>bc</sup>	83	2.26	76	2.39	100	5.40	91
4	103.39 <sup>bc</sup>	83	2.73	92	1.87	78	5.10	86
14	103.26 <sup>bc</sup>	82	2.51	84	1.97	82	4.94	83
18	101.44 <sup>bc</sup>	81	2.09	70	1.86	78	3.89	65
11	100.85 <sup>bc</sup>	81	2.00	67	1.88	78	3.76	63
10	95.57 <sup>c</sup>	78	2.23	75	1.97	82	4.39	74

**Πίνακας 2:** Δημιουργία αποκλιόντων γενοτύπων σκληρού σίτου με κυβελωτή βελτίωση για προγράμματα μοριακής βελτίωσης. Η κατάταξη των 19 απογονικών σειρών της ποικιλίας σκληρού σίτου Κυπερούντα έγινε με βάση τα τρία συστατικά του παραγωγικού δυναμικού και την προβλεπόμενη ανταπόκριση στην επιλογή. Μέσοι όροι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά για  $p < 0.05$ . Το  $\bar{x}_{sel}$  αντιστοιχεί σε ένταση επιλογής 8.5%.

Κωδικός σειράς	Δυναμικό απόδοσης γραμμάρια/φυτό		Σταθερότητα συμπεριφοράς σε τυπικές αποκλίσεις		Ανταπόκριση στις εισροές σε τυπικές αποκλίσεις		Ανταπόκριση στην επιλογή σε τυπικές αποκλίσεις	
	$\bar{x}$	%	$\bar{x}/s$	%	$(\bar{x}_{sel} - \bar{x})/s$	%	$\bar{x}(\bar{x}_{sel} - \bar{x})/s^2$	%
7	142.52 <sup>a</sup>	100	2.69	97	1.60	80	4.30	78
14	142.12 <sup>ab</sup>	100	2.28	82	1.76	89	4.01	73
5	140.87 <sup>ab</sup>	99	2.58	93	1.72	87	4.44	81
17	138.63 <sup>ab</sup>	97	2.78	100	1.78	90	4.95	90
4	137.57 <sup>abc</sup>	97	2.55	92	1.71	86	4.36	79
9	136.38 <sup>abc</sup>	96	2.45	88	1.51	76	3.70	67
11	135.54 <sup>abc</sup>	95	2.38	85	1.86	94	4.43	81
18	135.41 <sup>abc</sup>	95	2.76	99	1.99	100	5.49	100
2	133.24 <sup>abc</sup>	93	2.12	76	1.69	85	3.58	65
15	129.57 <sup>abcd</sup>	91	2.49	90	1.89	95	4.71	86
12	128.26 <sup>abcd</sup>	90	2.58	93	1.73	87	4.46	81
10	127.80 <sup>abcd</sup>	90	2.41	87	1.86	94	4.48	82
16	126.00 <sup>abcd</sup>	88	2.51	90	1.53	77	3.84	70
1	124.11 <sup>abcd</sup>	87	2.64	95	1.75	88	4.62	84
6	123.26 <sup>bcd</sup>	86	2.44	88	1.77	89	4.32	79
13	123.09 <sup>bcd</sup>	86	2.29	82	1.72	87	3.94	72
3	116.89 <sup>cde</sup>	82	2.15	77	1.70	86	3.66	67
19	111.00 <sup>cde</sup>	78	2.03	73	1.67	84	3.39	62
8	101.10 <sup>e</sup>	71	2.44	88	1.78	89	4.34	79

**Πίνακας 3:** Συντελεστές συσχέτισης μεταξύ των τριών συστατικών εκτίμησης του παραγωγικού δυναμικού στην ποικιλία κριθαριού Αθηναΐδα. 1=Δυναμικό απόδοσης, 2=Σταθερότητα συμπεριφοράς σε τυπικές αποκλίσεις, 3=Ανταπόκριση στις εισροές σε τυπικές αποκλίσεις. \* δηλώνει σημαντική συσχέτιση για επίπεδο 0.05.

	1	2	3
1		0.50*	-0.26
2	0.50*		-0.19
3	-0.26	-0.19	

**Πίνακας 4:** Συντελεστές συσχέτισης μεταξύ των τριών συστατικών εκτίμησης του παραγωγικού δυναμικού στην ποικιλία σκληρού σίτου Κυπερούντα. 1=Δυναμικό απόδοσης, 2=Σταθερότητα συμπεριφοράς σε τυπικές αποκλίσεις, 3=Ανταπόκριση στις εισροές σε τυπικές αποκλίσεις.

	1	2	3
1		0.43	0.14
2	0.43		-0.18
3	0.14	-0.18	

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Παρατηρήθηκε εύρος ενδοποικιλιακής παραλλακτικότητας και στις δύο ποικιλίες. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι σειρές με υψηλό ποσοστό ως προς το πρώτο συστατικό δεν είχαν απαραίτητα το ίδιο υψηλό ποσοστό ως προς τα άλλα δύο συστατικά του παραγωγικού δυναμικού και την ανταπόκριση στην επιλογή (π.χ. σειρές 6, 7 της Αθηναΐδας και σειρές 7, 9 της Κυπερούντας, Πιν. 1 και 2). Αντιθέτως, υπήρξαν σειρές με σχετικά χαμηλή αποδοτικότητα, οι οποίες είχαν υψηλό ποσοστό ως προς τα άλλα δύο συστατικά και την ανταπόκριση στην επιλογή (π.χ. σειρές 5, 13 της Αθηναΐδας και σειρές 18, 15 της Κυπερούντας, Πιν. 1 και 2). Αυτό φαίνεται καλύτερα στους συντελεστές συσχέτισης μεταξύ των τριών συστατικών (Πιν. 3 και Πιν. 4), οι οποίοι είναι χαμηλοί και γενικά μη σημαντικοί. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει ότι τα τρία συστατικά ελέγχονται από διαφορετικές ομάδες γονιδίων και ότι είναι δυνατό να επιλεγούν γενότυποι με υψηλά σχετικά ποσοστά ως προς τα τρία συστατικά και την ανταπόκριση στην επιλογή. Η ανταπόκριση στην επιλογή είναι η τέταρτη παράμετρος κατάταξης των σειρών, αποτελεί το γινόμενο της 2<sup>ης</sup> και 3<sup>ης</sup> παραμέτρου και εκφράζει σε αριθμό τυπικών αποκλίσεων την αναμενόμενη πρόοδο με την επιλογή (Fasoula and Fasoula, 2000). Όσο μεγαλύτερος ο αριθμός των τυπικών αποκλίσεων, τόσο αυξάνει και η αναμενόμενη πρόοδος με την επιλογή. Συγκρίνοντας τις τιμές της δεύτερης και τρίτης παραμέτρου στους Πιν. 1 και 2, φαίνεται ότι η τρίτη παράμετρος έχει γενικά μικρότερες τιμές, είναι δηλαδή περισσότερο ποσοτική και άρα δυσκολότερο να ενσωματωθεί.

Από την ποικιλία Αθηναΐδα επελέγησαν οι σειρές 6, 2, 13, 10, 11 και 18 και από την ποικιλία Κυπερούντα οι σειρές 7, 17, 18, 3, 19 και 8, με βάση τη συνδυασμένη υπεροχή τους ως προς τα τρία συστατικά του παραγωγικού δυναμικού και την ανταπόκριση στην επιλογή. Το γεγονός ότι αυτές οι επιλογές προέρχονται από σπόρο βελτιωτού της ίδιας ποικιλίας και παρ' όλα αυτά διαφέρουν ως προς ποσοτικά γνωρίσματα, τις καθιστά κατάλληλο υλικό για περαιτέρω αναλύσεις στο μοριακό επίπεδο, ώστε να μπορέσουν ευκολότερα να συσχετιστούν οι επιθυμητοί ποσοτικοί φαινότυποι με συγκεκριμένους γενοτύπους μοριακών δεικτών.

Ενδοποικιλιακή παραλλακτικότητα έχει παρατηρηθεί και στο μαλακό σιτάρι (Fasoula, 1990) και σε άλλα είδη (πρβλ. Fasoula and Fasoula, 2000). Οι αιτίες μπορεί να ανάγονται στη δυνατότητα του γονιδιώματος για συνεχή δημιουργία νεοφανούς παραλλακτικότητας (*de novo* variation - Rasmusson and Phillips, 1997; Polidoros and Tsaftaris 2000) με μηχανισμούς αυτορύθμισης και αυτοπροσαρμογής σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα και δεν αντανακλώνται πάντοτε στη γενοτυπική ανάλυση. Η παραλλακτικότητα αυτή είναι απομονώσιμη και αξιοποιήσιμη με τη χρήση των αρχών της κυβελωτής βελτίωσης, που επιτρέπει αξιόπιστη φαινοτυπική ανάλυση για ποσοτικά γνωρίσματα με αγρονομική σημασία. Η μεθοδολογία δημιουργίας γενετικών υλικών που παρουσιάζεται στην εργασία αυτή στοχεύει και στη συνεχή αξιοποίηση του γονιδιώματος για θετική εξέλιξη.

Σήμερα, μία δεκαπενταετία σχεδόν από την εφαρμογή των πρώτων αναλύσεων μοριακών δεικτών στα φυτά, μεταξύ των βελτιωτών υπάρχει σύγκλιση απόψεων ως προς το ότι η βελτίωση θα συνεχίσει να οδηγείται κυρίως από την εργασία των βελτιωτών στο χαράφι και δευτερευόντως από αναλύσεις DNA (Young 1999; Koebner and Summers 2003). Γενικά, δεν είναι δυνατή η πρόβλεψη ενός ποσοτικού φαινοτύπου από τη γενοτυπική ανάλυση (αλληλουχία DNA). Αν αναλογιστούμε ότι το γονιδίωμα του καλαμποκιού, για παράδειγμα, αποτελείται από  $2.5 \times 10^9$  βάσεις και ότι η συχνότητα εμφάνισης πολυμορφισμών τύπου SNPs είναι κάθε περίπου 40 βάσεις, αναμένονται 62 εκατομμύρια πολυμορφισμοί σε κάθε σύγκριση μεταξύ δύο

καθαρών σειρών καλαμποκιού. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με τις πολλαπλές και γενικά άγνωστες αλληλεπιδράσεις αλληλομόρφων και μη αλληλομόρφων μεταξύ τους και αλληλεπιδράσεων γονιδιώματος-περιβάλλοντος εξηγεί την δυσκολία πρόβλεψης ενός ποσοτικού φαινότυπου από την αλληλουχία DNA (Sullivan and Edwards 2003). Η εξάπλωση της χρήσης μοριακών δεικτών στα προγράμματα βελτίωσης είναι περιορισμένη και ως αιτίες αναφέρονται (Koebner and Summers 2003; Anderson 2003): οι δυσμενείς συγκρίσεις με τη φαινοτυπική αξιολόγηση, η έλλειψη κατάλληλων δεικτών που οφείλεται κυρίως στην έλλειψη μεθοδολογίας για αξιόπιστη φαινοτυπική ανάλυση, το αυξημένο κόστος των μοριακών αναλύσεων και η έλλειψη αυτοματοποίησης των αναλύσεων σε μεγάλη κλίμακα. Η μεθοδολογία που αναπτύσσεται στην εργασία αυτή στοχεύει στην κάλυψη του κενού για αξιόπιστη φαινοτυπική ανάλυση και μπορεί να επεκταθεί και σε άλλα καλλιεργούμενα είδη. Η σημασία της κυψελωτής βελτίωσης στο πάντρεμα με την μοριακή έγκειται στο ότι είναι σε θέση να αξιολογήσει φαινοτυπικά το φυτό στο σύνολό του με βάση τα τρία συστατικά του παραγωγικού δυναμικού και μπορεί να δημιουργήσει με αποκλίνουσα επιλογή ακραία ως προς το φαινότυπο υλικά, τα οποία με γενοτυπικές αναλύσεις μπορεί να μας δώσουν αξιόπιστους μοριακούς δείκτες για την επιτάχυνση της διαδικασίας επιλογής.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anderson, J.A., 2003. Plant genomics and its impact on wheat breeding. *In: Plant Molecular Breeding* (Ed. H.J. Newbury), CRC Press, pp. 184-212.
- Batzios, D.P. and D.G. Roupakias, 1997. HONEY: A microcomputer program for plant selection and analysis of the honeycomb designs. *Crop Sci.* 37:744-747.
- Fasoula, D.A., 1990. Correlations between auto-, allo- and nil-competition and their implications in plant breeding. *Euphytica* 50:57-62.
- Fasoula, V.A. and D.A. Fasoula, 2000. Honeycomb breeding: Principles and applications. *Plant Breed. Rev.* 18:177-250.
- Fasoula, V.A. and D.A. Fasoula, 2003. Partitioning crop yield into genetic components. *In: Kang, M.S. (Ed.) Handbook of Formulas and Software for Plant Geneticists and Breeders.* The Haworth Press Inc., New York, pp. 321-327.
- Fasoulas, A.C. and V.A. Fasoula, 1995. Honeycomb selection designs. *Plant Breed. Rev.* 13:87-139.
- Fu, H. and H.K. Dooner, 2002. Intraspecific violation of genetic colinearity and its implications in maize. *PNAS* 99(14):9573-9578.
- Hospital, F., 2003. Marker-assisted breeding. *In: Plant Molecular Breeding* (Ed. H.J. Newbury), CRC Press, pp. 30-58.
- Koebner R.M. and R.W. Summers, 2003. 21<sup>st</sup> century wheat breeding: plot selection or plate detection? *Trends Biotechnol.* 21(2): 59-63.
- Koorneef, M., C. Alonso-Blanco and D. Vreugdenhil, 2004. Naturally occurring genetic variation in *Arabidopsis thaliana*. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55:141-172.
- Polidoros, A.N. and A.S. Tsiftaris, 2000. DNA methylation and plant breeding. *Plant Breed. Rev.* 18:87-176.
- Rasmusson, D.C. and R.L. Phillips, 1997. Plant Breeding progress and genetic diversity from *de novo* variation and elevated epistasis. *Crop Sci.* 37:303-310.
- Sullivan, D.M. and K.J. Edwards, 2003. The impact of plant genomics on maize improvement. *In: Plant Molecular Breeding* (Ed. H.J. Newbury), CRC Press, pp. 152-182.
- Young, N.D. 1999. A cautiously optimistic vision for marker-assisted breeding. *Molec. Breed.* 5:505-510.

## ABSTRACT

This paper discusses the common background, the common points and the differentiations between honeycomb breeding and molecular breeding and proposes methods for their successful unification. Both procedures aim at increasing the efficiency of the conventional breeding. Honeycomb breeding refers to the procedures that aim at increasing the efficiency of the conventional breeding. Honeycomb breeding refers to the procedures that aim at increasing the efficiency of the conventional breeding. Honeycomb breeding refers to the phenotypic evaluation of individual plants and their progeny under conditions that minimize the CV of individual plant yields, using the honeycomb selection designs and the three parameters that estimate the crop yield potential. In practice, the conditions that minimize the CV of single plant yields are approached when interplant competition is minimized. Molecular breeding aims at incorporating the molecular marker technology in breeding programs and focuses at the evaluation of individual plants, as well. The evaluation on the basis of individual plants differentiates both approaches from conventional breeding that uses as unit of evaluation and selection the densely grown field plot. The unification of honeycomb and molecular breeding offers many opportunities of increasing the efficiency of selection.

## ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΩΝ ΑΠΟΔΟΤΙΚΟΤΕΡΩΝ ΦΥΤΩΝ ΑΠΟ ΔΥΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΦΑΣΟΛΙΟΥ ΣΤΟ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟ ΚΑΙ ΤΗΝ ΥΠΑΙΘΡΟ

Ιωάννης Παπαδόπουλος<sup>1</sup>, Ιωάννης Τοκατλίδης<sup>2</sup>, Μεταξία Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>3</sup>,  
Σπυρίδων Κουτρούμπας<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ΤΕΙ Δ. Μακεδονίας, 531 00 Φλώρινα

<sup>2</sup>Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, 682 00 Ορεστιάδα

<sup>3</sup>Τμήμα Γεωπονίας Α.Π.Θ., 540 06 Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Διερευνήθηκε η δυνατότητα απομόνωσης οικογενειών ξερού φασολιού (*Phaseolus vulgaris* L.) με ικανοποιητική συμπεριφορά σε θερμοκήπιο και ύπαιθρο. Ο πειραματισμός διεξήχθη στο αγρόκτημα του ΤΕΙ Δ. Μακεδονίας (Φλώρινα) σε συνθήκες μειωμένου ανταγωνισμού. Επιλέγοντας υψηλοαποδοτικά φυτά από δύο τοπικούς πληθυσμούς σε θερμοκήπιο και παρακείμενο χωράφι δημιουργήθηκαν 19 οικογένειες. Η επιλογή ήταν αποτελεσματική στην απομόνωση αποδοτικών οικογενειών, καθώς σε σύγκριση με τους αρχικούς πληθυσμούς όλες υπερείχαν στο θερμοκήπιο (10 με σημαντική υπεροχή) και εννέα από τις 19 υπερείχαν στο χωράφι (έξι με σημαντική υπεροχή). Κατά την απογονική αξιολόγηση βρέθηκε να υφίσταται αλληλεπίδραση γενοτύπου-περιβάλλοντος, όχι όμως ποσοτική καθώς συνολικά οι αποδόσεις στο θερμοκήπιο και το χωράφι ήταν ίδιες, αλλά ποιοτική με διαφορετική κατάταξη των οικογενειών στα δύο περιβάλλοντα. Βρέθηκαν όμως πέντε οικογένειες να υπερέχουν σημαντικά των αντίστοιχων πληθυσμών ταυτόχρονα στο θερμοκήπιο και στο χωράφι. Τέλος βρέθηκε η απόδοση ανά φυτό να συνδέεται αρνητικά με τον αντίστοιχο συντελεστή παραλλακτικότητας, που αποδίδεται στην έλλειψη ομοιότητας των χαμηλοαποδοτικών οικογενειών.

Λέξεις κλειδιά: Αλληλεπίδραση γενοτύπου x περιβάλλον, κυψελωτή επιλογή, *Phaseolus vulgaris* L.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το κοινό φασόλι (*Phaseolus vulgaris* L.) ( $2n=22$ ) είναι ευρέως διαδεδομένο και αποτελεί αξιόλογη πηγή θερμίδων, πρωτεϊνών και ιχνοστοιχείων. Η μακρόχρονη καλλιέργειά του σε διαφοροποιημένα οικολογικά περιβάλλοντα, σε συνδυασμό με τη μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα, δημιούργησε ποικιλία τύπων με διακριτά γενετικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά. Στην περιοχή της Δ. Μακεδονίας η καλλιέργεια τοπικών πληθυσμών για παραγωγή ξερού φασολιού αποτελεί αξιόλογη γεωργική δραστηριότητα, ιδιαίτερα στις περιοχές Πρέσπας και Καστοριάς όπου λόγω των ποιοτικών χαρακτηριστικών του προϊόντος χαρακτηρίστηκε σαν Προϊόν Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π).

Στις καλλιεργητικές συνθήκες καθοριστικός παράγοντας υψηλής παραγωγικότητας είναι η ομοιομορφία της φυτείας (Tollenaar και Wu, 1999; Tokatlidis και Koutroubas, 2004). Ανομοιομορφία προκύπτει είτε από επίδραση του περιβάλλοντος, είτε από γενετική ανομοιογένεια. Στην περίπτωση καλλιέργειας πληθυσμών η ανομοιομορφία λόγω γενετικών διαφορών είναι δεδομένη. Από ένα τέτοιο υλικό επιλογή, με κριτήριο την απόδοση και τη σταθερότητα συμπεριφοράς ατομικών φυτών, μπορεί να οδηγήσει σε ποικιλία «καθαρή σειρά» (Papoutsi-Costopoulou και Gouli-Vavdinoudi, 2001). Η απόδοση είναι ποσοτικό γνώρισμα και επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από το περιβάλλον, με την αλληλεπίδραση γενοτύπου-περιβάλλοντος να είναι εντονότερη όταν οι γενότυποι στερούνται σταθερότητας συμπεριφοράς (ομοιότητα). Αντίθετα γενότυποι με ομοιότητα χαρακτηρίζονται από ευρεία προσαρμοστικότητα και αποδίδουν ικανοποιητικά σε διάφορα περιβάλλοντα και σε διαφορετικές χρονιές. Ο αποτελεσματικός τρόπος επιλογής γονιδίων που είναι υπεύθυνα για σταθερότητα συμπεριφοράς και προσαρμοστικότητας είναι η εφαρμογή διατοπικής επιλογής από την αρχή του βελτιωτικού προγράμματος ώστε να επιλέγονται φυτά από οικογένειες που συμπεριφέρονται καλύτερα στο σύνολο των περιβαλλόντων. Με τον τρόπο αυτό γονίδια προσαρμοστικότητας και σταθερότητας συμπεριφοράς διατηρούνται στους γενότυπους που επιλέγονται. Οι Christakis και Fasoulas (2002) διαπίστωσαν ότι εναλλασσόμενη επιλογή και αξιολόγηση σε διαφορετικά περιβάλλοντα μείωσε την

αποτελεσματικότητα της επιλογής και προτείνουν ταυτόχρονη επιλογή στα διαφορετικά περιβάλλοντα για τα οποία απαιτείται προσαρμοστικότητα. Για τον αποτελεσματικό έλεγχο της επίδρασης του περιβάλλοντος στην φαινοτυπική έκφραση και κατά συνέπεια αξιόπιστη αξιολόγηση, η επιλογή προτείνεται σε περιβάλλον μειωμένου ανταγωνισμού (Fasoula και Fasoula, 1997). Με τη χρήση κυψελωτών σχεδίων αντιμετωπίζεται η επίδραση της εδαφικής ετερογένειας εξασφαλίζεται ίσο μοίρασμα των πόρων μεταξύ των φυτών, επιτυγχάνεται μέγιστη φαινοτυπική έκφραση και μέγιστη φαινοτυπική διαφοροποίηση (Fasoulas και Fasoula, 1995).

Σκοπός της εργασίας ήταν η διερεύνηση της δυνατότητας δημιουργίας οικογενειών που θα συμπεριφέρονται ικανοποιητικά ταυτόχρονα σε θερμοκήπιο και υπαίθρο, σαν ένα μέσο αντιμετώπισης της αρνητικής επίδρασης που ασκεί η αλληλεπίδραση γενοτύπου-περιβάλλοντος στην απομόνωση γενοτύπων με σταθερή διατοπικά συμπεριφορά.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το γενετικό υλικό αποτέλεσαν δύο τοπικοί πληθυσμοί ξερού φασιολιού με καλλιεργητικό ενδιαφέρον για τις περιοχές Φλώρινας και Καστοριάς. Ο πληθυσμός «πλακί», (πληθυσμός Π) καλλιεργήθηκε σε μεγάλα υψόμετρα μέχρι το 1970 και στη συνέχεια αντικαταστάθηκε από τον πληθυσμό «Χρυσούπολης» (πληθυσμός Ν) που θεωρήθηκε παραγωγικότερος και περισσότερο προσαρμόσιμος στις ξηροθερμικές πεδινές περιοχές. Και οι δύο ανήκουν στον αναρριχώμενο συνεχή τύπο (IV) με μακρύ αδύναμο βλαστό χωρίς διακλαδώσεις που χρειάζεται υποστήριγμα και έχει συνεχή άνθηση. Με βάση τα χαρακτηριστικά του σπόρου ανήκουν στην κατηγορία των λευκών μεγαλόσπερων με βάρος χιλίων σπόρων 690 g (Π) και 600 g (Ν).

Ο πειραματισμός διεξήχθη στο αγρόκτημα του ΤΕΙ Δ. Μακεδονίας (Φλώρινα) σε θερμοκήπιο (Θ) και παρακείμενο χωράφι (Χ) κατά τις καλλιεργητικές περιόδους 2003 και 2004, και σύμφωνα με την κυψελωτή διάταξη (Fasoulas και Fasoula, 1995). Για την προληπτική αντιμετώπιση ασθενειών και εντόμων εδάφους έγινε απολύμανση του σπόρου με εντομοκτόνο και μυκητοκτόνο. Η σπορά έγινε με τοποθέτηση 2-3 σπόρων κατά θέση και ακολούθησε αραίωμα σε ένα φυτό στο στάδιο των τεσσάρων φύλλων. Σε λίγες περιπτώσεις αποτυχίας φυτρώματος των σπόρων τα κενά συμπληρώθηκαν με φυτά που είχαν σπαρθεί σε γλαστράκια και μεταφυτεύτηκαν στο στάδιο των δύο πραγματικών φύλλων. Κάθε φυτό υποστύλωθηκε με καλάμι ύψους 2-2,30 m. Η καταπολέμηση των ζιζανίων έγινε με φρεζαρίσματα και σκαλίσματα, ενώ η άρδευση γινόταν με κατάκλυση. Με ψεκασμούς έγινε προσπάθεια ελέγχου προσβολών των φυτών από έντομα και μικροοργανισμούς. Η συγκομιδή έγινε με κοπή των φυτών 140 ημέρες περίπου από τη σπορά, για τουλάχιστο 10 ημέρες τα φυτά αφήθηκαν να ξεραθούν και στη συνέχεια έγινε η λήψη των σπόρων από κάθε φυτό χωριστά.

Αρχικά 432 φυτά κάθε πληθυσμού εγκαταστάθηκαν στο θερμοκήπιο (ημερομηνία σποράς 13 Μαρτίου 2003) σύμφωνα με το πειραματικό σχέδιο NR-0 και αποστάσεις μεταξύ των φυτών 80 cm. Επίσης 500 φυτά κάθε πληθυσμού εγκαταστάθηκαν με τον ίδιο τρόπο σε συνθήκες υπαίθρου στο χωράφι (ημερομηνία σποράς 3 Μαΐου 2003, αποστάσεις 100 cm). Αν και η απόσταση των 100 cm θεωρήθηκε ότι προσεγγίζει περισσότερο τις συνθήκες έλλειψης ανταγωνισμού, στο θερμοκήπιο προτιμήθηκε μεγαλύτερη πυκνότητα λόγω της περιορισμένης διαθέσιμης έκτασης. Επιλογή 19 υψηλοαποδοτικών φυτών οδήγησε στη λήψη 19 αντίστοιχων οικογενειών που κωδικοποιήθηκαν με βάση την προέλευσή τους, δηλ. τον πληθυσμό (Π ή Ν) και το χώρο (Θ ή Χ): ΠΘ1, ..., ΠΘ4, ΠΧ1, ..., ΠΧ5, ΝΘ1, ..., ΝΘ5, ΝΧ1, ..., ΝΧ5. Την περίοδο 2004 έγινε απογονικός έλεγχος σε πειραματικό σχέδιο R21 με μάρτυρες τους δύο αρχικούς πληθυσμούς και αποστάσεις μεταξύ των φυτών 100 cm. Συνολικά 532 φυτά από τις 19 οικογένειες και τους δύο πληθυσμούς εγκαταστάθηκαν στο θερμοκήπιο (ημερομηνία σποράς 15 Μαρτίου 2004). Με τον ίδιο τρόπο 996 φυτά των οικογενειών και πληθυσμών εγκαταστάθηκαν σε συνθήκες υπαίθρου στο χωράφι (ημερομηνία σποράς 6 Μαΐου 2004).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### Συμπεριφορά των αρχικών πληθυσμών

Στον πίνακα 1 δίνονται οι αποδόσεις και οι συνακόλουθες στατιστικές παράμετροι των δύο πληθυσμών από τον αρχικό πειραματισμό. Στο θερμοκήπιο η μέση απόδοση ανά φυτό του πληθυσμού Π ήταν 129,3 g και κυμάνθηκε από 5 έως 299 g, με τυπική απόκλιση 52,5 g (CV=40,63%), ενώ του πληθυσμού Ν ήταν 139 g και κυμάνθηκε από 14,5 – 393 g, με τυπική απόκλιση 69,2 g (CV=49,81%). Στο χωράφι η μέση απόδοση ανά

φυτό του πληθυσμού Π ήταν 182,5 g και κυμάνθηκε από 2,2 – 644 g, με τυπική απόκλιση 118 g (CV=64,71%), ενώ του πληθυσμού Ν ήταν 195 g και κυμάνθηκε από 0,2 – 601 g, με τυπική απόκλιση 138 g (CV=70,8%).

**Πίνακας 1.** Στατιστικές παράμετροι της απόδοσης ανά φυτό των αρχικών πληθυσμών (Π, Ν): αριθμός φυτών (n), μέση απόδοση ( $\bar{X}$ ), συντελεστής παραλλακτικότητας (CV), skewness και kurtosis.

Πληθυσμός/Θέση	n	$\bar{X}$ (g/φυτό)	CV(%)	skweness	kurtosis
Π Θερμοκήπιο	418	129,3	40,63	-0.084	-0.026
Χωράφι	406	182,5	64,71	0.741 ***	0.583 **
Ν Θερμοκήπιο	427	139,0	49,81	0.580 ***	0.430 *
Χωράφι	431	195,0	70,77	0.361 **	-0.768 ***

\* P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001

Οι πληθυσμοί ανταποκρίθηκαν με τον ίδιο τρόπο στις διαφορετικές συνθήκες, καθώς και οι δύο είχαν κατά περίπου 40% υψηλότερες μέσες αποδόσεις στο χωράφι συγκριτικά με το θερμοκήπιο. Η διαφορά αυτή θα μπορούσε εν μέρει να αποδοθεί στη μικρότερη αλληλεπίδραση μεταξύ των γειτονικών φυτών για τις περιβαλλοντικές εισροές στο χωράφι, λόγω μικρότερου ανταγωνισμού. Εντούτοις στο χωράφι οι τυπικές αποκλίσεις αυξήθηκαν σε μεγαλύτερο βαθμό συγκριτικά με τις μέσες αποδόσεις, με αποτέλεσμα να αυξηθούν και οι τιμές CV. Μόνο στην περίπτωση του πληθυσμού Π στο θερμοκήπιο η κατανομή συχνότητας της απόδοσης των ατομικών φυτών δεν απέκλινε από την κανονική κατανομή με βάση τις τιμές skewness και kurtosis που ήταν μικρές και στατιστικά μη σημαντικές, κάτι που επιβεβαιώθηκε και με το  $\chi^2$  κριτήριο συγκρίνοντας τις παρατηρούμενες με τις αναμενόμενες για την κανονική κατανομή συχνότητας. Στις άλλες περιπτώσεις οι τιμές skewness και kurtosis ήταν θετικές και στατιστικά σημαντικές εξαιτίας μεγάλης συχνότητας χαμηλοαποδοτικών φυτών, με τις αυξημένες τιμές skewness και kurtosis να συνοδεύονται από μεγαλύτερες τιμές CV (πίν. 1). Όσο μεγαλύτερες είναι οι τιμές CV τόσο μεγαλύτερες είναι οι συχνότητες των χαμηλοαποδοτικών κλάσεων με αποτέλεσμα η κατανομή να εκτρέπεται αριστερά (Fasoula και Fasoula 1997). Οι τιμές CV του πληθυσμού Ν ήταν μεγαλύτερες (κατά 23% στο θερμοκήπιο και 9% στο χωράφι), γεγονός που ενδεχόμενα οφείλεται σε μεγαλύτερη επίδραση του περιβάλλοντος.

#### Απογονικός έλεγχος των επιλεγέντων φυτών

##### Απόδοση

Σύμφωνα με τα δεδομένα του πίνακα 2, στο θερμοκήπιο η μέση απόδοση ανά φυτό των οικογενειών που προήλθαν από τον πληθυσμό Π κυμάνθηκε από 173,9 έως 260,7 g (κατά μ.ο. 219,9 g), ενώ του πληθυσμού ήταν 149,3 g, με την υπεροχή οκτώ οικογενειών να είναι στατιστικά σημαντική. Οι τιμές CV των οικογενειών κυμάνθηκαν από 21,64 έως 34,59% (κατά μ.ο. 28,15%), ενώ η τιμή CV του πληθυσμού ήταν 34,09%. Η μέση απόδοση ανά φυτό των οικογενειών που προήλθαν από τον πληθυσμό Ν κυμάνθηκε από 238,1 έως 275,5 g, (κατά μ.ο. 253,5 g), ενώ η αντίστοιχη του πληθυσμού ήταν 215,7 g. Δύο από τις οικογένειες υπερέχουν του πληθυσμού στατιστικά σημαντικά. Οι τιμές CV των οικογενειών κυμάνθηκαν από 25,47 έως 38,36% (κατά μ.ο. 31,87%), ενώ η τιμή CV του πληθυσμού ήταν 41%. Με βάση τα αποτελέσματα στο θερμοκήπιο, η επιλογή φαίνεται να ήταν επιτυχής για τις συνθήκες μειωμένου ανταγωνισμού, καθώς τόσο οικογένειες που προήλθαν από τον πληθυσμό Π, όσο και αυτές που προήλθαν από τον πληθυσμό Ν υπερέχουν των αντίστοιχων πληθυσμών (πίν. 2). Οκτώ από τις εννέα οικογένειες Π υπερέχουν σημαντικά του πληθυσμού (κατά 31 έως 75%), και δύο από τις 10 οικογένειες Ν υπερέχουν σημαντικά του πληθυσμού (κατά 26 και 28%). Για το σύνολο των οικογενειών η υπεροχή έναντι του αρχικού τους πληθυσμού ήταν 47% για τις οικογένειες Π και 18% για τις οικογένειες Ν. Το γεγονός ότι οι οικογένειες (με εξαίρεση δύο) είχαν χαμηλότερες τιμές CV από τους αντίστοιχους πληθυσμούς, ήταν αναμενόμενο λόγω του στενέματος της γενετικής βάσης, καθώς κάθε οικογένεια προήλθε από ένα και μοναδικό φυτό. Επιπλέον, με δεδομένο ότι το φασόλι είναι αυτογονιμοποιούμενο (Τσαυτάρης, 1995), θεωρητικά κάθε οικογένεια είναι ομοζύγωτη και στερείται γενετικής παραλλακτικότητας.

Στο χωράφι η μέση απόδοση ανά φυτό των εννέα οικογενειών που προήλθαν από τον πληθυσμό Π κυμάνθηκε από 122,1 έως 331,5 g, ενώ του πληθυσμού ήταν 193,3 g. Τέσσερις οικογένειες υπερέχουν και δύο υστερούσαν σημαντικά συγκριτικά με τον αρχικό πληθυσμό. Στο σύνολό τους οι οικογένειες απέδωσαν 216,9

g (12% υπεροχή έναντι της απόδοσης του πληθυσμού). Οι τιμές CV των οικογενειών κυμάνθηκαν από 31,86 έως 66,43% (κατά μ.ο. 50,27%), ενώ η τιμή CV του πληθυσμού ήταν 54,89%. Η μέση απόδοση ανά φυτό των 10 οικογενειών που προήλθαν από τον πληθυσμό N κυμάνθηκε από 159,4 έως 341,3 g, ενώ του πληθυσμού ήταν 269,6 g. Δύο οικογένειες υπερείχαν και δύο υστερούσαν σημαντικά σε σχέση με τον πληθυσμό N. Στο σύνολό τους οι οικογένειες απέδωσαν 259,8 g (4% υστέρηση συγκριτικά με τον πληθυσμό). Οι τιμές CV των οικογενειών κυμάνθηκαν από 36,68 έως 73,07% (κατά μ.ο. 46,15%), ενώ η τιμή CV του πληθυσμού ήταν 55,89%. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά, η επιλογή επίσης μπορεί να χαρακτηριστεί επιτυχής για τις συνθήκες μειωμένου ανταγωνισμού, καθώς απομονώθηκαν έξι οικογένειες που υπερείχαν σημαντικά των αντίστοιχων πληθυσμών, βρέθηκαν όμως και τέσσερις με σημαντική υστέρηση. Στην περίπτωση του πληθυσμού Π η στατιστικά σημαντική υπεροχή κυμάνθηκε από 35 έως 71%, ενώ στον πληθυσμό N οι δύο οικογένειες υπερείχαν κατά 22 και 27%. Όσον αφορά τις τιμές CV παρατηρείται η ίδια εικόνα με αυτή του θερμοκήπιου, δηλ. κατά μ.ο. οι οικογένειες να έχουν μικρότερες τιμές από τους πληθυσμούς. Εντούτοις, τέσσερις οικογένειες Π και δύο οικογένειες N είχαν μεγαλύτερα CV από τους πληθυσμούς, που θα μπορούσε να αποδοθεί σε χαμηλά επίπεδα ομοιότητας των οικογενειών αυτών. Σε συγκρίσιμες συνθήκες οι διαφορές μονογονοτυπικών υλικών ως προς τις τιμές CV αντικατοπτρίζουν την επίδραση του περιβάλλοντος στη φαινοτυπική τους έκφραση και κατά συνέπεια τη σταθερότητα συμπεριφοράς τους (Fasoula και Fasoula, 1997· Janick, 1999).

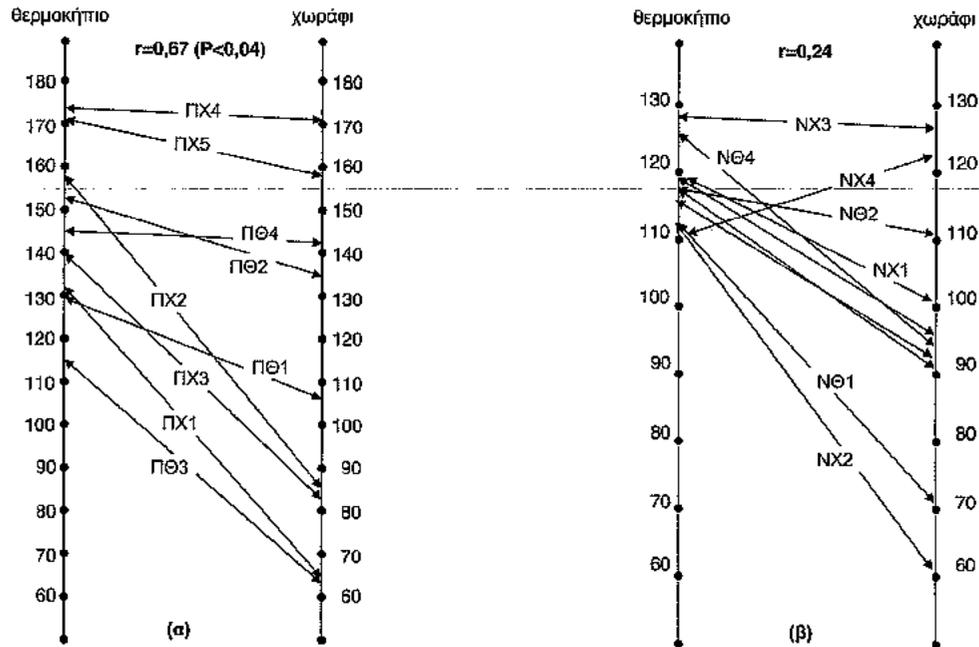
**Πίνακας 2.** Δεδομένα απογονικού ελέγχου των οικογενειών στο θερμοκήπιο και το χωράφι: αριθμός φυτών που συγκομίστηκαν (n), μέση απόδοση ( $\bar{X}$ ) και συντελεστής παραλλακτικότητας (CV).

Πληθυσμός Π							
Θερμοκήπιο				Χωράφι			
Οικογένει α	n	$\bar{X}$ (g/φυτό)*	CV(%)	Οικογένει α	n	$\bar{X}$ (g/φυτό)*	CV(%)
ΠX4	26	260,7 a	22,42	ΠX 4	51	331,5 a	31,86
ΠX5	25	254,7 ab	27,62	ΠX 5	49	307,0 ab	44,18
ΠX2	25	237,9 abc	34,23	ΠΘ 4	50	273,0 b	37,60
ΠΘ2	29	229,1 abcd	33,04	ΠΘ 2	53	261,8 b	38,10
ΠΘ4	28	219,4 bcd	34,59	ΠΘ 1	50	207,7 c	51,64
ΠX3	24	209,1 cd	23,80	Π	50	193,3 cd	54,89
ΠX1	23	198,5 cde	28,72	ΠX 2	51	164,0 d	64,37
ΠΘ1	29	195,7 de	27,31	ΠX 3	43	160,3 de	61,77
ΠΘ3	27	173,9 ef	21,64	ΠX 1	43	124,4 ef	66,43
Π	27	149,3 f	34,09	ΠΘ 3	44	122,1 f	56,47
<b>ΣΥΝΟΛΟ</b>		212,8	28,75		484	214,5	50,73
Πληθυσμός N							
NX3	27	276,5 a	30,23	NX 3	53	341,3 a	38,90
NΘ4	23	270,8 a	28,70	NX 4	53	329,5 a	36,68
NX1	26	259,8 ab	26,73	NΘ 2	48	295,0 ab	37,90
NΘ5	22	257,1 ab	38,07	NX 1	54	273,7 bc	40,81
NΘ2	25	252,0 ab	26,91	N	52	269,6 bc	55,89
NΘ3	25	250,7 ab	25,47	NΘ 5	46	256,4 bc	53,02
NX5	25	247,8 ab	35,93	NΘ 4	41	253,8 bc	42,99
NΘ1	21	241,3 ab	34,79	NX 5	44	248,6 bc	43,95
NX2	28	240,9 ab	33,46	NΘ 3	48	242,1 c	44,74
NX4	26	238,1 ab	38,36	NΘ 1	40	191,0 d	49,39
N	27	215,7 b	41,00	NX 2	31	159,4 d	73,07
<b>ΣΥΝΟΛΟ</b>		250,0	32,70		510	260,0	47,03

\* τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (t-κριτήριο, P<5%)

*Αλληλεπίδραση γενοτύπου-περιβάλλοντος*

Τα δύο περιβάλλοντα έδωσαν λίγο-πολύ ίσες δυνατότητες φαινοτυπικής έκφρασης της απόδοσης, καθώς συνολικά οι μέσες αποδόσεις σε θερμοκήπιο και χωράφι ήταν παρόμοιες (πίν. 2). Παρατηρήθηκε όμως ανακατανομή της κατάταξης των οικογενειών, ενδεικτικό αλληλεπίδρασης γενοτύπου-περιβάλλοντος (σχ. 1), και μάλιστα οικογένειες που απέδωσαν ικανοποιητικά στο θερμοκήπιο υστέρησαν στο χωράφι (πχ. ΠΧ2, ΠΧ3, ΝΘ1, ΝΧ2). Αλληλεπίδραση γενοτύπου- περιβάλλοντος είναι η διαφορετική φαινοτυπική έκφραση σε διαφορετικά περιβάλλοντα, με συνέπεια επιλογές σε μια περιοχή να έχουν κακή συμπεριφορά σε μια άλλη (Romagoza και Fox, 1993). Η αλληλεπίδραση γενοτύπου-περιβάλλοντος ήταν εντονότερη στις οικογένειες Ν, όπως αυτή φανερώνεται και από τις τιμές γραμμικής συσχέτισης μεταξύ των αποδόσεων στα δύο περιβάλλοντα, καθώς στην περίπτωση του πληθυσμού Π οι αποδόσεις των οικογενειών βρέθηκε να συσχετίζονται



**Σχήμα 1.** Αποδόσεις των οικογενειών Π (α) και Ν (β) εκφρασμένες % της απόδοσης των αντιστοιχων πληθυσμών και συντελεστές συσχέτισης ( $r$ ) μεταξύ των αποδόσεων στο θερμοκήπιο και στο χωράφι.

θετικά ( $r=0,67$ ,  $P<0,04$ ), ενώ για τις οικογένειες Ν η τιμή  $r$  ήταν μικρή και μη σημαντική (σχ. 1). Η αποτελεσματική απομόνωση υπέρτερων γενοτύπων γενικά περιπλέκεται εξαιτίας της αλληλεπίδρασης γενοτύπου-περιβάλλοντος, ενώ οι σχετικές αποδόσεις των ποικιλιών ποικίλουν στα διάφορα περιβάλλοντα (De la Vega κ.α., 2001). Παρόλα αυτά υπήρξαν οικογένειες με ικανοποιητική συμπεριφορά και στα δύο περιβάλλοντα. Τέσσερις οικογένειες Π (ΠΧ4, ΠΧ5, ΠΘ4 και ΠΘ2) υπερέχουν σημαντικά του πληθυσμού τόσο στο θερμοκήπιο (κατά 47 έως 75%) όσο και στο χωράφι (κατά 35 έως 71%) (σχ. 1α), (πίν. 2). Αν και τρεις οικογένειες Ν (ΝΧ3, ΝΧ4 και ΝΘ2) επέτυχαν αποδόσεις υψηλότερες του πληθυσμού τόσο στο θερμοκήπιο όσο και στο χωράφι (κατά 10 έως 27%) (σχ. 1β), μόνο μια (ΝΧ3) υπερέχει σημαντικά του πληθυσμού ταυτόχρονα στα δύο περιβάλλοντα (πίν. 2). Το γεγονός ότι βρέθηκαν οικογένειες με ικανοποιητική συμπεριφορά στα δύο περιβάλλοντα αφήνει ανοιχτό το ενδεχόμενο ταυτόχρονη επιλογή σε τελείως διαφορετικές συνθήκες όπως αυτές αντιπροσωπεύονται από το θερμοκήπιο και την ύπαιθρο να οδηγεί στην απομόνωση γενοτύπων με σταθερότητα συμπεριφοράς. Τα δεδομένα όμως έχουν περιορισμένη σημασία και απαιτείται αξιολόγηση σε περισσότερα περιβάλλοντα, κυρίως στις τυπικές πυκνότητες καλλιέργειας, για να επιβεβαιωθεί το παραπάνω συμπέρασμα. Επιλέγοντας με την ίδια μέθοδο 20 φυτά από ένα πληθυσμό

φασολιού και μετά από αξιολόγηση έξι οικογενειών σε κανονικές συνθήκες καλλιέργειας βρέθηκαν τέσσερις οικογένειες οι οποίες παρουσίασαν σημαντικές διαφορές από τον αρχικό πληθυσμό για όλα τα χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν (Papoutsi-Costopoulou και Gouli-Vavdinoudi, 2001). Σε σύνολο 121 τοπικών ποικιλιών φασολιού από την Πορτογαλία και την Ισπανία που αξιολογήθηκαν σε έξι περιβάλλοντα οι De Ron κ.α. (2004) βρήκαν 51 από αυτές να έχουν ειδική προσαρμοστικότητα και μόνο 4 να έχουν ευρεία γεωγραφική προσαρμοστικότητα. Αντίθετα μετά από αξιολόγηση 16 γενοτύπων φασολιού σε τρεις περιοχές για τρία χρόνια, βρέθηκε οκτώ από αυτούς να είναι ταυτόχρονα υψηλοαποδοτικοί και σταθεροί (Mekbib, 2002).

#### Απόδοση και CV

Βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ απόδοσης και CV. Ο συντελεστής συσχέτισης ( $r$ ) μεταξύ των αποδόσεων των οικογενειών Π και των αντίστοιχων τιμών CV ήταν  $-0,77$  ( $n=10$ ,  $P<0,01$ ), ενώ η αντίστοιχη τιμή για τις οικογένειες Ν ήταν  $-0,72$  ( $n=11$ ,  $P<0,02$ ). Υπολογισμός του συντελεστή συσχέτισης στο σύνολο των οικογενειών έδωσε  $r = -0,64$  ( $n=21$ ,  $P<0,002$ ). Φαίνεται ότι μεγάλες τιμές CV συνδέονται με μικρότερες αποδόσεις, μια σχέση που έχει ήδη αναφερθεί (Tolpenaar και Wu, 1999; Tokatlidis και Koutroubas, 2004). Όσο μικρότερες είναι οι τιμές CV σε συνθήκες μειωμένου ανταγωνισμού, τόσο ευνοϊότερες είναι οι ενδογενοτυπικές γονιδιακές αλληλεπιδράσεις αναφορικά με τη σταθερότητα συμπεριφοράς και την παραγωγικότητα, και για το λόγο αυτό το CV πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ως κριτήριο επιλογής για την επίτευξη σταθερότητας συμπεριφοράς (Fasoula και Fasoula, 1997). Οι χαμηλές τιμές CV μπορούν να αξιοποιηθούν ως κριτήριο σταθερότητας συμπεριφοράς για ένα ειδικό γνώρισμα, αυτό για το οποίο προσδιορίζονται (Taylor κ.α., 1999).

#### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η επιλογή ήταν αποτελεσματική στην απομόνωση αποδοτικών οικογενειών, καθώς σε σύγκριση με τους αρχικούς πληθυσμούς όλες υπερέιχαν στο θερμοκήπιο (10 με σημαντική υπεροχή) και εννέα από τις 19 υπερέιχαν στο χωράφι (έξι με σημαντική υπεροχή). Ο πληθυσμός Π ανταποκρίθηκε καλύτερα στην επιλογή. Από τις εννέα οικογένειες Π οκτώ και τέσσερις στο θερμοκήπιο και το χωράφι αντίστοιχα υπερέιχαν σημαντικά του αντίστοιχου πληθυσμού, ενώ από τις 10 οικογένειες Ν δύο υπερέιχαν σημαντικά του αντίστοιχου πληθυσμού στο θερμοκήπιο και στο χωράφι. Η καλύτερη ανταπόκριση του πληθυσμού Π μπορεί να αποδοθεί είτε σε μεγαλύτερη γενετική παραλλακτικότητα, είτε σε μικρότερη επίδραση του περιβάλλοντος (ενδεικτικά οι τιμές CV ήταν μικρότερες σε όλες τις περιπτώσεις) ή και των δύο. Κατά την απογονική αξιολόγηση βρέθηκε να υφίσταται αλληλεπίδραση γενοτύπου-περιβάλλοντος, όχι όμως ποσοτική καθώς συνολικά οι αποδόσεις στο θερμοκήπιο και το χωράφι ήταν ίδιες, αλλά ποιοτική με διαφορετική κατάταξη των οικογενειών στα δύο περιβάλλοντα. Βρέθηκαν όμως τέσσερις οικογένειες Π και μία οικογένεια Ν να υπερέχουν σημαντικά του αντίστοιχου πληθυσμού ταυτόχρονα στο θερμοκήπιο και στο χωράφι. Τέλος βρέθηκε η απόδοση ανά φυτό να συνδέεται αρνητικά με τον αντίστοιχο συντελεστή παραλλακτικότητας, που αποδίδεται στην έλλειψη ομοιόστασης των χαμηλοαποδοτικών οικογενειών.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Christakis, P.A., and A. C. Fasoulas. 2002. The effects of the genotype by environmental interaction on the fixation of heterosis in tomato. *J. Agr. Sci.* 139: 55-60.
- De Ron, A.M., P.A. Casquero, A.M. Conzález, and M. Santalla. 2004. Environmental and genotypic effects on pod characteristics related to common bean quality. *J. Agron. Crop Sci.* 190: 248-255.
- De la Vega, A.J., S.C. Chapman, and A.J. Hall. 2001. Genotype by environment interaction and indirect selection for yield in sunflower. I. Two-mode pattern analysis of oil and biomass yield across environments in Argentina. *Field Crops Res.* 72: 17-38.
- Fasoula, D.A., and V.A. Fasoula. 1997. Competitive ability and plant breeding. *Plant Breed. Rev.* 14: 89-138.
- Fasoulas, A.C., and V.A. Fasoula. 1995. Honeycomb selection designs. *Plant Breed. Rev.* 13: 87-139.
- Janick, J. 1999. Exploitation of heterosis: Uniformity and stability. In: *The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops*. pp. 319-333. Madison, WI. USA: ASA, CSSA, CSSA.
- Mekbib, F. 2002. Simultaneous selection for high yield and stability in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *J. Agr. Sci.* 138: 249-253
- Papoutsi-Costopoulou, H., and E. Gouli-Vavdinoudi. 2001. Improving a local common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) population for yield, seed size and earliness. *Plant Var. Seeds.* 14: 25-34.

- Romagosa, I., and P.N. Fox. 1993. Genotype x environment interaction and adaptation. pp. 373-390. *In* M.D. Hayward, N.O. Bosemark & I. Romagosa (eds.) *Plant Breeding: Principles and prospects*. Chapman & Hall, London.
- Taylor, S.L., M.E. Payton, and W.R. Raun. 1999. Relationships between mean yield, coefficient of variation, mean square error, and plot size in wheat field experiments. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 30: 1439-1447.
- Tokatlidis, I.S., and S.D. Koutroubas. 2004. A review of maize hybrids' dependence on high plant populations and its implications for crop yield stability. *Field Crops Res.* 88: 103-114.
- Tollenaar, M., and J. Wu. 1999. Yield improvement in temperate maize is attributable to greater stress tolerance. *Crop Sci.* 39: 1597-1604.
- Τσαωτάρης, Α. 1995. Βελτίωση φυτών. Αρχές και Μέθοδοι. Εκδόσεις Α.Π.Θ.

## SUMMARY

The work was undertaken to investigate the possibility of deriving lines from two local dry bean populations (*Phaseolus vulgaris L.*) that will perform satisfactorily under both greenhouse and open field conditions. Experimentation was carried out in the Technological Education Institute Farm of Florina, Greece, under very low plant density (1.2 plants/m<sup>2</sup>). Single plants of the two populations were selected from greenhouse and open field, on the basis of their grain yield, leading to 19 lines. Progeny evaluation of the lines showed that selection was effective since compared to the original populations, all lines were superior in the greenhouse (10 lines exhibited significant superiority), and nine out of the 19 lines were superior in the open field (six with significant superiority). It was found genotype by environment interaction, not quantitative since overall yields in greenhouse and open field did not differ, but qualitative because lines ranked differently under the two environmental conditions. Nevertheless, five lines were significantly superior over respective populations both under greenhouse and open field conditions. Moreover, mean yield per plant was negatively associated with CV values, attributable to stronger environmental effects on phenotype expression of low yielding lines.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΓΡΟΝΟΜΙΚΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΣ ΔΙΑΣΠΩΜΕΝΕΣ ΓΕΝΕΕΣ ΕΜΠΟΡΙΚΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΤΟΜΑΤΑΣ

Η.Α. Αυδίκος<sup>1</sup>, Αικ. Τράκα-Μαυρονά<sup>2</sup> και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.), Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, 541 24 Θεσσαλονίκη.

<sup>2</sup>Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.), Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας-Θράκης, 570 01 Θέρμη-Θεσσαλονίκη.

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η αξιολόγηση της αγρονομικής συμπεριφοράς των πρώτων διασπώμενων γενεών τριών εμπορικών υβριδίων τομάτας. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας-Θράκης, την άνοιξη του 2004. Ως πειραματικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν: δύο απλά εμπορικά υβρίδια μεγαλόκαρπης τομάτας νωπής κατανάλωσης, Igon και Sahara, και οι πρώτες διασπώμενες γενεές αυτών F2 και F3 και ένα απλό εμπορικό υβρίδιο κερασόμορφης τομάτας, Sweet-100 και δύο επιλογές της F3 γενεάς αυτού. Το πειραματικό σχέδιο ήταν πλήρεις τυχαιοποιημένες ομάδες με τέσσερις επαναλήψεις. Η μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών έγινε βάση των οδηγιών της UPOV. Για τη μελέτη του παραγωγικού δυναμικού, πραγματοποιήθηκαν πέντε διαδοχικές συγκομιδές εμπορικά ώριμου καρπού. Επίσης εκτιμήθηκαν χαρακτηριστικά ποιότητας βρώσιμου καρπού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι σε ένα ποσοστό 42,5% για τη μεγαλόκαρπη και 62,5% για τη μικρόκαρπη στα χαρακτηριστικά, δεν υπάρχει διάσπαση. Στο υβρίδιο Igon, η F2 έδειξε ομοζυγωτικό εκφυλισμό 32-49%, ενώ η F3 είχε την ίδια παραγωγικότητα με το υβρίδιο. Στο υβρίδιο Sahara, η F2 παρουσίασε χαμηλό ομοζυγωτικό εκφυλισμό 17-19%, ενώ η F3 παρουσίασε μεγάλο εκφυλισμό. Στο υβρίδιο Sweet-100, η οικογένεια F3 small, δεν υπολείπονταν του υβριδίου σε παραγωγή, η οικογένεια F3 large, υπολείπονταν 7-9%. Συμπεραίνεται ότι η επιλογή είναι επιβεβλημένη από τις πρώτες γενεές, καθώς επίσης και ο γενεαλογικός έλεγχος των επιλεγμένων F2- οικογενειών.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η τομάτα, *Lycopersicon esculentum* Mill. (2n = 24) είναι μια από τις πιο σημαντικές καλλιέργειες (Kallos 1993) δεδομένου ότι σε παγκόσμια κλίμακα, η καλλιέργειά της καταλαμβάνει την τρίτη σε έκταση θέση. Στην Ελλάδα κατέχει τη δεύτερη θέση, με την υπαίθρια καλλιέργεια για νωπή κατανάλωση σε ποσοστό 40%, με την τομάτα για μεταποίηση σε ποσοστό 54% και την θερμοκηπιακή καλλιέργεια σε ποσοστό 6%.

Γενετικά αποτελεί ένα από τα χαρακτηριστικά παραδείγματα των αγγειοσπέρμων για την εξελικτική αλλαγή του αναπαραγωγικού της συστήματος (Georgiady 2002). Θεωρείται ως ευνοούμενη καλλιέργεια για γενετικές μελέτες λόγω του υψηλού βαθμού αυτεπικονίασης, της ευκολίας χειρισμού των ανθέων, της παραγωγής μεγάλης ποσότητας υβριδίουσπορου, του πλούτου της παραλλακτικότητας μέσα στο είδος και ακόμη περισσότερο μέσα στο γένος *Lycopersicon*, και της ευκολίας χρησιμοποίησής της σε προγράμματα βελτίωσης (Tigchelaar 1986).

Στα αυτογονιμοποιούμενα είδη, σημαντικό αρχικό βελτιωτικό βήμα είναι η επιλογή στις πρώτες γενεές που εμπλέκει αξιολόγηση των F2- και F3- σειρών. Υποδεέστερες F2- και F3- σειρές απορρίπτονται, προκειμένου να ελεγχθεί η συμπεριφορά των πιο ελπιδοφόρων και να εφαρμοστεί επιλογή σε αυτές. Οι F2- και F3- σειρές, απέχουν πολύ από τη ομοζυγωτία και η επιλογή στις πρώτες γενεές βασίζεται κυρίως στην υπόθεση ότι η συμπεριφορά μιας σειράς στις πρώτες γενεές αυτογονιμοποίησης προκαθορίζει την συμπεριφορά της στο στάδιο ομοζυγωτίας (Bernardo 2003). Μελέτες σε διάφορα αυτογονιμοποιούμενα φυτικά είδη έδειξαν ότι η επιλογή στις πρώτες γενεές είναι μερικές φορές αποτελεσματική (Frey 1954) και μερικές φορές μη αποτελεσματική (Briggs και Shebeski 1971). Στη σόγια (*Glycine Max* (L.) Merr.), αναφέρθηκε φαινοτυπική συσχέτιση μεταξύ της απόδοσης των F2- και F3- σειρών από -0,19 έως 0,15 (Weiss κ.ά. 1947). Στο κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.) αναφέρθηκαν συντελεστές συσχέτισης από 0,11 έως 0,81 (Mc

Kenzie και Lambert 1960). Στο σιτάρι (*Tr. Aestivum L.*) αναφέρθηκαν συντελεστές συσχέτισης από 0,29 έως 0,78 σε διαφορετικές διασταυρώσεις (Whan κ.ά. 1981).

Η τομάτα παρουσιάζει μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα σε πολλά χαρακτηριστικά, όπως το σχήμα του φύλλου, η ποιότητα και το χρώμα του καρπού που εύκολα μπορούν να απομονωθούν σε γενότυπους που διαφέρουν πολύ μεταξύ τους (Rick 1974). Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη των αγρονομικών χαρακτηριστικών στις πρώτες διασπώμενες γενεές εμπορικών υβριδίων τομάτας, προκειμένου να διακριθεί το πλέον ελπιδοφόρο υλικό για επιλογή.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το φυτικό υλικό αναπτύχθηκε σε μεταλλικό μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο, καλυμμένο με πλαστικό, στο Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας- Θράκης του Εθνικού Ιδρύματος Αγροτικής Έρευνας στην περιοχή της Θέρμης, την άνοιξη του 2004. Οι εργαστηριακές αναλύσεις έγιναν στο Εργαστήριο Κηπευτικών του ίδιου Κέντρου.

Η σπορά των γενετικών υλικών έγινε σε ατομικές σποροθήκες με τύρφη ως υπόστρωμα και ακολούθησε η μεταφύτευση στο θερμοκήπιο, σε αποστάσεις 50 cm επί της γραμμής και 100 cm μεταξύ των γραμμών. Εφαρμόστηκε το μονοστέλεχο σύστημα καλλιέργειας. Η καρπόδεση ήταν φυσιολογική και δεν πραγματοποιήθηκε κανένας ψεκασμός με χημικές προστατευτικές ουσίες, εκτός από μια παρέμβαση με βιολογικό σκεύασμα για έλεγχο του πράσινου σκουληκιού. Το πειραματικό σχέδιο ήταν πλήρεις τυχαιοποιημένες ομάδες (9 γενετικά υλικά, 4 επαναλήψεις). Κάθε γενετικό υλικό αντιπροσωπεύθηκε στο σύνολο από 20 φυτά. Ως πειραματικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν τα απλά εμπορικά υβρίδια μεγαλόκαρπης τομάτας νωπής κατανάλωσης «κλασικού τύπου» Iron (Γεωπονικό σπίτι) και Sahara (Γεωπονικό σπίτι), καθώς και οι F2 και F3 αυτών. Οι F3 προέκυψαν με μαζική επιλογή, με ένταση 18%. Επίσης χρησιμοποιήθηκε το απλό εμπορικό υβρίδιο κερασόμορφης τομάτας Sweet-100 (Elanco) και δύο οικογένειες της F3, η F3 small από τα 5 υψηλοποδοτικότερα φυτά της F2 και η F3 large από το φυτό της F2 με τους μεγαλύτερους καρπούς, που είχαν επιλεγεί το προηγούμενο έτος.

Μετρήθηκαν αγρονομικά χαρακτηριστικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά βρώσιμου καρπού με βάση τις οδηγίες της UPOV (International Union For The Protection Of New Varieties Of Plants). Συγκεκριμένα αξιολογήθηκαν 40 χαρακτηριστικά σε επίπεδο ατομικού φυτού, ήτοι: i) χαρακτηριστικά σποροφύτου, ii) χαρακτηριστικά βλαστού, iii) χαρακτηριστικά φύλλου, iv) χαρακτηριστικά ταξιανθίας, v) χαρακτηριστικά άνθους και vi) χαρακτηριστικά καρπού. Για τη μελέτη του παραγωγικού δυναμικού, πραγματοποιήθηκαν πέντε διαδοχικές συγκομιδές εμπορικά ώριμου καρπού, και λήφθηκαν στοιχεία απόδοσης σε εμπορεύσιμο και μη εμπορεύσιμο προϊόν. Στο μη εμπορεύσιμο καρπό ταξινομήθηκαν καρποί με παραμόρφωση, σήψη της κορυφής, μικροκαρπία και προσβολές. Τα χαρακτηριστικά ποιότητας βρώσιμου καρπού εξετάστηκαν σε δείγμα δύο ώριμων εμπορικά καρπών από κάθε φυτό, και περιελάμβαναν μέτρηση: pH, ολικών διαλυτών στερεών συστατικών (%), ξηρής ουσίας (%) και συνεκτικότητας ( $\text{kg/m}^2$ ).

Για τη στατιστική ανάλυση υπολογίστηκαν οι συντελεστές συσχέτισης μεταξύ F1 και διασπώμενων πρώτων γενεών για την απόδοση, η ετέρωση ή ο ομοζυγωτικός εκφυλισμός στις διασπώμενες γενεές (Meghji κ.α. 1984), και τέλος το διαφορικό επιλογής, η ανταπόκριση στην επιλογή και η πραγματοποιηθείσα κληρονομικότητα για τις F2 και F3.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### *Συμπεριφορά F2 και F3 των εμπορικών υβριδίων μεγαλόκαρπης τομάτας*

Το σύνολο των χαρακτηριστικών που μετρήθηκαν, διακρίθηκαν σε τρεις ομάδες. Η πρώτη ομάδα περιλάμβανε αγρονομικά χαρακτηριστικά που δεν παρουσίασαν παραλλακτικότητα στις διασπώμενες γενεές, όπως: χρώση υποκοτύλης, παραμόρφωση πρώτου άνθους ταξιανθιών, ζώνη αποκοπής ποδίσκου, χρώμα υποκοτύλης, φλυκταινώση φύλλου, τύπος ταξιανθίας, αυλάκωση καρπού στον ποδίσκο, έκταση πράσινων όμων, χρώμα ώριμου καρπού κ.ά. Συνολικά ποσοστό 42,5% των αγρονομικών χαρακτηριστικών που μετρήθηκαν δεν παρουσίασαν παραλλακτικότητα στις διασπώμενες γενεές.

Η δεύτερη ομάδα περιλάμβανε χαρακτηριστικά που παρουσίασαν παραλλακτικότητα στις διασπώμενες γενεές σε ένα από τα δύο εμπορικά υβρίδια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα: η εμφάνιση πράσινων όμων στους καρπούς προ της ωρίμανσης. Παρατηρήθηκε ότι δεν εμφανίστηκε στο υβρίδιο Iron, ούτε στις διασπώμενες

γενεές αυτού, ενώ στο υβρίδιο Sahara το 90% των φυτών της F1 παρουσίασαν το χαρακτηριστικό, το οποίο μειώθηκε στο 50% των φυτών της F2 και στο 30% των φυτών στις οικογένειες της F3. Άλλα χαρακτηριστικά με την ίδια συμπεριφορά ήταν: η θέση μίσχου φυλλαρίου σε σχέση με τον κύριο άξονα, οι χρωματικές ανωμαλίες και το φούσκωμα καρπού.

Η τρίτη ομάδα περιλάμβανε αγρονομικά χαρακτηριστικά που παρουσίασαν διάσπαση στην F2 και F3. Παράδειγμα χαρακτηριστικό είναι ο αριθμός καρπόφυλλων του καρπού όπου στην F2 γενεά διπλασιάστηκε σχεδόν η παραλλακτικότητα τόσο στην «Iron» (από CV = 18,5% σε CV = 34,58%), όσο και στην «Sahara» (από CV = 19,35% σε CV = 30,58%).

Στα ποιοτικά χαρακτηριστικά, οι διασπώμενες γενεές δεν διαφοροποιήθηκαν από τις F1. Παράδειγμα αποτελούν τα διαλυτά στερεά συστατικά και η ξηρή ουσία που δεν διαφοροποιήθηκαν σημαντικά σε σχέση με την F1 γενεά (Πίνακας 1). Οι μεταβολές στις τιμές των δυο αυτών χαρακτηριστικών παρουσίασαν σταθερότητα με την πάροδο των γενεών και αυτό οφείλεται στον υψηλό βαθμό σύνδεσης των χαρακτηριστικών αυτών (Stevens και Rick 1986).

**Πίνακας 1.** Έκφραση των διαλυτών στερεών (°Brix) και περιεκτικότητας (%) ξηρής ουσίας στο σύνολο των γενετικών υλικών μεγαλόκαρπης τομάτας.

Γενετικό υλικό	°Brix		% Ξηρή ουσία	
	Μέσος όρος	CV(%)	Μέσος όρος	CV(%)
Iron F1	4,12	9,49	4,60	8,14
Iron F2	4,13	8,02	4,52	5,78
Iron F3	4,52	6,43	4,85	7,14
Sahara F1	4,23	12,39	4,61	10,86
Sahara F2	4,62	4,87	5,02	3,02
Sahara F3	4,24	8,27	4,85	10,08

Για την αξιολόγηση του παραγωγικού δυναμικού μετρήθηκε τόσο η πρόωμη (86 ημέρες μετά τη μεταφύτευση) όσο και η συνολική (110 ημέρες μετά τη μεταφύτευση) απόδοση για τους εμπορεύσιμους καρπούς. Από τους Πίνακες 2 και 3 φαίνεται πως στη «Sahara» εκδηλώθηκε ομοζυγωτικός εκφυλισμός (14-50%) στην F2 και F3, ενώ στην «Iron» η απόδοση της F3 έφτασε την παραγωγικότητα της F1.

**Πίνακας 2.** Εκτίμηση του ομοζυγωτικού εκφυλισμού (H%) στα παραγωγικά χαρακτηριστικά στην πρόωμη και συνολική απόδοση και της πραγματοποιηθείσας κληρονομικότητας για τη συνολική απόδοση.

Γενετικό υλικό	Πρόωμη συγκομιδή (g/φυτό)		Συνολική απόδοση (g/φυτό)		
	Μέσος όρος	H* (%)	Μέσος όρος	H (%)	h <sup>2</sup> =S/D
Iron F1	2999,2	—	4349,2	—	—
Iron F2	1896,1	63	2975,1	68	-3,8598315
Iron F3	2427,7	81	4367,7	100	1,7030696
Sahara F1	2893,9	—	5488,9	—	—
Sahara F2	2396,3	83	4386,3	80	-1,4540419
Sahara F3	1776,7	61	2826,7	51	-3,0962875

H\* = ετέρωση ή ομοζυγωτικός εκφυλισμός.

**Πίνακας 3.** Εκτίμηση του ομοζυγωτικού εκφυλισμού (H%) στα παραγωγικά χαρακτηριστικά στην πρώιμη-και συνολική εμπορεύσιμη απόδοση.

Γενετικό υλικό	Πρώιμη εμπορεύσιμη συγκομιδή (g/φυτό)		Συνολική εμπορεύσιμη απόδοση (g/φυτό)	
	Μέσος όρος	H* (%)	Μέσος όρος	H (%)
Iron F1	2683,9	—	3943,9	—
Iron F2	1374	51	2409	61
Iron F3	1963,4	73	3843,4	97
Sahara F1	2340,5	—	4545,5	—
Sahara F2	2020,7	86	3880,7	85
Sahara F3	1205,6	52	2289,56	50

H\* = ετέρωση ή ομοζυγωτικός εκφυλισμός.

Στο χαρακτηριστικό του αριθμού ταξιανθιών η «Iron» παρουσίασε στην F2 και F3 την ίδια συμπεριφορά με το υβρίδιο, ενώ η «Sahara» στην F3 παρουσίασε εκφυλισμό (17%).

#### Συμπεριφορά οικογενειών F3 εμπορικού υβριδίου κερασόμορφης τομάτας

Το σύνολο των χαρακτηριστικών που μετρήθηκαν, διακρίθηκαν σε τρεις ομάδες. Η πρώτη ομάδα περιλάμβανε τα αγρονομικά χαρακτηριστικά που δεν παρουσίασαν παραλλακτικότητα, η δεύτερη αυτά που παρουσίασαν παραλλακτικότητα σε ένα από τα εμπορικά υβρίδια και η τρίτη αυτά που παρουσίασαν παραλλακτικότητα και στα δύο υβρίδια, στις διασπώμενες γενεές. Συγκεκριμένα, χαρακτηριστικά της πρώτης ομάδας ήταν σε ποσοστό 62,5% των αγρονομικών χαρακτηριστικών που μετρήθηκαν συνολικά.

Παράδειγμα αγρονομικού χαρακτηριστικού, που παρουσίασε παραλλακτικότητα και στις δύο οικογένειες, είναι το πάχος περικαρπίου, το οποίο στη «F3 small» παρουσίασε μεγαλύτερη παραλλακτικότητα (CV = 36,27%) σε σχέση με την άλλη (CV = 20%). Και οι δύο οικογένειες της F3 είχαν σημαντικά μεγαλύτερο πάχος περικαρπίου (για τη «F3 small»  $t_{0,05} = -2,68$  και για τη «F3 large»  $t_{0,05} = -3,54$ ) σε σχέση με την F1 γενεά, χαρακτηριστικό που είναι επιθυμητό. Στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και στις δύο οικογένειες, τόσο τα ολικά διαλυτά στερεά συστατικά όσο και ξηρή ουσία παρουσίασαν σημαντική υποβάθμιση (για την ξηρή ουσία η «F3 small»  $t_{0,05} = 2,29$  και η «F3 large»  $t_{0,05} = 9,91$  και για τα διαλυτά στερεά συστατικά  $t_{0,05} = 2,23$  και  $t_{0,05} = 10,09$  αντίστοιχα).

Στην αξιολόγηση του παραγωγικού δυναμικού η «F3 small» παρουσίασε μικρή ομοζυγωτική υπεροχή τόσο στην πρώιμη (11-13%) όσο και στη συνολική παραγωγή (2-3%), ενώ η «F3 large» παρουσίασε εκφυλισμό (7-9%) (Πίνακας 4, 5). Η υπεροχή στην απόδοση της «F3 small», δυνατόν να οφείλεται στην αύξηση κατά 23% του αριθμού των καρπών ανά φυτό. Αντίθετα ο εκφυλισμός στην απόδοση της «F3 large» πιθανόν να οφείλεται στην αντίστοιχη μείωση κατά 16% του αριθμού καρπών ανά φυτό.

**Πίνακας 4.** Εκτίμηση του ομοζυγωτικού εκφυλισμού (H%) στα παραγωγικά χαρακτηριστικά της πρώιμης και συνολικής απόδοσης του υβριδίου Sweet-100.

Γενετικό υλικό	Πρώιμη συγκομιδή (g/φυτό)		Συνολική απόδοση (g/φυτό)	
	Μέσος όρος	H* (%)	Μέσος όρος	H (%)
Sweet-100 F1	1296,4	—	2578,5	—
Οικογένεια F3 small	1463,8	113	2659,3	103
Οικογένεια F3 large	1183,5	91	2357,5	91

H\* = ετέρωση ή ομοζυγωτικός εκφυλισμός.

**Πίνακας 5.** Εκτίμηση του ομοζυγωτικού εκφυλισμού (H%) στα παραγωγικά χαρακτηριστικά της πρώιμης και συνολικής εμπορεύσιμης απόδοσης του υβριδίου Sweet-100.

Γενετικό υλικό	Πρώιμη εμπορεύσιμη συγκομιδή (g/φυτό)		Συνολική εμπορεύσιμη απόδοση (g/φυτό)	
	Μέσος όρος	H* (%)	Μέσος όρος	H (%)
Sweet-100 F1	1186,3	—	2465,3	—
Οικογένεια F3 small	1313,3	111	2502,3	102
Οικογένεια F3 large	1099,8	93	2264,8	92

H\* = ετέρωση ή ομοζυγωτικός εκφυλισμός.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι πρώτες διασπώμενες γενεές σε ένα αυτογονιμοποιούμενο φυτό αποτελούν σημαντικό υλικό για το ξεκίνημα της επιλογής. Το στάδιο αυτό της επιλογής είναι το πιο κρίσιμο γιατί αν δεν επιλεγεί ένας γενότυπος στην F2 γενεά, μειώνεται σημαντικά η πιθανότητα να προσδιορισθεί αργότερα (Καλτσίκης 1989). Αυτό γίνεται κατανοητό με το ακόλουθο θεωρητικό παράδειγμα: Εάν οι γονείς μιας διασταύρωσης διέφεραν κατά 25 σημαντικά ανεξάρτητα γονίδια που σχετίζονται με την απόδοση, μόνο το 0,075% της F2, ή ένας γενότυπος στους 1330 μπορεί να αναμένεται να περιέχει και τα 25 επιθυμητά γονίδια. Εάν η επιλογή καθυστερήσει μέχρι την F4, τότε μόνο ένα φυτό στα 1,8 εκατομμύρια θα περιέχει και τα 25 επιθυμητά γονίδια (Stoskopf 1999). Επομένως, η επιλογή στις αρχικές γενεές είναι επιβεβλημένη. Συνεπώς, ο βελτιωτής έχοντας ως σκοπό να οδηγήσει, μέσω της επιλογής, σε υψηλότερες συχνότητες τα επιθυμητά αλληλόμορφα, θα πρέπει να ξεκινήσει την επιλογή από τις αρχικές γενεές (early-generation selection), γι' αυτό οι πρώτες διασπώμενες γενεές θεωρούνται κρίσιμες για την επιλογή (Κούτσικα-Σωτηρίου κ.α. 2003).

Αναφέρονται στη βιβλιογραφία κριτήρια επιλογής επίλεκτων διασταυρώσεων, όπως ετερωτική F1, ανθεκτική στον ομοζυγωτικό εκφυλισμό F2, που αποτελούν πρόδρομες ενδείξεις ότι οι προχωρημένες γενεές θα δώσουν υψηλοαποδοτικές ποικιλίες (Roupakias κ.α. 1997, Gouli και Koutsika 1999). Επίσης, κριτήριο για επιλογή κατάλληλου υβριδίου αποτελούν: η καλή αγρονομική συμπεριφορά, τα επιθυμητά αγρονομικά χαρακτηριστικά, η υψηλή ετέρωση και ο χαμηλός ομοζυγωτικός εκφυλισμός (Hallauer 1978). Τα τρία γενετικά υλικά του πειράματος έδειξαν διαφορετική συμπεριφορά στις διασπώμενες γενεές. Το απλό υβρίδιο Iron, στην F2 γενεά, η παραγωγικότητα έδειξε εκφυλισμό 32 και 37% στη συνολική και πρώιμη συγκομιδή, αντίστοιχα και 39 και 49% στην εμπορεύσιμη παραγωγή. Στην F3 γενεά, η παραγωγικότητα έφτασε το υβρίδιο στην συνολική παραγωγή και το πλησίασε στην πρώιμη, ένδειξη επιτυχημένης επιλογής γενοτύπων, που έφεραν μεγαλύτερο φορτίο αθροιστικών γονιδίων. Στον αριθμό ταξιανθιών τόσο η F2 όσο και η F3 δεν διαφοροποιήθηκαν από το υβρίδιο. Το απλό υβρίδιο Sahara, στην F2 γενεά η παραγωγικότητα παρουσίασε εκφυλισμό 20 και 17% στη συνολική και πρώιμη συγκομιδή, αντίστοιχα. Στην F3 γενεά του υβριδίου Sahara η παραγωγικότητα παρουσίασε εκφυλισμό 49 και 39% στη συνολική και πρώιμη συγκομιδή αντίστοιχα. Η αύξηση του εκφυλισμού αποτελεί ένδειξη μη επιτυχημένης επιλογής γενοτύπων, με υψηλό φορτίο κυρίαρχων γονιδίων. Στον αριθμό ταξιανθιών μόνο η F3 γενεά έδειξε εκφυλισμό 17%, ενώ στα ποιοτικά χαρακτηριστικά δεν διαφοροποιήθηκαν η F1 και F2 από το υβρίδιο. Στο απλό υβρίδιο Sweet-100, η μία οικογένεια της F3 (small), έδειξε υπεροχή στην πρώιμη (13%), στη συνολική παραγωγή (2%) και στον αριθμό καρπών (23%). Η άλλη οικογένεια της F3 (large), έδειξε εκφυλισμό στην παραγωγικότητα (9%), στον αριθμό ταξιανθιών (12%), στον αριθμό καρπών (16%), και μόνο στο βάρος καρπού παρουσίασε υπεροχή (16%). Το αυξημένο μέγεθος των καρπών σε καμία περίπτωση δεν εξισορρόπησε τις απώλειες σε απόδοση εξαιτίας του μειωμένου αριθμού ταξιανθιών και καρπών, χαρακτηριστικό ανεπιθύμητο.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπεραίνεται ότι τα δυο εμπορικά υβρίδια μεγαλόκαρπης τομάτας συμπεριφέρθηκαν διαφορετικά όσον αφορά τα παραγωγικά χαρακτηριστικά. Το υβρίδιο Iron παρουσιάζει μικρότερη ανθεκτικότητα στον εκφυλισμό, η επιτυχημένη επιλογή της F2 οδηγεί σε επίλεκτη σειρά στην F3, και σε υψηλή συσχέτιση ( $r = 0,498$ ).

Το υβρίδιο Sahara παρουσιάζει υψηλότερη ανθεκτικότητα στον εκφυλισμό, η μη επιτυχημένη επιλογή της F2 οδηγεί σε αυξημένο εκφυλισμό στην F3, και σε ανύπαρκτη συσχέτιση ( $r = 0,024$ ).

Το υβρίδιο Sweet-100 έχει δύο σειρές της F3: η μία (small), με βάση την παραγωγικότητα και τον αριθμό καρπών αποτελεί επιτυχημένη επιλογή ( $r = 0,241$ ) (και η επιλογή συνεχίζεται), ενώ η άλλη (large), αποτελεί μη επιτυχημένη επιλογή και οδηγείται στην απόρριψη ( $r = -0,252$ ).

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bernardo, R., 2003. On the effectiveness of early generation selection in self-pollinated crops. *Crop Sci.* 43:1558-1560.
- Briggs, K.G. and L.H. Shebeski, 1971. Early generation selection for yield and breadmaking quality of hard red spring wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). *Euphytica*. 20:453-463.
- Fray, K.L., 1954. The use of F2 lines in predicting the performance of F3 selections in two barley crosses. *Agron. J.* 46:541-544.
- Georgiady, M.S., R.W. Whickus and E.M. Lord, 2002. Genetic analysis of trait distinguishing outcrossing and self pollinating forms of current tomato, *Lycopersicon Pimpinellifolium* (Jusl.) Mill. *Genetics*, 161: 333-344.
- Gouli-Vavdinoudi E. and M. Koutsika-Sotiriou, 1999. Early generation testing for isolating the most promising crosses in bread wheat. *Rachis Newsletter*. 18: 25-30.
- Hallauer, A.R., 1978. Potential of exotic germplasm for maize improvement. In: Walden, D.B. (ed). *Maize breeding and genetics*. John Wiley, N. York, pp.229-247.
- Kaloo, G., 1993. Tomato. In G. Kaloo and B.O. Bergh. *Genetic Improvement of Vegetable Crops*. pp. 645-660, Pergamon Press, New York.
- Κούτσικα-Σωτηρίου, Μ., Αικ. Τράκα-Μαυρονά, Σ. Σαμαράς και Ν. Σταυρόπουλος, 2003. Κριτήρια επιλογής σε αρχικό υλικό εκκίνησης τομάτας. Πρακτικά 21<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Ο., Ιωάννινα, 8-10 Οκτωβρίου του 2003. (υπό εκτύπωση).
- Καλτσίκης, Ι.Π., 1989. Βελτίωση φυτών. Εκδόσεις Σταμούλης, Πειραιάς.
- McKenzie, R.I.H. and J.W. Lambert, 1960. A comparison of F3 lines and the related F6 lines in two barley crosses. *Crop Sci.* 1:246-249.
- Meghji, M.R., J.W. Dudley, R.Z. Lambert, G.F. Sprague, 1984. Inbreeding depression, inbred and hybrid grain yields and other traits of maize genotypes representing three eras. *Crop Sci.* 24: 545-549.
- Rick, M.C., 1974. The Tomato. In R.C. King (Ed.), *Handbook of Genetics*. pp. 247-280. Plenum Press, London, New York.
- Roupakias, D., A. Zesopoulou, S. Kazolea, G. Dalkalitses, A. Mavromatis and T. Lazaridou, 1997. Effectiveness of early generation selection under two plant densities in faba bean (*Vicia faba* L.). *Euphytica*. 93: 63-70.
- Stevens, A.M. and C.M. Rick, 1986. Genetics and Breeding. In J.G. Atherton and J. Rudich (Eds). *The Tomato Crop*. pp.35-100. Chapman and Hall, London.
- Stoskopf, C.N., 1999. *Plant Breeding*. Scientific Publishers, India.
- Tigchelaar, E.C., 1986. Tomato Breeding. In M.J. Bassett (Ed.), *Breeding Vegetable Crops*, pp. 135-171, Avi Publishing Co., Westport Connecticut.
- Weiss, M.G., C.R. Weber and R.R. Kalton, 1947. Early generation testing in soybeans. *J. Am. Soc. Agron.* 39:791-810.
- Whan, B.R., A.J. Rathjen and R. Knight, 1981. The relation between wheat lines derived from the F2, F3, F4 and F5 generations for grain yield and harvest index. *Euphytica*. 30:419-430.

## STUDY OF THE AGRONOMIC PERFORMANCE OF THE EARLY SEGREGATING GENERATIONS OF COMMERCIAL TOMATO SINGLE-CROSS HYBRIDS

E.D. Avdikos<sup>1</sup>, E. Traka-Mavrona<sup>2</sup> and M. Koutsika-Sotiriou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Aristotelian University of Thessaloniki, Department of Agriculture, Laboratory of Genetics and Plant Breeding, 541 24 Thessaloniki.

<sup>2</sup>National Agricultural Research Foundation (N.AG.RE.F.), Agricultural Research Center of Macedonia- Thrace, 570 01, Thessaloniki.

## SUMMARY

The aim of the present study was to estimate the agronomic performance of the early segregating generations of commercial tomato single-cross hybrids. The experiment established at the NAGREEF in the spring of 2004. As experimental material was used: two simple commercial hybrids of large fruit, fresh

consumption tomato, Iron and Sahara, their early segregating generations (F2 and F3), a commercial simple hybrid of cherry tomato, the hybrid Sweet 100 and two selections of its F3 generation. The experimental design was a randomized complete block design with four replications. The study of the morphological characteristics was conducted on the basis of the instructions of UPOV. For the study of yield potential five successive harvests of commercial mature fruit were recorded. Also data on qualitative characteristics were measured. The F2 of "Iron" showed inbreeding depression 32-49%, while the productivity of F3 reached F1. The F2 of "Sahara" showed inbreeding depression 17-19% while the productivity of F3 decreased 15-49%. In hybrid "Sweet-100", the F3 family "large" lagged behind the hybrid 7-9%, while the F3 family "small" reached the hybrid's productivity. Conclusively, the selection ought to be applied from early generation combined with pedigree selection of F2 families.

## Η ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΒΕΡΙΚΟΚΙΑΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ΓΙΑ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΗΝ ΑΣΘΕΝΕΙΑ 'ΕΥΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΔΑΜΑΣΚΗΝΙΑΣ' (PLUM POX VIRUS, SHARKA)

Ειρήνη Σγουρού-Καραγιάννη<sup>1</sup>, Α. Μάινου<sup>1</sup>, Γ. Συργιαννίδης<sup>1</sup>, Δ. Στολιανίδης<sup>1</sup>, Θ. Θωμίδης<sup>1</sup>, Ν. Καραγιάννης<sup>2</sup>, Αιμ. Παπαδόπουλος<sup>3</sup>, Ειρήνη Νιάνιου<sup>3</sup>, Μίνα Τσαγρή<sup>4</sup>, Δ. Κότσης<sup>4</sup>, Μ. Tabler<sup>4</sup>  
και Α. Τσαυτάρης<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων-ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε, 592 00 Νάουσα, <sup>2</sup>Τ. Θ. 124, 58 100 Γιαννιτσά

<sup>3</sup> Εργ. Γενετικής Βελτίωσης των Φυτών, Α.Π.Θ., 546 00 Θεσσαλονίκη

<sup>4</sup> Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας- Ι.Τ.Ε., 71 110 Ηράκλειο

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μεγάλη ευπάθεια των ελληνικών ποικιλιών βερικοκιάς στην ασθένεια 'Ευλογία της δαμασκηνιάς' (Plum Pox Virus, PPV, Sharka) και ο πολύ μικρός αριθμός αυτών οδήγησε στην εφαρμογή προγράμματος γενετικής βελτίωσης της βερικοκιάς στο Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων-ΕΘΙΑΓΕ. Δύο ποικιλίες: η Stark Early Orange και η Stella, οι οποίες αποδείχθηκαν ανθεκτικές στην ασθένεια, χρησιμοποιήθηκαν στις πρώτες διασταυρώσεις με μερικές ευπαθείς ποικιλίες και τετρακόσια υβρίδια παράχθηκαν μέχρι το 1984. Αργότερα οκτώ ακόμη ποικιλίες αμερικανικής προέλευσης αποδείχθηκαν ανθεκτικές στο ΙΦΔ: NJA<sub>2</sub>, Sunglo, Veecot, Harlayne, Henderson, Orangered, Goldrich και Early Blush (Aurora). Ευρείας κλίμακας διασταυρώσεις άρχισαν το 1989 και συνεχίζονται μέχρι σήμερα, με τη χρησιμοποίηση των δέκα ανθεκτικών γονοτύπων σε συνδυασμό με τις ελληνικές κυρίως ποικιλίες Μπεμπέκου και Πρώιμο Τίρυνθος. Έξι χιλιάδες περίπου υβρίδια δημιουργήθηκαν και τρεις χιλιάδες πεντακόσια αξιολογήθηκαν μέχρι το 2004. Η ανθεκτικότητά τους στην ίωση Sharka μελετήθηκε στον αγρό και στο εργαστήριο επί σειράν ετών σε συνθήκες φυσικής και τεχνητής μόλυνσης από τον ιό PPV. Υποσχόμενα, ανθεκτικά υβρίδια, επιλέχθηκαν και πολλαπλασιάστηκαν αγενώς. Τέσσερα από αυτά με επιθυμητά χαρακτηριστικά και με κλιμάκωση στην εποχή ωρίμανσης άρχισαν να διαδίδονται προς καλλιέργεια. Εκτός από τις συμβατικές μεθόδους βελτίωσης, οι νεότερες μέθοδοι της βιοτεχνολογίας χρησιμοποιήθηκαν για την δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών της ποικιλίας Μπεμπέκου, για ανθεκτικότητα στη Sharka, με γονίδια από τον ίδιο τον ιό PPV-M, με τη συνεργασία του Ινστιτούτου Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας-ΙΤΕ, του Εργ. Γενετικής Βελτίωσης Φυτών του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου και του Ινστιτούτου Φυλλοβόλων Δένδρων, κατά τη διετία 2000-2001.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η βερικοκιά (*Prunus armeniaca* L.) η οποία κατάγεται από τις περιοχές της Β.Α. Κίνας ήρθε στην Ελλάδα περί το 100 μ.Χ. Η παγκόσμια παραγωγή βερικόκου ανέρχεται σε 2.200.000 τόννους περίπου ετησίως (FAO, 1998) εκ των οποίων το 50% προέρχεται από χώρες Μεσογειακές και κυρίως της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Η Ελλάδα μέχρι το τέλος της δεκαετίας 1980 ήταν μεταξύ των πρώτων χωρών παραγωγής βερικόκου με 120.000 τόννους ετησίως. Η ιολογική ασθένεια 'Ευλογία της δαμασκηνιάς' έλαβε ενδημικές διαστάσεις στη χώρα μας μετά το 1967 (Demetriades και Catsibas, 1968). Οι εντόπιες ποικιλίες καθώς και όλες οι ευρωπαϊκές αποδείχθηκαν λίαν ευπαθείς και χιλιάδες προσβεβλημένα δένδρα εκριζώθηκαν κατά τη διετία 1990-1992. Η παραγωγή έπεσε κατακόρυφα και παραδοσιακές αγορές νωπού προϊόντος στο εξωτερικό χάθηκαν. Η ελληνική κομπόστα βερικόκου, ποικιλίας Μπεμπέκου, κατείχε το 35% της παγκόσμιας αγοράς. Το ποσοστό αυτό έπεσε στο 13% τη διετία 1995/96. Σήμερα υπάρχει πρόβλημα εφοδιασμού των εργοστασίων κονσερβοποίησης με επαρκή και απαλλαγμένη από την ασθένεια πρώτη ύλη.

Από την έρευνα η οποία διεξάχθηκε στο ΙΦΔ κατά τη δεκαετία 1970-80 αποδείχθηκε, για πρώτη φορά παγκοσμίως, ότι δύο ποικιλίες βερικοκιάς: η Stark Early Orange και η Stella, ήσαν ανθεκτικές στη Sharka (Syrgiannidis, 1980). Οι πρώτες διασταυρώσεις αυτών των δύο ποικιλιών με άλλες ευπαθείς ποικιλίες άρχισαν το 1982. Τετρακόσια υβρίδια παράχθηκαν και τα πρώτα ανθεκτικά υβρίδια επιλέχθηκαν (Syrgiannidis, 1993).

Η αναζήτηση ανθεκτικών γονοτύπων βερικοκιάς συνεχίστηκε στο ΙΦΔ και μετά το 1980, με εισαγωγή νέων ποικιλιών από ιδρύματα έρευνας των ΗΠΑ και του Καναδά. Η συνδυασμένη αξιολόγηση αυτών, σε συνθήκες φυσικής και τεχνητής μόλυνσης από την ενδημική και λίαν μολυσματική φυλή του ιού PPV-M,

έδωσε τη δυνατότητα επιλογής οκτώ ακόμη ανθεκτικών ποικιλιών: NJA<sub>2</sub>, Sunglo, Veecot, Harlayne, Henderson, Goldrich, Orangered και Early Blush γνωστή στην Ελλάδα ως Aurora (Karayiannis και Mainou 1994, Karayiannis 1999b, Καραγιάννη-Σγουρού 2003). Όλες προέρχονταν από τη Β. Αμερική, από διασταυρώσεις μεταξύ γενετικού υλικού ασιατικής προέλευσης όπου είναι τα κέντρα καταγωγής του είδους (Badenes κ.α. 1996). Οι διασταυρώσεις γίνονταν τότε στην Αμερική μόνο για βελτίωση της ποιότητας. Δεν είχε γίνει ακόμη είσοδος της ασθένειας στην Αμερική (Levy κ. ά. 2000) Έρευνα για ανθεκτικότητα στη Sharka άρχισε μετά το 1985 και σε άλλες χώρες της Ευρώπης (Dosba κ.ά 1992). Οι δέκα αμερικανικές ανθεκτικές ποικιλίες χρησιμοποιήθηκαν στο ΙΦΔ σε ένα ευρύ πρόγραμμα διασταυρώσεων κυρίως με τις δύο ελληνικές ποικιλίες Μπεμπέκου και Πρώιμο Τίρυνθος, για κληρονόμηση της προσαρμοστικότητας στο ελληνικό περιβάλλον, από το 1989 έως το 2004. Έξι χιλιάδες περίπου υβρίδια δημιουργήθηκαν μέχρι το 2004 (Karayiannis κ.α. 1999a).

Τα πρώτα πειράματα για τη δημιουργία νέων φυτών Βερικοκιάς ποικ. Μπεμπέκου ανθεκτικών στη Sharka με βιοτεχνολογικές μεθόδους διεξάχθηκαν στα πλαίσια ερευνητικού προγράμματος της ΓΓΕΤ (ΕΠΕΤ II 98BI-13, 2001) με την συνεργασία του Ινστιτούτου Φυλλοβόλων Δένδρων, του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών-ΑΠΘ και του Ινστιτούτου Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας-ΙΤΕ. Φορείς *Ag. tumefaciens* που περιείχαν ως γονίδιο ανθεκτικότητας στον PPV-M δίκλωνο RNA από τον ίδιο τον ιό χρησιμοποιήθηκαν. Η αποτελεσματικότητα των γονιδιακών κατασκευών δοκιμάστηκε για γενετική τροποποίηση φυτών *Nicotiana benthamiana* και βερικοκιάς. Επιβεβαιώθηκε η αποτελεσματικότητα των γονιδιακών κατασκευών p ART27-PPV-PH για την γενετική τροποποίηση της Μπεμπέκου.

Προγράμματα γενετικής βελτίωσης της βερικοκιάς για ανθεκτικότητα στη Sharka άρχισαν να εφαρμόζονται πρόσφατα και σε ορισμένες άλλες χώρες, όπως η Ισπανία (Egea κ.α 1999) και η Γαλλία ( Audergon, προσωπική επικοινωνία) εξ αιτίας της ταχύτατης εξάπλωσης της ασθένειας.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Αξιολόγηση γενετικών πόρων: Εκατόν τριάντα ποικιλίες βερικοκιάς από ερευνητικά κέντρα της Ευρώπης, των Η.Π.Α και του Καναδά αλλά και τα υβρίδια που δημιουργήθηκαν με διασταυρώσεις αξιολογήθηκαν στις συλλογές του Ι.Φ.Δ. με κριτήρια επιλογής την ανθεκτικότητα στην ίωση Sharka, την υψηλή ποιότητα του καρπού (μέγεθος, συνεκτικότητα, γευστική ποιότητα, διαλυτά στερεά κ.α.) την παραγωγικότητα, την αυτογονιμότητα, την καταλληλότητα για βιομηχανική επεξεργασία, κ.ά.

2. Γενετική βελτίωση των ελληνικών ποικιλιών βερικοκιάς με συμβατικές μεθόδους: Δέκα αμερικανικής καταγωγής ποικιλίες: Stark Early Orange, Stella, NJA<sub>2</sub>, Sunglo, Veecot, Harlayne, Henderson, Goldrich, Orangered και Early Blush (Aurora), οι οποίες αποδείχθηκαν ανθεκτικές στη Sharka στο Ι.Φ.Δ. χρησιμοποιήθηκαν ως γονείς σε διασταυρώσεις με τις ελληνικές κυρίως ποικιλίες Μπεμπέκου και Πρώιμο Τίρυνθος, οι οποίες είναι προσαρμοσμένες στο κλιματικό περιβάλλον της χώρας και διαθέτουν επιθυμητά χαρακτηριστικά. Αμοιβαίες διασταυρώσεις και αναδιασταυρώσεις εφαρμόστηκαν μεταξύ ενός ευπαθούς και ενός ανθεκτικού γονέα και σε μικρό βαθμό διασταυρώσεις μεταξύ δύο ανθεκτικών γονέων. Οι συνήθειες τεχνικές αποστημόνωσης των κλειστών ανθέων και επικονίασης εφαρμόστηκαν. Επαναδιασταύρωση της Μπεμπέκου με δύο ανθεκτικά υβρίδια της F<sub>1</sub> γενεάς πραγματοποιήθηκε το 2001 με σκοπό τη βελτίωση της ποιότητας του καρπού και αύξηση της προσαρμοστικότητας των νέων απογόνων στο ελληνικό περιβάλλον. Διασταυρώσεις διενεργήθηκαν και μεταξύ δύο ανθεκτικών ποικιλιών με σκοπό την συγκέντρωση περισσότερων γονιδίων ανθεκτικότητας στους απογόνους. Οι πυρήνες των καρπών από κάθε ελεγχόμενη διασταύρωση συλλέγονταν, υποβάλλονταν σε ψύχος το χειμώνα επί 2 μήνες και μεταφέρονταν στο φυτώριο με την έναρξη της βλάστησης. Τα νεαρά δενδρύλλια παρέμεναν εκεί για ένα περίπου έτος και κατόπιν φυτεύονταν στον αγρό (3, 5μ x 1.0 μ).

3. Μελέτη ανθεκτικότητας γενετικού υλικού στον ιό PPV-M.

3.1. Φυσική μόλυνση. Τα δένδρα φυτεύονταν σε μικρή απόσταση από παλαιούς μολυσμένους οπωρώνες ώστε να εξασφαλίζεται η φυσική μόλυνση από τις αφίδες-φορείς του ιού. Δεν εφαρμόζονταν ψεκασμοί με εντομοκτόνα. Οι γενότυποι οι οποίοι δεν παρουσίαζαν συμπτώματα προσβολής στα φύλλα, μετά πάροδο 2-3 ετών από τη φύτευση, υποβάλλονταν σε τεχνητή μόλυνση.

3. 2. Τεχνητή μόλυνση με εμβολιασμό του υπό έλεγχο ατόμου α) επί παλαιού δένδρου βερικοκιάς προσβεβλημένου από PPV-M και β) επί μονοετών δενδρυλλίων του ξυλώδους δείκτη GF-305 και συνακόλουθη προσθήκη μολύσματος PPV-M με ενοφθαλμισμό. Παρατηρήσεις για συμπτώματα της ασθένειας στα φύλλα των υβριδίων λαμβάνονταν κατά την άνοιξη για τα επόμενα 3-4 χρόνια.

3. 3. Εφαρμογή εργαστηριακών μεθόδων για την ανίχνευση του ιού PPV-M. Η μέθοδος DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) (Clark κ.α. 1976) και η νεότερη-μοριακή μέθοδος IC-PCR (Immuno-Capture Polymerase Chain Reaction) (Wetzel κ.α.1992) χρησιμοποιήθηκαν σε ποικιλίες και υβρίδια τα οποία δεν έδειχναν συμπτώματα προσβολής μετά από τεχνητή μόλυνση.

4. Έλεγχος καταλληλότητας για βιομηχανική επεξεργασία: 40 υβρίδια επιλεγμένα για ανθεκτικότητα και άλλα επιθυμητά χαρακτηριστικά υποβλήθηκαν σε κονσερβοποίηση στο εργοστάσιο KON-VERI A.E. κατά τα έτη 2000 και 2001. Οι ποικιλίες Μπεμπέκου, Sundrop και San Castrese χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Το εισερχόμενο βάρος ήταν 1Kg και η πυκνότητα του σιροπιού 28 β. Brix, με συνθήκες παστερίωσης 13 λεπτά στους 96 β. Κελσίου. Το προϊόν αξιολογήθηκε ως προς την ποιότητα ανά διαστήματα 3 και 6 μηνών ως προς τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά (ΕΠΕΤ II, 98 ΒΙ 13).

5. Γενετική βελτίωση βερικοκιάς με βιοτεχνολογικές μεθόδους: Μέθοδοι αναγέννησης φυτικού υλικού βερικοκιάς μελετήθηκαν σε in vitro συνθήκες. Ειδικά θρεπτικά υποστρώματα με φυτορρυθμιστικές ουσίες χρησιμοποιήθηκαν: M3 (τροποποιημένο WPM) με προσθήκη 1mg/l BA, 0,1mg/l IAA, 1mg/l 2iP, 1 mg/l TDZ, 10 g/l sucrose, 10 g/l glucose, 10g/l maltose και ρύθμιση pH στο 5,7. Μηχανισμοί εκκίνησης ανθεκτικότητας στον ιό PPV από τον ίδιο τον ιό κατασκευάστηκαν, όπως τα πλασμίδια

p ART27-PPV-PH και p ART 27 PPV(+), και δοκιμάστηκαν για τη γενετική τροποποίηση δίσκων φύλλων καπνού *Nicotiana benthamiana*. Για την γενετική τροποποίηση αναγεννημένων φυτών βερικοκιάς χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι: α) η συγκαλλιέργεια του φυτικού υλικού με κύτταρα *Ag. tumefaciens* L.BA 4404 στα οποία είχε εισαχθεί το πλασμίδιο p ART27-PPV-Phd1e και β) η βιοβαλλιστική μέθοδος με εκτοξευτήρα DNA κατά την οποία το πλασμίδιο pBI 121 χρησιμοποιήθηκε. Ο έλεγχος των πιθανώς γενετικά τροποποιημένων φυτών έγινε με τη χρήση της βιοβαλλιστικής μεθόδου ως προς την παρουσία γλυκουρονιδάσης (gus test) και ως προς την παρουσία γονιδίων αντοχής στον ιό PPV-M με τη μέθοδο της Αλυσιδωτής Αντίδρασης της Πολυμεράσης.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δέκα ποικιλίες βερικοκιάς επιλέχθηκαν ως ανθεκτικές στην προσβολή από τον ιό PPV-M, μεταξύ 130 άλλων στις συλλογές του ΙΦΔ: Stark Early Orange, Stella, NJA2, Sunglo, Veecot, Harlayne, Goldrich, Henderson, Orangered και Early Blush (Aurora) μετά από φυσική και τεχνητή μόλυνση και εργαστηριακές δοκιμές (Καραγιάννη-Σγουρού, 2003). Ενενήντα ελεγχόμενες διασταυρώσεις πραγματοποιήθηκαν μεταξύ αυτών και των ελληνικών κυρίως ποικιλιών Μπεμπέκου και Πρώιμο Τύρυνθος (Πίν. 1). Έξι χιλιάδες περίπου υβρίδια F1 δημιουργήθηκαν και διακόσια δέκα υβρίδια BC1. Διερευνήθηκε ο τρόπος κληρονομής της ανθεκτικότητας των απογόνων F1 στον PPV. Η γενετική ανάλυση έδειξε ότι η κληρονομία της ανθεκτικότητας στον ιό PPV είναι υπό απλό γενετικό έλεγχο (Πίν. 2). Όλοι οι απόγονοι των διασταυρώσεων με ένα γονέα τη 'Stella' αποδείχθηκαν ανθεκτικοί (Πίν. 2). Ο αριθμός των ανθεκτικών απογόνων ήταν έξι φορές μεγαλύτερος του αριθμού των ευπαθών απογόνων από τη διασταύρωση δύο ανθεκτικών γονέων: 'Sunglo x NJA2' (Πίν. 2).

Τα καλύτερα υβρίδια με παραγωγικότητα, συνεκτικότητα, μεγάλο μέγεθος και ωραίο ανοικτό πορτοκαλί χρώμα καρπού προήλθαν από τις αμοιβαίες διασταυρώσεις της 'Μπεμπέκου' με την 'Veecot' και είναι κατάλληλα τόσο για νοπή κατανάλωση όσο και για κονσερβοποίηση. Τα υβρίδια από τις διασταυρώσεις των ελληνικών ποικιλιών με την S. Early Orange είναι καλής ποιότητας, με ωραίο κόκκινο επίχρωμα, κατάλληλα μόνο για νοπή κατανάλωση. Τα υβρίδια με γονέα την 'Harlayne' ήταν μικρόκαρπα. Τα υβρίδια με γονέα την 'Stella' ήταν μικρόκαρπα με πολύ μαλακή σάρκα ακατάλληλα για εμπορία. Τα υβρίδια με γονέα την 'NJA2' εμφάνισαν καρπόπτωση και μαλακή σάρκα καρπού. Πολλά υβρίδια παρουσίασαν ενδιαφέρον για τα επί μέρους χαρακτηριστικά. Τέσσερα ανθεκτικά υβρίδια επιλέχθηκαν για το σύνολο των επιθυμητών χαρακτηριστικών, για κλιμάκωση της παραγωγής και έχουν αρχίσει να διαδίδονται για δοκιμαστική καλλιέργεια με τα ονόματα: Νιόβη (128/89: Stark Early Orange x Μπεμπέκου), Τύρβη (A64/91: Veecot x Πρώιμο Τύρυνθος), Νόστος (164/92: Veecot x Μπεμπέκου) και Νηρηίς (B193/91: [Πρ. Τύρυνθος x S. Early Orange] x Μπεμπέκου) με σειρά ωρίμανσης 5, 8, 20 και 25 Ιουνίου αντίστοιχα.

**Πίνακας 1.** Ελεγχόμενες διασταυρώσεις και αριθμός υβριδίων τα οποία δημιουργήθηκαν στο Ινστιτούτο Φυλλοβόλων Δένδρων- ΕΘΙΑΓΕ (1982-2002).

Γονείς	Μπεμπέκου Δ	Μπεμπέκου Δ	Bergeron	Erevani	Early Orange	Festivalna	Golditch	Harcot	Harlayne	Jubilejna	K 104-98	Kostuzenska	Αργώ	Luizet	NIA2	Orangered	Quardi	Πανδώρα	Πρ. Πόρου	Πρ. Τίρνοθος	Reale d'Imola	Robada	San Castrese	Stella	Sundrop	Sunglo	Veecot	804 X 634-18	eecot x				
Μητέρα																																	
Μπεμπέκου					19		7	69	170				112		271	500								64	163	250	121		220				
Μπεμπέκου ΙΔ					36								1		45			7					24										
Bergeron					1																		8										
Early Orange	75	11			2			2						20	17				15	14			49										
Harcot	1												7		10			1			3					29							
Harlayne	58			23	117											150																	
Jubilejna																										2							
Κολιοπούλου								12						1				3									13						
Kostuzenska																																	
Αργώ (Γ29)					1			4																									
Luizet					53																												
Πανδώρα																																	
Πρ. Τίρνοθος					9								3		44			1							7	11	1						
Reale d'Imola															47				1									215					
Stella	58	33	55		33	6				3	26				128				12	2						71							
Sunglo	135	46								44	19	11			98	18	14							15									
Veecot	133																2	8		148	15		98		2							223	

**Πίνακας 2.** Γενετική ανάλυση της ανθεκτικότητας στον ιό ρρν των απογόνων των διασταυρώσεων της Μπεμπέκου με τις ανθεκτικές ποικιλίες NJA2, Harlayne, Stark Early Orange, Veecot, Sunglo και Stella, μετά από τεχνητή μόλυνση.

Ποικιλίες -Γονείς	Σύνολο Τεχνητώς Μολυνθέντων	Ανθεκτικοί Απόγονοι		Ευπαθείς απόγονοι		X <sup>2</sup>	ΔΙΑΣΠΑΣΗ
		Αριθμός,	%	Αριθμός,	%		
Μπεμπέκου x NJA2	106	46	43	60	57	1.85	1:1
Μπεμπέκου x Harlayne	152	70	46	82	54	0.95	1:1
Stark Early Orange x Μπεμπέκου	114	62	54	52	46	0.88	1:1
Veecot x Μπεμπέκου Μπεμπέκου x Veecot	50	24	48	26	52	0.08	1:1
	88	38	44	50	56	1.63	1:1
Μπεμπέκου x Sunglo	110	59	54	51	46	0.58	1:1
Μπεμπέκου x Stella	108	108	100	0	0	-	
Sunglo x NJA2	90	78	87	12	13		6:1

B. ε. : 1, P : 0.05 , X<sup>2</sup> = 3.84, Ελεγχόμενη θεωρητική αναλογία 1:1.

Όσον αφορά στη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών για ανθεκτικότητα στη Sharka σε in vitro συνθήκες οι ενδείξεις της συμπεριφοράς της Μπεμπέκου ως προς την αναγέννηση είναι μέτριες. Καλύτερα αποτελέσματα ελήφθησαν σε θρεπτικό υπόστρωμα M3 (τροποποιημένο WPM: Woody Plant Medium) (βλ. Υλικά και Μέθοδοι). Τα μέρη που έδωσαν αναγέννηση ήταν κυρίως ο κάλλος της βάσης και ο μίσχος των φύλλων. Τα πλασμίδια κατασκευάστηκαν δια την έκφραση διπλόκλωνου RNA και την επιτυχή καταστολή του ίδιου αυτού γονιδίου μέσω γονιδιακής σίγησης (gene silencing). Τα πλασμίδια κατασκευάστηκαν επίσης για παραγωγή μονόκλωνου RNA. Φυτά *Nicotiana benthamiana* που τροποποιήθηκαν με διπλόκλωνο RNA έδειξαν 64.7% ανθεκτικότητα. Η εξέλιξη της γενετικής τροποποίησης της βερικοκιάς με το πλασμίδιο p ART27-PPV-PH ήταν πολύ χρονοβόρα λόγω του μικρού ποσοστού αναγεννημένων φυτών, της αργής ανάπτυξής τους και της δυσκολίας απομάκρυνσης του βακτηρίου από τους ιστούς ( ΕΠΕΤ II, 98-BI 13)

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η έρευνα για την γενετική βελτίωση της βερικοκιάς για ανθεκτικότητα στην ίωση Sharka άρχισε στην Ελλάδα, στο ΙΦΔ, για πρώτη φορά παγκοσμίως και συνεχίζεται μέχρι σήμερα για την επιλογή ανθεκτικών και συγχρόνως εμπορικά αποδεκτών ποικιλιών, με κλιμάκωση στην εποχή ωρίμανσης. Έρευνα για το ίδιο θέμα διενεργείται τα τελευταία χρόνια και σε ευρωπαϊκές χώρες (Egea κ.ά. 1999, Audergon, προσωπική επικοινωνία).

Η επιλογή ανθεκτικού στη Sharka γενετικού υλικού βερικοκιάς στην Ελλάδα διευκολύνθηκε από το γεγονός ότι η ασθένεια ενδημεί στην περιοχή διεξαγωγής της έρευνας (Νομοί Πέλλας και Ημαθίας). Η έρευνα έδειξε ότι μεταξύ των ξένων ποικιλιών οι οποίες εισήχθηκαν στο ΙΦΔ υπήρχαν ορισμένες οι οποίες

δεν προσβάλλονταν από την ασθένεια, στον αγρό ή με τεχνητή μόλυνση. Όλες προέρχονταν από ερευνητικά ιδρύματα των ΗΠΑ και του Καναδά, από διασταυρώσεις γενετικού υλικού ασιατικής καταγωγής. Στα ασιατικά κέντρα καταγωγής της βερικοκιάς υπάρχει πλούτος γενετικών πόρων και έχει αναπτυχθεί ανθεκτικότητα σε παθογόνα, υπό πίεση επιλογής επί χιλιάδες χρόνια. Οι αμερικανικές ποικιλίες δεν είχαν την προσαρμοστικότητα στο κλιματικό περιβάλλον της χώρας μας, ούτε τα επιθυμητά χαρακτηριστικά, γι αυτό χρησιμοποιήθηκαν ως γονείς σε μεγάλο αριθμού διασταυρώσεις, αμοιβαίες διασταυρώσεις και αναδιασταυρώσεις με τις ελληνικές ποικιλίες από το 1989 έως σήμερα. Ο πλούτος γενετικού υλικού που δημιουργήθηκε, από το πλήθος των διασταυρώσεων, ήταν τεράστιος και έδωσε τη δυνατότητα επιλογής για ανθεκτικότητα, αυτογονιμότητα, παραγωγικότητα, ποιότητα καρπού, κλιμάκωση στην ωρίμανση κ.ά. Σήμερα, στο ΙΦΔ, επιδιώκεται η επιλογή για πρωίμηση στην ωρίμανση, μεταξύ των απογόνων των διασταυρώσεων δύο ανθεκτικών γονέων (ελληνικών υβριδίων F1 γενεάς).

Η μελέτη κληρονομιάς της ανθεκτικότητας στη Sharka (Καραγιάννη-Σγουρού, 2003) από τα υβρίδια των διασταυρώσεων ξένων ποικιλιών με την Μπεμπέκου έδειξε ότι ισχύει η 1:1 αναλογία διάσπασης ανθεκτικών προς ευπαθείς απογόνους, γεγονός που συμβαίνει γενικότερα στους ιούς (Fraser 1990). Όλα τα υβρίδια των διασταυρώσεων με την Stella αποδείχθηκαν ανθεκτικά. Συμπεραίνεται ότι οι γενότυποι Stark Early Orange, NJA<sub>2</sub>, Sunglo, Veecot και Harlayne είναι ετεροζύγωτοι ως προς την ανθεκτικότητα ενώ ο γενότυπος Stella είναι ομοζύγωτος. Η ανθεκτικότητα φαίνεται ότι οφείλεται σε μία γονιδιακή θέση και σε ένα ζεύγος αλληλομόρφων γονιδίων με σχέση κυριαρχίας. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με έρευνα η οποία διεξήχθη στην Ισπανία με πολύ μικρό όμως αριθμό απογόνων, σε εντομοστεγή θάλαμο, με διαφορετική τεχνική και με την ηπιότερη φυλή του ιού PPV-D (Dicenta κ.α 2000). Η διασταύρωση δύο ανθεκτικών γονέων όπως 'Sunglo' x 'NJA2' αυξάνει τη συσσώρευση γονιδίων ανθεκτικότητας και η πλειονότητα των απογόνων εμφανίζεται ανθεκτική με αναλογία 6:1 (Πιν. 2).

Τα αποτελέσματα της έρευνας με κλασσικές μεθόδους ήσαν πολύ ενθαρρυντικά. Πολλά υβρίδια ήσαν ενδιαφέροντα αλλά ολίγα συγκέντρωναν όλα τα επιθυμητά χαρακτηριστικά. Τα ανθεκτικά υβρίδια, τα οποία άρχισαν να διαδίδονται θα στηρίζουν την καλλιέργεια του εκλεκτού αυτού οπωροφόρου είδους αλλά και την ελληνική βιομηχανία κονσερβοποίησης.

Τα γενετικώς τροποποιημένα φυτά βερικοκιάς παρουσίασαν ανθεκτικότητα στη Sharka αλλά μεγάλη δυσκολία αναγέννησης των βλαστών τους, κάτι το οποίο συμβαίνει στα περισσότερα πυρηνόκαρπα.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Badenes M. L., Asins M. J., Carbonell E. A. and Llacer G. 1996. Genetic diversity in apricot, *Prunus armeniaca* L. aimed at improving resistance to plum pox virus. *Plant Breeding*, 115: 133-139.
- Clark, M. F. and Adams, A. N. 1977. Characteristics of the micro-plate methods of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- Demetriades S. D., Catsibas C. 1968. Attaques et nouveaux ennemis signales (Sharka). *FAO Plant Protection Bulletin*, 16: 10-11.
- Dicenta F., Martinez-Gomez P., Burgos L. and Egea J. 2000. Inheritance of resistance to plum pox potyvirus in apricot (*Prunus armeniaca* L.) *Plant Breeding* 119: 161-164.
- Dosba F., Orliac S., Dutrannoy F., Maison P., Massonie G., Audergon J.M. 1992. Evaluation of resistance to plum pox virus on apricot trees. *Acta Horticulturae* 309: 211-220.
- Egea J., Burgos L., Martinez-Gomez P. and Dicenta F. 1999. Apricot Breeding for Sharka resistance at C.E.B.A.S.-C.S.I.C., Murcia (Spain). *Acta Horticulturae* 488: 153-158.
- ΕΠΕΤ-II 98BI-13. 2001. Καραγιάννη-Σγουρού Ε., Θωμίδης Θ., Καραγιάννης Ν., Παπαδόπουλος Α., Νιάνιου Ε., Κότσης Δ., Τσαγρή Ε., Tabler Μ., και Τσαντάρης Α. Βελτίωση της ελληνικής ποικιλίας βερικοκιάς Μπεμπέκου ως προς την ανθεκτικότητα στη Sharka με συμβατικές και βιοτεχνολογικές μεθόδους. Τελική Έκθεση, σ.117. Γ.Γ.Ε.Τ - Υπουργείο Ανάπτυξης.
- FAO. 1998. *Production Yearbook*. Vol. 52. Table 72, 159-160.
- Fraser, R.S.S. 1990. The genetics of resistance to plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28, 179-200.
- Karayianis I. and Mainou A. 1994. Resistance to plum pox potyvirus in apricots. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 24: 761-765.
- Karayianis I., Mainou A. and Tsafaris A. 1999a. Apricot breeding in Greece for fruit quality and resistance to plum pox virus disease. *Acta Horticulturae*, 488 : 111-117
- Karayianis I., Audergon J. M. and Di Terlizzi B. 1999b. Susceptibility of apricot cultivars to plum pox virus disease. *Acta Horticulturae* 488: 753-760.

- Karayiannis Irene, Mainou A., Stylianidis D., Thomidis T., Karayiannis N. and Tsaftaris A. 2001. Resistant to Sharka disease (ppv) apricot hybrids of high quality selected in Greece. XII International Symposium on Apricot Culture- Avignon-France. 10-14 Sept. 2001. Acta Horticulturae ( in press).
- Καραγιάννη-Σγουρού Ειρήνη. 2003. Μελέτη κληρονομικής της ανθεκτικότητας στην ίωση «Ευλογία της δαμασκηνιάς» (Sharka) και του ασυμβιάστου στη βερικοκιά (*Prunus armeniaca* L.) για την επιλογή νέων ποικιλιών. Διδακτορική Διατριβή. ΑΠΘ. Θεσσαλονίκη.
- Levy L., Damsteegt V. and Velliver R. 2000. First report of plum pox virus (Sharka disease) in *Prunus persica* in the United States. Plant Disease 84(2): 202.
- Syrgiannidis G. 1980. Selection of two apricot varieties resistant to Sharka virus. Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae 15: 85-87.
- Syrgiannidis G. and Mainou A. 1993. Two new apricot varieties resistant to Sharka (plum pox virus) disease created by crossing. In Agriculture, CEE Rapport, EUR 15009 Fr: 136
- Wetzel, T., Candresse, T., Ravelonandro, M., and Dunez, J. 1991a. A polymerase chain reaction adapted to plum pox potyvirus detection. Journal of Virological methods 33: 355-366.

## APRICOT BREEDING IN GREECE FOR RESISTANCE TO SHARKA DISEASE (PLUM POX VIRUS)

Irene Karayiannis<sup>1</sup>, A Mainou<sup>1</sup>, G. Syrgiannidis<sup>1</sup>, D. Stylianidis<sup>1</sup>, T. Thomidis<sup>1</sup>, N. Karayiannis<sup>2</sup>, A. Papadopoulos<sup>3</sup>, I. Nianiou<sup>3</sup>, M. Tsagris<sup>4</sup>, D. Kotsis<sup>4</sup>, M. Tabler<sup>4</sup> και A. Tsaftaris<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Pomology Institute-NAGREF, 592 00 Naoussa, <sup>2</sup>T. Θ. 124, 58 100 Yiannitsa

<sup>3</sup> Lab. Plant Genetics and Breeding, Aristoteles University of Thessaloniki, 546 00 Thessaloniki

<sup>4</sup> Institute of Molecular Biology and Biotechnology - ITE, 71 110 Heraklion-Crete

### SUMMARY

The great susceptibility of the Greek apricot cultivars to Sharka disease and the very small number of them has led to the application of a Greek apricot breeding program at the Pomology Institute -NAGREF, since 1982. Two cultivars: Stark Early Orange and Stella, which had been proved resistant to the disease, in previous research at the same Institute, have been used for the first crosses with some susceptible cultivars and four hundred hybrids have been created until 1984. Later, eight more cultivars of American origin have been proved resistant to PPV-M in the experimental orchards of the Pomology Institute: NJA2, Sunglo, Veecot, Hariayne, Henderson, Orangered, Goldrich and Early Blush (Aurora). A broad range of crosses began in 1989 and have been continued until now, with the use of the ten resistant genotypes in combination mainly with the Greek cultivars Bebecou and Proimo Tiryntos. Six thousand hybrids have been created approximately and three thousands five hundred have been evaluated until 2004. Their resistance to Sharka has been studied both in conditions of natural and artificial inoculation in the field and in the lab for many years. Inheritance of resistance follows the 1:1 ratio of segregation. Four resistant hybrids, with desirable characteristics and different time of ripening, have been selected among others for distribution to the growers. Except for the conventional breeding methods, the newest methods of biotechnology have been used for the creation of genetically modified plants of 'Bebecou' for resistance to Sharka, with genes from the PPV-M itself, by the collaboration of the Institute of Molecular Biology and Biotechnology-ITE, the Lab of Plant Genetics and Breeding of Aristoteles University and the Pomology Institute, during the years 2000-2001.

## ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΓΡΟΝΟΜΙΚΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΠΑΛΑΙΩΝ ΚΑΙ ΝΕΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΚΡΙΘΗΣ (*Hordeum vulgare L.*) ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

Θ. Κοπαράνης<sup>1</sup>, Κ. Μπλαδενόπουλος<sup>2</sup> και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των φυτών, Α.Π.Θ., 541 24 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Σιτηρών Θεσσαλονίκης, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε, 570 01 Θέρμη-Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σε πείραμα που έγινε στον σταθμό του Αγ.Μαμμα μελετήθηκε η συμπεριφορά έξι ποικιλιών κριθαριού σε συμβατικό και βιολογικό τρόπο καλλιέργειας. Οι ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τρεις παλαιές και τρεις πρόσφατες, δημιουργίες του ΕΘΙΑΓΕ-Ινστιτούτου Σιτηρών Θεσσαλονίκης. Το σχέδιο εγκατάστασης του πειράματος ήταν τυχαιοποιημένες πλήρεις ομάδες με κύρια τεμάχια τα συμβατικά και βιολογικά, με υποτεμάχια τις παλαιές και τις νέες ποικιλίες και υπό-υποτεμάχια τις ποικιλίες. Εξετάστηκαν τα χαρακτηριστικά: ποσοστό χλωροφύλλης, ύψος φυτού, πλάγιασμα φυτών, βλαστική περίοδος, απόδοση σε καρπό, βάρος 1000 κόκκων, διαμέτρημα του κόκκου, εκατολιτρικό βάρος και πρωτεΐνη του κόκκου. Οι ποικιλίες έδειξαν να αναπτύσσονται πιο ήπια κάτω από βιολογικές συνθήκες καλλιέργειας, καθώς οι σημαντικές διαφορές στο ύψος των φυτών στο στάδιο διόγκωσης της ταξιανθίας (υψηλότερα τα φυτά στη συμβατική καλλιέργεια), έδειξαν να ελαχιστοποιούνται στο τελικό ύψος των φυτών. Η καλλιέργεια του κριθαριού κάτω από βιολογικές συνθήκες δεν υστέρησε σημαντικά στην απόδοση σε καρπό, αντίθετα τα αποτελέσματα για το πλάγιασμα και το πάχος του κόκκου έδειξαν να ευνοούν τον βιολογικό τρόπο καλλιέργειας. Συμπερασματικά, τα δεδομένα παρέχουν ενδείξεις ότι η καλλιέργεια του κριθαριού μπορεί να αποδειχθεί μια εναλλακτική λύση, στον βιολογικό τρόπο καλλιέργειας για τη χώρα μας.

Λέξεις κλειδιά: Κριθάρι, βιολογική και συμβατική καλλιέργεια, αγρονομικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά, παλαιές και νέες ποικιλίες.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο Lockeretz (1978) απέδειξε ότι η απαιτούμενη ενέργεια (εκτιμώμενη σε δολάρια) για την παραγωγή γεωργικών προϊόντων σε βιολογικές φάρμες ανέρχονταν στο ένα τρίτο της απαιτούμενης για συμβατική καλλιέργεια. Τα δεδομένα του Lockeretz (1978) έδειξαν ότι η αροτρίαία παραγωγή είναι ίση ή ελαφρά μικρότερη (8% περίπου) όταν ο βιολογικός τρόπος καλλιέργειας συγκρίνεται με το συμβατικό. Παρόμοιες εργασίες με πειράματα σύγκρισης των δύο τρόπων καλλιέργειας από τους Lockeretz κ.α. (1984), Pimentel κ.α. (1984) και Αναλογίδης, (2004) έδειξαν στο σιτάρι μείωση των αποδόσεων στη βιολογική καλλιέργεια κατά 43%, 4,2% και 10,2% αντίστοιχα, ενώ στον αραβόσιτο οι Parsons (2002), Sowinski κ.α. (2001), Delate και Campardella (2000), Lockeretz κ.α. (1984) και Pimentel κ.α. (1984) αναφέρουν ότι οι αποδόσεις στη βιολογική καλλιέργεια υπολείπονταν κατά 52%, 51%, 10,3%, 8% και 1% αντίστοιχα.

Η δημιουργία υψηλοαποδοτικών ποικιλιών αποτελεί πρωταρχικό μέλημα των προγραμμάτων βελτίωσης. Για να εκτιμήσουν το μέγεθος της επιτυχίας τους, οι βελτιωτές συγκρίνουν τις νέες με τις παλαιές ποικιλίες. Πειράματα στο κριθάρι έδειξαν αύξηση της απόδοσης 32% - 56% που οφειλόταν στη γενετική βελτίωση, για ποικιλίες που καλλιεργούνταν πριν 30 έως 100 χρόνια (Ekman, 1981, Gymer, 1981, Riggs κ.α., 1981, Wych και Rasmusson, 1983). Οι νέες ποικιλίες αποδείχθηκαν ίδιες με τις παλαιές όσον αφορά την πάνω από το έδαφος βιομάζα, αλλά διέφεραν στο ότι είχαν αυξημένη αναλογία βιομάζας. Για παράδειγμα η ποικιλία Midwestern αύξανε την απόδοση της περίπου 2% ανά έτος για τα τελευταία 40 χρόνια (Wych και Rasmusson, 1983). Το μεγαλύτερο ποσοστό αύξησης της απόδοσης στο κριθάρι έχει επιτευχθεί με επιλογή για απόδοση ή για παράγοντες οι οποίοι μειώνουν τις απώλειες της απόδοσης (π.χ ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα) παρά για μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά (Anderson και Reinbergs, 1985). Εντούτοις, μεγάλο κομμάτι της έρευνας αφιερώθηκε στα μεμονωμένα χαρακτηριστικά. Είναι γνωστό ότι οι ποικιλίες με άγανα είναι πιο παραγωγικές από αυτές που δεν έχουν άγανα (Qualset κ.α., 1965) και ότι άλλα χαρακτηριστικά, όπως το γυμνόσπερμο, είναι αρνητικά συσχετισμένα με την απόδοση (Harlan κ.α., 1940). Οι νέες υψηλοαποδοτικές ποικιλίες κριθής έχουν γενικά μικρότερο καλάμι, υψηλότερο δείκτη συγκομιδής και πολλά παραγωγικά

αδέλφια (Ekman, 1981, Gymer, 1981). Η διαχρονική μελέτη της παραγωγικότητας κάθε φυτικού είδους αποτελεί αντικείμενο ερμηνείας των παραγόντων που συμβάλουν σ' αυτήν.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η συγκριτική αξιολόγηση βιολογικού και συμβατικού τρόπου καλλιέργειας στο κριθάρι, το οποίο θεωρείται πρότυπο φυτικού είδους για προσαρμογή στη βιολογική καλλιέργεια. Ειδικότερα στη παρούσα εργασία μελετάται η αγρονομική συμπεριφορά τριών παλαιών και τριών νέων ποικιλιών κριθαριού (δημιουργίες του ΕΘΙΑΓΕ-Ινστιτούτου Σιτηρών).

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε κατά την καλλιεργητική περίοδο 2002-2003 στο Σταθμό Γεωργικής Έρευνας του Αγίου Μάμμα. Χρησιμοποιήθηκαν έξι ελληνικές ποικιλίες κριθαριού δημιουργίες του Ινστιτούτου Σιτηρών.

Πίνακας 1. Γενεαλογική καταγωγή των ποικιλιών που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα

Όνομα	Γενεαλογικός Αριθμός	Διασταύρωση	Έτος εγγραφής στον Εθ. κατάλογο
ΚΩΣ	Γ - 015785	(Carina x no 7372)	1989
ΝΙΚΗ	Γ - 015630	(Georgie x Rika)	1988
ΘΕΡΜΗ	Γ - 07833	Επίλογή από Clipper	1985
ΔΗΜΗΤΡΑ	Γ - 019678	(Nicola x 7200)	2000
ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ	Γ - 019315	(Trumpf x 7200)	2000
ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ	Γ - 019310	(Κρόνος x 7200)	2003

Το σχέδιο εγκατάστασης του πειράματος ήταν τυχαιοποιημένες πλήρεις ομάδες με κύρια τεμάχια τα συμβατικά και βιολογικά (Παρ. Α), υποτεμάχια τις παλιές και νέες ποικιλίες (Παρ. Β) και υπό-υποτεμάχια τις επιμέρους ποικιλίες (Παρ. Γ) (Split-Split-plot design). Σπάρθηκαν 48 πειραματικά τεμάχια (υπό-υποτεμάχια) σύμφωνα με το πειραματικό σχέδιο σε τέσσερις επαναλήψεις. Κάθε πειραματικό τεμάχιο αποτελούνταν από επτά γραμμές φυτών μήκους τεσσάρων μέτρων με απόσταση μεταξύ τους 25cm.

Η σπορά πραγματοποιήθηκε στις 21-11-2002. Η ποσότητα του σπόρου που σπάρθηκε σε κάθε πειραματικό τεμάχιο (115g) αντιστοιχεί σε 16,43 kg/στρ. Πριν τη σπορά, έγινε βασική λίπανση στα συμβατικά καλλιεργούμενα κύρια τεμάχια. Χρησιμοποιήθηκε ο τύπος λιπάσματος 20-10-0 σε ποσότητα 40 kg/στρ. Η καλλιέργεια του προηγούμενου έτους ήταν βίκος (*Vicia faba*) και ο τύπος του εδάφους ήταν Alfisol των ερυθρών μεσογειακών εδαφών (Red Mediterranean Soil). Ο τρόπος καλλιέργειας του αγροτεμαχίου τα πέντε τελευταία έτη ήταν ένας βιολογικός κύκλος αμειψισποράς όπως προβλέπεται από τους κανονισμούς της Ε.Ο.Κ. (σιτηρά-ψυχανθή).

Μετρήθηκαν τα παρακάτω χαρακτηριστικά ως εξής: ευαισθησία στη χλόρωση (9βάθμια κλίμακα, στις 6/3/2003), ύψος των φυτών στο στάδιο διόγκωσης της ταξιανθίας (ύψος Μαρτίου στις 27/3/2003 σε cm), βλαστική περίοδος (ημέρες φυτρώμα-ξεστάχυσμα), ποσοστό χλωροφύλλης (μονάδες SPAD στις 21/4/2003 και 20/5/2003), ευαισθησία των φυτών στο πλάγιασμα (9βάθμια κλίμακα, στις 10/5/2003), ύψος των φυτών στο στάδιο ωρίμανσης (cm), απόδοση σε καρπό (kg/στρ), βάρος 1000 κόκκων (g), ποσοστό % κόκκων με διάμετρο  $\geq 2,5$  mm, εκατολιτρικό βάρος καρπού (kg), και περιεκτικότητα πρωτεΐνης του καρπού (%).

Για την στατιστική επεξεργασία των δεδομένων του πειράματος σύγκρισης βιολογικού και συμβατικού τρόπου καλλιέργειας, χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο για P.C. MSTATC. Έγινε ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) και για την σύγκριση των μέσων όρων εφαρμόστηκε το κριτήριο L.S.D (Steel and Torrie, 1980).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σε αξιόπιστα για το πείραμα επίπεδα κυμαίνεται ο δείκτης CV% που εμφανίζεται στην ανάλυση παραλλακτικότητας των χαρακτηριστικών στους Πίνακες 2 και 3.

**Πίνακας 2.** Ανάλυση παραλλακτικότητας της χλώρωσης των φυτών, του ύψους Μαρτίου, του ύψους ωρίμανσης, του πλάγιασματος, της πρώτης και δεύτερης μέτρησης της χλωροφύλλης

Πηγή	Μέσα τετράγωνα						
	B.	Χλώρωσ	Ύψος	Ύψος	Πλάγιασμα	Χλωροφ/	Χλωροφ/
	E	η φυτών	Μαρτίου	ωρίμανσ ης		λη 1	λη 2
Παρ. Α	1	10,08 *	1875,00 **	0,521	35,021 **	1,541	0,035
Παρ. Β	1	4,083 *	408,333 **	42,188	15,188 **	0,907	6,527
ΑχΒ	1	0,083	168,750 **	4,688	11,021 *	45,241	4,142
Παρ. Γ	2	7,646 **	366,146 **	84,89 **	9,646 *	108,0 **	68,187 *
ΑχΓ	2	0,146	48,438 *	0,521	1,271	3,151	3,670
ΒχΓ	2	0,021	384,896 **	995,31 **	62,437 **	9,394	6,867
ΑχΒχΓ	2	0,271	10,938	4,688	1,646	4,978	31,727
CV%		12,51	8,45	2,34	52,63	6,03	10,80

\* σημαντικές διαφορές για επίπεδο 0.05

\*\* σημαντικές διαφορές για επίπεδο 0.01

**Πίνακας 3.** Ανάλυση παραλλακτικότητας της βλαστικής περιόδου, της απόδοσης σε καρπό, του βάρους 1000 κόκκων, του εκατολιτρικού βάρους, του πάχους κόκκου  $\geq 2,5$ mm, και της πρωτεΐνης % κόκκου.

Πηγή	Μέσα τετράγωνα						
	B.E	Βλαστική	Απόδοση	Βάρος	Εκατ/κό	Μέγεθος	Πρωτεΐν
		περίοδος	σε καρπό	1000 κόκκων	βάρος	κόκκου $\geq 2,5$ mm	η κόκκου %
Παρ. Α	1	11,02 **	4181,33	36,75	10,78	3633,12 **	0,55
Παρ. Β	1	99,18 **	432,00	48,00 **	54,72 **	1554,96 **	0,48
ΑχΒ	1	1,68 *	85,33	4,08	2,23	32,34	0,78
Παρ. Γ	2	6,25 **	31334,3 **	16,146 **	4,59	723,66 **	3,22 **
ΑχΓ	2	2,33 **	6844,33 *	2,438	4,95	28,64	0,02
ΒχΓ	2	110,25 **	10612,0 **	150,81 **	34,41 **	2111,29 **	0,13
ΑχΒχΓ	2	0,25	217,33	11,52 *	1,31	0,98	0,19
CV%		0,38	7,26	4,46	2,26	8,38	2,46

\* σημαντικές διαφορές για επίπεδο 0.05

\*\* σημαντικές διαφορές για επίπεδο 0.01

Συνοψίζοντας τα σημαντικότερα σημεία της ανάλυσης της παραλλακτικότητας που προηγήθηκε παρατηρούμε ότι: (α) Οι δύο τρόποι καλλιέργειας συμβατικός-βιολογικός διαφοροποιήθηκαν σημαντικά για τα χαρακτηριστικά: χλώρωση, ύψος Μαρτίου, πλάγιασμα, βλαστική περίοδος, πάχος κόκκου (Πίν. 4).

Πρακτικά 10<sup>οο</sup> Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ.

Πίνακας 4. Τα χαρακτηριστικά όπου σημειώθηκε σημαντική διαφορά στη βιολογική καλλιέργεια έναντι της συμβατικής

Χαρακτηριστικά	Μέση τιμή		Επίπεδο Σημαντικότητας
	Βιολογική	Συμβατική	
Χλώρωση	4,16	vs 3,25	P ≤ 0.05 (*)
Ύψος Μαρτίου	28,95	vs 41,45	P ≤ 0.01 (**)
Βλαστική περίοδος	157,4	vs 156,4	P ≤ 0.01 (**)
Ευαισθησία στο πλάγιασμα	2,17	vs 3,87	P ≤ 0.01 (**)
Μέγεθος κόκκου ≥ 2,5mm	75,9	vs 58,5	P ≤ 0.01 (**)

Η σύγκριση παλαιών-νέων ποικιλιών έδειξε σημαντικές διαφορές για τα χαρακτηριστικά: χλώρωση, ύψος Μαρτίου, πλάγιασμα, βλαστική περίοδος, βάρος 1000 κόκκων, εκατολιτρικό βάρος, πάχος κόκκου (Πίν. 5).

Πίνακας 5. Τα χαρακτηριστικά όπου σημειώθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ παλαιών και νέων ποικιλιών

Χαρακτηριστικά	Μέση τιμή		Επίπεδο Σημαντικότητας
	Παλαιών	Νέων	
Χλώρωση	4,0	vs 3,41	P ≤ 0.01 (*)
Ύψος Μαρτίου	38,1	vs 32,3	P ≤ 0.01 (**)
Ευαισθησία στο πλάγιασμα	3,6	vs 2,45	P ≤ 0.01 (**)
Βλαστική περίοδος	155,5	vs 158,4	P ≤ 0.01 (**)
Βάρος 1000 κόκκων	36,9	vs 34,9	P ≤ 0.01 (**)
Εκατολιτρικό βάρος	66,6	vs 64,5	P ≤ 0.01 (**)
Πάχος κόκκου ≥ 2,5 mm.	72,9	vs 61,5	P ≤ 0.01 (**)

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η σύγκριση αυτή έδειξε ότι ο βιολογικός τρόπος καλλιέργειας καθυστερεί την ανάπτυξη των φυτών στα πρώτα στάδια, επιμηκύνει τη βλαστική περίοδο δηλαδή οψιμίζει το ξεστάχνασμα, αυξάνει την αντοχή στο πλάγιασμα και αυξάνει το πάχος του κόκκου. Επίσης, βρέθηκε ότι υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ τρόπου καλλιέργειας και ποικιλιών όσον αφορά την απόδοση σε καρπό, γεγονός που δείχνει ότι άλλες ποικιλίες συμπεριφέρονται καλύτερα στο βιολογικό τρόπο καλλιέργειας και άλλες στο συμβατικό χωρίς σημαντικές διαφορές. Σύγκριση των δύο τρόπων καλλιέργειας στο παρόν πείραμα έδωσε μια μη σημαντική υστέρηση 3,6% στην απόδοση σε καρπό στον βιολογικό τρόπο έναντι του συμβατικού. Η σύγκριση μεταξύ παλαιών και νέων ποικιλιών έδειξε υπεροχή των παλαιών ποικιλιών ως προς το ύψος Μαρτίου και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά: βάρος 1000 κόκκων, εκατολιτρικό βάρος και πάχος κόκκου. Επίσης, οι παλαιές ποικιλίες έδειξαν μεγαλύτερη πρωιμότητα ξεσταχύσματος. Οι νέες ποικιλίες υπερέχουν ως προς την ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα και ως προς την χλώρωση. Στην απόδοση σε καρπό παλαιές και νέες ποικιλίες δεν έδωσαν σημαντική διαφορά, αφού οι παλαιές υπολείπονταν 1,2% των νέων ποικιλιών.

Οι ποικιλίες που καλλιεργήθηκαν κάτω από βιολογικές συνθήκες έδειξαν να υστερούν στο ύψος Μαρτίου έναντι αυτών που καλλιεργήθηκαν με συμβατικές συνθήκες, γεγονός που δείχνει ότι ο συμβατικός τρόπος καλλιέργειας δίνει μια πρόωμη ευρωστία στις ποικιλίες. Στο ύψος ωρίμανσης των φυτών παύει να υφίσταται αυτή η διαφορά γεγονός που δείχνει ότι στο κριθάρι οι ποικιλίες κάτω από βιολογικές συνθήκες αναπτύσσονται πιο ήπια αλλά χωρίς να υστερούν στο τελικό ύψος τους.

Ο βιολογικός τρόπος καλλιέργειας έδειξε να παρατείνει σημαντικά την βλαστική περίοδο, χωρίς όμως να μειώνεται σημαντικά η απόδοση σε καρπό. Συμπερασματικά η καλλιέργεια του κριθαριού κάτω από βιολογικές συνθήκες έδειξε ότι δεν υστερεί σε αποδόσεις.

Η βιολογική καλλιέργεια στο κριθάρι φαίνεται να δίνει μια σημαντική υπεροχή στο πάχος του κόκκου, κριτήριο σημαντικό για την βυνοποιητική αξία των σπόρων.

Το βάρος 1000 κόκκων και το εκατολιτρικό βάρος παρουσίασαν επίσης μια βελτίωση με τον βιολογικό τρόπο καλλιέργειας.

Σε σύγκριση παλαιών και νέων ποικιλιών οι νέες ποικιλίες έδειξαν πιο καλά προσαρμοσμένες στον βιολογικό τρόπο καλλιέργειας γιατί έδωσαν μεγαλύτερο βάρος 1000 κόκκων, μεγαλύτερη αύξηση του πάχους του κόκκου και μεγαλύτερη αύξηση του εκατολιτρικού βάρους κάτω από ανταποκρίνονται καλύτερα στις βιολογικές συνθήκες. Τέλος ο βιολογικός τρόπος καλλιέργειας στο κριθάρι, χωρίς να υστερεί σημαντικά σε αποδόσεις έναντι του συμβατικού, έδειξε να δίνει καλύτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αναλογίδης, Δ. 2004. Πως ανταποκρίνεται η ολοκληρωμένη διαχείριση των λιπάνσεων στη πρόκληση της βιώσιμης ανάπτυξης. Γεωργία - Κτηνοτροφία, 1: 16-25.
- Anderson, M.K. and Reinbergs. 1985. Barley breeding. (Ed. D.C. Rasmusson) pp. 231-268 Agron. Monograph 26. ASA-CSSA-SSSA Madison, WI 53711- USA.
- Delate, K.M. and Cambardella. 2000. Comparison of organic and conventional crops at the Neely - Kinyon Long -Term Agroecological Research (LTAR) Site. Iowa state.
- Ekman, R. 1981. Biomass component studies in barley, their correlation to some yield characters and estimation of durable effect from 50 years of barley breeding. pp. 104-111. In M.J.C. Asher (ed). Proc. 4<sup>th</sup> Int. Barley Genetics Symp., Edinburgh. Scotland. 22-29 July. Edinburgh Press. Edinburgh.
- Gymer, P.T. 1981. The achievements of 100 years and barley breeding pp. 112-117. In M.J.S. Asher (ed) Proc. 4<sup>th</sup> Int. Barley Genetics Symp., Edinburgh. Scotland. 22-29 July. Edinburgh Press. Edinburgh.
- Harlan, H.V., M.L. Martini, and H. Stevens, 1940. A study of methods in Barley Breeding, U.S. Dept. Agric. Tech. Bul. 720: 1-26.
- Lockeretz, W. 1978. Economic and resource comparison of field production on organic farms and farms using conventional fertilization and pest control methods in the Midwestern United States. p. 157-168. In Proc. 1st Int. Res. Conf., IFOAM, Wirz Verlag, Aarau.
- Lockeretz, W., Shearer G., Kohl H.D. and Clepper W.R. 1984. Comparison of organic and conventional Farming in the corn belt. Pp. 37-48. in: Organic farming: Current Technology and its Role in a Sustainable Agriculture. ASA Special pub. No 46, Madison, U.S.A.
- Parsons, W. 2002. Organic fruit and vegetable production: is it for you? Vista on the Agri - Food industry and the farm community. Agriculture division of statistics Canada.
- Pimentel, D., Berardi G. and Fast S. 1984. Energy efficiencies of farming wheat, corn, and potatoes organically. Pp. 151-161. in: Organic farming: Current Technology and its Role in a sustainable Agriculture. ASA special publication No 46, Madison, U.S.A.
- Qualset, C.O., C.W. Schaller, and J.C. Williams. 1965. Performance of isogenic lines of barley as influenced by awn length, linkage blocks, and environment. Crop Sci. 5: 489- 494.
- Riggs, T.J., P.R. Hanson, N.D. Start, D.M. Miles, C.L. Morgan, and M.A. Ford. 1981 Comparison of spring barley varieties grown in England and Wales between 1880 and 1980. J. Agric Sci. 97: 599-610.
- Sowinski, J., Sillebak K., Hermansen J.E. 2001. A field study of maize yield on mixed organic and conventional dairy farms in Denmark in 2001. Department of crop production, Agricultural university of Wroclaw, Wroclaw.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and procedures of Statistics. A Biometrical approach. 2<sup>nd</sup> Edition. McGraw-Hill, 663p.
- Φασούλας, Α.Κ., 1992. Στοιχεία πειραματικής στατιστικής. Θεσσαλονίκη
- Wych, R.D. and D.C. Rasmusson. 1983. Genetic improvement in malting barley cultivars since 1920. Crop Sci. 23: 1037-1040.

**COMPARISON OF AGRONOMIC BEHAVIOR BETWEEN OLD AND NEW BARLEY (*Hordeum Vulgare* L.) VARIETIES UNDER BIOLOGICAL AND STANDARD CULTIVATION****T. Koparanis<sup>1</sup>, K. Bladenopoulos<sup>2</sup> and M. Koutsika-Sotiriou<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Laboratory of Genetics and Plant Breeding, AUTH 541 24 Thessaloniki<sup>2</sup>Institute of Cereal Crops of Thessaloniki, 570 01 Thermi-Thessaloniki

In an experiment carried out in the Agricultural Research Station Farm of Ag. Mamas, Greece, the performance of 6 barley varieties was studied under biological and conventional way of cultivation. Three old and three new varieties, creations of the Cereal Institute of National Agricultural Research Foundation, Greece, were used. The experiment was established using a randomized complete block (split-split plot) design, with the way of cultivation constituting the main plots, groups of old and new varieties the sub plots, and varieties the sub-sub plots. The following traits were measured: chlorophyll rate, plant height, plant lodging, heading, grain yield, kernel weight, kernel plumpness, 1000 kernel weight, hectolitre weight, and grain protein. The varieties seemed to develop in a milder way under the biological conditions, since significant differences in plant height during the heading stage (*i.e.*, higher plants under conventional conditions) were minimized at the final plant height. Barley grain yield at biological way of cultivation did not seem to be significantly inferior, compared to conventional way of cultivation. On the contrary, under biological way of cultivation lower percentage of lodged plants, and greater kernel plumpness were observed. In conclusion the data obtained provide indications render an alternative crop solution in system of cultivation in Greece.

**Key words:** Barley, biological and standard cultivation, agronomic and quality characteristics, old and new varieties.

**ΕΝΟΤΗΤΑ Β:**  
**ΟΙΚΟΒΕΛΤΙΩΣΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΒΕΛΤΙΩΣΗ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΔΟΣΗ  
ΧΕΙΜΕΡΙΝΩΝ ΣΙΤΗΡΩΝ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΑΓΡΙΟΒΡΩΜΗΣ  
ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ**

**Κ. Δήμας<sup>1</sup>, Α. Λιθουργίδης<sup>2</sup>, Ι. Βασιλάκογλου<sup>3</sup> και Σ. Παπαδοπούλου<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, 541 01 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Αγρόκτημα Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, 570 01 Θέρμη

<sup>3</sup>Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Λάρισας, 411 10 Λάρισα

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Αγρόκτημα του Παν/μίου Θεσ/νίκης, κατά την καλλιεργητική περίοδο 2003-2004, διερευνήθηκε η επίδραση τριών συστημάτων κατεργασίας του εδάφους στην απόδοση δύο ποικιλιών σιταρόβριζας (Βροντή και Θίσβη) και δύο κριθαριού (Plaisant και Αθηναΐδα), καθώς και στον πληθυσμό της αγριοβρώμης (*Avena sterilis* L.) και των εντόμων. Τα συστήματα κατεργασίας που εφαρμόστηκαν ήταν η συμβατική κατεργασία (όργωμα-σβάρνισμα-καλλιεργητή), η μειωμένη κατεργασία (σβάρνισμα-καλλιεργητή) και η ελαφρά κατεργασία (καλλιεργητή) του εδάφους πριν την σπορά. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο αριθμός φυτών της σιταρόβριζας Θίσβη και του κριθαριού Plaisant ήταν μικρότερος εκεί όπου έγινε ελαφρά κατεργασία του εδάφους. Επιπλέον, ο αριθμός στάχων του κριθαριού Plaisant ήταν μικρότερος στη μειωμένη και ελαφρά κατεργασία του εδάφους από ότι στη συμβατική. Ο πληθυσμός της αγριοβρώμης ήταν μεγαλύτερος στα πειραματικά τεμάχια όπου εφαρμόστηκε η ελαφρά κατεργασία. Επιπλέον, στα πειραματικά τεμάχια που δεν έγινε εφαρμογή ζιζανιοκτόνου, ο αριθμός βλαστών και η συνολική βιομάζα της αγριοβρώμης ήταν μικρότερα στις ποικιλίες κριθαριού απ' ότι στις ποικιλίες της σιταρόβριζας. Η απόδοση των ποικιλιών σιταρόβριζας ήταν μεγαλύτερη στα πειραματικά τεμάχια όπου η αγριοβρώμη καταπολεμήθηκε μεταφυτρωτικά με το ζιζανιοκτόνο ipazamethabenz, συγκριτικά με τα απέκαστα πειραματικά τεμάχια και δεν επηρεάστηκε από το σύστημα κατεργασίας του εδάφους. Αντίθετα, η απόδοση των ποικιλιών κριθαριού δεν μειώθηκε σημαντικά από την παρουσία της αγριοβρώμης, με εξαίρεση την ποικιλία Plaisant στα υποτεμάχια της ελαφράς και της μειωμένης κατεργασίας εδάφους όπου η απόδοση των απέκαστων υποτεμαχίων ήταν μικρότερη από εκείνη των ψεκασμένων. Ο πληθυσμός των ανευρεθέντων εντόμων στο υπέργειο και υπόγειο τμήμα των φυτών ήταν μικρός σε όλα τα συστήματα κατεργασίας του εδάφους.

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Συστήματα περιορισμένης κατεργασίας του εδάφους εφαρμόζονται κυρίως σε καλλιέργειες χειμερινών σιτηρών, αραβοσίτου για καρπό και ενσίρωση και λιγότερο σε ζαχαρότευτλα, βαμβάκι και άλλες καλλιέργειες (Vetsch και Randall 2002, Karamanos κ.ά. 2004). Οι παραπάνω καλλιεργητικές τεχνικές εφαρμόζονται με σκοπό τη μείωση του κόστους παραγωγής, που οφείλεται στη μείωση του χρόνου που απαιτείται για την εγκατάσταση των καλλιεργειών και του καυσίμου που καταναλώνεται (Λιθουργίδης και Τσατσαρέλης 2002, Janosky κ.ά. 2002). Επιπλέον, οι τεχνικές περιορισμένης κατεργασίας του εδάφους συμβάλλουν σημαντικά στην προστασία του εδάφους από διάβρωση, στην βελτίωση των ιδιοτήτων του εδάφους, καθώς και στη διατήρηση της δομής και της παραγωγικότητάς του (Pierce κ.ά. 1992, Lopez και Ardue, 2000). Εξάλλου, η Κοινοτική Αγροτική Πολιτική συνιστά την εφαρμογή συστημάτων περιορισμένης ή και μηδενικής κατεργασίας του εδάφους για την προστασία και διατήρηση της γονιμότητάς του (European Union, 2000). Οι αποδόσεις διαφόρων καλλιεργούμενων φυτών, που καλλιεργούνται με τεχνικές μειωμένης κατεργασίας καθώς και με την τεχνική της κατευθείαν σποράς, ποικίλουν. Σε ορισμένες περιπτώσεις οι αποδόσεις είναι μειωμένες (Pierce κ.ά. 1992, Oroku κ.ά. 1997), ενώ σε άλλες αντίστοιχες ή και υψηλότερες (Beyaeit κ.ά. 2002, Karamanos κ.ά. 2004) σε σύγκριση με εκείνες των παραδοσιακών συστημάτων κατεργασίας.

Ο αριθμός των σπόρων, το φυτόμα και η ανάπτυξη των ζιζανίων επηρεάζεται σημαντικά από τον τρόπο κατεργασίας του εδάφους (Mas και Verdu 2003). Οι Stevenson κ.ά. (1998) βρήκαν ότι η μειωμένη κατεργασία σε σύγκριση με την συμβατική αύξησε τον αριθμό των πολυετών ζιζανίων. Παρόμοια αποτελέσματα βρήκαν

οι McCloskey κ.ά. (1996) και Tuesca κ.ά. (2001) που μελέτησαν την επίδραση των συστημάτων κατεργασίας στον αριθμό των ετήσιων ζιζανίων. Αντίθετα, οι Mas και Verdu (2003) βρήκαν ότι ο αριθμός των ετήσιων ζιζανίων ήταν μικρότερος στα συστήματα περιορισμένης κατεργασίας του εδάφους. Σε ότι αφορά την επίδραση των συστημάτων κατεργασίας στα είδη και τον πληθυσμό των εντόμων, πολυετείς έρευνες αναφέρουν σημαντικές διαφορές μεταξύ συστημάτων περιορισμένης και συμβατικής κατεργασίας του εδάφους (Adersen 1999).

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν να διερευνηθεί η επίδραση τριών συστημάτων κατεργασίας του εδάφους στη συνολική βιομάζα και στην απόδοση δύο ποικιλιών σιταρόβριζας (*Triticale*) και δύο κριθαριού, καθώς και στον πληθυσμό της αγριοβρώμης (*Avena sterilis* L.) και των εντόμων.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το πείραμα εγκαταστάθηκε σε αγροτεμάχιο του Αγροκτήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης κατά την καλλιεργητική περίοδο 2003-2004, σε ιλυοαργιλώδες έδαφος SiC με pH 8.1 και οργανική ουσία 1,35%. Η προηγούμενη καλλιέργεια ήταν μαλακό σιτάρι που συγκομίσθηκε στις 18 Ιουνίου του 2003. Αμέσως μετά τη συγκομιδή έγινε συλλογή και δεματοποίηση του αχούρου. Το ύψος θερισμού του σίτου ήταν 20-25 cm από το έδαφος.

Καλλιεργήθηκαν δύο ποικιλίες σιταρόβριζας (Βροντή και Θίσβη) και δύο κριθαριού (Plaisant και Αθηναΐδα) σε τρία συστήματα κατεργασίας του εδάφους. Στην πρώτη επέμβαση κατεργασίας εφαρμόσθηκε το συνήθως εφαρμοζόμενο (συμβατικό) σύστημα καλλιέργειας (μάρτυρας), στη δεύτερη σύστημα μειωμένης κατεργασίας και στην τρίτη σύστημα ελαφράς κατεργασίας του εδάφους πριν την σπορά. Ειδικότερα, στα τεμάχια όπου εφαρμόσθηκε η συμβατική κατεργασία του εδάφους έγινε άροση σε βάθος 25 cm, λίπανση (10 kg N/στρ και 5 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/στρ), κατεργασία με σβάρνα και στη συνέχεια με καλλιεργητή. Στα τεμάχια της μειωμένης κατεργασίας έγινε κατεργασία του εδάφους με δισκοσβάρνα βαρέως τύπου (πολύδισκο) σε βάθος 15 cm, ακολούθησε λίπανση και στη συνέχεια καλλιεργητής. Στα τεμάχια της ελαφράς κατεργασίας εφαρμόσθηκε λίπανση και στην συνέχεια καλλιεργητής. Η σπορά έγινε στις 17 Νοεμβρίου του 2003 με σπαρτική μηχανή κλασικού τύπου γραμμικής σποράς και ποσότητα σπόρου 17 kg/στρ για όλες τις ποικιλίες. Στα μισά πειραματικά τεμάχια της κάθε ποικιλίας πραγματοποιήθηκε μεταφυτρωτική εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου imazamethabenz (Assert) σε δόση 200 ml σκευάσματος/στρ, για την αντιμετώπιση της αγριοβρώμης.

Το πειραματικό σχέδιο που χρησιμοποιήθηκε ήταν αυτό των υπο-υποδιαιρεμένων τεμαχίων, όπου τα συστήματα κατεργασίας του εδάφους αποτελούσαν τα κύρια τεμάχια, οι ποικιλίες κριθαριού και σιταρόβριζας τα υποτεμάχια και η εφαρμογή ή μη ζιζανιοκτόνου τα υπο-υποτεμάχια. Κάθε συνδυασμένος παράγοντας είχε τέσσερις επαναλήψεις. Το μέγεθος του κάθε κύριου πειραματικού τεμαχίου, υποτεμαχίου και υπο-υποτεμαχίου ήταν 5 x 40 m, 2.5 x 20 m και 2.5 x 10 m αντίστοιχα.

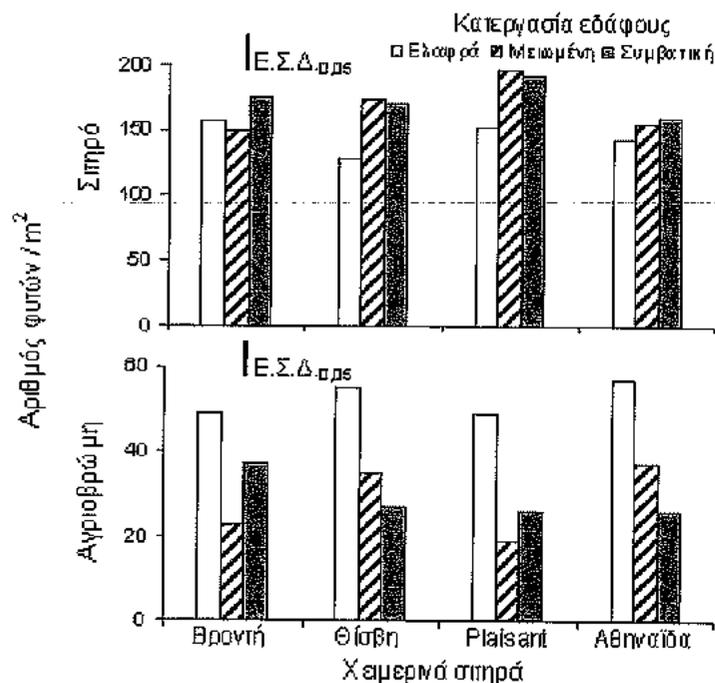
Κατά τη διάρκεια του πειράματος αξιολογήθηκε ο αριθμός φυτών των καλλιεργούμενων σιτηρών και της αγριοβρώμης μετά την ολοκλήρωση του φυτρώματός τους, καθώς και ο αριθμός γονίμων στάχων των σιτηρών μετά την ολοκλήρωση του ξεσταχυάσματος. Επιπλέον, μετρήθηκε ο αριθμός βλαστών και το νοπό βάρος της αγριοβρώμης στις 0, 4, 8 και 12 εβδομάδες μετά την ολοκλήρωση του αδελφώματος, καθώς και η απόδοση σε καρπό των σιτηρών. Όλες οι μετρήσεις έγιναν σε επιφάνεια εμβαδού 1 m<sup>2</sup> στο μέσο κάθε πειραματικού τεμαχίου.

Για τον προσδιορισμό του είδους των εντόμων, σε κάθε πειραματικό τεμάχιο, έγιναν τρεις δειγματοληψίες εδάφους σε τρία στάδια της καλλιέργειας (πριν την σπορά, μετά το φύτεμα και κατά τη συγκομιδή). Σε κάθε δειγματοληψία λαμβάνονταν δείγματα εδάφους, από τρεις τυχαίες θέσεις του κάθε πειραματικού τεμαχίου από βάθος 0-30 cm, συνολικού βάρους 2 kg ανά πειραματικό τεμάχιο. Επιπλέον, έγιναν τρεις δειγματοληψίες (από επιφάνεια 1 m<sup>2</sup>) από το υπέργειο τμήμα των καλλιεργούμενων φυτών (στο αδελφωμα, το καλάμωμα και κατά την συγκομιδή). Ο προσδιορισμός του είδους των εντόμων επιδιωκόταν με βάση τα χαρακτηριστικά της εξωτερικής μορφολογία τους (Hoffman 1958) και την εξέταση των genitalia (Snodgrass 1993).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

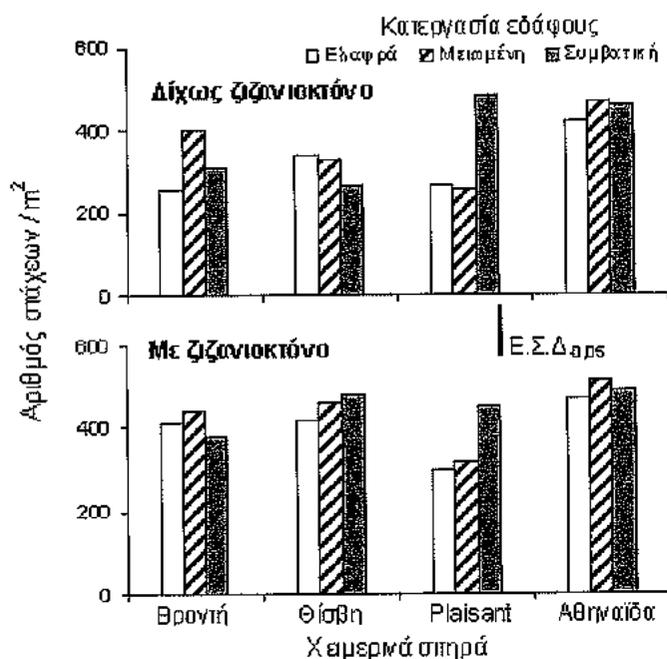
**Αριθμός φυτών και στάχων.** Ο αριθμός φυτών των χειμερινών σιτηρών μετά την ολοκλήρωση του φυτρώματος επηρεάσθηκε σημαντικά από το σύστημα κατεργασίας του εδάφους (Σχήμα 1). Συγκεκριμένα, ο

αριθμός φυτών της ποικιλίας σιταρόβριζας Θίσβη και του κριθαριού Plaisant ήταν σημαντικά μικρότερος εκεί όπου εφαρμόστηκε ελαφρά κατεργασία σε σύγκριση με τα άλλα δύο συστήματα. Αντίθετα, ο αριθμός φυτών των ποικιλιών Βροντή και Αθηναΐδα δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τα συστήματα κατεργασίας. Σε παρόμοιο πείραμα με μαλακό σιτάρι βρέθηκε ότι ο αριθμός των φυτών ήταν μικρότερος στο σύστημα της ελαφράς κατεργασίας του εδάφους (Λιθουργίδης κ.ά. 2004). Ο αριθμός στάχων της ποικιλίας Βροντής στην ελαφρά κατεργασία και της ποικιλίας Θίσβης στην μειωμένη και συμβατική κατεργασία του εδάφους ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στα ψεκασμένα υποτεμάχια σε σύγκριση με εκείνο των ανέκαστων υποτεμαχίων (Σχήμα 2). Ο αριθμός στάχων της ποικιλίας Plaisant ήταν μικρότερος στα δύο συστήματα περιορισμένης κατεργασίας του εδάφους σε σύγκριση με το συμβατικό, ανεξάρτητα από την εφαρμογή ή όχι του ζιζανιοκτόνου. Αντίθετα, ο αριθμός των στάχων της ποικιλίας κριθαριού Αθηναΐδα δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την παρουσία ή μη της αγριοβρώμης (ανέκαστα ή ψεκασμένα υποτεμάχια) ανεξάρτητα από τα συστήματα κατεργασίας του εδάφους.



Σχήμα 1. Επίδραση του συστήματος κατεργασίας του εδάφους στον αριθμό φυτών των τεσσάρων χειμερινών σιτηρών και της αγριοβρώμης στις 8 εβδομάδες μετά τη σορά.

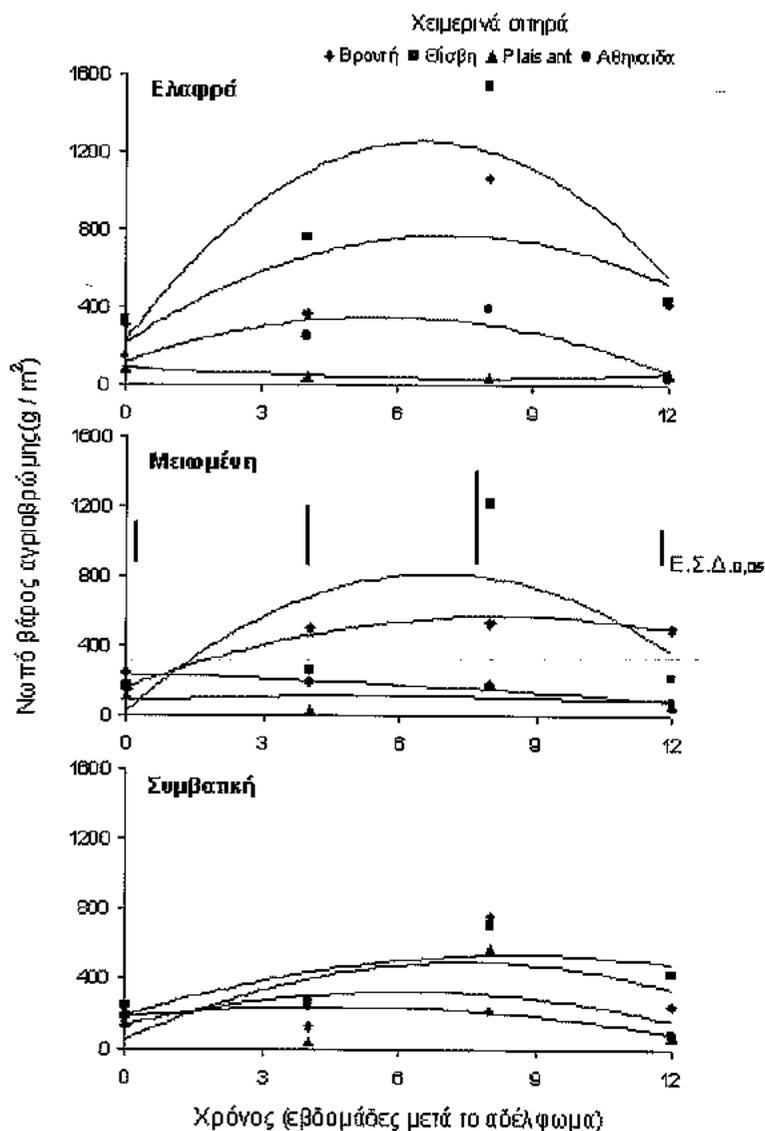
**Αριθμός φυτών και νωπό βάρος της αγριοβρώμης.** Ο αριθμός των φυτών της αγριοβρώμης, 8 εβδομάδες μετά τη σορά, σε όλες τις ποικιλίες των χειμερινών σιτηρών ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στα τεμάχια όπου εφαρμόστηκε η ελαφρά κατεργασία του εδάφους, ενώ δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των άλλων δύο συστημάτων κατεργασίας, καθώς και μεταξύ των τεσσάρων ποικιλιών (Σχήμα 1). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην παραμονή περισσότερων σπόρων αγριοβρώμης στο επιφανειακό στρώμα του εδάφους εκεί όπου εφαρμόστηκε ελαφρά κατεργασία. Αντίθετα, στα άλλα δύο συστήματα κατεργασίας, φύτρωσαν λιγότερα φυτά του ζιζανίου επειδή πιθανόν μεγαλύτερο ποσοστό των σπόρων της αγριοβρώμης μεταφέρθηκε σε βαθύτερα στρώματα του εδάφους.



Σχήμα 2. Επίδραση του συστήματος κατεργασίας του εδάφους και της εφαρμογής ζιζανιοκτόνου στον αριθμό στάχων των τεσσάρων χειμερινών σιτηρών.

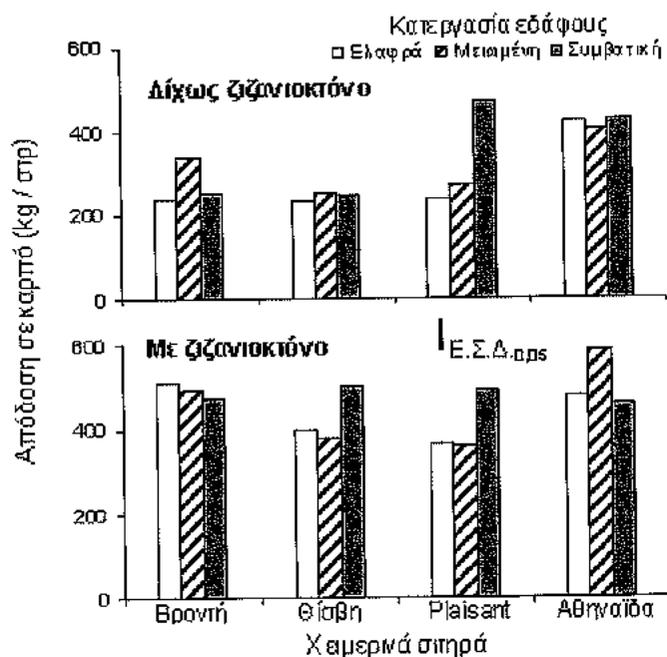
Τα αποτελέσματα του ναπού βάρους της αγριοβρώμης έδειξαν ότι δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών των χειμερινών σιτηρών, μετά την ολοκλήρωση του αδελφώματος και στα τρία συστήματα κατεργασίας του εδάφους (Σχήμα 3). Αντίθετα, στις επόμενες τρεις δειγματοληψίες (καλάμωμα, ξεστάχιασμα, συγκομιδή) η ανάπτυξη της αγριοβρώμης ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στις δύο ποικιλίες της σιταρόβριζας και μικρότερη στις δύο ποικιλίες κριθαριού. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με εκείνα των Dhima και Eleftherohorinos (2001) οι οποίοι βρήκαν μεγάλη ανταγωνιστική ικανότητα της αγριοβρώμης στα χειμερινά σιτηρά. Επιπλέον, η ανάπτυξη της αγριοβρώμης σε όλες τις ποικιλίες των χειμερινών σιτηρών ήταν σημαντικά μεγαλύτερη εκεί όπου εφαρμόστηκε ελαφρά κατεργασία του εδάφους. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν οι Mas και Verdu (2003) οι οποίοι σε πειράματα στο σιτάρι βρήκαν ότι η ανάπτυξη των χειμερινών ζιζανίων ήταν μεγαλύτερη στο σύστημα μειωμένης κατεργασίας σε σύγκριση με τη συμβατική κατεργασία. Αντίθετα, οι Stevenson κ.ά. (1998) δε βρήκαν σημαντικές διαφορές στην ανάπτυξη των ζιζανίων μεταξύ διαφορετικών συστημάτων κατεργασίας του εδάφους.

**Απόδοση σε καρπό.** Η απόδοση των δύο ποικιλιών σιταρόβριζας ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στα πειραματικά υποτεμάχια όπου έγινε ψεκασμός για την αντιμετώπιση της αγριοβρώμης. Επιπλέον, η απόδοση αυτών των ποικιλιών δεν επηρεάστηκε σημαντικά από το σύστημα κατεργασίας του εδάφους, με εξαίρεση την ποικιλία Θίσβη στα ψεκασμένα υποτεμάχια, η οποία ήταν μεγαλύτερη εκεί όπου έγινε η συμβατική κατεργασία (Σχήμα 4). Αντίθετα, η απόδοση του κριθαριού Αθηναΐδα δεν επηρεάστηκε από την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου και από το σύστημα κατεργασίας του εδάφους (Σχήμα 4). Η απόδοση του κριθαριού Plaisant ήταν μεγαλύτερη στα ψεκασμένα υποτεμάχια όπου εφαρμόστηκε η μειωμένη και η ελαφρά κατεργασία σε σύγκριση με τα αφέκαστα υποτεμάχια. Αντίθετα, η απόδοση αυτής της ποικιλίας, στα υποτεμάχια όπου εφαρμόστηκε η συμβατική κατεργασία, δεν επηρεάστηκε από την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου και ήταν μεγαλύτερη από εκείνη των άλλων δύο συστημάτων κατεργασίας. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Stevenson κ.ά. (1998), Janosky κ.ά. (2002) και Λιθουργίδης κ.ά. (2004) οι οποίοι βρήκαν ότι οι αποδόσεις των χειμερινών σιτηρών σε συστήματα περιορισμένης κατεργασίας άλλες φορές ήταν αντίστοιχες και άλλες μικρότερες ή μεγαλύτερες από εκείνες της συμβατικής κατεργασίας.



**Σχήμα 3.** Επίδραση του χρόνου, της κατεργασίας του εδάφους και του είδους του σιτηρού στο νωπό βάρος της αγριοβρώμης

**Προσδιορισμός εντόμων.** Από την εξέταση των δειγμάτων εδάφους βρέθηκαν είδη εντόμων τα οποία κυρίως ανήκουν στην τάξη *Coleoptera* και τις οικογένειες *Elateridae* (π.χ. *Agriotes spp.*), *Carabidae*, *Staphylinidae* και *Tenebrionidae* και σε μικρότερο αριθμό στις τάξεις *Orthoptera*, *Dermaptera* και *Hymenoptera*. Η εξέταση δειγμάτων του υπέργειου τμήματος έδωσε είδη εντόμων κυρίως των τάξεων *Diptera* (*Haplodiplosis marginata*), *Thysanoptera* (*Limothrips cerealiium*) και *Coleoptera* (*Lema melanopus*). Ο μικρός αριθμός εντόμων κατά μεταχείριση, που πιθανόν να οφείλεται στο ότι τα δεδομένα προέρχονται από μία μόνο καλλιεργητική περίοδο, δεν επιτρέπει τη σύγκριση μεταξύ τους. Ωστόσο, τα ευρήματά μας ως προς τις τάξεις και τις οικογένειες στις οποίες ανήκουν τα έντομα που αναβρέθηκαν, συμφωνούν με τον Andersen (1999), οποίος εφάρμοσε πολυετή πειράματα σε σιτηρά σε συστήματα μειωμένης κατεργασίας του εδάφους.



**Σχήμα 4.** Επίδραση του συστήματος κατεργασίας του εδάφους και της εφαρμογής ζιζανιοκτόνου στην απόδοση σε καρπό των τεσσάρων χειμερινών σιτηρών.

Από τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής συμπεραίνεται ότι οι μέθοδοι της μειωμένης και της ελαφράς κατεργασίας του εδάφους πιθανόν θα μπορούσαν να εφαρμοστούν αποτελεσματικά στην καλλιέργεια των χειμερινών σιτηρών, με επιλογή της κατάλληλης ποικιλίας. Ειδικότερα για τις ποικιλίες κριθαριού, η επιλογή της καταλληλότερης ποικιλίας μπορεί επιπλέον να περιορίσει την ανάπτυξη της αγριοβρώμης με αποτέλεσμα την πιθανή μείωση της χρήσης των ζιζανιοκτόνων.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Andersen A., 1999. Plant protection in spring cereal production with reduced tillage. Pests and beneficial insects. *Crop Prot.* 18: 651-657.
- Beyaert R. P., J. W. Schott and P. H. White, 2002. Tillage effects on corn production in a coarse-textured soil in Southern Ontario. *Agron. J.* 94: 767-774.
- Dhima K.V., I.G. Eleftherohorinos, 2001. Influence of nitrogen on competition between winter cereals and sterile oat. *Weed Sci.* 49: 77-82.
- European Union, 2000. Special Report No. 14/2000 on Greening the Community Agriculture Policy together with the Commission's replies. Official Journal C353/2000, 30-8-2001, pp. 0001-0056. [Http://europa.eu.int/eurlex/en/lif/dat/2000/en-300Y1208-01.html](http://europa.eu.int/eurlex/en/lif/dat/2000/en-300Y1208-01.html).
- Hoffman A., 1958. Faune de Franche Coléoptères Curculionides (Troisième partie). Editions Paul Lechevalier, Paris.
- Janosky J.S., D.L. Young, W.F. Schillinger, 2002. Economics of conservation tillage in wheat-fallow rotation. *Agron. J.* 94: 527-531.
- Karamanos, A.J., D. Bilalis, N. Sidiras, 2004. Effects of reduced tillage and fertilization practices on soil characteristics, plant water status, growth and yield of upland cotton. *J. Agron. Crop Sci.* 190: 262-276.
- Λιθουργίδης Α.Σ., Κ.Α. Τσατσαρέλης, 2002. Καλλιέργεια μαλακού σίτου (*Triticum aestivum* L.) με τεχνικές μειωμένης κατεργασίας του εδάφους. Πρακτικά 9<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Γενετικής Βελτίωσης των Φυτών, Θεσσαλονίκη, σελ. 131-136.
- Λιθουργίδης Α., Κ. Δήμας, Χ. Δαμαλάς, Ι. Βασιλάκογλου, 2004. Επίδραση πυκνότητας σποράς και τεχνικών μειωμένης κατεργασίας του εδάφους στην καλλιέργεια μαλακού σίτου (*Triticum aestivum* L.). Πρακτικά 10<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Γενετικής Βελτίωσης των Φυτών, Αθήνα, (υπό δημοσίευση).
- Lopez M.V., J.L. Arrue, 2000. Effects of reduced tillage on soil surface properties affecting wind erosion in semiarid fallow lands of Central Aragon. *Eur. J. Agron.* 12: 191-199.
- Mas M.T., A.M.C. Verdu, 2003. Tillage effects on weed communities in a 4-year crop rotation under Mediterranean dryland conditions. *Soil Till. Res.* 74: 15-24.
- McCloskey M., L.G. Firbank, A.R. Watkinson, D.J. Webb, 1996. The dynamics of experimental arable weed communities under different management practices. *J. Veg. Sci.* 7: 779-808.
- Opoku G., T.J. Vyn, C.J. Swanton, 1997. Modified no-tillage systems for corn following wheat on clay soils. *Agron. J.* 89: 549-556.

- Pierce F.J., M.C. Fortin, M.J. Staton, 1992. Immediate and residual effects of zone-tillage in rotation with no-tillage on soil physical properties and corn performance. *Soil Tillage Res.* 24: 149-165.
- Snodgrass, R.E., 1993. Principles of insect morphology. McGraw-Hill Book Company, Inc. Pp-667.
- Stevenson F.C., A. Legere, R.R. Simard, D.A. Pangeau, J. Lafond, 1998. Manure, tillage, and crop rotation: effects on residual weed interference in spring barley cropping systems. *Agron. J.* 90: 496-504.
- Tuesca D., E. Puricelli, J.C. Papa, 2001. A long-term study of weed flora shifts in different tillage systems. *Weed Res.* 41: 369-382.
- Vetsch J.A., G.W. Randall, 2002. Corn production as affected by tillage system and starter fertilizer. *Agron. J.* 94:532-540.

## TILLAGE EFFECTS ON YIELD OF WINTER CEREALS AND ON WILDOAT GROWTH AND INSECT POPULATION

K. Dhima<sup>1</sup>, A. Lithourgidis<sup>2</sup>, I. Vasilakoglou<sup>3</sup>, and S. Papadopoulou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Technological Education Institute of Thessaloniki, <sup>2</sup>University Farm, Aristotle University of Thessaloniki, <sup>3</sup>Technological Education Institute of Larissa

One field experiment was conducted during 2003-2004 at the University Farm of Thessaloniki, northern Greece, to investigate the effect of three tillage systems on grain yield of two Triticale (Vronti and Thisvi) and two barley (Plaisant and Athenaida) cultivars. The effect of tillage system on emergence and growth of wildoat (*Avena sterilis* L.) and on population of insects in soil was also studied. Tillage systems which were applied before crop planting included the conventional (plough-chisel-cultivator), the reduced (chisel-cultivator) and the shallow (cultivator) tillage. The results showed that plant number of Triticale Thisvi and barley Plaisant was smaller where the shallow tillage was applied, compared with the other two tillage systems. Moreover, the spike number of Plaisant was smaller in the reduced and shallow tillage than that in the conventional. The population of wildoat was greater in the subplots where shallow tillage was applied. Moreover, in herbicide untreated subplots shoot number and total biomass of wildoat was significant smaller in barley cultivars compared with those of Triticale. Also, grain yield of Triticale was greater in subplots where wildoat was controlled by imazamethabenz applied postemergence, compared with the untreated subplots, and it was not influenced by tillage system. On the contrary, grain yield of barley cultivars was not reduced by the presence of wildoat, with the exception of Plaisant cultivar in subplots of shallow and reduced tillage where yield of untreated subplots was smaller than that of herbicide treated subplots.

## ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΓΕΝΟΤΥΠΟΥ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΤΟΥ ΡΥΖΙΟΥ ΑΠΟ ΤΟ ΜΥΚΗΤΑ *PYRICULARIA ORYZAE*

Σπυρίδων Δ. Κουτρούμπας<sup>1</sup>, Δημήτριος Ν. Κατσαντώνης<sup>2</sup> και Δημήτριος Α. Ντάνος<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Τμήμα Αγροτικής Ανάπτυξης, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

<sup>2</sup> Ινστιτούτο Σιτηρών, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πυρικουλάρια (*Pyricularia oryzae*) αποτελεί μια από τις σοβαρότερες ασθένειες του ρυζιού σε ολόκληρο τον κόσμο και προκαλεί τόσο μείωση της απόδοσης όσο και υποβάθμιση της ποιότητας του καρπού. Η επίδραση του γενότυπου και του περιβάλλοντος στην προσβολή των φυτών από την ασθένεια μελετήθηκε σε τέσσερα πειράματα αγρού το έτος 2001. Χρησιμοποιήθηκαν επτά ποικιλίες ρυζιού (Selenio, San Andrea, Maratelli, Ariete, Senia, L-202 και Ρωξάνη) προερχόμενες και τις σπουδαιότερες ορυζοπαραγωγικές χώρες της Ευρώπης και τις ΗΠΑ. Η σπορά έγινε σε γλάστρες και τα σπορόφυτα μεταφύτεύθηκαν στον αγρό στο στάδιο των 5-6 φύλλων. Η πειραματική διάταξη έγινε σύμφωνα με το R-7 κυψελωτό σχέδιο. Χρησιμοποιήθηκαν 30 φυτά από κάθε ποικιλία με απόσταση μεταξύ τους 25 cm (1<sup>ο</sup>, 3<sup>ο</sup> πείραμα) και 50 cm (2<sup>ο</sup>, 4<sup>ο</sup> πείραμα). Σε δύο πειράματα (1<sup>ο</sup> και 2<sup>ο</sup>) έγινε τεχνητή μόλυνση των φυτών με ψεκάσμο τους με σπόρια του μύκητα, στο στάδιο των 6-7 φύλλων. Έγιναν τρεις αξιολογήσεις της προσβολής των φύλλων 20, 40 και 60 ημέρες μετά τη μόλυνση των φυτών και μια αξιολόγηση της προσβολής του λαιμού στο στάδιο της ωρίμανσης. Επίσης μελετήθηκαν οι επιπτώσεις της ασθένειας στα ποιοτικά γνωρίσματα των κόκκων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η τεχνητή μόλυνση των φυτών είναι απαραίτητη για την αξιόπιστη αξιολόγηση των γενότυπων σε συνθήκες αγρού. Οι ποικιλίες διέφεραν ως προς την αντοχή τους στην ασθένεια, οι δε διαφορές ήταν μεγαλύτερες στη δεύτερη και τρίτη αξιολόγηση. Πιο ανθεκτικές ήταν οι ποικιλίες Selenio και L-202. Η προσβολή των φύλλων ήταν μεγαλύτερη στην πυκνή σπορά σε σχέση με την αραιή σπορά. Το ποσοστό των φυτών με συμπτώματα προσβολής στο λαιμό ήταν κατά μέσο όρο 48,1% στην πυκνή σπορά και 41,3% στην αραιή σπορά. Τα ποιοτικά γνωρίσματα των κόκκων επηρεάστηκαν τόσο από την τεχνητή μόλυνση όσο και την πυκνότητα σποράς.

**Λέξεις κλειδιά:** ανθεκτικότητα, *Oryza sativa*, *Pyricularia oryzae*

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η πυρικουλάρια είναι η πιο σοβαρή μυκητολογική ασθένεια του ρυζιού παγκοσμίως και προκαλεί σημαντική μείωση των αποδόσεων και υποβάθμιση της ποιότητας του καρπού. Η ασθένεια οφείλεται στο μύκητα *Pyricularia oryzae*, ο οποίος έχει πολυάριθμες φυλές με διαφορετική παθογόνο ικανότητα. Ο μύκητας προκαλεί καφέ, χλωρωτικές αρχικά και αργότερα νεκρωτικές, κηλίδες στα φύλλα, το βλαστό, τον κολεό, το λαιμό και τη φόβη του ρυζιού σε διάφορα στάδια ανάπτυξης. Η ένταση της προσβολής και των ζημιών που προκαλούνται εξαρτώνται από τις κλιματολογικές συνθήκες, την ευαισθησία της ποικιλίας και την καλλιεργητική τεχνική που εφαρμόζεται, όπως το επίπεδο αζωτούχου λίπανσης και τη διαθεσιμότητα του νερού (Suzuki 1975, Ou 1985). Εξαιτίας της σοβαρότητας της ασθένειας, η αντοχή στην πυρικουλάρια είναι ένα από τα πιο σημαντικά γνωρίσματα για βελτίωση που επιδιώκεται σε όλα τα προγράμματα βελτίωσης του ρυζιού.

Οι περισσότερες πληροφορίες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για την πυρικουλάρια προέρχονται από έρευνες σε χώρες της νοτιοανατολικής Ασίας, όπου το ρύζι καλλιεργείται με διάφορα συστήματα υδατικής διαχείρισης. Στην Ευρώπη το ρύζι καλλιεργείται κυρίως στις Μεσογειακές χώρες, όπου σπέρνεται κατευθείαν στον αγρό και αναπτύσσεται υπό κατάκλιση σε νερό. Οι πληροφορίες σχετικά με την ασθένεια στις συνθήκες αυτές είναι περιορισμένες. Στην Ελλάδα, σύμφωνα με στοιχεία του Ινστιτούτου Σιτηρών (αδημοσίευτα δεδομένα), τα τελευταία έτη παρατηρήθηκαν σε ορισμένες περιοχές απώλειες στην καλλιέργεια του ρυζιού λόγω της πυρικουλάριας σε ποσοστό μέχρι και 50%. Επίσης, η ποικιλία Ρωξάνη αποσύρθηκε από

τη σποροπαραγωγή την τελευταία τετραετία λόγω της μεγάλης ευπάθειάς της στην προσβολή από την ασθένεια.

Σκοπός της εργασίας ήταν να διερευνηθεί η επίδραση της πυκνότητας των φυτών στην προσβολή διαφόρων γενοτύπων από την πυρικούλάρια σε συνθήκες αγρού, κάτω από τεχνητή και φυσική μόλυνση από το μύκητα.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Έγιναν τέσσερα πειράματα στο αγρόκτημα Καλοχωρίου (40°33'N 23°00'E) του Ινστιτούτου Σιτηρών το έτος 2001. Το έδαφος ήταν υλοπηλώδες (Aquatic Xerofluvents) με pH 7,5 και 1,6% οργανική ουσία. Χρησιμοποιήθηκαν επτά ποικιλίες ρυζιού: Selenio, San Andrea, Maratelli, Ariete (Ιταλία), Senia (Ισπανία), L-202 (ΗΠΑ) και Ρωξάνη (Ελλάδα). Οι ποικιλίες Selenio, San Andrea, Ariete, Senia και L-202 είναι καλλιεργούμενες, ενώ οι Maratelli και Ρωξάνη δεν καλλιεργούνται. Οι ποικιλίες αντιπροσώπευαν ένα ευρύ φάσμα αντίδρασης στην ασθένεια, η δε επιλογή τους βασίστηκε σε προηγούμενη έρευνα σε θερμοκήπιο που αφορούσε τη συμπεριφορά τους στην προσβολή των φύλλων από την πυρικούλάρια (Tharreau 1998).

Η σπορά έγινε σε γλάστρες (5/6/2001) και τα σπορόφυτα μεταφύτεύθηκαν στον αγρό (13/7/2001) στο στάδιο των 5-6 φύλλων. Η πειραματική διάταξη των φυτών στον αγρό έγινε σύμφωνα με το R-7 κυψελωτό σχέδιο (Fasoulas και Fasoula 1995). Χρησιμοποιήθηκαν 30 φυτά (επαναλήψεις), η δε απόσταση μεταξύ τους ήταν 25 cm στο 1<sup>ο</sup> και 3<sup>ο</sup> πείραμα, και 50 cm στο 2<sup>ο</sup> και 4<sup>ο</sup> πείραμα. Η ανάπτυξη της ασθένειας βασίστηκε στην τεχνητή μόλυνση των φυτών στον αγρό με τον μύκητα *P. oryzae* στο 1<sup>ο</sup> και 2<sup>ο</sup> πείραμα και στη φυσική μόλυνση στο 3<sup>ο</sup> και 4<sup>ο</sup> πείραμα.

Ο αγρός λιπάνθηκε με 30 kg N/στρ. σε τρεις δόσεις, 3,3 kg P/στρ. και 6,2 kg K/στρ., τα οποία εφαρμόστηκαν στον αγρό με το χέρι. Η ποσότητα του αζώτου που εφαρμόστηκε ήταν πολύ μεγαλύτερη από τη συνιστώμενη για την καλλιέργεια του ρυζιού στην περιοχή, προκειμένου να διευκολυνθεί η ανάπτυξη της ασθένειας. Η πρώτη δόση του αζώτου, 5,5 kg/στρ., καθώς και όλη η ποσότητα του φωσφόρου και καλίου εφαρμόστηκαν πριν τη σπορά. Η δεύτερη, τρίτη και τέταρτη δόση του αζώτου, 14,5, 5 και 5 kg/στρ., εφαρμόστηκαν στα στάδια του αδελφάματος, πριν την έναρξη της διόγκωσης της φόβης και του ξεσταχυάσματος, αντίστοιχα.

Η καλλιέργεια του μύκητα έγινε σύμφωνα με τη μεθοδολογία των Notteghem και Silue (1992). Λεπτομέρειες για την προετοιμασία και παρασκευή του μολύσματος δίνονται από τους Ντάνος κ.ά. (2002). Για τη μόλυνση των φυτών στον αγρό με το μολύσμα του μύκητα έγινε ψεκάσμος τους στο στάδιο των 6-7 φύλλων (24/7/2001). Για να διευκολυνθεί η ανάπτυξη του μύκητα, ο ψεκάσμος έγινε λίγο πριν τη δύση του ήλιου ώστε η θερμοκρασία να είναι ευνοϊκή. Επίσης, από την επόμενη μέρα της μόλυνσης των φυτών γίνονταν διαβροχή τους με νερό (με ψεκαστήρα πλάτης), δύο έως τρεις φορές ημερησίως, ώστε να αυξηθεί η σχετική υγρασία του αέρα.

Για την αξιολόγηση των συμπτωμάτων της ασθένειας στα φύλλα έγιναν τρεις εκτιμήσεις σε όλα τα πειράματα, 20 (13/8/2001), 40 (2/9/2001) και 60 (22/9/2001) ημέρες μετά την τεχνητή μόλυνση των φυτών. Η αξιολόγηση της προσβολής του λαϊμού των φυτών έγινε στο στάδιο της ωρίμανσης (30-31/10/2001). Η εκτίμηση της προσβολής των φύλλων έγινε με βάση μια κλίμακα από 1-6, όπου το 1 αντιστοιχούσε σε καθόλου προσβολή και το 6 σε πλήρη προσβολή (Notteghem 1981). Η προσβολή του λαϊμού των φυτών υπολογίστηκε ως ποσοστό των στελεχών με συμπτώματα της ασθένειας. Για τον προσδιορισμό της απόδοσης των ατομικών φυτών, έγινε κοπή τους με το χέρι στην επιφάνεια του εδάφους και στη συνέχεια αλωνίσθηκαν χρησιμοποιώντας μικρή πειραματική αλωνιστική μηχανή.

Ο προσδιορισμός των ποιοτικών γνωρισμάτων των κόκκων έγινε σύμφωνα με τους Ντάνος και Rourakias (2001), σε όλα τα φυτά από κάθε ποικιλία. Εξοίρεση αποτέλεσε η εκτίμηση της απόδοσης στο μύλο, η οποία προσδιορίστηκε σε μικρότερο αριθμό φυτών και μόνο στα πειράματα της χαμηλής πυκνότητας, εξαιτίας της περιορισμένης ποσότητας του διαθέσιμου σπόρου.

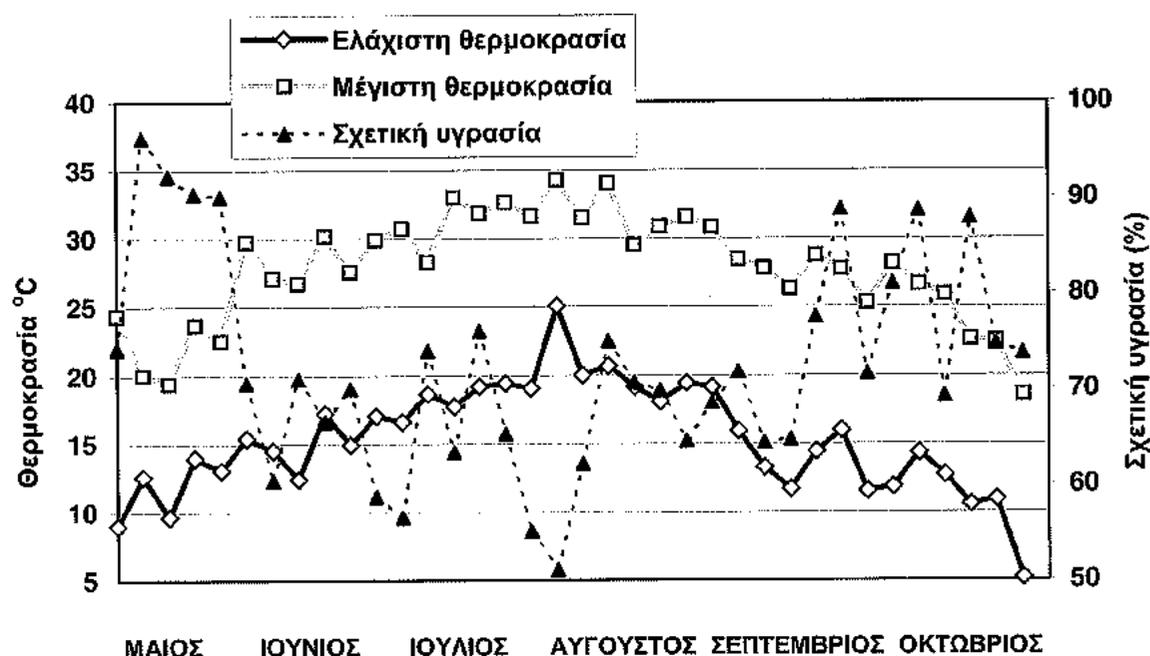
Για την επεξεργασία των δεδομένων ακολουθήθηκε η μεθοδολογία των Batzios και Rourakias (1997). Για τον υπολογισμό των συντελεστών συσχέτισης μεταξύ της προσβολής των φύλλων και του λαϊμού των φυτών χρησιμοποιήθηκαν οι μέσοι όροι κάθε ποικιλίας.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα μετεωρολογικά δεδομένα για την περίοδο πειραματισμού δίνονται στην Εικ. 1. Κατά τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο, περίοδος η οποία συνέπεσε με τη μόλυνση των φυτών από το μύκητα και την ανάπτυξη της ασθένειας, επικράτησαν ιδιαίτερα υψηλές θερμοκρασίες ( $>30^{\circ}\text{C}$ ) και χαμηλή σχετική υγρασία ( $<25\%$ ). Παρόλα αυτά, η ανάπτυξη της ασθένειας διευκολύνθηκε από την ύπαρξη ενός σταθερού επιπέδου νερού στον αγρό αλλά και από τον καθημερινό ψεκασμό των φυτών με νερό, παράγοντες που συνέβαλαν ώστε να δημιουργηθεί ένα μικροπεριβάλλον με υψηλή σχετική υγρασία.

Η προσβολή των φύλλων αυξήθηκε με την πάροδο του χρόνου από τη μόλυνσή τους σε όλα τα πειράματα (Πίν. 1). Η τεχνητή μόλυνση αύξησε την προσβολή των φυτών σε σχέση με τη φυσική μόλυνση, όπως αναμενόταν. Ο βαθμός προσβολής στη φυσική μόλυνση ήταν πολύ μικρός ( $<2$ ) σε όλες τις ποικιλίες και στις δύο πυκνότητες. Αυτό δείχνει ότι, για μια αξιόπιστη αξιολόγηση των ποικιλιών ως προς την αντοχή τους στην πυρικουλάρια κάτω από συνθήκες αγρού, είναι απαραίτητη η τεχνητή μόλυνσή τους. Η προσβολή των φύλλων ήταν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη στην υψηλή πυκνότητα σε σχέση με τη χαμηλή πυκνότητα σε όλες τις εκτιμήσεις στη φυσική μόλυνση και στην πρώτη και δεύτερη εκτίμηση στην τεχνητή μόλυνση. Προφανώς η υψηλή πυκνότητα εμπόδισε την κίνηση του αέρα μεταξύ των φυτών και συνέβαλε στην επικράτηση υψηλότερης σχετικής υγρασίας η οποία και ευνόησε την ανάπτυξη της ασθένειας.

Εικ. 1. Μετεωρολογικά δεδομένα κατά την περίοδο διεξαγωγής του πειράματος.



Οι ποικιλίες διέφεραν σημαντικά ως προς την προσβολή τους στα φύλλα σε όλα τα πειράματα. Στην τεχνητή μόλυνση και την υψηλή πυκνότητα, οι ποικιλίες Maratelli και Ρωξάνη ήταν οι περισσότερο ευαίσθητες σε όλες τις εκτιμήσεις. Οι ποικιλίες Ariete, Senia, San Andrea, Selenio και L-202 είχαν μικρή προσβολή ( $<2$ ) στην πρώτη εκτίμηση. Στην δεύτερη και τρίτη εκτίμηση, οι ποικιλίες αυτές θα μπορούσαν να χωρισθούν σε δύο ομάδες. Οι Ariete, Senia και San Andrea έδειξαν ενδιάμεση προσβολή και οι Selenio και L-202 μικρή προσβολή. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στη χαμηλή πυκνότητα. Γενικά, οι διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ήταν μεγαλύτερες στη δεύτερη και τρίτη εκτίμηση, σε σχέση με την πρώτη.

**Πίνακας 1.** Προσβολή των φύλλων και του λαιμού των φυτών επτά ποικιλιών ρυζιού από την πυρικούλάρια όπως επηρεάστηκε από την πυκνότητα των φυτών και τον τρόπο μόλυνσής τους.

Ποικιλία	Προσβολή φύλλων (κλίμακα 1-6)						Προσβολή λαιμού			
	Τεχνητή μόλυνση			Φυσική μόλυνση			Τεχνητή μόλυνση		Φυσική μόλυνση	
	Εκτίμηση			Εκτίμηση			Αριθμός φοβών	Προσβολή (%)	Αριθμός φοβών	Προσβολή (%)
	1 <sup>η</sup>	2 <sup>η</sup>	3 <sup>η</sup>	1 <sup>η</sup>	2 <sup>η</sup>	3 <sup>η</sup>				
<b>Υψηλή πυκνότητα (25 cm μεταξύ των φυτών)</b>										
Maratelli	2,83 a	3,47 a	3,93 a	1,30 a	1,80 a	1,83 a	371	65,18 a	314	18,64 a
Ρωξάνη	2,87 a	3,33 a	3,77 a	1,27 a	1,87 a	1,90 a	424	65,04 a	325	17,19 a
Ariete	1,83 b	2,20 b	3,00 b	1,17 ab	1,20 bc	1,20 bcd	397	36,85 c	436	5,77 b
Senia	1,60 bc	2,27 b	2,87 b	1,17 ab	1,30 b	1,33 b	444	62,09 a	416	18,32 a
S. Andrea	1,33 bcd	2,20 b	3,03 b	1,10 ab	1,13 bc	1,13 cd	352	49,52 b	304	7,64 b
Selenio	1,17 d	1,53 c	1,67 c	1,07 b	1,07 c	1,10 d	371	37,73 c	386	5,63 b
L-202	1,31 bcd	1,57 c	2,03 c	1,07 b	1,30 b	1,30 bc	502	20,22 d	400	1,24 c
M.O.	1,85	2,37	2,90	1,16	1,38	1,40	409	48,09	369	10,63
<b>Χαμηλή πυκνότητα (50 cm μεταξύ των φυτών)</b>										
Maratelli	2,27 a	2,97 a	4,07 a	1,24 a	1,53 a	1,57 a	879	61,47 a	863	17,56 a
Ρωξάνη	2,24 a	3,03 a	3,43 b	1,13 ab	1,53 a	1,60 a	997	53,24 b	813	17,24 a
Ariete	1,57 b	2,23 b	3,50 b	1,13 ab	1,20 b	1,20 b	1045	25,22 d	1077	4,46 c
Senia	1,47 bc	2,13 b	3,50 b	1,10 ab	1,20 b	1,23 b	997	56,61 b	994	17,95 a
S. Andrea	1,27 bc	2,20 b	3,40 b	1,07 b	1,13 b	1,13 b	709	56,60 ab	731	6,81 b
Selenio	1,13 c	1,40 c	1,83 c	1,03 b	1,07 b	1,07 b	845	28,11 c	829	5,52 b
L-202	1,20 c	1,23 c	1,50 d	1,07 b	1,20 b	1,20 b	1321	7,90 e	932	1,11 d
M.O.	1,59	2,17	3,03	1,11	1,27	1,29	970	41,31	891	10,09

Μέσοι όροι στην ίδια στήλη με το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά για P=0,05.

**Πίνακας 2.** Απόδοση σε καρπό επτά ποικιλιών ρυζιού που μολύνθηκαν από πυρικούλάρια, όπως επηρεάστηκε από την πυκνότητα των φυτών και τον τρόπο μόλυνσής τους.

Ποικιλία	Υψηλή πυκνότητα (25 cm μεταξύ των φυτών)		Χαμηλή πυκνότητα (50 cm μεταξύ των φυτών)	
	Τεχνητή μόλυνση	Φυσική μόλυνση	Τεχνητή μόλυνση	Φυσική μόλυνση
	<b>Απόδοση σε καρπό (g/φυτό)</b>			
Maratelli	32,45 c	42,85 d	64,69 c	84,64 g
Ρωξάνη	39,70 ab	49,74 b	90,93 b	111,41 c
Ariete	41,05 ab	47,14 c	101,59 a	114,85 b
Senia	43,79 a	54,30 a	99,85 a	124,52 a
S. Andrea	39,41 ab	47,43 c	87,93 b	104,97 d
Selenio	37,61 bc	43,82 d	83,44 b	92,92 f
L-202	40,63 ab	43,60 d	91,42 b	98,36 e
M.O.	39,23	46,98	88,55	104,52

Μέσοι όροι στην ίδια στήλη με το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά για P=0,05.

Στη φυσική μόλυνση, υψηλότερη προσβολή στα φύλλα είχαν οι Maratelli και Ρωξάνη στην δεύτερη και τρίτη εκτίμηση και στις δύο πυκνότητες. Στην πρώτη εκτίμηση, οι Maratelli και Ρωξάνη έδειξαν παρόμοια προσβολή στα φύλλα με τις ποικιλίες Ariette, Senia και San Andrea στην υψηλή πυκνότητα και με την Ariette και τη Senia στη χαμηλή πυκνότητα. Στη δεύτερη και τρίτη εκτίμηση, αν και παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών, αυτές ήταν χωρίς πρακτική αξία επειδή η προσβολή ήταν γενικά χαμηλή (μεταξύ 0,7 και 1,33 στην υψηλή πυκνότητα και 1,03 και 1,23 στην χαμηλή πυκνότητα).

Οι ποικιλίες παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ως προς την προσβολή των φυτών στο λαιμό. Το ποσοστό προσβολής ήταν υψηλότερο στην τεχνητή μόλυνση σε σχέση με τη φυσική μόλυνση και στις δύο πυκνότητες. Η προσβολή ήταν κατά μέσο όρο στην υψηλή πυκνότητα 48,09% και 10,63% και στη χαμηλή πυκνότητα 41,31% και 10,09% για την τεχνητή και τη φυσική μόλυνση, αντίστοιχα.

Οι ποικιλίες Maratelli, Ρωξάνη και Senia είχαν την μεγαλύτερη προσβολή στο λαιμό στην υψηλή πυκνότητα και στους δύο τρόπους μόλυνσης και στη χαμηλή πυκνότητα μόνο στη φυσική μόλυνση. Πιο ανθεκτική ήταν η ποικιλία L-202 σε όλες τις εκτιμήσεις.

**Πίνακας 3.** Συντελεστές συσχέτισης μεταξύ προσβολής των φύλλων και του λαιμού από την πυρικούλάρια όπως επηρεάστηκε από την πυκνότητα των φυτών και τον τρόπο μόλυνσής τους.

Εκτίμηση	Υψηλή πυκνότητα (25 cm μεταξύ των φυτών)		Χαμηλή πυκνότητα (50 cm μεταξύ των φυτών)	
	Τεχνητή μόλυνση	Φυσική μόλυνση	Τεχνητή μόλυνση	Φυσική μόλυνση
	Συντελεστής συσχέτισης (r)			
1 <sup>η</sup>	0,70	0,83*	0,58	0,61
2 <sup>η</sup>	0,83*	0,71	0,78*	0,70
3 <sup>η</sup>	0,79*	0,73	0,82*	0,73

Σημαντικό για πιθανότητα  $P=0,05$ .

Η απόδοση σε καρπό διέφερε μεταξύ των ποικιλιών (Πίν. 2). Όπως αναμενόταν, η απόδοση σε καρπό ήταν μεγαλύτερη στα φυτά με φυσική μόλυνση σε σχέση με εκείνα με τεχνητή μόλυνση, επειδή η ανάπτυξη της ασθένειας ήταν μικρότερη. Η απόδοση σε καρπό ήταν επίσης υψηλότερη στα πειράματα χαμηλής πυκνότητας σε σχέση με εκείνα της υψηλής πυκνότητας, εξαιτίας του μεγαλύτερου αριθμού αδελφιών ανά φυτό. Η μέση απόδοση ανά φυτό ήταν στην υψηλή πυκνότητα 39,23 g και 46,98 g και στην χαμηλή πυκνότητα 88,55 g και 104,52 g για τα φυτά με τεχνητή και φυσική μόλυνση, αντίστοιχα.

Η προσβολή των φύλλων στη δεύτερη και τρίτη εκτίμηση σχετιζόταν σημαντικά με το ποσοστό προσβολής στο λαιμό στα πειράματα με τεχνητή μόλυνση και στις δύο πυκνότητες (Πίν. 3). Αντίθετα, η συσχέτιση μεταξύ της προσβολής των φύλλων στην πρώτη εκτίμηση και προσβολής του λαιμού δεν ήταν σημαντική. Στα πειράματα με φυσική μόλυνση, μόνο η συσχέτιση μεταξύ της προσβολής των φύλλων στην πρώτη εκτίμηση και της προσβολής του λαιμού στην υψηλή πυκνότητα ήταν σημαντική. Ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ της προσβολής των φύλλων στη δεύτερη και τρίτη εκτίμηση και της προσβολής του λαιμού ήταν υψηλός και στις δύο πυκνότητες, αλλά όχι στατιστικά σημαντικός. Η έλλειψη σημαντικότητας οφειλόταν προφανώς στις χαμηλές διαφορές που παρατηρήθηκαν μεταξύ των ποικιλιών ως προς την προσβολή τους στα φύλλα κάτω από φυσική μόλυνση.

Τα ποιοτικά γνωρίσματα των κόκκων επηρεάστηκαν από την πυκνότητα και τον τρόπο μόλυνσης των φυτών από την πυρικούλάρια (Πίν. 4). Η κρυσταλλότητα και το μήκος του κόκκου είχαν μεγαλύτερες τιμές στα πειράματα της υψηλής πυκνότητας σε σχέση με εκείνα της χαμηλής πυκνότητας. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν για τη σχέση μήκος/πλάτος κόκκου, αλλά οι διαφορές μεταξύ των πυκνοτήτων ήταν μικρότερες.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η προσβολή των φύλλων και του λαιμού των φυτών από την πυρικούλάρια επηρεάστηκαν από την ποικιλία, την πυκνότητα των φυτών και τον τρόπο μόλυνσής τους από το μύκητα. Οι διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ως προς την αντοχή τους στην ασθένεια ήταν μεγαλύτερες στη δεύτερη και τρίτη αξιολόγηση. Πιο ανθεκτικές ήταν οι ποικιλίες Selenio και L-202. Γενικά η αξιολόγηση των ποικιλιών ήταν πιο αξιόπιστη κάτω από τεχνητή μόλυνση και σε συνθήκες υψηλής πυκνότητας.

**Πίνακας 4.** Ποιοτικά γνωρίσματα των κόκκων επτά ποικιλιών ρυζιού όπως επηρεάστηκαν από την πυκνότητα των φυτών και τον τρόπο μόλυνσή τους από την περικοιλάρια.

Ποικιλία	Συνολική απόδοση στο μύλο (%)		Κρυσταλλότητα κόκκου (%)		Μήκος κόκκου (mm)		Μήκος/πλάτος Κόκκου	
	Τεχνητή μόλυνση	Φυσική μόλυνση	Τεχνητή μόλυνση	Φυσική μόλυνση	Τεχνητή μόλυνση	Φυσική μόλυνση	Τεχνητή μόλυνση	Φυσική Μόλυνση
	Υψηλή πυκνότητα (25 cm μεταξύ των φυτών)							
Maratelli	-	-	2,27 e	3,07 e	5,94 f	6,02 f	1,78 f	1,82 f
Ρωξάνη	-	-	6,70 d	16,87 d	6,98 b	7,05 b	2,34 c	2,37 c
Ariete	-	-	75,33 c	79,00 c	6,94 c	7,00 c	2,43 b	2,48 b
Senia	-	-	1,47 e	1,70 e	6,15 e	6,22 e	1,93 e	1,96 e
S. Andrea	-	-	7,83 d	11,83 d	6,86 d	6,93 d	2,11 d	2,14 d
Selenio	-	-	81,23 b	83,37 b	5,21 g	5,29 g	1,72 g	1,75 g
L-202	-	-	89,87 a	92,37 a	7,83 a	7,88 a	3,51 a	3,54 a
M.O.			37,81	41,17	6,56	6,63	2,26	2,29
Χαμηλή πυκνότητα (50 cm μεταξύ των φυτών)								
Maratelli	68,54 d	69,06 d	1,93 e	1,57 e	5,92 f	6,01 e	1,81 f	1,83 f
Ρωξάνη	66,42 e	67,77 e	2,10 e	4,57 e	6,99 b	7,00 b	2,36 c	2,37 c
Ariete	69,68 c	70,13 c	76,90 c	77,80 c	6,92 c	7,00 b	2,47 b	2,48 b
Senia	70,45 b	70,80 b	1,27 e	1,50 e	6,19 e	6,20 d	1,95 e	1,97 e
S. Andrea	70,34 b	70,80 b	5,03 d	10,80 d	6,78 d	6,89 c	2,11 d	2,13 d
Selenio	72,34 a	72,42 a	80,57 b	84,00 b	5,23 g	5,30 f	1,73 g	1,74 g
L-202	69,53 c	70,67 b	90,37 a	90,90 a	7,71 a	7,72 a	3,47 a	3,47 a
M.O.	69,21	70,24	36,88	38,73	6,53	6,59	2,27	2,28

Μέσοι όροι στην ίδια στήλη με το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά για  $P=0,05$ .

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Batzios D.P. and D.G. Roupakias. 1997. HONEY: A microcomputer program for plant selection and analyses of the honeycomb designs. *Crop Sci.* 37:744-747.
- Fasoulas A.C. and V.A. Fasoula. 1995. Honeycomb selection designs. *Plant Breed. Rev.* 13:87-139.
- Notteghem J.L. 1981. Analysis of results of inoculating 67 varieties of rice with 15 strains of *Pyricularia oryzae*, In: Proceedings of the Symposium of rice resistant to blast, IRAT/GERDAT, Montpellier, France, pp 73-96.
- Notteghem J.L. and D. Silue. 1992. Distribution of the mating types alleles in *Magnaporthe grisea* populations pathogenic on rice. *Phytopathology* 82: 421-424.
- Ntanos D.A. and Roupakias D.G. 2001. Comparative efficiency of two breeding methods for yield and quality in rice. *Crop Sci.* 41: 345-350.
- Ντάνος Δ.Α., Κουτρούμπας Σ.Δ., Κατσαντώνης Δ. και Ν. Φιλίππου. 2002. Αντοχή ποικιλιών ρυζιού στο μύκητα *Pyricularia oryzae* σε συνθήκες αγρού. *Αγροτική Έρευνα* 25:29-36.
- Ou S.H. 1985. Rice Diseases, 2<sup>nd</sup> edn. Commonwealth Mycological Inst., Kew, Surrey, England, 380 pp.
- Suzuki H. 1975. Meteorological factors in the epidemiology of rice blast. *Annu. Rev. Phytopathology.* 13, 239-256.
- Tharreau D. 1998. RESGEN CT95-37 "Constitution, description et gestion dynamique des ressources genetiques riz (*Oryza sativa*) a vocation europeenne". Individual progress reports for the period from 1/02/1997 to 31/01/1998. CIRAD, Montpellier, France, 9 p.

## EFFECT OF GENOTYPE AND ENVIRONMENT ON THE SUSCEPTIBILITY TO BLAST DISEASE OF RICE

Spyridon D. Koutroubas<sup>1</sup>, Dimitrios N. Katsantonis<sup>2</sup> and Dimitrios A. Ntanos<sup>2</sup>

<sup>1</sup> School of Agricultural Development, Democritus University of Thrace

<sup>2</sup> Cereal Institute, NAGREF

### SUMMARY

Rice blast disease (*Pyricularia oryzae*) is one of the major and most damaging diseases worldwide, which results to yield decrease and quality degradation. The effect of the genotype and the environment on the susceptibility to blast fungus of rice was studied in field experiments in 2001. Seven varieties were used (Selenio, San Andrea, Maratelli, Ariete, Senia, L-202 and Roxani) originated from the major rice producing countries of Europe and USA. Seeds were sown in pots in order to prepare seedlings for transplanting in the field at the 5<sup>th</sup> to 6<sup>th</sup> leaf stage. Honeycomb design R-7 was used with 30 replications for each variety. Plant to plant distance for the experiments 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> was 25 cm (high density) and for the 2<sup>nd</sup> and 4<sup>th</sup> 50 cm (low density). The plants of experiments 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> were inoculated by spraying them with fungal spores at 6<sup>th</sup> to 7<sup>th</sup> leaf stage. Three leaf blast assessments were conducted 20, 40 and 60 days after inoculation. Neck blast assessment was conducted at maturity. The effect of blast disease on the grain quality traits, was also studied. Results indicate that fungal inoculation is required for reliable disease evaluation in the field. Blast susceptibility varied within the varieties, while in the second and third disease assessment the differences were much greater. The most resistant varieties were Selenio and L-202. Leaf blast was greater in the high density experiments compared to low density ones. The mean percentage of neck blast in the high and low density experiments was 48.1% and 41.3%, respectively. Quality traits were affected by the fungal inoculation and the density of plants.

## ΜΙΓΜΑΤΑ ΒΙΚΟΥ ΜΕ ΧΕΙΜΕΡΙΝΑ ΣΙΤΗΡΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΝΣΙΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ Ο ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΣ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΑ ΖΙΖΑΝΙΑ

Λιθουργίδης<sup>1</sup> Α.Σ., Κ.Β. Δήμας<sup>2</sup>, Ι.Β. Βασιλάκογλου<sup>3</sup> και Μ.Α. Γιακουλάκη<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Αγρόκτημα Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, 57001 Θέρμη

<sup>2</sup>Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσ/νίκης, 54101 Θεσ/νίκη

<sup>3</sup>Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Λάρισας, 41110 Λάρισα

<sup>4</sup>Τμήμα Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Α.Π.Θ. 54124 Θεσ/νίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σε πειραματικό αγρό του αγροκτήματος του Α.Π.Θ. καλλιεργήθηκαν βίκος, τέσσερα χειμερινά σιτηρά (μαλακό σιτάρι, σιταρόβριζα, κριθάρι, βρώμη) και οκτώ μίγματα βίκου-σιτηρού, σε δύο αναλογίες σπόρων (55:45 και 65:35), με σκοπό να αξιολογηθεί η απόδοση και η ποιότητα του ενσιρώματος. Επιπλέον, μελετήθηκε ο ανταγωνισμός των παραπάνω καλλιεργειών με τα ζιζάνια αγριοβρώμη (*Avena sterilis*), καπνόχορτο (*Fumaria officinalis*) και βερόνικα (*Veronica hederifolia*). Η απόδοση σε ξηρή βιομάζα ήταν μεγαλύτερη στη μονοκαλλιέργεια της βρώμης, η οποία όμως δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά από την απόδοση της σιταρόβριζας, καθώς επίσης και του μίγματος (55:45) βίκου-κριθαριού. Η περιεκτικότητα σε ολική πρωτεΐνη ήταν υψηλότερη στη μονοκαλλιέργεια του βίκου, η οποία όμως δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά από την περιεκτικότητα των μιγμάτων (65:35) βίκου-βρώμης και βίκου-κριθαριού. Η βλάστηση και η ανάπτυξη της αγριοβρώμης ήταν σημαντικά μειωμένη στη μονοκαλλιέργεια βίκου, σε σύγκριση με τις άλλες καλλιέργειες. Αντιθέτως, δεν υπήρξαν διαφορές μεταξύ των καλλιεργειών ως προς τη βλάστηση και ανάπτυξη των πλατύφυλλων ζιζανίων καπνόχορτο και βερόνικα. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι ο καλύτερος συνδυασμός όσον αφορά την απόδοση σε ξηρό χόρτο και σε ολική πρωτεΐνη ήταν η μονοκαλλιέργεια της βρώμης καθώς επίσης και το μίγμα του βίκου με τη βρώμη ή με το κριθάρι σε αναλογία σπόρων 65:35 ή 55:45, αντίστοιχα. Επιπλέον, η ανάπτυξη της αγριοβρώμης περιορίστηκε σημαντικά μόνο στην καλλιέργεια του βίκου.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο βίκος (*Vicia sativa* L.) είναι ετήσιο ψυχανθές με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, που σε αρκετές περιπτώσεις συγκαλλιεργείται με χειμερινά σιτηρά για την παραγωγή σανού ή ενσιρώματος, για τη διατροφή των ζώων. Η μονοκαλλιέργεια βίκου ή σιτηρού για την παραγωγή χονδροειδούς ζωοτροφής δεν δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα (Osman και Nersoyan 1986). Ο βίκος δίνει μικρές στρεμματικές αποδόσεις, ιδιαίτερας σε περιοχές με χαμηλό ύψος βροχόπτωσης (Hadjichristodoulou 1978) και δυσχεραίνει τη μηχανική συγκομιδή, επειδή συνήθως πλαγιάζει (Robinson 1969). Αντιθέτως, τα σιτηρά παρόλο που δίνουν υψηλή απόδοση σε ξηρό βάρος δίνουν ζωοτροφή χαμηλής ποιότητας (Lawes και Jones 1971). Με την εφαρμογή της συγκαλλιέργειας το σιτηρό παρέχει στήριξη στο βίκο, βελτιώνει το φωτισμό και διευκολύνει τη μηχανική συγκομιδή του, ενώ ο βίκος βελτιώνει την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Robinson 1969, Thompson κ.ά. 1992).

Το είδος του σιτηρού, η αναλογία σπόρων των δύο συγκαλλιεργούμενων ειδών, καθώς και ο μεταξύ τους ανταγωνισμός επιδρούν στην απόδοση και την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Droushiotis 1989, Papastylianou 1990, Caballero κ.ά. 1995). Οι Caballero και Goicoechea (1986) και Thompson κ.ά. (1990) αναφέρουν ότι καταλληλότερο σιτηρό για συγκαλλιέργεια με τον βίκο είναι η βρώμη (*Avena sativa* L.), ενώ οι Thompson κ.ά. (1992) και Roberts κ.ά. (1989) το κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.) και το μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum* L.), αντίστοιχα. Διαφορετικές αναλογίες σπόρων έχουν προταθεί για συγκαλλιέργεια σιτηρών και βίκου, συγκεκριμένα 2 έως 8 Kg σιτηρού και 5 έως 12 Kg βίκου (Caballero και Goicoechea 1986). Ο ανταγωνισμός συνήθως μειώνει την απόδοση του μίγματος σε σχέση με τη μονοκαλλιέργεια σιτηρού (Caballero κ.ά. 1995), αν και έχουν αναφερθεί υψηλότερες αποδόσεις μιγμάτων όταν ο ανταγωνισμός μεταξύ των δύο ειδών ήταν μικρότερος από ό,τι μέσα στο ίδιο το είδος (Vandermeer 1990).

Σκοπός της εργασίας ήταν να αξιολογηθούν η μονοκαλλιέργεια του βίκου και τεσσάρων χειμερινών σιτηρών (μαλακό σιτάρι, σιταρόβριζα, κριθάρι, βρώμη), καθώς και οκτώ μίγματα βίκου-σιτηρού, σε δύο αναλογίες σπόρων (55:45 και 65:35), ως προς την απόδοση σε ξηρή βιομάζα, την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, και τον ανταγωνισμό τους με τα ζιζάνια.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η εγκατάσταση του πειράματος έγινε σε πειραματικό αγρό του Αγροκτήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης κατά την καλλιεργητική περίοδο 2003-2004, σε έδαφος αμμοπηλώδες (SL) με pH 7,0 και οργανική ουσία 0,99%. Η προηγούμενη καλλιέργεια ήταν μαλακό σιτάρι, που συγκομίσθηκε τον Ιούνιο του 2003.

Η προετοιμασία του πειραματικού αγρού περιελάμβανε άροση του εδάφους σε βάθος 25 cm, καταργασία με σβάρνα και στη συνέχεια με καλλιεργητή. Ακολούθησε σπορά βίκου (ποικιλία Melissa) και τεσσάρων χειμερινών σιτηρών ως μονοκαλλιέργεια, καθώς και μιγμάτων βίκου με τα τέσσερα σιτηρά σε δύο αναλογίες σπόρων (55:45 και 65:35, βίκος:σιτηρό) ως συγκαλλιέργεια. Τα σιτηρά που σπάρθηκαν ήταν μαλακό σιτάρι (ποικιλία Yecora), κριθάρι (ποικιλία Θεσσαλονίκη), βρώμη (ποικιλία Παλλήνη) και σιταρόβριζα (ποικιλία Θίσβη). Η σπορά έγινε στις 21 Νοεμβρίου του 2003 και η ποσότητα σπόρου που χρησιμοποιήθηκε ήταν 17 kg/στρ για όλες τις καλλιέργειες. Για την σπορά χρησιμοποιήθηκε σπαρτική μηχανή κλασικού τύπου γραμμικής σποράς. Το πειραματικό σχέδιο που χρησιμοποιήθηκε ήταν οι πλήρεις ομάδες σε ελεύθερη διάταξη, με 13 επεμβάσεις και 4 επαναλήψεις. Το μέγεθος του κάθε πειραματικού τεμαχίου ήταν 5 m x 20 m.

Αξιολογήθηκε το βάρος της χλωρής βιομάζας των καλλιεργειών και των ζιζανίων αγριοβρώμης (*Avena sterilis*), καπνόχορτου (*Fumaria officinalis*) και βερόνικας (*Veronica hederifolia*), σε δύο στάδια της καλλιεργητικής περιόδου (μετά την ολοκλήρωση του αδελφώματος των σιτηρών και κατά την συγκομιδή). Επιπλέον, μετρήθηκε η απόδοση σε ξηρή βιομάζα (μετά από ξήρανση της χλωρής βιομάζας για 48h στους 72° C) και η περιεκτικότητα σε ολική πρωτεΐνη στο στάδιο του ενσιρώματος (16 Μαΐου 2004), σε όλες τις επεμβάσεις. Η ολική πρωτεΐνη υπολογίσθηκε με μετατροπή του ολικού αζώτου ( $\times 6,25$ ), το οποίο προσδιορίσθηκε με τη μέθοδο Kjeldahl. Όλες οι παραπάνω μετρήσεις έγιναν σε δύο διαφορετικά σημεία κάθε πειραματικού τεμαχίου και σε επιφάνεια 1 m<sup>2</sup>.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

**Απόδοση ξηρής βιομάζας και πρωτεΐνης.** Η απόδοση σε συνολική ξηρή βιομάζα διέφερε σημαντικά μεταξύ των μονοκαλλιεργειών και των συγκαλλιεργειών βίκου και σιτηρών (Πίνακας 1). Η συνολική ξηρή βιομάζα ήταν μεγαλύτερη στη μονοκαλλιέργεια της βρώμης η οποία όμως δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά από την απόδοση της σιταρόβριζας, καθώς και του μίγματος βίκου-κριθαριού (55:45). Η απόδοση του βίκου σε ξηρή βιομάζα δεν διέφερε σημαντικά από την απόδοση του σιταριού και του κριθαριού, καθώς και των μιγμάτων με όλα τα σιτηρά, με εξαίρεση τα μίγματα βίκου-κριθαριού (55:45) και βίκου-σιταρόβριζας (65:35). Στα μίγματα του βίκου με τη σιταρόβριζα ή με το κριθάρι η ξηρή βιομάζα μειώθηκε όταν αυξήθηκε η συμμετοχή του βίκου στο μίγμα. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί σε μίγματα βίκου-σιταριού (Roberts κ.ά. 1989). Αντιθέτως, οι Giacomini κ.ά. (2003) ανέφεραν ότι οι αποδόσεις μιγμάτων βίκου-βρώμης δεν επηρεάστηκαν από την αναλογία του βίκου σε αυτά.

**Πίνακας 1.** Αναλογίες σπόρων, απόδοση σε ξηρό βάρος, περιεκτικότητα πρωτεΐνης και απόδοση σε ολική πρωτεΐνη στις μονοκαλλιέργειες και στα μίγματα βίκου-σιτηρών.

Καλλιέργεια	Ποσοστό σπόρων βίκος : σιτηρό		Ξηρό βάρος (kg/στρ)	Περιεκτικότητα πρωτεΐνης (g/kg ξηρού βάρους)	Ολική πρωτεΐνη (kg/στρ)
Σπάρι	-	100	1049 cd	71.3 hi	74.8 efg
Βίκος-Σπάρι	55	45	963 cd	95.8 de	92.2 cde
Βίκος-Σπάρι	65	35	728 de	98.9 cde	72.0 fg
Σιπαρόβριζα	-	100	1402 ab	57.2 i	80.2 def
Βίκος-Σιπαρόβριζα	55	45	1009 cd	105.0 bcde	102.1 bc
Βίκος-Σιπαρόβριζα	65	35	579 e	106.4 bcd	65.2 g
Κριθάρι	-	100	1141 bc	75.5 gh	86.1 def
Βίκος-Κριθάρι	55	45	1209 ab	93.4 def	113.0 b
Βίκος-Κριθάρι	65	35	757 de	113.0 abc	86.5 def
Βρώμη	-	100	1488 a	79.3 fgh	118.0 ab
Βίκος-Βρώμη	55	45	1048 cd	89.4 efg	93.7 cd
Βίκος-Βρώμη	65	35	1095 bc	120.2 ab	131.7 a
Βίκος	100	-	926 cd	128.5 a	119.1 ab

\* Διαφορετικά γράμματα, σε κάθε στήλη, δηλώνουν διαφορές στατιστικώς σημαντικές για  $P = 0.05$  (κριτήριο Duncan)

Οι αποδόσεις όλων των μιγμάτων βίκου-βρώμης και βίκου-σιταρόβριζας, καθώς και του μίγματος βίκου-κριθαριού (65:35) ήταν χαμηλότερες από την απόδοση του σιτηρού που συμμετείχε στο μίγμα (Πίνακας 1). Σε αρκετές περιπτώσεις έχει βρεθεί ότι οι αποδόσεις μιγμάτων ψυχανθούς-σιτηρού ήταν ενδιάμεσες ή ακόμη και χαμηλότερες σε σύγκριση με τις μονοκαλλιέργειες, λόγω ανταγωνισμού μεταξύ των ειδών (Vandermeer 1990, Caballero κ.ά. 1995).

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ήταν υψηλότερη στη μονοκαλλιέργεια βίκου (128.5 g/kg Ξηρού Βάρους), η οποία όμως δεν διέφερε στατιστικώς σημαντικά από την περιεκτικότητα στα μίγματα με αναλογία 65:35 βίκου-βρώμης (120.2 g/kg) και βίκου-κριθαριού (113.0 g/kg), αντιθέτως οι μονοκαλλιέργειες όλων των σιτηρών, είχαν μικρότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (από 57.2 έως 79.3 g/kg) (Πίνακας 1). Σε όλα τα μίγματα βίκου-σιτηρών, με εξαίρεση το μίγμα (55:45) βίκου-βρώμης, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ήταν υψηλότερη από ότι στα σιτηρά και μάλιστα στα μίγματα με το κριθάρι ή με τη βρώμη η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ήταν υψηλότερη εκεί όπου ο βίκος συμμετείχε με μεγαλύτερη αναλογία. Ανάλογα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί από τους Lawes και Jones (1971) και Thompson κ.ά. (1992). Η στρεμματική απόδοση σε ολική πρωτεΐνη ήταν υψηλότερη στο μίγμα βίκου-βρώμης (65:55), η οποία όμως δεν διέφερε στατιστικώς σημαντικά από και τις μονοκαλλιέργειες βίκου και βρώμης. Παρότι η περιεκτικότητα της βρώμης σε πρωτεΐνη ήταν χαμηλή (79.3 g/kg Ξηρού Βάρους), η μονοκαλλιέργεια της βρώμης έδωσε από τις μεγαλύτερες στρεμματικές αποδόσεις σε πρωτεΐνη (118 kg/στρ), διότι είχε μεγάλη απόδοση σε ξηρό βάρος (Πίνακας 1).

**Ανταγωνισμός με ζιζάνια.** Μετά την ολοκλήρωση του αδελφώματος, διαπιστώθηκε ότι το ποσοστό της αγριοβρώμης στο νωπό βάρος των καλλιεργειών κυμαινόταν από 1.8 έως 19.9%, του καπνόχορτου από 1.2 έως 3.4% και της βερόνικας από 2.3 έως 14.5% (Πίνακας 2). Στο στάδιο της συγκομιδής η συμμετοχή των τριών ζιζανίων στο νωπό βάρος της κάθε καλλιέργειας άλλαξε. Συγκεκριμένα, υπήρξε μεγάλη αύξηση του ποσοστού της αγριοβρώμης (12.3 έως 66.5%), μείωση του ποσοστού της βερόνικας (0.1 έως 0.9%) και απουσία του καπνόχορτου. Η μικρή συμμετοχή της βερόνικας οφειλόταν στην μικρή ανάπτυξη της βιομάζας της και στην αυξημένη ανταγωνιστική δράση των καλλιεργειών λόγω της ταχύτερης ανάπτυξης τους. Το φαινόμενο αυτό ήταν εντονότερο στο καπνόχορτο, πιθανόν λόγω της επιβράδυνσης στην ανάπτυξη του, εξαιτίας των χαμηλών θερμοκρασιών που επικράτησαν το χειμώνα με αποτέλεσμα την ταχύτερη κάλυψη του από τα καλλιεργούμενα είδη.

Η συμμετοχή της αγριοβρώμης στο νωπό βάρος της κάθε καλλιέργειας, στο στάδιο της συγκομιδής, ήταν υψηλή σε όλες τις μονοκαλλιέργειες (από 20.7 έως 54.0%) και τα μίγματα (από 23.5 έως 66.5%), με εξαίρεση την μονοκαλλιέργεια του βίκου, όπου το ποσοστό της στο συνολικό νωπό βάρος ήταν χαμηλό (12.3%). Πιθανόν, ο έντονος ανταγωνισμός της αγριοβρώμης με τα χειμερινά σιτηρά να συνέβαλε στο μεγάλο ποσοστό

συμμετοχής της στο νωπό βάρος όλων των καλλιεργειών όπου συμμετείχε σιτηρό. Μεγάλη ανταγωνιστική ικανότητα της αγριοβρώμης αναφέρεται και από τους Dhima και Eleftherohorinos (2001) στο σιτάρι και τη σιταρόβριζα. Αντιθέτως, από τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας φάνηκε ότι δεν υπήρξε μεγάλος ανταγωνισμός της αγριοβρώμης με το βίκου σε μονοκαλλιέργεια. Παρομοίως, σε μονοκαλλιέργεια μπιζελιού έχει αναφερθεί μειωμένη ανάπτυξη χειμερινών ζιζανίων από ό,τι σε μονοκαλλιέργεια σιταριού και αποδόθηκε σε πιθανή μειωμένη ανταγωνιστική ικανότητα (Mas και Verdu 2003).

**Πίνακας 2.** Ποσοστό της χλωρής βιομάζας των ζιζανίων αγριοβρώμη, καπνόχορτο και βερόνικα στη συνολική χλωρή βιομάζα των μονοκαλλιεργειών και των μεγμάτων βίκου-σιτηρών, σε δύο στάδια της καλλιεργητικής περιόδου.

Καλλιέργεια	Νωπό βάρος αγριοβρώμης (% της καλλιέργειας)		Νωπό βάρος καπνόχορ- του (% της καλλιέργειας)		Νωπό βάρος βερόνικας (% της καλλιέργειας)	
	αδέλφωμα	συγκομιδή	αδέλφωμα	συγκομιδή	αδέλφωμα	συγκομιδή
Σιτάρι	11.4 bc	54.0 ab	2.3 a	0	5.6 a	0.8 a
Βίκος-Σιτάρι	8.9 cd	28.0 d	1.3 a	0	4.0 a	0.7 a
Βίκος-Σιτάρι	7.1 d	37.6 c	3.1 a	0	7.0 a	0.9 a
Σιταρόβριζα	3.6 e	20.7 d	2.3 a	0	5.5 a	0.7 a
Βίκος-Σιταρόβριζα	11.5 bc	66.5 a	1.2 a	0	6.8 a	0.5 a
Βίκος-Σιταρόβριζα	12.9 ab	45.5 bc	3.2 a	0	6.7 a	0.6 a
Κριθάρι	1.8 f	37.6 c	3.4 a	0	2.3 a	0.5 a
Βίκος-Κριθάρι	6.8 d	39.6 bc	3.2 a	0	2.5 a	0.3 a
Βίκος-Κριθάρι	3.1 e	51.7 bc	2.1 a	0	3.1 a	0.5 a
Βρώμη	3.1 e	21.1 d	1.2 a	0	3.2 a	0.4 a
Βίκος-Βρώμη	7.1 d	23.5 d	1.8 a	0	4.9 a	0.1 a
Βίκος-Βρώμη	19.9 a	24.0 d	2.4 a	0	8.3 a	0.8 a
Βίκος	2.6 e	12.3 e	3.3 a	0	14.5 a	0.9 a

\* Διαφορετικά γράμματα, σε κάθε στήλη, δηλώνουν διαφορές στατιστικώς σημαντικές για  $P = 0.05$  (κριτήριο Duncan)

Από τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας προκύπτει ότι ο καλύτερος συνδυασμός όσον αφορά την απόδοση σε ξηρό χόρτο και ολική πρωτεΐνη ήταν η μονοκαλλιέργεια της βρώμης καθώς και το μίγμα του βίκου με τη βρώμη ή με το κριθάρι σε αναλογία σπόρων 65:35 ή 55:45, αντίστοιχα. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι το καπνόχορτο και η βερόνικα δεν αποτέλεσαν πρόβλημα στις καλλιέργειες, σε αντίθεση με την αγριοβρώμη, η οποία βλάστησε και αναπτύχθηκε σημαντικά σε όλες τις μονοκαλλιέργειες και τα μίγματα, με εξαίρεση την μονοκαλλιέργεια του βίκου, όπου η βλάστηση και η ανάπτυξή της ήταν σημαντικά περιορισμένη.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Caballero R., E.L. Goicoechea, 1986. Utilization of winter cereals as companion crops for common vetch and hairy vetch. Proc. 11<sup>th</sup> General Meet. Of the Eur. Grass. Fed. 379-384.
- Caballero R., E.L. Goicoechea, P.J. Hernaiz, 1995. Forage yields and quality of common vetch and oat sown at varying seeding ratios and seeding rates of vetch. Field Crops Res. 41: 135-140.
- Dhima K.V., I.G. Eleftherohorinos, 2001. Influence of nitrogen on competition between winter cereals and sterile oat. Weed Sci. 49: 77-82.
- Droushiotis D.N., 1989. Mixtures of annual legumes and small-grained cereals for forage production under low rainfall. J. Agr. Sci. 113: 249-253.
- Giacomini S.J., E.R.O. Vendruscolo, M. Cubilla, R.S. Nicoloso, M.R. Fries, 2003. Dry matter, C/N ratio and nitrogen, phosphorus and potassium accumulation in mixed soil cover crops in Southern Brazil. Rev. Bras. Ciencia Solo 27: 325-334.
- Hadjichristodoulou A., 1978. Genotype, environment and rainfall effects on common vetch varieties in a semiarid region. Exp. Agric. 14: 81-87.
- Lawes D.A., D.I.H. Jones, 1971. Yield, nutritive value and ensiling characteristics of whole-crop spring cereals. J. Agric. Sci. 76: 479-485.

- Mas T.M., A.M.C. Verdu, 2003. Tillage effects on weed communities in a 4-year crop rotation under Mediterranean dryland conditions. *Soil Till. Res.* 74: 15-24.
- Osman A.E., N. Nersoyan, 1986. Effect of the proportion of species on the yield and quality of forage mixtures, and on the yield of barley in the following year. *Exp. Agric.* 22: 345-351.
- Papastylianou I., 1990. Response of pure stands and mixtures of cereals and legumes to nitrogen fertilization and residual effects on subsequent barley. *J. Agr. Sci.* 115: 15-22.
- Roberts C.A., K.J. Moore, K.D. Johnson, 1989. Forage quality and yield of wheat-vetch at different stages of maturity and vetch seeding rate. *Agron. J.* 81: 57-60.
- Robinson R.C., 1969. Annual legume-cereal mixtures for forage and seed. *Agron. J.* 61: 759-761.
- Thompson D.J., D.G. Stout, T. Moore, 1992. Forage production by four annual cropping sequences emphasizing barley irrigation in southern interior British Columbia. *Can. J. Plant Sci.* 72: 181-185.
- Thomson E.F., S. Rihawi, N. Nersoyan, 1990. Nutritive value and yields of some forage legumes and barley harvested as immature herbage, hay and straw in North-West Syria. *Exp. Agric.* 26: 49-56.
- Vandermeer J.H., 1990. Intercropping. *Agroecology*. McGraw-Hill (eds.) N.Y. pp. 481-516.

## MIXTURES OF CEREALS AND COMMON VETCH FOR FORAGE PRODUCTION AND THEIR COMPETITION WITH WEEDS

Lithourgidis<sup>1</sup> A.S., K.V. Dhimas<sup>2</sup>, I.B. Vasilakoglou<sup>3</sup> and M.D Yiakoulaki<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Farm of University, Aristotle University of Thessaloniki, 57001 Themi, Greece

<sup>2</sup>Technol. & Educ. Inst. of Thessaloniki, Lab. of Agronomy, Thessaloniki 54101, Greece

<sup>3</sup>Technol. & Educ. Inst. of Larissa, Lab. of Weed Science, Larissa 41110, Greece

<sup>4</sup>Dept. of Forestry and Natural Environment, Aristotle Univ. of Thessaloniki, 54124, Greece

### SUMMARY

Common vetch (*Vicia sativa* L.), wheat (*Triticum aestivum* L.), triticale (*Triticosecale*), barley (*Hordeum vulgare* L.), and oat (*Avena sativa* L.) monocultures as well as eight vetch-cereal bicultures, in two seed ratios (55:45 and 65:35), were planted in a field at the Farm of Aristotle University of Thessaloniki, Greece, to investigate dry yield and crude protein content. The influence of common vetch and four cereal monocultures as well as vetch-cereal bicultures was also assessed on the emergence and growth of weeds. Dry yield increased in oat and triticale monocultures, and in vetch-barley (55:45) and vetch-oat (65:35) bicultures, as compared with the other mixtures. Crude protein content increased in vetch monoculture, and in vetch-oat and vetch-barley mixtures (65:35) as compared with the other crops. Wild oat (*A. sterilis* L.) emergence and growth was reduced in common vetch monoculture as compared with the other cultures. By contrast, no differences were found on fumitory (*Fumaria officinalis* L.) and speedwell (*Veronica hederifolia* L.) emergence and growth in all crops. The results showed that vetch-oat (65:35) mixture gave high dry yield and protein content as compared with the other mixtures. In addition, vetch monoculture showed significant competitive advantage over wild oat.

## ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ *IN VITRO* ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΙΜΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΑΜΠΕΛΟΥ (*VITIS VINIFERA L.*) ΠΡΙΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΞΥΓΙΑΝΣΗ ΤΟΥΣ

Γ. Γραμματικάκη<sup>1</sup>, Α. Αυγελής<sup>2</sup>, Π. Τσικαλάς<sup>1</sup> & Ι. Δανέλη<sup>1</sup>

Εργαστήριο Γεωργίας, ΣΤΕΓ, ΤΕΙ Κρήτης & <sup>2</sup> Εργαστήριο Φυτικής Ιολογίας, ΕΘΙΑΓΕ, Ηράκλειο

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Δέκα πρέμνα (τέσσερα της ποικιλίας Ροδίτης, τρία της ποικιλίας Σαββατιανό και τρία της ποικιλίας Ξινόμαυρο) μολυσμένα με φυτικούς ιούς που ενδημούν στο *Vitis vinifera* [*Nepovirus* (GFLV), *Closterovirus* (GLRaV-2), *Ampelovirus* (GLRV-1, GLRV-3, GLRV-7), *Vitivirus* (GVA), *Carmovirus* (CaMV) και *Maculavirus* (GFkV)] και οι ομόλογοι εξυγιασμένοι κλώνοι τους πολλαπλασιάστηκαν *in vitro*. Η ικανότητα μικροπολλαπλασιασμού αξιολογήθηκε σε δύο υποστρώματα: μικροπολλαπλασιασμού και οργανογένεσης. Η ικανότητα ριζογένεσης και παραγωγής βλαστών *in vitro* επηρεάστηκε αρνητικά από την παρουσία των ιών και ιδιαίτερα στις περιπτώσεις συμπλόκων με τον GFLV, καθώς και από τη σχέση γονότυπος-είδος φυτικού ιού.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αναφορές σχετικές με τη συμπεριφορά μολυσμένων με ιούς φυτών αμπέλου σε καλλιέργεια *in vitro* δεν εμφανίζονται συχνά στη διεθνή βιβλιογραφία. Με βάση τις διαθέσιμες αναφορές φαίνεται ότι η ανάπτυξη των αμπελόφυτων στα διάφορα στάδια της *in vitro* καλλιέργειας επηρεάζεται από την παρουσία των ιών, ενώ το μέγεθος των επιπτώσεων σχετίζεται τόσο με το είδος, όσο και με το συνδυασμό των διαφορετικών ειδών ιών στο μολυσμένο πρέμνο. Πράγματι η ικανότητα ριζοβολίας και βλαστικής ανάπτυξης φαίνεται ότι εξαρτάται εκτός από το γονότυπο και τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των συνθηκών καλλιέργειας *in vitro* καίρια από το επίπεδο υγείας του πρέμνου δωρητή (Walter, 1988, Barba *et al.*, 1989, Abracheva *et al.*, 1994, Gonzalez. *et al.*, 1995, Touegrossa and Bouquet, 1995, Gribaudo *et al.*, 1999, Greno *et al.*, 1998, Γραμματικάκη κ.ά., 2001a).

Προκειμένου να μελετηθεί ο ρόλος της παρουσίας συγκεκριμένων ιών του γένους *Ampelovirus*, *Closterovirus*, *Nepovirus*, *Vitivirus*, *Carmovirus* και *Maculavirus* (Πίνακας 1), σε ορισμένους παραμέτρους του μικροπολλαπλασιασμού τριών σημαντικών οινοποιήσιμων ποικιλιών του ελληνικού αμπελώνα (Ροδίτης, Ξινόμαυρο & Σαββατιανό) πραγματοποιήθηκε σχετική εργασία της οποίας τα αποτελέσματα αναφέρονται στην παρούσα εργασία.

### ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

Χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα πρέμνα της ποικιλίας Ροδίτης (VD μολυσμένο με τους ιούς GVA, GVB & GLRV-3, VE μολυσμένο με GLRV-3, GLRV-7, GVA, GFLV, GFkV & CaMV, VJ μολυσμένο με GLRV-3, GLRV-7 & GVA και V3 μολυσμένο με GLRaV-2, GLRV-3 & GVA), τρία πρέμνα της ποικιλίας Σαββατιανό (V9 μολυσμένο με GLRaV-2, GLRV-3 & GVA, V10 και V12 μολυσμένα με GLRV-3 & GVA) και τρία πρέμνα της ποικιλίας Ξινόμαυρο (VB μολυσμένο με GFkV, VG μολυσμένο με GFLV, GLRaV-2, GLRV-3 & GVA και VH μολυσμένο με GLRaV-2, GLRV-3 & GFLV). Παράλληλα χρησιμοποιήθηκαν τα υγιή ομολογά τους, τα οποία είχαν εξυγιανθεί διαμέσου της θερμοθεραπείας και του μεριστωματικού πολλαπλασιασμού (Γραμματικάκη Κ.ά. 2001b, Γραμματικάκη και Αυγελής, μη δημοσιευμένα στοιχεία). Η μελέτη είχε ως στόχο την αξιολόγηση της συμπεριφοράς των σε καλλιέργεια *in vitro* (α) σε υπόστρωμα μικροπολλαπλασιασμού και (β) σε υπόστρωμα οργανογένεσης (άμεση παραγωγή βλαστών).

Πίνακας 1. Γένη και είδη ιών της αμπέλου που αναφέρονται στην παρούσα μελέτη

Γένος	Είδος
<i>Closterovirus</i>	Ο ιός που σχετίζεται με τη συστροφή των φύλλων της αμπέλου 2 (Grapevine leafroll associated -2, <i>Closterovirus</i> GLRaV-2)
<i>Ampelovirus</i>	Ο ιός της συστροφής των φύλλων της αμπέλου 1 (Grapevine leafroll <i>Ampelovirus</i> -1, GLRV -1)
	Ο ιός της συστροφής των φύλλων της αμπέλου 3 (Grapevine leafroll <i>Ampelovirus</i> -3, GLRV-3)
	Ο ιός της συστροφής των φύλλων της αμπέλου 7 (Grapevine leafroll <i>Ampelovirus</i> -7, GLRV-7)
<i>Nerovirus</i>	Ο ιός του ριπιδωτού φύλλου της αμπέλου (Grapevine fanleaf <i>Nerovirus</i> , GFLV)
<i>Vitivirus</i>	Ο ιός Α της αμπέλου (Grapevine <i>Vitivirus</i> A, GVA)
	Ο ιός Β της αμπέλου (Grapevine <i>Vitivirus</i> B, GVB)
<i>Cannovirus</i>	Ο ιός της ποικιλοχλώρωσης της γαρυφαλλιάς (Camation mottle <i>Cannovirus</i> , CaMV)
<i>Maculavirus</i>	Ο ιός της κηλίδωσης της αμπέλου (Grapevine <i>fleck Maculavirus</i> , GFkV)

Για την επίτευξη του πρώτου στόχου νεαροί βλαστοί προερχόμενοι από τα μολυσμένα και τα υγιή πρέμνα μικροτεμαχίστηκαν, απολυμάνθηκαν σε αλκοόλη (70%) και υποχλωριώδες ασβέστιο (10%), εμφυτεύθηκαν σε υπόστρωμα Zienko *et al.*, (1995), εμπλουτισμένο με 0,7% Agar και 3% σακχαρόζη και μεταφέρθηκαν σε θάλαμο ανάπτυξης ( $25 \pm 0,5$  °C, 16 h φωτοπερίοδο και 5000 Lux), όπου παρέμειναν για 45 περίπου ημέρες. Η διαδικασία μικρο-πολλαπλασιασμού στο ίδιο υπόστρωμα επαναλήφθηκε αρκετές φορές, προκειμένου να δημιουργηθεί ο απαραίτητος αριθμός μικρόφυτων. Ακολούθως τεμαχίστηκαν δημιουργώντας μικρομοσχεύματα-έκφυτα, που περιλάμβαναν ένα μεσογονάτιο διάστημα και τον αντίστοιχο κόμβο και καλλιεργήθηκαν σε τροποποιημένο υπόστρωμα των Zienko *et al.*, (1995) που είχε επιπλέον ινδολοβουτυρικό οξύ (IBA) 0,25 mg/l, agar 8 gr/l και σακχαρόζη 10 gr/l, ενώ το pH ρυθμίστηκε στο 5,8. Συνολικά εμφυτεύτηκαν 20 έκφυτα για κάθε πρέμνο (10 από το μολυσμένο και 10 από το ομόλογο υγιές) και μεταφέρθηκαν στο θάλαμο ανάπτυξης, όπου παρέμειναν για 72 ημέρες. Αμέσως μετά έγινε η εξαγωγή των φυταρίων από τους δοκιμαστικούς σωλήνες και καταγράφηκε ο αριθμός των κόμβων, το μήκος και το νωπό βάρος βλαστού και ρίζας. Μετά από 24 ώρες παραμονής των φυταρίων σε ηλεκτρικό πυριαντήριο (65 °C) έγινε ο προσδιορισμός του ξηρού βάρους βλαστού και ρίζας.

Για την επίτευξη του δεύτερου στόχου και μετά τη διαδικασία μικροπολλαπλασιασμού τα *in vitro* φυτάρια τεμαχίστηκαν, δημιουργώντας μικρομοσχεύματα περίπου ενός cm με ένα οφθαλμό, τα οποία εμφυτεύθηκαν σε τροποποιημένο (προστέθηκαν BAP 1,5 mg/l, σακχαρόζη 3% και agar 7,8 gr/l, το pH - ρυθμίστηκε στο 5,8) υπόστρωμα των Camborg's *et al.* (1968) και μεταφέρθηκαν στο θάλαμο ανάπτυξης. Συνολικά εμφυτεύτηκαν 200 έκφυτα (10 από το μολυσμένο και 10 από το ομόλογο υγιές) και η αξιολόγηση έγινε μετά από 52 ημέρες καταγράφοντας τον αριθμό, το νωπό και ξηρό βάρος των βλαστών ανά έκφυτο.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο υπόστρωμα μικροπολλαπλασιασμού τα μολυσμένα πρέμνα των ποικιλιών Σαββατιανό και Ξινόμαυρο υστέρησαν σημαντικά σε όλα τα καταμετρηθέντα χαρακτηριστικά έναντι των ομολόγων εξυγιασμένων, ενώ για την ποικιλία Ροδίτης υπήρξαν αξιοπρόσεκτες διαφοροποιήσεις μεταξύ των πρέμνων-κλώνων (Πίνακας 2). Συγκεκριμένα στην ποικιλία Σαββατιανό στον εξυγιασμένο κλώνο V9 το μήκος της ρίζας ήταν σχεδόν διπλάσιο συγκριτικά με εκείνο του ομόλογου μολυσμένου, στον κλώνο V10 ήταν σημαντικά μεγαλύτερο το νωπό και ξηρό βάρος βλαστού, ενώ στον κλώνο V12 η ίδια συμπεριφορά παρατηρήθηκε μόνο στα χαρακτηριστικά αριθμός κόμβων και μήκος βλαστού. Ανάλογη συμπεριφορά εμφάνισαν και οι κλώνοι της ποικιλίας Ξινόμαυρο, όπως ο VG του οποίου το ομόλογο εξυγιασμένο έδωσε διαφορές σημαντικές στο μήκος

βλαστού και ρίζας, καθώς και στο νωπό βάρος βλαστού. Στην ποικιλία Ροδίτης δύο κλώνοι, οι VD και VJ, δεν εκδήλωσαν διαφορές μεταξύ του μολυσμένου και ομόλογου εξυγιασμένου, ενώ στον κλώνο v3 οι διαφορές περιορίστηκαν στον αριθμό των κόμβων και στο μήκος του βλαστού σε αντίθεση με τον κλώνο VE, όπου το ομόλογο εξυγιασμένο διαφοροποιήθηκε σημαντικά σε όλα σχεδόν τα χαρακτηριστικά.

**Πίνακας 2:** Επίδραση της ιϊκής μόλυνσης στα χαρακτηριστικά αριθμός κόμβων, μήκος βλαστού και ρίζας, νωπό και ξηρό βάρος βλαστού, νωπό και ξηρό βάρος ρίζας για κάθε πρέμνο αμπέλου πριν και μετά την εξυγιάνσή του καλλιεργούμενο *in vitro* σε υπόστρωμα μικροπολλαπλασιασμού.

		Υγειονομική κατάσταση	Αριθμός κόμβων	Μήκος βλαστού	Μήκος ρίζας	Νωπό βάρος βλαστού	Νωπό βάρος ρίζας	Ξηρό βάρος βλαστού	Ξηρό βάρος ρίζας
Ροδίτης	VD	GVA, GVB, GLRV-3	7,800 a*	9,500 a	10,600 a	0,607 a	0,381 a	0,053 a	0,034 a
		Εξυγιασμένο	4,600 a	6,450 a	7,400 a	0,455 a	0,281 a	0,055 a	0,024 a
	VE	GLRV-3, -7, GVA, GFLV, CaMV, GFkV	0,4 55 b	2,182 b	5,818 b	0,246 a	0,133 b	0,040 a	0,011 b
		Εξυγιασμένο	5,364 a	7,000 a	12,727 a	0,446 a	0,543 a	0,048 a	0,042 a
	VJ	GLRV-3, -7, GVA	8,800 a	8,650 a	11,000 a	0,417 a	0,452 a	0,045 a	0,035 a
		Εξυγιασμένο	3,909 a	5,182 a	11,045 a	0,286 a	0,359 a	0,038 a	0,030 a
V3	GLRaV-2, -3, GVA	4,091 b	4,636 b	11,227 a	0,344 a	0,422 a	0,049 a	0,035 a	
	Εξυγιασμένο	8,091 a	9,409 a	10,455 a	0,555 a	0,421 a	0,052 a	0,035 a	
Σαββατιανό	V9	GLRaV-2, -3, GVA	8,167 a	8,250 a	5,250 b	0,287 a	0,166 a	0,038 a	0,013 a
		Εξυγιασμένο	9,167 a	10,042 a	10,000 a	0,481 a	0,301a	0,050 a	0,018 a
	V10	GLRvc3, GVA	9,500 a	11,458 a	5,500 a	0,353 b	0,169 a	0,036 b	0,012 a
		Εξυγιασμένο	10,917a	13,542 a	6,875 a	0,504 a	0,213 a	0,049 a	0,016 a
	V12	GLRV-3, GVA	6,333 b	8,375 b	7,208 a	0,378 a	0,188 a	0,037 a	0,014 a
		Εξυγιασμένο	9,750 a	11,875 a	8,292 a	0,549 a	0,296 a	0,043 a	0,018 a
Πινόμυρο	VB	GFkV	3,250 b	4,583 b	4,833 a	0,389 a	0,199 a	0,036 a	0,017 a
		Εξυγιασμένο	6,917 a	9,708 a	9,792 a	0,670 a	0,437 a	0,048 a	0,029 a
	VG	GFLV, GLRaV-2, -3, GVA	4,750 a	4,917 b	4,750 b	0,264 b	0,160 a	0,029 a	0,021 a
		Εξυγιασμένο	8,667 a	10,667 a	9,708 a	0,663 a	0,374 a	0,048 a	0,025 a
		GLRV-3, -7, GFkV	4,583 a	4,875 a	4,958 a	0,196 a	0,099 b	0,024 a	0,008 a
	VH	Εξυγιασμένο	4,333 a	6,458 a	7,125 a	0,305 a	0,234 a	0,028 a	0,016 a

\* Οι μέσες τιμές κάθε κλώνου που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά κατά τη δοκιμή Duncan ( $P < 0,5$ ).

Η γενική αξιολόγηση όμως έδειξε ότι η συμπεριφορά των εξυγιασμένων πρέμνων υπήρξε σημαντικά καλύτερη από εκείνη των ομόλογων μολυσμένων (Πίνακας 3).

**Πίνακας 3:** Γενική αξιολόγηση δέκα πρέμνων αμπέλου πριν και μετά την εξυγιάνσή τους καλλιεργούμενα σε υπόστρωμα μικροπολλαπλασιασμού

ΠΡΕΜΝΑ	Αριθμός κόμβων	Μήκος βλαστού	Μήκος ρίζας	Νωπό βάρος βλαστού	Νωπό βάρος ρίζας	Ξηρό βάρος βλαστού	Ξηρό βάρος ρίζας
Πριν της εξυγιάνσης	5,7729 b*	6,7426 b	7,1144b	0,3481 b	0,2369 b	0,0387 b	0,02 b
Μετά την εξυγιάνση	7,1715 a	9,0333 a	9,3419a	0,4914 a	0,3438 a	0,0459 a	0,0253 a

\* Μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά κατά τη δοκιμή Duncan ( $P < 0,5$ ).

Στο υπόστρωμα οργανογένεσης ο αριθμός των βλαστών δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την απουσία ιών στο μητρικό πρέμνο. Πράγματι μόνο στην ποικιλία Σαββατιανό και στον κλώνο V12 διαπιστώθηκε αξιόλογη διαφορά μεταξύ του μολυσμένου και του ομόλογου υγιούς. Σχεδόν ανάλογη ήταν και η εκτίμηση για το νωπό και ξηρό βάρος των βλαστών: εκτός του κλώνου V12, του οποίου διαφοροποιήθηκε θετικά ο εξυγιασμένος κλώνος, παρόμοια συμπεριφέρθηκαν και δύο εξυγιασμένοι κλώνοι της ποικιλίας Ροδίτης, οι VD και VJ (Πίνακας 4).

**Πίνακας 4:** Επίδραση της ιϊκής μόλυνσης στα χαρακτηριστικά αριθμός βλαστών και νωπό και ξηρό βάρος βλαστού για κάθε κλώνο αμπέλου πριν και μετά την εξυγίανσή του καλλιεργούμενος *in vitro* σε υπόστρωμα οργανογένεσης.

Ποικιλία	Πρέμνο - Κλώνος	Υγειονομική κατάσταση	Αριθμός βλαστών	Νωπό βάρος βλαστού	Ξηρό βάρος βλαστού
Ροδίτης	VD	GVA, GVB, GLRV-3	4,200 a*	0,166 b	0,027 b
		Εξυγιασμένο	4,300 a	0,369 a	0,048 a
	VE	GLRV-3, GLRV-7, GVA, GFLV, GFkV, CaMV	4,273 a	0,331 a	0,043 a
		Εξυγιασμένο	5,3636 a	0,307 a	0,037 a
	VJ	GLRaV3, GLRV-7, GVA	3,909 a	0,176b	0,033 b
		Εξυγιασμένο	4,600 a	0,341 a	0,049 a
	V3	GLRaV-2, GLRV-3, GVA	3,636a	0,190 a	0,036 a
		Εξυγιασμένο	3,364 a	0,161 a	0,027 a
Σαββατιανό	V9	GLRaV-2, GLRV-3, GVA	3,833 a	0,161 a	0,023 a
		Εξυγιασμένο	3,167 a	0,192 a	0,022 a
	V10	GLRV-3, GVA	2,917 a	0,111 a	0,018 a
		Εξυγιασμένο	3,417 a	0,158 a	0,039 a
	V12	GLRV-3, GVA	2,833 b	0,087 b	0,016 b
		Εξυγιασμένο	3,727 a	0,181 a	0,025 a
Ξινόμαυρο	YB	GFLV	3,500 a	0,172 a	0,020 a
		Εξυγιασμένο	4,300 a	0,173 a	0,020 a
	VG	GFLV, GLRaV-2, GLRV-3, GVA	2,900 a	0,174 a	0,012 a
		Εξυγιασμένο	3,900 a	0,239 a	0,052 a
	VH	GLRV3, GLRV-7, GFLV	3,556 a	0,205 a	0,022 a
		Εξυγιασμένο	3,111 a	0,123 a	0,019 a

Μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά κατά τη δοκιμή Duncan ( $P < 0,5$ )

Η συνολική αξιολόγηση των πρέμνων, πριν και μετά την εξυγίανση τους, στο υπόστρωμα οργανογένεσης έδειξε ότι τα εξυγιασμένα διαφοροποιήθηκαν θετικά και στατιστικώς σημαντικά έναντι των μολυσμένων (Πίνακας 5).

**Πίνακας 5:** Γενική αξιολόγηση δέκα πρέμων αμπέλου πριν και μετά την εξυγίανσή τους καλλιεργούμενα σε υπόστρωμα οργανογένεσης.

ΠΡΕΜΝΑ	Αριθμός βλαστών	Νωπό βάρος βλαστών	Ξηρό βάρος βλαστών
Πριν της εξυγίανσης	3,557 b*	0,1873 b	0,0251 b
Μετά την εξυγίανση	3,952 a	0,2244 a	0,0338 a

\* Μέσες τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά κατά τη δοκιμή Duncan ( $P < 0.5$ ).

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ -ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα αποτελέσματά της εργασίας φαίνεται ότι υφίσταται αναμφίβολα μια κυριαρχούσα τάση θετικού επηρεασμού αρκετών παραμέτρων του μικροπολλαπλασιασμού και της οργανογένεσης στα εξυγιασμένα πρέμνα των ποικιλιών Ροδίτης, Ξινόμαυρο και Σαββατιανό. Βέβαια, μολονότι ο θετικός ρόλος του επιπέδου υγείας δεν επιβεβαιώθηκε στατιστικώς σε όλα τα υγιή πρέμνα, πρέπει να σημειωθεί ότι δεν διαπιστώθηκε σε καμία περίπτωση ανάλογη υπεροχή μολυσμένου πρέμνου έναντι του εξυγιασμένου ομολόγου του. Η αρνητική επίπτωση της παρουσίας συγκεκριμένου ιού 11 συμπλόκου ιών δεν φαίνεται ότι μπορεί απόλυτα να εξειδικευθεί. Μόνο η παρουσία του GFLV στα μολυσμένα πρέμνα δείχνει ότι δρά αρνητικά στην καλλιέργεια *in vitro*, κυρίως στην ανάπτυξη του βλαστού και των ριζών (κλώνος VE της ποικιλίας Ροδίτης και VG της ποικιλίας Ξινόμαυρο). Μεταξύ των ποικιλιών, αλλά κυρίως μεταξύ των πρέμων-κλώνων της κάθε ποικιλίας διαπιστώθηκε αξιόλογη παραλλακτικότητα, κυρίως στο υπόστρωμα μικροπολλαπλασιασμού.

Το αυξημένο σφρίγος είναι ένα χαρακτηριστικό που έχει διαπιστωθεί σε εξυγιασμένα πρέμνα, τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*, ενώ το μέγεθος της αρνητικής επίπτωσης στην ανάπτυξη των μικρόφυτων αποδόθηκε στο είδος του ιού (Barba *et al.*, 1989, Abracheva *et al.*, 1994). Η μελέτη σε τρεις σημαντικές ελληνικές ποικιλίες αμπέλου επιβεβαίωσε τη σύνθετη σχέση και αλληλοεπίδραση μεταξύ της ποικιλίας III και του πρέμνου-κλώνου και του ήτων φιλοξενούμενων ιών. Εξάλλου η απουσία έντονων επιπτώσεων στα μολυσμένα πρέμνα από ιούς του γένους *Ampelovirus*, *Closterovirus*, *Vitivirus*, *Carmovirus* και *Maculavirus* (με εξαίρεση στην περίπτωση σύνθετης μόλυνσης και με τον GFLV), είτε στον αγρό είτε *in vitro*, πιθανώς να οφείλεται στην πορεία μιας μακροχρόνιας μάλλον συμβιωτικής σχέσης, που αποτελεί στρατηγικό στόχο για τη διαίωνηση υποχρεωτικών παθογόνων, όπως είναι οι φυτικοί ιοί.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abracheva P., Rozenova L. and Todorova M., 1994. L' influence de grapevine fanleaf virus et de stem pitting sur la cultivation de la vigne *in vitro*. *Vitis* 33: 181-182.
- Barba M., Cupidi A. and Faggioli F., 1989. *In vitro* culture of grapevine infected by closterovirus type III. *J. Phytopathology* 126: 225-230
- Camborg O. L., Miller R. A. and Ojima K., 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*, 50: 151-158.
- Gonzalez E., Diaz T. and Mosquera M.V., 1995. Effects of various types of virus on *Vitis vinifera* L. cv. Albarino cultivated *in vitro*. *Vitis*: 34 243-244.
- Γραμματικάκη Γ., Α. Αυγελής, Μ. Κεφαλογιάννη και Π. Τσικαλάς 2001a. Συμπεριφορά κλώνων οινοποιήσιμων ποικιλιών αμπέλου (Αηδάνι, Βάφτρα και Μανδηλαριά) στις *in vitro* συνθήκες. 20<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο, Ελληνικής Εταιρείας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών, 29 Οκτωβρίου - 1 Νοεμβρίου Λάρνακα Κύπρος, σελ. 153.
- Γραμματικάκη Γ., Ε. Αργυράκης, Δ. Παπαδοπούλου και Α. Αυγελής 2001b. Εξυγίανση κλώνων οινοποιήσιμων ποικιλιών αμπέλου (Ροδίτης Ξινόμαυρο, Σαββατιανό) διαμέσου της θερμοθεραπείας και του μεριστωματικού πολλαπλασιασμού *in vitro*. 20<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο, Ελληνικής Εταιρείας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών, 29 Οκτωβρίου - 1 Νοεμβρίου Λάρνακα Κύπρος, σελ. 60.
- Greno V., Navarro L. and Duran-Vila N., 1998. Influence of virus and like agents on the development of citrus butts cultured *in vitro*. *Plant cell, tissue and organ culture* 15: 113-124.
- Gribaudo I., Lisa A., Lenzi R. and Mannini F., 1999. Comportamento *in vitro* di un biotipo di *Vitis vinifera* cv. Albarola, affetto da virosi (GLRa 1 & 3, GVA) e risanato. *Rivista di viticoltura e di enologia* N.2: 3-7.

- Torregrossa L. and Bouquet A., 1995. *In vitro* micropropagation of Vitis x Muscadinia hybrids by microcuttings or axillary budding. *Vitis* 34: 237-238.
- Zlenko V. A., Troshin L. P. and Kotikov I.V., 1995. An optimized medium for clonal micropropagation of grapevine. *Vitis*, 34: 125-126.
- Walter B., 1988. Some examples of the physiological reaction of the vine in the presence of virus. *Bull. O. I. V.* 61: 383-390.

### **BEHAVIOR OF THREE *VITIS VINIFERA* CVS (RODITIS, SAVATIANO AND XINOMAVRO) *IN VITRO* CULTURE BEFORE AND AFTER VIRUS SANITATION**

G. Gramatikaki<sup>1</sup>, A. Avgelis<sup>2</sup>, P. Tsikalas<sup>1</sup> & J.Daneli<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Agronomy Laboratory, School of Agricultural Production, Technological Education Institute of Crete

<sup>2</sup> Plant Virus Laboratory, National Agricultural Research Foundation, Heraklion, Crete, Greece

Ten virus-infected clones and their sanitized homologous (four of cv Roditis three of cv Savatiano and three of cv Xinomavro) were cultivated *in vitro*. The micropropagation efficiency was investigated by evaluation of their behaviour on proliferation and rooting medium. The clones were infected with *Nepovirus* (GFLV), *Closterovirus* (GLRaV-2), *Ampelovirus* (GLRV-1, GLRV-3, GLRV-7), *Vitivirus* (GVA), *Carmovirus* (CarMV) and *Maculavirus* (GFkV) and were sanitized by meristem and thermotherapy. The capacity of rooting and vegetative multiplication *in vitro* of the three checked grapevine cvs decreases due to the virus species infecting the shoot, being more deleterious in the case of GFLV co-infection, and also depending on the host genotype virus species combination.

**ΕΝΟΤΗΤΑ Γ :**  
**Η ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ**

## ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗΝ ΑΝΘΗΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΠΟΓΟΝΩΝ ΥΨΗΛΟ-ΑΠΟΔΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΧΑΜΗΛΟ-ΑΠΟΔΟΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΚΡΙΘΑΡΙΟΥ F<sub>2</sub> ΓΕΝΕΑΣ

Σιστάνης<sup>1</sup> Ι., Λαζαρίδου<sup>2</sup> Θ., Λιθουργίδης<sup>3</sup> Α., Κοτζαμανίδης<sup>4</sup> Σ., Ρουπακιάς<sup>1</sup> Δ.

<sup>1</sup> Εργ. Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών Α.Π.Θ., <sup>2</sup> Ινστιτούτο Ελέγχου Ποικιλιών Καλλιεργούμενων Φυτών, <sup>3</sup> Αγρόκτημα Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, <sup>4</sup> Ινστιτούτο Σιτηρών Θεσσαλονίκης ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μελετήθηκε η ανταπόκριση στην *in-vitro* καλλιέργεια ανθέρων απογόνων υψηλο-αποδοτικών και χαμηλο-αποδοτικών φυτών κριθαριού F<sub>2</sub> γενεάς, που είχαν επιλεγεί σε δύο πυκνότητες σποράς: αραιή (κυψελωτή γενεαλογική) και πυκνή (συμβατική γενεαλογική). Ως γονείς για τη δημιουργία της F<sub>1</sub> χρησιμοποιήθηκαν οι ποικιλίες Νίκη και Καρίνα. Τα στάχυα συγκομιζόνταν όταν τα μειοσπάρια βρίσκονταν στο μέσο μονοπύρηνιο στάδιο και διατηρούνταν σε θερμοκρασία 4°C για 28 ημέρες. Οι ανθήρες τοποθετούνταν σε θρεπτικό υπόστρωμα FHG και τα εμβρυοειδή σε υπόστρωμα αναγέννησης της ίδιας σύστασης. Τα πράσινα φυτά μεταφέρονταν σε υπόστρωμα ½ MS. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 60 διαφορετικές οικογένειες, εκ' των οποίων αντέδρασαν οι 29. Από αυτές μόνο οι 11 οικογένειες παρήγαγαν πράσινα φυτά (συνολικά παρήχθησαν 55 πράσινα φυτά), με μέσο όρο 1,7 πράσινα φυτά /100 ανθήρες. Τα 17 από αυτά προέρχονταν από τα αραιά υψηλο-αποδοτικά (1,92 φυτά /100 ανθήρες), τα 34 από τα πυκνά υψηλο-αποδοτικά (1,77 φυτά /100 ανθήρες), τα 4 από τα αραιά χαμηλο-αποδοτικά (0,91 φυτά /100 ανθήρες), ενώ κανένα πράσινο φυτό δεν παρήχθη από τα πυκνά χαμηλο-αποδοτικά. Το 72,7% των πράσινων φυτών ήταν γόνιμα και παρήγαγαν σπόρο. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι το 82% των οικογενειών που παρήγαγαν πράσινα φυτά προήλθαν από τους υψηλο-αποδοτικούς γενοτύπους, ανεξάρτητα από την μέθοδο επιλογής τους. Επιπλέον, από τις οικογένειες που αντέδρασαν, η ικανότητα αναγέννησης πράσινων φυτών ήταν μεγαλύτερη στις υψηλο-αποδοτικές από ότι στις χαμηλο-αποδοτικές.

Λέξεις κλειδιά: **Ανθηροκαλλιέργεια, απόγονοι, υψηλο-αποδοτικά, χαμηλο-αποδοτικά φυτά, κριθάρι.**

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η δημιουργία μίας καθαρής σειράς είναι ως γνωστό μια επίπονη διαδικασία η οποία απαιτεί μεγάλο χρονικό διάστημα. Με τις συμβατικές μεθόδους βελτίωσης χρειάζονται επαναλαμβανόμενοι κύκλοι επιλογής για τον εντοπισμό του πλέον υποσχόμενου γενετικού υλικού, καθώς και για την επίτευξη ομοζυγωτίας (Bingham 1975), ενώ στη συνέχεια εγκαθίστανται πολυετή-πειράματα αξιολόγησης. Η συνολική διάρκεια μιας τέτοιας διαδικασίας ανέρχεται στα δώδεκα περίπου χρόνια όταν εφαρμόζεται η γενεαλογική μέθοδος (Καλοϊτίκης 1989).

Η χρονοβόρα αυτή διαδικασία μπορεί να επιταχυνθεί με τη χρησιμοποίηση της *in vitro* καλλιέργειας ανθέρων, δεδομένου ότι με τον τρόπο αυτό η ομοζυγωτία επιτυγχάνεται σε μία μόνο γενεά. Η βιοτεχνολογική αυτή τεχνική αποσκοπεί στην ταχύτατη παραγωγή διαπλοειδών φυτών (Subrahmanyam και Kasha 1975), με απώτερο στόχο τη δημιουργία νέων ποικιλιών στο συντομότερο δυνατό χρονικό διάστημα (Devaux κ.ά. 1996).

Η εξοικονόμηση χρόνου με την εφαρμογή της συγκεκριμένης μεθόδου εξαρτάται από την απόφαση του βελτιωτή για την επιλογή της γενεάς εκκίνησης της καλλιέργειας των ανθέρων. Στην περίπτωση της F<sub>1</sub> ο χρόνος που απαιτείται για τη δημιουργία της νέας ποικιλίας είναι ο μικρότερος δυνατός. Ωστόσο επειδή στη γενεά αυτή έχει συντελεστεί μόνο μία φορά η διαδικασία της μείωσης, ο αριθμός των επιθυμητών ανασυνδυασμών είναι περιορισμένος (De Buyser κ.ά. 1985). Προκειμένου να αυξηθούν οι μειωτικοί ανασυνδυασμοί υποδεικνύεται η ανάγκη χρησιμοποίησης πιο προχωρημένων γενεών (Snape και Simpson 1981), με άμεσο αποτέλεσμα την καθυστέρηση στη δημιουργία των καθαρών σειρών. Άλλωστε, η επιλογή της καταλληλότερης γενεάς για να ξεκινήσει κανείς ανθηροκαλλιέργεια εξαρτάται και από την ανδρογενετική ικανότητα του γενετικού υλικού στις διάφορες γενεές (Deaton κ.ά. 1987, Ζαμάνη 2001). Μάλιστα, σε πολλές εργασίες γίνεται λόγος για υπεροχή της F<sub>2</sub> σε σχέση με την F<sub>1</sub> ως προς την αντίδραση στην καλλιέργεια ανθέρων (Piccard κ.ά. 1990, Ζαμάνη 2001).

Την καλλιεργητική περίοδο 1996-97 ξεκίνησε ένα βελτιωτικό πρόγραμμα με τη συνεργασία του Ινστιτούτου Σιτηρών και του Εργαστηρίου Βελτίωσης Φυτών του Α.Π.Θ., με στόχο τη σύγκριση της αποτελεσματικότητας της γενεαλογικής επιλογής στο κριθάρι σε δύο πυκνότητες σποράς: απουσία ανταγωνισμού (κυψελωτή γενεαλογική) και σε συνθήκες ανταγωνισμού (συμβατική γενεαλογική). Μετά από δύο καλλιεργητικές περιόδους και όταν πλέον είχε γίνει επιλογή του πλέον υποσχόμενου υλικού με τις δύο μεθόδους, εφαρμόστηκε *in vitro* καλλιέργεια ανθών, ώστε να εξεταστεί αν με την ανθηροκαλλιέργεια είναι δυνατόν, σε σύντομο χρονικό διάστημα, να δημιουργηθούν καθαρές σειρές ανταγωνιστικές με αυτές που θα αποκτηθούν από τις δύο βελτιωτικές μεθόδους που εφαρμόζονται στο χωράφι. Αρχικά χρησιμοποιήθηκε η F<sub>2</sub> γενεά (Λαζαρίδου κ.ά. 2002) και στη συνέχεια δοκιμάστηκε και η F<sub>3</sub>. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να αξιολογηθεί η ανταπόκριση στην ανθηροκαλλιέργεια των απογόνων υψηλο-αποδοτικών και χαμηλο-αποδοτικών φυτών κριθαριού F<sub>2</sub> γενεάς, που επιλέχθηκαν σε δύο πυκνότητες σποράς, αραιή (κυψελωτή γενεαλογική) και πυκνή (συμβατική γενεαλογική).

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν σπόρος F<sub>2</sub> γενεάς της διασταύρωσης δύο ποικιλιών κριθαριού (Νίκης x Καρίνα), η οποία είχε επλεγεί ως η καλύτερη μεταξύ έξι F<sub>1</sub> διασταυρώσεων. Στην διασταύρωση αυτή έγινε επιλογή μετά από δύο γενεές αξιολόγησης σε πυκνή (συμβατική γενεαλογική επιλογή) και αραιή (κυψελωτή γενεαλογική) σπορά των 30 υψηλο-αποδοτικότερων (15 πυκνής και 15 αραιής σποράς) και των 30 χαμηλο-αποδοτικότερων (15 πυκνής και 15 αραιής σποράς) φυτών (Κοτζαμανίδης 2001).

Ο επιλεγμένος κατ' αυτόν τον τρόπο F<sub>2</sub> σπόρος χρησιμοποιήθηκε το φθινόπωρο του 2002 για σπορά σε αγροτεμάχιο του Αγροκτήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, έτσι ώστε τα φυτά F<sub>3</sub> γενεάς να χρησιμοποιηθούν στην ανθηροκαλλιέργεια. Σε όλη τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου και μέχρι τη συγκομιδή των στάχων, ο πειραματικός αγρός διατηρήθηκε καθαρός από ζιζάνια χωρίς την εφαρμογή χημικών μέσων, για να αποφευχθεί ο ανταγωνισμός και να μπορέσουν τα φυτά να εκδηλώσουν πλήρως το δυναμικό τους.

Για την καλλιέργεια των ανθών τα στάχια συγκομίζονταν από τον αγρό όταν το φύλλο σημαία είχε απόσταση 1-2 cm από το προτελευταίο φύλλο. Στη συνέχεια τοποθετούνταν σε κωνικές φιάλες που περιείχαν νερό βρύσης, καλύπτονταν με σακούλες και μεταφέρονταν σε ψυκτικό θάλαμο θερμοκρασίας 4°C, για να υποστούν την επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών. Μετά από παραμονή 28 ημερών στις παραπάνω συνθήκες, οι ανθές των οποίων τα μειοσπόρια βρίσκονταν στο μέσο μονοπύρηνου στάδιο απολυμαίνονταν με εφαρμογή αλκοόλης 70% για 5min και διαλύματος υποχλωριώδους νατρίου για 20min, ενώ ακολουθούσαν 2-3 ξεπλύματα με αποσταγμένο- αποστειρωμένο νερό. Στη συνέχεια οι ανθές τοποθετούνταν σε θρεπτικό υπόστρωμα FHG (Hunter 1987) με προσθήκη ορμονών 2,4D και κιντίνης σε ποσότητες 2mg/lit και 0,5mg/lit αντίστοιχα (Λαζαρίδου κ.ά. 2002). Σε κάθε τρυβλίο τοποθετούνταν 50-60 ανθές που προέρχονταν από ένα στάχυ. Τα τρυβλία μεταφέρονταν σε θάλαμο ανάπτυξης με θερμοκρασία 24°C στο σκοτάδι για τουλάχιστον 3 εβδομάδες, έως τον σχηματισμό των εμβρυοειδών. Στη συνέχεια, τα εμβρυοειδή μεταφέρονταν σε υπόστρωμα αναγέννησης της ίδιας σύστασης και διατηρούνταν σε θάλαμο ανάπτυξης στους 24°C με φωτοπερίοδο 16 ωρών. Όσα από τα εμβρυοειδή εξελίσσονταν σε φυτάρια, μεταφέρονταν σε υπόστρωμα ½ MS χωρίς ορμόνες για ριζοβολία. Όταν τα φυτάρια αποκτούσαν ικανοποιητικό μέγεθος, μεταφυτεύονταν σε γλαστράκια σε ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας 24/16°C, φωτοπερίοδο 16 ωρών και περιβάλλον αυξημένης υγρασίας με σκοπό την αποφυγή της καταπόνησης μετά την έξοδο από τις *in vitro* συνθήκες. Ακολούθως, μεταφυτεύονταν σε μεγαλύτερες γλάστρες και παρέμεναν εκεί ως το στάδιο της ωρίμανσης και της παραγωγής σπόρου. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση του z-κριτηρίου.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τις 60 συνολικά οικογένειες που χρησιμοποιήθηκαν στην ανθηροκαλλιέργεια εμβρυοειδή σχημάτισαν μόνο οι 29 (48%) (Πίνακας 1). Από τις οικογένειες αυτές οι 20 (69%) προέρχονταν από τους υψηλο-αποδοτικούς γενοτύπους και μόνο οι 9 (31%) από τους χαμηλο-αποδοτικούς. Επιπλέον, βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών που προέρχονταν από την κυψελωτή γενεαλογική (14 οικογένειες) και εκείνων της συμβατικής γενεαλογικής (15 οικογένειες) επιλογής (Πίνακας 1). Λαμβάνοντας υπόψη ότι όλα τα φυτά δέχτηκαν την ίδια ακριβώς μεταχείριση και ότι καλλιεργήθηκαν στο ίδιο περιβάλλον, επιβεβαιώνεται η επίδραση του γενότυπου στην ανδρογενετική ικανότητα (Huang κ.ά. 1984, Ζαμάνη 2001). Όσον αφορά την

παραγωγή εμβρυοειδών, στις οικογένειες που αντέδρασαν, φαίνεται ότι οι υψηλο-αποδοτικές οικογένειες δεν διέφεραν σημαντικά από τις χαμηλο-αποδοτικές, ενώ αντιθέτως, από τις οικογένειες που επιλέχθηκαν με την κυψελωτή μέθοδο παρήχθησαν σημαντικά περισσότερα εμβρυοειδή ανά 100 ανθήρες (55,44) από αυτές που επιλέχθηκαν με τη γενεαλογική (43,88) (Πίνακας 1).

Από τις 25 συνολικά οικογένειες που παρήγαγαν αλβίνα φυτά οι 18 (72%) προέρχονταν από υψηλο-αποδοτικούς γενοτύπους και οι 7 (28%) από χαμηλο-αποδοτικούς, ενώ δεν υπήρχαν διαφορές στο αριθμό των οικογενειών που προήλθαν από την κυψελωτή (13 οικογένειες) ή την γενεαλογική (12 οικογένειες) επιλογή (Πίνακας 2). Όσον αφορά το ποσοστό των αλβίνων φυτών των οικογενειών που αντέδρασαν, ήταν μεγαλύτερο στις χαμηλο-αποδοτικές οικογένειες (9,39%) από ότι στις υψηλο-αποδοτικές (6,9%), ενώ δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων επιλογής (κυψελωτή 7,62 αλβίνα /100 ανθήρες και γενεαλογική 7,14 αλβίνα /100 ανθήρες).

Από τις 11 συνολικά οικογένειες που παρήγαγαν πράσινα φυτά οι 9 (82%) προέρχονταν από υψηλο-αποδοτικούς γενοτύπους και μόνο οι 2 (18%) από χαμηλο-αποδοτικούς, ενώ δεν υπήρχαν διαφορές στο αριθμό των οικογενειών που προήλθαν από την κυψελωτή (6 οικογένειες) ή την γενεαλογική (5 οικογένειες) επιλογή (Πίνακας 3). Όσον αφορά το ποσοστό αναγέννησης πράσινων φυτών στις οικογένειες που αντέδρασαν, ήταν μεγαλύτερο στις υψηλο-αποδοτικές οικογένειες (1,79%) από ότι στις χαμηλο-αποδοτικές (0,91%), ενώ δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων επιλογής (κυψελωτή 1,58% και γενεαλογική 1,77%) (Πίνακας 3).

**Πίνακας 1.** Ποσοστά εμβρυοειδών δομών που παρήχθησαν από την ανθηροκαλλιέργεια απογόνων υψηλο-αποδοτικών και χαμηλο-αποδοτικών φυτών F<sub>2</sub> γενεάς.

<b>Σύγκριση εμβρυοειδών δομών</b>			
	<b>Συνολικός αριθμός οικογενειών</b>	<b>Αριθμός οικογενειών που αντέδρασαν</b>	<b>Αριθμός εμβ/δών / 100 ανθήρες</b>
<b><u>Κυψελωτή</u></b>	30	14	55,44 <sup>a</sup>
Υψηλό αποδοτικά	15	9	55,13 <sup>a</sup>
Χαμηλο-αποδοτικά	15	5	56,16 <sup>a</sup>
<b><u>Γενεαλογική</u></b>	30	15	43,88 <sup>b</sup>
Υψηλό αποδοτικά	15	11	46,22 <sup>b</sup>
Χαμηλο-αποδοτικά	15	4	20,70 <sup>c</sup>
<b><u>Σύνολο</u></b>	60	29	49,8
<b><u>Μέσοι όροι</u></b>			
Υψηλο-αποδοτικών			<b>50,24 NS</b>
Χαμηλο-αποδοτικών			<b>48,42 NS</b>

<sup>a</sup> διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν διαφορές στατιστικώς σημαντικές για P=0,05.

**Πίνακας 2.** Ποσοστά αλβίνων φυτών που αναγεννήθηκαν από την ανθηροκαλλιέργεια απογόνων υψηλο-αποδοτικών και χαμηλο-αποδοτικών φυτών F<sub>2</sub> γενεάς.

<b>Σύγκριση αλβίνων φυτών</b>			
	<b>Συνολικός αριθμός οικογενειών</b>	<b>Αριθμός οικογενειών που αντέδρασαν</b>	<b>Αριθμός αλβίνων φυτών/100ανθήρες</b>
<b>Κυψελωτή</b>	30	13	7,62a <sup>†</sup>
Υψηλο-αποδοτικά	15	8	6,61a
Χαμηλο-αποδοτικά	15	5	9,81b
<b>Γενεαλογική</b>	30	12	7,08a
Υψηλο-αποδοτικά	15	10	7,14a
Χαμηλο-αποδοτικά	15	2	5,55c
<b>Σύνολο</b>	60	25	7,36
<b>Μέσοι όροι</b>			
Υψηλο-αποδοτικών			6,90 <sup>*</sup>
Χαμηλο-αποδοτικών			9,39 <sup>*</sup>

<sup>†</sup> διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν διαφορές στατιστικώς σημαντικές για P=0,05.

\* διαφορές στατιστικώς σημαντικές για P=0,05.

Ως προς την αναλογία των 1,7 πράσινων φυτών /100 ανθήρες, κρίνεται χαμηλή συγκρινόμενη με τα ποσοστά που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία. Συγκεκριμένα, ο Olsen (1987) αναφέρει ότι πήρε 464 πράσινα φυτά /100 ανθήρες στην ποικιλία κριθαριού 'Igti', ενώ ο Kao κ.ά. (1991) πήραν 13 πράσινα /100 ανθήρες. Αν ωστόσο ληφθεί υπόψη η μηδενική παραγωγή πράσινων φυτών από τον γονέα Νίκη και το χαμηλό αντίστοιχο ποσοστό ( 6,9 πράσινα φυτά /100 ανθήρες) του δεύτερου γονέα Καρίνα (Λαζαρίδου κ.ά 2002), τότε δικαιολογείται η μικρή ανταπόκριση της F<sub>3</sub> γενεάς. Συνολικά παρήχθησαν 55 πράσινα φυτά με τα 17 από αυτά να προέρχονται από τα αραιά υψηλο- αποδοτικά (1,92 φυτά /100 ανθήρες), τα 34 από τα πυκνά υψηλο-αποδοτικά (1,77 φυτά /100 ανθήρες), τα 4 από τα αραιά χαμηλο-αποδοτικά (0,91 φυτά /100 ανθήρες), ενώ κανένα πράσινο φυτό δεν παρήχθη από τα πυκνά χαμηλο-αποδοτικά.

**Πίνακας 3.** Ποσοστά πράσινων φυτών που αναγεννήθηκαν από την ανθηροκαλλιέργεια απογόνων υψηλο-αποδοτικών και χαμηλο-αποδοτικών φυτών F<sub>2</sub> γενεάς.

<b>Σύγκριση πράσινων φυτών</b>			
	<b>Συνολικός αριθμός οικογενειών</b>	<b>Αριθμός οικογενειών που αντέδρασαν</b>	<b>Αριθμός πράσινων φυτών/100ανθήρες</b>
<b>Κυψελωτή</b>	30	6	1,58a
Υψηλο-αποδοτικά	15	4	1,92a
Χαμηλο-αποδοτικά	15	2	0,91a
<b>Γενεαλογική</b>	30	5	1,77a
Υψηλο-αποδοτικά	15	5	1,77a
Χαμηλο-αποδοτικά	15	0	0,00b
<b>Σύνολο</b>	60	11	1,7
<b>Μέσοι όροι</b>			
Υψηλό-αποδοτικών			1,79 <sup>**</sup>
Χαμηλό-αποδοτικών			0,91 <sup>**</sup>

<sup>†</sup> διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν διαφορές στατιστικώς σημαντικές για P=0,05.

\*\*οι διαφορές είναι σημαντικές για P=0,01.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι από τις 29 οικογένειες που αντέδρασαν δημιουργώντας εμβρυοειδή, οι 25 εμφάνισαν και αναγεννητική ικανότητα, δίνοντας φυτά (αλβίνα), ενώ μόνο οι 11 σχημάτισαν πράσινα φυτά. Τα στοιχεία αυτά επιβεβαιώνουν ότι η ικανότητα εμβρυογένεσης ενός γενοτύπου και η δυνατότητα

αναγέννησης φυτών είναι δύο διαφορετικά χαρακτηριστικά (Bregister 1992). Ένα άλλο σημαντικό στοιχείο είναι η υψηλή αναλογία των αλβίνων φυτών σε σχέση με τα πράσινα, που ανέρχεται στο 91,4%. Βέβαια στην περίπτωση του κριθαριού τέτοια ποσοστά δεν είναι ασυνήθιστα. Ο Wilson (1977) ανέφερε ποσοστό αλβίνων 85%, ενώ οι Caredda και Clement (1999) έκαναν λόγο για αναλογία 99% αλβίνων προς πράσινα φυτά.

Το 72,7% των πράσινων φυτών ήταν γόνιμα και παρήγαγαν σπόρο. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε ήταν αποτελεσματική όσον αφορά στον αυτόματο διπλασιασμό του χρωμοσωμικού αριθμού των παραγόμενων πράσινων φυτών. Μάλιστα σύμφωνα με τον Szarejko κ.ά. (1997), όταν το ποσοστό του αυτόματου διπλασιασμού υπερβαίνει το 70%, δεν καθίσταται απαραίτητη η χρήση κάποιου αντιμιτωτικού παράγοντα, όπως είναι η κολχικίνη, για τη μετατροπή των απλοειδών σε διαπλοειδή.

Διαθέτοντας δεδομένα από την ανταπόκριση στην ανθηροκαλλιέργεια της διασταύρωσης Νίκη x Καρίνα στην  $F_2$  γενεά (Λαζαρίδου κ.ά. 2002), έγινε σύγκριση με τα αποτελέσματα που πάρθηκαν στην  $F_3$ , ώστε να δοθεί απάντηση στο ερώτημα για την καταλληλότερη γενεά εκκίνησης της *in vitro* καλλιέργειας ανθών. Από τη σύγκριση προέκυψε ότι η  $F_2$  υπερείχε σημαντικά έναντι της  $F_3$  ως προς την ανταπόκριση στην ανθηροκαλλιέργεια, ωστόσο η υπεροχή αυτή δεν ήταν σημαντική στη φάση της αναγέννησης των πράσινων φυτών που προέρχονταν από τις υψηλο-αποδοτικές οικογένειες. Έτσι λοιπόν παρά το ότι η  $F_2$  γενεά αντιδρά καλύτερα σε σχέση με την  $F_3$ , γίνεται αντιληπτό ότι ο βελτιωτής μπορεί να καθυστερήσει την ανθηροκαλλιέργεια κατά μια γενεά και επιλέγοντας για απόδοση στην  $F_2$ , να εφαρμόσει την *in vitro* τεχνική στην  $F_3$ , αποκλειστικά στις υψηλο-αποδοτικές οικογένειες, χωρίς να υφίσταται σημαντικές απώλειες ως προς την παραγωγή πράσινων φυτών. Άλλωστε μια τέτοια πρακτική παρέχει τη δυνατότητα για μείωση των γενεοτύπων που προορίζονται για ανθηροκαλλιέργεια, με άμεση εξοικονόμηση χρόνου και χρήματος. Από τα δεδομένα της εργασίας αυτής φαίνεται ότι οι υψηλο-αποδοτικοί γενότυποι παρήγαγαν περισσότερα πράσινα φυτά και λιγότερα αλβίνα σε σχέση με τους χαμηλο-αποδοτικούς.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bregister P., 1992. Plant regeneration and callus type in Barley: Effects of genotype and culture medium. *Crop Sci.* 32:1108-1112.
- Bingham J., 1975. Winter wheat breeding methods and prospects. *J. Agric. Soc. Engl* 136: 65-67.
- Caredda S. and C.Clement, 1999. Androgenesis and albinism in Poaceae: influence of genotype and carbohydrates. In: Anther and Pollen. *Form Biology of Biotechnology*. Clement, C., E. Pacini and J.-C. Audran (Eds.) Springer-Verlag, Berlin, pp. 211-228.
- Deaton W.R., Metz, S.G., Armstrong, T.A. and Marcia P.N., 1987. Genetic analysis of the anther culture response of three spring wheat crosses. *Theor Appl. Gen.* 74:334-338.
- Deavaux P.M., Zivy, A., Kilian and A. Kleinhofs, 1996. Doubled haploids in barley. In: Proc. V International Oat Conference and VII International Barley Genetics Symposium. Scoles, G. and B. Rossnagel (Eds.) Univ. of Saskatchewan, Saskatoon, pp 213-222.
- De Buyser J., Y. Henry and G. Taleb, 1985. Wheat androgenesis: Cytogenetical analysis and agronomic performance of double haploids. *Z. Pflanzenzucht.* 95:24-33.
- Huang B., J. M. Dunwell, W. Powell, A. M. Hayter and W. Wood, 1984. The relative efficiency of microscope culture and chromosome elimination as methods of haploid production in *Hordeum vulgare* L. *Z. Pflanzenzucht.* 92: 22-29.
- Hunter G.P., 1987. Plant regeneration method. Australian Patent Application no. AU-A-7271. *Shell Int. Res.*
- Καλτσίκης Π. Ι., 1989. Βελτίωση Φυτών. Αρχές και μέθοδοι. Πειραιάς. Εκδόσεις Α. Σταμούλης, σελ. 535.
- Kao K.N., M. Saleem, S. Abrams, M. Pedras, D. Horn, and C. Mallard, 1991. Culture conditions for induction of green plants from barley microspores by anther culture methods. *Plant Cell Rep.* 9:595-601.
- Κοτζαμανίδης Σ.Θ., 2001. Αποτελεσματικότητα επιλογής στις πρώτες γενεές σε δύο πυκνότητες σποράς στο κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.). Διδακτορική διατριβή. Θεσσαλονίκη.
- Λαζαρίδου Θ.Β., Λιθουργίδης Α.Σ., Κοτζαμανίδης Σ.Θ., και Ρουπακιάς Δ.Γ., 2002. Πρακτικά 9<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Γενετικής Βελτίωσης φυτών. Θεσσαλονίκη, 30 Οκτ.-1 Νοεμβρ. 2002: 305-309.
- Olsen F.L., 1987. Induction of microspore embryogenesis in cultured anthers of *Hordeum vulgare* : The effects of ammoniumnitrate, Glutamine and Asparagine as nitrogen sources. *Carlsberg Res. Commun.* 52:393-404.
- Piccard E., A. Rode, G. Doussinault, M. Rousset and M. Rives, 1990. Wheat (*Triticum aestivum* L.): *In vitro* production and utilization of double haploids. In Y.P.S Bajaj (ed) *Haploids in crop improvement*. Vol I. Pages 101-124. Springer-Verlag, Berlin.
- Snape J.W. and E. Simpson, 1981. The genetical expectations of doubled haploid lines derived from different filial generations. *Heredity* 42: 291-298.
- Subrahmanyam N.C. and Kasha K.J., 1975. Chromosome doubling of barley haploids by nitrous oxide and colchicines treatments. *Can. J. Genet. Cytol.* 17:573-583.

- Szarejko I., D. E. Falk, A. Janusz and D. Nabialkowska, 1997. Cytological and genetic evaluation of anther culture-derived double haploids in barley. *J. Appl. Genet.* 38(4):437-452.
- Wilson H.M., 1977. Culture of whole barley spikes stimulates high frequencies of pollen calluses in individual anthers. *Plant Sci Lett* 9:233-238.
- Ζαμάνη Ι.Α., 2001. Αντίδραση ελληνικών ποικιλιών σιταριού στην *in vitro* καλλιέργεια ανθέρων και δημιουργία καθαρών σειρών. Διδακτορική Διατριβή. Θεσσαλονίκη.

## **RESPONSE TO IN-VITRO ANTHER CULTURE OF F<sub>3</sub> FAMILIES ORIGINATING FROM HIGH- AND LOW-YIELDING F<sub>2</sub> BARLEY PLANTS**

**Sistanis<sup>1</sup> I., Lazaridou<sup>2</sup> T., Lithourgidis<sup>3</sup> A., Kotzamanidis<sup>4</sup> S. and Roupakias<sup>1</sup> D.**

<sup>1</sup> Lab. of Genetics and Plant Breeding, Univ. of Thessaloniki, <sup>2</sup> Variety Institute of Cultivated Plants

<sup>3</sup> University Farm of Thessaloniki, <sup>4</sup> Cereal Institute of Thessaloniki, NA.GR.E.F.

### **SUMMARY**

The *in-vitro* culture response of anthers, originating from progeny of high and low yielding F<sub>2</sub> barley plants selected under low (honeycomb pedigree) and high (conventional pedigree) plant density, was investigated. The F<sub>1</sub> hybrid used was the cross Nike X Karina. Young spikes were collected when microspores reached the mean-to-late uninucleate stage and were kept under 4C for 28 days. Anthers were then cultured in FHG medium and the produced embryoids were then transferred to a regeneration medium of the same composition. The green plants produced were transferred to a 1/2MS culture medium. Progeny from 60 different F<sub>2</sub> plants (families) were studied and only 29 of them responded to *in-vitro* culture. From the 29 families responded, only 11 produced green plants (55 plants were produced in total). The mean number of green plants produced per 100 anthers was 1.7. From the 55 green plants produced, 17 (1.92 plants/100 anthers) originated from the high yielding F<sub>2</sub> plants selected at low plant density, 34 (1.77 plants/100 anthers) originated from the high yielding F<sub>2</sub> plants selected at high plant density, and 4 (0.91 plants/100 anthers) originated from the low yielding plants selected at low plant density. However, no green plants were produced from anthers originating from low yielding F<sub>2</sub> plants selected at high plant density. From the green plants produced, 72.7% were fertile and produced seeds. It was observed that 82% of the families that produced green plants originated from the high yielding F<sub>2</sub> plants no matter whether they were selected under high or low plant density. Finally, from the families that produced green plants, anthers originating from the high yielding families produced more green plants per 100 anthers than the low yielding ones.

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑΣ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ  
ΑΓΓΟΥΡΙΟΥ (*Cucumis sativus*) ΜΕ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ (RAPDs) ΚΑΙ  
ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ**

**X. Παυλικάκη, Ν. Σίμος, και Ν. Φανουράκης**

ΤΕΙ Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, 71500  
Ηράκλειο

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Ο προσδιορισμός της γενετικής ποικιλομορφίας ανάμεσα σε διαφορετικές ποικιλίες αγγουριού με ανάλυση μοριακών δεικτών RAPDs και με περιγραφή μορφολογικών χαρακτηριστικών του φυτού και του καρπού, ήταν το αντικείμενο της παρούσας εργασίας. Χρησιμοποιήθηκαν οι εξής οκτώ παραδοσιακές ποικιλίες από διαφορετικές περιοχές της χώρας: Κνωσός, Καλύβια, Κρήτη 1, Κρήτη 2, Κρήτη 3, Κως 2, Ικαρία και Σάμος. Η περιγραφή περιέλαβε τα εξής εννέα μορφολογικά χαρακτηριστικά: πικρότητα, χρώμα άωρου καρπού, χρώμα ώριμου καρπού, χρώμα μέγεθος και πυκνότητα τριχώματος, στιλπνότητα επιδερμίδας, παρθενοκαρπία και έκφραση του φύλου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ποικιλίες αυτές έχουν παρόμοια μορφολογικά χαρακτηριστικά με μικρές διαφορές ανάμεσα στα άτομα κάθε ποικιλίας.

Η γενετική ανάλυση με μοριακούς δείκτες RAPDs, έδειξε ότι υπάρχει γενετική ποικιλομορφία μεταξύ των ποικιλιών καθώς και σημαντικός αριθμός πολυμορφισμών μεταξύ των φυτών κάθε ποικιλίας. Η ανάλυση 68 μοριακών δεικτών έδειξε ότι οι ποικιλίες Κνωσός και Καλύβια, αν και προέρχονται από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές της χώρας, έχουν μεταξύ τους μικρή γενετική απόσταση και ομαδοποιούνται στον ίδιο κλάδο του δενδρογράμματος. Η γενετική απόσταση ανάμεσα στις υπόλοιπες ποικιλίες είναι σχετικά μικρή και φαίνεται να σχετίζεται με τη μεταξύ τους γεωγραφική απόσταση. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας αποτελούν μέρος της περιγραφής και ανάλυσης των ελληνικών ποικιλιών αγγουριού, η ολοκλήρωση των οποίων αναμένεται να συμβάλει στην ταυτοποίηση τους και στη διευκόλυνση της βελτιωτικής διαδικασίας.

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΣΚΟΠΟΣ**

Η γενετική ανάλυση με μοριακούς δείκτες RAPDs είναι αρκετά δημοφιλής μέθοδος για τον καθορισμό των φυλογενετικών σχέσεων και της γενετικής ποικιλομορφίας αλλά μόνο σχετικά πρόσφατα έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη του αγγουριού και συγγενικών του ειδών. Η πρώτη αναφορά εφαρμογής της μεθοδολογίας αυτής στη μελέτη του αγγουριού έγινε από τους Poeter *et al.* (1992) οι οποίοι μελέτησαν διάφορες μεθόδους απομόνωσης του DNA και τη δυνατότητα επανάληψης των αποτελεσμάτων της ανάλυσης με RAPDs. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι το πρότυπο των μοριακών δεικτών RAPDs στο αγγούρι δεν επηρεάζεται από την ηλικία του ιστού, τη μόλυνση ή όχι των φυτών από μερικές ασθένειες και την παραγωγή ή όχι καρπών. Έκτοτε οι δείκτες RAPDs έχουν χρησιμοποιηθεί σε διάφορα είδη *Cucumis* για τη μελέτη του γονιδιώματος, την κατασκευή γενετικού χάρτη και την ανίχνευση πολυμορφισμών σε ποικιλίες, και έχει αναφερθεί ότι έδωσαν καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τους μοριακούς δείκτες RFLPs (Staub and Meglic 1993, Staub *et al.* 1996, Lopez-Seze *et al.* 2002, Staub *et al.* 2004). Οι Ελληνικές ποικιλίες αγγουριού δεν έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα γενετικά και δεν είναι δυνατή η εκτίμηση της υπάρχουσας γενετικής παραλλακτικότητας. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανίχνευση της γενετικής ποικιλομορφίας μεταξύ των Ελληνικών ποικιλιών αγγουριού και η σύγκριση της γενετικής ποικιλομορφίας της κάθε ποικιλίας με την ποικιλομορφία των μορφολογικών χαρακτηριστικών της. Η ανάλυση αυτή αναμένεται να συμβάλει στην περιγραφή και κατοχύρωση των παραδοσιακών ποικιλιών και να δώσει χρήσιμες πληροφορίες για τη βελτίωση του είδους

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η ανάλυση των μοριακών δεικτών RAPDs για την ανίχνευση της ποικιλομορφίας μεταξύ των ποικιλιών και μέσα στην κάθε ποικιλία έγινε σε τρεις διαδοχικές πειραματικές φάσεις. Χρησιμοποιήθηκαν οι εξής 8 παραδοσιακοί πληθυσμοί αγγουριού από διαφορετικές περιοχές της χώρας: Κνωσός, Καλύβια, Κρήτη 1, Κρήτη 2, Κρήτη 3, Κως 2, Ικαρία και Σάμος (Πίνακας 1). Οι ποικιλίες Κνωσός και Καλύβια είναι από τις πλέον γνωστές παραδοσιακές εμπορικές ποικιλίες, η πρώτη στην περιοχή της Κρήτης και η δεύτερη στην Αττική. Οι υπόλοιπες έξι είναι τοπικοί πληθυσμοί από αντίστοιχες περιοχές της χώρας.

Η απομόνωση του DNA έγινε από φύλλα νεαρών φυτών αγγουριού (1<sup>ο</sup> και 2<sup>ο</sup> πείραμα) ή κοτυληδόνες (3<sup>ο</sup> πείραμα) μετά από διατήρηση στους -80 °C. Για την εξαγωγή του DNA εφαρμόστηκε η μέθοδος CTAB (Halbert and Bennetzen, 1991). Όλοι οι κύκλοι της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) έγιναν σε τελικό όγκο 25μl και χρησιμοποιήθηκε 1 ολιγονουκλεοτίδιο σε κάθε αντίδραση. Η τελική συγκέντρωση κάθε συστατικού στο μίγμα της αντίδρασης ήταν: 25pmol από κάθε ολιγονουκλεοτίδιο (OPA1, OPA2, ..., OPA20), 1.5mM Taq πολυμεράση, 50μM KCl, 10mM Tris-HCl pH=9.0, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% Triton, 0.25mM από κάθε νουκλεοτίδιο (dNTPs) και 50-100ng ολικού DNA. Η αντίδραση πολυμερισμού έγινε σε θερμοκυκλοποιητή με αποδιάταξη του DNA στους 94°C (5 λεπτά) και ακολούθησαν 45 κύκλοι που ο καθένας περιλάμβανε 1 min στους 94 °C, 1 min στους 36 °C και 1 min στους 72 °C και στο τέλος των 45 κύκλων 5 min στους 72 °C. Η ανάλυση των προϊόντων έγινε με ηλεκτροφόρηση σε 1% πήκτωμα αγαρόζης σε 1 x TAE (40 mM Tris-acetate, 1m EDTA) με συνεχή ηλεκτρική τάση 10 Volt/cm. Για τον προσδιορισμό του μεγέθους των τμημάτων DNA χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας γνωστού μοριακού μεγέθους DNA από το φάγο λ με τα εξής μεγέθη : 23kb, 7.7kb, 6.2kb, 4.2kb, 3.4kb, 2.7kb, 1.9kb, 1.5kb, 0.9kb, 0.4kb και 0.1kb. Η επαναληψιμότητα της μεθόδου ελέγχθηκε με τη διεξαγωγή των αντιδράσεων από δυο τουλάχιστον απομονώσεις DNA για κάθε ποικιλία και για κάθε 10μερές ολιγονουκλεοτίδιο.

### Μοριακοί δείκτες

Πίνακας 1. Ποικιλίες αγγουριού και η προέλευσή τους

Ποικιλία	Περιοχή	Προέλευση
Κνωσός	Κρήτη	Εργ. Γενετικής ΤΕΙ Κρήτης
Καλύβια	Αττική	“ “ “
Κρήτη 1	Κρήτη (Παχειά Αμμος)	Τράπεζα Γεν. Υλικού (Κ.Γ.Ε.Β.Ελλάδος)
Κρήτη 2	Κρήτη (Λαγκάδια)	“ “ “
Κρήτη 3	Κρήτη (Αγ.Ειρήνη)	“ “ “
Κως 2	Κως (Μασπιχάρι)	“ “ “
Ικαρία	Ικαρία (Ράχες)	“ “ “
Σάμος	Σάμος (Πάνδροσος)	“ “ “

Όλα τα προϊόντα των αντιδράσεων εξετάστηκαν για παρουσία/απουσία τμημάτων RAPDs τομέγεθος των οποίων υπολογίστηκε κατά προσέγγιση με τη βοήθεια του μάρτυρα. Τα αποτελέσματα μπήκαν σε πίνακα μοριακών δεδομένων (1=παρουσία, 0=απουσία τμήματος DNA του ίδιου μεγέθους) και έγινε στατιστική ανάλυση για τον υπολογισμό της γενετικής ποικιλομορφίας, της γενετικής απόστασης και των πολυμορφισμών, σύμφωνα με τις φαινοτυπικές συχνότητες των μοριακών δεικτών (Nei 1978, Nei and Li 1979). Με βάση τη γενετική απόσταση δημιουργήθηκαν τα αντίστοιχα δενδρογράμματα για τον καθορισμό των φυλογενετικών σχέσεων σύμφωνα με τη μέθοδο UPGMA.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο αριθμός των μοριακών δεικτών που ανιχνεύτηκαν στις 8 ποικιλίες και η μέση τιμή ανά άτομο κάθε ποικιλίας παρουσιάζονται στον πίνακα 2. Παρατηρήθηκαν πολυμορφισμοί μέσα σε κάθε ποικιλία όπως προκύπτει από το γεγονός ότι δεν ανιχνεύτηκαν όλοι οι μοριακοί δείκτες σε όλα τα άτομα κάθε ποικιλίας. Οι τιμές της μέσης τιμής ανά άτομο κυμαίνονται από 19,67 έως 37,10 και είναι μικρότερες από την μέση τιμή όλων των ατόμων (42,6) γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη πολυμορφισμών μέσα στον πληθυσμό. Όλες οι θέσεις ήταν πολυμορφικές για όλες τις ποικιλίες που εξετάστηκαν, (το ποσοστό πολυμορφισμού ήταν 100% στο σύνολο των ποικιλιών και των ατόμων). Το ποσοστό πολυμορφικών τόπων για τον καθένα από τους 8 πληθυσμούς ήταν μεταξύ 36,76 και 73,53 (Πίνακας 3). Η γενετική ποικιλομορφία, κατά Nei, κυμάνθηκε από 0,1573 έως 0,2947 (Πίνακας 3). Οι ποικιλίες Κνωσός και Καλύβια εμφάνισαν υψηλότερη γενετική ποικιλομορφία σε σχέση με τις υπόλοιπες. Η γενετική απόσταση εκφράζει τις γενετικές διαφορές ανάμεσα σε δύο πληθυσμούς με ένα απλό αριθμό (Smith 1977). Αν δεν υπάρχουν διαφορές, η απόσταση είναι 0 και αν δεν υπάρχει κοινός ούτε ένας γενετικός τύπος η απόσταση είναι 1. Ο πιο δημοφιλής τρόπος μέτρησης της γενετικής απόστασης (D) είναι κατά Nei και υπολογίζεται από τον τύπο  $D = -\ln(I)$  (Nei 1972). Με I συμβολίζεται η γενετική ομοιότητα. Η γενετική απόσταση κατά Nei μεταξύ των ποικιλιών υπολογίστηκε, με τη βοήθεια του προγράμματος PopGene32. Παρά το γεγονός ότι η γενετική ομοιότητα των ποικιλιών Κνωσός και Καλύβια είναι αρκετά υψηλή (0,9155), η ανάλυση των μοριακών δεικτών έδειξε ότι μερικοί από αυτούς ανιχνεύτηκαν μόνο στη μία ή στην άλλη ποικιλία για την οποία ήταν χαρακτηριστικοί και πιθανόν να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μεταξύ τους διάκριση και ταυτοποίηση. Η μελέτη της σχέσης των 8 ποικιλιών έγινε και με ανάλυση των αποτελεσμάτων των μοριακών δεικτών σε ομάδες η οποία και είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία δένδρογραμματος (Σχήμα 1). Το δένδρογραμμα κατασκευάστηκε σύμφωνα με τη γενετική απόσταση των ποικιλιών κατά Nei. Όπως φαίνεται στην εικόνα το δένδρογραμμα αποτελείται από δύο κύριες διακλαδώσεις (κόμβος 7). Στη μια διακλάδωση ομαδοποιούνται οι δύο εμπορικές ποικιλίες Κνωσός και Καλύβια και στην άλλη ανήκουν οι τοπικές ποικιλίες από διάφορες περιοχές της Ελλάδας.

**Πίνακας 2.** Αριθμός μοριακών δεικτών ανά ποικιλία και μέση τιμή ανά άτομο σε κάθε ποικιλία (+: παρουσία, -: απουσία).

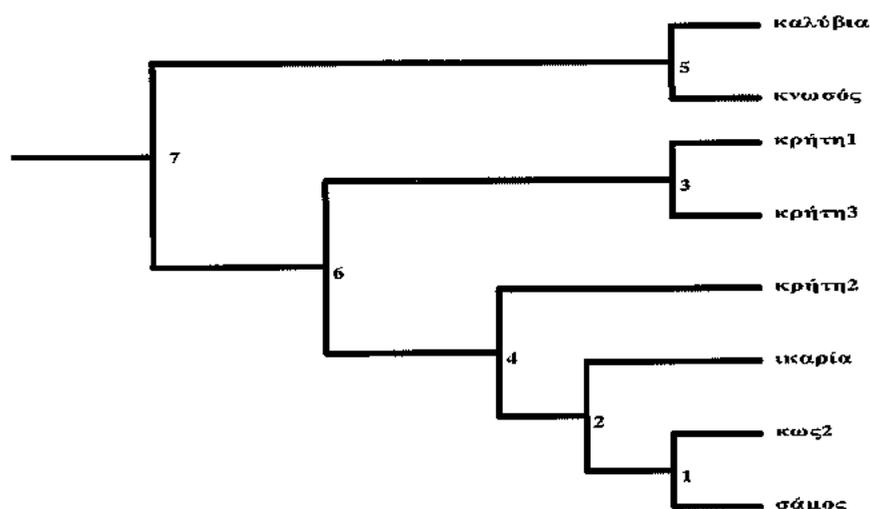
Ποικιλία	αριθμός RAPDs		μέση τιμή ανά άτομο	
	+	-	+	-
Καλύβια	57	11	37,10	30,90
Κνωσός	56	12	36,08	31,92
Κρήτη 1	43	25	27,75	40,25
Κρήτη 2	39	29	25,75	42,25
Κρήτη 3	51	17	32,75	35,25
Κως 2	34	34	22,00	46,00
Ικαρία	28	40	19,67	48,33
Σάμος	33	35	19,75	48,25
Μέσος όρος	42,6	25,4	27,61	40,39

**Πίνακας 3.** Αριθμός και ποσοστό πολυμορφικών θέσεων και γενετική ποικιλομορφία κατά Nei για κάθε ποικιλία.

Ποικιλία	πολυμορφικοί τόποι		Γενετική ποικιλομορφία (Nei)	
	αριθμός	ποσοστό (%)	μέση τιμή	τυπική απόκλιση
Καλύβια	49	72,06	0,2947	0,2127
Κνωσός	50	73,53	0,2856	0,2154
Κρήτη 1	33	48,53	0,1886	0,2049
Κρήτη 2	34	50,00	0,2014	0,2087
Κρήτη 3	41	60,29	0,2480	0,2077
Κως 2	30	44,12	0,1646	0,1966
Ικαρία	25	36,76	0,1573	0,2146
Σάμος	30	44,12	0,1612	0,1923

**Πίνακας 4.** Γενετική απόσταση (κάτω αριστερά από τη διαγώνιο) και γενετική ομοιότητα (πάνω δεξιά από τη διαγώνιο) κατά Nei.

Ποικιλία	Καλύβια	Κνωσός	Κρήτη 1	Κρήτη 2	Κρήτη 3	Κως 2	Ικαρία	Σάμος
Καλύβια	****	0.9155	0.8041	0.8004	0.8392	0.8079	0.7931	0.7895
Κνωσός	0.0882	****	0.7822	0.8166	0.8191	0.7858	0.8241	0.7953
Κρήτη 1	0.2181	0.2456	****	0.9012	0.9320	0.9344	0.8986	0.9034
Κρήτη 2	0.2226	0.2026	0.1040	****	0.9212	0.9280	0.9337	0.9339
Κρήτη 3	0.1753	0.1996	0.0705	0.0821	****	0.9001	0.8705	0.8806
Κως 2	0.2133	0.2410	0.0678	0.0747	0.1053	****	0.9323	0.9680
Ικαρία	0.2319	0.1935	0.1069	0.0686	0.1387	0.0701	****	0.9589
Σάμος	0.2363	0.2290	0.1016	0.0684	0.1271	0.0325	0.0420	****

**Σχήμα 1.** Δενδρόγραμμα με βάση τις γενετικές αποστάσεις κατά Nei. (Οι αριθμοί 1 ως 7 δείχνουν τα σημεία των διακλαδώσεων)

**Πίνακας 5.** Μορφολογικά χαρακτηριστικά καρπού των 8 ποικιλιών.

Ποικιλία	Χρώμα Καρπού		Χρώμα Τριχώματος		Μέγεθος Τριχώματος		Στιλπνότητα		Πυκνότητα Τριχώματος	
	Σκούρο Πράσινο	Ανοικτό. πράσινο	Μαυρ.	Λευκ.	Μικρ.	Μεγ.	Ναι	Όχι	Μικρ	Μεγ
Καλύβια	0	25	19	6	25	0	25	0	0	25
Κνωσός	0	25	25	0	25	0	25	0	0	25
Κρήτη 1	0	2	2	0	2	0	2	0	0	2
Κρήτη 2	0	3	4	0	4	0	4	0	0	4
Κρήτη 3	0	5	5	0	5	0	5	0	0	5
Κως 2	1	2	2	1	0	3	3	0	3	0
Ικαρία	0	5	5	0	5	0	5	0	0	5
Σάμος	0	4	4	0	4	0	4	0	0	4

**Πίνακας 6.** Μορφολογικά χαρακτηριστικά φυτού των 8 ποικιλιών

Ποικιλία	Πικρότητα		Τύπος Άνθους				Άνθιση		Παρθενοκαρπία	
	Ναι	Όχι	Αρσεν.	Θηλυκ.	Ερμαφρ.	Μόνοικ.	Όψιμη Κανον		Ναι	Όχι
Καλύβια	15	10	0	0	0	25	5	20	25	0
Κνωσός	25	0	0	0	0	25	0	25	21	0
Κρήτη 1	0	2	0	0	0	2	0	2	1	0
Κρήτη 2	1	3	0	0	0	4	0	4	3	0
Κρήτη 3	1	4	0	0	0	5	0	5	1	0
Κως 2	1	2	0	0	0	3	0	3	3	0
Ικαρία	2	3	0	0	0	5	0	5	4	0
Σάμος	2	2	0	0	0	4	0	4	1	0

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Παρόλο που τα αποτελέσματα της ανάλυσης με RAPDs αντιμετωπίζονται γενικά με σκεπτικισμό επειδή η ευαισθησία της τεχνικής απαιτεί αυστηρές συνθήκες αντίδρασης, στην παρούσα μελέτη τα αποτελέσματα ήταν σταθερά και επαναλαμβανόμενα και το πρότυπο της ανάλυσης ήταν καθαρό για κάθε άτομο που εξετάστηκε. Το πρώτο βήμα αυτής της μελέτης ήταν να προσδιοριστεί η γενετική ποικιλομορφία μεταξύ των 8 ποικιλιών. Οι 8 αυτές ποικιλίες προέρχονται από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές της Ελλάδας και μορφολογικά δεν παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης με τους συγκεκριμένους μοριακούς δείκτες δείχνουν ότι οι ποικιλίες Κνωσός και Καλύβια, δεν παρουσιάζουν μεταξύ τους μεγάλη γενετική ποικιλομορφία ενώ η γενετική τους ομοιότητα είναι αρκετά μεγάλη (0,9155) (Πίνακας 4). Επίσης οι ποικιλίες Κως 2, Ικαρία και Σάμος έχουν μεταξύ τους μικρή γενετική ποικιλομορφία. Παρόμοια συμβαίνει και με τις ποικιλίες Κρήτη 1, Κρήτη 2 και Κρήτη 3.

Η γενετική απόσταση κατά Nei των ποικιλιών Κνωσός και Καλύβια, όπως αναμένεται μετά από αυτό, είναι μικρή (0,0882). Η γενετική ομοιότητα των ποικιλιών αυτών είναι εμφανής και από την περιγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών (Πίνακες 5 και 6). Από τα εννέα χαρακτηριστικά που αξιολογήθηκαν,

παρουσιάστηκαν διαφορές μόνο σε τρία, οι οποίες όμως προέρχονται από την έλλειψη φαινοτυπικής σταθεροποίησης (διάσπαση) των χαρακτηριστικών αυτών στο δείγμα που αξιολογήθηκε. Οι δύο ποικιλίες αυτές εξελίχθηκαν σε διαφορετικές περιοχές και αποτελούν παραδοσιακές εμπορικές ποικιλίες για πολλές δεκαετίες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτά θα μπορούσαμε να πούμε ότι είναι πολύ πιθανό οι δύο αυτές ποικιλίες να έχουν κοινή καταγωγή. Στο ίδιο συμπέρασμα θα μπορούσαμε να καταλήξουμε και για τις ποικιλίες Κως 2, Ικαρία και Σάμος που καλλιεργούνται στην ίδια γεωγραφική περιοχή (Νήσοι ανατολικού Αιγαίου) καθώς και τις παραδοσιακές ποικιλίες Κρήτη 1, Κρήτη 2 και Κρήτη 3 που προέρχονται από την Κρήτη

Η παρουσίαση των αποτελεσμάτων με τη δημιουργία δενδρογράμματος δείχνει δύο κύρια κλαδιά (κόμβος 7) από τα οποία το ένα περιλαμβάνει τις ποικιλίες Κνωσός και Καλύβια και το άλλο τις έξι τοπικές ποικιλίες. Η σύγκριση των γενετικών αποστάσεων των έξι ποικιλιών με τις ποικιλίες Κνωσός και Καλύβια δείχνει ότι έχουν μεγαλύτερη απόσταση από αυτή που έχουν οι δύο αυτές ποικιλίες μεταξύ τους. Η γενετική απόσταση που παρατηρείται για κάθε μια από τις έξι ποικιλίες, τόσο με την ποικιλία Κνωσός όσο και με την ποικιλία Καλύβια βρίσκεται στα ίδια περίπου επίπεδα (0.1753 έως 0.2456). Αξίζει επίσης να σημειωθεί η (μη αναμενόμενη) γενετική απόσταση μεταξύ της ποικιλίας Κνωσός και των 3 ποικιλιών Κρήτη 1, Κρήτη 2 και Κρήτη 3 παρά το ότι προέρχονται από το ίδιο γεωγραφικό διαμέρισμα. Τα αποτελέσματα αυτά δεν αποκλείουν την ύπαρξη γονιδιακής ροής αφού οι ποικιλίες Καλύβια και Κνωσός καλλιεργούνται για περισσότερο από 100 χρόνια και ήταν οι πιο διαδεδομένες εμπορικές ποικιλίες.

Οι μοριακοί δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν δεν βρέθηκε να είναι επαρκείς από μόνοι τους για την ταυτοποίηση των διαφορετικών ποικιλιών που μελετήθηκαν μια και ο αριθμός των πολυμορφισμών της αλληλουχίας του DNA μέσα στις ποικιλίες είναι μεγάλος. Αυτό φαίνεται να συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Bernet *et al.* (2003) οι οποίοι προσπάθησαν να ξεχωρίσουν 36 διαφορετικές ποικιλίες αγγουριού. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αποτελούν μια αρχή για την περιγραφή και μελέτη του γονιδιώματος των ελληνικών ποικιλιών αγγουριού που δεν έχουν μέχρι τώρα περιγραφεί γενετικά. Η γενετική ανάλυση εξάλλου με δείκτες RAPDs ατομικά για τα φυτά κάθε ποικιλίας βρίσκεται σε εξέλιξη και αναμένεται να επιτρέψει τη σύγκριση της γενετικής ποικιλομορφίας με τη φαινοτυπική ποικιλομορφία των μορφολογικών χαρακτηριστικών.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bernet, P.G., Bramardi, S., Calvache, D., Carbonell, A.E. and M.J. Asins 2003. Applicability of molecular markers in the context of protection of new varieties of cucumber. *Plant Breeding* 122(2):146-152.
- Hulbert, S.H. and Bennetzen, J. 1991. Recombination at the *Rp1* locus of maize. *Mol Gen Genet* 226:377-382.
- Lopez-Seze A., J Staub, N. Katzir, and M.L. Gomez-Guillamon. 2002. Estimation of between and within accession variation in selected Spanish melon germplasm using RAPD and SSR markers. *Euphytica* 127: 41-51.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nei M. and Li W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76(10):5269-73.
- Poeter K., R Fruth, and J. Staub 1992. RAPD analysis in cucumber map construction and Breeding. Vth Eucarpia Cucurbitaceae Symposium. Poland.
- Smith C.A.B. 1977. A note on genetic distance. *Ann. Human Genet.* 21:254-276.
- Staub J., F. Serquen and J. Bacher. 1996. Genetic map construction and map merging in cucumber. *Proceedings of the Vith Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding*. Spain.
- Staub, J.E. and V. Meglic 1993. Molecular genetic markers and their legal relevance for cultigen discrimination: A case study in cucumber. *Hort Technology* 3:291-300
- Staub J.E., A. Lopez-Sese and N. E. Fanourakis (2004). Diversity among melon landraces (*Cucumis melo* L.) from Greece and their genetic relationships with other melon germplasm of diverse origins. *Euphytica* 136: 151-166.

## SUMMARY

The assesment of genetic diversity among several Greek land races of cucumber by RAPD genetic analysis and description of morphological characters was the purpose of the present work. The traditional varieties Knosos, Kalyvia, Kriti 1, Kriti 2, Kriti 3, Kos 2, Ikaria, and Samos were used. Morphological description included the following nine characters: bitterness, immature fruit color, mature fruit color, spine

color, spine size, spine frequency, shining fruit, parthenocarpy and sex expression. The results indicated similarities among the varieties for most morphological characters with small variation within each variety. Genetic analysis with RAPD markers suggested genetic variability among the varieties and the presence of significant number of polymorphisms among the plants of each variety. The analysis of 68 molecular markers indicated small genetic distance among the two main varieties Knosos and Kalyvia which are grouped in the same branch of the dendrogram although they come from different geographic regions. The genetic distance among the other six varieties is relatively small and is related with their geographic distance. The results of this work constitute a part of a continuing program for the analysis and description of the Greek cucumber varieties, aiming to facilitate their genetic improvement as well as genetic fingerprinting.

## ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΚΟΛΟΚΥΘΙΟΥ (*Cucurbita* spp.) ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

Τσιβελίκας Α. Α.<sup>1</sup>, Κουτίτα Ο.<sup>2</sup>, Αναστασιάδου Α.<sup>1</sup>, Σκαράκης Γ. Ν.<sup>2</sup>,  
Τράκα-Μαυρωνά Αικ.<sup>3</sup> και Μ. Σ. Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, 541 24 Θεσσαλονίκη.

<sup>2</sup>Ελληνική Βιομηχανία Ζάχαρης Α.Ε., Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας και Διαγνωστικής, 574 00 Σίνδος.

<sup>3</sup>Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.), Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας-Θράκης, 570 01 Θέρμη, Θεσσαλονίκη.

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μέρος της Συλλογής *Cucurbita* spp. της Ελληνικής Τράπεζας Γενετικού Υλικού, αποτελούμενο από 16 εγχώρια γενετικά υλικά, μελετήθηκε ως προς τη γενετική παραλλακτικότητα με βάση τόσο μορφολογικά χαρακτηριστικά και χαρακτηριστικά ανθεκτικότητας όσο και μοριακά χαρακτηριστικά που προέκυψαν με την εφαρμογή δεικτών RAPD. Για κάθε μία ομάδα δεδομένων κατασκευάστηκαν τα αντίστοιχα δενδρογράμματα με τη βοήθεια του αλγορίθμου ομαδοποίησης UPGMA. Παράλληλα κατασκευάστηκε ένα τρίτο δενδρογράμμα συνδυάζοντας τα δεδομένα από τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και τα χαρακτηριστικά ανθεκτικότητας με αυτά που προέκυψαν από τους RAPD δείκτες, με χρήση της απόστασης Gower και του αλγορίθμου UPGMA. Για την εύρεση του βέλτιστου αριθμού των ομάδων κάθε δενδρογράμματος εφαρμόστηκε το κριτήριο 'upper tail'. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ανάλυση με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά μαζί με τα χαρακτηριστικά της ανθεκτικότητας υπολείπεται της ανάλυσης των RAPD δεικτών, καθώς και του συνδυασμού των διαφορετικών ομάδων δεδομένων. Τα γενετικά υλικά της Συλλογής *Cucurbita* spp. διακρίθηκαν σε τρεις σημαντικά διαφορετικές ομάδες με δυνατότητα βιολογικής ερμηνείας για καθεμιά από αυτές, τις *C. maxima*, *C. pepo* και *C. moschata*.

Λέξεις Κλειδιά: απόσταση Gower, *Cucurbita* spp., μορφολογικά χαρακτηριστικά, RAPD δείκτες, 'upper tail' κριτήριο.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γένος *Cucurbita* περιλαμβάνει πέντε καλλιεργούμενα (*C. argyrosperma*, *C. ficifolia*, *C. maxima*, *C. moschata*, *C. pepo*) και περίπου δέκα άγρια είδη (Robinson and Decker-Walters, 1997). Τα περισσότερα από αυτά κατάγονται από το Μεξικό, ενώ ορισμένα, περιλαμβανομένου και του *C. maxima*, είναι ιθαγενή είδη της Νοτίου Αμερικής. Μεταξύ των πέντε καλλιεργούμενων ειδών μόνο τρία, τα *C. maxima*, *C. moschata* και *C. pepo*, έχουν καταγραφεί ως καλλιέργειες στην Ελλάδα, με το *C. pepo* L. var. *melopepo*, γνωστό ως 'θερινό κολοκύθι' ή 'κολοκυθάκι' να καλλιεργείται ευρέως τόσο σε συνθήκες ανοικτού αγρού όσο και θερμοκηπίου ως πράσιμη ή όψιμη καλλιέργεια. Αντίθετα, τα άλλα δύο είδη περιλαμβάνουν κυρίως τους 'χειμερινούς' τύπους κολοκυθιού και καλλιεργούνται συνήθως από ερασιτέχνες παραγωγούς σε μικρούς λαχανόκηπους και κάτω από συστήματα γεωργίας χαμηλών εισροών.

Στον ελλαδικό χώρο απαντάται πληθώρα γενετικών υλικών κολοκυθιού, με ιδιαίτερος αξιόλογα αγρονομικά και λαχανοκομικά χαρακτηριστικά, τα οποία θα μπορούσαν να αποτελέσουν πολύτιμη πηγή γονιδίων στα βελτιωτικά προγράμματα των εμπορικών ποικιλιών. Προκειμένου όμως, τα υλικά αυτά να καταστούν ωφέλιμα στους βελτιωτές είναι χρήσιμο να προηγηθεί ένας μορφολογικός και μοριακός χαρακτηρισμός τους. Ωστόσο, μέχρι σήμερα οι βιβλιογραφικές αναφορές πάνω στο γενετικό υλικό κολοκυθιού είναι περιορισμένες. Μία προσπάθεια διερεύνησης των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ ορισμένων τοπικών ποικιλιών χειμερινού κολοκυθιού με βάση μορφολογικά χαρακτηριστικά έγινε από τους Τσιβελίκα κ.ά. (2002). Η Αναστασιάδου (2004) επίσης, περιέγραψε και αξιολόγησε την ανθεκτικότητα στο *Fusarium oxysporum* της Συλλογής *Cucurbita* species της Τ.Γ.Υ. Με τη βοήθεια δεικτών τύπου RAPD εξάλλου, οι Παπασωτηρόπουλος κ.ά. (2003), εργάστηκαν πάνω στο μοριακό χαρακτηρισμό καθαρών σειρών που προέρχονταν από εγχώριους πληθυσμούς κομποκολόκυθου (*C. pepo*).

Αλλά και σε διεθνές επίπεδο οι προσπάθειες για ανάλυση των γενετικών σχέσεων πάνω στο γενετικό υλικό του κολοκυθιού είναι περιορισμένες. Έτσι, οι Gwanama *et al.* (2000) διερεύνησαν τη γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ αυτόχθονων αφρικάνικων πληθυσμών του είδους *C. moschata* χρησιμοποιώντας

δείκτες τύπου RAPD. Οι Ferriol *et al.* (2004) εξάλλου, επιχείρησαν να αναλύσουν τη γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ μίας μεγάλης συλλογής τοπικών ποικιλιών του είδους *C. moschata* προερχόμενων κυρίως από την Ιβηρική χερσόνησο με τη βοήθεια δεικτών τύπου SRAP και AFLP.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να προσδιορίσει τη γενετική συγγένεια και να διερευνήσει μέρος της γενετικής ποικιλομορφίας της Συλλογής *Cucurbita species* της Τράπεζας Γενετικού Υλικού. Για τη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε ένας μεγάλος αριθμός μορφολογικών χαρακτηριστικών παράλληλα με μία αξιολόγηση της αντοχής των υλικών στο μύκητα *Fusarium*. Επιπρόσθετα, όλα τα γενετικά υλικά αναλύθηκαν σε μοριακό επίπεδο με χρήση δεικτών τύπου RAPD. Με βάση τα παραπάνω επιχειρείται ο κατά το δυνατό περισσότερο αξιόπιστος προσδιορισμός των υπό μελέτη ποικιλιών κολοκυθίου είτε αναλύοντας μορφολογικά και χαρακτηριστικά ανθεκτικότητας ξεχωριστά από τα μοριακά χαρακτηριστικά, είτε συνδυάζοντας από κοινού τις διαφορετικές ομάδες δεδομένων. Τελικός στόχος ήταν η πληρέστερη καταγραφή της Συλλογής, ώστε να διευκολυνθεί η μελλοντική αξιοποίησή της στη βελτίωση.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### A. Φυτικό υλικό, μορφολογικά χαρακτηριστικά και αξιολόγηση ανθεκτικότητας *in planta*:

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία περιελάμβανε 13 εγχώρια γενετικά υλικά που αποτελούσαν μέρος της Συλλογής *Cucurbita* spp. της Ελληνικής Τράπεζας Γενετικού Υλικού και συγκεκριμένα της συλλογής του 1999. Επίσης, στο φυτικό-υλικό συμμετείχαν και τρεις βελτιωμένες ποικιλίες χειμερινού κολοκυθίου του Κέντρου Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας Θράκης (Πίνακας 1).

**Πίνακας 1.** Αποτύπωση γενετικών υλικών κολοκυθίου που χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα.

Αριθμός Συλλογής (Accession Number)	Κωδικός Ποικιλίας	Τοπική Ονομασία	Περιοχή Προέλευσης
18/99	18	-	Σάμος
28/99	28	-	Σάμος
48/99	48	Λειριές	Σάμος
51/99	51	Γλυκοκολοκύθα	Σάμος
54/99	54	Νταμπουραδιά	Ικαρία
55/99	55	-	Ικαρία
147/99	147	-	Κρήτη (Ρέθυμνο)
151/99	151	-	Κρήτη (Ηράκλειο)
183/99	183	Γλυκοκολοκύθα	Κρήτη (Λασιθί)
231/99	231	Γλυκοκολοκύθα	Πελοπόννησος (Λακωνία)
252/99	252	-	Έβρος (Σουφλί)
293/99	293	Πνιγμένο	Πέλλα (Αλμωπία)
508/99	508	-	Πέλλα (Αλμωπία)
-	21*	Καλκαμπάκι	Χαλκιδική (Γαλάτιστα)
-	221*	Κολοκύθα Λευκή	Θεσσαλονίκη (Θέρμη)
-	224*	Κολοκύθα Κόκκινη	Θεσσαλονίκη (Λιβάδι)

\*Βελτιωμένες ποικιλίες του Κ.Γ.Ε.Μ.Θ.

Η εγκατάσταση του φυτικού υλικού, η μέτρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών και η αξιολόγηση της Συλλογής όσον αφορά την ανθεκτικότητα *in planta* πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της μεταπτυχιακής ερευνητικής εργασίας της Αναστασιάδου (2004). Μέρος αυτών των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε και κατά τη διεξαγωγή της συγκεκριμένης εργασίας. Ειδικότερα, η αξιολόγηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών έγινε σε δείγμα πέντε ατομικών φυτών για κάθε υλικό, με βάση τα χαρακτηριστικά περιγραφής που δίνονται από τη UPOV (TG/155/3, 1996) για το κολοκύθι. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 38 μορφολογικά χαρακτηριστικά, που ελήφθησαν από το στάδιο του νεαρού σποροφύτου μέχρι και το στάδιο της πλήρους ωρίμανσης του καρπού και της εξαγωγής του σπόρου.

Επιπρόσθετα, οι ποικιλίες αξιολογήθηκαν ως προς την αντοχή τους σε δύο παθότυπους του μύκητα *Fusarium oxysporum* και συγκεκριμένα στο *F. oxysporum* f.sp. *melonis* και *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*.

Η καταγραφή των δεδομένων για κάθε χαρακτηριστικό έγινε με βάση μία μετρική κλίμακα ακέραιων αριθμών, έτσι ώστε τα δεδομένα να ακολουθούν μία πολυωνομική κατανομή.

#### B. Απομόνωση DNA και RAPD ανάλυση:

Η απομόνωση του DNA έγινε από 2 g. φυτικού ιστού από 5 ατομικά φυτά κάθε γενετικού υλικού της Συλλογής, με την ελαφρώς τροποποιημένη μέθοδο CTAB (Rogers and Bendich, 1988).

Εφαρμόστηκε RAPD-PCR ανάλυση σε ατομικά δείγματα DNA. Ως εκκινητές χρησιμοποιήθηκαν τυχαία δεκαμερή ολιγονουκλεοτίδια (Operon Technologies). Ακολούθησε διαχωρισμός των προϊόντων πολλαπλασιασμού σε πηκτή αгарόζης 1,5%. Για την PCR, που έλαβε χώρα σε θερμοκυκλοποιητή τύπου PTC 200 (MJ Research), ακολουθήθηκαν τα εξής:

Συστατικά αντίδρασης	Συνθήκες αντίδρασης
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 25 ng γενωμικό DNA</li> <li>• 0,2 mM dNTPs</li> <li>• 0,2 μM εκκινητής</li> <li>• 2mM Χλωριούχο Μαγνήσιο</li> <li>• 1U Taq DNA πολυμεράση (Invitrogen)</li> <li>• Αντίστοιχο ρυθμιστικό διάλυμα</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 94°C για 3min</li> <li>• 40 κύκλοι με 94°C για 45sec, 35°C για 1,5min, 72°C για 1,5min</li> <li>• 72°C για 3min</li> </ul>

Οι αντιδράσεις PCR πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν και μόνο οι ευδιάκριτες και επαναλήψιμες ζώνες DNA συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση. Κάθε πολυμορφική ζώνη αξιολογήθηκε ως 1 (παρουσία ζώνης) ή ως 0 (απουσία ζώνης), θεωρούμενη ως διμορφικό χαρακτηριστικό.

#### Γ. Στατιστική επεξεργασία των δεδομένων:

Για κάθε μία διαφορετική ομάδα δεδομένων κατασκευάστηκαν τα αντίστοιχα δενδρογράμματα. Σε κάθε δενδρόγραμμα, μία ποικιλία πεπονιού (*Cucumis melo*) ήταν αυτή που χρησιμοποιήθηκε ως εξωτερική ομάδα ελέγχου (outgroup). Για τα μορφολογικά και αγρονομικά χαρακτηριστικά, η γενετική απόσταση μεταξύ των εγχώριων υλικών κολοκυθιού υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την 'ευκλείδεια απόσταση' και κατασκευάστηκε δενδρόγραμμα με τη βοήθεια του αλγορίθμου ομαδοποίησης UPGMA.

Όσον αφορά τα δεδομένα της ανάλυσης RAPD, υπολογίστηκε η συχνότητα παρουσίας κάθε πολυμορφικής ζώνης εντός του κάθε γενετικού υλικού και κατασκευάστηκε δενδρόγραμμα με βάση το συντελεστή Nei (1972) και τον αλγόριθμο ομαδοποίησης UPGMA. Παράλληλα, επιχειρήθηκε να συνδυαστούν από κοινού σε ένα δενδρόγραμμα οι διαφορετικού τύπου ομάδες δεδομένων (μορφολογικά-ανθεκτικότητα και RAPD δείκτες). Για το σκοπό αυτό, οι συχνότητες των RAPD αλληλομόρφων μετατράπηκαν με τη βοήθεια της γωνιακής μετατροπής σε συνεχή δεδομένα έτσι ώστε να ακολουθούν κανονική κατανομή. Με τη χρήση της απόστασης του Gower (1971) συνδυάστηκαν σε ένα κοινό δενδρόγραμμα οι διαφορετικές ομάδες δεδομένων.

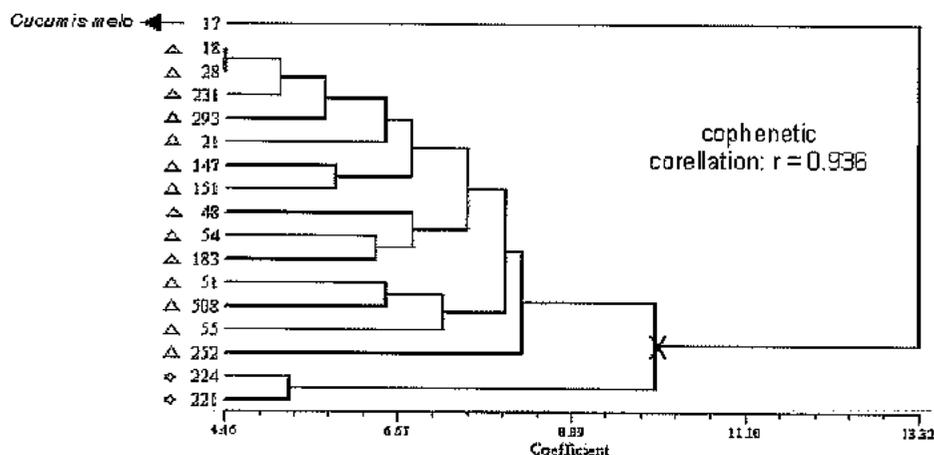
Για κάθε ένα δενδρόγραμμα υπολογίστηκε ο βαθμός συσχέτισης του δενδρογράμματος με τον αντίστοιχο πίνακα αποστάσεων (corphenetic value). Για την εύρεση του βέλτιστου αριθμού των ομάδων σε κάθε δενδρόγραμμα χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο 'upper tail' για επίπεδο σημαντικότητας του ελέγχου  $\alpha = 0.05$  (Franco *et al.*, 1997). Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με τη βοήθεια των λογισμικών πακέτων MS OFFICE EXCEL (έκδοση XP) και NTSYS-PC (έκδοση 2.11).

## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

#### A. Δεδομένα αγρού και ανθεκτικότητας *in planta*:

Όλα τα γενετικά υλικά παρουσίασαν μεγάλη παραλλακτικότητα για το σύνολο των μορφολογικών χαρακτηριστικών που αξιολογήθηκαν. Παράλληλα, κατά την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας στο μύκητα *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* το 57.5% των υλικών έδειξε πλήρη ανθεκτικότητα, ενώ το 11.5% παρουσίασε ευπάθεια. Στο μύκητα *F. oxysporum* f.sp. *melonis* το 84.6% έδειξε πλήρη ανθεκτικότητα και ευπάθεια το 3.8% (Αναστασιάδου, 2004).

Έτσι, από το σύνολο των χαρακτηριστικών που αξιολογήθηκαν προέκυψε μέσω της ανάλυσης ομάδων το δένδρογραμμα του Σχήματος 1. Από το δένδρογραμμα και με βάση το κριτήριο 'upper tail' για επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0.05$ , προκύπτει ότι οι ποικιλίες μπορούν να διακριθούν σε δύο σημαντικά διαφορετικές ομάδες. Η πρώτη περιλαμβάνει τα γενετικά υλικά 221 και 224, ενώ η δεύτερη περιλαμβάνει το σύνολο των υπολοίπων. Ο συντελεστής συσχέτισης του δένδρογραμματος με τον αντίστοιχο πίνακα αποστάσεων (cophenetic correlation) ήταν υψηλός ( $r = 0.94$ ), γεγονός που καταδεικνύει πολύ καλή ανταπόκριση του δένδρογραμματος στα αρχικά δεδομένα.

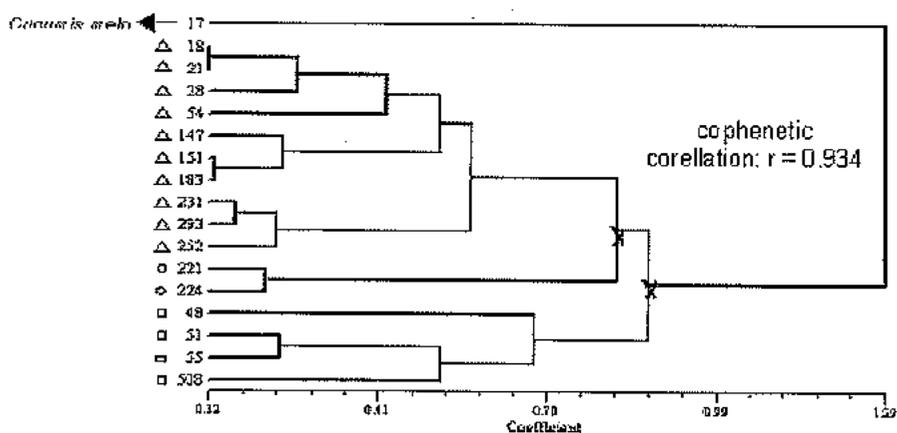


**Σχήμα 1.** Δένδρογραμμα των 16 εγχώριων γενετικών υλικών με βάση τη διάκριση που προέκυψε από την εκτίμηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών και των χαρακτηριστικών ανθεκτικότητας ('ευκλείδεια απόσταση', UPGMA).

### Β. Δεδομένα μοριακής ανάλυσης:

Από την ανάλυση των 16 εγχώριων γενετικών υλικών με τους RAPD δείκτες προέκυψαν συνολικά 117 ζώνες (16,7 ζώνες/εικινητή) από τις οποίες οι 114 (97,44%) ήταν πολυμορφικές. Από το σύνολο των ζώνων, 12 εξ' αυτών ήταν μοναδικά προϊόντα πολλαπλασιασμού σε ένα υλικό, ενώ σε μία περίπτωση παρατηρήθηκε απουσία ζώνης σε ένα υλικό όταν το σύνολο των υλικών εμφάνιζαν τη συγκεκριμένη ζώνη.

Το δένδρογραμμα, που προέκυψε με βάση το μοριακό χαρακτηρισμό των γενετικών υλικών, δίνεται στο Σχήμα 2. Σύμφωνα με το δένδρογραμμα αυτό και μετά την εφαρμογή του 'upper tail' κριτηρίου, γίνεται αντιληπτό ότι τα υλικά 221 και 224 εξακολουθούν να βρίσκονται μαζί, όπως και στο δένδρογραμμα του Σχήματος 1. Διακρίνονται επίσης δύο νέες ομάδες με τα υλικά 48, 51, 55 και 508 να διαφοροποιούνται σημαντικά και να αποτελούν ξεχωριστή ομάδα από τα υπόλοιπα. Ο συντελεστής συσχέτισης του δένδρογραμματος με τον αντίστοιχο πίνακα αποστάσεων (cophenetic correlation) ήταν υψηλός,  $r = 0.93$ .



**Σχήμα 2.** Δένδρογραμμα των 16 εγχώριων γενετικών υλικών με βάση τη διάκριση που προέκυψε από την εφαρμογή των RAPD δεικτών (απόσταση Nei (1972), UPGMA).

### Γ. Δεδομένα συνδυασμένης ανάλυσης:

Χρησιμοποιώντας τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και τα χαρακτηριστικά ανθεκτικότητας ξεχωριστά από τα μοριακά χαρακτηριστικά προέκυψε διαφορετικός αριθμός ομάδων στα αντίστοιχα δένδρογράμματα. Ωστόσο, όπως εύκολα γίνεται αντιληπτό μεταξύ των δύο δένδρογραμμάτων υπάρχουν σημαντικές ομοιότητες. Γι' αυτό επιχειρήθηκε ο συνδυασμός των διαφορετικών τύπων δεδομένων σε ένα κοινό δένδρογράμμα. Έτσι, κατασκευάστηκε το δένδρογράμμα του Σχήματος 3, το οποίο διακρίνει τρεις σημαντικά διαφορετικές ομάδες. Ο συντελεστής συσχέτισης του δένδρογράμματος με τον αντίστοιχο πίνακα αποστάσεων (cophenetic correlation) ήταν και σε αυτή την περίπτωση υψηλός,  $r = 0.95$ .

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από το σύνολο των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι τόσο για τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και τα χαρακτηριστικά ανθεκτικότητας όσο και για τα μοριακά χαρακτηριστικά, τα υπό μελέτη γενετικά υλικά της Συλλογής παρουσίασαν σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ τους. Ειδικότερα για την περίπτωση των δεικτών τύπου RAPD, το ιδιαίτερα υψηλό ποσοστό πολυμορφισμού που εντοπίστηκε δεν είναι κάτι ασύνηθες όταν πρόκειται για μελέτη πολυμορφισμού μεταξύ διαφορετικών βοτανικά ειδών. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν οι Singh *et al.* (2004), οι οποίοι κατά τη μελέτη της γενετικής παραλλακτικότητας μεταξύ διαφόρων ειδών του γένους *Ocimum* βρήκαν κατά μέσο όρο 11,6 ζώνες/εκκινήτη και ποσοστό πολυμορφισμού της τάξης του 98,28%.

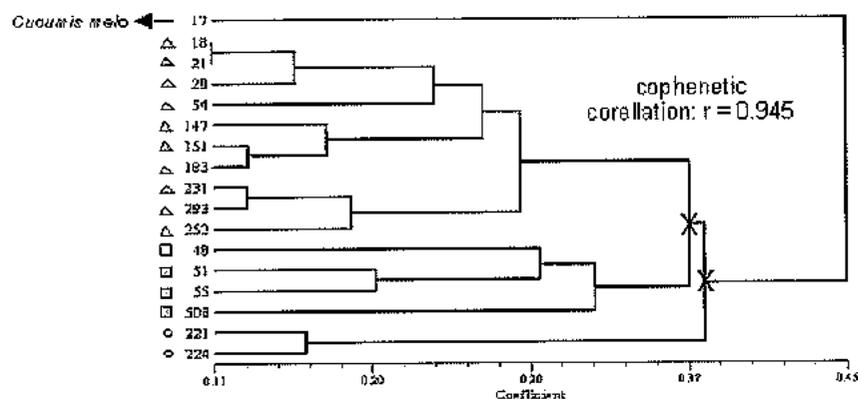
Μεταξύ των τριών προσεγγίσεων τα περισσότερο αξιόπιστα αποτελέσματα προέκυψαν μέσω της ανάλυσης των RAPD δεικτών, καθώς και μέσω του συνδυασμού σε ένα κοινό δένδρογράμμα των δεδομένων των μορφολογικών χαρακτηριστικών και χαρακτηριστικών ανθεκτικότητας με εκείνα των μοριακών χαρακτηριστικών. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά από κοινού με τα χαρακτηριστικά ανθεκτικότητας δεν εξασφάλισαν λεπτομερή διάκριση συγκεντρώνοντας τα υλικά σε δύο σημαντικά διαφορετικές ομάδες. Αντίθετα, εφαρμόζοντας τις άλλες δύο προσεγγίσεις τα γενετικά υλικά διακρίθηκαν σε τρεις σημαντικά διαφορετικές ομάδες, με δυνατότητα βιολογικής ερμηνείας για την καθεμιά από αυτές.

Έτσι, με βάση τη διάκριση που προέκυψε από τα δεδομένα των RAPD δεικτών αλλά και από το συνδυασμό των διαφορετικού τύπου δεδομένων οι ομάδες που διακρίθηκαν είχαν ως ακολούθως:

**Ομάδα Α:** Περιλαμβάνει τα υλικά 221 και 224. Υλικά με έρποντα τύπο ανάπτυξης, πολύ μεγάλο μέγεθος φύλλου, χωρίς μαρμάρωση. Άνθη μεγάλα, καρπός μεγάλου μεγέθους με λευκή σάρκα και μεγάλο μέγεθος σπόρου. Υλικά απόλυτα ανθεκτικές στο *Fusarium*. Υλικά που σύμφωνα με την περιγραφή ανήκουν στο είδος *C. maxima*.

**Ομάδα Β:** Περιλαμβάνει τα υλικά 48, 51, 55 και 508. Υλικά με θαμνώδη ως έρποντα τύπο ανάπτυξης, μέσο έως μεγάλο μέγεθος φύλλου, που ανάλογα με την ποικιλία μπορεί να παρουσιάζει ή όχι μαρμάρωση. Άνθη μεγάλα, καρπός μικρού ως μέσου μεγέθους, με λευκή ή πορτοκαλί σάρκα. Υλικά με ευαισθησία στο *Fusarium*. Υλικά που σύμφωνα με την περιγραφή ανήκουν στο είδος *C. pepo*.

**Ομάδα C:** Περιλαμβάνει τα υλικά 18, 21, 28, 54, 147, 151, 183, 231, 293, 252. Υλικά με έρποντα τύπο ανάπτυξης, μέσο έως πολύ μεγάλο μέγεθος φύλλου σκοτεινής έντασης με μαρμάρωση. Άνθη μεγάλα, καρπός μέσου ως μεγάλου μεγέθους με κίτρινη ή πορτοκαλί σάρκα και μέσο μέγεθος σπόρου. Υλικά ανθεκτικά στο *Fusarium*. Υλικά που σύμφωνα με την περιγραφή ανήκουν στο είδος *C. moschata*.



**Σχήμα 3.** Δένδρογράμμα των 16 εγχώριων γενετικών υλικών κολοκυθιού με βάση τη διάκριση που προέκυψε από το συνδυασμό μορφολογικών χαρακτηριστικών, χαρακτηριστικών ανθεκτικότητας και RAPD δεικτών (απόσταση Gower, UPGMA).

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Αναστασιάδου, Α., 2004. Περιγραφή, αναπολλαπλασιασμός και αξιολόγηση της ανθεκτικότητας στο *Fusarium oxysporum* της Σύλλογής *Cucurbita* species της Ελληνικής Τράπεζας Γενετικού Υλικού. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ.
- Ferriol, M., Picó, B., Fernández, P. and F., Nuez, 2004. Molecular diversity of a germplasm collection of squash (*Cucurbita moschata*) determined by SRAP and AFLP markers. *Crop Sci.*, 44: 653-664.
- Franco, J., Crossa, J., Villasenor, J., Taba, S. and S.A. Eberhart, 1997. Classifying Mexican maize accessions using hierarchical and density search methods. *Crop. Sci.*, 37: 972-980.
- Gower, J.C., 1971. A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*, 27: 857-874.
- Gwanama, C., Labuschagne, M.T., and A.M., Botha, 2000. Analysis of genetic variation in *Cucurbita moschata* by random amplified polymorphic (RAPD) markers. *Euphytica*, 113: 19-24.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Naturalist*, 106:283-292.
- Παπασωτηρόπουλος, Β., Κωνσταντοπούλου, Ε., Σαλάχας, Γ. και Γ. Καπότης, 2003. Γενετική ταυτοποίηση καθαρών σειρών προερχόμενων από ελληνικούς πληθυσμούς κολοκυθιού (*Cucurbita pepo* L.) με χρήση πολυμορφικών DNA δεικτών. Γεωτεχνικά Επιστημονικά Θέματα, VI, 14, 2: 24-29.
- Robinson, R.W., and D.S., Decker-Walters, 1997. Cucurbits. CAB International, Wallingford, U.K.
- Rogers, S.O. and Bendich, A.J. (1988). Extraction of DNA from plant tissues. *Plant Molecular Biology Manual* A6, 1-10.
- Singh, A.P., Dwivedi, S., Bharti, S., Srivastava, A., Singh, V. and S.P.S. Khanuja, 2004. Phylogenetic relationships as in *Ocimum* revealed by RAPD markers. *Euphytica*, 136: 11-20.
- Τσιβελίκας, Α.Λ., Τράκα-Μαυρωνά, Αικ. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου, 2002. Φυλογενετική συγγένεια μεταξύ εγχώριων ποικιλιών και ειδών του γένους *Cucurbita*. Πρακτικά 10<sup>ου</sup> Συνεδρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, Θεσσαλονίκη 30 Οκτωβρίου - 1 Νοεμβρίου, σελ. 197-203.
- UPOV 1996. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability. TG/155/3, Geneva, Switzerland.

**ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Εκφράζονται θερμές ευχαριστίες στον Επίκουρο Καθηγητή του εργαστηρίου Δασικής Γενετικής και Βελτίωσης Δασοπονικών Ειδών του Τμήματος Δασολογίας του Α.Π.Θ. κ. Αραβανόπουλο Φίλιππο για τις πολύτιμες συμβουλές του πάνω στη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων.

**STUDY OF GENETIC DIVERSITY BETWEEN SQUASH LANDRACES (*Cucurbita* spp.) USING MOLECULAR MARKERS AND MORPHOLOGICAL TRAITS**

A.L. Tsivelikas<sup>1</sup>, Koutita O.<sup>2</sup>, Anastasiadou A.<sup>1</sup>, Skarakis G.N.<sup>2</sup>, Traka-Mavrona E.<sup>3</sup> and M.S. Koutsika-Sotiriou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Aristotelian University of Thessaloniki, Department of Agriculture, Laboratory of Genetics and Plant Breeding, 541 24 Thessaloniki.

<sup>2</sup>Hellenic Sugar Industry F.H., Laboratory of Molecular Biology and Diagnostics, 574 00 Sindos.

<sup>3</sup>National Agricultural Research Foundation (N.A.G.R.E.F.), Agricultural Research Center of Macedonia-Thrace, 570 01 Thermi, Thessaloniki.

**SUMMARY**

Part of the squash germplasm collection, which is maintained in the Greek Gene Bank was assessed using morphological and molecular data sets. Specifically, 16 not well classified accessions were characterized using morphological traits along with an evaluation of the resistance against two isolates of *Fusarium oxysporum*. Moreover, a molecular analysis using RAPD markers showing a high level of polymorphism was also applied. Two independent dendrograms, one for morphological-agronomical and one for molecular data set were constructed, classifying the accessions into two and three main clusters, respectively. Moreover, a third dendrogram, combining morphological-agronomical and molecular data sets was also obtained based on Gower's distance and UPGMA clustering algorithm. In order to discriminate the optimal number of clusters the 'upper tail' approach was used. The most reliable discrimination of the accessions was accomplished using RAPD markers as well as the combination of the two different data sets, classifying the accessions into three significantly different groups with biological meaning for each one of them, *C. maxima*, *C. pepo* and *C. moschata*.

**Key Words:** *Cucurbita* spp., Gower's distance, morphological traits, RAPD markers, 'upper tail' approach.

## ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΖΑΧΑΡΟΤΕΥΤΛΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ PCR ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΟΥ ΧΡΟΝΟΥ (REAL TIME PCR, RT-PCR)

Καρέτσου Κ.<sup>1,2</sup>, Κουτίτα Ο<sup>1</sup>, Σκαράκης Γ.Ν.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Ελληνική Βιομηχανία Ζάχαρης, Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας και Διαγνωστικής, Σίνδος, Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας, Τομέας Γενετικής Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Θεσσαλονίκη

<sup>3</sup> Εργαστήριο Βελτίωσης των Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μέθοδος RT-PCR έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη του προφίλ έκφρασης διάφορων οικογενειών γονιδίων στα φυτά (Yokoyama και Nishitani 2001; Mladek et al, 2003; Chartier et al, 2002). Η συγκεκριμένη μελέτη έδειξε ότι η μέθοδος RT-PCR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ποσοτική μελέτη των γονιδίων που εκφράζονται κατά τις θερμικές καταπονήσεις (Heat Shock Proteins-HSPs) στα ζαχαρότευτλα. Συγκεκριμένα, σε φυτά δύο γενοτύπων ζαχαρότευτλου, εφαρμόστηκε θερμική καταπόνηση (40 °C) για 5<sup>1/2</sup> ώρες ενώ ακολούθησε εφαρμογή της RT-PCR για το *hsp70*, με γονίδιο αναφοράς την τουμπουλίνη και ως φθορίζουσα χρωστική το Sybr Green. Μετά την επίδραση της θερμικής καταπόνησης, βρέθηκε ότι η έκφραση του *hsp70* αυξήθηκε κατά την πρώτη ώρα, ενώ ακολούθως μειώθηκε στις 5<sup>1/2</sup> ώρες από την εφαρμογή της. Η μέθοδος αποδείχθηκε ιδιαίτερα ευαίσθητη, δίνοντας έτσι την δυνατότητα για ποσοτικοποίηση των αντιγράφων *hsp70* σε συνολικό RNA 6,25 ng.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρωτεΐνες HSPs70 έχουν αναγνωρισθεί ως μοριακοί συνοδοί και διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στη βιολογία και τη βιοχημεία των κυττάρων (Miernyk et al, 1997; Bukau και Horwich, 1998; Mayer και Bukau, 1998). Οι πρωτεΐνες αυτές κωδικοποιούνται από μια πολυ-γονιδιακή οικογένεια τα μέλη της οποίας είναι εξελικτικά ρυθμισμένα και διαφορετικά εκφρασμένα σε απάντηση στην θερμική καταπόνηση καθώς και άλλους παράγοντες που διακόπτουν την κανονική πρωτεϊνική αναδίπλωση ή ευνοούν την αποδιάταξη τους (Miernyk et al, 1997). Πολλά γονίδια *hsp70* επάγονται έντονα και γρήγορα σε 30 min έως 2 ώρες στους 37-45°C (Li et al, 1999; Sung et al 2001). Στο φυτικό είδος *Arabidopsis thaliana*, η παραγωγή τουλάχιστον ενός γονιδίου *hsp70* επάγεται περίπου 20 φορές περισσότερο ως απόκριση κατά την θερμική καταπόνηση στους 40 °C (Sung et al, 2001).

Η PCR πραγματικού χρόνου είναι μια μέθοδος βασισμένη στη συνεχή παρακολούθηση της συσσώρευσης του προϊόντος PCR μέσω μιας φθορίζουσας χρωστικής ουσίας, δηλαδή του Sybr Green. Το σύστημα μετρά την αρχική συγκέντρωση του DNA με τη χρησιμοποίηση του αριθμού κύκλων της PCR, στους οποίους ο πολλαπλασιασμός η φθάνει σε ένα σημαντικό επίπεδο, παρά τη χρησιμοποίηση του ποσού των τελικών προϊόντων της PCR (Heid et al, 1996; Gibson et al, 1996). Άλλες μέθοδοι όπως ο in Situ υβριδισμός, η μεταφορά κατά Northern, και η μέθοδος προστασίας RNAσών έχουν χρησιμοποιηθεί για τον ποσοτικό προσδιορισμό της έκφρασης γονιδίων. Εντούτοις η RT-PCR έχει πολλά πλεονεκτήματα τα οποία αφορούν το χρόνο, την ευαισθησία, την εξειδίκευση, την ευκολία της χρήσης και τη δυνατότητα αναπαραγωγής (Radonic et al, 200; Fronhoffs et al., 2002; Freeman et al., 1999; Kleinet al, 2002; Liu et al, 2002).

Ο προσδιορισμός της ποσότητας εκτελείται μέσω της σύγκρισης της έκφρασης των γονιδίων εσωτερικού ελέγχου, κυρίως γονίδια βασικών λειτουργιών (housekeeping genes), αποκαλούμενα έτσι επειδή η σύνθεσή τους είναι απαραίτητη για την επιβίωση του κυττάρου (Radonic et al, 2004; Giullieti et al, 2001, Bustin, 2000). Η σύνθεσή τους κυμαίνεται πολύ λίγο σε σύγκριση με άλλα γονίδια, αλλά η χρήση τους ως γονίδια εσωτερικού ελέγχου θα πρέπει να εξετάζεται προσεκτικά σε σχέση με τους κυτταρικούς τύπους και το μεταβολισμό των κυττάρων.

Στη συγκεκριμένη μελέτη εφαρμόστηκε μια ποσοτική δοκιμή RT-PCR σε θερμικά καταπονημένα φυτικά δείγματα για την μέτρηση της έκφρασης των *hsp70* κατά τη διάρκεια θερμικής καταπόνησης. Ως γονίδιο εσωτερικού ελέγχου επιλέχθηκε το γονίδιο της τουμπουλίνης (Blanco- Portales et al, 2002; Mladek et

al, 2003) και ως φθορίζουσα χρωστική ουσία χρησιμοποιήθηκε το Sybr Green. Τα αποτελέσματα φανερώνουν ότι η μέθοδος RT-PCR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ποσοτικοποίηση της έκφρασης των *hsp70* στο ζαχαρότευτλο.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Χρησιμοποιήθηκαν δύο γενότυποι ζαχαρότευτλου, οι οποίοι αναπτύχθηκαν στο θερμοκήπιο υπό κανονικές συνθήκες (12 ώρες φώς/12 ώρες σκοτάδι, θερμοκρασία 25°C) για δύο μήνες και ακολούθως υπέστησαν καταπόνηση για πεντέμιση ώρες με την εφαρμογή σταθερής θερμοκρασίας 40 °C. Η λήψη φυτικού υλικού έγινε με δύο δειγματοληψίες σε χρονικά διαστήματα (α) μίας ώρας και (β) πεντέμιση ωρών μετά την εφαρμογή της συνθήκης καταπόνησης. Η απομόνωση του DNA έγινε με τη χρήση υγρού αζώτου και φαινόλης, ενώ ακολούθησαν ποσοτικοποίηση, χειρισμός με DNA-άση και ανάστροφη μεταγραφή.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε ο σχεδιασμός των εκκινητών διότι υπήρχε η ανάγκη του ταυτόχρονου πολλαπλασιασμού του υπό μελέτη γονιδίου καθώς και του γονιδίου εσωτερικού ελέγχου. Οι εκκινητές σχεδιάστηκαν με βάση το πρόγραμμα της ιστοσελίδας [http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3\\_www.cgi](http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi). Για το γονίδιο *hsp70* οι εκκινητές σχεδιάστηκαν σε ένα κεντρικό μέρος του γονιδίου *hsp70* στα ζαχαρότευτλα και οι αλληλουχίες τους ήταν, η **HS1f** 5'-GGATTTTCGACAACAGGATGG-3' και η **HS1r** 5'-CCTTCTCGTTACCCCTACCA-3'.

Όσον αφορά την τουμπουλίνη ο σχεδιασμός έγινε σε γνωστά ESTs των ζαχαρότευτλων που βρέθηκαν στις βάσεις δεδομένων του διαδικτύου (EBI και NCBI) και ήταν οι:

**TubA1f** 5'-GTGCATTTCAATCCACATCG-3' και

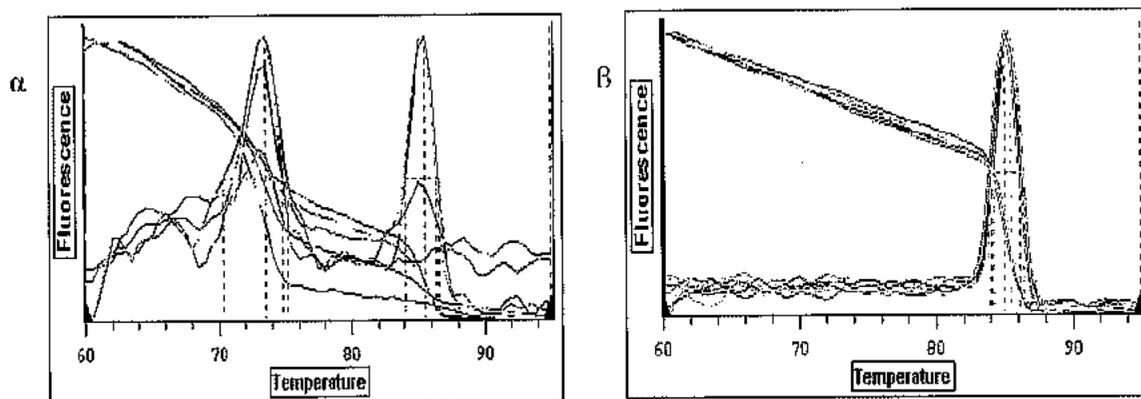
**TubA1r** 5'-CAGTGGGCTCAAGATCAACA-3'. Ακολούθως έγινε η δημιουργία των πλασμιδιακών μαρτύρων για χρήση στην RT-PCR που αφορούσε:

- (1) τον πολλαπλασιασμό των επιθυμητών αλληλουχιών με τους εκκινητές σε κατάλληλο θερμικό προφίλ και την ανάλυσή τους σε πηκτή αγαρόζης,
- (2) την κλωνοποίηση τους σε πλασμιδιακό φορέα PGEM-T Easy Vector (Promega) με τη χρήση της T4 λιγάσης,
- (3) τον μετασχηματισμό των βακτηριακών κυττάρων *E. coli* strain JM109 και την επιλογή με βάση την ανθεκτικότητα στην αμπικιλίνη καθώς και την ανέχνυση της β-γαλακτοσιδάσης,
- (4) την απομόνωση του πλασμιδιακού DNA με τη μέθοδο της αλκαλικής λύσης,
- (5) την επαλήθευση παρουσίας της επιθυμητής αλληλουχίας μετά από κοπή με το ένζυμο EcoRI και (6) τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του πλασμιδιακού DNA φασματομετρικά.

Στη συνέχεια έγινε ο υπολογισμός του αριθμού των μορίων πλασμιδιακού DNA ανά μl σύμφωνα με τους Overbergh et al, (1999) παρασκευάστηκαν αραιώσεις από  $10^2$ - $10^{11}$  μόρια πλασμιδιακού DNA /μl και ακολούθησε εφαρμογή της αντίδρασης RT-PCR.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

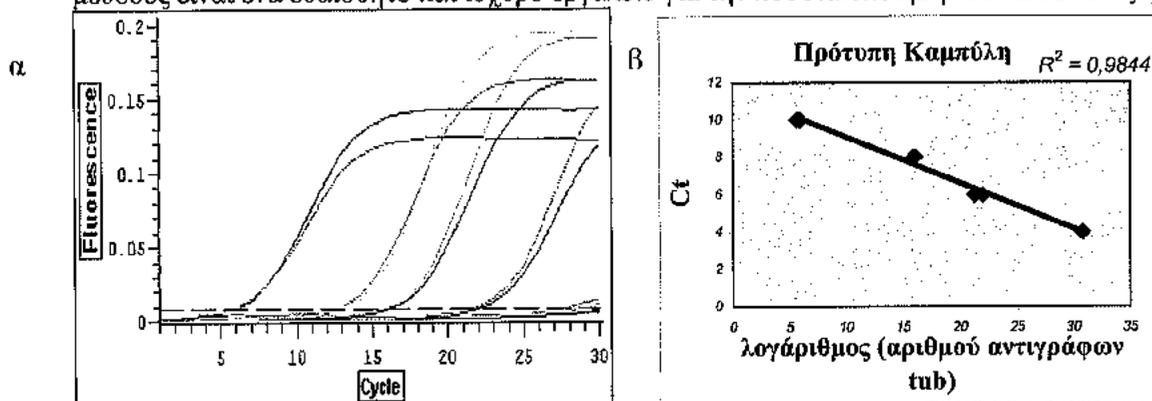
Αρχικά έγινε δοκιμή και βελτιστοποίηση της RT-PCR με τη χρήση ενός τυχαίου δείγματος και τη μελέτη της καμπύλης αποδιάταξης. Κατά τη διάρκεια της βελτιστοποίησης της RT-PCR θεωρήθηκε απαραίτητο να καθοριστεί ένα μέρος του σήματος φθορισμού που προερχόταν από τον πολλαπλασιασμό των παραπροϊόντων. Αυτό πραγματοποιήθηκε με το σχεδιασμό της καμπύλης αποδιάταξης και συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε η κορυφή αποδιάταξης για τον καθορισμό της παρουσίας του επιθυμητού προϊόντος (Εικ 1). Η αύξηση του φθορισμού πολλές φορές μπορεί να σημαίνει τον ταυτόχρονο πολλαπλασιασμό του επιθυμητού προϊόντος και των παραπροϊόντων. Για το λόγο αυτό, γίνεται επιβεβαίωση της ενίσχυσης του επιθυμητού προϊόντος, με τον σχεδιασμό της γραφικής παράστασης του φθορισμού σε σχέση με τη θερμοκρασία για την παραγωγή της καμπύλης αποδιάταξης. Στο σημείο αποδιάταξης οι δύο αλυσίδες του DNA ανοίγουν και ο φθορισμός πέφτει απότομα. Αυξάνοντας αργά τη θερμοκρασία πάνω από την θερμοκρασία αποδιάταξης του προϊόντος και μετρώντας τον φθορισμό, καθίσταται δυνατή η αναγνώριση του σήματος του σωστού προϊόντος.



Εικόνα 1. (α) Καμπύλη αποδιάταξης της *hsp70* πριν τη βελτιστοποίηση της RT-PCR. Οι δύο κορυφές φανερόνουν την παρουσία παραπροϊόντων,

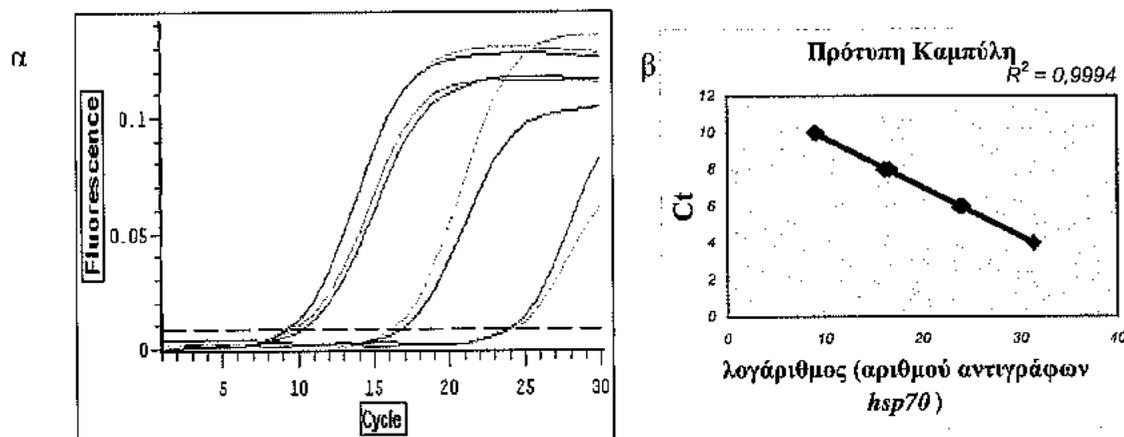
(β) Καμπύλη αποδιάταξης της *hsp70* μετά τη βελτιστοποίηση της RT-PCR. Η μία κορυφή φανερόνει τον πολλαπλασιασμό του επιθυμητού προϊόντος.

Ακολούθησε ο έλεγχος των μαρτύρων και η κατασκευή πρότυπης καμπύλης με τη χρήση των αραιώσεων-μαρτύρων και τον σχεδιασμό της πρότυπης καμπύλης (εικ 2 & 3). Ο κύκλος στον οποίο τα προϊόντα της RT-PCR συσσωρεύτηκαν σε κριτικό επίπεδο (threshold cycle (Ct)), καθορίστηκε για δείγματα στην κλίμακα  $10^4$  μόρια/ μλ έως  $10^{10}$  μόρια/ μλ. Η πρότυπη καμπύλη ήταν ευθεία, αποδεικνύοντας ότι η μέθοδος είναι ένα ευαίσθητο και ισχυρό εργαλείο για την ποσοτικοποίηση του RNA των ζαχαροτεύτλων.



Εικόνα 2. Δεδομένα τουμουλίνης (α) Η εκπομπή φθορισμού μετράται συνεχώς κατά τη διάρκεια της PCR. Με βάση τον σχεδιασμό της γραφικής παράστασης της εκπομπής φθορισμού σε σχέση με τον αριθμό των κύκλων ο threshold cycle (Ct), στον οποίο το φθορίζον σήμα γίνεται σημαντικά διαφορετικό από το αρχικό-χαμηλό σήμα, καθορίζεται από το λογισμικό του υπολογιστή.

(β) Η πρότυπη καμπύλη για την τουμπουλίνη προκύπτει από τον σχεδιασμό της γραφικής παράστασης του Ct με τον λογάριθμο του αριθμού cDNA αντιγράφων.



**Εικόνα 3.** Δεδομένα για την *hsp70*. (α) Η εκπομπή φθορισμού και ο threshold cycle (Ct) μετρήθηκαν όπως στην εικόνα 2(α)  
(β) Η πρότυπη καμπύλη για την *hsp70* προκύπτει όπως στην εικόνα 2(β).

Με τη χρήση της πρότυπης καμπύλης πραγματοποιήθηκε ο ποσοτικός προσδιορισμός έκφρασης της *hsp70* στα υπό μελέτη δείγματα. Αποσκοπώντας στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων της RT-PCR υπολογίστηκε ο βαθμός αλλαγής του γονιδίου εσωτερικού έλεγχου ( $\Delta T$ ) μετά από διαίρεση του αριθμού των αντιγράφων του γονιδίου στη μία ώρα και στις πέντε και μισή ώρες θερμικής καταπόνησης ως προς τον αριθμό των αντιγράφων πριν από την καταπόνηση. Με παρόμοιο τρόπο υπολογίστηκε ο βαθμός αλλαγής του *hsp70* ( $\Delta H$ ) καθώς και η αναλογία  $\Delta T/\Delta H$ , η οποία έδωσε τον βαθμό αλλαγής της *hsp70* διορθωμένο από το γονίδιο εσωτερικού ελέγχου. Σύμφωνα με τους υπολογισμούς που έγιναν η έκφραση της τουμπουλίνης δεν άλλαξε καθόλη τη διάρκεια της καταπόνησης (Wilcoxon,  $P>0.05$ ). Αντίθετα, η έκφραση της *hsp70* αυξήθηκε κατά τη διάρκεια της πρώτης ώρας της καταπόνησης και μειώθηκε στις πεντέμισι ώρες (Wilcoxon,  $P<0.05$ ) (πίν 1 & 2). Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε σύμφωνα με το test του Wilcoxon.

$\Delta T$		$\Delta H$		$\Delta H/\Delta T$	
Aα		Aα		Aα	
Aα1	0,83	Aα1	5,06	Aα1	6,06
Aα2	0,99	Aα2	1,49	Aα2	1,51
Aβ		Aβ		Aβ	
Aβ1	1,29	Aβ1	8,15	Aβ1	6,28
Aβ2	0,83	Aβ2	1,79	Aβ2	2,16
Aγ		Aγ		Aγ	
Aγ1	0,94	Aγ1	5,88	Aγ1	6,28
Aγ2	0,99	Aγ2	0,31	Aγ2	0,30
Aδ		Aδ		Aδ	
Aδ1	0,67	Aδ1	9,52	Aδ1	14,18
Aδ2	0,99	Aδ2	6,04	Aδ2	6,05

**Πίνακας 1.** Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού έκφρασης του *hsp70* σε 4 δείγματα (Aα, Aβ, Aγ, Aδ) του γενετικού υλικού (A)  
(Στατιστική ανάλυση: Wilcoxon, Tub -  $P=0,715$ , Hsp -  $P=0,068$ )  
Δείκτης 1: μία ώρα καταπόνησης  
Δείκτης 2: 5<sup>1/2</sup> ώρες καταπόνησης  
 $\Delta T$ : βαθμός αλλαγής της τουμπουλίνης,  
 $\Delta H$ : βαθμός αλλαγής του *hsp70*,  
 $\Delta T/\Delta H$ : βαθμός αλλαγής του *hsp70* διορθωμένο από το γονίδιο αναφοράς (τουμπουλίνη)

ΔΤ		ΔΗ		ΔΗ/ΔΤ	
Βα		Βα		Βα	
Βα1	0,67	Βα1	8,97	Βα1	13,31
Βα2	1,01	Βα2	1,51	Βα2	1,48
Ββ		Ββ		Ββ	
Ββ1	0,81	Ββ1	1,34	Ββ1	1,65
Ββ2	0,80	Ββ2	0,85	Ββ2	1,06
Βγ		Βγ		Βγ	
Βγ1	0,77	Βγ1	11,33	Βγ1	14,67
Βγ2	0,62	Βγ2	3,12	Βγ2	5,03
Βδ		Βδ		Βδ	
Βδ1	0,90	Βδ1	4,66	Βδ1	5,14
Βδ2	1,37	Βδ2	3,19	Βδ2	2,32

**Πίνακας 2.:** Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού έκφρασης του *hsp70* σε 4 δείγματα (Βα, Ββ, Βγ, Βδ) του γενετικού υλικού (B)  
(Στατιστική ανάλυση: Wilcoxon,  $P=0,465$ , Hsp -  $P=0,068$ )

Δείκτης 1: μία ώρα καταπόνησης  
Δείκτης 2: 5<sup>1/2</sup> ώρες καταπόνησης  
ΔΤ: βαθμός αλλαγής της τουμπουλίνης,  
ΔΗ: βαθμός αλλαγής του *hsp70*,  
ΔΤ/ΔΗ: βαθμός αλλαγής του *hsp70* διορθωμένο από το γονίδιο αναφοράς (τουμπουλίνη).

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με μια συνοπτική παρουσίαση των συμπερασμάτων, προκύπτει ότι:

- Η έκφραση της τουμπουλίνης δεν μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της καταπόνησης με υψηλή θερμοκρασία (40 °C) (σε σχέση με τη θερμοκρασία ανάπτυξης).
- Το γονίδιο της τουμπουλίνης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εσωτερικός μάρτυρας για τη μελέτη των επιπέδων έκφρασης σε γονίδια του ζαχαρότευτλου.
- Η έκφραση της HSP ακολουθεί ένα συγκεκριμένο μοντέλο. Η έκφρασή της αυξάνεται μετά από μία ώρα θερμικής καταπόνησης και μειώνεται μετά από τις πεντέμισι ώρες.
- Η μέθοδος RT-PCR βρέθηκε ότι είναι κατάλληλη για τον ποσοτικό προσδιορισμό της έκφρασης των γονιδίων *hsp* στα ζαχαρότευτλα και ίσως μελλοντικά να αποτελέσει το μοριακό εργαλείο για ποσοτικές μελέτες των διαφόρων οικογενειών *hsp* των ζαχαρότευτλων ή και μελών της ίδιας οικογένειας.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bukau B., Horwich A.L. (1998). The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell* 92: 351-366
- Bustin, S.A. (2000). Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology* 20: 169-193
- Charrier B., Champion A., Henry Y., Kreis M. (2002). Expression profiling of the whole *Arabidopsis* Shaggy-like kinase multigene family by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Plant Physiology* 130: 577-590
- Freeman W.M., Walker S.J., Vrana K.E. (1999). Quantitative RT-PCR: Pitfalls and Potentials. *BioTechniques* 26: 112-125
- Fronhoffs S., Totzke G., Stier S., Wernert N., Rothe M., Bruning T., Koch B., Sachinidis A., Vetter H., Ko Y. (2002). A method for the rapid construction of cDNA standard curves in quantitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction. *Molecular and Cellular Probes* 16: 99-110
- Gibson U.E.M., Heid C.A. and Williams P.M. (1996). A novel method for real time quantitative RT-PCR. *Genome Research* 6: 995-1001.
- Giulietti A., Overbergh L., Valckx D., Decallonne B., Bouillon R., Mathieu C. (2001). An overview of real-time quantitative PCR: Applications to quantify cytokine gene expression. *METHODS* 25: 386-401
- Heid C.A., Stevens J., Livak K.J. and Williams P.M. (1996). Real time quantitative PCR. *Genome Methods* 6: 986-994.
- Klein D. (2002). Quantification using real time PCR technology: applications and limitations. *TRENDS in Molecular Medicine* 8 (6): 257-260

- Li Q.B., Haskell D.W., Guy C.L. (1999). Coordinate and non-coordinate expression of the stress 70 family and other molecular chaperones at high and low temperature in spinach and tomato. *Plant Molecular Biology* 39: 21-34
- Liu W., Saint D.A. (2002). A new quantitative method of real time reverse transcription polymerase chain reaction assay based on simulation of polymerase chain reaction kinetics. *Analytical Biochemistry* 302: 52-59
- Mayer M.P., Bukau B. (1998). Hsp70 chaperone systems: diversity of cellular functions and mechanisms of action. *Biol Chem.* 379: 261-268
- Miernyk J.A (1997). The 70kD stress-related proteins as molecular chaperones. *Trends in Plant Science* 2 (5): 180-187
- Mladek C., Guger K., Hauser M.T. (2003). Identification and characterization of the ARIADNE gene family in *Arabidopsis*. A group of putative E3 ligases. *Plant Physiology* 131, 27-40
- Overbergh L., Valckx D., Waer M., Mathieu C. (1999). Quantification of murine cytokine mRNAs using Real Time Quantitative Reverse Transcriptase PCR. *Cytokine* 11 (4): 305-312
- Radonic A., Thulke S., Mackay I.M., Landt O., Siebert W., Nitsche A. (2004). Guideline to reference gene selection for quantitative real-time PCR. *Bioch Biophys Research Communication* 313: 856-862
- Sung D.Y., Kaplan F., Guy C.L. (2001). Plant Hsp70 molecular chaperones: Protein structure, gene family, expression and function. *Physiologia Plantarum* 113 (4): 443
- Yokoyama R., Nishitani K. (2001). A comprehensive expression analysis of all members of a gene family encoding cell-wall enzymes allowed us to predict *cis*-regulatory regions involved in cell-wall construction in specific organs of *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology* 42, 1025-1033

## QUANTITATIVE ANALYSIS OF HEAT SHOCK PROTEIN 70 IN HEAT STRESSED SUGAR BEET (BETA VULGARIS L.) PLANTS

Karetsou Katerini<sup>1,2\*</sup>, Koutita Olga<sup>1</sup>, Skarakis George<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup>Hellenic Sugar Industry, Sindos, 54700 Greece

<sup>2</sup>Aristotle University, Laboratory of General Biology, Division of Genetic Development and Molecular Biology, Thessaloniki, 54006

<sup>3</sup>Laboratory of Plant Breeding and Biometry, Agricultural University of Athens, Athens

### SUMMARY

RT-PCR has been already used to study the expression profile of several plant gene families (Yokoyama and Nishitani 2001, Mladek *et al.*, 2003, Charrier *et al.*, 2002). This study demonstrates that quantitative RT-PCR can be used to measure expression of heat shock protein (HSPs) genes in sugar beets. Sugar beet plants were heat stressed for 5<sup>1/2</sup> hours followed by real-time quantitative RT-PCR of *hsp70* mRNA using the housekeeping gene *tubulin* as reference gene and the fluorogenic Sybr Green. *Hsp70* mRNA expression peaked at 1 hour of heat stress and decreased at 5<sup>1/2</sup> hours. This method is very sensitive, quantitating the target *hsp70* transcript in 6.25 ng total RNA.

## Η ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗ RNA-ΣΙΩΠΗΣΗ ΓΟΝΩΝ ΣΤΑ ΦΥΤΑ

Ανδρέας Ε. Βολουδάκης

Εργαστήριο Φυσιολογίας & Μορφολογίας Φυτών,  
Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας,  
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, Αθήνα 11855

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

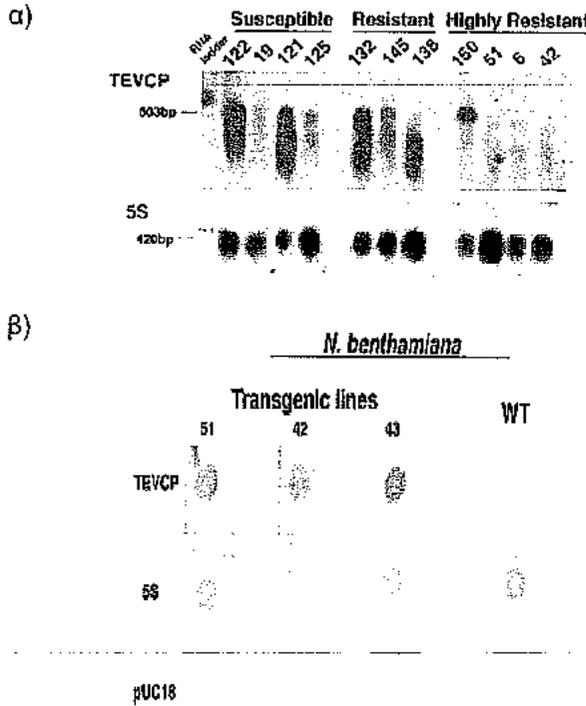
Στην παρούσα εργασία έγινε περιγραφή του μηχανισμού της μετα-μεταγραφικής RNA-σιώπησης γόνων (Post-Transcriptional Gene Silencing, PTGS). Η μελέτη του μηχανισμού της PTGS άρχισε μετά την ανακάλυψη του φαινομένου της RNA-διαμεσολαβούμενης ανθεκτικότητας (RNA Mediated Resistance) που παρατηρήθηκε στα φυτά. Στην ανθεκτικότητα αυτή, η οποία αποτελεί μια βιοτεχνολογική εξέλιξη της διασταυρωτής προστασίας των φυτών, βρέθηκε ότι τμήματα του RNA μεγάλου αριθμού φυτοπαθογόνων ιών έχουν τη δυνατότητα να προσδίδουν σε διαγονικά φυτά υψηλή ανθεκτικότητα έναντι προσβολών από τους ίδιους ιούς.

Η PTGS είναι ένας μηχανισμός που λειτουργεί στο κυτταρόπλασμα των φυτικών κυττάρων με σκοπό τον έλεγχο της εκφράσεως των γόνων και παρουσιάζει ορισμένα διαγνωστικά χαρακτηριστικά. Το προτεινόμενο πρότυπο του μηχανισμού της PTGS αποτελείται από τρία στάδια: την επαγωγή, την εξάπλωση και τη διατήρηση του μηχανισμού σιωπής της γενετικής πληροφορίας στο φυτό. Συγκεκριμένα, η επαγωγή μπορεί να πραγματοποιηθεί με τέσσερις τρόπους: α) με τη χρήση διαγόνου, β) με τη χρήση ιικού φορέα, γ) με την εισαγωγή καθαρού DNA στα φυτικά κύτταρα, δ) με την έγχυση σε φυτικούς ιστούς μετασχηματισμένων βακτηριακών κυττάρων του *Agrobacterium tumefaciens* και ε) με την απευθείας εισαγωγή μορίων-dsRNA της κωδικοποιημένης περιοχής. Στα πλαίσια αυτής της εργασίας γίνεται αναφορά στις απαραίτητες προϋποθέσεις για την εξάπλωση και τη διατήρηση της PTGS. Επίσης παρουσιάζονται οι μέχρι σήμερα γνωστοί γόνιμοι των φυτών που εμπλέκονται στην PTGS, καθώς και για στις πρωτεΐνες ιικής προελεύσεως οι οποίες την καταστέλλουν. Τέλος, αναφέρονται μερικές πιθανές εφαρμογές της PTGS για βασική και εφαρμοσμένη έρευνα στα φυτά.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στη δεκαετία του 1930 μελετήθηκε το φαινόμενο της “διασταυρωτής προστασίας” ή “σταυροπροστασίας” (cross protection) στα φυτά, δηλαδή μιας επαγόμενης προστασίας των φυτών έναντι φυτοπαθογόνων ιών. Η μελέτη του φαινομένου αυτού κατέληξε στην εφαρμογή της μεθόδου στη γεωργική πράξη για την καταπολέμηση ιολογικών ασθενειών (π.χ. χρήση ήπιων μορφών του ιού της τριστεύσσας σε πορτοκαλιά έναντι ισχυρά παθογόνων μορφών του ίδιου ιού) (Fulton 1986). Μία βιοτεχνολογική εξέλιξη της μεθόδου της “διασταυρωτής προστασίας” θεωρείται η ανθεκτικότητα προερχόμενη από το ίδιο το παθογόνο (Pathogen Derived Resistance, PDR) (Sanford και Johnston 1985, Powell Abel κ.ά. 1996). Στην κατηγορία αυτή της ανθεκτικότητας εμπεριέχεται και ο ιδιαίτερα ενδιαφέρον μηχανισμός ο οποίος εκδηλώνεται με μειωμένη παραγωγή νουκλεϊκών οξέων στο μετα-μεταγραφικό επίπεδο (post-transcriptional gene silencing, PTGS). Ο μηχανισμός αυτός δρα ελέγχοντας με τρόπο εξειδικευμένο (εξαρτάται από την αλληλουχία) ελέγχοντας την έκφραση ορισμένων γόνων και ονομάστηκε “RNA σιώπηση” (RNA silencing).

Η PTGS έχει ως αποτέλεσμα την αποδόμηση των μεταγραφημάτων (mRNA) με την παραγωγή μη-φυσιολογικών τμημάτων νοηματικού (sense RNA), αντινοηματικού (antisense RNA) ή διπλής αλυσίδας RNA (dsRNA) τα οποία φαίνεται ότι εμπλέκονται στο μηχανισμό της PTGS. Η αποδόμηση αυτή του mRNA πραγματοποιείται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων με βάση την ακολουθία του, δηλαδή λαμβάνει χώρα στο ομόλογο τμήμα του και επομένως παρουσιάζει πολύ υψηλή εξειδίκευση. Αρχικά, παρατηρήθηκε μια χαμηλή ποσότητα μεταγραφημάτων του υπό μελέτη γόνου ενώ η παραγωγή των μεταγραφημάτων του γόνου αυτού ήταν σε υψηλά επίπεδα σε σύγκριση με το μάρτυρα (Εικ. 1). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει την ύπαρξη μηχανισμού αποδομής των μεταγραφημάτων. Τα χαρακτηριστικά αυτά χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικά της λειτουργίας της PTGS. Τελευταία ως διαγνωστικό χαρακτηριστικό χρησιμοποιούνται και τα μικρά παρεμποδίζοντα RNA (short interfering RNAs, siRNAs) τα οποία σχετίζονται με τη λειτουργία της PTGS.



**Εικ. 1.** Δύο από τα διαγνωστικά χαρακτηριστικά της μετα-μεταγραφικής σιωπήσεως γόνων (PTGS) (*Βολουδάκης Α., προσωπικές παρατηρήσεις*)

(α) Στύπωμα κατά Northern διαγονικών φυτών *Nicotiana benthamiana* που κωδικούν το γόνο της καψιδιακής πρωτεΐνης (CP) του ιού *Tobacco etch virus* (ιός της χαραγής του καπνού, TEV). Ως ανιχνευτής ήταν ο γόνος TEV-CP. Παρατηρήθηκαν διαφορετικά επίπεδα του διαγόνου στις διαγονικές σειρές και διαπιστώθηκε μια σχέση μεταξύ της παρουσίας ανθεκτικότητας των διαγονικών φυτών στον ιό και της χαμηλής συγκεντρώσεως μεταγραφημάτων TEV-CP.

(β) Πείραμα πυρηνικής απορροής σε διαγονικές σειρές *N. benthamiana* που κωδικούν το γόνο TEV-CP. Όλες οι διαγονικές σειρές παρήγαγαν παρόμοια ποσά νεοπααραγομένων μεταγραφημάτων του TEV-CP.

TEVCP = καψιδιακή πρωτεΐνη (CP) του TEV (ανιχνευτής)

5S = ριβοσωματικό RNA 5S (ανιχνευτής)

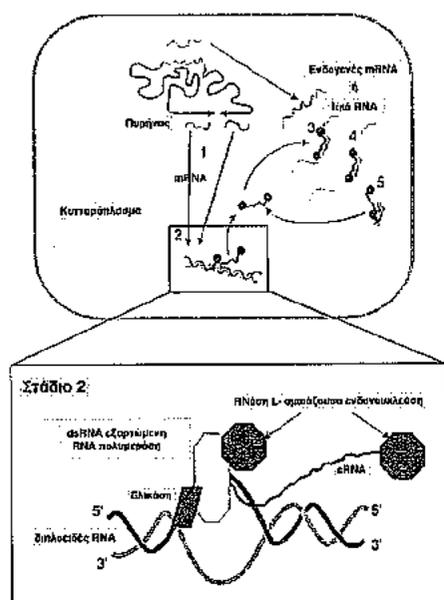
pUC18 = πλασμίδιο-φορέας (μη-ομόλογο DNA, ανιχνευτής)

## ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΣΙΩΠΗΣΕΩΣ ΓΟΝΩΝ (PTGS)

Ο μηχανισμός της PTGS φαίνεται διαγραμματικά στην Εικ. 2. Στο μηχανισμό αυτό, κεντρικό ρόλο παίζουν τα μόρια διπλής αλυσίδας RNA (dsRNA), τα οποία προέρχονται από την ύπαρξη συμπληρωματικών μεταξύ τους μορίων RNA (Στάδιο 1). Ένα μόριο dsRNA στο κυτταρόπλασμα του φυτικού κυττάρου μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εκμαγείο από την dsRNA-εξειδικευμένη RNA πολυμεράση, για τη σύνθεση μικρών μορίων ssRNA (cRNA) (Στάδιο 2). Τα μόρια αυτά, μεταφέροντας μαζί τους μια εξειδικευμένη ενδονουκλεάση ομοιάζουσα με RNάση-L, έχουν την ιδιότητα να προσκολλώνται στα ομόλογα τμήματα των μεταγραφημάτων (ενδογενή mRNA ή ιικά RNA)-στο-κυτταρόπλασμα- (Στάδιο-3). Με τη δράση της εξειδικευμένης αυτής RNάσης πραγματοποιείται εξειδικευμένη αποδόμηση των μεταγραφημάτων (Στάδια 4, 5).

Η PTGS πραγματοποιείται σε τρία στάδια:

α) **Επαγωγή της PTGS:** Η επαγωγή του μηχανισμού της PTGS μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη χρήση εξωγενών γόνων (διαγόνων) όπως για παράδειγμα όταν εφαρμόστηκε η έκφραση, σε διαγονικά φυτά, του γόνου της πολυμεράσης ή της καψιδιακής πρωτεΐνης ενός ιού. Εξάλλου, η πρώτη ένδειξη της RNA-σιωπήσεως για ενδογενείς γόνους των φυτών παρατηρήθηκε σε διαγονικά φυτά στα οποία είχε εισαχθεί αντίγραφο του ενδογενούς γόνου, με σκοπό την ενίσχυση της εκφράσεως του αντίστοιχου πρωτεϊνικού μορίου και συνεπώς της λειτουργίας του. Σε μερικές περιπτώσεις παρατηρήθηκε το αντίθετο αποτέλεσμα, δηλαδή μείωση αντί ενισχύσεως του επιθυμητού αποτελέσματος. Αυτό φαίνεται χαρακτηριστικά στα διαγονικά φυτά πετούνιας τα πέταλα των οποίων έχασαν το χρώμα τους λόγω της εισαγωγής πρόσθετων αντιγράφων του ενδογενούς γόνου της συνθάσης της τσαλχόνης (*chalcone synthase, CHS*) που εμπλέκεται στο βιοσυνθετικό μονοπάτι των ανθοκυανινών (Εικ. 3). Η παρουσία του διαγόνου *CHS* σε περισσότερα του ενός αντίγραφα επάγει τη σιώπηση του ενδογενούς γόνου *CHS* αντί της αναμενόμενης ενισχύσεώς του μέσω της PTGS, με αποτέλεσμα τα μωβ άνθη (σκούρα απόχρωση) να παρουσιάζονται ως διαφορετικές αποχρώσεις του λευκού.



**Εικ. 2.** Διαγραμματική περιγραφή του μηχανισμού της εξειδικευμένης αποδομήσεως μορίων dsRNA στο φυτικό κύτταρο κατά τη διαδικασία του φαινομένου της μετα-μεταγραφικής σιωπήσεως γόνων (PTGS) (Waterhouse κ.ά. 1998)

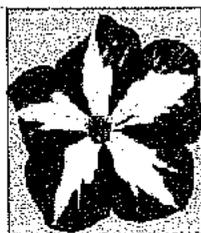
dsRNA: διπλής αλυσίδας RNA

ssRNA: μονής αλυσίδας RNA

Ελικάση (helicase), πρωτεΐνη υπεύθυνη για την “αποκόλληση” των 2 αλυσίδων του dsRNA μεταξύ τους  
RNA πολυμεράση εξειδικευμένη για dsRNA (dsRNA dependent RNA polymerase)

RNάση-L ομοιάζουσα ενδονουκλεάση (RNase L-like endonuclease)

cRNA: συμπληρωματικό RNA



**Εικ. 3.** RNA-σιώπηση ενδογενούς γόνου σε πετούνια.

Διαγονικά φυτά πετούνιας με το διαγόνο της συνθάσης της τσαλχόνης (chalcone synthase, CHS).

<http://www.forestry.mtu.edu/faculty/tsai/> και (Baulcombe, 2002).

Η επαγωγή της PTGS μπορεί να πραγματοποιηθεί και με τη χρήση ικών φορέων που περιέχουν ομόλογες ακολουθίες με το γόνο-στόχο του οποίου επιθυμείται η RNA σιώπηση, όπως για παράδειγμα εφαρμόζεται με τον ιό X της πατάτας (*Potato virus X*, PVX), τον ιό του κροταλίσματος του καπνού (*Tobacco rattle virus*, TRV), τον ιό του μωσαϊκού του καπνού (*Tobacco mosaic virus*, TMV), τους δίδυμους ιούς (Geminiviruses), κ.ά. (Voinner, 2001).

Εκτός των διαγόνων και των ικών φορέων, άλλοι τρόποι επαγωγής της PTGS είναι η εισαγωγή καθαρού DNA στα φυτικά κύτταρα, με χρήση πλασμιδίου εισαγόμενου με τη βιοβαλλιστική (biolistic) μέθοδο, και η έγχυση (infiltration) γενετικά-τροποποιημένων βακτηριακών κυττάρων του *Agrobacterium tumefaciens* (agroinfiltration). Με αυτό τον τρόπο επάγεται η PTGS στα κύτταρα που παρέμειναν ζωντανά μετά τη χρήση της βιοβαλλιστικής μεθόδου ή μολύνθηκαν από το βακτήριο *A. tumefaciens* με τη μέθοδο της εγχύσεως. Τελευταία, έγινε δυνατή η απευθείας εισαγωγή μορίων dsRNA στο φυτικό ιστό με απλή χρήση αποξερστικών ουσιών.

**β) Διασυστηματικός “πολλαπλασιασμός” ή εξάπλωση της PTGS:** Είναι το δεύτερο στάδιο της PTGS και πραγματοποιείται με τη διακίνηση, από κύτταρο-σε-κύτταρο και σε μεγάλες αποστάσεις διαμέσου των αγγείων μεταφοράς του φυτού, ενός μηνύματος επαγωγής της σιωπήσεως στα άλλα μέρη του φυτού. Η διαδικασία αυτή ακολουθείται από μια επανένισχυση (re-amplification) του σήματος στα τελικά κύτταρα. Ένα παράδειγμα διασυστηματικής RNA-σιώπησης παρουσιάζεται στην Εικ. 4, όπου παρατηρείται η χωροχρονικά αυξανόμενη RNA-σιώπηση του διαγόνου GFP (green fluorescent protein). Η χημική σύσταση του μηνύματος αυτού είναι μέχρι στιγμής άγνωστη, λόγω της μέχρι τώρα αδυναμίας απομονώσεώς του. Πιστεύεται όμως ότι είναι, τουλάχιστον μερικώς, ένα μόριο RNA. Το dsRNA (βλέπε Εικ. 2) και τα διάφορα μη-φυσιολογικά (aberrant) μεταγραφήματα θεωρούνται πιθανά διασυστηματικά σήματα. Ένα άλλο σήμα που θεωρείται πιθανό είναι τα μόρια siRNAs (~21-26 νουκλεοτιδίων).



**Εικ. 4.** Διασυστηματική σιάπηση σε φύλλο διαγονικού φυτού *Nicotiana benthamiana* για την πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (GFP) (πράσινος φθορισμός των φύλλων, γκρί χρώμα στην εικόνα).

Η σιάπηση της GFP παρουσιάζεται με την εμφάνιση του κόκκινου φθορισμού της χλωροφύλλης (μαύρο χρώμα στην εικόνα) ο οποίος αρχίζει από τα κύτταρα πλησίον των νευρώσεων (Baulcombe, 2002).

Η διαπίστωση της μεταφοράς του σήματος “επανενισχύσεως” στα φυτά επιβεβαιώθηκε με πειράματα εμβολιασμού. Πιο συγκεκριμένα ένα “μη-σιωπημένο” εμβόλιο τοποθετημένο σε “σιωπημένο” υποκείμενο είχε ως αποτέλεσμα την εκπτυξη και ανάπτυξη φυτικού σώματος στο οποίο είχε ενεργοποιηθεί ο μηχανισμός της RNA-σιωπήσεως (Vaucheret κ.ά. 2001).

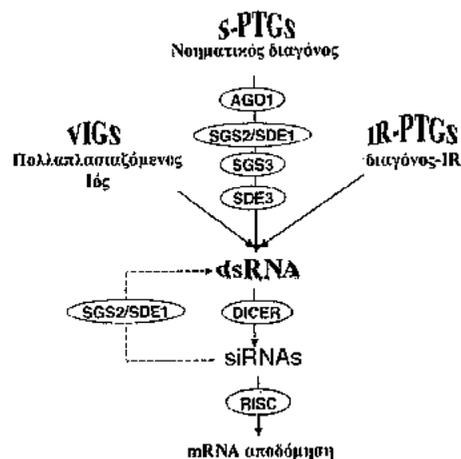
γ) **Διατήρηση της PTGS:** Η διατήρηση της μετα-μεταγραφικής RNA-σιωπήσεως παρατηρήθηκε όταν σε πειράματα εμβολιασμού βρέθηκε ότι ένα “σιωπημένο” εμβόλιο παραμένει “σιωπημένο” μόνο όταν το υποκείμενο έχει τη δυνατότητα της αυθόρμητης επαγωγής της PTGS (Vaucheret κ.ά. 2001). Η επαγωγή αυτή της PTGS εξαρτάται από την ύπαρξη ενός “αποτυπώματος” (imprint), δηλαδή μιας πληροφορίας επιγενετικής (epigenetic) φύσεως στο DNA του φυτού. Το “αποτύπωμα” αυτό έχει προέλθει από την ύπαρξη σήματος της PTGS και έχει τη δυνατότητα να τη διατηρεί ενεργή (δηλαδή να μην είναι αναγκαία η επαγωγή της) κατά τη διάρκεια της αναπτύξεως του φυτού.

## ΓΟΝΟΙ ΦΥΤΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΤΗΣ PTGS

Αναφέρθηκε παραπάνω ότι η PTGS είναι ένας μηχανισμός των φυτών με διάφορα στάδια λειτουργίας. Όπως προκύπτει από τη συνεχή έρευνα στον τομέα αυτό κατά τις διαδικασίες του μηχανισμού αυτού θα πρέπει να εμπλέκονται και πρωτεϊνικά μόρια του φυτού. Στο προτεινόμενο πρότυπο (Εικ. 5, Beclin κ.ά. 2002) φαίνονται μερικές τέτοιες πρωτεΐνες, όπως επίσης η θέση δράσης τους στο μοριακό μονοπάτι της PTGS, καθώς και οι χαρακτηριστικοί τρόποι επαγωγής της PTGS.

Το dsRNA είναι το σημείο “τομής” των τριών μηχανισμών επαγωγής (Εικ. 5). Φαίνεται ότι η dsRNA-εξαρτώμενη αποδόμηση mRNA εξαρτάται από την παραγωγή των siRNAs, η οποία πραγματοποιείται από την πρωτεΐνη DICER (ένζυμο κοπής). Οι πρωτεΐνες AGO1, SGS2/SDE1, SGS3, SDE3 δεν είναι απαραίτητες για τα μονοπάτια VIGS (virus induced gene silencing, RNA σιάπηση επαγόμενη από ιό) και IR-PTGS (inverted repeat-PTGS, RNA σιάπηση επαγόμενη από αντιθέτου φοράς επαναλαμβανόμενες ακολουθίες).

Η αναγνώριση των γενετικών πληροφοριών που κωδικεύουν τις φυτικές πρωτεΐνες οι οποίες εμπλέκονται στην PTGS θεωρείται πολύ μεγάλης σημασίας. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωρισθεί οι γόνοι *MET1* (κωδικεύει μια DNA μεθυλτρανσφεράση), *DDM1* (έχει σχέση με πρωτεΐνες που διαφοροποιούν τη δομή της χρωματίνης), *SGS2* ή *SDE1* (RNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση), *SDE3* (RNA ελικάση), *SGS3*, *AGO1*, *rgs-CaM* (αγνώστου λειτουργίας), που φαίνεται να εμπλέκονται στο μονοπάτι επαγωγής της PTGS στα φυτά.



Εικ. 5. Πρότυπο μονοπατιού της RNA-σιωπής στα φυτά με κεντρικό μόριο το dsRNA. (Beclin κ.α. 2002)

VIGS (virus induced gene silencing)

IR-PTGS (inverted repeat-PTGS)

S-PTGS (sense PTGS, PTGS από νοηματικό μόριο)

S = νοηματικό (sense)

## ΚΑΤΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ PTGS

Η ύπαρξη μηχανισμού καταστολής της PTGS διαπιστώθηκε όταν παρατηρήθηκε η απενεργοποίηση της εγκατασθείσας ανθεκτικότητας (που οφείλεται στην PTGS) σε διαγονικά φυτά έναντι φυτοπαθογόνων ιών λόγω δευτερογενούς μόλυνσης από έναν άλλο ιό. Η PTGS, ως ένα σύστημα άμυνας του φυτού έναντι των ιών, είναι ένας μηχανισμός που δρά έναντι των ιικών RNA και περιορίζει το βιολογικό κύκλο των ιών. Λόγω της εξελικτικής πίεσης επί των ιών που οφείλεται στην PTGS, οι ιοί έχουν αναπτύξει τη δυνατότητα καταστολής της PTGS. Η καταστολή αυτή πραγματοποιείται ακόμα και αν οι ιοί δεν παρουσιάζουν ομολογία ακολουθίας με το σήμα που έχει ενεργοποιήσει την PTGS (Voignnet κ.α. 1999). Συγκεκριμένα, η βοηθητική πρωτεΐνη (helper-component protein, HC-Pro) των Potyviruses όπως ο TEV (*Tobacco etch virus*, ιός της χαραγής του καπνού) και PVY (*Potato virus Y*, ιός Y της πατάτας), η πρωτεΐνη 2b του CMV (*Cucumber mosaic virus*, ιός του μωσαϊκού της αγγουριάς) και η πρωτεΐνη AC2 του ACMV (*African cassava mosaic virus*, ιός του μωσαϊκού της αφρικανικής κασσάβας) παρουσιάζουν μια παρεμποδιστική δράση της εκδηλώσεως της PTGS. Το γεγονός αυτό βοηθά στη συνέχιση του βιολογικού κύκλου των ιών με αποτέλεσμα την εξασθένηση της ανθεκτικότητας του φυτού έναντι του ελέγχου του ιού. Αυτές οι πρωτεΐνες (παρεμποδιστές ή καταστολείς της RNA-σιωπής) πιστεύεται ότι αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες του κυτταρικού μηχανισμού της PTGS του φυτού ή παρεμποδίζουν τη μετάδοση του "διασυστηματικού" σήματός της από κύτταρο σε κύτταρο ή σε μεγάλη απόσταση (Voignnet κ.α. 1999).

Πιο συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη HC-Pro (Potyviruses) εμπλέκεται στην παρεμπόδιση της RNaseIII (DICER) με αποτέλεσμα την αναστολή ή μείωση παραγωγής των siRNAs. Η πρωτεΐνη Cmv2b (Cucumoviruses) φαίνεται ότι παρεμποδίζει τη διασυστηματική μεταφορά του σήματος της RNA-σιωπής. Η ίδια λειτουργία παρατηρήθηκε και για την πρωτεΐνη P19 (Tombusviruses) η οποία βρέθηκε ότι, τουλάχιστον *in vitro*, προσδέεται στα ~21-25 siRNAs. Η πρωτεΐνη P25 (Potexviruses), η οποία είναι απαραίτητη για την κίνηση του ιού από κύτταρο σε κύτταρο, βρέθηκε να εμπλέκεται στην παρεμπόδιση της διασυστηματικής RNA-σιωπής. Επίσης, άλλες πρωτεΐνες ή μέρη αυτών, που κωδικοούνται από φυτοπαθογόνους ιούς, προσδιορίζονται με την πρόοδο στο χώρο αυτό της έρευνας, ως εμπλεκόμενες στην καταστολή της PTGS (π.χ. καψιδική πρωτεΐνη του ιού του ζαρώματος του γογγυλίου, *Turnip crinkle virus*, TCV).

Εντυπωσιακό παράδειγμα παρεμπόδισης της PTGS είναι η περίπτωση της παρεμπόδισης της καταστολής του γόνου της ρεδουκτάσης (αναγωγής) των νιτροδών από τους ιούς CMV ή TEV, που έχει ως αποτέλεσμα την πλήρη ενεργοποίηση της εκφράσεως της γενετικής πληροφορίας (παραγωγή ρεδουκτάσης) και συνεπώς την κανονική ανάπτυξη του φυτού (Εικ. 6). Διαγονικό φυτό καπνού για το γόνο της ρεδουκτάσης (αναγωγής) των νιτροδών (*NiR*) παρουσίασε νάνο φαινότυπο λόγω της σιωπής του ενδογενούς γόνου *NiR*. Όμως η μόλυνση του φυτού αυτού με ιούς όπως ο CMV ή ο TEV είχε ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της PTGS που οδήγησε στην κανονική ανάπτυξη των φυτών (απουσία νανισμού) παρόλο ότι ήταν μολυσμένα από τους αντίστοιχους ιούς.



Εικ. 6. Παρεμπόδιση της PTGS του γόνου της ρεδουκτάσης στα φυτά καπνού λόγω ιολογικών μολύνσεων από CMV ή TEV.

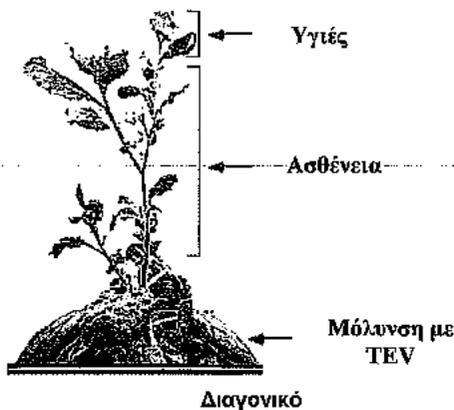
Αριστερά, φυτό με σιωπημένο το γόνο *NiR* (νάνο φυτό) και δεξιά το ίδιο φυτό μολυσμένο με CMV (φυτό ανεπτυγμένο αλλά με παρουσία συμπτωμάτων).

(Vaucheret κ.ά. 2001).

## ΠΙΘΑΝΕΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ RNA ΣΙΩΠΗΣΕΩΣ

### α) “Ανοσοποίηση” των φυτών έναντι φυτοπαθογόνων ιών

Η RNA-διαμεσολαβούμενη ανθεκτικότητα (παράδειγμα της PTGS) είναι μια νέα μέθοδος προστασίας των φυτών έναντι των φυτοπαθογόνων ιών η οποία παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα. Η ενεργοποίηση του μηχανισμού πραγματοποιείται όταν η ποσότητα του RNA υπερβεί ένα όριο συγκεντρώσεως (threshold limit). Στην περίπτωση των ικάν προσβολών τα φυτά μπορεί να παρουσιάζουν μια ανοσία εξαρχής (η ανθεκτικότητα υπάρχει πριν από τη μόλυνση), ή η άμυνα εγκαθίσταται μετά από μόλυνση των νεαρών φύλλων. Η χρονική διαφοροποίηση της εκδηλώσεως της άμυνας στο φυτό εξαρτάται από το εάν ο μηχανισμός της PTGS είναι ενεργοποιημένος από πριν (απαιτούνται τρία ή τέσσερα αντίτυπα του διαγόνου) ή επάγεται μετά την είσοδο του ιικού RNA (ένα ή δύο αντίτυπα του διαγόνου) (φαινόμενο αναρρώσεως) (Εικ. 7). Στην τελευταία περίπτωση το φυτό αρχικά παρουσιάζει τα τυπικά συμπτώματα της ασθένειας, ενώ με την πάροδο του χρόνου η νέα βλάστηση εμφανίζεται υγιής και ταυτόχρονα άνοση σε πιθανή δευτερογενή μόλυνση από τον ίδιο ιό.



Εικ. 7. Φαινόμενο αναρρώσεως διαγονικών φυτών *Nicotiana benthamiana* οφειλόμενη στο μόριο RNA του εισαχθέντος γόνου της καψιδικής πρωτεΐνης του Tobacco Etch Virus μετά από μόλυνση με τον ιό. (Βολουδάκης, Α. 1999, προσωπικές παρατηρήσεις).

Υγιές: νεαρά φύλλα χωρίς συμπτώματα και χωρίς την παρουσία ιού.

### β) Άλλες βιοτεχνολογικές εφαρμογές

Η PTGS ως κυτταρικός μηχανισμός αποδομήσεως των μεταγραφημάτων (mRNA) έχει πολλές εφαρμογές στην έρευνα της βιολογίας του κυττάρου. Με τη χρήση του μηχανισμού αυτού μπορεί να πραγματοποιηθεί η κατά βούληση μείωση της εκφράσεως ενός ενδογενούς γόνου που οδηγεί σε πιθανή παροδική μεταβολή του φαινοτύπου. Γι' αυτό το λόγο, η σιώπηση ενδογενών γόνων είναι ένα πολύ σημαντικό “εργαλείο” στη γενετική βελτίωση των φυτών. Επίσης, πρέπει να τονιστεί ότι αντίστοιχη μεταβολή του φαινοτύπου και μελέτη αυτού, μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη χρήση διαγονικών φυτών σε φυτικά είδη όπου η διαδικασία αυτή είναι χρονοβόρος έως αδύνατη ή επιτρεπτή κάτω από συγκεκριμένες προϋποθέσεις.

Το γεγονός ότι περιορισμένου μεγέθους (μικρά μόρια) γενετικό υλικό (DNA που δεν κωδικοποιεί κάποιο πεπτιδίο παρά μόνο το επιθυμητό RNA) μπορεί να επάγει το φαινόμενο της "σιωπής" είναι μεγάλης σπουδαιότητας για την ανάπτυξη διαγονικών φυτών, τα οποία θεωρούνται πιο "φίλικά" στο περιβάλλον αλλά και στον άνθρωπο. Επίσης, η δυνατότητα, με τη χρήση της γενετικής μηχανικής, της προσθήκης του χαρακτηριστικού πλεονεκτήματος της τοπικής ή χρονικής επαγόμενης εκφράσεως του διαγόνου και συνεπώς της RNA-σιωπής, θεωρείται ένα επιπλέον πλεονέκτημα. Με άλλα λόγια ο μηχανισμός μπορεί να καθίσταται ελεγχόμενος από περιβαλλοντικούς (βιολογικούς ή χημικούς) παράγοντες σε συγκεκριμένες χρονικές περιόδους αναπτύξεως του φυτού.

Ο μηχανισμός της RNA-σιωπής δίνει στους ερευνητές τη δυνατότητα της χρήσεως μιας ακόμα μεθόδου "αντίστροφης γενετικής" για τη μελέτη της λειτουργίας ενός γόνου σε περιπτώσεις όπου άλλες μέθοδοι δεν είναι εφαρμόσιμες στον υπό μελέτη οργανισμό. Τέλος, η ύπαρξη του μηχανισμού της σιωπής μπορεί να εξηγήσει μερικά παρατηρηθέντα φαινόμενα απουσίας εκφράσεως του διαγόνου σε διαγονικά φυτά, έτσι ώστε να προταθούν λύσεις που θα οδηγήσουν στην επιθυμητή έκφραση του διαγόνου.

Τελειώνοντας, θα πρέπει να αναγνωριστεί ότι η αξία μελέτης ενός φυτοπαθολογικού φαινομένου, όπως αυτό της "διασταυρωτής προστασίας" και των βιοτεχνολογικών μορφών της, συνέβαλε ουσιαστικά στην ανακάλυψη ενός πολύ σημαντικού βιολογικού μηχανισμού ελέγχου των γόνων στα φυτά, καθώς και σε άλλους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Baulcombe D.C. 2002. RNA silencing. *Curr Biol* 12:R82.
- Beclin C., S. Boutet, P. Waterhouse, and H. Vaucheret. 2002. A branched pathway for transgene-induced RNA silencing in plants. *Curr Biol* 12:684-688.
- Βολουδάκης Α. 1999. Φυσιολογία της Αντίδρασης των Φυτών στα Παθογόνα. Σημειώσεις του Μεταπτυχιακού Μαθήματος Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, ΓΠΑ.
- Fulton R.W. 1986. Practices and precautions in the use of cross protection for plant virus disease control. *Ann Rev Phytopathol* 24:67-81.
- Powell Abel P., R.S. Nelson, B. De, N. Hoffman, S.G. Rogers, R.T. Fraley, and R.N. Beachy. 1986. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science* 232:738-743.
- Sanford J.C., and S.A. Johnston. 1985. The concept of parasite-derived resistance. Deriving resistance genes from the parasite's own genome. *J Theor Biol* 113:395-405.
- Vaucheret H., C. Beclin, and M. Fagard. 2001. Post-transcriptional gene silencing in plants. *J Cell Science* 114:3083-3091.
- Voinnet O., Y.M. Pinto, and D.C. Baulcombe. 1999. Suppression of gene silencing: a general strategy used by diverse DNA and RNA viruses of plants. *PNAS* 96:14147-14152.
- Voinnet O: RNA silencing as a plant immune system against viruses. *Trends Genet* 2001, 17:449-459.
- Waterhouse P.M., M.W. Graham, and M.B. Wang. 1998. Virus resistance and gene silencing in plants can be induced by simultaneous expression of sense and antisense RNA. *PNAS* 95:13959-13964.

## THE POST TRANSCRIPTIONAL GENE SILENCING (PTGS) IN PLANTS

Andreas E. Voloudakis

Department of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, Athens 11855, Greece.

### SUMMARY

In the present article the RNA silencing mechanism namely the post-transcriptional gene silencing (PTGS) is reviewed. The molecular dissection of cross protection (where a weak strain of a plant virus protects plants against the development of disease induced by a virulent strain of the same virus) led to the discovery of an extremely useful and powerful pathway for controlling gene expression in all eukaryotes (plants, animals, fungi, protists). The use of such protective means to resist viral epidemics has been used in agriculture since 1930's.

The latest model explaining the PTGS pathway is given. The steps of induction, systemic amplification and persistence of PTGS are described. The key importance of dsRNA molecules in the induction of the

mRNA degradation is stressed. The methods used for induction of RNA silencing are mentioned: a) the use of a transgene, b) the use of a viral vector (virus induced gene silencing, VIGS), b) the direct introduction of pure DNA into plant parts, d) agroinfiltration, and e) direct introduction of dsRNA molecules into plant parts. The suppressors of RNA silencing (i.e. Hc-Pro, Cmv2b, AC2, P25 e.t.c.) and their viral origin are listed stating their point of suppression in the RNA silencing pathway for each one. Finally, the use of RNA silencing in plants is suggested in the context of the developping agricultural biotechnology aiming at crop improvement.

**ΕΝΟΤΗΤΑ Δ:**  
**ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΚΑΙ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ**

Μεταξία Κούτσικα-Σωτηρίου

Εργ. Γενετικής και Βελτίωσης των φυτών, Α.Π.Θ. 54 124 Θεσ/κη  
e-mail koutsika@agro.auth.gr**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Στην παρούσα εργασία περιγράφονται τα ιστορικά στοιχεία, το νομοθετικό πλαίσιο και η σημερινή κατάσταση του γενετικού και πολλαπλασιαστικού υλικού. Στο γενετικό υλικό αναφέρονται οι λόγοι που οδήγησαν σε γενετική διάβρωση, οι νομοθεσίες που έγιναν για την προστασία του, οι τρόποι αξιολόγησης του στις Τράπεζες Γενετικού υλικού και η αξιοποίησή του σε σύγχρονες ποικιλίες από τους βελτιωτές. Στο πολλαπλασιαστικό υλικό παραθέεται ο νόμος 1564/8-9-1985 και στη ροή του αναπτύσσονται μερικές βελτιωτικές διαδικασίες, όπως η έγγραφη ποικιλίας στον Εθνικό Κατάλογο, τα πνευματικά δικαιώματα του βελτιωτή, η διατήρηση ποικιλιών, η αποθήκευση και ο αναπολλαπλασιασμός τους. Στην πράξη οι έννοιες του γενετικού και πολλαπλασιαστικού υλικού ανακυκλώνονται δανείζοντας στους βελτιωτές το κατάλληλο γονιδιακό συνδυασμό για το κάθε περιβάλλον και την κάθε εποχή, ώστε οι ποικιλίες τους να αναβαθμίζουν την γεωργία.

**Ιστορικά στοιχεία – Γενετικό υλικό**

Ως γενετικό υλικό (germplasm) χαρακτηρίζεται όλο το φυτικό δυναμικό που συμβάλλει σήμερα ή μπορεί να συμβάλει στο μέλλον στη βελτίωση ενός είδους (Bennett 1978). Η ιστορία της έννοιας του γενετικού υλικού και της οργάνωσής γύρω από αυτό, ξεκινά το 1827 στις Η.Π.Α όταν οι πρόξενοι του Πρόεδρου J.Q. Adams, ενθαρρύνονταν στη συγκέντρωση σπόρων και τη μεταφορά τους στις Η.Π.Α (Jones 1984). Η πρώτη Συλλογή γενετικού υλικού αναφέρεται από το Υπουργείο Γεωργίας των Η.Π.Α (USDA) το 1862 (Jones 1984). Στα πλαίσια αυτής της πολιτικής, ερευνητές (collectors) στέλνονταν στην Ευρώπη και την Κίνα, το 1864, για βοτανικές εξερευνήσεις που συνεχίσθηκαν μέχρι το 1898. Έτσι, φυτικά είδη ή ποικιλίες, όπως το κινέζικο σόργο (*Sorghum bicolor* L. Moench.), το πορτοκάλι μέρλιν [*Citrus sinensis* L. (Osb.)], το λινάρι (*Flax usitatissimum* L.), η ελιά (*Olea europaea* L.), το σιτάρι (*Triticum* spp.) και άλλα σιτηρά, φρούτα και λαχανικά συγκεντρώνονταν από την Ευρώπη. Τελικά, το 1898 οι δραστηριότητες του USDA απέκτησαν τόσο μεγάλο ενδιαφέρον που δημιουργήθηκε μια νέα μονάδα, το Τμήμα Εισαγωγής Σπόρων και Φυτών με ισχυρή χρηματοδότηση για την προφανή επίδραση των προϊόντων συλλογής στην αμερικανική γεωργία. Μέχρι το 1898 είχαν γίνει περισσότερες από 200 εξερευνήσεις και είχαν εισαχθεί 400.000 φυτικά είδη. Τότε ξεκίνησε με βάση τους νόμους του Mendel και η βελτίωση των φυτών. Στη συνέχεια, το ενδιαφέρον με το γενετικό υλικό ατόνισε άσπου έρχεται η επιδημία του *Helminthosporium maydis* να καταστρέφει το 50% της παραγωγής στις καθαρές σειρές καλαμποκιού που είχαν το ονομαζόμενο κυτόπλασμα-Τέξας. Τότε τέθηκε το ερώτημα "Πόσο γενετικά όμοια είναι τα φυτικά είδη και πόσο ευπαθή είναι σε μία επιδημία;", και δόθηκε η απάντηση που επεσήμανε: "τη διάσωση, τη διατήρηση και την αξιοποίηση της γενετικής ποικιλομορφίας των φυτικών ειδών του πλανήτη και των άγριων προγόνων τους που είχε παραμεληθεί".

Η ιστορία προστασίας του φυτικού γενετικού υλικού ξεκινά το 1964 με τη δημιουργία του Διεθνούς Βιολογικού Προγράμματος (International Biological Programme, IBP). Μέχρι τότε, δηλ. το 1964 ο μόνος υπαρκτός προβληματισμός σχετικά με το γενετικό υλικό ήταν μια γενική ανησυχία γι' αυτό που ο Vavilov είχε ανακαλύψει, δηλαδή τα γεωγραφικά κέντρα γενετικής ποικιλότητας και μια αδιόρατη απειλή για τους γενετικούς θησαυρούς. Οι ερευνητές είχαν ήδη επισημάνει την σταδιακή απομάκρυνση καλλιεργούμενων εγχώριων ποικιλιών από τα κέντρα γονιδίων (gene centres). Η πρώτη ενέργεια του IBP ήταν η μελέτη της γενετικής παραλλακτικότητας των καλλιεργούμενων φυτών και των άγριων συγγενών τους σε καθορισμένους τόπους του πλανήτη, όπου εντατικές εξερευνήσεις θα βοηθούσαν στην εύρεση και συγκέντρωση γενετικού υλικού. Από το 1967 που έγινε το πρώτο συνέδριο και γράφτηκε το πρώτο βιβλίο στόχος ήταν η αναγνώριση της πολυδιάστατης φύσης του προβλήματος της διάσωσης του γενετικού υλικού που εμπλέκει ειδικούς από γειτονικά πεδία όπως της γενετικής, οικολογίας και συστηματικής βοτανικής και στη συνέχεια της βελτίωσης, γεωργίας και πληροφορικής. Το 1972 δημιουργήθηκε η Διεθνής Επιτροπή για τους Φυτικούς Γενετικούς

Πόρους(International Board for Plant Genetic Resources, IBPGR) και στις ΗΠΑ η Εθνική Επιτροπή Φυτικού Γενετικού Υλικού (National Plant Germplasm Committee, NPGC, Bass 1984).

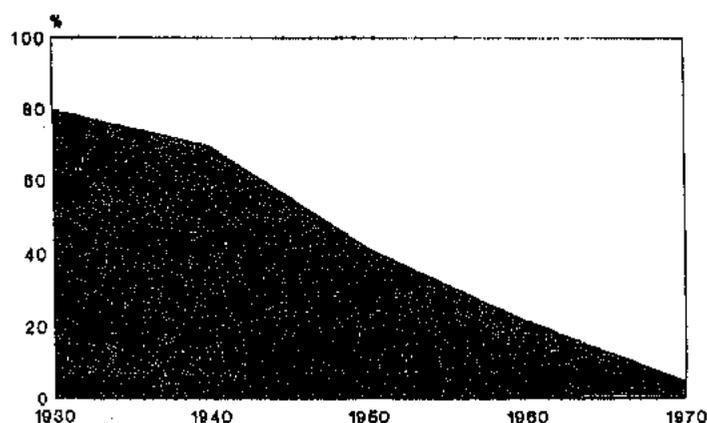
### Παράγοντες που επηρέασαν την ποικιλότητα του γενετικού υλικού

Με την τεχνολογική και οικονομική επανάσταση που επικράτησε μετά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο, δόθηκαν τεράστιες δυνατότητες στον άνθρωπο να επηρεάσει το φυτικό και οικονομικό περιβάλλον. Η γενίκευση της μονοκαλλιέργειας, της απελευθέρωσης των εσωτερικών και διεθνών αγορών δημιούργησε ένα νέο οικονομικό και τεχνικό πλαίσιο που προωθούσε την τυποποίηση και ομοιομορφία. Ας δούμε ποιοι παράγοντες δημιούργησαν το πρόβλημα μείωσης της βιοποικιλότητας και ποια έκταση έχει το πρόβλημα σήμερα.

**Ο πρώτος παράγοντας: διάβρωση της ποικιλότητας.** Προκλήθηκε από την απομάκρυνση από την καλλιέργεια μεγάλου μέρους του παραδοσιακού γενετικού υλικού που κληροδοτήθηκε από τις προηγούμενες γενεές (Σταυρόπουλος 1998). Αναφέρονται δύο παραδείγματα γενετικής διάβρωσης:

(α) Σε λιγότερα από είκοσι χρόνια πριν, στη Γαλλία (περιοχή Προβηγκίας) καλλιεργούνταν 250 φυτικά είδη περιλαμβανομένων των λαχανικών, των φρούτων κ.α. Σήμερα υπάρχουν 60 φυτικά είδη και η διατροφή στηρίζεται κυρίως στα 30.

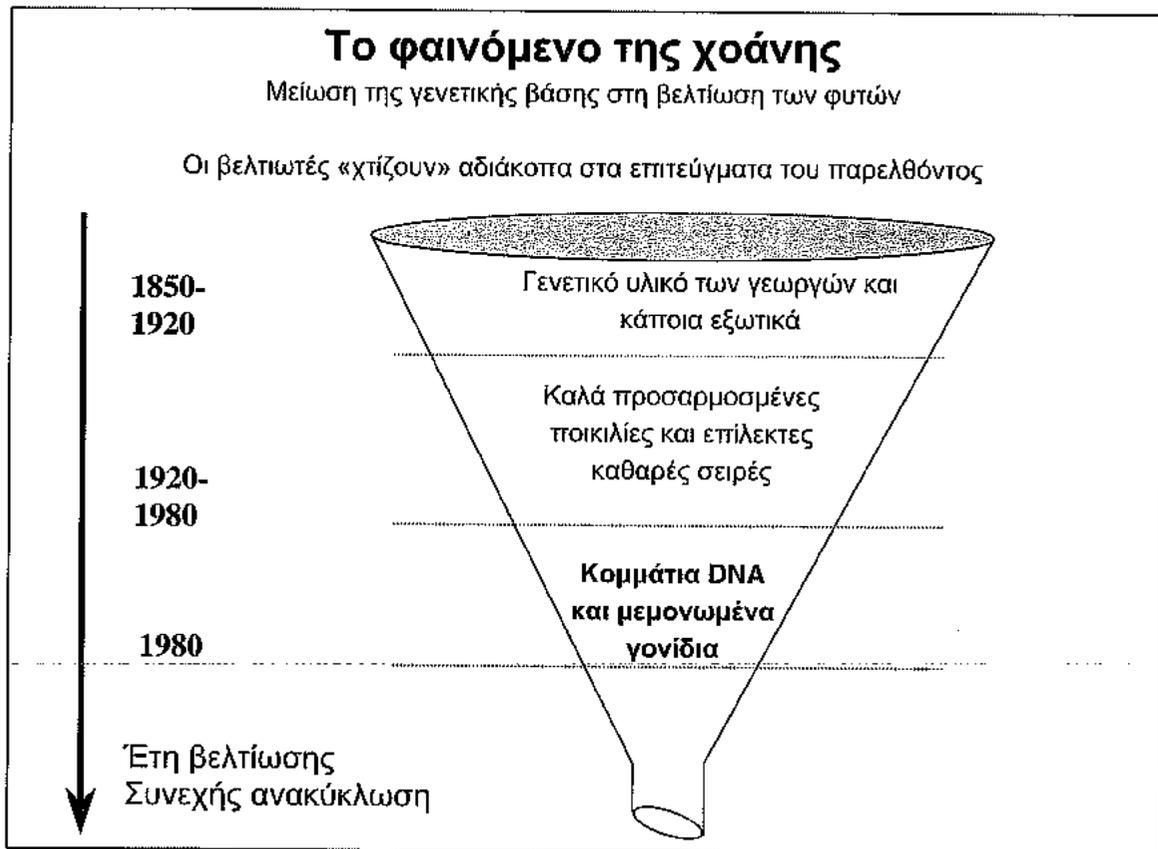
(β) Στην Ελλάδα καλλιεργούνταν πολλές εγχώριες ποικιλίες σταριού προσαρμοσμένες στα διάφορα μικροκλίματα της χώρας. Σήμερα χάθηκε η βιοποικιλότητα με αποτέλεσμα να υπάρχει μόνο το 5% της αρχικής. Στις προηγούμενες 2-3 δεκαετίες, οι Έλληνες γεωργοί ενθαρρύνθηκαν ν' αποχωρισθούν τους τοπικά προσαρμοσμένους γενότυπους (ποικιλίες) και να τους αντικαταστήσουν με υπερ-μοντέρνες ποικιλίες που είχαν παραχθεί στο Μεξικό. Το περισσότερο από το υλικό που αντικαταστάθηκε χάθηκε για πάντα (Εικ. 1).



Εικ. 1. Γενετική διάβρωση στην Ελλάδα. Μείωση της καλλιέργειας των εγχώριων ποικιλιών σίτου

**Ο δεύτερος παράγοντας: ομοιομορφία μέσω Βελτιωτικής διαδικασίας.** Οι βελτιωτές σαν επιστήμονες πριν 100 περίπου χρόνια, ήτοι από το 18<sup>ο</sup> αιώνα, άρχισαν να δημιουργούν αγροκτήματα και ερευνητικούς σταθμούς βελτίωσης των καλλιεργούμενων ειδών και να δημιουργούν νέες ποικιλίες. Στην προσπάθειά τους να δημιουργήσουν γρήγορα νέες βελτιωμένες ποικιλίες, οδηγήθηκαν στην υπερχρησιμοποίηση ως γονέων πολύ λίγων εκλεκτών ποικιλιών. Έτσι, μικρό μόνο τμήμα από το μεγάλο γονιδιακό εύρος μιας καλλιέργειας συμμετείχε στον γενότυπο των νέων ποικιλιών. Για πολλές καλλιέργειες δεν χρησιμοποιείται στη βελτίωση περισσότερο από το 5-10% της διαθέσιμης παραλλακτικότητας (Σταυρόπουλος 1998). Δηλαδή βαθμιαία συγκεντρώνονταν το εγχώριο γενετικό υλικό και αυτό βαθμιαία οδηγούσε σε γενετική υποβάθμιση, διότι στένευε τη γενετική παραλλακτικότητα και έφερνε την ομοιομορφία. (Το φαινόμενο της χοάνης, Εικ. 2).

Απόδειξη του στενέματος της γενετικής βάσης αποτελεί ο πίν. 1 όπου φαίνεται ότι οι βελτιωτές κατά κύριο λόγο χρησιμοποιούν το επίλεκτο γενετικό υλικό και λιγότερο το γενετικό υλικό που διασώζεται σε τράπεζες. Για παράδειγμα, προτιμούν να πάρουν ή να μεταφέρουν συγκεκριμένες ανθεκτικότητες από καλλιεργούμενες ποικιλίες ώστε να μην μεταφέρουν ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά μαζί με την ανθεκτικότητα.



Εικ. 2. Το φαινόμενο της χοάνης: τα τεχνολογικά επιτεύγματα στη βελτίωση των φυτών στένεψαν τη γενετική βάση (πηγή: Ciba - Geigy).

Πίν. 1. Τύποι γενετικού υλικού που χρησιμοποιούνται από τους βελτιωτές στην Ευρώπη (% του συνόλου).

	Ανθεκτικότητα σε ασθένειες	Ανθεκτικότητα στις καταπονήσεις	Αύξηση της απόδοσης
<b>Οι βελτιωτές στο κριθάρι χρησιμοποιούν:</b>			
Εκλεκτές ποικιλίες	68%	63%	96%
Εγχώριες ποικιλίες	22%	28%	4%
Συγγενή ζιζάνια	4%	3%	-
Άγρια είδη	6%	6%	-
<b>Οι βελτιωτές του γένους <i>Allium</i> χρησιμοποιούν:</b>			
Εκλεκτές ποικιλίες	46%	59%	82%
Εγχώριες ποικιλίες	31%	28%	9%
Συγγενή ζιζάνια	5%	6%	6%
Άγρια είδη	18%	6%	3%

Πηγή: Τροποποιημένος πίνακας από GRAIN από UNDP/IBPGR, *Report of a Barley Workshop*, IBPGR, Rome, 1986

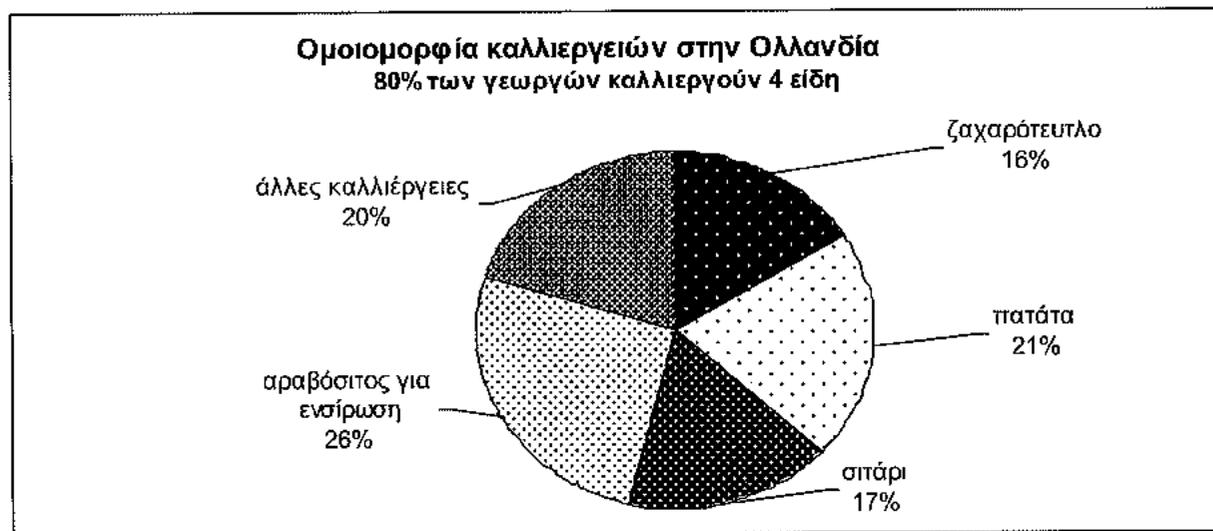
**Ο τρίτος παράγοντας: διάβρωση από τους αγρότες.** Ο τρίτος παράγοντας μπορεί να εκτιμηθεί ή με υπολογισμό του αριθμού των ειδών που καλλιεργούνται σε σύγκριση με αυτά που καλλιεργούνται σήμερα, ένδειξη της αύξησης της ομοιομορφίας των καλλιεργειών (Εικ. 3) είτε με υπολογισμό του αριθμού των ποικιλιών μιας καλλιέργειας, ένδειξη της αύξησης της ομοιομορφίας εντός του είδους. Οι διαπιστώσεις οδηγούν στο ότι οι τρεις προηγούμενοι παράγοντες με σημαντικότερο τη δημιουργία επιτυχημένων προϊόντων βελτίωσης, οδήγησαν σε γενετικό εκφυλισμό, γιατί λίγες επίλεκτες ποικιλίες συχνά συγγενείς μεταξύ τους καλύπτουν μεγάλες εκτάσεις καλλιέργειας και εκτοπίζουν τις άλλες. Η μείωση της γενετικής βάσης των

καλλιιεργειών, η αυξανόμενη γενετική ομοιομορφία και η καλλιέργεια τεράστιων εκτάσεων με μία μόνο ή πολύ λίγες ποικιλίες, οδήγησε σταδιακά στην αύξηση της γενετικής ευπάθειας των καλλιιεργειών στα εξελισσόμενα παθογόνα. Από γενετική άποψη, η ευπάθεια αυτή γίνεται τόσο πιο μεγάλη, όσο μειώνεται η γενετική ποικιλότητα. Η γενετική ποικιλότητα είναι πολύ υψηλή στους αβελτίωτους πληθυσμούς αλλά ελάχιστη στα υβρίδια και στους κλώνους. Ο περιορισμός της γενετικής ποικιλότητας οδηγεί σε ευπάθεια στις καταπονήσεις και σε περιορισμό της αποτελεσματικότητας της επιλογής (Tailler and Bernardo 2004). Στην συνέχεια αναφέρονται μερικά ενδεικτικά παραδείγματα που απεικονίζουν την φυτική γενετική φτώχεια στους αγρούς της Ευρώπης.

**Παράδειγμα 1<sup>ο</sup>: Σιτάρι** – Το 90% των ποικιλιών μαλακού σταριού στη Γαλλία που καλλιιεργούνται τα τελευταία τριάντα χρόνια έχουν τουλάχιστον έναν κοινό γονέα στη γενεαλογία τους, νέο γενετικό υλικό είναι μόνο το 9%. Το 50% των ποικιλιών μαλακού σταριού της Γερμανίας που δημιουργήθηκαν από το 1986 και μετά, προέρχονται από τον ίδιο γονέα την ποικιλία Caribo. Η ποικιλία Caribo προέρχεται από τη Γαλλική Carpelle. Τέσσερις ποικιλίες καλύπτουν τα 2/3 της καλλιέργειας σταριού από το 1980 στη Γαλλία. Τέσσερις ποικιλίες αντιπροσωπεύουν το 71% του χειμερινού σταριού της Βρετανίας.

**Παράδειγμα 2<sup>ο</sup>: Καλαμπόκι** – Το σύνολο των υβριδίων που καλλιιεργούν οι αγρότες είναι προϊόν εταιρειών και η μείωση της γενετικής ποικιλότητας οφείλεται κυρίως στην ανακύκλωση εκλεκτών καθαρών σειρών από τις σποροπαραγωγικές εταιρείες (Hallauer 1990, Troyer 1996). Μεταξύ των καθαρών σειρών που χρησιμοποιούν οι σποροπαραγωγικές εταιρείες, οι περισσότερες προέρχονται από οκτώ καθарές σειρές, τις B14, B37, B73, B84, C103, Oh43, Mo17 και H99 (Lu and Bernardo 2001). Αυτές οι οκτώ καθарές σειρές αντιπροσωπεύουν τις δύο ετερωτικές ομάδες καλαμποκιού, το Iowa Base Stiff Stalk Synthetic (BSSS) και το μη BSSS.

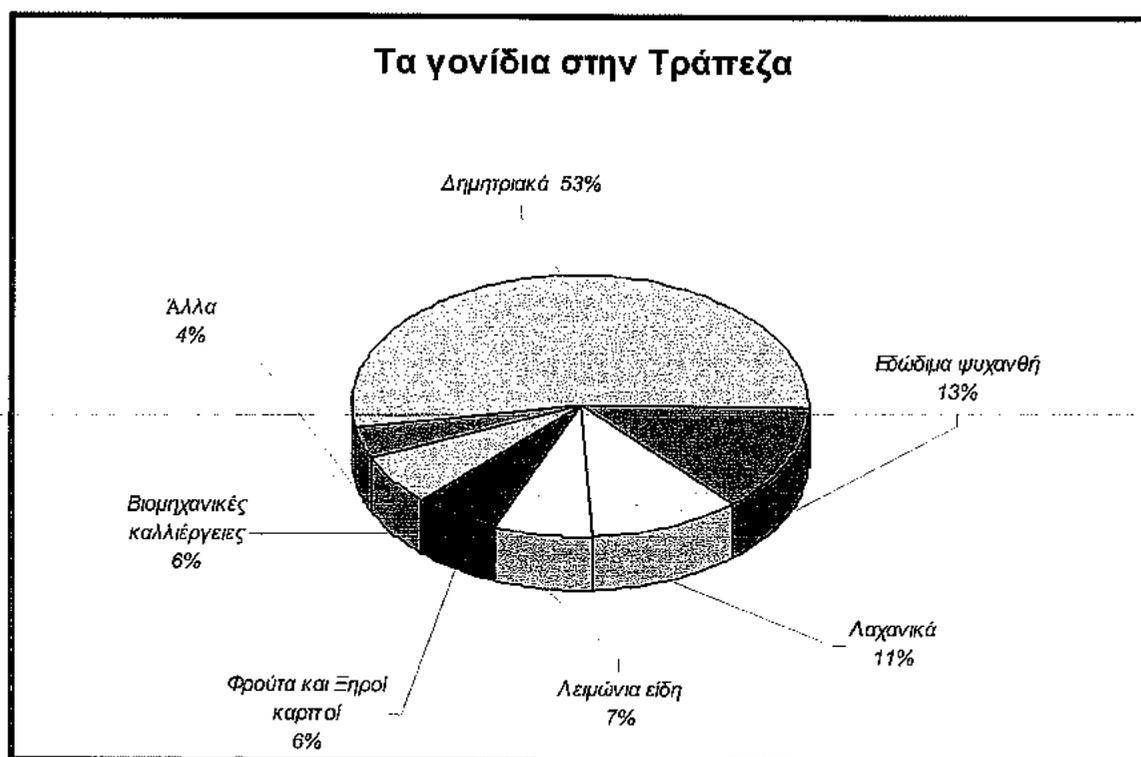
**Παράδειγμα 3<sup>ο</sup>: Πατάτα** - Όλες οι Ευρωπαϊκές ποικιλίες πατάτας προέρχονται από δύο φυτά που ήρθαν τον 15ο αιώνα. Παρά την εισαγωγή εξωτικού υλικού όλες οι ποικιλίες έχουν κοινό πρόγονο την Rough Purple Chili. **Οπωροφόρα** - Τρεις ποικιλίες μηλιάς κατέχουν τα 2/3 των υπό αντικατάσταση οπωρώνων από τις εγχώριες ποικιλίες στην Τσεχία. **Λαχανικά** - Το 1980 από τις 1500 ποικιλίες λαχανικών το 40% ήταν συνώνυμα της ίδιας ποικιλίας, το 60% ήταν πραγματικά διαφορετικές ποικιλίες.



**Εικ. 3.** Ομοιομορφία καλλιιεργειών στους αγρούς της Ολλανδίας.



Εικ.4: Συλλογές στις Τράπεζες Γενετικού Υλικού.



Εικ. 5. Τα διάφορα είδη στις Συλλογές στις Τράπεζες Γενετικού υλικού.

Τελικά, τίθεται το ερώτημα: τι διατηρείται στις Τράπεζες Γενετικού Υλικού; Πόσες συλλογές υπάρχουν; Απαντήσεις δίνουν οι Εικόνες 4 και 5 όπου φαίνεται ότι οι χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης διαθέτουν το 34% των Ευρωπαϊκών Συλλογών και όπου τα δημητριακά καταλαμβάνουν το 50% των Συλλογών, ενώ τα υπόλοιπα φυτικά είδη συμμετέχουν με σχεδόν μονοψήφια ποσοστά

## Νομοθετική κατοχύρωση του γενετικού υλικού

Η πρώτη νομοθετική ρύθμιση γίνεται με τον νόμο 1564/28-9-1985/164 όπου το άρθρο 14 αναφέρεται στη Διατήρηση και Προστασία Γενετικού Υλικού. Η δεύτερη νομοθετική ρύθμιση γίνεται με το Προεδρικό Διάταγμα 80/22-3-1990 (ΦΕΚ 40), όπου αναφέρεται αναλυτικά η Διάκριση – Κατάταξη φυτικού γενετικού υλικού (αρθ. 3) και οι Μελέτες για την προστασία του φυτικού γενετικού υλικού (αρθ. 4) κ.α. Μία από τις πλέον σημαντικές πρωτοβουλίες, που έχουν πρόσφατα παρθεί σε διεθνές επίπεδο, αποτελεί η Σύμβαση για την Προστασία της Βιοποικιλότητας, που υπογράφηκε στο πλαίσιο της Συνδιάσκεψης για το Περιβάλλον και την Ανάπτυξη στο Ρίο της Βραζιλίας (1992). Οι όροι που υιοθετήθηκαν δεν θίγουν φλέγοντα θέματα όπως η κατάρτιση παγκόσμιου καταλόγου όλων των φυλασσόμενων περιοχών ή των απειλούμενων προς εξαφάνιση ειδών, αποτελούν όμως ένα σημαντικό βήμα για την Προστασία της Βιοποικιλότητας και την κατοχύρωση των δικαιωμάτων των φυσικών κατοχών της. Ήτοι, η Σύμβαση απορρίπτει την ιδέα της ελεύθερης ροής των γενετικών πόρων, ή την έννοια της κοινής κληρονομιάς. Αποτέλεσμα αυτού είναι ότι ο οποιοσδήποτε μελλοντικός χρήστης αυτού του γενετικού υλικού θα πρέπει να υπογράφει συμφωνία με την οποία θα υποχρεώνεται να αποδίδει στο κράτος - ιδιοκτήτη του γενετικού υλικού ένα μέρος από τα κέρδη που θα προκύψουν από τη χρήση του συγκεκριμένου υλικού. Έτσι, η ιδέα της "εθνικής κυριαρχίας" (national sovereignty) εφαρμόζεται μόνο στην περίπτωση γενετικού υλικού που θα συγκεντρωθεί στο μέλλον και δεν ισχύει για υλικό που είναι ήδη κατοχυρωμένο στην τράπεζα γενετικού υλικού. Βέβαια, γίνονται προσπάθειες για να καθοριστούν τα δικαιώματα των κρατών και στον τομέα αυτό.

## Αξιολόγηση και αξιοποίηση του γενετικού υλικού

Η συλλογή του γενετικού υλικού και η νομοθετική κατοχύρωσή του σε εθνικό επίπεδο αποτελούν απαραίτητες δράσεις που μελλοντικά θα συνεχίζονται. Το επόμενο βήμα θα πρέπει να στοχεύει στην αξιολόγηση και την αξιοποίηση του γενετικού υλικού στις απαιτήσεις της γεωργίας του σήμερα και του αύριου. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί με την ανάλυση και ταξινόμηση της γενετικής σχέσης στα φυτικά είδη, που αποτελεί ένα σημαντικό συστατικό της Βελτίωσης, διότι υπηρετεί την πληροφόρηση γύρω από τη γενετική ποικιλότητα. Ακριβής ταξινόμηση του επιπέδου και του τύπου της γενετικής ποικιλότητας είναι ανεκτίμητης αξίας στη Βελτίωση διότι βοηθά στην: (i) ανάλυση της γενετικής σχέσης μεταξύ των γενετικών υλικών (Smith 1984, Cox *et al.* 1986), (ii) εξεύρεση διαφορετικών πατρικών συνδυασμών για τη δημιουργία διασπώμενων γενεών με τη μέγιστη γενετική παραλλακτικότητα για περαιτέρω επιλογή (Barrett and Kidwell 1998), (iii) κατανόηση των γενετικών σχέσεων μεταξύ σειρών που μπορεί να αποβεί χρήσιμο εργαλείο στο σχεδιασμό υβριδίων (Hallauer and Miranda 1988), (iv) πρόβλεψη της ετέρωσης (Melchinger 1999), (v) εξακρίβωση επαναλαμβανόμενων δειγμάτων σπόρων στις Τράπεζες, (vi) ταξινόμηση του επιπέδου γενετικής ποικιλότητας των γενετικών υλικών στη ροή του χρόνου κ.α. Η πιο αξιόπιστη αξιολόγηση του γενετικού υλικού θεωρούνται οι διαλληλικές διασταυρώσεις, που όταν οι ενδείξεις δείχνουν γενική συνδυαστική ικανότητα υπάρχει φορτίο αθροιστικών γονιδίων. Επίσης, οι διασταυρώσεις δοκιμής, που θεωρούνται ήσσονος σημασίας γιατί η καθαρή σειρά-δοκιμαστής συσκοτίζει το ετερωτικό προφίλ και αναδεικνύει την ειδική συνδυαστική ικανότητα που αποδεικνύει φορτία κυρίαρχων γονιδίων.

Η ανάλυση της γενετικής ποικιλότητας στις συλλογές γενετικού υλικού διευκολύνει την αξιόπιστη ταξινόμηση και την πιθανή διάκριση των συλλογών σε υποσύνολα με συγκεκριμένη χρήση για συγκεκριμένους βελτιωτικούς σκοπούς. Η μελέτη της γενετικής ποικιλότητας είναι η πορεία κατά την οποία η παραλλακτικότητα μεταξύ γενετικών υλικών ή ομάδων ή ατόμων αναλύεται με συγκεκριμένη μέθοδο ή συνδυασμό μεθόδων. Έτσι η γενετική ανάλυση μιας ποικιλίας ή ενός πληθυσμού μπορεί να ορισθεί ως η εξεύρεση και καταγραφή εκείνων των χαρακτηριστικών (μορφολογικών, αγρονομικών, γενετικών) από τα οποία διακρίνεται από άλλες ποικιλίες ή πληθυσμούς. Η ταξινόμηση χρησιμοποιεί μεθόδους ταυτοποίησης για τους πληθυσμούς εστιάζοντας την προσοχή τόσο στη διάκριση όσο και στην ομοιότητα μεταξύ των πληθυσμών ή των υπό ταξινόμηση ομάδων/ατόμων. Η ομάδα ταξινόμησης καλείται λειτουργική ομάδα ταξινόμησης (Operational Taxonomic Unit, OUT) (Sneath και Sokal 1973). Για την ταυτοποίηση των OTUs χρησιμοποιούνται ορισμένα χαρακτηριστικά, τα οποία μπορεί να αφορούν το φαινότυπο ή το γενότυπο. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, στη δεύτερη οι βιοχημικοί και οι μοριακοί δείκτες, ήτοι ισοένζυμα, RFLPs, RAPDs, AFLPs, SSRs κ.λπ.

Οι Sneath και Sokal (1973) εισάγουν για το γενετικό υλικό ή τον πληθυσμό την έννοια της "φαινοτυπικής ομοιότητας", γι' αυτό υιοθετούν μέθοδο περιγραφής του φαινοτύπου. Σαν πρώτο βήμα τα χαρακτηριστικά (χαρακτήρες, γνωρίσματα) διακρίνονται ανάλογα με τον αριθμό και το είδος των καταστάσεων ή ιδιοτήτων που προσδιορίζουν, στις εξής κατηγορίες. (α) Δυαδικοί χαρακτήρες (Binary characters), όταν ο χαρακτήρας έχει μόνο δύο καταστάσεις ή ιδιότητες (character states). (β) Ποιοτικοί πολλαπλοί χαρακτήρες (Qualitative multiple characters) που έχουν περισσότερες από 2 καταστάσεις ή ιδιότητες. Τέτοιοι χαρακτήρες διακρίνονται σε δύο υποκατηγορίες. (1) Μεριστικοί (Meristic) ή μη ιεραρχημένοι, όταν οι καταστάσεις τους δεν μπορούν να ιεραρχηθούν κατά τάξη μεγέθους. (2) Ιεραρχημένοι (Hierarchical), όταν η βαθμολογία της κατάστασης του χαρακτηριστικού εκφράζει και την κλιμάκωση της εκδήλωσής του. Τέλος, (γ) Ποσοτικοί πολλαπλοί χαρακτήρες (Multiple quantitative characters) που μπορούν να εκφραστούν με μέτρηση, αριθμηση ή ζύγιση και εκφράζουν συνεχή παραλλακτικότητα. Η μέθοδος αυτή της έκφρασης των χαρακτηριστικών με αριθμούς, έχει υιοθετηθεί από το International Union of the Protection of New Varieties of Plants (UPOV, 1976), για την ταυτοποίηση των νεοδημιουργηθέντων ποικιλιών και την απόκτηση των δικαιωμάτων του βελτιωτού. Η στατιστική ανάλυση γίνεται με πρόγραμμα η/ν το NTSYS-pe (Rohlf 2000), PHYLIP (Felsenstein 1984) κ.α. Η γενετική απόσταση καθορίζεται ως "η διαφορά μεταξύ δύο οντοτήτων που μπορούν να περιγραφούν με την παραλλακτικότητα των αλληλομόρφων" (Nei 1973). Η μέτρηση γίνεται με την Ευκλείδεια απόσταση (Beaumont *et al.* 1998), με την ανάλυση ομάδων (cluster), με την ανάλυση κύριων συνιστωσών (principal components analysis, PCA) κ.α. (Melchinger *et al.* 1991, Reif *et al.* 2005).

Η πλέον ενδιαφέρουσα αξιολόγηση αφορά το γενετικό υλικό, το σχεδιασμό για την αξιοποίηση του στη βελτίωση με βάση τη γνώση που προκύπτει από τη γενετική ποικιλότητα (Mohammadi and Prasanna 2003). Ο καθορισμός της γενετικής ποικιλότητας είναι απαραίτητος τόσο στα αυτογονιμοποιούμενα είδη όσο στα σταυρογονιμοποιούμενα είδη. Από αυτόν πηγάζουν ορισμένοι κανόνες στη βελτίωση των φυτών. Για παράδειγμα ένα γενικός κανόνας είναι: διασταύρωση συγγενών σειρών για τη δημιουργία ποικιλιών, και χρησιμοποίηση καθαρών σειρών που προέρχονται από διαφορετικούς ετερωτικούς πληθυσμούς, άμεσα σαν γονείς, για τη δημιουργία εμπορικών υβριδίων. Επίσης, ένας άλλος κανόνας προϋποθέτει για την επιλογή γενετικού υλικού τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: καλή αγρονομική συμπεριφορά, επιθυμητά αγρονομικά χαρακτηριστικά, υψηλή ετέρωση και χαμηλό ομοζυγωτικό εκφυλισμό (Hallauer 1978). Διερευνήθηκε η αξιοποίηση των Συλλογών των Τραπεζών Γενετικού Υλικού για το έτος 1996 και η έρευνα βασίστηκε στα τέσσερα εγκυρότερα διεθνή περιοδικά (Dudnik *et al.* 2001). Βρέθηκε ότι η αξιοποίηση γίνεται κυρίως από τα Πανεπιστήμια και τα Ερευνητικά Κέντρα, πραγματοποιείται κατά 80% σε πειράματα *ex situ* και αφορούσε 112 φυτικά είδη.

### Ιστορικά στοιχεία – Πολλαπλασιαστικό υλικό

Η ραγδαία εξέλιξη της Αμερικανικής γεωργίας από τα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα, καθώς και η διεύρυνση των εισαγωγών και εξαγωγών γεωργικών προϊόντων δημιούργησαν την ανάγκη θέσπισης ειδικών νόμων γύρω από την παραγωγή και διακίνηση πολλαπλασιαστικού υλικού. Συγκεκριμένα το 1905 υιοθετήθηκε ο Νόμος περί Εισαγωγών (Annual Importations Act), ο οποίος παρείχε τη δυνατότητα ελέγχου για διαπίστωση τυχόν παραλείψεων. Αποτέλεσμα της εφαρμογής αυτού του νόμου ήταν το 20% των δειγμάτων από τους ελέγχους από το 1912 έως το 1919 να μην πληρεί τους όρους. Ένας δεύτερος σημαντικός νόμος ήταν εκείνος που αφορούσε τις εισαγωγές σπόρου (Seed Importations Act), ο οποίος ψηφίστηκε το 1912 και απαγόρευε την εισαγωγή σπόρου κτηνοτροφικών φυτών εάν δεν πληρούσε ορισμένες προδιαγραφές. Ο νόμος αυτός τροποποιήθηκε το 1916 με την προσθήκη του υποχρεωτικού χρωματισμού των εισαγόμενων σπόρων, έτσι ώστε να γνωρίζουν οι αγοραστές ότι το προϊόν ήταν ξένης προέλευσης και πιθανόν χωρίς προσαρμοστικότητα στις συνθήκες των Η.Π.Α. Το 1939 θεσπίστηκε ο Ομοσπονδιακός Νόμος Σποροπαραγωγής (Federal Seed Act), ο οποίος αποτελεί το σημαντικότερο νόμο διακίνησης πολλαπλασιαστικού υλικού στην ιστορία των Η.Π.Α. και παγκόσμια. Αποτελεί επαναφορά ενός νόμου που ψηφίστηκε το 1833 και ποτέ δεν εφαρμόστηκε (Le Buapac 1992). Η γενική αρχή στην οποία βασίζεται ήταν και είναι η λεπτομερής και ακριβής καταγραφή των ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών του πολλαπλασιαστικού υλικού πάνω στην ετικέτα συσκευασίας, χωρίς να θέτονται όρια ποιότητας. Στην Ολλανδία το 1942 και στην Γερμανία το 1953 ψηφίστηκαν νόμοι που αναφέρονταν στην προστασία του πολλαπλασιαστικού υλικού. Όλη η νομοθεσία συντονίστηκε με την Σύμβαση της UPOV το 1961. Έτσι άργησε να δημιουργηθεί η παράδοση στην νομοθεσία του πολλαπλασιαστικού υλικού, παρόλο που οι νόμοι για ευρεσιτεχνίες υπήρχαν 200 χρόνια και για τις

ανακαλύψεις 500 χρόνια πριν (Le Buanec 1992). Το γεγονός αυτό οφείλεται στην έλλειψη γνώσεων γενετικής, μεθοδολογίας της βελτίωσης και τεχνολογίας και στην ανυπαρξία των σποροπαραγωγικών εταιρειών.

### Πολλαπλασιαστικό υλικό – Σημερινή κατάσταση

Ο βασικός νόμος για το πολλαπλασιαστικό υλικό είναι ο υπ' αριθ. 1564 (ΦΕΚ 1564/8-9-1985) για την "Οργάνωση παραγωγής και εμπορίας του πολλαπλασιαστικού υλικού φυτικών ειδών" και οι τροποποιήσεις που ακολούθησαν (124/26-3-86, 758/31-10-86, 795/14-11-86, 111/9-3-87, 184/6-4-88, 488/14-7-88, 364/16-5-89, 488/27-7-90, 716/15-11-90, 285/27-4-93, 142/3-3-94, 16/16-1-95, 21/17-1-95, 524/25-6-97).

Σύμφωνα με το Νόμο αυτό (άρθρο 2)

α. Πολλαπλασιαστικό υλικό φυτικών ειδών ή πολλαπλασιαστικό υλικό είναι οι σπόροι, κόνδυλοι και βολβοί, τα ριζώματα, σποροφυτάρια, υποκείμενα και εμβόλια, καθώς και κάθε τμήμα φυτού που προορίζεται για την αναπαραγωγή του.

β. Ποικιλία φυτικού είδους είναι κάθε κλώνος, βιότυπος, υβρίδιο, συνθετική ποικιλία, καθαρή σειρά, τοπική ποικιλία, οικότυπος και μίγμα διαλογών της αυτής ποικιλίας.

γ. Μείγμα πολλαπλασιαστικού υλικού φυτικών ειδών ή μίγμα είναι το πολλαπλασιαστικό υλικό που αποτελείται από πρόσμιξη σπόρων, κονδύλων, βολβών ή ριζωμάτων από δύο ή περισσότερα είδη ή ποικιλίες, εφόσον το συνολικό βάρος των άλλων ποικιλιών εκτός από εκείνη που εφαρμόζεται σε μεγαλύτερη αναλογία, υπερβαίνει το 7% του συνολικού βάρους όλων των ποικιλιών.

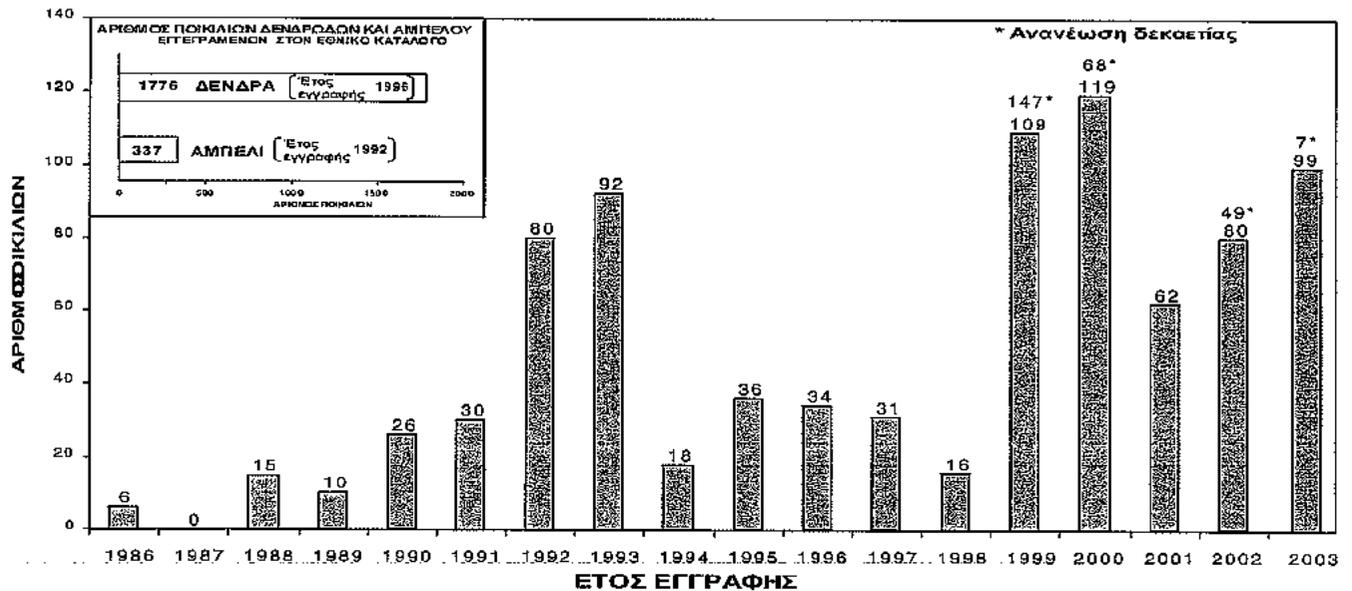
Επίσης, καθορίζονται η Διάκριση - Κατάταξη πολλαπλασιαστικού υλικού (άρθρο 3), οι Προϋποθέσεις Παραγωγής Πολλαπλασιαστικού υλικού (άρθρο 4), η Άδεια λειτουργίας σποροπαραγωγικής ή φυτωριακής επιχείρησης (άρθρο 5).

Στη συνέχεια στη ροή των άρθρων του Νόμου 1564 θα επιχειρηθεί όπου κρίνεται σκόπιμο, εκτός από την αναφορά, σχόλια και διερεύνηση των προεκτάσεων των άρθρων που άπτονται στενά το έργο του βελτιωτή και στα οποία μέχρι σήμερα γίνεται απλή αναφορά στα διάφορα εγχειρίδια.

**Σχόλια – Προεκτάσεις του άρθρου 6** - Εθνικός Κατάλογος ποικιλιών καλλιεργούμενων φυτικών ειδών. Από την αρμόδια υπηρεσία του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, ήτοι το Ινστιτούτο Ελέγχου Ποικιλιών Καλλιεργουμένων Φυτών, τηρείται ο Εθνικός Κατάλογος Ποικιλιών Καλλιεργουμένων Φυτικών Ειδών όπου καταχωρούνται για κάθε ποικιλία: το όνομα, το έτος εγγραφής, το όνομα του δημιουργού και το όνομα του διατηρητή. Επίσης, καθορίζονται οι προϋποθέσεις και διαδικασία εγγραφής και διαγραφής των ποικιλιών από τον Εθνικό Κατάλογο. Στοιχεία του Εθνικού Καταλόγου απεικονίζονται στην εικ. 6, με τον αριθμό ποικιλιών και το έτος εγγραφής τους στον Εθνικό Κατάλογο από το 1986 μέχρι σήμερα (Πηγή: Ινστιτούτο Ελέγχου Ποικιλιών Καλλιεργουμένων Φυτών). Στην ροή του νόμου 1564 ακολουθεί ο Έλεγχος και η Πιστοποίηση πολλαπλασιαστικού υλικού (άρθρο 7).

**Σχόλια – Προεκτάσεις του άρθρου 8** - Δημιουργός και προστασία των πνευματικών δικαιωμάτων του. Δημιουργός ποικιλίας φυτικού είδους είναι κάθε φυσικό ή νομικό πρόσωπο, το ποίο ανακαλύπτει ή δημιουργεί μια οποιαδήποτε φυσικής ή τεχνητής προέλευσης ποικιλία φυτικού είδους, η οποία είναι νέα, πρωτότυπη ομογενής και σταθερή. Ο δημιουργός της ποικιλίας: παράγει και διαθέτει το πολλαπλασιαστικό υλικό της ποικιλίας και εκμεταλλεύεται ή μεταβιβάζει τα δικαιώματά του. Κάθε βελτιωτής επιθυμεί να διατηρεί τον έλεγχο των προϊόντων του, είτε είναι ποικιλίες, είτε πρόκειται για ανακαλύψεις νέων γονιδίων ή αναφέρονται στην ανάπτυξη νέων μεθόδων. Συγχρόνως όμως, επιθυμεί να έχει ελεύθερη και νομική πρόσβαση σε αντίστοιχα προϊόντα τρίτων, είτε μέσω αγοράς, είτε μέσω απόκτησης δικαιωμάτων εκμετάλλευσης. Στο σημείο αυτό εισέρχονται τα δικαιώματα πνευματικής ιδιοκτησίας των βελτιωτών να αποτελέσουν ένα μέσο με το οποίο μπορούν να επιτευχθούν οι δύο παραπάνω στόχοι (Caldwell and Schillinger 1989). Τα πνευματικά δικαιώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν αφενός για να αποτρέψουν την ανεξέλεγκτη και χωρίς άδεια εκμετάλλευση των κατοχυρωμένων προϊόντων και από την άλλη να καθορίσουν το πλαίσιο και τις προϋποθέσεις με βάση τις οποίες θα μπορεί να υπάρξει δυνατότητα πρόσβασης σε αυτά. Τα πνευματικά δικαιώματα του βελτιωτού δεν ισοδυναμούν με μονοπώλιο δηλ. αποκλειστικό έλεγχο ενός αναντικατάστατου προϊόντος, αλλά κατοχύρωση ενός προϊόντος που βοηθάει στη διάδοση του γενετικού υλικού και της τεχνολογίας (Duvick 1999). Το νομοθετικό πλαίσιο προστασίας των πνευματικών δικαιωμάτων των βελτιωτών πραγματοποιήθηκε με την Ένωση για την Προστασία Φυτικής Ποικιλότητας (UPOV), που οδήγησε στην υπογραφή της Σύμβασης το 1961. Τα οφέλη από την προστασία παρέχονται στον Βελτιωτή, αν η ποικιλία είναι: Διακριτή (σε ένα ή περισσότερα χαρακτηριστικά), καινούργια, ομοιόμορφη, σταθερή, με ονομασία. Τα δικαιώματα και τα όρια προστασίας καθορίζονταν ως εξής: α) έγκριση για αναπαραγωγή, πώληση, εμπορία, β) χωρίς έγκριση η χρησιμοποίηση ως γενετικό υλικό εκκίνησης ποικιλιών ή υβριδίων, και

γ) κάθε χώρα μέλος της UPOV μπορούσε να προστατεύει ορισμένα βοτανικά είδη. Η Σύμβαση του 1961 αποτέλεσε ένα σημαντικό βήμα προς την διασφάλιση και την ικανοποίηση των συμφερόντων των βελτιωτών.



Εικ. 6. Αριθμός ποικιλιών κατά έτος εγγραφής στον Εθνικό Κατάλογο Φυτών Μεγάλης Καλλιέργειας και κηπευτικών.

Ωστόσο, οι αρχές που διατυπώθηκαν στη δεκαετία του '60 δεν ανταποκρίνονταν στις τεχνολογικές και οικονομικές συνθήκες που κυριάρχησαν στο τέλος του 20<sup>ου</sup> αιώνα. Συγκεκριμένα, δεν ανταποκρίνονταν στην πρόοδο στον τομέα της Μοριακής Βιολογίας και της Γενετικής Μηχανικής και στο σύνολο των βιοτεχνολογικών ερευνητικών μεθόδων, που οδήγησαν στην ακριβή γνώση του γενώματος σε πολύπλοκους φυτικούς και ζωικούς οργανισμούς. Επίσης, δεν ανταποκρίνονταν στις κοινωνικο-οικονομικές αλλαγές στο χώρο της γεωργίας, όπως: η συγχώνευση εταιρειών, η επέκταση των πολυεθνικών εταιρειών και η είσοδος ομάδων με διαφορετικές μεθόδους (χημικές ή φαρμακευτικές εταιρείες, αγροχημικά, βιοτεχνολογικές εταιρείες). Τέλος, το σημαντικότερο είναι ότι δεν ανταποκρίνονταν στις νέες χρήσεις των γεωργικών προϊόντων όπως είναι η χρησιμοποίηση αυτών στις γεωργικές βιομηχανίες: της μεταποίησης, της παραγωγής φαρμακευτικών και χημικών ενώσεων, της παραγωγής βιοενέργειας (πράσινου πετρελαίου, biodiesel).

Με βάση όλα τα παραπάνω ήταν αναμενόμενο να ακολουθήσει τροποποίηση της Σύμβασης του 1961, που ψηφίστηκε με την Αναθεώρηση τον Μάρτιο του 1991. Οι βασικές αλλαγές οι οποίες υιοθετήθηκαν ήταν οι ακόλουθες: α) Όλα τα είδη και τα γένη φυτών μιας χώρας (μέλος της UPOV) να προστατεύονται, β) Τα πνευματικά δικαιώματα των βελτιωτών να καλύπτουν μεγαλύτερο φάσμα, γ) Εισάγεται η έννοια της τροποποιημένης ποικιλίας (essentially derived variety) που προέρχεται από κατοχυρωμένη ποικιλία είτε με μετάλλαξη, είτε με αναδιασταυρώσεις είτε με γενετική μηχανική και δ) κάθε χώρα επιλέγει ελεύθερα τον τρόπο και το είδος της προστασίας (double protection, Le Buanec 1992). Η αναθεώρηση του 1991 διαφοροποιείται ισχυρά σε δύο σημεία: 1) περιορίζει την πρόσβαση στο γενετικό υλικό (research exemption) για μία χρονική περίοδο 17 με 20 έτη και 2) περιορίζει τον αγρότη στη χρήση του δικού του σπόρου (farmer's privilege exemption), σε αντίθεση με τη νομοθεσία των Η.Π.Α. και άλλων χωρών όπου δεν υπάρχει αυτός ο περιορισμός.

Έχει εκπονηθεί σενάριο για τις επιπτώσεις των συμβάσεων και της αναθεώρησης του 1991 για τα δικαιώματα του βελτιωτή της Ένωσης για την Προστασία της Φυτικής Ποικιλότητας (UPOV) στη γεωργική παραγωγή του 2020 (Evenson 1999). Διερευνήθηκαν δύο εκδοχές: Σενάριο πρώτο - Επιπτώσεις από την ισχυροποίηση των δικαιωμάτων του βελτιωτή μόνον στις ανεπτυγμένες χώρες. Οι επιπτώσεις προσδιορίστηκαν δυσμενείς στις ανεπτυγμένες χώρες όπου θα περιορισθεί η κρατική έρευνα. Πολλά από τα προστατευόμενα προϊόντα θα προέρχονται με βιοτεχνολογικές μεθόδους. Οι επιπτώσεις θα είναι δυσμενείς και για τις αναπτυσσόμενες χώρες όπου οδηγούνται σε αύξηση των εισαγωγών και καθυστέρηση των προϊόντων βιοτεχνολογίας τουλάχιστον για μία δεκαετία. Σενάριο δεύτερο - Επιπτώσεις από την στέρηση των δικαιωμάτων του αγρότη για 15 χρόνια. Σημαντικό αγαθό στη γεωργία θεωρείται η ανταλλαγή φυτικών πόρων (FAO 1998). Αδιαμφισβήτητο παράδειγμα ωφέλειας που προκύπτει από την ανταλλαγή φυτικών πόρων αποτελούν τα 100

και πλέον προγράμματα δημιουργίας ποικιλιών ρυζιού, όπου το 92% των ποικιλιών που δημιουργήθηκαν από το 1985 και μετά είχαν τουλάχιστον έναν πρόγονο με προέλευση από ανταλλαγή γενετικού υλικού (Evenson 1999). Προσδιορίστηκε, επιπλέον ότι, περιορίστηκαν οι γενεαλογικοί αγροί στο ένα τρίτο της έκτασης που είχαν με αποτέλεσμα να μειωθούν οι δημιουργούμενες ποικιλίες στο ένα τρίτο του αρχικού αριθμού τους (Evenson 1999). Συμπερασματικά και οι δύο εκδοχές προκάλεσαν δυσμενείς επιπτώσεις. Η πρώτη εκδοχή στους καταναλωτές των αναπτυσσόμενων χωρών και η δεύτερη εκδοχή, η οποία είχε πιο σοβαρές επιπτώσεις τόσο στις αναπτυσσόμενες χώρες με αύξηση του ποσοστού των πεινασμένων όσο και στις αναπτυγμένες χώρες με καθυστέρηση στη δημιουργία βιοτεχνολογικών προϊόντων. Γι' αυτό προτείνεται η συνέχιση του συστήματος ανταλλαγής των γενετικών πόρων (Evenson 1999).

**Σχόλια – Προεκτάσεις του άρθρου 10 – Διατηρητής και οι υποχρεώσεις του.** Διατηρητής ποικιλίας είναι δημόσια υπηρεσία ή νομικό πρόσωπο που διατηρεί την ποικιλία με τα χαρακτηριστικά που έχει γραφεί στον Εθνικό Κατάλογο Ποικιλιών (άρθρο 6) και παράγει υλικό καλλιτερευτού. Στα 100 περίπου χρόνια επιτυχημένης δημιουργίας ποικιλιών που έχει διανύσει η βελτίωση, φάνηκε ότι βασική στρατηγική της είναι η συνεχής ροή γονέων από καλά διατηρημένα αποθέματα. Η ανάγκη διατήρησης παλαιών ποικιλιών αποτελεί μία διαρκή απαίτηση. Όσο η βελτίωση εξασκείται, τόσο θα αποσύρονται κάποιες ποικιλίες, τόσο θα χρειάζονται νέες ποικιλίες για περιβάλλοντα και κοινωνίες που αλλάζουν τις απαιτήσεις τους. Μέλημα του βελτιωτού είναι η συνεχής επιλογή της ποικιλίας που δημιούργησε, έτσι ώστε να αξιοποιεί τυχόν νέα γενετική παραλλακτικότητα και να ενσωματώνει τις περιβαλλοντικές αλλαγές. Γι' αυτό οι βελτιωτές συνιστούν ανά 2-3 έτη επιλογή (Silbernagel *et al.* 1993, Traka-Mavrona *et al.* 2000) ή διαρκή επιλογή ώστε να υπάρχει σταθερή βελτίωση, με μεθοδολογία που επιτρέπει την πλήρη φαινοτυπική έκφραση και μεγιστοποιεί την αποτελεσματικότητα της επιλογής (Fasoulas 1988, 1993). Οι μέθοδοι που συνδέουν τη διατήρηση με τις Συλλογές ή τις ποικιλίες απεικονίζονται στο παρακάτω Σχήμα (Εικ. 7). Βασίζονται στον τρόπο αναπαραγωγής και διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: Α) Τα πολλαπλασιαζόμενα με σπόρο (ετήσια, διετή, μερικά πολυετή που διατηρούνται ως σειρές, αυτογονιμοποιούμενα ή ελεύθερα επικονιαζόμενα), Β) τα σποροπαραγώμενα πολυετή και Γ) Τα αγενώς πολλαπλασιαζόμενα. Οι κίνδυνοι διατήρησης των Συλλογών παραμένουν: ο γενετικά τυχαίος, όπως π.χ. μεταλλάξεις που συμβαίνουν τυχαία στη φύση από διάφορους παράγοντες και απαιτεί προσοχή στον τρόπο αποθήκευσης και ο γενετικά επιλεκτικός, όπως π.χ. γενετική εκτροπή, τυχαία διασταύρωση, που απαιτεί προσοχή στον αναπολλαπλασιασμό και τη διατήρηση. Στη περίπτωση αυτή ο νέος πληθυσμός θα διαφέρει από τον αρχικό ως προς τη συχνότητα και το είδος των γονιδίων (Simpmonds 1979). Ο νόμος 1564/8-9-1985 περιλαμβάνει τριάντα (30) συνολικά άρθρα, που περιγράφουν τον τρόπο καλλιέργειας, εμπορίας, διαχείρισης και προστασίας του πολλαπλασιαστικού υλικού.

#### **Γενετικό και πολλαπλασιαστικό υλικό: ένας αέναος κύκλος παραγωγικότητας στη γεωργία.**

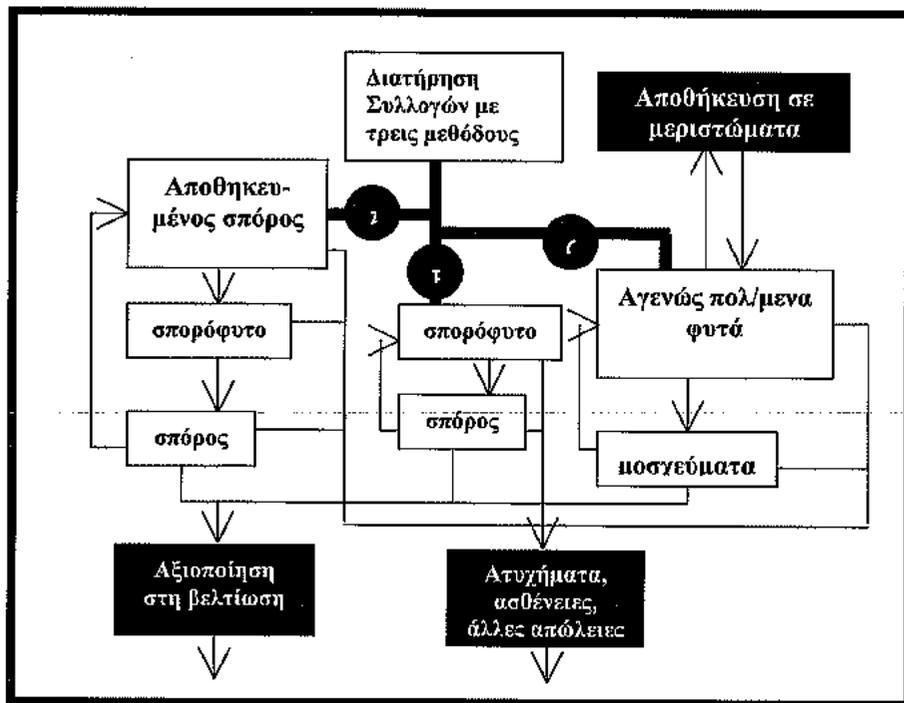
Από την έναρξη της γεωργίας πριν από 7.000 έτη ή ακόμα και νωρίτερα, η επιλογή των φυτικών ειδών που εκπληρούσαν τις ανάγκες της, ήταν τόσο επιτυχής, ώστε ελάχιστα είδη προστέθηκαν στον κατάλογο των καλλιεργούμενων ειδών. Η εφαρμογή της γεωργίας απαιτήσε τεχνητή επιλογή. Έτσι, με την πάροδο των ετών αυτό οδήγησε στη δημιουργία των σύγχρονων ποικιλιών (Σφακιανάκης 2002). Μεταξύ γενετικού και πολλαπλασιαστικού υλικού διαγράφεται ένας κύκλος παραγωγικότητας διότι και τα δύο συμμετέχουν στις προβελτιωτικές διαδικασίες που είναι απαραίτητες στη δημιουργία σύγχρονων και προσαρμοσμένων ποικιλιών (Εικ. 8). Το γενετικό υλικό είτε αποθηκεύεται στις Τράπεζες Γενετικού Υλικού είτε εισάγεται, συνεισφέρει στη βελτίωση του επιπέδου γεωργίας μιας χώρας. Το ίδιο συμβαίνει και με το πολλαπλασιαστικό υλικό το οποίο είτε καλλιεργείται είτε αποσύρεται και αποθηκεύεται στις Τράπεζες Γενετικού Υλικού συνεισφέρει στη βελτίωση του επιπέδου γεωργίας μιας χώρας. Ο κύκλος παραγωγικότητας παρουσιάζει διαχρονικότητα στη συνεισφορά γονιδίων του γενετικού υλικού και του πολλαπλασιαστικού υλικού (Εικ. 9) στο έργο της βελτίωσης.

#### **Μελλοντικές εξελίξεις**

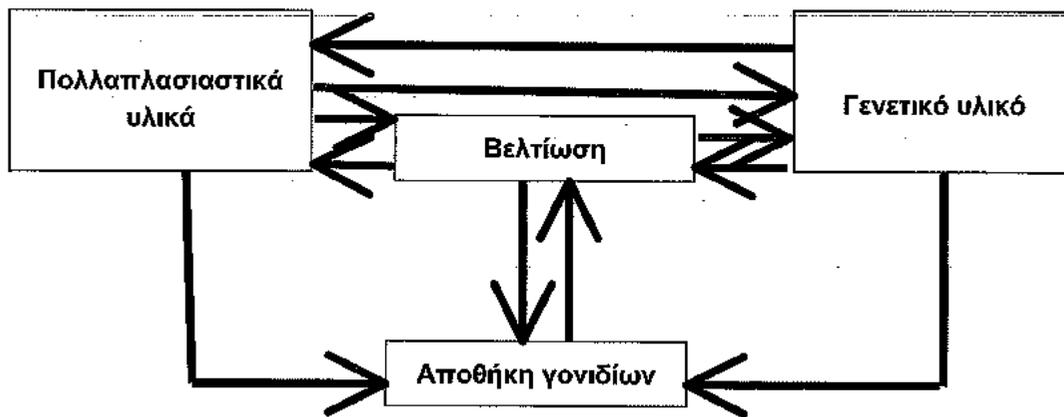
Ότι έχει ειπωθεί, απορίες, τα κενά της νομοθεσίας, οι διάφορες δεσμεύσεις θα αποτελέσουν τη βάση των μελλοντικών εξελίξεων και θα προσδιορίσουν το πλαίσιο μέσα στο οποίο θα κινηθούν οι δραστηριότητες των βελτιωτών.

Κατ'αρχήν έχουν δημιουργηθεί ερωτηματικά σχετικά με το εάν θα πρέπει όλα τα είδη του ζωικού ή φυτικού βασιλείου να έχουν τη δυνατότητα να κατοχυρώνονται ή εάν υπάρχουν είδη που εξαιρούνται. Η απάντηση είναι ότι κανένα τμήμα του φυτικού βασιλείου, ούτε καμία βιολογική διεργασία που επιτελείται σ'αυτό δεν αποκλείεται από τη δυνατότητα κατοχύρωσής της (patentability).

Ένα δεύτερο σημείο για διευκρίνιση είναι τα κριτήρια για την απόκτηση διπλώματος ευρεσιτεχνίας (patents). Υπάρχει πρόθεση αν ένα προϊόν θα μπορούσε να βρεθεί στη φύση, αυτό να μην αποτελείσει πλέον ανασταλτικό παράγοντα για την αναγνώριση της καινοτομίας του (novelty). Στην περίπτωση ανακάλυψης ή εφεύρεσης, που αφορά βιολογικό υλικό του οποίου η περιγραφή είναι αδύνατη, παρακάμπτεται το κριτήριο της "επαρκούς περιγραφής" με την προϋπόθεση ότι δείγμα του υλικού θα φυλάσσεται σε καθορισμένο θερμοκήπιο.



Εικ. 7. Οι τρεις Βασικοί Μέθοδοι Διατήρησης των Συλλογών (Simmonds 1979).

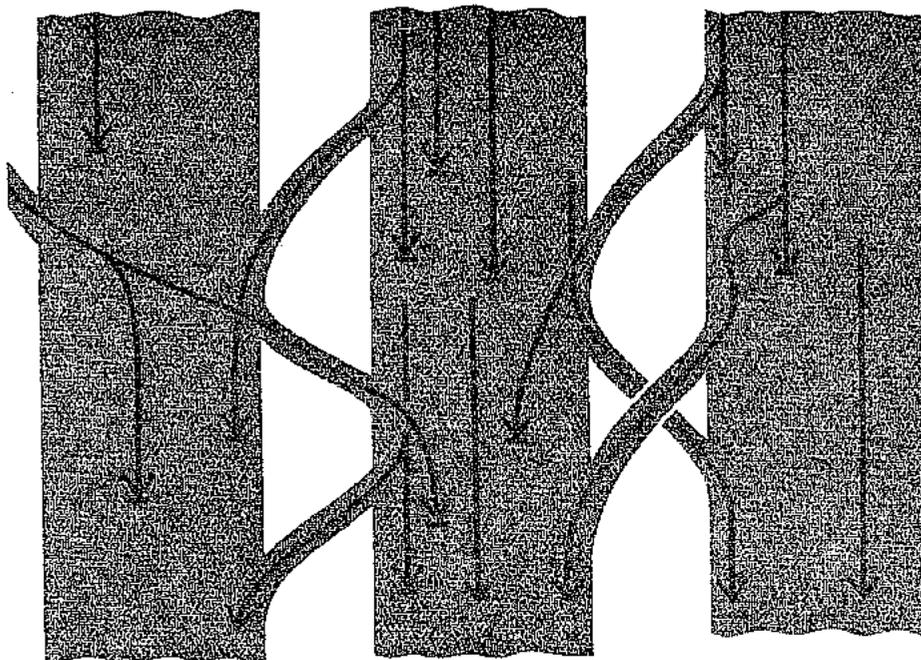


Εικ. 8. Κύκλος παραγωγικότητας μεταξύ γενετικού και πολλαπλασιαστικού υλικού.

### Πολλαπλασιαστικά υλικά

### Βελτίωση

### Γενετικά υλικά



Εικ.9. Διαχρονικότητα και συνεισφορά γονιδίων στη βελτίωση (Simmonds 1979).

Ένα άλλο πρόβλημα είναι ο προσδιορισμός των ορίων των πνευματικών δικαιωμάτων του βελτιωτή που απορρέουν από την απόκτηση πιστοποιητικών ευρεσιτεχνίας. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση κατοχύρωσης κάποιας μεθόδου παραγωγής, είναι ευνόητο ότι πιθανόν να υπάρξει πρόβλημα αναφορικά με την άσκηση των δικαιωμάτων του βελτιωτού στο προϊόν που έχει παραχθεί με την κατοχυρωμένη μέθοδο. Επιπλέον, σε περίπτωση που η κατοχύρωση αφορά κάποια γενετική πληροφορία, τα δικαιώματα σαφώς επεκτείνονται και σε οποιοδήποτε προϊόν περιλαμβάνει ή εκφράζει αυτή τη γενετική πληροφορία. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι ο κάτοχος των δικαιωμάτων του βελτιωτή αποκτά αυτόματα τον πλήρη έλεγχο σε ένα ευρύ φάσμα του επιστημονικού αυτού κλάδου, γεγονός που οπωσδήποτε αντιτίθεται στα συμφέροντα, όχι μόνο των υπόλοιπων επιστημόνων, αλλά και του ευρύτερου κοινωνικού συνόλου. Άρα δύσκολα οριοθετούνται τα δικαιώματα, χωρίς να αποβαίνουν αντίθετα σε συμφέροντα άλλων επιστημόνων.

Ένα άλλο σημείο που πρέπει να σημειωθεί είναι οι θετικές εξελίξεις που αναμένεται να υπάρξουν στον τομέα των γενετικά τροποποιημένων φυτών. Ειδικότερα, προβλέπεται μεγάλη διεύρυνση του διαθέσιμου γενετικού υλικού ως αποτέλεσμα της δημιουργίας αυτών των φυτών. Αυτό σημαίνει ότι οι βελτιωτές εφοδιάζονται με περισσότερες γνώσεις και μέσα, για την επίτευξη καλύτερων αποτελεσμάτων και φυσικά για τη δημιουργία υπέρτερων και ανταγωνιστικότερων προϊόντων. Αυτή όμως η εξέλιξη συνεπάγεται την ανάγκη υιοθέτησης νέων όρων και διατάξεων.

Επίσης, ενδιαφέρον παρουσιάζει η Σύμβαση της Βιοποικιλότητας και ιδιαίτερα του κατά πόσο αυτή είναι σε θέση να βοηθήσει στην επίτευξη μιας ενιαίας συμφωνίας μετάδοσης γενετικών πόρων με τις αναπτυσσόμενες χώρες που ως επί το πλείστον διαθέτουν άφθονους γενετικά πόρους, κατά τρόπο δίκαιο, που να προάγει τη συνεργασία όχι μόνο μεταξύ των επιστημόνων, αλλά και των κρατών. Σίγουρα υπάρχουν πολλά περιθώρια βελτίωσης και στον τομέα αυτό και φυσικά οι εξελίξεις αναμένονται σημαντικές.

Βέβαια εκτός των παραπάνω διευθετήσεων, τα οικονομικά κριτήρια έχουν εισβάλει έντονα στην καθημερινότητα και μερικές φορές γίνονται ρυθμιστές καταστάσεων. Ενδέχεται, στην εμπορία του πολλαπλασιαστικού υλικού να επιδιωχθούν κατευθύνσεις που θα το αποσπάσουν από το γενετικό υλικό, με το οποίο διαχρονικά βρίσκεται σε συνεχή επικοινωνία. Το ζητούμενο είναι να πρυτανεύει η σφαιρικότητα των αποφάσεων και ο συγκερασμός όλων των παραγόντων. Το πολλαπλασιαστικό υλικό δεν είναι ένα αγαθό ή ένα προϊόν που έχει περιορισμένη διάρκεια. Είναι η συμμετοχή των βελτιωτών στην ανθρώπινη διατροφή. Γι' αυτό θα πρέπει και η διαχείριση να γίνεται σωστά και να δημιουργηθεί συνείδηση στη διάδοχη κατάσταση διαχείρισης της πολύτιμης βιοποικιλότητας και του αξιόλογου πολλαπλασιαστικού υλικού (Lesser and Mutschler 2004). Το οικονομικό όφελος θα πρέπει να προέρχεται από τη σωστή, διαρκή και ελεύθερη

πρόσβαση στις πηγές, ώστε η ανανέωση να αντικαθιστά το στένεμα της γενετικής βάσης, η ανθεκτικότητα την ευπάθεια. Το ξεκίνημα της έρευνας να γίνεται από τις πηγές του γενετικού υλικού και να εφοδιάζει με ποικιλίες, υβρίδια, καθαρές σειρές, κλώνους κ.α. πολλαπλασιαστικό υλικό μια γεωργία που θα αναβαθμίζεται συνέχεια προς όφελος της κοινωνίας.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Barrett, B.A. and K.K. Kidwell, 1998. AFLR-based genetic diversity assessment among wheat cultivars from the Pacific Northwest. *Crop Sci.* 38:1261-1271.
- Bass, L.N. 1984. Germplasm preservation. pp: 55-67. In: *Conservation of Crop Germplasm – An International Perspective*. Crop Science Society of America, Madison, WI.
- Beaumont, M.A., K.M. Ibrahim, P. Bousrot, and M.W. Bruford, 1998. Measuring genetic distance, pp.315-325. In: *Molecular tools for screening biodiversity*. A. Karp *et al* (ed). Chapman and Hall, London.
- Bennett E. 1978. Threats to crop genetic resources. In: Hawkes J.G. (ed). *Conservation and Agriculture*. Gerald Duckworth and go, Ltd London.
- Caldwell, B.E. and J.A. Schillinger (ed) 1989. Intellectual property rights associated with plants. ASA Spec. Publ. 52 CSSA, ASA and SSSA, Madison, WI.
- Cox, T.S., I.P. Murphy, AND D.M. Rodgers, 1986. Changes in genetic diversity in the red winter wheat regions of the United States. *Proc. Natl. Acad. Sc. (USA)* 83:5583-5586
- Dowswell, C.R., R.L. Paliwal, R.P. Cantrell, 1996. *Maize in the third world*. Westview Press, Boulder, U.S.A.
- Dudnik, N.S., I. Thormann and T. Hodgkin, 2001. The extent of the use of plant genetic resources in research – A literature survey. *Crop Sci.* 41:6-10.
- Duvick, D.N. 1993. Goals and expectations of industry for intellectual property rights for plant materials. pp. 21-28. In: *Intellectual Property Rights: Protections of Plant Materials*. (Eds). P.S. Baenziger, R.A. Kleese, R.F. Barnes. CSSA, Special Publication Number 21.
- Evenson, R.E. 1999. Intellectual Property Rights, Access to Plant Germplasm, and Crop Production Scenarios in 2020. *Crop Sci.* 39:1630-1635.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1998. *The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture*. FAO, Rome.
- Fasoulas, A.C. 1988. The honeycomb methodology of plant breeding. A.C. Fasoulas, Thessaloniki, Greece.
- Fasoulas, A.C. 1993. *Principles of crop breeding*. A.C. Fasoulas, Thessaloniki, Greece.
- Felsenstein, J. 1984. Distance methods for inhering phylogenies: A justification. *Evolution*, 38:16-24.
- Hallauer A.R. 1978. Potential of exotic germplasm for maize improvement. In: *Maize breeding and genetics*. Walden, D.B. (ed). John Wiley, N.York, pp. 229-247.
- Hallauer, A.R. and J.B. Miranda, 1988. *Quantitative genetics in maize breeding*. 2<sup>nd</sup> edition, Iowa States University Press, Ames, IA.
- Hallauer, A.R. 1990. Methods used in developing maize inbrers. *Maudica*, 35:1-8.
- Jones, Q. 1984. A national plant germplasm system. pp. 27-33. In: *Conservation or Crop Germplasm – An International Perspective*. Crop Science Society of America, Madison, WI.
- Le Buanec, B. 1992. From tradition to modernity: Which right for which varieties? pp. 419-432. In: *Reproductive Biology and Plant Breeding*. (Eds) Y. Dattée, C. Dumas, A.Gallais. Springer – Verlag, Berlin.
- Lesser, W. and M.A. Mutschler, 2004. Balancing investment incentives and social benefits when protecting plant varieties: implementing initial variety systems. *Crop Sci.* 44: 1113-1120.
- Lu, H. and R. Bernardo, 2001. Molecular marker diversity among current and historical maize inbrers. *Theor. Appl. Genet.* 103:613-617.
- Melchinger, A.E., M.M. Messmer, M. Lee, W.L. Woodman, and K.R. Lamkey, 1991. Diversity and relationships among U.S. maize inbrers revealed by restriction fragment length polymorphisms. *Crop Sci.* 31:669-678.
- Mohammadi S.A. and B.M. Prasanna, 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants – Salient Statistical Tools and Considerations. *Crop Sci.* 43:1235-1248.
- Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 70:3321-3323.
- Reif J.C., A.E. Melchinger and M. Frisch, 2005. Genetical and mathematical properties of similarity and dissimilarity coefficients applied in plant breeding and seed band management. *Crop Sci.* 45:1-7.
- Rohlf, F.J., 2000. NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.11e. Exeter Software, N. York.
- Silbermagel, M.J., W. Janssen, J.H.C. Dawis and G. Oca de Montes, 1993. Snap bean production in the tropics. Implications for genetic improvement. pp. 835-862. In: *Common beans: Reasearch for crop improvement*. (Eds) Van Schoonhoven, A. and Voysest, O. CAB international in association with CIAT, Wallingford, U.K.
- Simmonds, N.W. 1979. *Principles of crop improvement*. Longman Group Limited, London, p. 408.

- Smith, J.C.S. 1984. Genetic variability within U.S. hybrid maize. Multivariate analysis of isozyme data. *Crop Sci.* 24:1041-1046.
- Smith, J.C.S. 1988. Diversity of United States hybrid maize germplasm. Isozymic and chromatographic evidence. *Crop Sci.* 28:63-69.
- Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal, 1973. *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco.
- Σταυρόπουλος, Ν. 1998. Ο ρόλος της Τράπεζας Γενετικού Υλικού στην προστασία και αξιοποίηση της γεωργικής βιοποικιλότητας της χώρας. *Αγροτική Έρευνα και Τεχνολογία* 7:6-7.
- Σφακιανάκης, Ι. 2002. Φυτογενετικοί Πόροι και Ποικιλίες. Πρακτικά 9<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ. σελ. 20-35.
- Tailler, J.M. and R. Bernardo, 2004. Diverse adapted populations for improving northern maize inbreds. *Crop Sci.* 44:1444-1449
- Traka-Mavrona, E., D. Georgakis, M.Koutsika-Sotiriou and Th. Pritsa, 2000. An integrated approach of breeding and maintaining an elite cultivar of snap bean. *Agron. J.* 92: 1020-1026.
- Troyer, A.F., 1996. Breeding widely adapted popular maize hybrids: *Euphytica*, 92:163-174.

## **Genetic resources and Propagated material: restrictions and options**

### **Metaxia Koutsika-Sotiriou**

Dept. of Genetics and Plant Breeding, School of Agriculture, Aristotle University of Thessaloniki, 54  
124 Thessaloniki  
e-mail koutsika@agro.auth.gr

In the present study the historical elements, the legislation, the present situation of genetic resources, and propagated material have been described. For genetic resources the following points have been developed: reasons that caused diversity's decline, legislation regarding its protection, analysis of genetic diversity and its incorporation in synchronous varieties by plant breeders. For propagated materials the following points which have been discussed based upon the law 1564/8-9-1985: procedure for registration in the national varieties list, the intellectual rights of breeders, the maintain of plant species and the seed bank management. In applied agriculture the sense of genetic resources and propagated material is being recycled, borrowing to breeders the suitable gene pool, rendering them able to reconstruct varieties adapted in each environment and, always for agriculture sake.

## ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΚΑΝΝΑΒΕΩΣ ΣΕ Δ<sup>9</sup>-ΤΕΤΡΑΪΔΡΟΚΑΝΝΑΒΙΝΟΛΗ

**Μαρία Στεφανίδου, Ιωάννης Παπουτσης, Αρτεμισία Ντονά**

Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας  
 Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών, Μ. Ασίας 75, Γουδί

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Δ<sup>9</sup>-τετραΐδροκανναβινόλη (Δ<sup>9</sup>-THC) αποτελεί το δραστικό συστατικό της ινδικής καννάβευς. Η συγκέντρωσή της στα φυτά ποικίλλει και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Στην παρούσα εργασία προσδιορίστηκε ποσοτικά με αεριο-χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας GCD (GC-EID) η περιεκτικότητα σε Δ<sup>9</sup>-THC φυτών καννάβευς προερχομένων από παράνομες καλλιέργειες φυτών καννάβευς που κατασχέθηκαν από τις Αστυνομικές Αρχές στη Βόρεια και στη Νότια Ελλάδα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, στη Β. Ελλάδα η περιεκτικότητα σε Δ<sup>9</sup>-THC κυμαινόταν μεταξύ 0,24-4,41%, ενώ στη Ν. Ελλάδα μεταξύ 0,08-3,83%. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία οι τυπικές συγκεντρώσεις της Δ<sup>9</sup>-THC σε φυτά καννάβευς είναι 0,50-5,0%, επομένως συμπεραίνεται ότι η παράνομη καλλιεργούμενη κάνναβη στην Ελλάδα είναι "καλής ποιότητας". Η ποιότητα αυτή της καννάβευς πιθανόν να οφείλεται στο εύφορο έδαφος, στο θερμό κλίμα της Ελλάδας, στη μεγάλη ηλιοφάνεια, στη συχνότητα των βροχοπτώσεων, στην περιτοίηση των φυτών και στην καλή ποιότητα των φυτικών σπόρων. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής υποστηρίζουν ότι η Ελλάδα θα μπορούσε να θεωρηθεί μία περιοχή "υψηλού κινδύνου" για την παράνομη καλλιέργεια φυτών καννάβευς και ιδιαίτερα φυτών "pedigree".

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η καλλιέργεια του φυτού *Cannabis sativa* L. είναι απαγορευμένη στις περισσότερες χώρες, όπως και στην Ελλάδα. Όμως, παρά την απαγόρευση αυτή, η παράνομη καλλιέργεια και η διακίνηση του φυτού της καννάβευς και των προϊόντων της είναι πολύ διαδεδομένη σε πολλές χώρες, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται και η Ελλάδα. Σε μερικές περιοχές της Μεσογείου, και στην Ελλάδα, τα φυτά που ανήκουν στον κλωστικό τύπο της καννάβευς είναι δυνατόν να καλλιεργηθούν νόμιμα για τις ίνες και τα σπέρματά τους, μετά τη λήψη ειδικής άδειας.

Η μαριχουάνα είναι το πιο διαδεδομένο προϊόν της καννάβευς στην Ελλάδα και οι κατασχέσεις που γίνονται από τις Δικαστικές Αρχές ετησίως αυξάνονται συνεχώς. Το μεγαλύτερο ποσοστό της κατασχόμενης καννάβευς ετησίως είναι Αλβανικής προέλευσης, αφού η Αλβανία αποτελεί τον κυριότερο προμηθευτή της Ελλάδας και της Ιταλίας σε κάνναβη.

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της Δ<sup>9</sup>-τετραΐδροκανναβινόλης (Δ<sup>9</sup>-THC), που αποτελεί το δραστικό συστατικό της ινδικής καννάβευς, σε φυτά που καλλιεργήθηκαν παράνομα στη Βόρεια Ελλάδα και στη Νότια Ελλάδα.

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Χρησιμοποιήθηκαν δείγματα προερχόμενα από 30 παράνομες καλλιέργειες φυτών καννάβευς, από δύο περιοχές της Ελλάδας, τα οποία εστάλησαν από τις Δικαστικές Αρχές στο Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών για τοξικολογική ανάλυση. Τα δείγματα προσκομίσθηκαν νωπά και υποβλήθηκαν σε ξήρανση. Στη συνέχεια επελέγησαν τα άνω τμήματα των ανθοφόρων ταξιανθιών των φυτών, τα οποία μετά την αφαίρεση των σπερμάτων, κονιοποιήθηκαν. Από το κάθε κονιοποιημένο δείγμα ελήφθησαν 20 mg, τα οποία εικυλίσθησαν επί 24 ώρες με 1 ml εξανίου. Ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε το tetracosane σε συγκέντρωση 100 μg/ml. Μετά τη φυγοκέντρηση του κάθε δείγματος, ελήφθησαν 500 μl από το υπερκείμενο, εξατμίσθηκαν μέχρι ξηρού και το ξηρό υπόλειμμα διαλύθηκε σε 500 μl οξεικού αιθυλεστέρα και στη συνέχεια 1 μl από το διάλυμα αυτό ενέθηκε σε σύστημα αεριο-χρωματογραφίας-φασματογράφου μάζας (GC-MS), με ανιχνευτή EID.

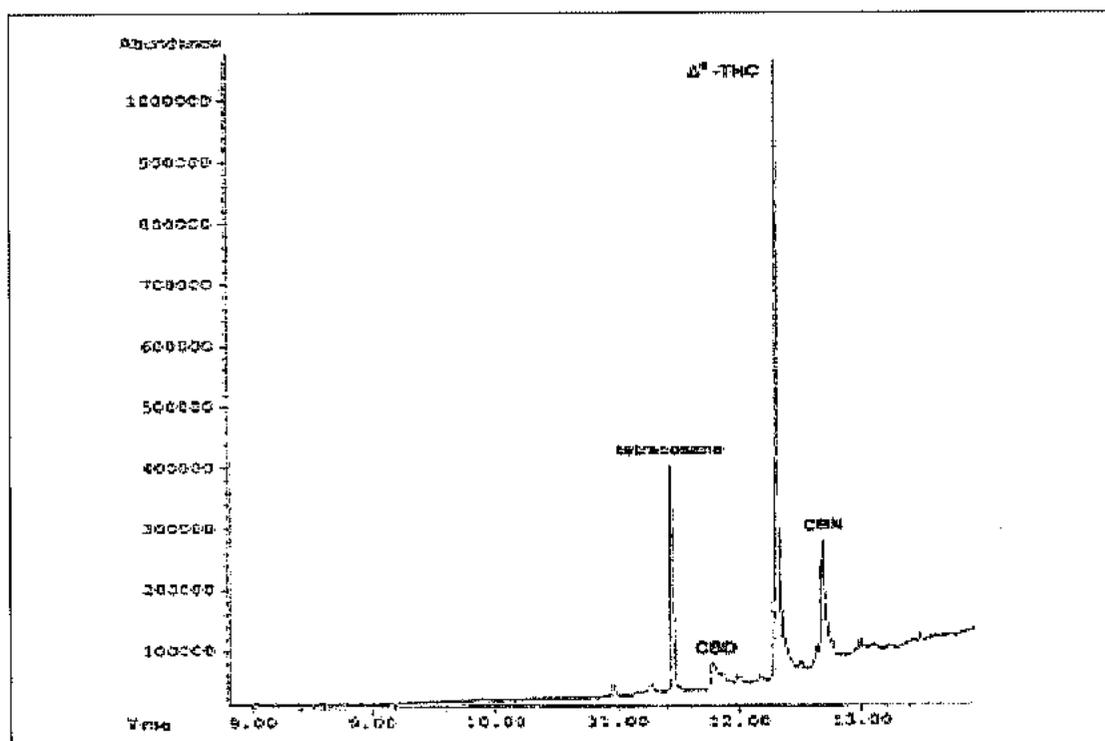
Οι συνθήκες της ανάλυσης ήταν οι εξής:

Τριχοειδής στήλη HP-5, με 5% φαινυλομεθυλοσιλικόνη, με διαστάσεις 30m x 0,25mm x 0,25μm.	
Θερμοκρασία στήλης:	100 °C
Χρόνος παραμονής στους 100 °C:	0 min
Ταχύτητα ανόδου θερμοκρασίας στήλης:	15 °C/min
Τελική θερμοκρασία στήλης:	300 °C
Χρόνος παραμονής στους 300 °C:	8 min
Θερμοκρασία σημείου έγχυσης:	280 °C
Θερμοκρασία interface:	300 °C
Ροή ηλίου στη στήλη:	1 ml/min

Ως πρότυπο διάλυμα χρησιμοποιήθηκε αιθανολικό διάλυμα Δ<sup>9</sup>-THC 100 μg/ml.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η περιεκτικότητα των φυτών της καννάβης σε Δ<sup>9</sup>-THC προσδιορίστηκε ποσοτικά με τη χρήση του GC-MS. Ο χρόνος ανάσχεσης της Δ<sup>9</sup>-THC ήταν 12.30 min και του tetracosane 11.44 min. Ένα τυπικό χρωματογράφημα ενός δείγματος καννάβης παρίσταται στο Σχήμα 1. Η περιεκτικότητα των μελετηθέντων φυτών της καννάβης σε Δ<sup>9</sup>-THC παρίσταται στον Πίνακα 1, η οποία υπολογίσθηκε με βάση τα εμβαδά των κορυφών της Δ<sup>9</sup>-THC και του tetracosane.



Σχήμα 1. Τυπικό χρωματογράφημα δείγματος καννάβης.

Δείγματα Καννάβηως	% Δ <sup>9</sup> -THC	
	Ν. Ελλάδα	Β. Ελλάδα
1	0.75	1.31
2	1.57	1.20
3	2.73	0.24
4	0.69	1.97
5	1.58	3.56
6	0.41	1.34
7	2.53	0.55
8	0.09	4.41
9	3.83	3.40
10	0.08	3.74
11	3.28	1.42
12	0.18	0.73
13	1.16	2.35
14	3.47	1.22
15	0.09	—
16	0.38	—

Πίνακας 1. Περιεκτικότητα των φυτών της καννάβηως σε Δ<sup>9</sup>-THC ανάλογα με την περιοχή της Ελλάδας που ελήφθη το δείγμα.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η περιεκτικότητα των φυτών της καννάβηως σε Δ<sup>9</sup>-THC ποικίλλει και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, μεταξύ των οποίων οι σημαντικότεροι είναι τα γενετικά χαρακτηριστικά των σπερμάτων, το περιβάλλον ανάπτυξης του φυτού, η υγρασία, η θερμοκρασία, η παροχή οξυγόνου, η ηλιοφάνεια, η ωριμότητα, η σύσταση του εδάφους, η γεινίαση του φυτού με άλλες καλλιέργειες, το φύλο του φυτού, το τμήμα του φυτού, ο χρόνος που μεσολάβησε από τη συγκομιδή του φυτού μέχρι τη χημική του ανάλυση και οι συνθήκες φύλαξης του φυτού.

Όπως είναι γνωστό, η κάνναβη ταξινομείται σε κλωστική και σε φαρμακευτική. Η συγκέντρωση της Δ<sup>9</sup>-THC ποικίλλει στα διάφορα στάδια ανάπτυξης του φυτού και μειώνεται με την πάροδο του χρόνου στα διάφορα δείγματα, ως αποτέλεσμα της οξειδωσης προς κανναβινόλη (CBN), με αποτέλεσμα να είναι δύσκολη η διάκριση ανάμεσα σε ένα νερό φυτό κλωστικής καννάβηως και σε ένα ώριμο φυτό φαρμακευτικής καννάβηως. Σύμφωνα, όμως, με τους ερευνητές, υποστηρίζεται ότι το άθροισμα Δ<sup>9</sup>-THC + CBN θα μπορούσε να ισοδυναμεί με την ολική συγκέντρωση της Δ<sup>9</sup>-THC, ανεξάρτητα από την οξειδωτική πορεία.

Σύμφωνα με την **Ευρωπαϊκή Ένωση**, ο κλωστικός τύπος περιέχει Δ<sup>9</sup>-THC μέχρι 0,3%, ενώ ο φαρμακευτικός τύπος συνήθως περιέχει Δ<sup>9</sup>-THC από 0,3% μέχρι 5%, αν και έχουν αναφερθεί και υψηλότερες συγκεντρώσεις μέχρι 10%. Σύμφωνα με τη **διεθνή βιβλιογραφία**, οι τυπικές συγκεντρώσεις της Δ<sup>9</sup>-THC στα τρία κύρια προϊόντα της φαρμακευτικής καννάβηως είναι οι εξής:

Φυτό καννάβηως: 0,5-5%      Ρητίνη καννάβηως: 2-10%      Χασισέλαιο: 10-30%.

Τα φυτά υβρίδια έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση Δ<sup>9</sup>-THC από τις παραδοσιακές ποικιλίες του φυτού, που μπορεί να φθάσει μέχρι 17%.

Σύμφωνα με την παρούσα εργασία, η περιεκτικότητα των φυτών της καννάβηως σε Δ<sup>9</sup>-THC ποικίλλει από 0,24-4,41% στη Β. Ελλάδα και από 0,08-3,83% στη Ν. Ελλάδα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η παράνομη καλλιιεργούμενη κάνναβη στην Ελλάδα είναι καλής ποιότητας, με μια μικρή αύξηση στη Δ<sup>9</sup>-THC

στη Β. Ελλάδα. Η διαφορά αυτή ως προς την περιεκτικότητα σε  $\Delta^9$ -THC αποδίδεται στις συχνές βροχοπτώσεις που παρατηρούνται στη Β. Ελλάδα.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής υποστηρίζουν ότι η Ελλάδα θα μπορούσε να θεωρηθεί μία περιοχή "υψηλού κινδύνου" για την παράνομη καλλιέργεια φυτών καννάβας και ιδιαίτερα των φυτών "pedigree".

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- United Nations. Report of the International Narcotics Control Board for 1997. United Nations, New York (1998).
- United Nations. Special issue on cannabis. *Bulletin on Narcotics*, XXXVII, 4, 1-94 (1985).
- United Nations. International Drug Control Programme «Recommended methods for the detection and assay of heroin, cannabinoids, cocaine, amphetamine, methamphetamine and ring-substituted amphetamine derivatives in biological specimens». Manual for use by National Laboratories, United Nations, New York, 31-46 (1995).
- Pitts, J.E., O'Neil, P.J., Leggo, K.P., *J. Pharm. Pharmacol.*, 42: 817-820 (1990).
- Giroud, C., Rivier, L., *TIAFT Bulletin*, 26: 2, 30-34 (1996).
- United Nations. «Rapid testing methods of drugs of abuse. Manual for use by National Law Enforcement and Narcotics Laboratory Personnel». United Nations, New York (1994).
- Mechoulam, R. «Marijuana» (New York, Academic Press), 2:158 (1973).
- Nahas, G. «Symposium on Marijuana», Reims, France, 22-23 July. *Bulletin on Narcotics*, 30: 3, 23-32 (1978).
- Baker, P.B., Gough, T.A., Taylor B.J., *Bulletin on Narcotics* XXXII: 2, 31-40 (1980).
- Jaffe, J.H. «Drug addiction and drug abuse». In Goodman and Gilman's «The Pharmacological Basis of Therapeutics», Eighth Edition, 522-573, Pergamon Press (1990).
- Debruyne, D., Moulin, M., Bigot M.C., Camsonne R., *Bulletin on Narcotics* XXXIII, 2, 49-58 (1981).
- Avico, U., Pacifici, R., Zuccaro, P., *Bulletin on Narcotics*, 37:4, 61-66 (1985).
- De Meijer, E.P.M., van der Kamp, H.J., van Eeuwijk, F.A., *Euphytica*, 62: 187-200 (1992).
- Stefanidou, M., Loutsidis, C., Stiakakis, I., Bolino, G., Koutselinis A., *Jura Medica*, 1/2: 149-159 (1993).
- Reglement (CEE). «Reglement No 1164/89 de la commission du 28 avril 1989, relatif aux modalites concernant l' aide pour le lin textile et le chanvre» (1989).
- Debruyne, D., Albessard, F., Bigot, M.C., Moulin M., *Bulletin on Narcotics*, XLVI:2, 109-121 (1994).
- Fetterman, P.S., Keith, E.S., Waller, C.W., Guerrero O., Doorenbos, N.J., Quimby M.W., *J. Pharm. Sciences*, 60: 8, 1246-1249 (1971).
- Masoud, A.N., Doorenbos, N.J., *Journal of Pharmaceutical Sci.*, 62:313-315 (1973).
- Taylor, B.J., Neal, J.D., Gough, T.A., *Bulletin on Narcotics*, 37:4, 75-81 (1985).
- Pitts, J.E., Neal, J.D., Gough, T.A., *J. Pharm. Pharmacol.*, 44:947-951 (1992).
- Baker P.B., Fowler R., Bagon K.R., Gough T.A., *J. Anal. Toxicol.*, 4:145-152 (1980).
- Levine, J., *J. Amer. Chem. Soc.*, 66:1868 (1944).
- Pars, H.G., and Razdan, R.K., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 191:15-22 (1971).
- El Kheir, Y.M., Mohamed, M.I., Hakim, H. A., *Fitoterapia*, 57:4, 235-237 (1986).
- De Meijer, E.P.M., Bagatta, M., Carboni, A., et al., *Genetics*, 163:335-346 (2003).

## SUMMARY

The  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) content was identified and determined quantitatively using a Gas Chromatography with Mass Spectrometer Detector in samples of illicit herbal cannabis, coming from two different sites of Greece, North and South Greece. The samples were sent by law enforcement authorities to the Department of Forensic Medicine and Toxicology, University of Athens, for toxicological analysis. The concentrations of  $\Delta^9$ -THC in the samples of South Greece ranged from 0.08% to 3.83% and in the samples of North Greece they ranged from 0.24% to 4.41%. Since the typical concentrations of  $\Delta^9$ -THC in cannabis plants range from 0.50-5.0%, the good quality of greek cannabis suggests that Greece might be at high risk, as an area for the illicit cultivation of "pedigree" cannabis plants.

## ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΕΣ ΠΤΥΧΕΣ ΤΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΦΥΤΩΝ: ΠΑΡΑΓΩΓΗ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ-ΕΜΠΟΡΙΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ

Αρόπη Χρ<sup>3</sup>, Οικονόμου Γ<sup>1</sup>, Καλδής Π.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Γεωργίας

<sup>2</sup>Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Αγροτικής Πολιτικής και Συνεταιρισμών

<sup>3</sup>Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Αγροτικής Οικονομίας και Ανάπτυξης

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα γενετικά τροποποιημένα (γτ) φυτά έχουν αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της μεγάλης έμφασης που δίνεται τα τελευταία χρόνια από κυβερνήσεις, ερευνητικά ινστιτούτα, επιχειρήσεις και καταναλωτές ως προς την διάδοσή τους και τις εκτιμώμενες επιπτώσεις τους στον άνθρωπο και στο περιβάλλον. Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η παρουσίαση της υφιστάμενης κατάστασης στην αγορά του γτ αραβόσιτου και οι προοπτικές του, συγκριτικά με τις κυριότερες γτ καλλιέργειες.

Η παγκόσμια αγορά γτ σπόρων και οι συνολικές καλλιεργούμενες εκτάσεις παρουσιάζουν μια συνεχόμενη αυξητική τάση, ένα σημαντικό ποσοστό των οποίων καταλαμβάνει ο αραβόσιτος. Ιδιαίτερα για τις περιοχές που πλήττονται σε μεγάλο βαθμό από «ζιζάνια και ασθένειες», εισαγωγή γτ σπόρων αραβόσιτου μειώνει σημαντικά τις απώλειες αποδίδοντας οφέλη τόσο σε εκείνους που τους παράγουν, όσο και στις επιχειρήσεις εμπορίας τους.

Για τις γτ καλλιέργειες υπάρχουν διαφορούμενες απόψεις και σκεπτικισμός στην Ευρώπη όσον αφορά την ασφάλεια και την χρησιμότητα τους, ενώ από στην αμερικανική ήπειρο υιοθετήθηκαν πολύ γρήγορα. Μέχρι στιγμής, τα δεδομένα που αφορούν στην ελληνική πραγματικότητα δείχνουν ότι δεν καλλιεργούνται και ούτε καλλιεργήθηκαν ποτέ γτ φυτά σε εμπορική κλίμακα και ότι ανεστάλη ακόμη και ο πειραματισμός μετά την επιβολή του moratorium από την Ε.Ε. Η χρήση των γτ καλλιεργειών έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια και φαίνεται ότι εκεί που υιοθετήθηκε με ταχύτερους ρυθμούς η νέα αυτή τεχνολογία παράγει ουσιαστικά οικονομικά οφέλη. Διαπιστώνεται ότι αυτά προκύπτουν αφενός για τις επιχειρήσεις παραγωγής από την μείωση του κόστους των εισροών (αγροχημικά, ψεκασμοί, μηχανολογικός εξοπλισμός) και από τις αυξανόμενες δυνατότητες κερδοφορίας λόγω και της αύξησης των αποδόσεων, αφετέρου για τις επιχειρήσεις εμπορίας τόσο από την δυνατότητα πώλησης των γτ σπόρων σε σχετικά υψηλότερη τιμή από τους συμβατικούς σπόρους όσο και από την εμπορία του εξοπλισμού που συνοδεύει τις νέες τεχνολογίες. Ωστόσο, μελέτες που να αποδεικνύουν τις οικονομικές συνέπειες από τη χρήση των γτ καλλιεργειών στο τρίπτυχο επιχειρήσεις παραγωγής - εμπορίας - καταναλωτής δεν έχουν οδηγήσει μέχρι στιγμής σε ασφαλή συμπεράσματα. Όσον αφορά τον τελικό αποδέκτη της νέας αυτής τεχνολογίας, δηλαδή τον καταναλωτή, τα μέχρι στιγμής στοιχεία δεν μαρτυρούν την μείωση των τιμών των συγκεκριμένων προϊόντων, όπως θα αναμενόταν από την χρήση των γτ καλλιεργειών. Φαίνεται ότι με την απελευθέρωση των αγορών σε ευρωπαϊκό επίπεδο και την αποδοχή των γτ καλλιεργειών θα αυξηθούν τα εν δυνάμει οικονομικά οφέλη, τουλάχιστον σε επίπεδο παραγωγής και εμπορίας.

### 1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ

Για πολλούς αιώνες ο άνθρωπος συνεχώς επινοεί και χρησιμοποιεί νέους τρόπους για να παράγει επαρκή ποσότητα και υψηλότερης ποιότητας τροφή, καθώς και λοιπά μη εδώδιμα προϊόντα γεωργίας. Ωστόσο, η σύγχρονη επιστημονική έρευνα οδηγεί σε μια διαρθρωτική αλλαγή στη συμβατική γεωργική δραστηριότητα, με την ανακάλυψη και χρήση νέων μεθόδων αύξησης της παραγωγής προϊόντων, στη βάση της ορθολογιστικής χρήσης των περιορισμένων φυσικών πόρων.

Η συμβολή της βιοτεχνολογίας στην αλλαγή αυτή είναι σημαντική και αφορά τόσο την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων για τον άνθρωπο, όσο και την εξασφάλιση της προστασίας πολλών καλλιεργειών από εχθρούς και ασθένειες. Η γεωργική βιοτεχνολογία, η οποία μπορεί να θεωρηθεί ως επέκταση της παραδοσιακής βελτίωσης των φυτών, μέσω της γενετικής μηχανικής, προσφέρει εναλλακτικούς τρόπους ώστε να παραχθούν γεωργικά προϊόντα με επιθυμητές ιδιότητες.

Η γενετική μηχανική, που αποτελεί επιστημονικό επίτευγμα των τελευταίων δεκαετιών, εφαρμόζεται ως καινοτομική παραγωγική τεχνολογία τις δυο τελευταίες δεκαετίες. Ξεκίνησε να εφαρμόζεται πρώτα σε

απλούς μικροοργανισμούς, όπως οι ανθρώπινες πρωτεΐνες, για να προχωρήσει σε πολυπλοκότερους όπως είναι τα φυτά. Η γενετική τροποποίηση (γτ) συνιστά μια τεράστια παραγωγική δυνατότητα και πρόκληση, η οποία ωστόσο θα πρέπει να οριοθετείται, να σχεδιάζεται και να εφαρμόζεται προσεκτικά, όπως και να ελέγχεται με γνώμονα τις πραγματικές προτεραιότητες και ανάγκες της οικονομίας και της κοινωνίας.

Η καλλιέργεια των γτ φυτών υιοθετήθηκε αρκετά γρήγορα από τους παραγωγούς παγκοσμίως, ιδίως σε αναπτυσσόμενες χώρες εξαιτίας των προβαλλομένων δελεαστικών οικονομικών ωφελειών (5). Ακόμη, οι πολυεθνικές επιχειρήσεις βιοτεχνολογίας, που έχουν επενδύσει σημαντικά ποσά και ερευνητική προσπάθεια στη νέα αυτή τεχνολογία, αναμένουν και αυτές από την πλευρά τους οικονομικά οφέλη. Τα εντοπωσιακά παραγωγικά αποτελέσματα της βιοτεχνολογίας και ο γρήγορος ρυθμός ανάπτυξης των εφαρμογών της, ωστόσο, δημιουργούν πολλές ανησυχίες και προβληματισμούς στον τελικό αποδέκτη των προϊόντων, τον καταναλωτή. Όλα σχετίζονται με τις ενδεχόμενες επιπτώσεις τόσο στη τροφική αλυσίδα, όσο και στο περιβάλλον.

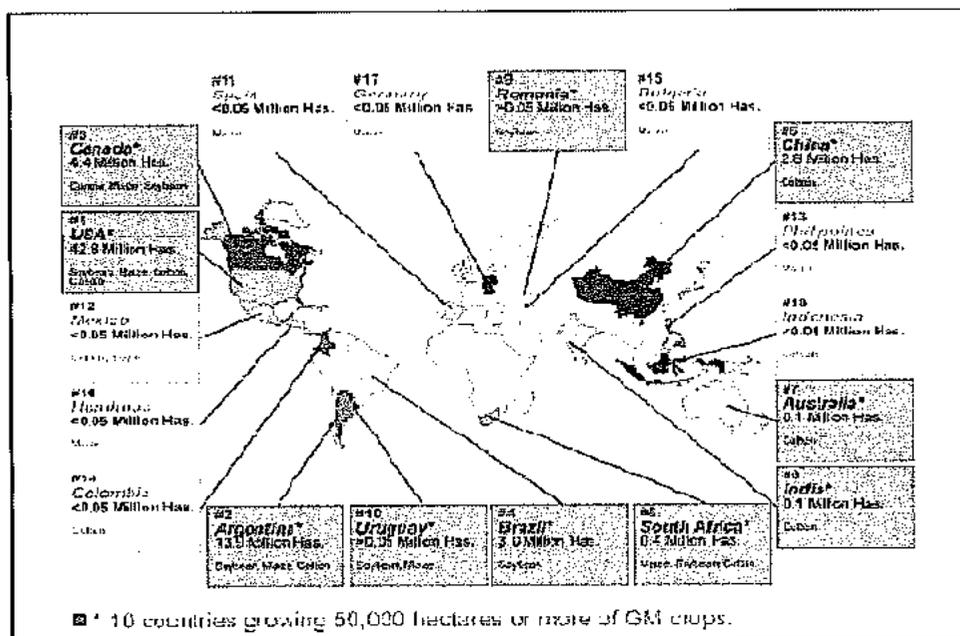
Τα σημαντικότερα εμπορικά χρησιμοποιούμενα φυτά, που έχουν υποστεί γτ, είναι η σόγια, ο αραβόσιτος, το βαμβάκι και η ελαιοκράμβη. Οι περισσότερες γτ αφορούν ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα, προστασία από έντομα και συνδυασμό ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα και έντομα.

Τα γτ φυτά άρχισαν να καλλιεργούνται σε εμπορική κλίμακα το 1996 καταλαμβάνοντας 17 εκ. στρέμματα σε 6 χώρες σε όλο τον κόσμο. Μέχρι τότε, οι καλλιέργειες αφορούσαν πειραματικές προσπάθειες. Από το 1996 και μετά οι εκτάσεις με γτ καλλιέργειες αυξήθηκαν, με ταχύτατους ρυθμούς, και έφτασαν το 2001 σε περίπου 500 εκ. στρέμματα.

Οι ΗΠΑ καταλαμβάνουν την πρώτη θέση στις καλλιεργούμενες εκτάσεις (70%) και ακολουθούν η Αργεντινή με 14% και ο Καναδάς με περισσότερο από 9% (1). Στην Ευρώπη, η Ισπανία είναι από τις κυριότερες χώρες, που καλλιεργούν εμπορικά γτ φυτά, με κυρίαρχο το Β1 αραβόσιτο (αραβόσιτος με ανθεκτικότητα στις προσβολές εντόμων), ο οποίος καταλάμβανε το 2001 περίπου 300 χιλ. στρέμματα. Ακολουθούν η Γαλλία με 340 χιλ. στρέμματα και η Γερμανία με 3-4 χιλ. στρέμματα, που αφορούν κυρίως αραβόσιτο.

Το 2003, σε παγκόσμια κλίμακα, καλλιεργούνταν 680 εκ. στρέμματα, από 7 εκ. παραγωγούς σε 18 χώρες (7 οικονομικά αναπτυγμένες και 11 αναπτυσσόμενες) (ABE 2003). Για την ίδια περίοδο, διαπιστώνεται ότι, ο αραβόσιτος έρχεται δεύτερος (μετά τη σόγια) σε καλλιεργούμενες εκτάσεις καταλαμβάνοντας 155 εκ. στρέμματα, που αφορούν κυρίως γτ για ανθεκτικότητα στα έντομα και δευτερευόντως για ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα. Στο Διάγραμμα 1 εμφανίζονται οι χώρες που καλλιέργησαν γτ φυτά το 2003.

**Διάγραμμα 1:** Καλλιέργεια Γενετικά Τροποποιημένων Φυτών, Έτος 2003

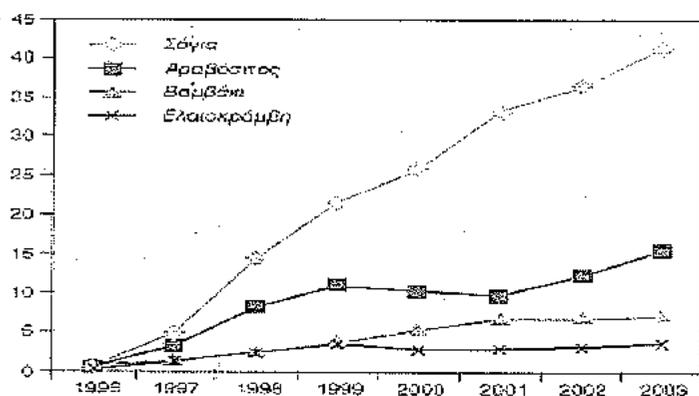


Πηγή: International Service For The Acquisition of Agri-Biotech Applications (ISAAA)

## 2. Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ ΒΤ ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΥ

Γτ αραβόσιτος πρωτοεμφανίστηκε εμπορικά το 1996 στη Β. Αμερική, με τις ΗΠΑ να κυριαρχούν. Η καλλιέργεια του γτ αραβόσιτου καταλάμβανε το 1% της συνολικής παραγωγής στη ζώνη αραβόσιτου των ΗΠΑ, φτάνοντας τα 3.8 εκ. εκτάρια το 2003 στην περίπτωση του Βt, αλλά και αραβόσιτο ανθεκτικό στα ζιζανιοκτόνα. Για τον Καναδά το αντίστοιχο ποσοστό της συνολικής παραγωγής ήταν μόλις 0,1%. Το 1999, ο γτ αραβόσιτος καταλάμβανε το 27% της συνολικής παραγωγής, ποσοστό που αντιπροσωπεύει το 8% της παραγωγής του αραβόσιτου και το 28% στις χώρες, που παράγουν γτ αραβόσιτο. Εκτός των ΗΠΑ, γτ αραβόσιτο καλλιεργούν η Ισπανία, η Γαλλία και η Πορτογαλία. Τα 8 εκ. εκτάρια αφορούν Βt αραβόσιτο, 2 εκ. εκτάρια αραβόσιτο με ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα και 2 εκ. εκτάρια αραβόσιτο, που περιέχει και τα 2 γονίδια (1). Στη Ν. Αφρική, υπήρξε σημαντική αύξηση στα γτ και κυρίως στο λευκό αραβόσιτο, που χρησιμοποιείται για ανθρώπινη διατροφή, όπου από 6.000 εκτάρια το 2001, έφτασε τα 84.000 εκτάρια το 2003. Στο Διάγραμμα 2, φαίνεται η διαχρονική εξέλιξη της καλλιεργούμενης έκτασης των κυριότερων γτ φυτών σε παγκόσμιο επίπεδο, την περίοδο 1996-2003.

**Διάγραμμα 2:** Η Καλλιεργούμενη Έκταση των Κυριότερων Γενετικά Τροποποιημένων Φυτών σε Παγκόσμια Κλίμακα, Περίοδος 1996-2003



Πηγή : Επεξεργασία στοιχείων, «Γεωργία και Κτηνοτροφία», τεύχος 2/2004, σελ.25

Σήμερα, είναι διαθέσιμα στη διεθνή αγορά από αμερικανικών συμφερόντων, κυρίως, οίκους γτ υβρίδια αραβόσιτου με τα εξής χαρακτηριστικά:

- I. Υβρίδια με ανθεκτικότητα στο μη εκλεκτικό ζιζανιοκτόνο glyphosate (Round Up)
- II. Υβρίδια με ανθεκτικότητα στο μη εκλεκτικό ζιζανιοκτόνο glyphosate (Basta)
- III. Υβρίδια με ανθεκτικότητα στην πυραλίδα ή και άλλα λεπιδόπτερα (γνωστά ως Βt επειδή έχουν ενσωματωμένα γονίδια του βακτηρίου *Bacillus thuringiensis*)
- IV. Υβρίδια με συνδυασμένη ανθεκτικότητα στα λεπιδόπτερα και στο glyphosate
- V. Υβρίδια με συνδυασμένη ανθεκτικότητα στα λεπιδόπτερα και στο glyphosate
- VI. Υβρίδια με ανθεκτικότητα στο ριζοφάγο κολεόπτερο *Diabrotica spp.* (επίσης Βt).

Η καλλιέργεια γτ υβριδίων αραβόσιτου παρουσιάζει συνεχή αυξητική τάση τα έτη 2002 και 2003, μετά από στασιμότητα το 2000. Ακόμη, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται επέκταση στη γτ αραβόσιτου με ανθεκτικότητα στα έντομα. Μετά τις ΗΠΑ, που είναι η κυρίαρχη χώρα στην καλλιέργεια των γτ υβριδίων αραβόσιτου, ακολουθούν η Αργεντινή, ο Καναδάς, η Ν. Αφρική, η Ισπανία, η Βουλγαρία, η Ουρουγουάη, οι Φιλιππίνες και η Ονδούρα.

Στην ΕΕ, η Ισπανία είναι η τρίτη χώρα παραγωγής αραβόσιτου μετά τη Γαλλία και την Ιταλία με παραγωγή περίπου 11% του συνόλου της ΕΕ, για την περίοδο 2001. Επισημαίνεται ότι, σε διάφορες περιοχές της συγκεκριμένης χώρας, η καλλιέργεια αραβόσιτου είχε απώλειες στις αποδόσεις της παραγωγής εξαιτίας προσβολών από έντομα, όπως η πυραλίδα (*Sesamia nonagrioides*). Η εξειδικευμένη καταπολέμηση είναι αρκετά δύσκολη και οι ψεκασμοί με εντομοκτόνα γίνονται σε περιορισμένο βαθμό, λόγω της σχετικά μικρής

περιόδου, που μπορούν να είναι αποτελεσματικοί. Εκτιμάται ότι, σε όλη τη χώρα, η μέση απώλεια των αποδόσεων κυμαίνεται μεταξύ 5-10%.

Η Ισπανία είναι η πρώτη χώρα, που υιοθέτησε το γτ αραβόσιτο στην ΕΕ αποσκοπώντας στον προσπορισμό των αναμενόμενων ωφελειών. Σύμφωνα με μια έρευνα, που πραγματοποιήθηκε (6) στην επαρχία της Huesca, μια περιοχή που έχει έντονο το πρόβλημα της προσβολής από την πυραλίδα, παρατηρήθηκαν τα εξής:

- I. Οι αγρότες αγόρασαν γτ σπόρους αραβόσιτου σε υψηλή τιμή σε σχέση με τους συμβατικούς σπόρους, περίπου 1,8-1,9 € το στρέμμα.
- II. Το υψηλό κόστος αντισταθμίστηκε από την αύξηση των αποδόσεων. Είτε ψεκάζουν, είτε όχι, για την καταπολέμηση των παρασίτων, η αύξηση των αποδόσεων είναι κατά μέσο όρο 6,5% σε ολόκληρη την περιοχή, ενώ για τις περιοχές, που μαστίζονται περισσότερο, η αύξηση των αποδόσεων είναι περίπου 15%.
- III. Η μέση απόδοση από 1,25 τον./στρέμμα για το συμβατικό αραβόσιτο φτάνει έως 1,33 τον./στρέμμα για το Βt αραβόσιτο, δηλαδή μια καθαρή αύξηση 80 κιλά το στρέμμα.

Τέλος, προβλέπεται μια μέση αύξηση της τάξης περίπου 35% της συνολικής καλλιέργειας για τα επόμενα χρόνια με το Βt αραβόσιτο να καταλαμβάνει 17.300 στρέμματα.

### 3. Ο ΚΛΑΔΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Όπως ειρώθηκε, φαίνεται ότι οι παραγωγοί υιοθετούν γρήγορα τη νέα βιοτεχνολογική πρόοδο. Το γεγονός αυτό δημιουργεί ερωτήματα για τα κίνητρα τους.

Αρχικά, φαίνεται ότι, για όλους τους παραγωγούς η διαχείριση της γτ καλλιέργειας να είναι πιο εύκολη από τη συμβατική. Ειδικά για τις καλλιέργειες με ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα, το πλεονέκτημα προκύπτει από τον αποτελεσματικότερο έλεγχο των ζιζανίων. Είναι γνωστό ότι, μια καλλιέργεια μη ανθεκτική στα ζιζανιοκτόνα, απαιτεί εφαρμογή πολλών προ- και μετά-φυτρωτικών ζιζανιοκτόνων (3). Έτσι, για τις περιοχές, που βρίθουν ζιζανίων, είναι δυνατό να γίνει σημαντική εξοικονόμηση από το κόστος ζιζανιοκτονίας.

Ένα δεύτερο όφελος, που προκύπτει, όπως φαίνεται και από την περίπτωση της Ισπανίας, είναι η αύξηση των αποδόσεων. Ιδιαίτερα για καλλιέργειες ανθεκτικές στα έντομα, η δυνατότητα αύξησης των αποδόσεων είναι το βασικότερο κίνητρο για την καλλιέργεια τους. Συγκεκριμένα, στη ζώνη αραβόσιτου των ΗΠΑ, ο Βt αραβόσιτος προκάλεσε μέση αύξηση των αποδόσεων κατά 2,67 μπιούσελ το στρέμμα, επιφέροντας μέση αύξηση των καθαρών κερδών κατά 14,84 δολάρια ΗΠΑ το στρέμμα. Επιπλέον, φυτά ανθεκτικά στις ασθένειες, φαίνεται να είχαν πολύ σημαντικά οφέλη για τους παραγωγούς με μικρό κλήρο στις αναπτυσσόμενες χώρες.

Παραδείγματα γτ καλλιεργειών που δείχνουν τα οικονομικά οφέλη για τον παραγωγό είναι η γτ πατάτα με ανθεκτικότητα στους ιούς, στη περιοχή του Μεξικού, προβλέφθηκε αύξηση κατά 1,45 τόνους το στρέμμα (=140% αύξηση καθαρού κέρδους) και το Βt βαμβάκι, όπου στις ΗΠΑ την περίοδο 1996-1999 από την μειωμένη χρήση φυτοφαρμάκων οι στρεμματικές αποδόσεις αυξήθηκαν 7% (6). Κατά αυτό τον τρόπο, οι μειωμένοι ψεκασμοί απαιτούν λιγότερη χρήση των ψεκαστικών ελκυστήρων και κατά συνέπεια μείωση του κόστους των εργατικών αλλά και των καυσίμων.

### 4. Ο ΚΛΑΔΟΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΕΜΠΟΡΙΑΣ

Οι πολυεθνικές επιχειρήσεις αμερικανικών και ευρωπαϊκών συμφερόντων, που κυριαρχούσαν στην παραγωγή αγροχημικών, τις πρόσφατες δεκαετίες, έχουν στραφεί προς την εμπορευματοποίηση των γτ προϊόντων.

Έτσι, πραγματοποίησαν πολύ σημαντικές επενδύσεις στην έρευνα και την εμπορική ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας. Για να εδραιώσουν την εμπορική τους θέση και τα μερίδια αγοράς, που κατέχουν, σε παγκόσμιο επίπεδο, έχουν προχωρήσει σε σειρά επιχειρηματικών δραστηριοτήτων. Αυτές αφορούν, κατά βάση, συγχωνεύσεις, τόσο στον τομέα παραγωγής σπόρων αλλά και της διανομής τους, ώστε να μπορούν να διαθέτουν ένα αποτελεσματικό εμπορικό δίκτυο τοποθέτησης των προϊόντων τους, αλλά και ελέγχου των ανταγωνιστών τους. Μόνο, όμως, τα τελευταία χρόνια είχαν κερδοφορία με την προώθηση των γτ προϊόντων.

Οι γτ σπόροι αφορούν τόσο την ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα όσο και στα έντομα. Μια καλλιέργεια ανθεκτική σε ένα ζιζανιοκτόνο επιτρέπει την χρήση του εν λόγω ζιζανιοκτόνου για την αντιμετώπιση των ζιζανίων, χωρίς το καλλιεργούμενο φυτό να κινδυνεύει από την δράση του. Με αυτό τον τρόπο η εταιρεία προωθεί την παραγωγή φυτών ανθεκτικών στο δικό της ζιζανιοκτόνο και εμπορεύεται τόσο τους σπόρους, όσο και το συγκεκριμένο ζιζανιοκτόνο.

Συμπερασματικά, διαπιστώνεται ότι, για τις πολυεθνικές επιχειρήσεις αγροχημικών, οι διαμορφούμενες νέες παραγωγικές δυνατότητες αποτελούν μεγάλη πρόκληση, αφού διακινούν τα ζιζανιοκτόνα, ενώ ταυτόχρονα διεισδύουν στη νέα αγορά των γτ σπόρων (4).

## 5. Η ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ

Από τα μέχρι σήμερα διαθέσιμα δεδομένα, διακρίνεται μια σαφής διαφοροποίηση μεταξύ των καταναλωτών στην Αμερική και στην ΕΕ.

Έτσι, στην αμερικανική αγορά, οι νέες ποικιλίες γτ φυτών αποδείχτηκαν αρκετά επιτυχείς, όχι, όμως, και στην ΕΕ. Ακόμη, μετά από σειρά ερευνών φαίνεται ότι, οι καταναλωτές στις ΗΠΑ εμπιστεύονται τις κυβερνήσεις (κεντρική και πολιτειακές), τα πανεπιστήμια και τα ερευνητικά ιδρύματα τους και για αυτό τον λόγο δείχνουν να μην έχουν λόγους ανασφάλειας από την κατανάλωση γτ προϊόντων.

Σε αντίθεση, με τα παραπάνω, ο ευρωπαίος καταναλωτής δε δείχνει να εμπιστεύεται τους αρμόδιους φορείς, τόσο πολιτειακούς, όσο και επιστημονικούς και φαίνεται να έχει μια δυσπιστία σχετικά με το αν θα πρέπει ή όχι να καταναλώσει γτ τρόφιμα, ιδιαίτερα μετά από τις διατροφικές κρίσεις («νόσος των τρελών αγελάδων», διοξίνες κτλ.). Οι καταναλωτές στην ΕΕ θεωρούν ότι, δεν είναι επαρκώς ενημερωμένοι για τα γτ προϊόντα και για τη δράση και τις επιπτώσεις της βιοτεχνολογίας με αποτέλεσμα να έχουν μια αρνητική στάση απέναντι τους. Ωστόσο, μερικές έρευνες (7) διαπιστώνουν το ότι μειώνεται ο βαθμός ανησυχίας για την ασφάλεια χρήσης των γτ οργανισμών, ενώ παράλληλα αυξάνεται η ανάγκη υπεύθυνης ενημέρωσης, έτσι ώστε οι καταναλωτές να έχουν το δικαίωμα επιλογής (7,5).

Όσον αφορά το προσδοκώμενο οικονομικό όφελος από τη χρήση των γτ γεωργικών προϊόντων, που θα μπορούσαν να αποκομίσουν οι καταναλωτές, αυτό θα ήταν η μείωση των τιμών στα τελικά προϊόντα των ραφιών στα σούπερμάρκετς. Δεν έχουν βρεθεί, όμως, στοιχεία, που να υποδηλώνουν άμεση μείωση στις τιμές των γεωργικών προϊόντων ως αποτέλεσμα της χρήσης των γτ ποικιλιών. Πάντως, δεδομένου ότι η σόγια και ο αραβόσιτος είναι πρώτες ύλες που ευρέως χρησιμοποιούνται και ενσωματώνονται σε ποικίλα προϊόντα δεν είναι δυνατόν να υπάρξει ένα και μόνο προϊόν στο οποίο ο καταναλωτής να διαπιστώσει σημαντική μείωση των τιμών. Παρά ταύτα, εκτιμάται ότι η αυξημένη παραγωγικότητα μπορεί τελικά να μειώσει και τις τελικές τιμές. Για παράδειγμα, υπολογίζεται για το έτος 1999 ότι υπήρξε μια μείωση 0,9% στις τιμές της σόγιας, λόγω των γτ ποικιλιών και ένα καθαρό όφελος για τον καταναλωτή 318 εκατομμυρίων δολαρίων ΗΠΑ, όφελος που αναμένεται να αυξηθεί τα επόμενα χρόνια.

Η ευμενής αποδοχή των γτ προϊόντων από τους καταναλωτές είναι το τελικό κριτήριο με το οποίο μπορεί να εκτιμηθεί η οικονομική επιτυχία. Γι' αυτό η παροχή ολοκληρωμένης και ακριβούς πληροφόρησης στους καταναλωτές είναι πολύ σημαντική.

## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα προηγούμενα, ως συμπεράσματα, μπορούν να αναφερθούν τα εξής:

- Διεθνώς υπάρχει μια συνεχώς αυξανόμενη τάση των καλλιεργούμενων εκτάσεων των γτ ποικιλιών, που υπογραμμίζει την υιοθέτηση της νέας γεωργικής βιοτεχνολογίας και η οποία δείχνει τα οικονομικά οφέλη που διαπιστώνουν οι παραγωγοί.
- Για τις περιοχές, που μαστίζονται από τα ζιζάνια και τους εντομολογικούς εχθρούς, η καλλιέργεια με γτ ποικιλίες δίνει λύση και οδηγεί σε αύξηση των αποδόσεων και μείωση του κόστους εισροών αυξάνοντας με αυτό τον τρόπο τη δυνατότητα κερδοφορίας.
- Οικονομικά οφέλη, παρόμοια με εκείνα της περίπτωσης της Ισπανίας, μπορεί να είναι διαθέσιμα και σε άλλους Ευρωπαίους παραγωγούς, εφόσον τα κατάλληλα γτ φυτά θα παράγονται ελεύθερα στην ΕΕ.
- Οι πολυεθνικές επιχειρήσεις εμπορικής εκμετάλλευσης γτ φυτών έχουν τη δυνατότητα να εδραιώσουν την κυριαρχία τους στην αγορά των αναπτυσσόμενων χωρών, που θεωρείται ως μια πολλά υποσχόμενη αγορά.
- Τα πραγματικά οικονομικά οφέλη δε διαπιστώνονται στην περίπτωση της κατανάλωσης μέχρι στιγμής, αλλά ενδέχεται να υπάρξουν στο απώτερο μέλλον.
- Όσο οι πληροφορίες, που αφορούν που αφορούν τη βιοτεχνολογία, γίνονται πιο προσιτές και τα πραγματικά αποτελέσματα πιο κατανοητά, τόσο αυξάνεται ο βαθμός αποδοχής των γτ γεωργικών προϊόντων από τους καταναλωτές, άσχετα με το αν παρατηρείται ή όχι μείωση στην τιμή τους.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Commission of the European Communities, (2000), Economic Impacts of Genetically Modified Crops on the Agri-food Sector, A First Review.
- Lheureux, K., et al. (2003) Review of GMOs Under Research and Development and in the Pipeline in Europe, "European Science and Technology Observatory".
- Γεωργία και Κτηνοτροφία (2004) Τεύχος 4, σελ 59-61.
- Μπεόπουλος, Ν. (2001), Οι Νέες Βιοτεχνολογίες στη Γεωργία: Προκλήσεις και Ερωτήματα, «Τριπτόλεμος», Τεύχος 12, 01 σελ 6-18.
- Agricultural Biotechnology in Europe, (ABE ), (2002) Τεύχη 1-5, (www.ABEurope.info).
- Brookes, G. (2002), The Farm Level Impact of using Bt Maize in Spain.
- Κρυστάλλης, Α. και Χρυσοχοϊδης, Γ. (2004) Γενετικά Τροποποιημένα Τρόφιμα (Καταναλωτής, Οικονομία, Περιβάλλον).
- Καλδής Π. και Τσόγκας Μ. (1997) Οικονομική Διάσταση της Βιοτεχνολογίας (Υποδομές, Επενδύσεις, Μάρκετινγκ). Πρακτικά Ημερίδας: Γεωργική Βιοτεχνολογία, Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, Αθήνα, σελ 38-44.
- Clive J. (2003), Global Status of Commercialized Trasgenic Crops.

## ABSTRACT

The genetically modified (gm) plants have acquired particular interest because the big accent that is given the last years from governments, inquiring institutes, enterprises and consumers as for their distribution and their appreciated repercussions in the person and in the environment. Aim of this work is the presentation of existing situation in the market of gm maize and his prospects, comparatively with the mainer gm cultures.

The world market of gm seeds and the total cultivated extents present a possessed augmentative tendency, a important percentage of which occupies the maize. Particularly for the regions that are affected to a large extent by weeds and illnesses, import of gm seeds of maize decreases considerably the losses attributing profits so much in those that them produce, what in their enterprises of marketing.

For the gm cultures exist ambiguous opinions and scepticism in Europe with regard to the safety and their usefulness, while from in the American continent they were adopted very fast. Up to moment, data that concern in the Greek reality show that are also not cultivated neither were cultivated never gm plants in commercial scale and that was suspended even the experimentation afterwards the imposition moratorium by the E.E. The use of gm cultures has increased the last years and it appears that there that was adopted with more rapid rythms this new technology produces substantially economic profits. It is realised that these result on one side for the enterprises of production from the reduction of cost of surges (agrochemically, sprayings, mechanical equipment) and from the increasing possibilities of profitability because and the increase of output, on the other side, for the enterprises of marketing so much from the possibility of sale of gm seeds in relatively higher price than the conventional seeds what from the marketing of equipment that accompanies the new technologies. However, studies that would prove the economic consequences from the use of gm cultures in tripartite enterprises of production of - marketing - consumer have not led up to moment to sure conclusions. With regard to the final recipient of this new technology, that is to say the consumer, the up to moment elements do not testify the reduction of prices of particular products, as it would be expected by the use of gm cultures. It appears that with the release of markets in European level and the acceptance of gm cultures will be increased the potential economic profits, at least in level of production and marketing.

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ, ΑΝΑΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ  
ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟ *FUSARIUM OXYSPORUM* ΤΗΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ *CUCURBITA* SP.  
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΤΡΑΠΕΖΑΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ.**

**A. Αναστασιάδου<sup>1</sup>, Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>1</sup>, Αικ. Τράκα-Μαυρωνά<sup>2</sup>, Κ. Κλωνάρη-Τζαβέλα<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών, Α.Π.Θ., 54 124, Θεσ/νίκη.

<sup>2</sup>ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας-Θράκης, 57 001, Θέρμη.

<sup>3</sup>Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Α.Π.Θ. 54 124, Θεσ/νίκη.

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η περιγραφή, ο αναπολλαπλασιασμός και η αξιολόγηση της ανθεκτικότητας σε δύο φυλές του μύκητα *Fusarium oxysporum* της Συλλογής *Cucurbita* spp. της Ελληνικής Τράπεζας Γενετικού Υλικού (Τ.Γ.Υ.). Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο αγρόκτημα του Α.Π.Θ., την άνοιξη και το θέρος του 2003. Χρησιμοποιήθηκαν 21 εγχώριες ποικιλίες κολοκυθιάς που αποτελούν μέρος της Ενεργού Συλλογής του 1999 της Τ.Γ.Υ. Η περιγραφή των ποικιλιών έγινε με βάση τη Διεθνή Ένωση Προστασίας Νέων Ποικιλιών (UPOV). Συνολικά μελετήθηκαν 39 χαρακτηριστικά. Ο αναπολλαπλασιασμός έγινε με αυτογονιμοποιήσεις εντός κάθε ποικιλίας. Η αξιολόγηση της ανθεκτικότητας πραγματοποιήθηκε *in-planta* και συγκεκριμένα στις φυλές του μύκητα *F.oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* και *F.oxysporum* f.sp. *melonis*. Μάρτυρας ήταν η εγχώρια ποικιλία πεπονιού «Θρακιώτικο», η οποία είναι ευπαθής στους δύο μύκητες. Το μεγαλύτερο ποσοστό των φυτών που μολύνθηκαν παρουσίασε ανθεκτικότητα (57,5% των ποικιλιών στο *F.oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* και το 84,6% των ποικιλιών στο *F.oxysporum* f.sp. *melonis*). Με βάση τα χαρακτηριστικά κατά UPOV και επιπρόσθετα χαρακτηριστικά του καρπού, πραγματοποιήθηκε πολυμεταβλητή ανάλυση ομάδων, η οποία κατέταξε τα υλικά σε ομάδες και υποομάδες. Όλες οι ποικιλίες *Cucurbita* spp. ταξινομήθηκαν σε δύο ομάδες, εντός των οποίων διαχωρίστηκαν τρεις υποομάδες των *C. maxima* Dush., *C. moschata* Dush και *C. pepo* L. Απομακρυσμένες γενετικά βρέθηκε δύο ποικιλίες της Συλλογής.

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Τα φυτικά είδη που υπάρχουν σήμερα στη φύση ανέρχονται σε 265.000 ή ίσως σε 300.000 (Σφακιανάκης 2002). Από τα είδη αυτά χρησιμοποιούνται περίπου 7.000, από τα οποία μόνο 20 είδη δίνουν το 80% των τροφίμων, ενώ τρία (σιτάρι - ρύζι - καλαμπόκι) καλύπτουν το 60% των αναγκών του ανθρώπου σε θερμίδες και πρωτεΐνες (Σφακιανάκης 2002). Σε κάθε είδος υπάρχει μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα, με πλήθος αγρίων ή καλλιεργούμενων ποικιλιών στις περιοχές καταγωγής του είδους. Η μεταφορά των ειδών σε άλλες περιοχές από τον τόπο καταγωγής, δημιούργησε νέους τύπους. Όλο αυτό το γενετικό υλικό αποτέλεσε την αρχική πηγή επιλογής για καλλιέργεια των περισσότερο προσαρμοσμένων ποικιλιών σε κάθε περιοχή. Αποτέλεσμα της καλλιέργειας μικρού αριθμού ποικιλιών με τα επιθυμητά γνωρίσματα σε κάθε περιοχή ήταν η σταδιακή εξαφάνιση πολλών ποικιλιών που δεν μπορούσαν να διατηρηθούν σε άγρια κατάσταση. Η εξαφάνιση των μη καλλιεργούμενων ποικιλιών επιταχύνθηκε με τη δημιουργία βελτιωμένων ποικιλιών, που επικράτησαν σε μεγάλες εκτάσεις και σε πολλές περιοχές, μερικές δε ακόμη και σε παγκόσμια κλίμακα. Αυτή η γενετική διάβρωση οδηγεί στην απώλεια γνωρισμάτων, που έχουν ενσωματωθεί στις μη καλλιεργούμενες ποικιλίες με τη μακροχρόνια φυσική επιλογή και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη μεταφορά των γνωρισμάτων αυτών σε καλλιεργούμενα είδη. Η παγκόσμια συλλογή και αξιολόγηση γενετικού υλικού, παράλληλα με τη δυνατότητα εύκολης πρόσβασης και χρησιμοποίησης γενετικού υλικού από όλες τις χώρες, αυξάνει την πιθανότητα δημιουργίας περισσότερων βελτιωμένων ποικιλιών.

Η οικογένεια *Cucurbitaceae* είναι μια από τις οικογένειες του φυτικού βασιλείου που εμφανίζει αξιοσημείωτα μεγάλη γενετική ποικιλομορφία. Περιλαμβάνει 118 γένη και περίπου 825 είδη (Jeffrey 1990), επτά εκ των οποίων καλλιεργούνται συστηματικά σε ολόκληρο τον κόσμο, συμμετέχοντας σημαντικά στο εισόδημα του παραγωγού. Αξιολογώντας προσεκτικά κάποια από τα μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των φυτών της οικογένειας, όπως την ταχεία και μη καθορισμένη βλαστική τους ανάπτυξη, την πλαστικότητα στην ανάπτυξη ως αντίδραση στις περιβαλλοντικές συνθήκες (ειδικότερα όσον αφορά το χαρακτηριστικό της έκφρασης του φύλου), και τη γενετική ποικιλότητα στο χρωμοσωμικό και γονιδιακό επίπεδο, συμπεραίνεται

ότι η οικογένεια *Cucurbitaceae* αποτελεί μια από τις αρχαιότερες εξελικτικά οικογένειες του φυτικού βασιλείου (Robinson και Decker-Walter 1997). Τα είδη της οικογένειας αυτής διαθέτουν γονίδια που τους εξασφαλίζουν ικανοποιητική ανθεκτικότητα σε εχθρούς και ασθένειες. Οι φουζαριώσεις προσβάλλουν σε μεγάλο βαθμό τα κολοκυνθοειδή, όπως είναι το αγγούρι (*Cucumis sativus* L.), το πεπόνι (*Cucumis melo* L.), το καρπούζι (*Citrullus lanatus* Thunb.) και τα θερινό κολοκύθι (*Cucurbita pepo* L.). Οι φυλές του μύκητα που προσβάλλουν αυτή την οικογένεια λαχανοκομικών, είτε ειδικεύονται στην προσβολή ενός μόνο ξενιστή είτε περισσότερων. Ωστόσο μερικοί από τους ξενιστές παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στις μολύνσεις με το μύκητα. Τα χειμερινά κολοκύθια *Cucurbita maxima* Duch και *C. moschata* Duch αποδείχτηκε ότι είναι ανθεκτικά στο *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* και πιο συγκεκριμένα στις φυλές 1 και 2 του μύκητα (Trionfetti-Nisini κ.α. 2002, Koutsika-Sotiriou κ.α. 2004).

Σκοπός της παρούσας αυτής εργασίας ήταν (1) ο αναπολλαπλασιασμός και η διατήρηση της Συλλογής *Cucurbita* spp. της Ελληνικής Τράπεζας Γενετικού Υλικού (Τ.Γ.Υ.), (2) η περιγραφή μορφολογικών και φυσιολογικών χαρακτηριστικών που βοηθούν στη διακριτικότητα των γενετικών υλικών, και (3) η αξιολόγηση της ανθεκτικότητας στις φυλές του μύκητα *F.oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* και *F.oxysporum* f.sp. *melonis*. Η ύπαρξη ανθεκτικότητας σε βιοτικούς παράγοντες στις περισσότερες ποικιλίες είναι ένα πολύ σημαντικό βήμα προς την κατεύθυνση της αειφορικής γεωργίας.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

**Πείραμα στον αγρό.** Πραγματοποιήθηκε στο Αγρόκτημα του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης και στο Εργαστήριο Κηπευτικών του Εθνικού Ιδρύματος Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε) την άνοιξη και το θέρος του 2003. Χρησιμοποιήθηκε σπόρος από 19 διαφορετικά γενετικά υλικά που ανήκαν στη Συλλογή *Cucurbita* spp. της Τ.Γ.Υ. Η συλλογή είχε πραγματοποιηθεί με τη συγκέντρωση σπόρων από διάφορα μέρη της Ελλάδας το 1999. Επιπλέον, συμπεριλήφθηκαν δύο γενετικά υλικά, που ήταν προϊόντα βελτιωτικής έρευνας του ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε και του Εργαστηρίου Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών του Α.Π.Θ. με τους κωδικούς P20 και P21. Η σπορά των γενετικών υλικών έγινε σε ατομικές σποροθήκες. Η φύτευση πραγματοποιήθηκε σε θάλαμο ανάπτυξης (θερμοκρασία 20-25°C, φωτοπερίοδος 15 φωτώρες). Μετά την ολοκλήρωση της φύτευσης τα νεαρά σπορόφυτα μεταφέρθηκαν σε θερμοκήπιο. Για την εγκατάσταση των φυτών στον αγρό χρησιμοποιήθηκε αγροτεμάχιο έκτασης 400m<sup>2</sup> του Α.Π.Θ. Από κάθε γενετικό υλικό φυτεύτηκαν πέντε φυτά.

Στις 26/05/2003 παρατηρήθηκαν τα πρώτα αρσενικά άνθη και στις 11/06/2003 εμφανίστηκαν τα πρώτα θηλυκά άνθη. Αμέσως άρχισαν οι επεμβάσεις αυτογονιμοποίησης αυστηρά εντός του κάθε γενετικού υλικού. Με την εμφάνιση του πρώτου θηλυκού άνθους ξεκίνησε και η μέτρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών κάθε φυτού, σύμφωνα με τη Διεθνή Ένωση Προστασίας Νέων Ποικιλιών (UPOV). Επιπλέον, είχαν ληφθεί σε προγενέστερο στάδιο (εμφάνιση πρώτου πραγματικού φύλλου), το σχήμα και το μέγεθος των κοτυληδόνων κάθε φυτού.

Οι καρποί αυτογονιμοποίησης έφθαναν στο στάδιο ωρίμανσης 45 περίπου ημέρες μετά την επικονίαση. Στο στάδιο αυτό, μετρήθηκαν τα υπόλοιπα μορφολογικά χαρακτηριστικά που αφορούν τον καρπό. Επιπλέον των χαρακτηριστικών της UPOV, αξιολογήθηκαν το βάρος του καρπού, το πηλίκο της πολικής και ισημερινής διαμέτρου, το πηλίκο της πολικής και ισημερινής διαμέτρου της πλακουντικής κοιλότητας, η περιεκτικότητά σε στερεά διαλυτά συστατικά (°Brix) και το pH της εδάδιμης σάρκας. Τέλος, μετρήθηκαν μορφολογικά χαρακτηριστικά του σπόρου. Συνολικά αξιολογήθηκαν 39 χαρακτηριστικά.

**Πείραμα ανθεκτικότητας in planta.** Οι δύο απομονώσεις, *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* και *F. oxysporum* f.sp. *melonis*, ήταν μια ευγενική προσφορά του Δρ. Δ.Ι. Βακαλουνάκη, Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Ηρακλείου, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. Οι μύκητες καλλιεργήθηκαν σε τρυβλία *petri* με στερεό θρεπτικό υπόστρωμα potato dextrose agar (PDA), σε θερμοκρασία 20°C, σε συνθήκες σκότους, για 10 ημέρες. Η διατήρησή τους για μικρά χρονικά διαστήματα γινόταν σε συνθήκες συντήρησης (θερμοκρασία 4 °C), ενώ για μακρά χρονικά διαστήματα με την αποθήκευση των σποριών στους -80°C (Chandler 1994).

Για την παραγωγή άφθονου μολύσματος με τη μορφή κονιδίων επιλέχθηκε το θρεπτικό υλικό Armstrong *Fusarium medium* (Singleton κ.α. 1992). Το υλικό (Potato Dextrose Broth, PDB), μετά την αποστείρωση στους 120°C για 20min, μοιραζόταν σε κωνικές φιάλες των 500ml, οι οποίες εμβολιάζονταν με 15 δίσκους διαμέτρου 4mm περίπου από την περιφέρεια νεαρών καλλιεργειών των μυκήτων σε PDA. Στη συνέχεια, οι κωνικές επιάζονταν σε θερμοκρασία 24°C πάνω σε αναδευτήρα και σε ταχύτητα 110 στροφές/min, για 2-5 ημέρες. Μετά την επώαση, ακολουθούσε η μέτρηση της συγκέντρωσης των σποριών, η

οποία πραγματοποιούνταν με τη βοήθεια αιματοκυτταρομέτρου. Όλη η διαδικασία προετοιμασίας των μολυσμάτων πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Α.Π.Θ.

Μετά τη ρύθμιση της συγκέντρωσης του μολύσματος στην τιμή των  $10^6$  κονιδίων/ml ακολουθούσε η εμφύσηση των φυταρίων (στο στάδιο έκπτυξης του πρώτου πραγματικού φύλλου) σε αιώρημα κονιδίων της συγκεκριμένης συγκέντρωσης για 7 min. Από κάθε ποικιλία μολύνθηκαν 10 φυτά για κάθε φυλή του μύκητα. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το «Θρακιώτικο», ποικιλία πεπονιού ευπαθής στις δύο φυλές.

Μετά τη μόλυνση των φυτών έγιναν δύο μετρήσεις για να διαπιστωθεί ο βαθμός προσβολής των φυτών από τους μύκητες. Για κάθε μύκητα ξεχωριστά, έγινε μία μέτρηση στις 7 ημέρες και μία μέτρηση στις 14 ημέρες μετά τη μόλυνση. Στις δύο μετρήσεις που έγιναν για κάθε μύκητα, μετρήθηκε η ένταση της προσβολής με κλίμακα από το 0 μέχρι το 3, όπου 0 μετρήθηκαν φυτά υγιή και όπου 3 μετρήθηκαν νεκρά φυτά.

**Στατιστική επεξεργασία δεδομένων.** Πέντε από τα γενετικά υλικά εμφάνισαν ενδοποικιλιακή παραλλακτικότητα, με αποτέλεσμα κάθε φαινότυπος να εξεταστεί ως ξεχωριστή ποικιλία, ενώ από δύο γενετικά υλικά δεν είχε διασωθεί κανένα φυτό, με αποτέλεσμα το σύνολο των γενετικών υλικών της παρούσας έρευνας να είναι 27 αντί 21. Τα υλικά αυτά εξετάστηκαν για 39 ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά. Τα ποσοτικά χαρακτηριστικά μετρήθηκαν με τις ανάλογες μονάδες μήκους ή βάρους, ενώ τα ποιοτικά βαθμολογήθηκαν με τις ειδικές κλίμακες της UPOV. Δύο από τα χαρακτηριστικά: (1) ύπαρξη κρεατοελιάς στον καρπό και (2) χρώμα μήτρας σπόρου, παρουσίασαν μηδενική παραλλακτικότητα εντός και μεταξύ των πληθυσμών και ως εκ τούτου δεν λήφθηκαν υπ' όψη στην παραπέρα ανάλυση. Στα υπόλοιπα 37 χαρακτηριστικά έγινε ανάλυση με δύο τεχνικές αριθμομετρικής ταξινόμησης (Numerical Taxonomy Techniques): (1) Πολυμεταβλητή Ανάλυση Ομάδων (Cluster Analysis), αφού κάθε πληθυσμός θεωρήθηκε λειτουργική ομάδα ταξινόμησης (Operational Taxonomic Unit, OUT) και (2) σύμφωνα με τις αρχές της "Numerical Taxonomy" των Sneath και Sokal (1973), Ανάλυση σε Κύριες Συνιστώσες (Principal Component Analysis) (Broschat 1979). Η Πολυμεταβλητή Ανάλυση Ομάδων με τη μέθοδο UPGMA (Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average) χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό των ποικιλιών σε ομάδες με τη βοήθεια δένδρογραμματος. Για τις αναλύσεις αυτές χρησιμοποιήθηκε το Stat Soft, Inc, 1998, Statistica for Windows πρόγραμμα H/Y.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

**Αναπολλαπλασιασμός της συλλογής.** Με την αυστηρά ελεγχόμενη γονιμοποίηση εντός των ποικιλιών, συλλέχθηκαν αρκετά γραμμάρια σπόρου από κάθε ποικιλία. Η ποικιλία που έδωσε το λιγότερο σπόρο ήταν η P9β με 25,84g και αυτή που έδωσε τον περισσότερο σπόρο ήταν η ποικιλία P20 με 448,81g. Ο σπόρος αυτός φυλάσσεται στις εγκαταστάσεις της Τ.Γ.Υ.

**Έβρεση γενετικής συγγένειας μεταξύ των γενετικών υλικών.** Όλες οι ποικιλίες παρουσίασαν μεγάλη παραλλακτικότητα για το σύνολο των χαρακτηριστικών που αξιολογήθηκαν. Έτσι προέκυψε το δένδρογραμμα του σχήματος 1, μέσω της ανάλυσης των ομάδων. Από το δένδρογραμμα και για επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0,05$ , προκύπτει ότι οι ποικιλίες μπορούν να διακριθούν σε τρεις σημαντικά διαφορετικές υποομάδες, εκτός από δύο ποικιλίες που δεν ανήκουν σε καμία από αυτές.

Η ανάλυση των δεδομένων σε κύριες συνιστώσες έγινε με την προκαθορισμένη μέθοδο και ορίστηκε η ανάλυση σε πέντε κύριες συνιστώσες. Η μέθοδος αυτή εξάντλησε όλη την παραλλακτικότητα σε πέντε συνιστώσες. Στον πίνακα 1 φαίνονται τα περισσότερα σημαντικά χαρακτηριστικά που συνέβαλαν στο διαχωρισμό των κύριων συνιστώσων. Τα κυριότερα χαρακτηριστικά για το διαχωρισμό των ποικιλιών, σε ποσοστό 18,68%, είναι τα χαρακτηριστικά 3 και 5, που αναφέρονται στο χρώμα του βλαστού και το χρώμα του φύλλου. Για το διαχωρισμό της συνιστώσας 2 καθοριστικό ρόλο έπαιξε το πηλίκο της πολικής προς την ισημερινή διάμετρο του καρπού, για τη συνιστώσα 3 τα χαρακτηριστικά που αφορούσαν το βλαστό, τα φύλλα και το αρσενικό άνθος, και για τη συνιστώσα 4 τα χαρακτηριστικά που αφορούσαν τον καρπό, αλλά και την ανθεκτικότητα στο *F. oxysporum* f.sp. *melonis*.

**Αξιολόγηση ανθεκτικότητας.** Τα φυτά σε γενική εικόνα παρουσίασαν μεγάλη ανθεκτικότητα και στις δύο φυλές του μύκητα. Συγκεκριμένα το 57,5% των ποικιλιών παρουσίασε 100% ανθεκτικότητα στο *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* και το 84,6% των ποικιλιών 100% ανθεκτικότητα στο *F. oxysporum* f.sp. *melonis*. Αναλυτικά η ανθεκτικότητα που παρουσίασε η κάθε ποικιλία σε κάθε μύκητα δίνεται στον πίνακα 2.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όπως στα περισσότερα καλλιεργούμενα φυτά, έτσι και για τα *Cucurbita* spp., τα εγχώρια γενετικά υλικά αποτέλεσαν πολύτιμη, και σε πολλές περιπτώσεις, μοναδική πηγή επιθυμητών αγρονομικών γνωρισμάτων προς ενσωμάτωση και αξιοποίηση από σχετικά προγράμματα δημιουργίας εμπορικών ποικιλιών. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα όσον αφορά την ανθεκτικότητα σε βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες. Για την αντοχή σε βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες, μεγάλη είναι η συμβολή των *Cucurbita* spp. στην αειφορική τεχνική του εμβολιασμού των καρποδοτικών λαχανικών, όπου αποτελούν υποκείμενα (*C. moschata* x *C. maxima*).

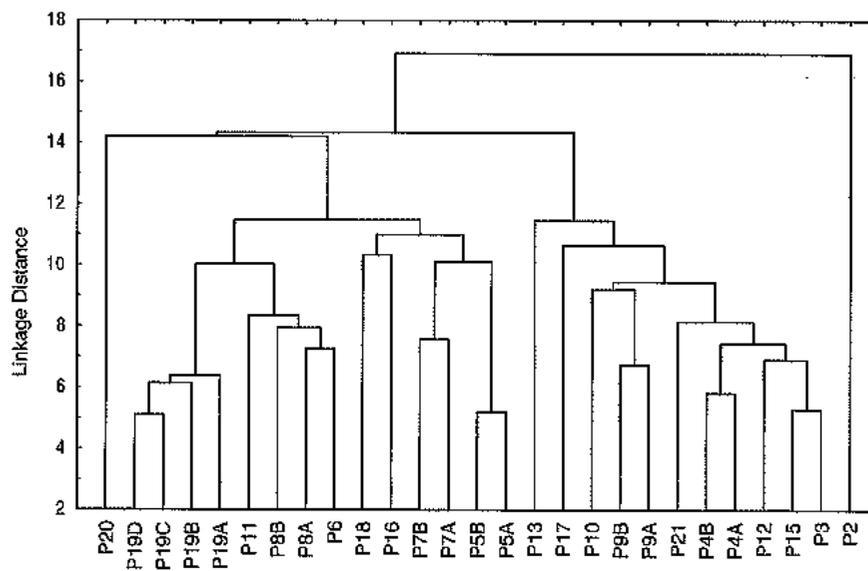
Το εγχώριο γενετικό υλικό κολοκυνθοειδών διατηρείται στην Τ.Γ.Υ., στη Θεσσαλονίκη. Η ενεργός συλλογή του έτους 1999 είναι μια συλλογή που αφορά το σύνολο σχεδόν της χώρας, εκτός από τα νησιά του Ιονίου και αρκετά του Αιγαίου. Η περιγραφή των πληθυσμών που συλλέχθηκαν έδειξε ότι δύο πληθυσμοί, διαχωρίστηκαν πλήρως από τους υπόλοιπους πληθυσμούς. Σύμφωνα με την περιγραφή, η μια ποικιλία δεν ανήκει στο γένος *Cucurbita* αλλά στο γένος *Cucumis* (*C. sativus* L.), ενώ η άλλη ποικιλία ανήκει στο *Cucurbita* spp. με ισχυρότερο ενδεχόμενο να είναι *Cucurbita maxima* Duch. Εννέα ποικιλίες αποτέλεσαν μία ξεχωριστή ομάδα και με βάση τα αγρονομικά χαρακτηριστικά τους εκτιμάται ότι είναι *C. moschata* Duch. Οι υπόλοιπες οκτώ ποικιλίες αποτέλεσαν μια δεύτερη ομάδα που χωρίζεται σε δύο υποομάδες: την πρώτη με τέσσερις ποικιλίες, που εκτιμάται πως είναι *C. pepo* L. και τη δεύτερη με άλλα τέσσερα υλικά που εκτιμάται ότι ανήκουν στο είδος *C. maxima* Duch (Εικόνα 1). Έτσι συμπεραίνεται ότι το γενετικό υλικό που διατηρείται στην Τ.Γ.Υ. περιλαμβάνει τρία διαφορετικά είδη του γένους *Cucurbita* ήτοι: *C. pepo* L., *C. moschata* Duch. και *C. maxima* Duch και ένα αντιπρόσωπο του γένους *Cucumis* (*C. sativus*).

χαρακτηριστικά	Συνιστώσες				
	1	2	3	4	5
3 Χρώμα βλαστού	0,84				
4 Μέγεθος φύλλου			0,78		
5 Ένταση χρώματος φύλλου	0,92				
6 Μήκος μίσχου φύλλου			0,79		
7 Λεπτότητα μίσχου φύλλου					0,77
10 Μήκος μίσχου αρ/κού άνθους					0,71
13 Τριχίδια μίσχου αρ/κού άνθους			0,75		
16 Μέγεθος καρπού				0,71	
18 Διάμετρος καρπού				0,77	
23 Απόσταση μεταξύ ραβδώσεων				0,85	
32 Κυρίως χρώμα σάρκας					0,77
39 Βάρος 100 ξηρών σπόρων					0,8
40 Ισημερινή/πολική διάσταση		0,81			

Πίνακας 1. Συντελεστής συσχέτισης των χαρακτηριστικών που συμμετείχαν σημαντικά στη διάκριση των γενετικών υλικών

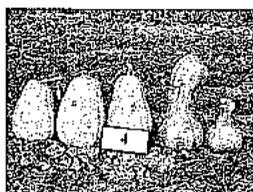
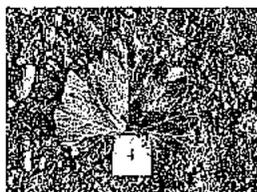
Μύκητας ▶ Ποσοστό ανθεκτικότητας ▼	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-cucumerinum</i> (Ποσοστό % των ποικιλιών)	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>melonis</i> (Ποσοστό % των ποικιλιών)
100%	57,5	84,6
Μεγαλύτερο του 50%	11,5	11,5
Μικρότερο του 50%	15,4	0
0%	11,5	3,8

Πίνακας 2. Ποσοστό μολυσμένων φυτών ανά φυλή του μύκητα

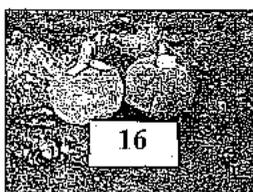


Δενδρόγραμμα 1

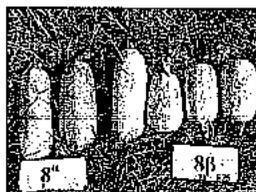
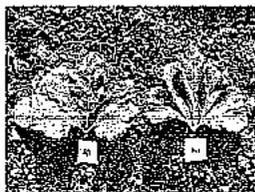
Εικόνα 1. Αντιπροσωπευτικοί καρποί και φύλλα των πληθυσμών που διακρίθηκαν στο δενδρόγραμμα



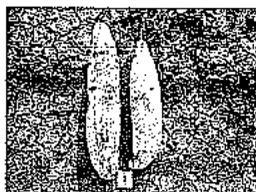
*Cucurbita moschata*



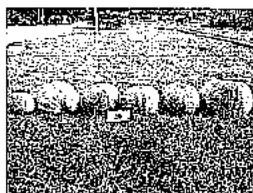
*Cucurbita maxima*



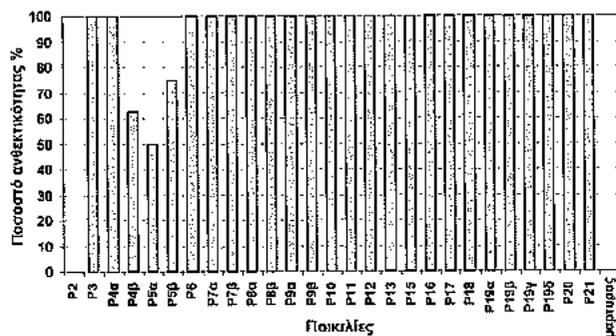
*Cucurbita pepo*



*Cucumis sativus* (P2)



*Cucurbita maxima*(P20)



Με δεδομένη τη σχετικά στενή γενετική βάση των εγχώριων ειδών *Cucurbita*, η αξιοποίηση πληθυσμών θα αποτελέσει και στο μέλλον την πλέον ίσως αξιοποιήσιμη και αποτελεσματική διαδικασία εμπλουτισμού του γενετικού υλικού με νέα χαρακτηριστικά. Τα πλεονεκτήματα που υπάρχουν είναι σημαντικά όχι μόνο για μελλοντική χρήση των πληθυσμών, αλλά και πιο ουσιαστικά, κυρίως για τους αγρότες, οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιήσουν αυτούς τους νέους τοπικά προσαρμοσμένους πληθυσμούς με μειωμένες εισροές ενδεχομένως για βιολογική καλλιέργεια. Είναι ωστόσο απαραίτητο να διατηρούνται οι αρχικοί πληθυσμοί ως Συλλογή στην Τ.Γ.Υ., ώστε να διατηρηθεί όλη η αρχική παραλλακτικότητα, να διατηρηθούν, όπως πρότεινε ο Brown (1995), οι πυρηνικές συλλογές.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Βακαλονάκης, Δ.Ι. και Γ.Α. Φραγκιαδάκης. 2003. Φυτοπαθοβελτίωση με έμφαση στην τομάτα και τα κολοκυνθοειδή. 19-54, 58-126. Εκδόσεις Δημήτρης Ι. Βακαλονάκης.
- Broschat, T.K. 1979. Principal Component Analysis in horticultural research. Hortscience. 14:114-117.
- Brown A.H.D. 1995. The core collection at the crossroads. In: Hodgkin T., A.H.D. Brown, Th.J.L. Van Hintum and E.A.V. Morales, (eds), Core Collection of Plant Genetic Resources, pp:3-19. IPGRI/Wiley-Sayce Publication, United Kingdom.
- Chandler, D. 1994. Cryopreservation of fungi using popour beads. Mycol. Res. 98 (5): 525-526.
- Jeffrey, C. 1990. Systematics of the *Cucurbitaceae*: an overview. In: Bates D.M., Robinson R.W and Jeffrey C. (eds) Biology and Utilization of the *Cucurbitaceae*. Cornell University Press, Ithaca, New York. 3-9.
- Koutsika-Sotiriou, M., E. Traka-Mavrona, A.L. Tsivelikas, G. Mpardas, A. Mpeis and E. Klonari. 2004. Use of genetic resources in a dual approach system toward selecting improved scion/rootstock grafting combinations of melon (*Cucumis melo* L.) on *Cucurbita* spp. Cucurbitaceae 2004. Proceedings of 8<sup>th</sup> EUCARPIA meeting on Cucurbit Genetics and Breeding.
- Κούτσικα-Σωτηρίου, Μ., Αικ. Τράκα-Μαύρων, Α.Α. Τσιβελίκας, Γ. Μπάρδας, Α. Μπέης και Αικ. Κλωνάρη. 2002. Ολοκληρωμένη προσέγγιση του εμβολιασμένου φυταρίου στο πεπόνι. Πρακτικά 9<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ. Θέρμη.
- Robinson, R.W. and D.S. Decker-Walters. 1997. Cucurbits. CAB International Wallingford, U.K. 71-84,148-152, 164-188.
- Singleton L.L., J.D. Mihail and C.M. Rush eds. 1992. Methods for research on soil borne phytopathogenic fungi. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, U.S.A.
- Sneath P.H.A., R.R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of Numerical Classification. San Francisco W.F. Freeman.
- Σφακιανάκης, Ι.Ν. 2002. Φυτογενετικοί πόροι και ποικιλίες. Πρακτικά 9<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ. Θέρμη.
- Trionfetti-Nisini, P., G. Colla, E. Granati, O. Temperini, P. Crino, F. Saccardo. 2001. Rootstock resistance to fusarium wilt and effect on fruit and quality of two muskmelon cultivars. Scientia Horticulturae 93 (2002): 281-288.

**DESCRIPTION, MULTIPLICATION AND EVALUATION OF RESISTANCE AT *Fusarium oxysporum* OF THE *Cucurbita* spp COLLECTION THAT BELONG TO THE GREEK'S GENE BANK**

**A. Anastasiadou<sup>1</sup>, M. Koutsika-Sotiriou<sup>1</sup>, K. Traka-Mavrona<sup>2</sup> and K. Klonari-Tzavela<sup>3</sup>.**

**SUMMARY**

The present paper aimed to give the description, the multiplication procedure and the evaluation of resistance in two phyla of *Fusarium oxysporum* of the Greek Gene Bank's Collection of *Cucurbita* spp. The experiment has applied at the farm school of A.U.Th. in 2003. Twenty one squash germplasm landraces, which represent the main part of the active squash germplasm collection of 1999 were used. The description was based on the International Union for the Protection of new Varieties of Plants (UPOV). Totally, 39 quantitative and qualitative characteristics were recorded. The multiplication was achieved by applying techniques of controlled pollination. For the evaluation of resistance *in planta* for two phyla of *F. oxysporum*, i.e. for *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* and for *F. oxysporum* f.sp. *melonis*, were used eight plants from each population. The melon cultivar "Thrakiotiko" was used as tester. The higher percent of populations (61,5%) was proved resistant to fungi *F.oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*, while for *F.oxysporum* f.sp. *melonis* the percentage was 84,6%. On the basis of UPOV's descriptive data and several additional quantitative and qualitative traits a dendrogram was obtained. According to the dendrogram accessions were classified into three groups, as follows: *C. moschata* Duch., *C. pepo* L. and *C. maxima* Duch. Two accessions were not grouped, one belonging to *Cucumis sativus* L. and another one belonging possibly to *C. maxima* Duch.

## ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΞΗΡΑΣΙΑ ΕΙΚΟΣΙ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΣΚΛΗΡΟΥ ΣΙΤΑΡΙΟΥ

Α. Παπασταύρου, Γ. Αίβανος, Γ. Οικονόμου, Χ. Αυγουλάς, Α. Καραμάνος

Εργαστήριο Γεωργίας και Βελτίωσης Φυτών  
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Την καλλιεργητική περίοδο 2002 – 2003 μελετήθηκε στον πειραματικό αγρό του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών η ανθεκτικότητα στην ξηρασία είκοσι πληθυσμών σκληρού σιταριού (*Triticum turgidum* spp. *durum*), Ρωμανού 10, Ντόπια Ηρακλείου 184, Λήμνος, Μαυραγάνι Σάμου, Κοντοπούλι, Κοντοπούλι 2, Κοντοπούλι 16, Κοντοπούλι 17, Καμίνια 7, Μαυροθέρι Χίου 183, Ατσική, Ατσική 1, Ατσική 4, Ατσική 6, Ατσική 15, Ροσοπούλι 8, Μαυραγάνι Πρεβέζης, Μούδρος 5, Μούδρος 11, Μούδρος 13, σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα εδαφικής υγρασίας με διαβάθμιση των αποστάσεων από τη πηγή άρδευσης. Μελετήθηκαν το υδατικό δυναμικό των φυτών, ο δείκτης υδατικού δυναμικού - Water Potential Index (W.P.I.) καθώς και οι μεταβολές των αποδόσεων των πληθυσμών σε σχέση με τον δείκτη του υδατικού δυναμικού.

Η πορεία του υδατικού δυναμικού για την πιο υγρή μεταχείριση, ήταν αφενός μεν πτωτική στο χρόνο, για όλους τους βιότυπους του σκληρού σίτου, αφετέρου, έλαβε τις λιγότερο αρνητικές τιμές, η πιο απομακρυσμένη από τη γραμμή άρδευσης έλαβε τις περισσότερο αρνητικές τιμές, υποδηλώνοντας σαφέστατα μεγαλύτερα υδατικά ελλείμματα. Οι τιμές του δείκτη της ολικής υδατικής καταπόνησης W.P.I ήταν όλο και πιο αρνητικές καθώς απομακρυνόμαστε από τη γραμμή άρδευσης. Οι βιότυποι Κοντοπούλι, Κοντοπούλι 17, Μούδρος 11, Ντόπια Ηρακλείου 184, έδειξαν αξιοσημείωτη σταθερότητα, διατηρώντας υψηλότερες τιμές WPI, σε όλες τις μεταχειρίσεις, ακόμη και στην πιο ξηρή. Από τις συσχετίσεις μεταξύ του δείκτη υδατικού δυναμικού και των τελικών αποδόσεων σε σπόρο προέκυψε ότι στη πλειοψηφία των πληθυσμών η υδατική καταπόνηση επηρέασε αρνητικά την απόδοσή τους, ενώ υπήρξαν και πληθυσμοί που παρουσίασαν υψηλότερη απόδοση στη ξηρική μεταχείριση σε σχέση με την αρδευόμενη.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Κατά τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου τα φυτά εκτίθενται πολλές φορές και σε αντίξοες συνθήκες, οι οποίες ενδέχεται να επηρεάζουν δυσμενώς τόσο την ανάπτυξη όσο και την ίδια τους την επιβίωση. Ο όρος καταπόνηση αναφέρεται στην επίδραση δυσμενών παραγόντων του περιβάλλοντος, οι οποίοι τείνουν να παρεμποδίσουν την εύρυθμη λειτουργία φυσιολογικών μηχανισμών (Buchanan *et al.*, 2000)

Μία σημαντική παράμετρος ιδιαίτερης οικολογικής σημασίας είναι και η ανθεκτικότητα των φυτών στην ξηρασία. Παρ'όλο που το νερό είναι το πιο άφθονο στοιχείο στη γη, η κατανομή των καλλιεργειών στον πλανήτη μας βρίσκεται σε άμεση συσχέτιση με αυτό, ενώ η έλλειψή του είναι ο σπουδαιότερος παράγοντας για την μείωση των αποδόσεων (Begg και Turner, 1976). Γενικότερα τα φυτικά κύτταρα και ιστοί θεωρούνται ελλειμματικοί ως προς το νερό, όταν δεν είναι σε πλήρη σπαργή (Crafts, 1968). Σύμφωνα με τον Kramer (1969) οι όροι υδατική καταπόνηση και υδατικό έλλειμμα θεωρούνται ταυτόσημοι, ενώ η ανάπτυξη του φυτού ελέγχεται άμεσα από τα υδατικά ελλείμματα του ίδιου φυτού και έμμεσα από τα υδατικά ελλείμματα της ατμόσφαιρας και του εδάφους.

Οι τοπικοί παραδοσιακοί πληθυσμοί, και ιδιαίτερα του σιταριού, είναι ένα σημαντικό κομμάτι φυτογενετικών πόρων επειδή διαθέτουν ευρεία γενετική βάση. Οι ντόπιοι πληθυσμοί είναι ένα μείγμα γονότυπων οι οποίοι είναι καλά προσαρμοσμένοι στην περιοχή όπου εντοπίζονται (Harlan, 1975). Διαφέρουν όσον αφορά τις αντιδράσεις σε ασθένειες και έντομα, τείνουν να έχουν χαμηλές αποδόσεις, ενώ είναι προσαρμοσμένοι στις διαδικασίες της παραδοσιακής γεωργίας. Οι παραδοσιακές ποικιλίες ή πληθυσμοί αποτέλεσα φυσικής και τεχνητής επιλογής, διαφέρουν ως προς την προσαρμοστικότητα στις βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις.

## ΥΔΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Αξιολογήθηκαν είκοσι πληθυσμοί σκληρού (*Triticum turgidum ssp. durum*) τους οποίους προμηθευτήκαμε από το Ινστιτούτο Σιτηρών Θεσσαλονίκης του ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε την καλλιεργητική περίοδο 2002 – 2003 στον αγρό του Εργαστηρίου Γεωργίας του Γ.Π.Α. Η πειραματική διάταξη ήταν υποδιαιρεμένες ομάδες με τρεις επαναλήψεις. Κύρια ομάδα ήταν οι πληθυσμοί (20) και υποομάδες τέσσερα επίπεδα εδαφικής υγρασίας.

Τα επίπεδα εδαφικής υγρασίας διαφοροποιήθηκαν ανάλογα με την απόσταση τους από την πηγή νερού (σταλακτήρες). Πλήρης υγρασία ήταν εκείνη που γειτνιάζε άμεσα με τον σταλακτήρα και η ελάχιστη εκείνη που βρισκόταν στη μεγαλύτερη απόσταση από αυτόν. Τα ενδιάμεσα επίπεδα βρίσκονταν μεταξύ των δύο ακραίων.

### *Υδατική κατάσταση των φυτών*

Η δειγματοληψία για τον προσδιορισμό της υδατικής κατάστασης των φυτών γίνονταν δύο φορές την εβδομάδα, στις 12 μ.μ. όταν η τιμή του υδατικού δυναμικού ( $\Psi$ ) λαμβάνει την ελάχιστη ημερήσια τιμή. Από κάθε φυτό λαμβάνονταν το νεότερο πλήρως ανεπτυγμένο φύλλο (τρίτο φύλλο από τη κορυφή) μέχρι να αναπτυχθεί τελειώς το φύλλο σημαία οπότε οι υπόλοιπες παρατηρήσεις λαμβανόταν αποκλειστικά σ' αυτό. Τα φύλλα τοποθετούνταν μέσα σε πλαστικές σακούλες, κλεισμένες αεροστεγώς και αμέσως μετά σε φορητό ψυγείο μέχρις ότου μεταφερθούν στο εργαστήριο για τις μετρήσεις, έτσι ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι απώλειες νερού. Ο αριθμός των φύλλων που συλλέγονταν ανά υποτεμάχιο (επίπεδο άρδευσης) ήταν τρία, ήτοι εννέα φύλλα και από τις τρεις επαναλήψεις. Το υδατικό δυναμικό των φύλλων αυτών μετρήθηκε με τη μέθοδο του θαλάμου πίεσης (Scholander *et al.*, 1964).

### *Δείκτης υδατικού δυναμικού (Water Potential Index)*

Λαμβάνοντας τις επτά μετρήσεις του υδατικού δυναμικού κατασκευάσαμε για κάθε βιότυπο και επίπεδο καταπόνησης ένα διάγραμμα της χρονικής πορείας του. Το ολοκλήρωμα της πορείας του υδατικού δυναμικού περιγράφει τη διάρκεια του υδατικού δυναμικού σε μία δεδομένη περίοδο:  $WPD = \int_{t=1} \Psi_1 dt$ , όπου  $\Psi_1$  το υδατικό δυναμικό την ημέρα  $t$  μέσα στη περίοδο παρατηρήσεων. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι περίοδοι είναι δυνατό να διαφέρουν σε διάρκεια για διάφορους λόγους (διαφορές στη διάρκεια του βιολογικού κύκλου ή τη διάρκεια των μετρήσεων) οι τιμές του WPD γίνονται συγκρίσιμες, μεταξύ διαφορετικών περιπτώσεων, όταν διαιρεθούν με το διάρκεια της περιόδου των μετρήσεων. Η τιμή που προκύπτει είναι ο δείκτης υδατικού δυναμικού ( $WPI = WPD/n$ , όπου  $n$  ο το μήκος της περιόδου των παρατηρήσεων (Karamanos και Paratheohari, 1999).

### *Απόδοση σε καρπό*

Η απόδοση σε καρπό προσδιορίστηκε κατά τη συγκομιδή.

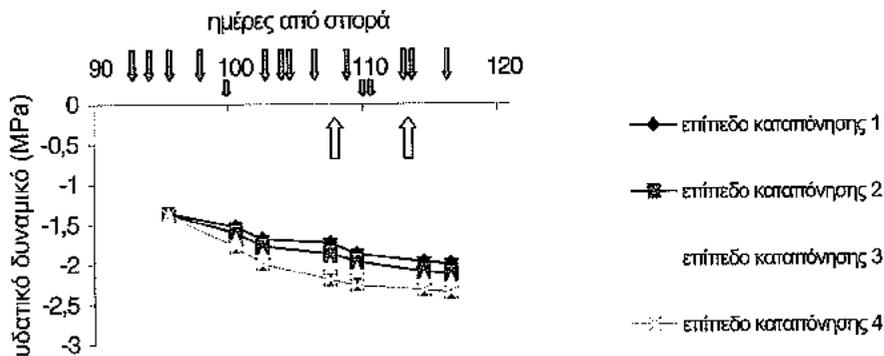
## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### *Υδατικό Δυναμικό των Πληθυσμών*

Η γενική πορεία του υδατικού δυναμικού των 20 βιότυπωνβι σκληρού σιταριού απεικονίζεται στο διάγραμμα 1. Φαίνεται ότι στα τέσσερα επίπεδα υδατικής καταπόνησης η πορεία αυτή είναι πτωτική, ενώ οι εντονότερες διαφορές μεταξύ αρδευόμενης και ξηρικής μεταχείρισης παρατηρήθηκαν κατά την άνθηση.

### *Δείκτης υδατικού δυναμικού (WPI)*

Ο δείκτης υδατικού δυναμικού υπολογίστηκε από τις πορείες του υδατικού δυναμικού για κάθε επέμβαση. Στον πίνακα 1 δίδονται οι τιμές του WPI για όλους τους βιότυπους σκληρού σιταριού και για τα τέσσερα επίπεδα καταπόνησης και παρουσιάζει τις διαφορές που παρατηρούνται κατά Duncan 95% σε κάθε πληθυσμό για τις τέσσερις μεταχειρίσεις που εφαρμόστηκαν. Στον πίνακα 2 απεικονίζεται η αξιολογική σειρά κατάταξης των βιότυπων σε κάθε επίπεδο υδατικής καταπόνησης με βάση τη μέση τιμή του δείκτη υδατικού δυναμικού.



**Διάγραμμα 1.** Ενδεικτικό διάγραμμα της πορείας του υδατικού δυναμικού 20 βιότυπων σκληρού σιταριού. Τα βέλη με κατεύθυνση προς τα κάτω δείχνουν τις ημερομηνίες άρδευσης, ενώ προς τα πάνω τα στάδια του ξεσταχυάσματος και της άνθησης. Οι μπάρες συμβολίζουν τα τυπικά σφάλματα των μέσων.

Οι βιότυποι σκληρού σιταριού παρουσίασαν μια προοδευτική αύξηση του WPI από τη μεταχείριση 1 προς τη μεταχείριση 4. Στις περισσότερες των περιπτώσεων οι διαφορές μεταξύ μεταχειρίσεων σε δεδομένη ποικιλία ήταν στατιστικά σημαντικές. Εν τούτοις, υπάρχουν και περιπτώσεις (π.χ. Ρωμανού 10) όπου διαφορές μεταξύ πρώτης και δεύτερης ή δεύτερης και τρίτης μεταχείρισης δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Σύμφωνα με τα δεδομένα (πίνακας 2) οι περισσότεροι βιότυποι διατηρούν την υδατική τους κατάσταση σε σταθερά επίπεδα και στις τέσσερις μεταχειρίσεις άρδευσης. Αυτό είναι μία ένδειξη ότι σημαντικός παράγοντας που καθορίζει τη συμπεριφορά των φυτών σε διάφορα υδατικά περιβάλλοντα είναι η γενετική τους σύσταση. Παρά τη γενική εικόνα παρατηρήθηκαν και εξαιρέσεις όπως για παράδειγμα ο βιότυπος Ατσική 15 ο οποίος στο υγρό υποτεμάχιο ήταν στην τέταρτη θέση της κατάταξης ως προς τη τιμή του WPI και στο ξηρικό εμφανίστηκε στη δέκατη τρίτη θέση. Αυτή η συμπεριφορά δείχνει ότι ο γονότυπος επηρεάστηκε σημαντικά και περισσότερο από τους υπόλοιπους πληθυσμούς από την ένταση της υδατικής καταπόνησης. Αντίθετα, ο πληθυσμός Ρωμανού 10 παρουσίασε την ακριβώς αντίστροφη πορεία. Στην υγρή μεταχείριση άρδευσης κατέλαβε την ένατη θέση ενώ στη ξηρική μεταχείριση εμφανίστηκε στη τρίτη θέση. Η συμπεριφορά αυτή είναι ένδειξη αλληλεπίδρασης γονότυπου με το περιβάλλον και έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Έτσι μπορεί να υποθεθεί ότι ο βιότυπος στις ξηρικές συνθήκες αναπτύσσει μηχανισμούς προσαρμογής, σε μεγαλύτερο βαθμό ακόμα και από εκείνους τους γονότυπους που εμφάνισαν σταθερότητα, οι οποίοι του επιτρέπουν πιθανόν να διατηρεί την υδατική του κατάσταση σε επίπεδα όπου δεν επηρεάζονται δυσμενώς οι φυσιολογικές του λειτουργίες. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο βιότυπος Κοντοπούλι παρουσίασε τη μικρότερη υδατική καταπόνηση και στις τέσσερις μεταχειρίσεις παραμένοντας στη πρώτη θέση της κατάταξης. Ανάλογα εμφανίστηκε να συμπεριφέρεται ο βιότυπος Κοντοπούλι 17 ο οποίος ήταν σταθερά δεύτερος στον σχετικό πίνακα.

**Πίνακας 1.** Μέσες τιμές του WPI (MPa) για τους βιότυπους που μελετήθηκαν και τις τέσσερις επεμβάσεις άρδευσης. Τιμές μεταξύ των μεταχειρίσεων με το ίδιο γράμμα δεν είναι στατιστικά σημαντικές (δοκιμή Duncan).

ΠΑΗΘΥΣΜΟΙ	Ε.Κ 1	Ε.Κ. 2	Ε.Κ. 3	Ε.Κ. 4
Κοντοπούλι	1a	1a	1a	1a
Κοντοπούλι 17	2ab	2ab	2b	2ab
Μούδρος 11	3bc	4bc	3bc	6def
Ατσική 15	4bc	7cdef	13fg	13ghi
Ντόπια Ηρακλείου 184	5bc	3bcd	5bcd	5cde
Λήμνος	6bcd	5bcd	4bcd	7def
Μούδρος 13	7cde	10fghi	12fg	10ef
Ατσική 6	8def	8defg	6bcde	9ef
Ρωμανού 10	9defg	6bcde	7cde	3abc
Μαυραγάι Σάμου	10efgh	11ghi	10fg	11efg
Κοντοπούλι 2	11efgh	9efgh	9ef	8def
Ατσική	12fghi	13ghij	11fg	12fgh
Ατσική 15	13fghi	14ghij	13fg	13ghi
Μαυραγάι Πρεβέζης	14ghij	15ghijk	14gh	19ij
Ατσική 4	15ghij	19kl	19h	15hij
Κοντοπούλι 16	16hij	12ghi	18gh	18ij
Καμίνια 7	17ij	20l	20h	20j
Ροσοπούλι 8	18ij	18jkl	17gh	16hij
Μαυροθέρι Χίου 183	19j	16hijk	15gh	17ij
Μούδρος 5	20j	17jkl	16gh	14hi

**Πίνακας 2.** Συγκρίσεις των μέσων τιμών του δείκτη υδατικού δυναμικού μεταξύ των βιότυπων και κατάταξη τους κατά αύξουσα σειρά, στα τέσσερα επίπεδα καταπόνησης (δοκιμή κατά Duncan).

ΠΑΗΘΥΣΜΟΙ	E.K 1	E.K. 2	E.K. 3	E.K. 4
Κοντοπούλι	1a	1a	1a	1a
Κοντοπούλι 17	2ab	2ab	2b	2ab
Μούδρος 11	3bc	4bc	3bc	6def
Αττική 15	4bc	7cdef	13fg	13ghi
Ντόπια Ηρακλείου 184	5bc	3bcd	5bcd	5cde
Λήμνος	6bcd	5bcd	4bcd	7def
Μούδρος 13	7cde	10fghi	12fg	10ef
Αττική 6	8def	8defg	6bcde	9ef
Ρωμανού 10	9defg	6bcde	7cde	3abc
Μαυραγάι Σάμου	10efgh	11ghi	10fg	11efg
Κοντοπούλι 2	11efgh	9efgh	9ef	8def
Αττική	12fghi	13ghij	11fg	12fgh
Αττική 15	13fghi	14ghij	13fg	13ghi
Μαυραγάι Πρεβέζης	14ghij	15ghijk	14gh	19ij
Αττική 4	15ghij	19kl	19h	15hij
Κοντοπούλι 16	16hij	12ghi	18gh	18ij
Καμίνια 7	17ij	20l	20h	20j
Ροσοπούλι 8	18ij	18jkl	17gh	16hij
Μαυροθέρι Χίου 183	19j	16hijk	15gh	17ij
Μούδρος 5	20j	17jkl	16gh	14hi

Αντίθετα, ο Καμίνια 7 ήταν ο πληθυσμός που βρέθηκε σταθερά στη τελευταία θέση στα επίπεδα καταπόνησης 2, 3, 4 αλλά αυτό το δεδομένο δεν είναι δυνατόν να αποτελέσει ένδειξη έντονης επίδρασης της έλλειψης νερού. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι το γενετικό δυναμικό του βιότυπου είναι υπεύθυνο για τις τιμές που παίρνει ο δείκτης υδατικού δυναμικού.

#### Απόδοση σε καρπό

Οι γραμμικές παλινδρομήσεις μεταξύ του δείκτη υδατικού δυναμικού και απόδοσης σε καρπό παροσιάζονται στον πίνακα 3 και φαίνεται ότι υπάρχει παραλλακτικότητα ως προς την επίδραση της υδατικής καταπόνησης στην απόδοση σε καρπό. Πιο συγκεκριμένα, υπήρχαν βιότυποι οι οποίοι έδειξαν θετικούς συντελεστές συσχέτισης γεγονός που υποδηλώνει ότι αυξανόμενων των υδατικών ελλειμμάτων μειώθηκαν οι αποδόσεις σε καρπό (π.χ. Ντόπια Ηρακλείου 184) καθώς και βιότυποι που έλαβαν αρνητικούς συντελεστές συσχέτισης, όπως ο πληθυσμός Ρωμανού 10 στον οποίο παρατηρήθηκε αυξημένη απόδοση σε καρπό καθώς αυξάνονταν τα υδατικά ελλείμματα.

Ο βιότυπος ο οποίος είχε τη πιο στενή εξάρτηση μεταξύ δείκτη υδατικού δυναμικού και απόδοσης σε καρπό ήταν ο Αττική 1, γεγονός που σημαίνει ότι η ξηρασία προκάλεσε δραματική μείωση στη παραγωγικότητα του. Διαφορετική συμπεριφορά έδειξε ο βιότυπος Λήμνος καθώς η απόδοση του σε καρπό

ήταν μειωμένη στην υγρή μεταχείριση, δείχνοντας ότι η υδατική καταπόνηση όχι μόνο δεν επηρέασε την απόδοση του αλλά επιπλέον επέδρασε θετικά σε σχέση με την υγρή μεταχείριση προκαλώντας αυξημένες αποδόσεις. Τέλος, υπήρχαν βιότυποι οι οποίοι επηρεάστηκαν σε μικρό βαθμό όπως για παράδειγμα οι Ατσική 6, Μαυροθέρι Χίου 183 κ.τ.λ.

**Πίνακας 3.** Οι τιμές των παραμέτρων της γραμμικής παλινδρόμησης της απόδοσης με WPI (b: κλίση, a: τιμή αποκοπής με τον άξονα αποδόσης, r: συντελεστής συσχέτισης). (\*  $\alpha=5\%$ , \*\* $\alpha=1\%$ , \*\*\* $\alpha=0,1\%$ , ns= not significant)

ΠΑΗΘΥΣΜΟΙ	b	a	r
Ρωμανού 10	-188,81129	-100,237	-0,5679*
Ντόπια Ηρακλείου 184	273,372409	733,5796	0,59036*
Λήμνος	-468,05677	-631,128	-0,7716**
Μαυραγάι Σάμου	-609,58354	-872,972	-0,542*
Κοντοπούλι 16	-489,90159	-656,84	-0,5854*
Κοντοπούλι	-404,6939	-506,851	-0,3778ns
Καμίνια 7	-237,74929	-291,501	-0,7045**
Μαυροθέρι Χίου 183	-182,76965	-148,517	-0,4205 ns
Κοντοπούλι 17	-517,54477	-597,631	-0,7399**
Ατσική 6	245,25253	669,6401	0,40352 ns
Ατσική	425,255711	1013,756	0,59606*
Ατσική 1	563,502951	1247,794	0,87896***
Ατσική 15	-230,0479	-197,069	-0,6213*
Ροσόπουλι 8	486,563727	1151,374	0,6849**
Μαυραγάι Πρεβέζης	298,844482	769,4593	0,64424*
Κοντοπούλι 2	-390,74971	-551,123	-0,4093 ns
Ατσική 4	333,026391	851,2004	0,62002*
Μούδρος 5	326,847863	894,709	0,77379**
Μούδρος 13	-216,3541	-216,225	-0,5253*
Μούδρος 11	-171,676977	519,4545	0,67052**

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τη μελέτη της γενικής πορείας του υδατικού δυναμικού φαίνεται ότι όσο πιο απομακρυσμένοι ήταν οι βιότυποι από τη γραμμή άρδευσης τα υδατικά ελλείμματα τους αυξάνονταν και ήταν εντονότερα όσο μεγαλύτερη ήταν η απόσταση τους από τους σταλακτήρες της γραμμής άρδευσης. Στην πορεία του χρόνου οι πορείες των υδατικών δυναμικών ήταν πτωτικές, ακόμη και στην περίπτωση της πρώτης (υγρής) μεταχείρισης, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι απαιτήσεις των φυτών σε νερό σχετίζεται άμεσα και με το στάδιο ανάπτυξής τους και το νερό που τους χορηγήθηκε (Salter and Goode, 1967).

Ο δείκτης WPI θεωρείται αξιόπιστος καθώς μας δείχνει ποσοτικά πλέον και ανεξαρτήτως του χρόνου, την ολική υδατική καταπόνηση που υφίστανται οι πληθυσμοί στις διάφορες μεταχειρίσεις. Ακόμη και στην πιο υγρή μεταχείριση (επίπεδο καταπόνησης 1) οι βιότυποι εμφανίζουν ποικίλες τιμές του WPI γεγονός που ανταναικλά την γενετική τους ετερογένεια τους ακόμη και σε πληθυσμούς από την ίδια περιοχή καταγωγής (π.χ. Κοντοπούλι, Κοντοπούλι 16). Ο δείκτης της ολικής υδατικής καταπόνησης έλαβε περισσότερο αρνητικές τιμές όσο οι βιότυποι ήταν περισσότερο απομακρυσμένοι από τη γραμμή άρδευσης, καταδεικνύοντας την εντονότερη καταπόνηση που δέχτηκαν οι πληθυσμοί σε αυτές τις μεταχειρίσεις. Οι βιότυποι Κοντοπούλι, Κοντοπούλι 17, Μούδρος 11, Ντόπια Ηρακλείου 184 έδειξαν αξιοσημείωτη

σταθερότητα, διατηρώντας υψηλότερες τιμές WPI, σε όλες τις μεταχειρίσεις, ακόμη και στην πιο ξηρική, πιθανώς λόγω καλύτερης προσαρμογής σε συνθήκες έλλειψης νερού. Αντιθέτως, οι βιότυποι Καμίνια 7, Κοντοπούλι 16 και Μαυραγάκι Πρεβέζης έδειξαν να καταπονούνται περισσότερο σε όλες τις μεταχειρίσεις.

Η απόδοση σε καρπό φάνηκε σε ορισμένους βιότυπους να επηρεάζεται αρνητικά από τα υδατικά ελλείμματα ενώ σε άλλους να έχει ακριβώς τα αντίθετα αποτελέσματα. Συγκεκριμένα οι πληθυσμοί: Ρωμανού 10, Λήμνος, Μαυραγάκι Σάμου, όλοι οι βιότυποι της ομάδας Κοντοπούλι, Λήμνος, Καμίνια 7, Μαυροθέρι Χίου 183, Ατσική 15 και Μούδρος 13 παρουσίασαν αποδόσεις στο επίπεδο καταπόνησης 4 που ήταν υψηλότερες από την υγρή μεταχείριση. Είναι πολύ πιθανόν οι προαναφερθέντες βιότυποι να είναι καλύτερα προσαρμοσμένοι σε ξηροφυτικές συνθήκες και να επηρεάζονται αρνητικά υπό καθεστώς πλήρους άρδευσης. Σύμφωνα με τους Sadiq *et al.* (1994) υψηλές αποδόσεις σε καρπό κάτω από υδατική καταπόνηση αποδόθηκαν σε υψηλό δυναμικό ενώ οι Simane *et al.* (1993) καθώς και οι El Hafid *et al.* (1998) έχουν παρατηρήσει υψηλές αποδόσεις σε καρπό σε σκληρό σιτάρι κάτω από συνθήκες υδατικού στρες, γεγονός το οποίο συνδέσαν με τις υψηλές τιμές του δείκτη φυλλικής επιφάνειας (Leaf Area Index, LAI). Βέβαια το μέγεθος της φυλλικής επιφάνειας καθορίζεται από παράγοντες όπως η γενετική σύσταση των φυτών, το δυναμικό του φυλλικού μεγέθους (potential leaf size), τη μορφολογία του βλαστού. Η επίδραση της ξηρασίας σε κάποιον από τους προαναφερθέντες παράγοντες μπορεί να επηρεάσει τον δείκτη της φυλλικής επιφάνειας. (Blum, 1996).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Blum, A., 1996. *Crop responses to drought and the interpretation of adaptation*. Plant Growth Regul. 20, 135-148.
- Begg, J.E. and Turner, N.C. 1976. *Crop Water deficits*. Adv. Agron. 28, 161-217.
- Buchanan, B.B., Gruissen, W. and Jones, R.L. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Am. Soc. Of Plant Phys., Rockville, ML.
- Crafts, A.S. 1968. *Water Deficits and physiological processes*. In *Water Deficits and Plant Growth*. T.T. Kozlowski. 85-133. Academic Press. Inc., New York.
- El Hafid, R., Smith, D.H., karron, M., Samir, K. 1998. *Morphological attributes associated with early season drought tolerance in spring durum wheat in a Mediterranean environment*. Euphytica 101, 273-282.
- Harlan, J.R. 1975. *Our vanished genetic resources*. Science. 188, 618-621.
- Karamanos, A.J., Papihoari, A.Y. 1999. *Assessment of drought resistance of crop genotypes by means of water potential index*. Crop Science. 39, 792-797
- Kramer, P.J. 1969. *Plant and Soil Water Relationships: A Modern Synthesis*. McGraw-Hill, Book Co: New York.
- Sadiq, M.S., Siddiqui, K.A., Arain, C.R., Azmi, A.R. 1994. *Wheat breeding in a water stressed environment. I. Delineation of drought tolerance and susceptibility*. Pl. Breed. 113, 36-46.
- Salter, P.J. and Goode, J.E. 1967. *Crop responses to Water at Different Stages of growth*, CAB, Farnham RO.
- Scholander, P.F., Hammel, H.T., Hemmingen, E.A. and Bradstreet, E.D. 1964. *Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 52, 119-25.
- Simane, B., Peacock, J.M., Struick, P.C. 1993. *Differences in Developmental plasticity and growth rate among drought resistant and susceptible cultivars of durum wheat*. Plants Soil. 157, 155-66.

## ABSTRACT

The drought resistance of twenty wheat landraces (*Triticum turgidum* spp. *Durum*) was studied in the field of Agricultural University of Athens during the year 2002-2003 under four levels of soil humidity with gradation of distances from the source of irrigation. Physiological parameters of plant water status such as leaf water potential ( $\Psi$ ) and water potential index (WPI) as well as the grain yields were measured. The course of water potential for the most humid treatments were decreased according time and showed the least negative values. The arid treatment received the most negative values. Water potential index was graded depending on the intensity of water stress receiving most negative values in the arid treatment. The landraces Kontopouli, Kontopouli 17, Moudros 11, Ntopia Irakleiou 184 showed remarkable stability maintaining the lowest values of WPI to all water treatments. The regression analysis between WPI and grain yield showed that water stress influenced negatively the final yield in most cases. However, there were landraces that were more productive in the arid treatment than the irrigated ones.

## ΕΝΔΟΠΑΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΜΕΛΙΣΣΟΧΟΡΤΟΥ (*MELISSA SP.*)

Πάνου-Φιλοθέου Ε., Κουνάνη Αριστέα και Γεωργιάδης Κωνσταντίνος

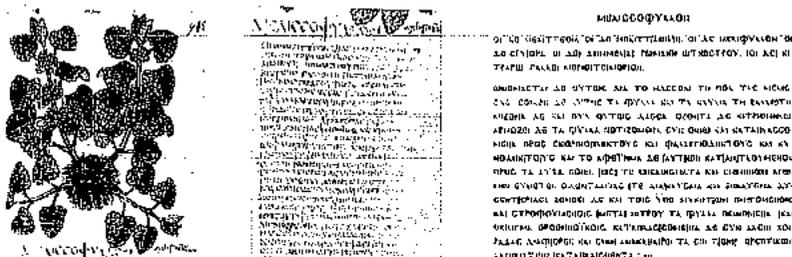
Εργαστήριο Αρωματικών φυτών, Τμ. Φυτικής Παραγωγής, Σχολή Τεχνολόγων Γεωπονίας,  
Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Τ.Θ. 14561, Τ.Κ. 54101, Θεσσαλονίκη, Τηλ.  
2310/791330, Fax 2310/791351, e-mail : epanou@cp.teithe.gr

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το μελισσόχορτο (*Melissa sp.*) είναι γνωστό φαρμακευτικό φυτό ως χωνευτικό, αντιφυσικό, εφιδρωτικό, αντιικό, χολαγωγό, καταπραυντικό και σπασμολυτικό. Χρησιμοποιείται για αρωματισμό πολλών σκευασμάτων. Την δρόγη συνιστούν τα φύλλα του φυτού (Γαλλική Φαρμακοποιία 10<sup>η</sup> έκδοση) που πρέπει να περιέχει το λιγότερο 0.05% αιθέριο έλαιο. Έχουν όμως απομονωθεί και άλλα συστατικά. Προκειμένου να αποδοθούν επιλεκτικοί κλώνοι του μελισσόχορτου στην καλλιέργεια μελετήθηκαν χαρακτηριστικά του φυτού που διαμορφώνουν την ποσότητα και την ποιότητα παραγωγής. Ευρέθηκε ότι : Το ύψος των φυτών κυμάνθηκε από 22 cm έως 90 cm με μέσο όρο 55.79±18.85 cm. Οι διαστάσεις των ώριμων φύλλων διέφεραν. Το μήκος κυμαίνονταν από 6.0-9.5 cm με μέσο όρο 7.29±1.0 cm. Το πλάτος κυμαίνονταν από 4.0-6.0 cm με μέσο όρο 5.0±0.61 cm. Το χλωρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών κυμάνθηκε από 99.03 g έως 313.64 g ανά φυτό με μέσο όρο 188.75±56.73 g ανά φυτό. Το ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος ανά φυτό κυμαίνεται από 60.08 έως 165.63 g/φυτό με μέσο όρο 106.12±26.41 g/φυτό. Η αναλογία ξηρό/χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος με ξήρανση σε σκιά κυμαίνεται από 24% έως 71% με μέσο όρο 48.6% ± 9.99. Η εκατοστιαία αναλογία φύλλων/βλαστούς κυμαίνονταν από 28% έως 64% με μέσο όρο 39.1%±10.9. Το αιθέριο έλαιο στα φύλλα κυμάνθηκε από 0.16ml / 100g ξ. β. έως 0.33 ml / 100g ξ. β. με μέσο όρο 0.24± 0.07 ml/100g ξ. β. ενώ στους βλαστούς αντίστοιχα κυμάνθηκε από 0.01ml / 100g ξ. β. έως 0.05 ml / 100g ξ. β. με μέσο όρο 0.03±0.02 ml / 100g ξ. β. Από τα αναφερθέντα στοιχεία προκύπτει ότι υπάρχει μεγάλη παραλλακτικότητα σε χαρακτηριστικά του φυτού που διαμορφώνουν τις οικονομικές παραμέτρους και η επιλογή υπέρτερων γενοτύπων θα οδηγήσει σε βελτίωση της παραγωγικότητας της καλλιέργειας.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μελισσόχορτο (*Melissa sp.*) είναι γνωστό φαρμακευτικό φυτό από την Αρχαιότητα (Εικ. 1).



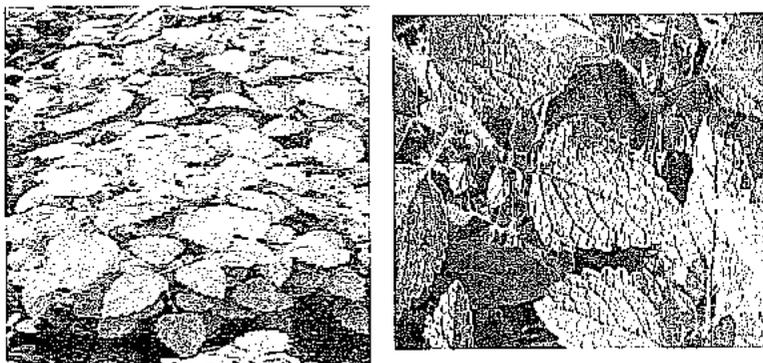
**Εικόνα 1α:** Τα μελισσόχορτο όπως απεικονίζεται στο πρωτότυπο χειρόγραφο του Διοσκουρίδη, 1β : το κείμενο με τα σχόλια και γ : το κείμενο αποδοσμένο σε ευκρινή μορφή.

Την δρόγη συνιστούν τα φύλλα του φυτού (Γαλλική Φαρμακοποιία 10<sup>η</sup> έκδοση) που πρέπει να περιέχει το λιγότερο 0.05% αιθέριο έλαιο (AFNOR 1992). Έχουν όμως απομονωθεί και άλλα συστατικά. Σήμερα χρησιμοποιείται παραδοσιακά για την θεραπεία νευροτονικών συμπτωμάτων κυρίως σε παιδιά και ηλικιωμένους, καθώς και για διευκόλυνση της πέψης (Bruneton 1998).

Τα φύλλα προσδίδουν ένα λεπτό άρωμα σε αρκετά πιάτα, λάδια, αρωματικά ξύδια, λικέρ (benedictine, charteuse), χαλαρωτικά μπάνια, ανακούφιση από τσιμπήματα εντόμων. Ως ρόφημα είναι ηρεμιστικό και

τονωτικό. Το τσάι (έγχυμα) πιστεύεται ότι δίνει μακροβιότητα και κατευνασμό του πονοκέφαλου. Στην Ελλάδα δεν υπάρχουν καλλιέργειες μελισσόχορτου και όποιες ποσότητες διακινούνται προέρχονται από την συλλογή αυτοφυών πληθυσμών (Πολυσίου Μ. et al, 2002).

Το γένος *Melissa officinalis* L. περιλαμβάνει 3 υποείδη με διαφορετικό χημειότυπο, τα *officinalis*. (2n=32), με κύρια συστατικά αιθέριου ελαίου κιτρονελάλη, β-καρυοφυλλένιο, νεράλη, d-γερμακρένιο, γερανιάλη-δικυκλο (Bruneton 1998), *altissima* (Sibth. et Smith) (24=64) με κύρια συστατικά β-κουμπεμπένιο, τερπινολένιο, 3-καρένιο, γ-τερπινένιο, β-καρυοφυλλένιο, Τ-μουουρολόλιο (Dawson et al 1988) και *inodora* (Bornm.) Bornm με κύρια συστατικά σιτράλ (γερανιάλη=νεράλ), β-κουμπεμπένιο, β-καρυοφυλλένιο, α-καδιινόλ (Sarer et Kokdil 1991). Αυτοφύεται στη Νότια Ευρώπη και στις παραμεσόγειες Χώρες. Στην Ελλάδα το μελισσόχορτο συναντάται από την επιφάνεια της θάλασσας μέχρι αρκετά μεγάλο υψόμετρο (800 m) σε υπήνεμα και δροσερά μέρη (Stride 1980). Προτιμά εδάφη γόνιμα, με χούμο και αρκετή υγρασία. Το φυτό είναι πολυετής πόα και αναπτύσσεται σε τούφες (Εικ.2)



Εικόνα 2: Μελισσόχορτο στο στάδιο της βλαστικής ανάπτυξης.

Εικόνα 3: λεπτομέρειες ώριμου βλαστού και φύλλων. Διακρίνεται το τετράγωνο σχήμα και το χνούδι στους βλαστούς, η σταυρωτή διάταξη των φύλλων, η μορφή τους, καθώς και η χαρακτηριστική «γκοφρέ» επιφάνεια του ελάσματος.

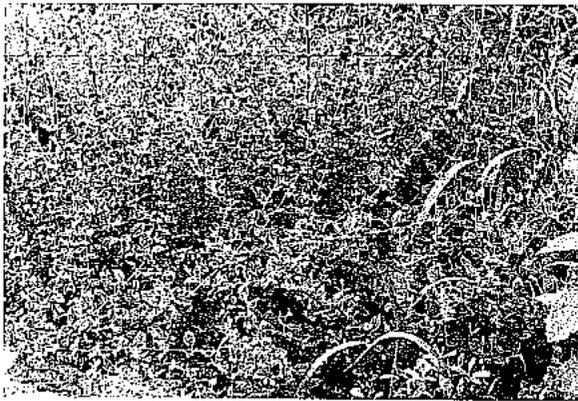
Την δρόγη συνιστούν τα φύλλα του φυτού (Γαλλική Φαρμακοποιία 10<sup>η</sup> έκδοση) που πρέπει να περιέχει το λιγότερο 0.05% αιθέριο έλαιο (AFNOR 1992). Έχουν όμως απομονωθεί και άλλα συστατικά. Σήμερα χρησιμοποιείται παραδοσιακά για την θεραπεία νευροτονικών συμπτωμάτων κυρίως σε παιδιά και ηλικιωμένους, καθώς και για διευκόλυνση της πέψης (Bruneton 1998).

Τα φύλλα προσδίδουν ένα λεπτό άρωμα σε αρκετά πιάτα, λάδια, αρωματικά ξόδια, λικέρ (benedictine, chartreuse), χαλαρωτικά μπάνια, ανακούφιση από τσιμπήματα εντόμων. Ως ρόφημα είναι ηρεμιστικό και τονωτικό. Το τσάι (έγχυμα) πιστεύεται ότι δίνει μακροβιότητα και κατευνασμό του πονοκέφαλου. Στην Ελλάδα δεν υπάρχουν καλλιέργειες μελισσόχορτου και όποιες ποσότητες διακινούνται προέρχονται από την συλλογή αυτοφυών πληθυσμών (Πολυσίου Μ. et al, 2002).

Το γένος *Melissa officinalis* L. περιλαμβάνει 3 υποείδη με διαφορετικό χημειότυπο, τα *officinalis*. (2n=32), με κύρια συστατικά αιθέριου ελαίου κιτρονελάλη, β-καρυοφυλλένιο, νεράλη, d-γερμακρένιο, γερανιάλη-δικυκλο (Bruneton 1998), *altissima* (Sibth. et Smith) (24=64) με κύρια συστατικά β-κουμπεμπένιο, τερπινολένιο, 3-καρένιο, γ-τερπινένιο, β-καρυοφυλλένιο, Τ-μουουρολόλιο (Dawson et al 1988) και *inodora* (Bornm.) Bornm με κύρια συστατικά σιτράλ (γερανιάλη=νεράλ), β-κουμπεμπένιο, β-καρυοφυλλένιο, α-καδιινόλ (Sarer et Kokdil 1991). Αυτοφύεται στη Νότια Ευρώπη και στις παραμεσόγειες Χώρες. Στην Ελλάδα το μελισσόχορτο συναντάται από την επιφάνεια της θάλασσας μέχρι αρκετά μεγάλο υψόμετρο (800 m) σε υπήνεμα και δροσερά μέρη (Stride 1980). Προτιμά εδάφη γόνιμα, με χούμο και αρκετή υγρασία. Το φυτό είναι πολυετής πόα και αναπτύσσεται σε τούφες (Εικ. 2). Διαχειμάζει στο έδαφος με ριζώματα. Η ρίζα κατ' αρχήν είναι πασαλώδης, γρήγορα όμως χάνει τον αρχικό της χαρακτήρα διότι εκπτύσσει ριζώματα σε οριζόντια ανάπτυξη κοντά στην επιφάνεια του εδάφους. Οι βλαστοί είναι διακλαδιζόμενοι, τετράγωνοι, πράσινοι και φέρουν αδενικές και μη αδενικές τρίχες. Τα φύλλα είναι έμμισχα, εκφύονται αντίθετα, είναι ωσειδή, οξύληκτα, οδοντωτά, με γκοφρέ επιφάνεια, τραχέα στην αφή και έχουν έντονο πράσινο σκούρο χρώμα (Εικ. 3). Τα άνθη, μικρά και λευκά, εκφύονται στις μασχάλες των φύλλων κατά σπονδύλους, με βράκτεια φυλλοειδή (Εικ. 4).

Ο κάλυκας είναι δίχειλος, το ανώτερο χείλος επίπεδο με 3 βραχείς οδόντες, το κατώτερο χείλος με δύο οδόντες. Η στεφάνη είναι δίχειλη, λευκή μέχρι ωχροκίτρινη όταν είναι νέα, μαραμμένη είναι ωχρορόδινη. Ανθίζει αρχές καλοκαιριού. Οι σπόροι είναι μικρά κάρνα, ωσειδείς έως πολυγωνικοί, λείοι, μαύροι, γυαλιστεροί.

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η διερεύνηση ντόπιου γενετικού υλικού όσον αφορά την ποσότητα και ποιότητα δρόγης με σκοπό την απόδοση στην καλλιέργεια κατάλληλου πολλαπλασιαστικού υλικού.



**Εικόνα 4.** Φυτό του *Melissa officinalis* subsp. *altissima* στο στάδιο της ανθοφορίας στο Αγρόκτημα του ΤΕΙΘ. Διακρίνεται ο πλούτος της βλάστησης.



**Εικόνα 5.** Φοιτητές του Τμήματος Φυτικής Παραγωγής του ΤΕΙΘ στον πειραματικό αγρό όπου παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των ζιζανίων με τσάπισμα.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### Φυτικό υλικό

Ως πειραματικό υλικό χρησιμοποιήθηκε το μελισσόχορτο (*Melissa officinalis* subsp. *altissima* L. *Lamiaceae*).

Σπέρματα του φυτού συλλέχθηκαν από αυτοφνή άτομα στην περιοχή Κρυοπηγή Χαλκιδικής τα οποία σπάρθηκαν σε σπορείο στο θερμοκήπιο του ΤΕΙΘ. Όταν τα φυτάρια απέκτησαν 3-4 φύλλα μεταφτεύθηκαν στο Αγρόκτημα του ΤΕΙΘ σε κυψελωτή διάταξη (Εικ. 5). Στην καλλιέργεια δεν εφαρμόστηκε βασική λίπανση παρά μόνο επιφανειακή όταν τα φυτά είχαν εγκατασταθεί, όπως είναι στην εικόνα 5. Για την λίπανση χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα F-Top της Εταιρείας ΛΥΔΡΑ Ελλάς του οποίου η σύνθεση κατ' ελάχιστον έχει ως εξής: ολικό άζωτο (νιτρικό-αμμωνιακό-ουρία) 20%, διαθέσιμος φώσφορος ( $P_2O_5$ ) 20%, διαλυτό κάλι ( $K_2O$ ) 20%, ενισχυμένο με τα ιχνοστοιχεία (χημική μορφή) σίδηρο ( $Fe_2O_3$ ), μαγγάνιο (Mn), ψευδάργυρο (Zn), μαγνήσιο (Mg), χαλκό (Cu), μολυβδαίνιο (Mo) και βόριο (B), 5.5 gr ανά φυτό. Τοποθετήθηκε σύστημα στάγδην άρδευσης και γινόταν τακτικά καθάρισμα των ζιζανίων. Όταν τα φυτά ευρίσκονταν στη ανθοφορία ληφθήκαν οι παρατηρήσεις του ύψους, συγκομίσθηκαν και μεταφέρθηκαν σε υπόστεγο χώρο για αποξήρανση όπου και συνεχίστηκε η περαιτέρω μελέτη.

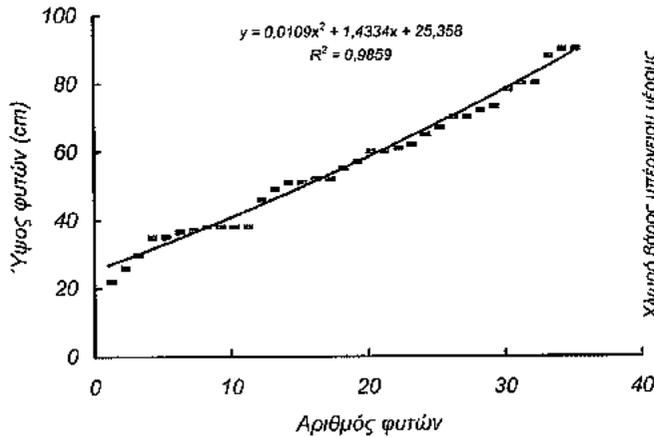
### Στατιστική ανάλυση

Η σύγκριση των παραμέτρων του πειράματος έγινε με την εφαρμογή της ανάλυσης παλινδρόμησης.

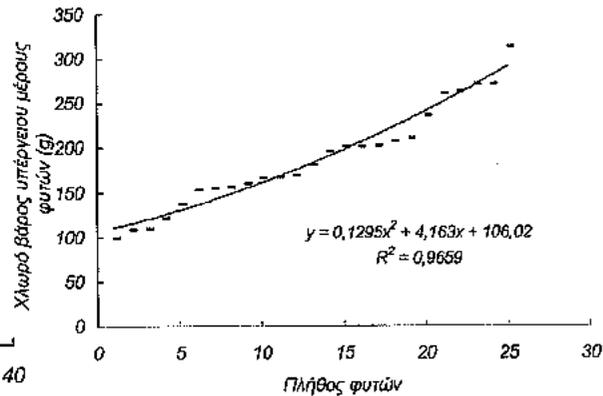
Ένας άξονας στο διάγραμμα παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκε για την περιεκτικότητα του Cu στο έδαφος και ένας για τις τιμές της εξεταζόμενης παραμέτρου. Κάθε σημείο στο γράφημα αναπαριστά τη μέση τιμή της παραμέτρου στην αντίστοιχη περιεκτικότητα του εδάφους σε Cu. Υπολογίστηκε η κλίση (b), το σημείο τομής (a) και ο συντελεστής συσχέτισης (r). Για τον έλεγχο των τιμών που διέφεραν σημαντικά από το 0 και τις κλίσεις που διέφεραν περισσότερο από 1, καθορίστηκαν όρια εμπιστοσύνης με την τιμή t για n-2 βαθμούς ελευθερίας για το a και b με πιθανότητα 95%. Για τις παραμέτρους, που η τιμή αναφερόταν σε % ποσοστό, χρησιμοποιήθηκε το z κριτήριο. Ακόμη, δημιουργήθηκαν πίνακες συσχέτισης για την αλληλεπίδραση παραγόντων (Steel and Torrie 1960).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

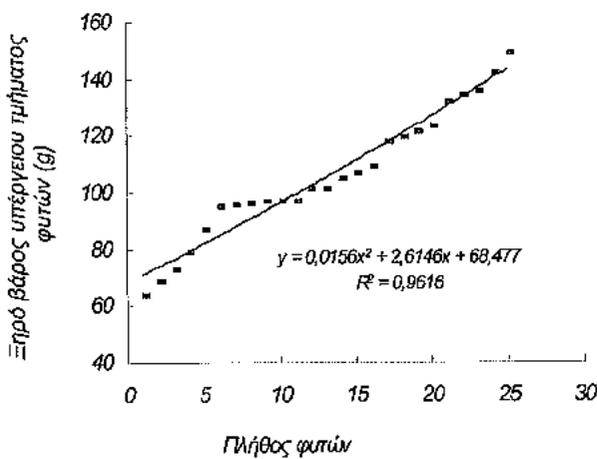
Το ύψος των φυτών κυμάνθηκε από 22 cm έως 90 cm με μέσο όρο  $55.79 \pm 18.85$  cm συντελεστή παραλλακτικότητας 37% (Σχ. 1).



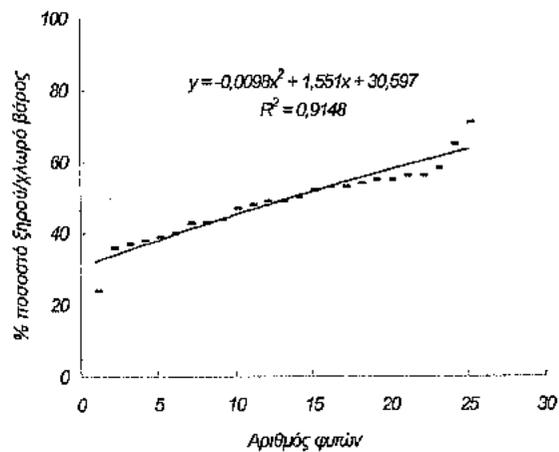
Σχήμα 1. Διακύμανση του ύψους των φυτών του μελισσόχορτου στον πληθυσμό.



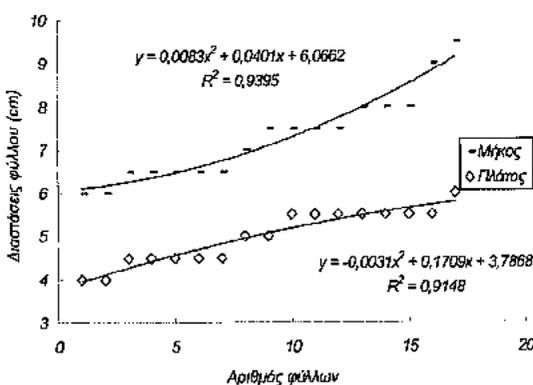
Σχήμα 2. Διακύμανση του χλωρού βάρους των φυτών του μελισσόχορτου στον πληθυσμό.



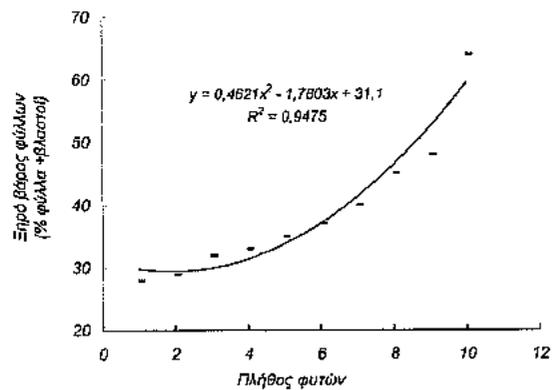
Σχήμα 3. Διακύμανση του ξηρού βάρους υπέργειου τμήματος ανά φυτό του μελισσόχορτου στον πληθυσμό.



Σχήμα 4. Διακύμανση της αναλογίας του ξηρού/χλωρού βάρους των φυτών του μελισσόχορτου στον πληθυσμό.



Σχήμα 5. Μήκος και πλάτος των ώριμων φύλλων του μελισσόχορτου



Σχήμα 6. Εκατοστιαία αναλογία φύλλων/ βλαστούς στο μελισσόχορτο

Το χλωρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών κυμάνθηκε από 99.03 g έως 313.64 g ανά φυτό με μέσο όρο  $188.75 \pm 56.73$  g ανά φυτό και συντελεστή παραλλακτικότητας 30% (Σχ. 2).

Το ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος ανά φυτό κυμαίνεται από 63.63 έως 149.02 g/φυτό με μέσο όρο  $105.91 \pm 22.67$  g/φυτό και συντελεστή παραλλακτικότητας 21% (Σχ. 3).

Η αναλογία ξηρό/χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος με ξήρανση σε σκιά κυμαίνεται από 24% έως 71% με μέσο όρο  $48.6 \pm 9.99$  % και συντελεστή παραλλακτικότητας 21% (Σχ. 4). Ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ χλωρού και ξηρού βάρους υπέργειου τμήματος ανά φυτό είναι 0.94.

Οι διαστάσεις των ώριμων φύλλων διέφεραν μεταξύ τους (Σχ. 5).

Το μήκος κυμαίνονταν από 6.0-9.5 cm με μέσο όρο  $7.29 \pm 1.0$  cm και συντελεστή παραλλακτικότητας 14%. Το πλάτος κυμαίνονταν από 4.0-6.0 cm με μέσο όρο  $5.0 \pm 0.61$  cm και συντελεστή παραλλακτικότητας 12%.

Η εκατοστιαία αναλογία φύλλων/βλαστούς κυμαίνονταν από 28% έως 64% με μέσο όρο  $39.1 \pm 10.9$  % και συντελεστή παραλλακτικότητας 28% (Σχ. 6).

Το αιθέριο έλαιο (Σχ. 7) στα φύλλα του μελισσόχορτου κυμάνθηκε από 0.16 ml / 100g ξ. β. έως 0.33 ml / 100g ξ. β. με μέσο όρο  $0.24 \pm 0.07$  ml/100g ξ. β. και συντελεστή παραλλακτικότητας 29% ενώ στους βλαστούς αντίστοιχα κυμάνθηκε από 0.01 ml / 100g ξ. β. έως 0.05 ml / 100g ξ. β. με μέσο όρο  $0.30 \pm 0.02$  ml / 100g ξ. β. συντελεστή παραλλακτικότητας 67%.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύμφωνα με δεδομένα του ΙΤΕΙΡΜΑΙ το μελισσόχορτο το πρώτο χρόνο καλλιέργειας παράγει 600 Kg/στρέμμα υπέργειο τμήμα χλωρό, 240 Kg/στρέμμα χλωρά φύλλα (40%) και 50-60 Kg/στρέμμα ξερά φύλλα (20-25%).

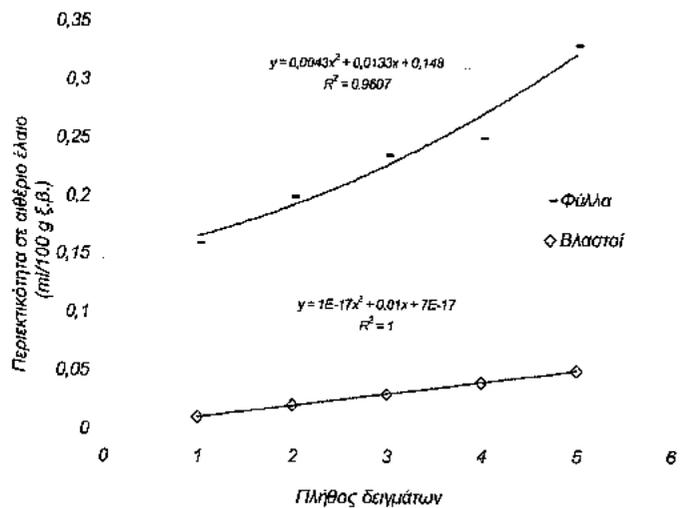
Το δεύτερο έτος και τα επόμενα παράγει την πρώτη κοπιά 1200 Kg/στρέμμα υπέργειο τμήμα χλωρό, 600 Kg/στρέμμα χλωρά φύλλα (50%) και 150 Kg/στρέμμα ξερά φύλλα (25%). Ενώ την δεύτερη κοπιά παράγει 800 Kg/στρέμμα υπέργειο τμήμα χλωρό, 300-400 Kg/στρέμμα χλωρά φύλλα (50%) και 60-80 Kg/στρέμμα ξερά φύλλα (20%). Δηλαδή η καλλιέργεια του μελισσόχορτου ετησίως δίνει 2 τόνους /στρέμμα υπέργειο τμήμα χλωρό, 900-1000 Kg/στρέμμα χλωρά φύλλα (50%) και 210-230 Kg/στρέμμα ξερά φύλλα (25%).

Το ΙΤΕΙΡΜΑΙ προτείνει αποστάσεις μεταξύ των γραμμών 50-70 cm ενώ μεταξύ των φυτών 30-40 cm, στο Αγρόκτημα όμως του ΤΕΙΘ με φύτευση σε αποστάσεις 1.0X1.0 m τα υψηλοποδοτικά φυτά του πληθυσμού το δεύτερο έτος της καλλιέργειας είχαν καλύψει πλήρως την επιφάνεια του εδάφους. Επομένως θα πρέπει να υπολογίζονται από 3570-6670 φυτά στο στρέμμα.

Γίνεται φανερό από τα αποτελέσματα του πειράματος (πρώτο έτος της καλλιέργειας) ότι τα φυτά του πληθυσμού διαφέρουν πολύ μεταξύ τους ως προς τα χαρακτηριστικά που διαμορφώνουν το οικονομικό αποτέλεσμα της καλλιέργειας.

Το χλωρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών κυμάνθηκε από 99.03 g έως 313.64 g ανά φυτό με μέσο όρο  $188.75 \pm 56.73$  g ανά φυτό και συντελεστή παραλλακτικότητας 30%.

Με μ.ο. χλωρού βάρους υπέργειου τμήματος των φυτών 0.189 Kg/φυτό η απόδοση είναι 675-1261 Kg/στρέμμα (ανάλογα με το πλήθος των φυτών). Αν όμως επιλεγούν τα υψηλοποδοτικά φυτά (0.314 Kg/φυτό χλωρού βάρους υπέργειου τμήματος) αυτή ανέρχεται σε 1121-2094 Kg/στρέμμα η οποία με τον αριθμό φυτών που χρησιμοποιείται από το ΙΤΕΙΡΜΑΙ ξεπερνάει κατά πολύ την αναφερομένη απόδοση. Με 0.70 ποσοστό ξηρό/χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο στρέμμα ανέρχεται 785-1466 Kg ξηρό βάρος και με 0.64 ποσοστό ξερά φύλλα/βλαστούς η τελική δρόγη είναι 502-938 ξερά φύλλα στο στρέμμα η οποία υπερέρχει των δεδομένων του ΙΤΕΙΡΜΑΙ από 10-16 φορές.



Σχήμα 7. Περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο των φύλλων και των βλαστών που μελισσόχορτου

Η κατανάλωση του μελισσόχορτου γίνεται και ως φύλλα και ως κομμένα φυτά. Στη Γαλλία ανέρχεται σε 40-50 τόνους φύλλων και κομμένων φυτών. Η ζήτηση δεν είναι σταθερή. Η τιμή της δρόγης παραγωγή Γαλλίας είναι: φύλλα 7.0 €/Kg (παραγωγής Αλβανίας 4 €/Kg), ολόκληρα φυτά 2 €/Kg.

Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο είναι πολύ μικρή στον πληθυσμό σε σχέση με άλλα αρωματικά φυτά. Για παράδειγμα στη ρίγανη στο αγρόκτημα του ΤΕΙΘ έχουν επιλεγεί γενότυποι με περιεχόμενο αιθέριο έλαιο στα φύλλα και ταξιανθία 9.0-16.6 01ml / 100g ξ. β. (Kaniias et al 1998). Δεδομένου ότι η τιμή πώλησης του αιθέριου ελαίου του μελισσόχορτου είναι 271-4674 €/lt (Πολυσίου et al 2002) και με αυτή την πολύ μικρή περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο ίσως πάλι συμφέρει η εκμετάλλευση της καλλιέργειας για αιθέριο έλαιο αφού θα έχει επιτευχθεί η υψηλή στρεμματική απόδοση δρόγης. Θα πρέπει, βέβαια να επιλεγούν γενότυποι οι οποίοι να συγκεντρώνουν όλα τα επιθυμητά χαρακτηριστικά.

Επίσης δεν είναι γνωστό ο βαθμός συσχέτισης των ανωτέρω παραμέτρων μεταξύ του πρώτου και του δεύτερου έτους παραγωγής (Jonson and Franz 2000). Στη ρίγανη (Πάνου-Φιλοθέου et al 1997) η συσχέτιση της απόδοσης του δεύτερου έτους με εκείνη του πρώτου έτους συνδεόταν άμεσα με το μέγεθος των φυταρίων κατά την μεταφύτευση. Ενώ η συσχέτιση όλων των ατόμων του πληθυσμού ήταν 0.39, κατά κατηγορία μεγέθους φυταρίων κατά την μεταφύτευση διέφερε και μεγαλύτερο συντελεστή συσχέτισης είχαν τα φυτά που μεταφύτευθηκαν σε μεγάλο μέγεθος. Όμως τα πλέον υψηλοαποδοτικά ήταν τα μικρότερα κατά την μεταφύτευση και μάλιστα η κατηγορία αυτή υπερέιχε όλων των άλλων σε απόδοση κατά 40% (Πίν. 1).

**Πίνακας 1.** Επίδραση του μεγέθους φυταρίων κατά την μεταφύτευση στην απόδοση της καλλιέργειας.

A/a	Μέγεθος φυταρίων κατά την μεταφύτευση (cm)	Απόδοση 1 <sup>ου</sup> έτους (g ξηρού βάρους υπέργειου τμήματος /φυτό)	Απόδοση 2 <sup>ου</sup> έτους (g ξηρού βάρους υπέργειου τμήματος /φυτό)	Συντελεστής συσχέτισης απόδοσης 1 <sup>ου</sup> και 2 <sup>ου</sup> έτους
1	10	8.74±6.29	325.75±148.47	0.30
2	14	4.49±3.73	209.50±113.25	0.27
3	20	5.16±3.79	183.05±122.49	0.44
4	27	7.62±5.57	198.00±114.1	0.44

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μαζική επιλογή σαν μέθοδος βελτίωσης στο μελισσόχορτο μπορεί να είναι αποτελεσματική και να οδηγήσει σε στρεμματική αύξηση της δρόγης, όχι όμως και του αιθέριου ελαίου σημαντικά. Το μελισσόχορτο μπορεί να αξιοποιήσει γόνιμα, αρδευόμενα εδάφη και να αποτελέσει ενδιαφέρουσα εναλλακτική καλλιέργεια. Επίσης με το πολυετές χαρακτήρα μπορεί να «ξεκουράσει» το έδαφος.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- AFNOR 1992. Controle de la qualité des produits alimentaires-épices et aromates, 3e ed., AFNOR-DGCCRF, Paris.
- Bruneton, J. 1998. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes medicinales, 2<sup>e</sup> edition. Technique et Documentation (TEC et DOC), Lavoisier, Londres-Paris- New York.
- Dawson, S.W., Franich, R.A. et Meder, R. 1988. Essential oils of *Melissa officinalis* L. subsp. *altissima* (Sibth. et Smith) Arcang., Flavour and Fragrance J., 3, 167-170.
- Institut Technique Interprofessionnel des Plantes Medicinales, Aromatiques et Industrielles) (I.T.E.I.P.M.A.I.) 1992. *Melissa officinalis* L. Monographie. Angers, France.
- Jonson C.B. and Franz C. (eds) 2000. Breeding research on aromatic and medicinal plants. The Haworth Herbal Press. Herbal Press, Inc. NY, London, Oxford.
- Kaniias G., Souleles Chr., Loukis A. & Panou-Filothou E. 1998. Trace elements and essential oil composition in chemotypes of the aromatic plant *Origanum vulgare*. J. of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, vol. 227, nos 1-2, 23-29.
- Sarer, E. et Kokdil, G. 1991. Constituents of the essential oil from *Melissa officinalis* L. subsp. *inodora*, Planta medica, 57, 89-90.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1960. Principles and procedures of statistics. McGraw-Hill, New York.

- Πάνου-Φιλοθέου Ε., Φασούλας Α., Bellenot D. and Oger J.M., 1997. Επιλογή υψηλοποδοτικών γενοτύπων ρίγανης *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Link) με τη μέθοδο της κυβελωτής επιλογής. In: «Φαρμακευτικά και Αρωματικά φυτά», Ζ' Τριήμερο Εργασίας, Κύπρος, Πολιτιστικό Τεχνολογικό Ίδρυμα ΕΤΒΑ.
- Πάνου-Φιλοθέου Ε. 2002. Τα Αρωματικά φυτά. Διδακτικές σημειώσεις. Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης.
- Πολυσίου Μόσχος και Συνεργάτες, 2002. Επενδυτικές δυνατότητες στον τομέα αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών στην Ελλάδα. Αθήνα.
- Stride Arne 1980. Φυτά του Ολύμπου. Μουσείον Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας. Κηφισιά, Αθήνα.

## SUMMARY

Melissa (Lemon balm) is a well known medicinal plant. Fresh leaves add a delicate flavor to many dishes, oils, vinegars and liqueurs, provide a relaxing bath, soothe insect bites and make a sedative and tonic tea which has a reputation for giving longevity and soothes headaches, indigestion and nausea. Extracts of Melissa are antiviral and help clean and heal wounds by starving bacteria of oxygen. The refreshing, antidepressant essential oil helps some eczema and allergy sufferers. Leaves must content at least 0.05% essential oil. In order to be used in the culture selective clones of Melissa economics characteristics of he plant were studied, which are forming the quantity and the quality of the product. It was found that: the height of the plant was  $55.79 \pm 18.85$  cm. The length of the leaves plate was  $7.29 \pm 1.0$  cm and it's width  $5.0 \pm 0.61$  cm. The fresh weight was  $188.75 \pm 56.73$  g per plant, the dry weight was  $106.12 \pm 26.41$ , the proportion dry/fresh weight was  $48.6\% \pm 9.99$  and that of leaves/stems  $39.1\% \pm 10.9$ . The content of the leaves essential oil was  $0.24 \pm 0.07$  ml/100g d. w. and that of stems  $0.03 \pm 0.02$  ml/100g d. w. From the mentioned data is clear that there is big variance of the drogue characteristics and the selection of the major genotypes will be majorette the productivity of Melissa culture.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΝΔΟΣΥΣΤΑΔΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ  
ΣΤΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ ΕΝΟΣ ΔΑΣΟΥΣ**

**Αριστοτέλης Χ. Παπαγεωργίου<sup>(1)</sup>, Κοσμιμάδης Δημήτριος<sup>(1)</sup>, Ludger Leinemann<sup>(2)</sup>**

(1) Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Τμήμα Δασολογίας & Διαχείρισης Περιβάλλοντος & Φυσικών Πόρων, Πανταζίδου 193, 68200 Ορεστιάδα ([apapage@fmenr.duth.gr](mailto:apapage@fmenr.duth.gr))

(2) Abteilung Forstgenetik, Georg-August Universität Göttingen, Büsgenweg 2, D-37077 Göttingen, Γερμανία ([lleinem@gwdg.de](mailto:lleinem@gwdg.de))

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η γενετική ποικιλότητα των δασικών ειδών είναι ιδιαίτερα σημαντική για την προσαρμογή των δασικών πληθυσμών στο ολοένα μεταβαλλόμενο περιβάλλον τους. Η μεταφορά της γενετικής ποικιλότητας από τη μία γενιά στην άλλη διασφαλίζει την προσαρμοστικότητα των δασικών πληθυσμών στο διηλεκές. Το σύνολο των σπόρων που παράγεται από έναν πληθυσμό δασικών φυτών έχει συγκεκριμένη γενετική δομή, που εξαρτάται από τη γενετική ποικιλότητα των δέντρων γονέων και από το αναπαραγωγικό σύστημα. Οι ως τώρα έρευνες του αναπαραγωγικού συστήματος των δασικών ειδών έχουν γίνει κυρίως θεωρώντας την απόσταση μεταξύ των δέντρων ως την πιο βασική παράμετρο επηρεασμού της ικανότητας σταυρογονιμοποίησης των δέντρων σε μια συστάδα. Στην παρούσα εργασία εξετάζονται δύο περιπτώσεις, όπου η απόσταση δρα διαφορετικά. Στο μεσογειακό κυπαρίσσι (*Cupressus sempervirens*) βρέθηκε μείωση της ικανότητας σταυρογονιμοποίησης σε αραιές συστάδες, σε σχέση με άλλες πιο πυκνές, ενώ αντίστροφα στον ίταμο (*Taxus baccata*) η μεγάλη απόσταση των δέντρων σπορέων από τα αρσενικά δέντρα συνέβαλε στην αύξηση της σταυρογονιμοποίησης. Η διαφορά αυτή ανάμεσα στις δύο περιπτώσεις οφείλεται σε άλλους ενδοσυσταδικούς παράγοντες, πλην της απόστασης, όπως είναι η μείξη των ειδών σε ένα δάσος και η ηλικία και το μέγεθος των δέντρων. Χρειάζεται λοιπόν να θεωρήσουμε ένα σύνολο παραγόντων, προκειμένου να περιγράψουμε τη δυνατότητα ενός πληθυσμού να μεταφέρει τη γενετική του ποικιλότητα στην επόμενη γενιά. Η πληροφορία αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική για την επιλογή δέντρων για συλλογή σπόρων, αλλά και των κατάλληλων δασοκομικών μέτρων σε διαχειριζόμενα δάση και δάση ιδιαίτερου οικολογικού ενδιαφέροντος.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η γενετική ποικιλότητα μεταβάλλεται στο χρόνο και στο χώρο, επηρεαζόμενη από τους εξελικτικούς παράγοντες. Σημαντική είναι η σύνδεση που παρέχει η γενετική ποικιλότητα από τη μία γενιά στην άλλη, αποτελώντας με τον τρόπο αυτό την εγγύηση για την εξελικτική συνέχεια ενός πληθυσμού (Παπαγεωργίου κ.α. 2004). Η γενετική σύσταση των σπόρων που πέφτουν στο έδαφος, ή συλλέγονται από τον άνθρωπο με στόχο την αναδάσωση, επηρεάζεται από τη ροή αρσενικών γαμετών από άλλους πληθυσμούς, από το αναπαραγωγικό σύστημα στο σύνολό του, τη φυσική επιλογή σε επίπεδο γαμετών, τις μεταλλάξεις και τα τυχαία γεγονότα. Όλοι αυτοί οι παράγοντες αποτελούν ένα «γενετικό σύστημα» (Hattermer and Gillet 2000), του οποίου η λειτουργία εξασφαλίζει τη μεταφορά της γενετικής πληροφορίας στο μέλλον και την προσαρμογή ενός δασικού πληθυσμού στο περιβάλλον του.

Η μελέτη του τρόπου μεταφοράς της γύρης από τον αρσενικό γονέα στα θηλυκά άνθη των αποδεκτών της έχει ιδιαίτερη σημασία για την κατανόηση του αναπαραγωγικού συστήματος των δασικών ειδών και έχει αποτελέσει αντικείμενο μεγάλου αριθμού δημοσιεύσεων. Συνήθως εκτιμάται η απόσταση που μπορεί να διανύσει η γύρη (π.χ. Dow and Ashley 1996, Streiff et al. 1999.), το ποσοστό των γαμετών που γονιμοποιεί ένα θηλυκό γονέα και προέρχεται από αυτογονιμοποίηση (π.χ. Brown and Allard 1970, Ritland and Jain 1981) καθώς και η μελέτη της πατρότητας των σπόρων (π.χ. Hamrick and Schnabel 1985, Devlin and Elstrand 1990, Smouse et al. 2001, Austerlitz and Smouse 2001). Στις περισσότερες από τις εργασίες αυτές, η απόσταση μεταξύ των δέντρων θεωρείται ως η πιο βασική παράμετρος επηρεασμού του αναπαραγωγικού συστήματος των δέντρων σε μια συστάδα.

Διάφορα μαθηματικά μοντέλα και πρακτικές μετρήσεις θεωρούν ότι η γύρη των ανεμογαμών δέντρων είναι ικανή να διανύσει πολύ μεγάλες αποστάσεις, τόσο ανάμεσα σε πληθυσμούς, όσο και μέσα σε αυτούς (Koenig and Ashley 2003). Αυτό φαίνεται να ισχύει κυρίως για είδη κωνοφόρων (Ellstrand 1992), ενώ

σύμφωνα με άλλα δεδομένα θεωρείται ότι τα ανεμογαμή δέντρα δεν μπορούν πρακτικά να απομονωθούν γεωγραφικά (Wheeler and Jech 1992). Έτσι φαίνεται ότι η αυξημένη αυτή ικανότητα διασποράς της γύρης πρέπει να είναι η πιο αποφασιστική παράμετρος δημιουργίας ομοιομορφίας μεταξύ των νεφών γύρης και ποικιλότητας μέσα σε αυτά. Πέρα όμως από την απόσταση μεταξύ των δέντρων, άλλες παράμετροι όπως η φαινολογία της άνθησης, η χρονική και χωρική ασυμμετρία μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ανθέων και η διαφοροποίηση της παραγωγικότητας μεταξύ των δέντρων-σπορέων έχουν επίσης αναφερθεί ότι επηρεάζουν τη γενετική σύσταση των σπόρων στην επόμενη γενιά (Mitton 1992). Φαίνεται όμως ότι όλες αυτές οι παράμετροι έχουν όμως μειωμένο ρόλο σε σύγκριση με το ρόλο της διασποράς της γύρης.

Σύμφωνα με πρόσφατα εμπειρικά και πειραματικά δεδομένα (Knapp et al. 2001, Sork et al. 2002) αλλά και θεωρητικά μοντέλα (Satake and Iwasa 2002), η επικρατούσα άποψη ότι η γύρη μπορεί να καλύπτει μεγάλες αποστάσεις φαίνεται να μην ισχύει. Έτσι σε πολλές περιπτώσεις το μεγαλύτερο ποσοστό της γύρης δεν φτάνει μακρύτερα από μερικές δεκάδες μέτρα από την πηγή της. Με τον τρόπο αυτό, οι υπόλοιποι παράγοντες που αναφέρθηκαν πιο πάνω αποκτούν πλέον μεγάλη σημασία και η δράση του δημιουργεί μεγάλη ανομοιογένεια τόσο στα νέφη γύρης των δέντρων, όσο και στους απογόνους που θα αποτελέσουν τους μελλοντικούς πληθυσμούς.

Στην εργασία αυτή εξετάζεται η ποικιλότητα των νεφών γύρης και των απογόνων μεμονωμένων δέντρων μέσα σε πληθυσμούς των δέντρων *Cupressus sempervirens* και *Taxus baccata*, σχετικά με τη συσταδική δομή και το αναπαραγωγικό σύστημα. Σκοπός της εργασίας είναι να διαπιστωθεί ο ρόλος της απόστασης μεταξύ πηγής και αποδέκτη της γύρης στη γενετική σύσταση των απογόνων των δέντρων αυτών.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το μεσογειακό, ή κοινό κυπαρίσσι (*Cupressus sempervirens* L.) εμφανίζεται στη χώρα μας τόσο σε φυσικές όσο και σε τεχνητές συστάδες. Πρόκειται για μόνονοικο είδος που εμφανίζει σημαντική γενετική ποικιλότητα και διαφοροποίηση, ιδιαίτερα σε φυσικούς πληθυσμούς (Parageorgiou et al. 1994, Doulis et al. 1996, Parageorgiou et al. 1997, Ghosn et al. 2000). Έγινε συλλογή σπόρων από δέντρα-σπορείς σε δύο πληθυσμούς. Ο πληθυσμός «Αλεποχώρι» φύτευται στο Ν. Αχαιάς σε χαμηλό υψόμετρο, κάτω από ευνοϊκές εδαφοκλιματικές συνθήκες. Η συστάδα των κυπαρισσιών είναι αμιγής και πυκνή. Γενετικές έρευνες (Parageorgiou et al., 1994) έδειξαν ότι ο πληθυσμός αυτός έχει μικρή ποικιλότητα σε σχέση με άλλους ελληνικούς πληθυσμούς και προέρχεται πιθανότατα από μια ομάδα δέντρων με στενή γενετική βάση. Αντίθετα, ο δεύτερος πληθυσμός «Ρούβα», φύτευται σε μεγάλο υψόμετρο στον Ψηλορείτη (Ν. Ηρακλείου), όπου η συστάδα είναι αραιή και οι εδαφοκλιματικές συνθήκες αντίξοες. Η μεγάλη γενετική ποικιλότητα και η διαφοροποίησή του σε σχέση με τους τεχνητούς πληθυσμούς είναι ένδειξη φυσικής προέλευσης.

Από κάθε πληθυσμό επιλέχθηκαν 30 δέντρα, από τα οποία μαζεύτηκαν ώριμοι κώνοι. Από το σύνολο των δέντρων, τα 28 στον πληθυσμό «Αλεποχώρι» και τα 26 στον πληθυσμό «Ρούβα» έδωσαν εργαστηριακά αποτελέσματα. Για κάθε δέντρο εξετάστηκαν 10 σπόροι. Σε κάθε σπόρο έγινε διαχωρισμός και εξέταση δύο ιστών: του διπλοειδούς-μεγαγαμετόφυτου-για-τη-γενετική-περιγραφή-του-θηλυκού-γονέα-(Parageorgiou, 1998) και του εμβρύου. Για τις γενετικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκαν έξι ενζυμικά συστήματα (PGI-B, PGM-A, NDH-A, GDH-A, LAP-A και MDH-C). Τα πλήρη ονόματα των συστημάτων αυτών και οι εργαστηριακές διαδικασίες του διαχωρισμού και χρωματισμού τους δίνονται από τους Bergmann (1974), Cheliak and Pitel (1984) και Wendel and Weeden (1989).

Ο ίταμος (*Taxus baccata*) είναι δίοικο είδος με ευρεία εξάπλωση σε όλη την Ευρώπη, χωρίς όμως να εμφανίζει εκτεταμένους πληθυσμούς. Βρίσκεται κυρίως σε μείξη με άλλα δασοπονικά είδη. Η γενετική του ποικιλότητα έχει βρεθεί γενικά υψηλή (Lewandowski et al. 1992, Thoma 1992, Rajewski & Lange 1997, Rajewski et al. 2000). Για τη μελέτη του ίταμου επιλέχθηκε μία συστάδα στην περιοχή Reichensachsen στην επαρχία της Έσσης στη Γερμανία. Ο πληθυσμός που μελετήθηκε αποτελείται από 10 αρσενικά και 15 θηλυκά δέντρα διάσπαρτα σε πυκνή μείξη με την οξιά (*Fagus sylvatica*). Σε απόσταση 200 μέτρων από τη συστάδα αυτή δεν βρέθηκε άλλο άτομο ίταμου.

Έγινε συλλογή οφθαλμών και από τα 25 άτομα. Από τα 10 θηλυκά δέντρα έγινε συλλογή σπόρων μόνο από τα επτά, λόγω έλλειψης πληροκαρπίας, με 40 σπόρους από κάθε δέντρο. Έγινε ηλεκτροφόρηση αμύλου για τους οφθαλμούς και από τους σπόρους για το απλοειδές μεγαγαμετόφυτο και το έμβρυο. Χρησιμοποιήθηκαν έξι ενζυμικά συστήματα (ADH-A, PGI-B, GOT-B, PGM-A, IDH-B, SKD-B), των οποίων οι λεπτομέρειες δίνονται από την πιο πάνω αναφερόμενη βιβλιογραφία.

Από τα αποτελέσματα του εργαστηρίου υπολογίστηκαν οι συχνότητες γενοτύπων και αλληλομόρφων και για τα δύο είδη. Η ποικιλότητα εντός των συνόλων εκφράστηκε για κάθε γονιδιακό τύπο από τον αριθμό των

αλληλομόρφων ( $n$ ), το ποσοστό ετεροζυγωτών γενοτύπων ( $H_o$ ) και την αναμενόμενη ετεροζυγωτία κάτω από συνθήκες ισορροπίας ( $H_e$ ). Η διαφοροποίηση μεταξύ συνόλων υπολογίστηκε μέσω της γενετικής απόστασης ( $d_o$ ) (Gregorius 1974), της διαφοροποίησης ενός συνόλου από όλα τα άλλα ( $D_j$ ) και της μέσης διαφοροποίησης των υποσυνόλων ( $\delta$ ) (Gregorius and Roberds 1986).

Για την εκτίμηση του ποσοστού σταυροεικονίασης (μη αυτογονιμοποίησης) σε επίπεδο πληθυσμού χρησιμοποιήθηκε ο έμμεσος συντελεστής σταυρογονιμοποίησης ( $t_e$ ), που βασίζεται στο «μεικτό αναπαραγωγικό μοντέλο» (mixed mating model) (Allard and Workman 1963, Brown and Allard 1970), στη μενδελική αρχή του διαχωρισμού και στη σύγκριση της ετεροζυγωτίας ανάμεσα σε δύο γενιές (Parageorgiou 1995). Για την ανάλυση πατρότητας χρησιμοποιήθηκε η αρχή του αποκλεισμού και η εξέταση της υπόθεσης της γονιμοποίησης από τη γύρη ενός μόνο δέντρου.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

**Πίνακας 1:** Αναμενόμενη ετεροζυγωτία ( $H_e$ ) και διαφοροποίηση ( $D_j$ ) των νεφών γύρης και των οικογενειών σε δύο πληθυσμούς κυπαρισσιού.

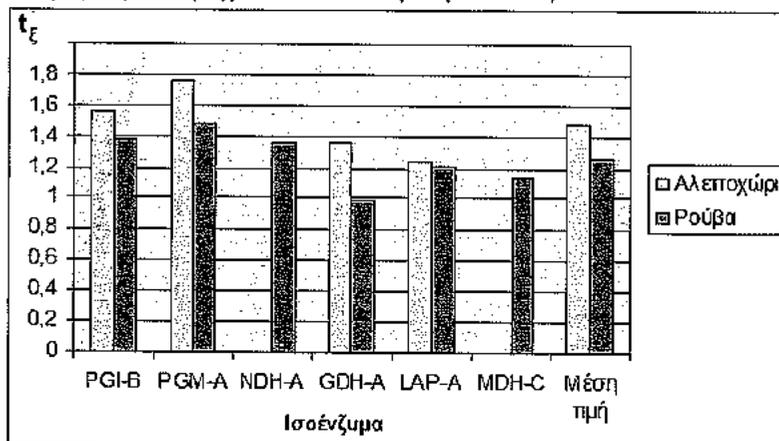
	Αλεποχώρι			Ρούβα			
	$H_e$ νέφη γύρης	$H_e$ οικογένειες	$D_j$ οικογένειες		$H_e$ νέφη γύρης	$H_e$ οικογένειες	$D_j$ οικογένειες
A1	0,053	0,030	0,142	P1	0,184	0,339	0,152
A2	0,123	0,213	0,090	P2	0,334	0,372	0,216
A3	0,220	0,197	0,135	P3	0,444	0,491	0,305
A4	0,163	0,138	0,101	P6	0,307	0,272	0,235
A5	0,082	0,155	0,102	P7	0,282	0,253	0,179
A6	0,189	0,190	0,104	P8	0,396	0,375	0,162
A7	0,069	0,118	0,136	P9	0,346	0,274	0,136
A9	0,225	0,203	0,066	P10	0,303	0,340	0,176
A10	0,233	0,217	0,077	P11	0,229	0,217	0,185
A11	0,202	0,281	0,163	P12	0,365	0,307	0,160
A12	0,128	0,246	0,070	P13	0,377	0,405	0,205
A13	0,127	0,263	0,122	P14	0,297	0,220	0,158
A15	0,185	0,153	0,110	P15	0,305	0,283	0,133
A16	0,160	0,142	0,061	P16	0,377	0,351	0,182
A17	0,236	0,258	0,196	P17	0,317	0,349	0,185
A18	0,192	0,176	0,061	P18	0,318	0,398	0,268
A19	0,234	0,178	0,083	P19	0,281	0,313	0,193
A20	0,267	0,197	0,039	P20	0,418	0,316	0,188
A22	0,240	0,208	0,098	P21	0,268	0,199	0,168
A23	0,190	0,178	0,105	P22	0,357	0,308	0,157
A24	0,216	0,179	0,130	P23	0,349	0,347	0,209
A25	0,290	0,239	0,094	P24	0,253	0,252	0,194
A26	0,230	0,164	0,121	P25	0,301	0,343	0,186
A27	0,201	0,140	0,084	P26	0,322	0,259	0,179
A28	0,233	0,142	0,076	P28	0,377	0,254	0,145
A29	0,223	0,121	0,082	P30	0,189	0,197	0,161
A30	0,243	0,219	0,156				
Μέση πμή	0,192	0,183	0,104	Μέση πμή	0,319	0,309	0,185

Για το κυπαρίσσι, οι δύο πληθυσμοί που μελετήθηκαν διέφεραν πολύ μεταξύ τους ως προς όλες τις παραμέτρους (πίνακας 1). Τα νέφη γύρης και οι ετεροθαλείς οικογένειες εμφάνισαν μέτρια διαφοροποίηση

μεταξύ τους, ενώ παρατηρήθηκαν και διαφορές στην ποικιλότητα εντός οικογενειών και νεφών γύρης. Ο φυσικός πληθυσμός «Ρούβα» εμφανίζει τη μεγαλύτερη ετερογένεια, καθώς έχει και σημαντικά υψηλότερη ποικιλότητα εντός του ενήλικου πληθυσμού του. Ειδικά για τον πληθυσμό αυτόν οι οικογένειες P30, P21 και P11 και τα αντίστοιχα νέφη γύρης έδωσαν πολύ χαμηλά μεγέθη ποικιλότητας. Τα δέντρα P30, P21 και P11 βρίσκονται σχετικά απομονωμένα σε σχέση με τα άλλα δέντρα του πληθυσμού «Ρούβα», οπότε μπορεί να υποθεθεί ότι ο αριθμός των αρσενικών γονέων των οικογενειών τους πρέπει να είναι περιορισμένος.

Τα ποσοστά σταυρογονιμοποίησης ( $t_e$ ) που εμφανίζονται στο γράφημα 1 έδωσαν τιμές μεγαλύτερες από τη μονάδα (1) για όλες τις γονιδιακές θέσεις σε όλους τους πληθυσμούς. Αυτές οι τιμές δεν φαίνονται να έχουν νόημα, καθώς η παράμετρος  $t_e$  θα έπρεπε να κυμαίνεται μεταξύ του 0 (απόλυτη αυτογονιμοποίηση) και του 1 (απόλυτη σταυρογονιμοποίηση). Οι τιμές που παρατηρήθηκαν πιθανόν να οφείλονται σε απόκλιση από την αναμενόμενη Μενδελική διάσπαση και σε μη εφαρμογή του μεικτού αναπαραγωγικού προτύπου, με πιο προφανή αιτία την ανομοιογένεια των νεφών της γύρης που γονιμοποίησαν τα δέντρα. Για τους λόγους αυτούς δεν είναι δυνατή η σύγκριση των εκτιμήσεων της σταυρογονιμοποίησης για το κυπαρίσσι με αυτές που αναφέρονται βιβλιογραφικά για άλλα είδη, αλλά μπορούν να συγκριθούν τα επίπεδα σταυρογονιμοποίησης των δύο πληθυσμών που μετρήθηκαν. Έτσι (γράφημα 1), σε όλες τις γονιδιακές θέσεις όπου η σύγκριση αυτή είναι δυνατή, ο πυκνός πληθυσμός «Αλεποχώρι» εμφανίζει υψηλότερες τιμές σταυρογονιμοποίησης από τον αραιό πληθυσμό «Ρούβα».

Γράφημα 1: Ποσοστά σταυρογονιμοποίησης σε επίπεδο πληθυσμών κυπαρισσιού



Στην περίπτωση του ίταμου, η διαφοροποίηση μεταξύ των οικογενειών και των νεφών γύρης των επτά θηλυκών δέντρων ήταν σε πολύ ψηλά επίπεδα, όπως και οι διαφορές στην ποικιλότητα μέσα στα νέφη γύρης (πίνακας 2). Ιδιαίτερα χαμηλή ποικιλότητα εμφάνισαν τα νέφη γύρης των δέντρων 4, 8 και 17. Σύμφωνα με το χάρτη της συστάδας, τα δέντρα αυτά βρίσκονται πολύ κοντά σε άλλα αρσενικά, ενώ αντίθετα αυτά που είναι πλέον απομονωμένα (10, 11, 12, 14) εμφανίζουν μεγαλύτερη ποικιλότητα.

Reichensachsen			
	He	n	Dj
4	0,113	1,6	0,527
8	0,246	1,5	0,339
10	0,430	2,6	0,109
11	0,424	2,6	0,104
12	0,437*	1,8*	0,118*
14	0,430	2,6	0,112
17	0,229	2,0	0,362
Μέση τιμή	0,330	2,1	0,239

Πίνακας 2: Αναμενόμενη ετεροζυγωτία (He), μέσος αριθμός αλληλομόρφων (n) και διαφοροποίηση (Dj) των νεφών γύρης σε πληθυσμό ίταμου (\*οι υπολογισμοί έγιναν χωρίς τον συνυπολογισμό των γονιδιακών τόπων ADH και SKD).

Σύμφωνα με τα δεδομένα και με τη μέθοδο του αποκλεισμού βρέθηκε ότι το 28% της γύρης που γονιμοποίησε τα θηλυκά δέντρα προέρχεται από αρσενικούς γονείς έξω από τη συστάδα που μελετήθηκε. Αυτό το ποσοστό είναι το ελάχιστο δυνατό, λαμβάνοντας υπόψη και την εισροή γύρης από «εξωτερικούς» γονείς με παρόμοια

γενετική σύσταση με αυτή των γονέων που βρίσκονται εντός της συστάδας.

Για τα θηλυκά δέντρα που εμφανίζουν χαμηλή ποικιλότητα στα νέφη γύρης που τα γονιμοποίησαν, πιθανολογείται η γονιμοποίησή τους από λίγα γειτονικά αρσενικά δέντρα, ή ακόμα και ένα μόνο. Αυτή η

υπόθεση στηρίζεται στις γενετικές αποστάσεις που προκύπτουν ανάμεσα στα δέντρα αυτά και τα σύνολα των γαμετών που παράγονται από όλα τα αρσενικά δέντρα. Έτσι, οι γενετικές αποστάσεις (πίνακας 3) σχετίζονται με τις πραγματικές αποστάσεις στη συστάδα. Οι μικρότερες τιμές που εμφανίζονται για κάθε θηλυκό γονέα απέχουν σημαντικά από τις υπόλοιπες και δείχνουν τη γενετική ομοιότητα των νεφών γύρης με τη γύρη που παράγεται από συγκεκριμένα αρσενικά δέντρα.

Από τον χάρτη της συστάδας διαπιστώνεται ότι τα αρσενικά δέντρα, των οποίων οι παραγόμενοι γαμέτες βρίσκονται γενετικά πιο κοντά στα νέφη γύρης των συγκεκριμένων θηλυκών δέντρων είναι και τα άμεσα γειτονικά τους. Άρα ενισχύεται σημαντικά η υπόθεση ότι για κάποια δέντρα που βρίσκονται σε πολύ κοντινή απόσταση με άλλα, η γονιμοποίηση γίνεται από έναν περιορισμένο αριθμό γειτονικών αρσενικών γονέων.

		Θηλυκοί γονείς		
		4	8	17
Αρσενικοί γονείς	2	0,204	0,263	0,468
	3	0,071	0,429	0,513
	6	0,121	0,279	0,385
	7	0,271	0,363	0,385
	9	0,354	0,029	0,331
	13	0,308	0,429	0,474
	16	0,517	0,342	0,109
	19	0,350	0,346	0,226
	21	0,463	0,256	0,459
	22	0,213	0,179	0,400

Πίνακας 3: Γενετικές αποστάσεις ανάμεσα σε συγκεκριμένους θηλυκούς γονείς και όλους τους αρσενικούς γονείς της συστάδας.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα δεδομένα της μελέτης αυτής αφορούν δύο περιπτώσεις δασικών ειδών στα οποία η απόσταση μεταφοράς της γύρης φαίνεται να καθορίζει σημαντικά την ποικιλότητα μέσα στις παραγόμενες οικογένειες και τη διαφοροποίηση μεταξύ τους. Στο μεσογειακό κυπαρίσσι (*Cupressus sempervirens*) βρέθηκε μείωση της ικανότητας σταυρογονιμοποίησης σε αραιές συστάδες, σε σχέση με άλλες πιο πυκνές, ενώ αντίστροφα στον ίταμο (*Taxus baccata*) η μεγάλη απόσταση των δέντρων σπορέων από τα αρσενικά δέντρα συνέβαλε στην αύξηση των αρσενικών γονέων που συμμετέχουν στα ατομικά νέφη γύρης.

Και στις δύο περιπτώσεις, το μεγαλύτερο ποσοστό της γύρης φαίνεται να μην μεταφέρεται σε μεγάλες αποστάσεις, όπως αναφέρεται σε πολλές μελέτες (Knapp et al. 2001, Sork et al. 2002, Satake and Iwasa 2002), αλλά να δημιουργεί έναν κύκλο έντονης επικονίασης διαμέτρου μερικών δεκάδων μέτρων, ανάλογα βέβαια και με τη μορφολογία της γύρης κάθε είδους. Παρά το γεγονός αυτό, πιθανόν να υπάρχει πάντα ένα μικρότερο ποσοστό γύρης που καλύπτει μεγάλες αποστάσεις και φαίνεται να είναι αρκετό για να ομογενοποιεί σε μεγάλο βαθμό τα νέφη γύρης πολλών δασικών ειδών και των οικογενειών που προκύπτουν (βλέπε Streiff et al. 1999, Dow and Ashley 1998, Sork et al. 1993, Schnabel and Hamrick 1990, Sork et al. 1999). Αυτό φαίνεται ιδιαίτερα στην περίπτωση του ίταμου, όπου τουλάχιστον το 28% από την γύρη που έφτασε και γονιμοποίησε τα δέντρα της εξεταζόμενης συστάδας μεταφέρθηκε σε απόσταση μεγαλύτερη των 200μ. πυκνού δάσους οξιάς. Άρα το θέμα της απόστασης μεταφοράς της γύρης στα δασικά δέντρα δεν είναι απόλυτα γνωστό και χρήζει παραπέρα έρευνας (Koenig and Ashley 2003), ιδιαίτερα με την αξιοποίηση νέων πολυοικίλων μοριακών δεικτών και στατιστικών μεθόδων.

Σημαντικό παραμένει το ερώτημα του ορίου μεταφοράς της γύρης για τη διαμόρφωση αρκετής ποικιλότητας στις οικογένειες των απογόνων που θα προκύψουν. Τα δεδομένα μας έδειξαν δύο αντικρουόμενες περιπτώσεις. Η απομόνωση κάποιων δέντρων στους πληθυσμούς του κυπαρισσιού συνετέλεσε στη μείωση των αρσενικών γονέων που το γονιμοποίησαν και στη μείωση της ποικιλότητας των παραγόμενων απογόνων, ενώ αντίστροφα στον ίταμο τα απομονωμένα άτομα έδωσαν απογόνους με μεγαλύτερη ποικιλότητα. Και στα δύο είδη, το μεγαλύτερο μέρος της γύρης μεταφέρεται σε κοντινή απόσταση, ενώ ένα μικρότερο μέρος της διασπείρεται μακρύτερα. Η διαφορά ανάμεσα στις δύο περιπτώσεις είναι η μείξη της συστάδας, η πυκνότητά της, το αναπαραγωγικό σύστημα και η πιο έντονη «κομαδοποίηση» των ατόμων στο χώρο και στο χρόνο. Έτσι φαίνεται ότι η απόσταση παίζει τον πιο καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση της γενετικής ποικιλότητας της επόμενης γενιάς όταν οι υπόλοιποι ενδοσυσταδικοί παράγοντες

δεν εμποδίζουν ή διαφοροποιούν την κίνησή της. Όταν αντίθετα υπάρχουν εμπόδια που δεν αφήνουν τη γύρη να κινηθεί ομοιόμορφα στο χώρο και το χρόνο, τότε η σημασία της απόστασης μετριάζεται και άλλοι παράγοντες γίνονται πιο σημαντικοί.

Συμπερασματικά πρέπει να συνεκτιμηθεί ένα σύνολο παραγόντων, προκειμένου να περιγραφεί η δυνατότητα ενός πληθυσμού να μεταφέρει τη γενετική του ποικιλότητα στην επόμενη γενιά. Οι παράγοντες αυτοί αφορούν τη χωρική κατανομή των ατόμων του πληθυσμού, την πυκνότητά του, το αναπαραγωγικό σύστημα, την ύπαρξη ή απουσία φυλετικής ασυμμετρίας στο χρόνο και στο χώρο, την τοπογραφία της συστάδας και τη μείξη με άλλα δασοπονικά είδη. Η πληροφορία αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική για την επιλογή δέντρων για συλλογή σπόρων, αλλά και για τη λήψη των κατάλληλων δασοκομικών μέτρων σε διαχειριζόμενα δάση, σποροπαραγωγές συστάδες και δάση ιδιαίτερου οικολογικού ενδιαφέροντος. Περισσότερες εξειδικευμένες έρευνες για τη μελέτη συγκεκριμένων διακυμάνσεων της αναπαραγωγικής διαδικασίας των δασικών δέντρων στο χώρο και στο χρόνο είναι απαραίτητες, τόσο όσο αφορά σε φυσικούς όσο και σε ανθρωπογενείς παράγοντες.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Allard, R.W., and Workman, P.L., 1963. Population studies in predominantly self-pollinated species. IV. Seasonal fluctuations in estimated values of genetic parameters in lima bean populations. *Evol.* 17, 470-480.
- Austerlitz, F., and Smouse, P.E., 2001. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. II. Relation between  $fft$ , pollen dispersal, and inter-female distance. *Genetics* 157, 851-857.
- Bergmann, F., 1974. The genetics of some isoenzyme systems in spruce endosperm (*Picea abies*). *Genetica* 6, 353-360.
- Brown, A.H.D., and Allard, R.W., 1970. Estimation of the mating system in open-pollinated maize populations using isozyme polymorphisms. *Genetics* 66, 133-145.
- Cheliak, W.M., and Pitel, J.A., 1984. Techniques for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Forest Tree Species. Information Report PI-X-42. Chalk River, Ontario. Petawawa National Forestry Institute, Canadian Forestry Service.
- Devlin, B., and Ellstrand, N.C., 1990. The development and application of a refined method for estimating gene flow from angiosperm paternity analysis. *Evolution* 44, 248-259.
- Doulis, A., Panetsos, K., Hajaje, H., and Gagari, P., 1996. Germination and seedling photosynthetic drought responses of chemotaxonomically distinct *Cupressus sempervirens* provenances from Crete, Greece. In: Radoglou, K., (ed.). Extended Abstracts Collection of the International Workshop of Resource Utilization from Cell to Canopy. Eurosilva, Thessaloniki, Greece, p. 139-44.
- Dow, B.D., and Ashley, M.V., 1996. Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of saplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*. *Molecular Ecology* 5, 615-627.
- Dow, B.D., and Ashley, M.V., 1998. High levels of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites. *Journal of Heredity* 89, 62-70.
- Ellstrand, N.C., 1992. Gene flow among seed plant populations. *New Forests* 6, 241-256.
- Ghosn, D.R., Aravanopoulos, F.A., and Doulis, A.G., 2000. An investigation of provenance molecular variation in *Cupressus sempervirens* L., based on individual and bulk DNA analysis. In: Gozukirmizi, N., (ed). Proc. 2nd Balkan Botanical Congress, Istanbul, Turkey, May-14-18, 2000. Marmara Univ. Publ. Vol: 2, Istanbul, Turkey, p. 259-266.
- Gregorius, H.R., 1974. Genetischer Abstand zwischen Populationen I. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. *Silv. Genet.* 23, 22-27.
- Gregorius H.R., and Roberds, J.H., 1986. Measurement of genetical differentiation among subpopulations. *Theor. Appl. Genet.* 71, 413-422.
- Hamrick, J.L., and Schnabel, A., 1985. Understanding the genetic structure of plant populations: Some old problems and a new approach. P. 50-70 in: Gregorius, H.-R. (ed.): *Population Genetics in Forestry*. Berlin, Heidelberg, New York, and Tokyo: Springer.
- Hattemer, H.H., and Gillet, E.M., 2000. Genetic Implications in Forestry, Lectures Notes, Institute of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, School of Forestry and Forest Ecology, University of Göttingen, Germany.
- Knapp, E.E., Goedde, M.A., and Rice, K.J., 2001. Pollen-limited reproduction in blue oak: implications for wind pollination in fragmented populations. *Oecologia* 128, 48-55.
- Koenig, W.D., and Ashley, M.V., 2003. Is pollen limited? The answer is blowing in the wind. *Trends in Ecology and Evolution* 18, 157-159.
- Lewandowski, A., Burczyk, J., and Mejnartowicz, L., 1992. Inheritance and linkage in some allozymes in *Taxus baccata* L. *Silv. Genet.*, 41, 342-347.
- Mitton, J.B., 1992. The dynamic mating systems of conifers. *New Forests*, 6, 197-216.
- Papageorgiou, A.C., 1995. Genetische Untersuchungen zur Züchtung und Generhaltung bei der Mittelmeerzypresse (*Cupressus sempervirens* L.) in Griechenland. Göttingen Research Notes in Forest Genetics 18, 1-191.

- Parageorgiou, A.C., 1997. Factors defining heterozygosity in natural plant populations. Proceedings of the 1st Biological Congress of Balkan Countries, Thessaloniki, p. 316-317.
- Parageorgiou, A.C., 1998. Diploid sporophytic tissue in the seed of *Cupressus sempervirens* L. *Heredity* 81, 586 - 590.
- Παπαγεωργίου, Α.Χ., Κασσιμάδης, Δ., Αραμπατζής, Γ., και Ταμπάκης, Σ., 2004. Γενετική ποικιλότητα, βιοποικιλότητα και διαχείριση δασικών οικοσυστημάτων. Πρακτικά 1ου Πανελληνίου Περιβαλλοντικού Συνεδρίου, 7-9 Μαΐου, Ορεστιάδα, Γεωτεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδας, Θεσσαλονίκη (υπό έκδοση).
- Parageorgiou, A.C., Panetsos, K.P., and Hattemer, H.H., 1994. Genetic differentiation of natural Mediterranean cypress (*Cupressus sempervirens* L.) populations in Greece. *Forest Genetics* 1, 1-12.
- Rajewski, M., and Lange, S., 1997. Genetische Strukturen in verschiedenen ontogenetischen Stadien der Eibe (*Taxus baccata* L.). *Forstwiss. Diplomarb. Univ. Göttingen*.
- Rajewski, M., Lange, S., and Hattemer, H.H., 2000. Reproduktion bei der Generhaltung seltener Baumarten – Das Beispiel der Eibe (*Taxus baccata* L.). *For. Snow Landsc. Res.* 75, 251-266.
- Ritland, K., and Jain, S., 1981. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using *n* independent loci. *Heredity* 47, 35-52.
- Satake, A., and Iwasa, Y., 2002. Spatially limited pollen exchange and a long-range synchronization of trees. *Ecology* 83, 993-1005.
- Schnabel, A. and Hamrick, J.L., 1990. Comparative analysis of population genetic structure in *Quercus macrocarpa* and *Q. gambelii* (Fagaceae). *Syst. Bot.* 15, 1.
- Smouse, P. E., Dyer, R. J., Westfall, R. D., and Sork, V. L. 2001. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. I. Male gamete heterogeneity among females. *Evolution* 55, 260-271.
- Sork, V.L., Huang, S., and Wiener, E., 1993. Macrogeographic and fine scale genetic structure in a North American oak species, *Quercus rubra* L. *Annales des Sciences Forestieres*, 50 (Suppl.) 1, 261-270.
- Sork, V.L., Nason, J., Campbell, D.R., and Fernandez, J.F., 1999. Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. *Trends. Ecol. Evol.* 14, 219-224.
- Sork, V.L., Davis, F.W., Smouse, P.E., Apsit, V.J., Dyer, R.J., Fernandez, J.M, and Kuhn, B., 2002. Pollen movement in declining populations of California valley oak, *Quercus lobata*: where have all the fathers gone? *Mol. Ecol.* 11, 1657-1668.
- Streiff, R., Ducousso, A., Lexer, C., Steinkellner, H., Glössl, J., and Kremer, A., 1999. Pollen dispersal inferred from paternity analysis in a mixed oak stand of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl. *Molecular Ecology*, 8, 831-841.
- Thoma, S., 1992. Genetische Variation an Enzymgenloci in Reliktbeständen der Eibe (*Taxus baccata* L.) *Forstwiss. Diplomarb. Univ. Göttingen*.
- Wendel, J.F., and Weeden, N.F., 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. In: Soltis, D.E. and Soltis P.S. (eds.): *Isozymes in Plant Biology*. Chapman and Hall, London, p. 5-45.
- Wheeler, N.C., and Jech, K.S., 1992. The use of electrophoretic markers in seed orchard research. *New Forests*, 6, 311-329.

## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΔΑΣΟΠΟΝΙΚΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Fraxinus ornus*- ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

P. M. Παπή<sup>1,2</sup>, K. A. Σπανός<sup>1</sup>, Δ. Α. Κυριακίδης<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. – Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών, 57006 – Βασιλικά, Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Α.Π.Θ. – Τμήμα Χημείας, Εργαστήριο Βιοχημείας, 54124 Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μελέτη της γενετικής ποικιλότητας των φυσικών πληθυσμού του *Fraxinus ornus* αποτελεί αντικείμενο της παρούσας εργασίας. Για το σκοπό αυτό αναγνωρίστηκαν και επιλέχθηκαν δέκα (10) φυσικοί πληθυσμοί του *F. ornus* σε όλη την ηπειρωτική Ελλάδα. Για τη μελέτη της γενετικής ποικιλότητας χρησιμοποιήθηκαν οι μοριακοί δείκτες FEMSATL4, FEMSATL16, M2-30, FR16, FR39 και FR41 μικροδορυφορικού DNA του πυρήνα του κυττάρου. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων, εκτιμήθηκαν ο πολυμορφισμός, τα επίπεδα ετεροζυγωτίας στους φυσικούς πληθυσμούς και η γενετική ποικιλότητα εντός και μεταξύ των πληθυσμών. Υψηλός πολυμορφισμός βρέθηκε μέσα στους πληθυσμούς για όλους τους μοριακούς δείκτες καθώς επίσης υψηλή συνολική γονιδιακή ποικιλότητα ( $H_T = 0,573 - 0,971$ ). Οι μοριακοί δείκτες FEMSATL4, FEMSATL16, M2-30 και FR16 βρέθηκαν να έχουν υψηλότερη πολυμορφία σε σύγκριση με τους FR39 και FR41. Το μέσο συνολικό ποσοστό ετεροζυγωτίας (όλων των πληθυσμών) βρέθηκε υψηλό για όλους τους μοριακούς δείκτες ( $H_o = 0,721 - 0,909$ , συνολ. μέσο  $H_o = 0,799$ ). Η γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών βρέθηκε να είναι χαμηλή ( $F_{ST} 0,012 - 0,028$ , μέσο συνολ.  $F_{ST} = 0,019$ ), γεγονός που ερμηνεύει πολύ μικρό ποσοστό της συνολικής γενετικής ποικιλότητας.

**Λέξεις κλειδιά:** *Fraxinus ornus*, πληθυσμός, γενετική ποικιλότητα, μοριακοί δείκτες, μικροδορυφορικό DNA, ετεροζυγωτία, διαφοροποίηση.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το δασοπονικό είδος *Fraxinus ornus* ανήκει στην οικογένεια *Oleaceae* και συναντάται συνήθως στις ζώνες βλάστησης *Quercion Illicis*, *Ostrya Carpinion* και *Quercion Frainetto* (Σπανός και συν. 2004). Ανάλογα με το γεωλογικό υπόβαθρο και το τοπικό μικροκλίμα μπορεί επίσης να βρεθεί και στη χαμηλότερη ζώνη της ελάτης και της οξιάς. Είναι είδος φιλόφωτο με σχετικά μικρές απαιτήσεις (έδαφος/υγρασία) και μπορεί να αναπτυχθεί σε ξηρά, άγονα και βραχώδη εδάφη κάτω από ειδικές συνθήκες (ημιορεινές περιοχές, βόρειες εκθέσεις). Το *Fraxinus ornus* είναι δέντρο ύψους 6-12 m (σπάνια 15-20m, σε βαθιά και χαλαρά εδάφη), έχει τη μορφή θάμνου ή μικρού δέντρου και εξαπλώνεται σχεδόν σε όλη την ηπειρωτική Ελλάδα καθώς και στα νησιά (Θάσος, Σαμοθράκη, Λέσβος, Εύβοια, Σάμος, Νάξος, Άνδρος, Κρήτη, Κέρκυρα, Λευκάδα). Το ξύλο του είδους χρησιμοποιείται ευρύτατα στην κατασκευή εργαλείων και ξύλινων αντικειμένων λόγω των ιδιοτήτων του (χαμηλό ποσοστό υγρασίας, μεγάλη ελαστικότητα). Το είδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αναδασώσεις για την αποκατάσταση υποβαθμισμένων οικοσυστημάτων λόγω σχετικά των περιορισμένων απαιτήσεών (έδαφος, υγρασία). Για τους παραπάνω λόγους είναι σημαντική η επιλογή γενετικού υλικού με ικανότητα προσαρμογής και αύξησης σε διαφορετικά περιβάλλοντα.

Η αποτελεσματική προστασία των γενετικών πόρων του φράξου, εξαρτάται από την κατανόηση της βιολογίας των πληθυσμών και της δυναμικής των, την εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας που υπάρχει μέσα στους πληθυσμούς, πως αυτή δομείται σε σχέση με το επίπεδο συγγένειας μεταξύ ατόμων του πληθυσμού, καθώς επίσης και γνώση των διαφορών των επιμέρους πληθυσμών ως προς το επίπεδο της γενετικής τους ποικιλότητας (Σπανός και Κυριακίδης 2002; Lowe et al. 2004; Σπανός και συν. 2004). Τα ερωτήματα αυτά μπορούν απευθείας να απαντηθούν χρησιμοποιώντας τους μοριακούς γενετικούς δείκτες (Petit et al. 1998; Goldstein and Schötterer 1999; Harris 1999; Gerber et al. 2000; Wallander 2001; Lowe et al. 2004). Οι δείκτες αυτοί αποτελούν μέρος του γενετικού κώδικα που κληρονομείται από γενιά σε γενιά και μας δίνουν πληροφορίες για το πως συγγενεύουν τα άτομα ενός πληθυσμού. Ο τύπος του μοριακού δείκτη που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία είναι το μικροδορυφορικό DNA.

Το μικροδορυφορικό DNA, η επαναλήψεις απλής ακολουθίας (SSR), αποτελεί μέρος του γενώματος των ευκαρυωτικών κυττάρων. Αποτελείται από διαδοχικά επαναλαμβανόμενες μικρές ακολουθίες DNA (Brachet et al. 1999; Lowe et al. 2004). Η ποικιλότητα που παρουσιάζει ως προς το μέγεθός του οφείλεται

στον διαφορετικό αριθμό επαναλήψεων που περιέχει και μπορεί να προσδιοριστεί με PCR και ηλεκτροφορητικό διαχωρισμό των προϊόντων της (Jarne and Lagoda 1996; Goldstein and Schötterer 1999; Papi et al. 2003; Lowe et al. 2004). Το μικροδορυφορικό DNA του πυρήνα είναι συνήθως πολυμορφικό μέσα στον ίδιο πληθυσμό αλλά και μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών, κληρονομείται με συγκυρίαρχο τρόπο (codominance) (Streiff et al. 1998; Lowe et al. 2004) και ο τρόπος προσδιορισμού του είναι σχετικά γρήγορος και εύκολος. Το μικροδορυφορικό DNA έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν (Lowe et al. 2004) για τη χαρτογράφηση του γενόματος, την έρευνα συγγένειας μεταξύ ατόμων, την ανάλυση γενετικής δομής πληθυσμών και την ροή γονιδίων εντός και μεταξύ πληθυσμών (φυτών και ζώων). Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό των μικροδορυφόρων (SSRs), είναι ότι μπορούμε εύκολα να πάρουμε χρήσιμες πληροφορίες για την μοριακή δομή και τον βαθμό των μεταλλάξεων τους (Jarne and Lagoda 1996; Lowe et al. 2004).

Στην παρούσα έρευνα το μικροδορυφορικό DNA (επιλεγμένοι μοριακοί δείκτες) χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη της γενετικής ποικιλότητας φυσικών πληθυσμών του δασοπονικού είδους *Fraxinus ornus* για λόγους προστασίας και αξιοποίησης των γενετικών πόρων του στην Ελλάδα.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στα πλαίσια του ερευνητικού προγράμματος έγινε εκτεταμένη αναγνώριση του *Fraxinus ornus* σε όλη την ηπειρωτική Ελλάδα και επιλέχθηκαν με κριτήρια γενετικά, δασοκομικά και οικολογικά οι ακόλουθοι φυσικοί πληθυσμοί (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Κωδικοί και γεωγραφικά χαρακτηριστικά των πληθυσμών του *Fraxinus ornus* που επιλέχθηκαν.

Κωδικός	Πληθυσμός	Γεωγρ. πλάτος	Γεωγρ. μήκος	Υψόμετρο (m)
9FOR	Μελία Φερρών	41° 00' 573	26° 04' 451	348
10FOR	Σταυρούπολη	41° 14' 384	24° 39' 905	332
11FOR	Κ. Νευροκόπι	41° 16' 604	23° 44' 341	817
12FOR	Νιγρίτα	40° 51' 764	23° 24' 013	542
13FOR	Πολύγυρος	40° 26' 500	23° 19' 100	577
14FOR	Καστανιά Πιερίας	40° 26' 370	22° 24' 412	300
15FOR	Στόμιο	39° 52' 599	22° 39' 751	380
16FOR	Λαμία	38° 57' 165	22° 24' 131	520
17FOR	Λιδωρίκι	38° 39' 473	22° 13' 107	920
22FOR	Καλάβρυτα	37° 56' 291	22° 04' 093	870

Για τη γενετική ανάλυση πραγματοποιήθηκε συλλογή (Ιούνιο/Ιούλιο) φυτικού υλικού (φύλλα) από 30 διαφορετικά δέντρα σε κάθε επιλεγμένο πληθυσμό. Το υλικό τοποθετήθηκε αμέσως σε πλαστικές σακούλες που περιείχαν ξηραντικό υλικό (silica gel, 10-15gr/gr φυτικού υλικού) και κατόπιν αποθηκεύθηκε σε ψυγεία (0 - 4 °C). Η εκχύλιση του DNA έγινε αρχικά με τροποποίηση της μεθόδου των Doyle and Doyle (1987). Καθώς όμως η μέθοδος ήταν χρονοβόρα (μικρός αριθμός δειγμάτων) και η ποιότητα του λαμβανόμενου DNA όχι ιδιαίτερα ικανοποιητική, η μέθοδος αντικαταστάθηκε με το DNeasy Plant Mini Kit της εταιρείας Qiagen. Οι μοριακοί δείκτες (περιοχές πυρήνικού DNA) που χρησιμοποιήθηκαν για τη γενετική ανάλυση οι εξής: FEMSATL4, FEMSATL16, M2-30, FR16, FR39 και FR41 (Brachet et al. 1999; Heuertz et al. 2001; Papi et al. 2003). Οι δείκτες FEMSATL4, FEMSATL16 και M2-30 που έχουν χρησιμοποιηθεί για το είδος *Fraxinus excelsior* (Brachet et al. 1999; Heuertz et al. 2001), εφαρμόστηκαν και στο *F. ornus*, ενώ παράλληλα σχεδιάστηκαν (BIONOSTRA Company, Spain) τρεις νέοι μοριακοί δείκτες οι FR16, FR39 και FR41.

Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της PCR με ειδικά ολιγονουκλεοτίδια ως εκκινητές. Για τον πολλαπλασιασμό των περιοχών χρησιμοποιήθηκε θερμικός κυκλοποιητής (MJ Research, μοντέλο P200 gradient). Ο τελικός όγκος της αντίδρασης ήταν 12μl και οι συνθήκες για τους FEMSATL4, FEMSATL16 και M2-30 εκκινητές οι ακόλουθες: μετουσίωση του δικλωνου μορίου με θέρμανση του αντιδρώντος μίγματος στους 95 °C για 4 min - ακολουθούν 30 κύκλοι με πρώτο στάδιο τη μετουσίωση στους 94 °C, διάρκειας 30 sec

– δεύτερο στάδιο υβριδισμός των εκκινητών στους 52 °C ή 56 °C για τους FEMSATL και M2-30 αντίστοιχα, διάρκειας 45 sec - τρίτο στάδιο θέρμανση του μίγματος στους 72 °C για 1 min και η PCR ολοκληρώθηκε με εκτεταμένο πολυμερισμό στους 72 °C για 5 min. Στην περίπτωση των FR16, FR39 και FR41 εκκινητών οι συνθήκες της PCR ήταν τροποποιημένες ως εξής: μετουσίωση στους 94 °C για 4 min - ακολουθούν 40 κύκλοι με πρώτο στάδιο τη μετουσίωση στους 94 °C, διάρκειας 45 sec – δεύτερο στάδιο υβριδισμός των εκκινητών στους 55 °C, διάρκειας 45 sec - τρίτο στάδιο θέρμανση του μίγματος στους 72 °C για 45 sec και η PCR ολοκληρώθηκε με εκτεταμένο πολυμερισμό στους 72 °C για 10 min. Η ανάλυση των προϊόντων της PCR πραγματοποιήθηκε στον LI-COR DNA αναλυτή, όπου τα προϊόντα αναλύθηκαν σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου (6% w/v) παρουσία ουρίας. Ο προσδιορισμός του μοριακού τους μεγέθους έγινε αυτόματα χρησιμοποιώντας το λογισμικό SAGA Generation 2. Η ανίχνευσή τους έγινε φθορισμομετρικά, καθώς οι εκκινητές είχαν επισημανθεί με κατάλληλη φθορίζουσα ουσία. Οι αντίστοιχοι εκκινητές είχαν επισημανθεί με διαφορετική φθορίζουσα ουσία (IRDye700 και IRDye800), ώστε να είναι δυνατός ο συνδυασμός δύο διαφορετικών προϊόντων. Ακολούθησε πολλαπλασιασμός των περιοχών μικροδορυφορικού DNA του πυρήνα των οποίων οι επαναλαμβανόμενες ακολουθίες και το αναμενόμενο μέγεθος σε bp (base pairs) δίδονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Μοριακοί δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν για τη γενετική ανάλυση των πληθυσμών του *Fraxinus ornus*.

Περιοχή DNA	Επαναλαμβανόμενη ακολουθία	Εύρος (bp)
M2-30	(TG) <sub>15</sub> (AG) <sub>23</sub>	184 - 212
FEMSATL4	(CA) <sub>2</sub> (AG) <sub>24</sub>	164 - 228
FEMSATL16	(CA) <sub>3</sub> CG(CA) <sub>10</sub> (TA) <sub>2</sub> (CA)	180 - 226
FR16	(GA) <sub>2</sub> CA(GA) <sub>11</sub> AG	193 - 217
FR39	(GGC) <sub>5</sub> (GGA) <sub>6</sub>	199 - 213
FR41	(GCC) <sub>5</sub>	168 - 177

Για την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και την εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας και διαφοροποίησης των πληθυσμών χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα/λογισμικό Fstat. Οι γενετικές παράμετροι που εκτιμήθηκαν ήταν οι εξής (Nei 1973; Nei 1986; Lowe et al. 2004):

- ο μέσος αριθμός αλληλόμορφων ανά μοριακό δείκτη,
- η συνολική γονιδιακή ποικιλότητα  $H_T = D_{ST} + H_S$ , όπου  $H_S$  η ποικιλότητα εντός πληθυσμών (μέση αναμενόμενη ετεροζυγωτία εντός πληθυσμών) και  $D_{ST}$  η ποικιλότητα μεταξύ πληθυσμών,
- η γενετική διαφοροποίηση μεταξύ πληθυσμών που εκφράζεται με τις παραμέτρους -  $G_{ST}$  - συντελεστής γονιδιακής διαφοροποίησης ( $G_{ST} = D_{ST}/H_T$ ),  $R_{ST}$  - η ποικιλότητα μεταξύ πληθυσμών σε σχέση με αυτή μέσα στους πληθυσμούς [ $R_{ST} = D_m/H_S$ , όπου  $D_m = sD_{ST}/(s-1)$  και  $s$  ο αριθμός των υπό μελέτη πληθυσμών],  $F_{ST}$  - δείκτης που περιγράφει τη μείωση της ετεροζυγωτίας μέσα στους πληθυσμούς σε σχέση με το σύνολο των πληθυσμών, και οφείλεται στην επιλογή ή τυχαίες αλλαγές συχνοτήτων των γονιδίων [ $F_{ST} = (H_T - H_S)/H_T$ ].

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ενδεικτικά τα αποτελέσματα της γονιδιακής ποικιλότητας και του μέσου αριθμού αλληλόμορφων ανά μοριακό δείκτη για τρεις επιλεγμένους (για ποιότητα κορμού) πληθυσμούς, δύο από τη Β. Ελλάδα (12FOR, 14FOR) και ένας από τη Ν. Ελλάδα (17FOR), δίδονται στους Πίνακες 3 και 4. Τα συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα της γενετικής ποικιλότητας (βαθμός ετεροζυγωτίας) μέσα στους πληθυσμούς και της γενετικής διαφοροποίησης των πληθυσμών του *Fraxinus ornus* παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.

**Πίνακας 3.** Γονιδιακή ποικιλότητα (total gene diversity -  $H_T$ ) ανά μοριακό δείκτη για τρεις πληθυσμούς του *Fraxinus ornus*.

Μοριακός δείκτης (nSSR)	Πληθυσμός		
	12FOR	14FOR	17FOR
FEMSATL4	0,934	0,903	0,913
FEMSATL16	0,924	0,909	0,913
M2-30	0,971	0,931	0,951
FR16	0,600	0,799	0,933
FR39	0,794	0,597	0,585
FR41	0,573	0,749	0,688

**Πίνακας 4.** Ποικιλότητα αλληλόμορφων (μέσος αριθμός αλληλόμορφων) ανά μοριακό δείκτη για τρεις πληθυσμούς του *Fraxinus ornus*.

Μοριακός δείκτης	12FOR	14FOR	17FOR
FEMSATL4	13,7	12,5	13,7
FEMSATL16	13,0	15,2	16,4
M2-30	15,0	18,4	18,1
FR16	7,8	17,9	16,0
FR39	4,0	3,9	3,8
FR41	4,0	8,3	7,8

**Πίνακας 5.** Γενετική ποικιλότητα (ετεροζυγωτία) μέσα στους πληθυσμούς και γενετική διαφοροποίηση (differentiation) μεταξύ πληθυσμών του *Fraxinus ornus*.

Μοριακός δείκτης	Ετεροζυγωτία <sup>1</sup>		Διαφοροποίηση <sup>2</sup>		
	$H_o$	$H_s$	GST (DST/ $H_T$ )	FST	RST
FEMSATL4	0,909	0,932	0,017	0,024	0,020
FEMSATL16	0,755	0,957	0,014	0,015	0,013
M2-30	0,797	0,956	0,022	0,028	0,024
FR16	0,812	0,901	0,013	0,017	0,011
FR39	-	-	-	-	-
FR41	0,721	0,856	0,009	0,012	0,008
Over-all	0,799	0,920	0,015	0,019	0,0007

<sup>1</sup>  $H_o$  - μέση παρατηρούμενη ετεροζυγωτία,  $H_s$  - μέση αναμενόμενη ετεροζυγωτία εντός πληθυσμών.

<sup>2</sup> DST - γονιδ. ποικιλότητα μεταξύ πληθυσμών,  $H_T$  - συνολική γονιδ. ποικιλότητα, GST - συντελεστής γονιδιακής διαφοροποίησης, RST - η ποικιλότητα μεταξύ πληθυσμών σε σχέση με αυτή μέσα στους πληθυσμούς, FST - δείκτης που περιγράφει τη μείωση της ετεροζυγωτίας μέσα στους πληθυσμούς σε σχέση με το σύνολο των πληθυσμών, και οφείλεται στην επιλογή ή τυχαίες αλλαγές συχνοτήτων των γονιδίων.

Από τον Πίνακα 3 διαπιστώνουμε υψηλή γονιδιακή ποικιλότητα μέσα στους τρεις πληθυσμούς για τους μοριακούς δείκτες που μελετήθηκαν. Επίσης, από τον Πίνακα 4 φαίνεται ότι υπάρχει υψηλός πολυμορφισμός μέσα στους πληθυσμούς (π.χ. μέσος αριθμός αλληλόμορφων 4 για FR41/12FOR και 18 για M2-30/17FOR). Οι μοριακοί δείκτες FEMSATL4, FEMSATL16, M2-30 και FR16 βρέθηκαν να έχουν υψηλότερη πολυμορφία

σε σύγκριση με τους FR39 και FR41 (Πίνακας 4). Υψηλός πολυμορφισμός επίσης έχει αναφερθεί (Brachet et al. 1999; Heuertz et al. 2001) για τους δείκτες FEMSATL4, FEMSATL16 και M2-30 που επιλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν για το είδος *Fraxinus excelsior*.

Από την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (Πίνακας 5) διαπιστώνεται ότι ο βαθμός ετεροζυγωτίας (όλων των πληθυσμών) είναι ιδιαίτερα υψηλός για όλους τους μοριακούς δείκτες (π.χ.  $H_o = 0,721$  και  $H_e = 0,812$  για FR41 και FR16, αντίστοιχα). Επίσης το μέσο συνολικό ποσοστό ετεροζυγωτίας (πληθυσμών και μοριακών δεικτών) βρέθηκε υψηλό ( $H_o = 0,799$ ). Αντίθετα, η διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών βρέθηκε να είναι χαμηλή (FST 0,012 – 0,028, μέσο συνολ. FST = 0.019, Πίνακας 5) που σημαίνει ότι μόνο ~2 % της συνολικής γενετικής ποικιλότητας οφείλεται στη διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών. Πιθανόν, η σχετικά συνεχής και ευρεία εξάπλωση του είδους (στην ηπειρωτική Ελλάδα) να ευνοεί την συνεχή ροή γονιδίων μεταξύ πληθυσμών με αποτέλεσμα να μειώνει τη γενετική διαφοροποίησή τους (Lowe et al. 2004).

Μοριακή δείκτες έχουν χρησιμοποιηθεί και από άλλους ερευνητές για τη γενετική ανάλυση πληθυσμών ειδών του γένους *Fraxinus*, έδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα, και ενισχύουν τα ευρήματα της παρούσας εργασίας. Για παράδειγμα, από την ανάλυση μικροδορυφορικού DNA του πυρήνα, υψηλά ποσοστά ετεροζυγωτίας βρέθηκαν μέσα στους πληθυσμούς και χαμηλή γενετική διαφοροποίηση μεταξύ πληθυσμών για το είδος *Fraxinus excelsior* (Brachet et al., 1999; Heuertz et al., 2001) (ευρύτοπο είδος στην κεντρική και Β. Ευρώπη). Επίσης, σε είδη του φράξου (*Fraxinus* spp.) στη Ν. Κορέα, η χρήση μοριακών δεικτών (I-SSR) απέδειξε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό της γενετικής ποικιλότητας (>90 %) κατανέμεται εντός των πληθυσμών ενώ σχετικά μικρό ποσοστό (4-10 %) μεταξύ των πληθυσμών (Cho et al. 2002).

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα συνοπτικά συμπεράσματα από τη μελέτη της γενετικής ποικιλότητας φυσικών πληθυσμών του *Fraxinus ornus* με τη χρήση μοριακών δεικτών (nSSRs) έχουν ως εξής:

- Υψηλή συνολική γονιδιακή ποικιλότητα βρέθηκε μέσα στους πληθυσμούς για τους μοριακούς δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν.
- Υψηλός πολυμορφισμός βρέθηκε μέσα στους πληθυσμούς για όλους τους μοριακούς δείκτες.
- Οι μοριακοί δείκτες FEMSATL4, FEMSATL16, M2-30 και FR16 βρέθηκαν να έχουν υψηλότερη πολυμορφία σε σύγκριση με τους FR39 και FR41.
- Το μέσο συνολικό ποσοστό ετεροζυγωτίας (όλων των πληθυσμών) βρέθηκε υψηλό για όλους τους μοριακούς δείκτες.
- Η γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών βρέθηκε να είναι χαμηλή, γεγονός που ερμηνεύει πολύ μικρό ποσοστό της συνολικής γενετικής ποικιλότητας (εντός και μεταξύ πληθυσμών).
- Όταν γενετική βελτίωση επιχειρείται (για επιλογή χαρακτήρων), αυτή θα πρέπει να εστιάζεται κατά το πλείστον εντός των πληθυσμών.
- Ενδιαφέρον παρουσιάζει μελλοντικά, οι μοριακοί δείκτες να χρησιμοποιηθούν και σε άλλους πληθυσμούς του είδους (ειδικότερα πληθυσμούς με γεωγραφική ή οικολογική απομόνωση) για εκτίμηση της γενετικής διαφοροποίησης και ενδεχομένως ανίχνευσης σπάνιων αλληλόμορφων.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία αποτελεί μέρος του ερευνητικού προγράμματος FRAXIGEN (EVK2-CT-2001-00180), το οποίο χρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση, και έχει συντονιστικό φορέα στην Ελλάδα το Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών Θεσσαλονίκης (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Brachet, D., Jubier, M.F., Richard, M., Jung-Muller, B. and N. Frascaria-Lacoste, 1999. Rapid identification of microsatellite loci using 5' anchored PCR in the common ash *Fraxinus excelsior*. *Molecular Ecology* 8: 157-168.
- Cho, K.J., Chung, J.M., Kim, W.W. and Y.P. Hong, 2002. Genetic structure analysis of three *Fraxinus* species populations in Korea. IUFRO Research Group 2.04.00 'Genetics' Symposium, Stará Lesná, Slovakia, August 25-29, 2002, Abstracts p. 53.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.

- Gerber, S., Mariette, S., Streiff, R., Bodenes, C. and A. Kremer, 2000. Comparison of microsatellites and amplified fragment length polymorphism markers for parentage analysis. *Molecular Ecology* 9: 1037-1048.
- Goldstein, D. B. and C. Schötterer, 1999. Microsatellites. Evolution and applications. Oxford University Press, Oxford.
- Harris, S.A. 1999. RAPDs in systematics – A useful methodology? In: Advances in molecular systematics and plant evolution. P M Hillingsworth, R M Bateman and R J Gornall (eds.). Taylor & Francis, London. pp. 211-228.
- Heuertz, M., Hausman, J.F., Tsvetkov, I., Frascaria-Lacoste, N. and X. Vekemans, 2001. Assessment of genetic structure within and among Bulgarian populations of the common ash. (*Fraxinus excelsior* L.). *Molecular Ecology* 10: 1615-1623.
- Jarne, P. and P.J.L. Lagoda, 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *TREE* 11 (10): 424-429.
- Lowe, A., Harris, S. and P. Ashton, 2004. Ecological Genetics - Design, Analysis, and Application. Blackwell Science Ltd, UK, USA, Australia, 326 p.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. of the National Academy of Sciences USA* 70: 3321-3323.
- Nei, M. 1986. Definition and estimation of fixation indices. *Evolution* 40: 643-645.
- Papi, R.M., Spanos, K. and D.A. Kyriakidis, 2003. Genetic diversity in *Fraxinus ornus* and *Fraxinus angustifolia* populations based on microsatellite markers. Hellenic Society of Biochemistry & Molecular Biology. Proceedings of the 55<sup>th</sup> meeting, Athens 2003, Volume 50: 534-537.
- Petit, R.J., El Mousadik, A. and O. Pons, 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12 (4): 844-855.
- Σπανός Κ.Α. και Δ. Κυριακίδης, 2002. Ο φράξος για το μέλλον: προσδιορισμός των Ευρωπαϊκών πληθυσμών του φράξου για προστασία και αναγέννηση. Ενημ. Φυλλάδιο FRAXIGEN 2002, Ε.Ε.
- Σπανός Κ.Α., Παπή, Ρ. και Δ. Κυριακίδης, 2004. Το Ευρωπαϊκό ερευνητικό πρόγραμμα FRAXIGEN: Η χρήση του φράξου στο μέλλον: προσδιορισμός φυσικών πληθυσμών του φράξου για σκοπούς προστασίας, αναγέννησης και οικολογικής αποκατάστασης. 1ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ – ‘Σύγχρονα Περιβαλλοντικά Θέματα’, Ορεστιάδα, 7-9 Μαΐου, 2004, Πρακτ. σελ. 210-219.
- Spanos, K.A., Papi, R.M., Mylonas, D.P., Gaitanis, D. and D.A. Kyriakidis, 2004. The European Research Programme FRAXIGEN: Ash for the Future, Defining Ash Populations for Conservation, Regeneration and Ecological Adaptation - Works in Greece. IUFRO Joint Conference of Division 2 – Forest Genetics and Tree Breeding in the Age of Genomics: Progress and Future. November 1-5, 2004, Charleston, South Carolina, USA, Proc. p. 421-429.
- Streiff, R., Labbe, T., Bacilieri, R., Steinkellner, H., Glössl, J. and A. Kremer, 1998. Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. assessed with isozymes and microsatellites. *Molecular Ecology* 7: 317-328.
- Wallander, E. 2001. Evolution of wind-pollination in *Fraxinus* (Oleaceae) – an ecophylogenetic approach. PhD Thesis, Botanical Institute, Göteborg University.

## STUDY OF GENETIC VARIATION OF NATURAL POPULATIONS OF THE FOREST TREE SPECIES *Fraxinus ornus* - BY THE USE OF MOLECULAR MARKERS

R. M. Papi<sup>1,2</sup>, K. A. Spanos<sup>1</sup> and D. A. Kyriakidis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>N.A.G.RE.F. – Forest Research Institute, 57006 - Vassilika, Thessaloniki

<sup>2</sup>A.U.TH. – Dep. of Chemistry, Laboratory of Biochemistry, 54006 Thessaloniki

### ABSTRACT

The study of genetic variation of *Fraxinus ornus* natural populations was the main objective of this work. For the purpose of the work, ten (10) native populations of *F. ornus* were identified and selected all over continental Greece. The molecular markers FEMSATL4, FEMSATL16, M2-30, FR16, FR39 and FR41 of nuclear microsatellite DNA were used to study genetic diversity. From the results' analysis, heterozygosity levels within populations and genetic diversity within and among populations were estimated. High polymorphism within populations and high total gene diversity ( $H_T = 0,573 - 0,971$ ) were recorded for all molecular markers. Molecular markers FEMSATL4, FEMSATL16, M2-30 and FR16 were more polymorphic comparison to FR39 and FR41. Mean total heterozygosity (all populations) was found high for all molecular markers ( $H_o=0,721-0,909$ , total mean  $H_o = 0,799$ ). Genetic differentiation among populations was found low ( $F_{ST} 0,012 - 0,028$ , total mean  $F_{ST} = 0.019$ ), fact which explains only a small proportion of the total genetic diversity.

**Key words:** *Fraxinus ornus*, population, genetic variation, molecular markers, microsatellite DNA, heterozygosity, differentiation.

## ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΜΕΡΙΚΩΝ ΠΑΛΑΙΩΝ ΓΗΓΕΝΩΝ ΚΑΙ ΞΕΝΩΝ ΟΙΝΟΠΟΙΗΣΙΜΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

Α. Ματθαίου<sup>1</sup> και Ν. Νικολάου<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ΕΘΙΑΓΕ, Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας Θράκης, Τράπεζα Γενετικού Υλικού, 570 01  
Θέρμη, Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Αμπελουργίας, 541 24  
Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν 35 αμπελογραφικοί και 19 αμπελομετρικοί χαρακτήρες για την περιγραφή, διάκριση και ταξινόμηση 25 παλιών αυτόχθονων και 5 ξένων οινοποιήσιμων ποικιλιών της αμπέλου, που καλλιεργούνται για πολλά χρόνια στη χώρα μας. Η έρευνα έγινε στην αμπελογραφική συλλογή της Τράπεζας Γενετικού Υλικού του Κ.Γ.Ε.Μ.Θ. του ΕΘΙΑΓΕ, στη Θέρμη Θεσ/νίκης, κατά την τριετία 2001-2003, μέσα στο πλαίσιο του ευρωπαϊκού προγράμματος GenRes CT96 081. Η διάκριση και η ταξινόμηση των ποικιλιών της αμπέλου σε ομάδες κατά αύξουσα ιεραρχία ξεχωριστά για τα αμπελογραφικά και τα αμπελομετρικά χαρακτηριστικά αντίστοιχα έδωσε πολύ διαφορετικές ομαδοποιήσεις. Από τα αμπελογραφικά χαρακτηριστικά τη σημαντικότερη συμβολή στη διαφοροποίηση είχαν η ένταση του ανθοκυανικού χρωματισμού των ερπουσών τριχιδίων της κορυφής και του περιβλήματος των λανθανόντων οφθαλμών, η πυκνότητα των ερπουσών τριχιδίων της κορυφής, ο χρωματισμός των νεαρών φύλλων της κορυφής, το σχήμα του ελάσματος και της βάσης του μισχικού κόλπου του ώριμου φύλλου, το μέγεθος του σταφυλιού καθώς και το σχήμα της ράγας. Σε ό,τι αφορά την ανάλυση των αμπελομετρικών χαρακτηριστικών στη διαφοροποίηση μεταξύ των ποικιλιών της αμπέλου συνέβαλαν κυρίως τα μήκη των κύριων και δευτερευουσών νευρώσεων του ώριμου φύλλου N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub> και N<sub>3</sub> αντίστοιχα, καθώς και το μέγεθος των γωνιών μεταξύ των νευρώσεων N<sub>1</sub>-N<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>, N<sub>3</sub>-N<sub>4</sub> του ελάσματος του φύλλου. Γενικά, διαπιστώθηκε μεγάλη φαινοτυπική παραλλακτικότητα ανάμεσα στις παλιές αυτές γηγενείς οινοποιήσιμες ποικιλίες της αμπέλου, οι οποίες αποτελούν πολύτιμο γενετικό υλικό το οποίο θα πρέπει να αναδειχτεί και να αξιοποιηθεί στη γενετική βελτίωση της αμπέλου.

**Λέξεις κλειδιά:** άμπελος, πολυμεταβλητή ανάλυση, ταξινόμηση

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σε ολόκληρο τον ελλαδικό χώρο, λόγω της μακραίωνης καλλιέργειας της αμπέλου, απαντάται ένας μεγάλος αριθμός καλλιεργούμενων αξιόλογων βιότυπων της αμπέλου, οι περισσότεροι των οποίων δεν έχουν πλήρως μελετηθεί και αποτελούν τοπικές ποικιλίες περιορισμένης σημασίας, πολλές από τις οποίες κινδυνεύουν με άμεση εξαφάνιση. Τα τελευταία όμως χρόνια έχει ξεκινήσει, σε ευρωπαϊκό επίπεδο, μια προσπάθεια προστασίας και αξιολόγησης πολλών τέτοιων βιότυπων της αμπέλου, η ανάδειξη των ποιοτικών χαρακτηριστικών των προϊόντων τους καθώς και η εμπορική εκμετάλλευσή τους, με πολύ καλά αποτελέσματα. Η αμπελογραφική μελέτη και η αξιολόγηση των ποικιλιών αυτών προϋποθέτουν απαραίτητα τη γενετική ταυτοποίησή τους, δεδομένου ότι οι περισσότερες από αυτές φέρουν τοπικές ονομασίες, ανάλογα με την αμπελουργική περιοχή στην οποία καλλιεργούνται.

Στο παρελθόν, πολλές προσπάθειες είχαν γίνει για την αμπελογραφική μελέτη και την ταξινόμηση των ποικιλιών της αμπέλου. Η ύπαρξη πολλών και διαφόρων συστημάτων για τη μελέτη, τη διάκριση και την ταξινόμηση των ποικιλιών της αμπέλου δείχνει τη δυσκολία που υπάρχει στην ακριβή περιγραφή των χαρακτήρων και των ιδιοτήτων τους. Η δυσκολία αυτή πηγάζει από τη μεγάλη επίδραση που ασκούν στους μορφολογικούς χαρακτήρες των βλαστικών οργάνων των πρέμνων οι περιβαλλοντικές και οι αμπελοκομικές συνθήκες καλλιέργειας, η γενετική ποικιλομορφία που παρατηρείται στην άμπελο καθώς και ο υποκειμενικός παράγοντας που παρεμβαίνει κατά τη μετατροπή των ποιοτικών παραμέτρων σε ποσοτικές (Calet, 1985). Για τις μετρήσεις πάνω στα φύλλα αναπτύχθηκαν πρόσφατα ειδικά στατιστικά προγράμματα για χρήση στους Η/Υ, με τα οποία καταγράφονται και αξιοποιούνται στη συνέχεια οι προβλεπόμενες μετρήσεις (Schneider & Zepa, 1988, Costacurta et al., 1996, Alessandri et al., 1996).

Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος και για να υπάρχει ένας ενιαίος αμπελογραφικός κώδικας αποδεκτός ανάμεσα στους ασχολούμενους με την αμπελοργία ερευνητές σε παγκόσμιο επίπεδο, αποφασίστηκε γενικότερα η περιγραφή και η ταυτοποίηση των διαφόρων βιότυπων της αμπέλου να πραγματοποιείται σύμφωνα με τους κωδικούς του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (OIV), οι οποίοι αφορούν ένα πολύ μεγάλο αριθμό μορφολογικών και βιολογικών χαρακτηριστικών (OIV, 1983). Από την άλλη πλευρά, η χρησιμοποίηση, τελευταία, βιολογικών δεικτών και η ανάπτυξη μεθόδων μοριακής ταξινόμησης των ποικιλιών της αμπέλου συμβάλλει συμπληρωματικά προς τη χρησιμοποίηση των αμπελογραφικών κωδικών του OIV.

Στο πλαίσιο της εργασίας αυτής χρησιμοποιήθηκαν πολυμεταβλητές αναλύσεις, με σκοπό την αξιολόγηση των διαφόρων αμπελογραφικών και αμπελομετρικών χαρακτηριστικών 30 γηγενών και μη γενότυπων της αμπέλου, σε ό,τι αφορά τη συμβολή τους στη φαινοτυπική παραλλακτικότητα καθώς επίσης και την ομαδοποίηση των διαφόρων βιότυπων σε ομοειδείς κατηγορίες.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η εργασία αυτή, η οποία πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο του ευρωπαϊκού προγράμματος GenRes CT96 081 στο οποίο συμμετείχαν ένδεκα παραδοσιακές αμπελοργικές χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης μεταξύ των οποίων και η χώρα μας, μελετήθηκαν 25 παλιές ντόπιες και 5 από τις πλέον γνωστές εμπορικές ξένες οινοποιήσιμες ποικιλίες αμπέλου, οι οποίες καλλιεργούνται στην αμπελογραφική συλλογή της Τράπεζας Γενετικού Υλικού του Κ.Γ.Ε.Μ.Θ. του ΕΘΙΑΓΕ, στη Θέρμη Θεσσαλονίκης, κατά την τριετή περίοδο 1999-2001. Για την περιγραφή και τη διάκριση των ποικιλιών της αμπέλου αξιολογήθηκαν 35 αμπελογραφικά και 19 αμπελομετρικά χαρακτηριστικά, όπως αυτά καθορίστηκαν από όλους τους συμμετέχοντες στο εν λόγω ευρωπαϊκό πρόγραμμα. Τα αμπελογραφικά χαρακτηριστικά αφορούσαν ποιοτικές παραμέτρους οι οποίες μετατρέπονταν σε ποσοτικές για κάθε ποικιλία και, μεταξύ των άλλων, αναφέρονταν στην πυκνότητα των ερπυσών τριχιδίων της νεαρής βλάστησης και των ώριμων φύλλων, στην ένταση του ανθοκυανικού χρωματισμού του περιβλήματος των λανθανόντων οφθαλμών και των νεύρων του ελάσματος του φύλλου, στο χρωματισμό των μεσογονατίων διαστημάτων, των νεαρών φύλλων καθώς και στο σχήμα του μισχικού κόλπου του φύλλου, του σταφυλιού, της ράγας και κ. ά. Ο βαθμός έντασης των αμπελογραφικών χαρακτηριστικών, ανάλογα με το χαρακτηριστικό, εκφράζονταν σε κλίμακα αριθμών από το 1 έως το 9.

Από την άλλη πλευρά, τα αμπελομετρικά χαρακτηριστικά αφορούσαν ποσοτικές παραμέτρους οι οποίες προσδιορίζονταν από έναν αριθμό σταθερών σημείων επάνω στο έλασμα των φύλλων και περιλάμβαναν μετρήσεις μήκους των κύριων και δευτερευουσών νευρώσεων, τον αριθμό μοιρών των γωνιών μεταξύ των νευρώσεων, τον αριθμό, το μέγεθος και το σχήμα των οδόντων του ελάσματος του φύλλου κ. ά.

Για κάθε αμπελογραφικό και αμπελομετρικό χαρακτηριστικό πάρθηκαν κάθε έτος της έρευνας 10 μετρήσεις από τις οποίες βγήκε ο μέσος όρος καθενός απ' αυτά, ξεχωριστά για κάθε ποικιλία, και καταγράφονταν σε ειδικό έντυπο p x n. Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με την Ανάλυση σε Κύριες Συνιστώσες (Dunteman, 1989) και η ομαδοποίηση σε ομοειδείς κατηγορίες έγινε με την Ιεραρχική Ταξινόμηση κατ' Αύξουσα Κυριαρχία (Aldenderfer and Blashfield, 1984). Η ανάλυση έγινε ξεχωριστά για τα αμπελογραφικά και αμπελομετρικά χαρακτηριστικά, λόγω των διαφορετικών μονάδων που χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση των παραπάνω χαρακτηριστικών.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο Πίνακας 1 παρουσιάζει τη συμβολή των νέων μεταβλητών (Factors) που δημιουργούνται με βάση τις αρχικές. Σε ό,τι αφορά τα αμπελογραφικά χαρακτηριστικά, φαίνεται ότι η πρώτη συνιστώσα συμβάλλει κατά 26,53%, η δεύτερη κατά 18,83%, η τρίτη κατά 12,79% και οι 5 πρώτες συνολικά κατά 73,53%. Σε ό,τι αφορά τα αμπελομετρικά χαρακτηριστικά η συμβολή της πρώτης συνιστώσας είναι 16,51%, της δεύτερης 14,03%, της τρίτης 12,46% και των επτά πρώτων συνολικά 74,20%.

**Πίνακας 1.** Συμβολή των αμπελογραφικών και αμπελομετρικών μεταβλητών στην παραλλακτικότητα των οиноποιήσιμων ποικιλιών της ευρωπαϊκής αμπέλου (*Vitis vinifera* L.)

Συνιστώσες	Αμπελογραφικές μεταβλητές		Αμπελομετρικές μεταβλητές	
	Συμβολή %	Αρχικές μεταβλητές(OIV)	Συμβολή %	Αρχικές μεταβλητές(OIV)
1	26,53	003, 015	16,51	N <sub>1</sub> , N <sub>2</sub> , N <sub>5</sub>
2	18,83	004, 051	14,04	N <sub>1</sub> -N <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> -N <sub>3</sub>
3	12,79	079, 067	12,46	N <sub>3</sub> -N <sub>4</sub>
4	8,03	202	10,17	N <sub>5</sub>
5	7,33	223	8,04	N <sub>2</sub> -N <sub>3</sub>

Φαίνεται, λοιπόν, ότι οι αρχικές αμπελογραφικές μεταβλητές που παίζουν τον πλέον καθοριστικό ρόλο στη φαινοτυπική παραλλακτικότητα ανάμεσα στις μελετούμενες οиноποιήσιμες ποικιλίες της αμπέλου είναι η ένταση του ανθοκυανικού χρωματισμού των ερπουσών τριχιδίων της κορυφής (OIV 003) και του περιβλήματος των λανθανόντων οφθαλμών (OIV 015), η πυκνότητα των ερπουσών τριχιδίων της κορυφής (OIV 004), ο χρωματισμός των νεαρών φύλλων της κορυφής (OIV 051), το σχήμα του ελάσματος (OIV 067) και της βάσης του μισχικού κόλπου των ώριμων φύλλων (OIV 079), το μέγεθος της σταφυλής (OIV 202) καθώς και των ραγών (OIV 223). Ως προς τις αμπελομετρικές μεταβλητές, τα μήκη των κύριων και δευτερευουσών νευρώσεων (N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>, N<sub>5</sub>) καθώς και οι γωνίες μεταξύ των νευρώσεων του ελάσματος του φύλλου (N<sub>1</sub>-N<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>, N<sub>3</sub>-N<sub>4</sub>) συμβάλλουν σημαντικά στη φαινοτυπική παραλλακτικότητα των ποικιλιών της αμπέλου.

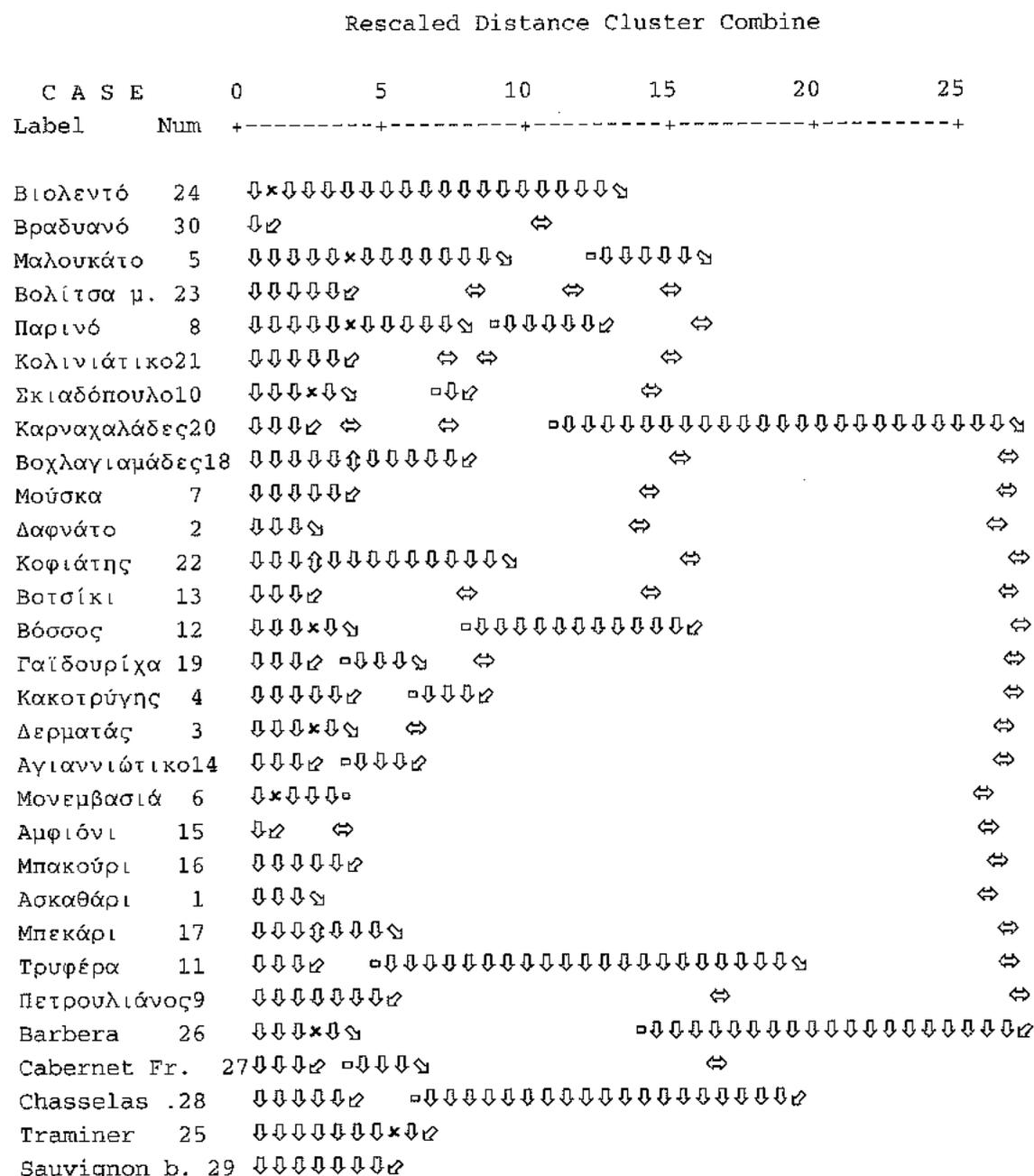
Σε ό,τι αφορά την ομαδοποίηση των ποικιλιών σε ομάδες με ομοειδή φαινοτυπικά χαρακτηριστικά, από τα Σχήματα 1 και 2 συμπεραίνεται ότι τα αμπελομετρικά χαρακτηριστικά συμβάλλουν στην καλύτερη ομαδοποίηση των ποικιλιών, σε σύγκριση με τα αμπελογραφικά.

#### Rescaled Distance Cluster Combine

C A S E	0	5	10	15	20	25
Label	Num	+-----+-----+-----+-----+-----+				
Βραδυανό	24	↓*↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓				
Traminer	30	↓↘	↘↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓			
Caber. Fr.	27	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓			↔	
Δερματάς	3	↓↓↓↓↓*↓↘			↘↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	
Παριανό	8	↓↓↓↓↓↘	↘↓↓↓↘		↔	↔
Κολλιινιάτικο	21	↓↓↓↓↓↓↓↘	↘↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓			↔
Μονεμβασιά	6	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓		↘↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓		↔
Μαλουκάτο	5	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓		↔		↔
Πετρουλιάνος	9	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↘↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓			↔
Τρυφέρα	11	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓				↔
Βόσσος	12	↓↓↓↓↓↓↓↓*↓↓↓				↔
Αγιαννιώτικο	14	↓↓↓↓↓↓↓↓↘	↘↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓			↔
Σκιαδόπουλο	10	↓↓↓↓↓↓↓↓*↓↓↓			↔	↔
Βοτσίκι	13	↓↓↓↓↓↓↓↓↘			↔	↔
Ασκαθάρι	1	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↘↓↓↓↓*↓↓↓		↔	↔
Δαφνάτο	2	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↘↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓		↘↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↘↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓
Γαΐδουρίχα	19	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓		↔		↔
Μπακούρι	16	↓↓↓↓↓*↓↓↓		↔	↔	
Sauvignon b.	29	↓↓↓↓↓↘	↔	↔	↔	
Κακοτρύγης	4	↓↓↓↓↓↓↓↓↘		↔		↔
Βολίτσα μ.	23	↓↓↓↓↓↓↓↓↘	↘↓↓↓↓↓		↘↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	

Chasselas d.28	28	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↔	↔
Μούσκα	7	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↔	↔
Μπεκάρι	17	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↔	↔
Κορφιάτης	22	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↔	↔
Βιολεντό	25	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↔	↔
Barbera	26	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↔	↔
Μπογγιαλαμάδες	18	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↔	↔
Καρναχαλάδες	20	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↔	↔
Αμφιόνι	15	↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓↓	↔	↔

Σχήμα 1. Ιεραρχική ταξινόμηση των ποικιλιών της αμπέλου με βάση τα αμπελογραφικά αρακτηριστικά



Σχήμα 2. Ιεραρχική ταξινόμηση των ποικιλιών της αμπέλου με βάση τα αμπελομετρικά αρακτηριστικά

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής φαίνεται ότι μερικά αμπελογραφικά και αμπελομετρικά χαρακτηριστικά συμβάλλουν σημαντικά στη φαινοτυπική παραλλακτικότητα των ποικιλιών της αμπέλου και στην κατάταξή τους σε ομοειδείς κατηγορίες. Ειδικότερα, τα αμπελομετρικά χαρακτηριστικά, τα οποία λαμβάνονται στο έλασμα του φύλλου, φαίνεται ότι συμβάλλουν στην καλύτερη ομαδοποίηση των ποικιλιών, γεγονός το οποίο μπορεί να βοηθήσει αποτελεσματικά στην ταξινόμηση και τη διάκριση των ποικιλιών της αμπέλου. Έτσι, από το Σχήμα 2 διαπιστώνεται ότι οι ξενικής προέλευσης ποικιλίες αμπέλου κατατάσσονται σε μια ξεχωριστή ομάδα. Από την άλλη πλευρά, ορισμένες γηγενείς ποικιλίες διαφέρουν φαινοτυπικά σημαντικά από τις υπόλοιπες, διαπίστωση που αποκαλύπτει πιθανή μεγάλη γενετική απόστασή τους.

Συμπερασματικά, η πλήρης αμπελογραφική περιγραφή των παραπάνω γηγενών βιότυπων της αμπέλου, σε συνδυασμό και με άλλες παρατηρήσεις τεχνολογικού ενδιαφέροντος, ενδεχομένως να αναδείξει παραμελημένες ντόπιες ποικιλίες αμπέλου με άριστο ποιοτικό δυναμικό, γεγονός που θα συμβάλει στη βελτίωση της ποιότητας των παραγόμενων αμπελοοινικών προϊόντων και στην αύξηση της ανταγωνιστικότητας του κλάδου της αμπελοοινικής παραγωγής, με συνέπεια τη βελτίωση του εισοδήματος του έλληνα αμπελουργού και της εθνικής οικονομίας γενικότερα.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aldenderfer, M.S. and Blashfield R. K., 1984. Cluster Analysis, Sage Beverly Hills, p. 87
- Alessandri, S., Vignozzi, N., Vognini, M., 1996. Ampelographic Computer-Aided Digitizing System: An Integrated System to Digitize, File and Process Biometrical Data from *Vitis* ssp. Leaves. *Am. J. Enol. Vitic.*, Vol 47 (3), p. 257-267.
- Costacurta, A., Calo, A., Carraro, R., Giust, M., Antoniazzi, M., Lazzaro, G., 1996. Methodologie computerizzate per la caratterizzazione di vitigni. *Riv. Vitic. Enol.*, Vol 1, p. 27-34.
- Dunteman, G. H., 1989. Principal Component Analysis, Sage Beverly Hills, p. 96.
- Galet, P., 1985. *Precis d' ampelographie pratique*. 5eme edition, Dehan Montpellier, p. 256.
- OIV, 1983. *Caractères ampélographiques*. Office International de la Vigne et du Vin.
- Schneider, A., Zeppa, G., 1988. Biometria in ampelografia: l' uso di una tavoletta grafica per effettuare rapidamente misure fillometriche. *Vignevini*, Vol 15, p. 37-40.

## PHENOTYPIC STUDY OF CERTAIN OLD INDIGENOUS AND FOREIGN WINE GRAPEVINE CULTIVARS

A. Mattheou<sup>1</sup> and N. Nikolaou<sup>2</sup>

<sup>1</sup> NAGREF, Agricultural Research Center of Macedonia and Thrace, Greek Gene Bank, 570 01 Thermi of Thessaloniki

<sup>2</sup> Aristotelian University of Thessaloniki, Department of Agriculture, Laboratory of Viticulture, 541 24 Thessaloniki.

## SUMMARY

In this work 35 ampelographic and 19 ampelometric characters have been studied for the description, distinction and classification of 25 old indigenous and 5 foreign wine grapevine cultivars grown for many years in our country. The research was carried out in the ampelographic collection of the Greek Gene Bank of the Agricultural Research Centre of Macedonia and Thrace - NAGREF - located near village Thermi of Thessaloniki, during the period 2001-2003, within the framework of European Community programme GenRes CT96 081. The distinction and classification of grapevine cultivars in increasing hierarchy groups, separately for the ampelographic and the ampelometric characters respectively resulted in very different groupings.

From the ampelographic characters the most significant contribution to the differentiation and distinction among the cultivars was made by the intensity of anthocyanin colouration on prostrate hairs of the shoot tip as well as of the dormant bud scales, the density of prostrate hairs and the colour of the young leaves of the shoot

tip respectively, the shape of the leaf blade and of the base of petiole sinus of adult leaf, the size of the bunch and the berry shape.

As regards the analysis of the ampelometric characters, their contribution to the differentiation and distinction among grapevine cultivars was mainly attributed to the lengths of main and secondary veins of adult leaf  $N_1$ ,  $N_2$  and  $N_5$  respectively as well as the size of the angles among veins  $N_1-N_2$ ,  $N_2-N_3$ ,  $N_3-N_4$  of leaf blade.

The overall conclusion is that great phenotypic variability exists in these old indigenous wine grapevine varieties of the current study. These varieties represent a precious genetic material that merits appreciation and scientific exploitation for the genetic improvement of grapevine.

**ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΤΙΚΟΣ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ  
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ**

**Ζήσης Μιχαηλίδης**

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Ινστιτούτο Θεσσαλονίκης, ΑΤΕΙΘ

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Η διαδικασία της ανάλυσης παραλλακτικότητας, ANOVA, που αναπτύχθηκε αρχικά από τον Fisher, τέθηκε αργότερα σε διαφορετικό θεωρητικό πλαίσιο, των γραμμικών μοντέλων, που αποτελεί τη μοντέρνα προσέγγιση του προβλήματος με τη χρήση πινάκων.

Τα μοντέλα των καθορισμένων παραγόντων εκτιμούν τις επιδράσεις των παραγόντων και τη σημαντικότητα των διαφορών. Στα τυχαία μοντέλα εκτιμάται ο μέσος όρος και η παραλλακτικότητα των τυχαίων μεταβλητών. Στα μεικτά μοντέλα συμπεριλαμβάνονται καθορισμένοι και τυχαίοι παράγοντες και οι αλληλεπιδράσεις με έναν τουλάχιστον παράγοντα τυχαίο λαμβάνονται ως τυχαίες.

Κατά την κατασκευή των μοντέλων στην παρούσα εργασία, οι παράγοντες εξετάστηκαν με φθίνουσα σειρά μεγέθους ως προς την αναμενόμενη παραλλακτικότητα. Η κατάταξη των παραγόντων, παραγοντικά για καθορισμένους παράγοντες και ιεραρχικά για τυχαίους, καθόρισε τη δομή των μοντέλων και τις πηγές παραλλακτικότητας στον πίνακα ANOVA. Καθορισμένοι παράγοντες ή και τυχαίοι παράγοντες, με σταθερά τα επίπεδα στα διάφορα επίπεδα ετέρου παράγοντα, κατατάσσονται παραγοντικά. Στην παραγοντική κατάταξη αυτή, η παραλλακτικότητα του πρώτου παράγοντα, του δεύτερου και της αλληλεπίδρασης συμπεριλαμβάνονται στον πίνακα ANOVA. Στην ιεραρχική κατάταξη εκτιμώνται η παραλλακτικότητα του πρώτου παράγοντα και αυτή του δεύτερου τυχαίου παράγοντα εντός του πρώτου, ύστερα από συγχώνευση των πηγών παραλλακτικότητας του δεύτερου και της αλληλεπίδρασης.

Οι εκτιμήσεις των μέσων τετραγώνων λήφθηκαν από τις συνιστώσες παραλλακτικότητας των μέσων τετραγώνων του μοντέλου, λαμβανομένου καταρχήν ως τυχαίου, όπου για κάθε πηγή παραλλακτικότητας περιλαμβάνονται όλες οι συνιστώσες που στο δείκτη τους περιέχουν την παραλλακτικότητα αυτή και διαγραφόμενων εκείνων με έστω έναν καθορισμένο παράγοντα, εκτός της συνιστώσας της αναφερόμενης πηγής παραλλακτικότητας. Για τις F-δοκιμές σημαντικότητας χρησιμοποιήθηκε για παρονομαστής, μέσο τετράγωνο που περιείχε όλες τις συνιστώσες παραλλακτικότητας της πηγής που δοκιμάζεται πλην της προς δοκιμήν.

Για την ανάπτυξη εφαρμογών των μοντέλων καταρχήν τα πειραματικά δεδομένα χειρίστηκαν προγραμματιστικά, όπως σένα τυπικό παραγοντικό πείραμα. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν οι προτεινόμενες συγχωνεύσεις πηγών παραλλακτικότητας και έγιναν οι δοκιμές σημαντικότητας.

Στα γεωργικά πειράματα, όταν οι τοποθεσίες θεωρήθηκαν καθορισμένες τα αποτελέσματα ισχύουν μόνον για τις περιοχές αυτές, οπότε πραγματοποιούνται και συγκρίσεις μεταξύ τοποθεσιών. Για τη γενίκευση των αποτελεσμάτων και σε μη δειγματοληφθείσες τοποθεσίες καθώς και στα επόμενα έτη, οι παράγοντες τοποθεσία και έτη λήφθηκαν ως τυχαίοι οπότε εκτιμώνται παραλλακτικότητες και η σημαντικότητα. Η σύγκριση καθορισμένων παραγόντων εντός μιας εκάστης τυχαίας τοποθεσίας βρέθηκε ότι είναι επιτρεπτή, οπότε μπορεί να εκτιμηθεί και η εκάστοτε συχνότητα εμφάνισης των παρατηρούμενων διαφορών. Στην κατασκευή μοντέλων για πειράματα με πολυετείς καλλιέργειες, όπως συμβαίνει και σε καλλιέργειες με περισσότερες της μίας συγκομιδές ετήσια και όταν μελετάται η διαχρονική συσσωρευτική επίδραση παραγόντων, ο χρόνος λήφθηκε ως καθορισμένος.

Η κατασκευή των στατιστικών μοντέλων αναλόγως του τυχαίου ή του καθορισμένου των παραγόντων, οι συγχωνεύσεις των πηγών παραλλακτικότητας, οι δοκιμές σημαντικότητας και οι εκτιμήσεις των παραλλακτικότητας δίνονται για συνήθη γεωργικά πειράματα με την εφαρμογή της παραδοσιακής μεθόδου ANOVA, των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων που προσφέρονται για κατηγοριοποιημένους παράγοντες και ημιτελή πειράματα και με τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας υπό περιορισμούς που κρίνεται κατάλληλη ιδιαίτερα για τα μεικτά μοντέλα.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διαδικασία της ανάλυσης παραλλακτικότητας αναπτύχθηκε αρχικά από τον Fisher. Αργότερα τέθηκε στο θεωρητικό πλαίσιο των γραμμικών μοντέλων (Afifi και Azen, 1979). Με την εφαρμογή των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων (Generalized Linear Models, GLM) λύθηκαν τα προβλήματα χρήσης κατηγοριοποιημένων παραγόντων και ημιτελών πειραμάτων με άνισο αριθμό παρατηρήσεων και μεταβλητές μη ανεξάρτητες.

Όταν οι παράγοντες είναι τυχαίοι, εκτιμάται η παραλλακτικότητα και η σημαντικότητα από το μηδέν και όταν είναι καθορισμένοι, εκτιμώνται οι επιδράσεις και η σημαντικότητα των διαφορών (Μιχαηλίδης, 2004). Τα μοντέλα χαρακτηρίζονται ως καθορισμένα ή Model I, όταν όλοι οι παράγοντες είναι καθορισμένοι, ως τυχαία (Model II) όταν είναι τυχαίοι και ως μεικτά (Mixed models), όταν ορισμένοι παράγοντες είναι τυχαίοι και άλλοι καθορισμένοι. Εκτός από το χαρακτηρισμό των παραγόντων ως καθορισμένων και τυχαίων, οι αλληλεπιδράσεις με έναν τουλάχιστον παράγοντα τυχαίο λαμβάνονται ως τυχαίες.

Η κατασκευή βέλτιστων πειραματικών σχεδίων με τη μέγιστη πληροφορία μπορεί να επιτευχθεί με την εφαρμογή των D- και A- κριτηρίων βελτιστοποίησης (A- και D-optimality criterion).

Για την εκτίμηση των παραμέτρων ενός μοντέλου χρησιμοποιούνται συνήθως οι μέθοδοι α) των μαθηματικών προσδοκιών (Expectations), β) της μέγιστης πιθανοφάνειας (Maximum likelihood method, ML) και γ) των ελαχίστων τετραγώνων (Least squares method).

Για την εκτίμηση των συνιστώσων παραλλακτικότητας των μέσων τετραγώνων, η μέθοδος ANOVA είναι από τις πλέον συνήθεις μεθόδους, δεν είναι όμως αμερόληπτη και μπορεί να δώσει και αρνητικές τιμές. Μία εναλλακτική μέθοδος είναι η της μέγιστης πιθανοφάνειας (Searle, Casella and McCulloch, 1992), που βασίζεται σε διαδοχικές προσεγγίσεις (iterations) και σε μεγάλα δείγματα. Τα αποτελέσματα πάντως από τις διάφορες μεθόδους συμφωνούν ικανοποιητικά κατά τον Swallow και Monahan (1984). Τελευταία, εφαρμόζεται για τα μεικτά μοντέλα η μέθοδος της μέγιστης πιθανοφάνειας υπό περιορισμούς (Restricted maximum likelihood method, REML) που είχε προταθεί παλαιότερα (Patterson and Thompson, 1971, Searle, 1987). Η μέθοδος απαιτεί διαδοχικές προσεγγίσεις που δεν συγκλίνουν πάντα, λόγω κυρίως χρήσης μη καταλλήλων τιμών εκκίνησης. Για την εύρεση μεθόδων για αποτελεσματικές τιμές εκκίνησης εργάζονται διάφορες εταιρείες λογισμικών όπως και για τον υπολογισμό κατάλληλων τυπικών σφαλμάτων στις αλληλεπιδράσεις, όπου διάφορες συγκρίσεις έχουν διαφορετικές παραλλακτικότητες, όπως συμβαίνει και στα πειράματα split-plot.

Οι F-δοκιμές σημαντικότητας των πηγών παραλλακτικότητας από τις εκτιμήσεις των μέσων τετραγώνων, πραγματοποιούνται με το κατάλληλο μέσο τετράγωνο ως παρονομαστή, που περιέχει όλες τις συνιστώσες παραλλακτικότητας της πηγής που δοκιμάζεται πλην της προς δοκιμή.

Τα περισσότερα από τα γνωστά στατιστικά λογισμικά όπως είναι το SPSS(2003), Minitab(2000), Statistica(2001), SAS(1999) και JMP(2003) απαιτούν να δοθεί το στατιστικό μοντέλο και να χαρακτηριστούν οι τυχαίοι παράγοντες, ενώ άλλα προσφέρουν λύσεις για γνωστά τυποποιημένα πειραματικά σχέδια όπως το MSTAT(1989).

Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται περιπτώσεις γεωργικών πειραμάτων δικτυωμένων στο χώρο και χρόνο, με τα έτη και τις τοποθεσίες ως τυχαίους παράγοντες, ώστε τα αποτελέσματα να ισχύουν για τα επόμενα έτη και να γενικεύονται και σε περιοχές που δεν συμπεριλήφθηκαν στον πειραματισμό. Δίνεται η κατάταξη των παραγόντων παραγοντικά και ιεραρχικά ανάλογα με τον χαρακτηρισμό τους ως καθορισμένων ή τυχαίων, καθώς και ο πίνακας ANOVA που προκύπτει μετά την υποδεικνύμενη συγχώνευση των πηγών παραλλακτικότητας του τυπικού παραγοντικού πειράματος, ύστερα από ιεραρχικό διαχωρισμό της ολικής παραλλακτικότητας σε επί μέρους συνιστώσες. Δίνονται επίσης οι συνιστώσες παραλλακτικότητας των πηγών παραλλακτικότητας του μοντέλου λαμβανομένου υπό περιορισμούς, ήτοι των επιδράσεων και αλληλεπιδράσεων αθροιζόμενων στο μηδέν, καθώς και οι F-δοκιμές σημαντικότητας, σε πειράματα με ίσο αριθμό παρατηρήσεων. Το τελικά λαμβανόμενο στατιστικό μοντέλο στην απλοποιημένη μορφή με τις πηγές παραλλακτικότητας χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των δεδομένων με στατιστικά πακέτα και γίνεται εφαρμογή των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων και της μεθόδου της μέγιστης πιθανοφάνειας υπό περιορισμούς, όπου οι παραλλακτικότητες εκτιμώνται απευθείας με συνεχείς προσεγγίσεις και όχι από συνιστώσες παραλλακτικότητας μέσω τετραγώνων.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για την ανάλυση παραλλακτικότητας εφαρμόστηκε η μέθοδος των ελαχίστων τετραγώνων και για τις εκτιμήσεις των μέσων τετραγώνων, οι μαθηματικές προσδοκίες (expectations).

Ο καθορισμός των πηγών παραλλακτικότητας και των εκτιμήσεων των συνιστωσών παραλλακτικότητας των μέσων τετραγώνων καθίσταται ιδιαίτερα δύσκολος σε πειράματα με τυχαίους και καθορισμένους παράγοντες. Στην παρούσα εργασία προτείνεται η εφαρμογή μίας σχετικά εύκολης διαδικασίας (Μιχαηλίδης, 1985). Καταρχήν οι παράγοντες κατατάχθηκαν ανάλογα με το μέγεθος της αναμενόμενης παραλλακτικότητας (ιεραρχική διαδικασία) και στη συνέχεια μεταξύ τους παραγοντικά ή ιεραρχικά, ανάλογα αν είναι καθορισμένοι ή τυχαίοι. Τα δεδομένα επεξεργάζονται προγραμματιστικά, όπως σ' ένα τυπικό παραγοντικό πείραμα (Full factorial) με όλους τους δυνατούς συνδυασμούς των παραγόντων. Στη συνέχεια πραγματοποιούνται οι αναγκαίες συγχωνεύσεις των πηγών παραλλακτικότητας, για να ληφθούν οι τελικές πηγές παραλλακτικότητας του πίνακα ANOVA. Τις συγχωνεύσεις αυτές ακολουθούν αντίστοιχες των βαθμών ελευθερίας και των αθροισμάτων τετραγώνων. Οι συγχωνεύσεις που αναφέρονται σε αλληλεπιδράσεις των επαναλήψεων με λοιπούς παράγοντες αποτελούν τα πειραματικά σφάλματα. Οι εκτιμήσεις των μέσων τετραγώνων λαμβάνονται από τις εκτιμήσεις των μέσων τετραγώνων του τυχαίου μοντέλου, όπου για κάθε πηγή παραλλακτικότητας περιλαμβάνονται όλες οι συνιστώσες που στο δείκτη τους περιέχουν την παραλλακτικότητα αυτή, διαγραφόμενων των συνιστωσών που περιέχουν έστω ένα καθορισμένο παράγοντα, εκτός της συνιστώσας της αναφερόμενης πηγής.

Η δοκιμή σημαντικότητας των πηγών παραλλακτικότητας με το F-κριτήριο πραγματοποιήθηκε με παρονομαστή το μέσο τετράγωνο που περιείχε όλες τις συνιστώσες παραλλακτικότητας της πηγής που δοκιμάζεται πλην της προς δοκιμήν.

Για την εφαρμογή των μοντέλων που προτάθηκαν στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από το πρόγραμμα αξιολόγησης ποικιλιών βαμβακιού της εταιρείας Βίος Αγροσυστήματα από πειράματα τυχαιοποιημένων ομάδων τεμαχίων (Randomized complete block design, RCBD) με επτά ποικιλίες σε τέσσερες επαναλήψεις, δύο περιοχές και τρία έτη. Στη συνέχεια τα δεδομένα αναλύθηκαν επίσης με την εφαρμογή των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων και της μεθόδου της μέγιστης πιθανοφάνειας υπό περιορισμούς με τα λογισμικά πακέτα Minitab 13.20 και JMP IN 5.1.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κατά την κατασκευή των μοντέλων, οι παράγοντες εξετάστηκαν με φθίνουσα σειρά μεγέθους ως προς την αναμενόμενη παραλλακτικότητα, ήτοι έτη, τοποθεσίες, επαναλήψεις και μεταχειρίσεις.

Η παραγοντική κατάταξη των καθορισμένων παραγόντων και η ιεραρχική για τυχαίους παράγοντες (Εικ. 1, 2, 3 και 4), καθόρισε τη δομή των μοντέλων και τις πηγές παραλλακτικότητας του πίνακα ANOVA (Πιν. 1, 4, 5 και 6).

Στην περίπτωση που οι τοποθεσίες θεωρήθηκαν καθορισμένες (Εικ. 3 και Πιν. 5) τα αποτελέσματα ισχύουν μόνον για τις περιοχές που αντιπροσωπεύθηκαν στον πειραματισμό και γίνονται συγκρίσεις μεταξύ των τοποθεσιών. Για την επέκταση των αποτελεσμάτων και σε μη δειγματοληφθείσες τοποθεσίες (Εικ. 1 και 2 και Πιν. 1 και 4), καθώς και για τα επόμενα έτη, οι τοποθεσίες και τα έτη ελήφθησαν ως τυχαίοι παράγοντες, οπότε εκτιμήθηκαν οι σημαντικότητες των παραλλακτικότητας. Η σύγκριση καθορισμένων παραγόντων εντός μιας εκάστης τυχαίας τοποθεσίας ή έτους εκτιμήθηκε ότι είναι δυνατή, οπότε μπορεί να υπολογισθεί εντός ορίων και η εκάστοτε συχνότητα εμφάνισης των παρατηρούμενων διαφορών. Σε πειράματα με πολυετείς καλλιέργειες, σε καλλιέργειες με περισσότερες της μίας συγκομιδές ετήσια και όταν μελετάται η διαχρονική συσσωρευτική επίδραση παραγόντων, ο χρόνος λαμβάνεται συνήθως ως καθορισμένος (Εικ. 4 και Πιν. 6).

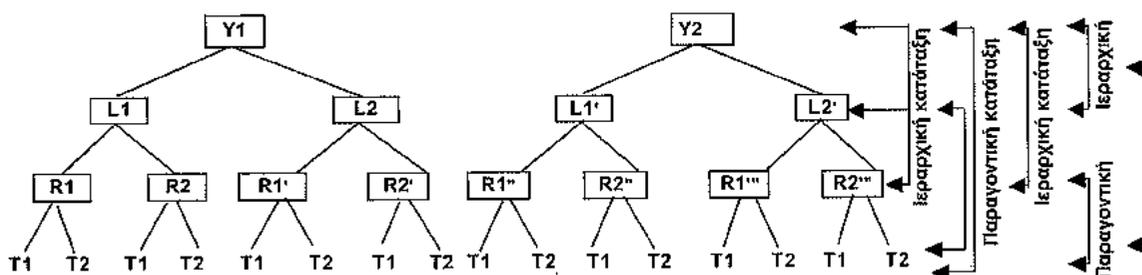
Με την παραδοσιακή μέθοδο ANOVA (Πιν. 2) και τη χρήση του πακέτου Minitab και με το μοντέλο στη μορφή υπό περιορισμούς, πάρθηκαν τα ίδια αποτελέσματα όσον αφορά τα αθροίσματα τετραγώνων (AT), τους βαθμούς ελευθερίας (β.ε.), τα μέσα τετράγωνα (MT), τις εκτιμήσεις MT, τις F-δοκιμές και τις εκτιμήσεις παραλλακτικότητας. Εφαρμόζοντας το γενικευμένο γραμμικό μοντέλο με το Minitab (Πιν. 3), πάρθηκαν τα ίδια AT, β.ε. και MT, επηρεάστηκαν όμως οι εκτιμήσεις των MT, και επομένως τα πειραματικά σφάλματα για τις F-δοκιμές καθώς και οι εκτιμήσεις των παραλλακτικότητας. Το στατιστικό πακέτο JMP όπως και το SPSS κάνει χρήση της μορφής του μοντέλου χωρίς περιορισμούς και οι εκτιμήσεις των MT δίνονται ως εάν το μοντέλο ήταν τυχαίο (Πιν. 3). Σε μεγάλα δείγματα πάντως τα αποτελέσματα, χρησιμοποιώντας το καθορισμένο μοντέλο ή το τυχαίο ή το μεικτό συγκλίνουν μεταξύ τους (Schultz, 1955).

Οι συνιστώσες των παραλλακτικότητων των εκτιμήσεων των ΜΤ με τη διαδικασία ANOVA πάρθηκαν λαμβανομένων υπόψη των τυχαίων και καθορισμένων επιδράσεων. Οι εκτιμήσεις των παραλλακτικότητων για καθορισμένους παράγοντες δεν αποτελούν παραλλακτικότητες υπό την στατιστική έννοια, έχουν όμως τα χαρακτηριστικά αυτών και ως τέτοιες χρησιμοποιήθηκαν.

**Περίπτωση 1<sup>η</sup>.** Συνδυασμένη ανάλυση γεωργικών πειραμάτων κατά το σχέδιο των τυχαιοποιημένων ομάδων τεμαχίων δικτυωμένων στο χώρο και χρόνο. Οι παράγοντες κατατάσσονται με φθίνουσα σειρά μεγέθους ως προς την αναμενόμενη παραλλακτικότητα. Έτη, τοποθεσίες και επαναλήψεις λαμβάνονται ως τυχαίοι παράγοντες και μεταχειρίσεις ως καθορισμένες (Εικ.1 και Πιν.1).

**α. Τοποθεσίες τυχαίες διαφορετικές στα έτη**

**Εικόνα 1.** Τυχαίοι παράγοντες: Έτη(Y), Τοποθεσίες(L), Επαναλήψεις-ομάδες(R). Καθορισμένοι παράγοντες: Μεταχειρίσεις-ποικιλίες(T). Τοποθεσίες διαφορετικές από έτος σε έτος.  
Κατάταξη παραγόντων



**Πίνακας 1.** Πίνακας ανάλυσης παραλλακτικότητας

Παραγοντική ανάλυση	Πηγές παραλλακτικότητας μετά τη συγχώνευση	Βαθμοί Ελευθερίας	Εκτιμήσεις ΜΤ	F-δοκιμές
Y	Y	(y-1)	$\sigma^2 + t\sigma^2_{R(LY)} + r\sigma^2_{TL(Y)} + rl\sigma^2_{TY} + tr\sigma^2_{L(Y)} + tlr\sigma^2_Y$	←
L L*Y	L(Y)	(l-1)*y	$\sigma^2 + t\sigma^2_{R(LY)} + r\sigma^2_{TL(Y)} + tr\sigma^2_{L(Y)}$	
R R*Y R*L R*L*Y	R(L*Y)	(r-1)*l*y	$\sigma^2 + t\sigma^2_{R(LY)}$	←
T	T	(t-1)	$\sigma^2 + r\sigma^2_{TL(Y)} + rl\sigma^2_{TY} + ryl\sigma^2_T$	
T*Y	T*Y	(t-1)*(y-1)	$\sigma^2 + r\sigma^2_{TL(Y)} + rl\sigma^2_{TY}$	←
T*L T*L*Y	T*L(Y)	(t-1)*(l-1)*y	$\sigma^2 + r\sigma^2_{TL(Y)}$	
T*R T*R*Y T*R*L T*R*L*Y	Σφάλμα T*R(L*Y)	(t-1)*(r-1)*l*y	$\sigma^2$	←

Σημείωση: τα βέλη στον πίνακα δείχνουν τα πειραματικά σφάλματα για τις F-δοκιμές σημαντικότητας.

Το στατιστικό μοντέλο σε απλοποιημένη μορφή με τις πηγές παραλλακτικότητας, όπως πχ Y L(Y) R(L Y) T T\*Y T\*L(Y) και T\*R(L Y), χρησιμοποιείται στα λογισμικά πακέτα. Σε ορισμένα από αυτά απαιτείται η χρήση του + μεταξύ των πηγών παραλλακτικότητας, σε άλλα δεν απαιτείται η χρήση του αστερίσκου (\*), ενώ σε άλλα δεν συμπεριλαμβάνεται η τελευταία πηγή T\*R(L\*Y).

Πίνακας 2. Ανάλυση παραλλακτικότητας με τη μέθοδο ANOVA, δεδομένων αξιολόγησης επτά ποικιλιών βαμβακιού με το πειραματικό σχέδιο των τυχαιοποιημένων ομάδων τεμαχίων σε τέσσερες επαναλήψεις, δύο περιοχές (Αλεξάνδρεια Μακεδονίας και Λάρισα) και τρία έτη (1999, 2002, 2003)

Προσωνυμική ονομασία	ΑΤ	βε	Πηγές προϊόντος μετά τη συχρότητα	ΑΤ	βε	ΜΤ	$F_{\text{εμφαν.}}$	$P$	Εκτίμησης ΜΤ	F-δοκιμές	
Y	14529	2	Y	14529	$(t-1)$	2	7365	0,27	0,781	$\sigma^2 + 7\sigma^2_{\text{π.0}} + 4\sigma^2_{\text{T.0}} + 8\sigma^2_{\text{T.Y}} + 28\sigma^2_{\text{L.Y}} + 50\sigma^2_{\text{R.Y}}$	
L	75224	1	L(Y)	33978	$(t-1)^*y$	3	27693	115,38	0,000	$\sigma^2 + 7\sigma^2_{\text{π.0}} + 4\sigma^2_{\text{T.0}} + 28\sigma^2_{\text{L.0}}$	←
L*Y	33853	2									
R	13106	3	R(L*Y)	-3634	$(t-1)^*1^*y$	18	224	1,01	0,070	$\sigma^2 + 7\sigma^2_{\text{π.0}}$	←
R*Y	1604	6									
R*L	323	3									
R*L*Y	1252	6									
T	6028	6	T	6028	$(t-1)$	6	1038	2,40	0,093	$\sigma^2 + 4\sigma^2_{\text{T.0}} + 8\sigma^2_{\text{T.Y}} + 24\sigma^2_{\text{T}}$	
T*Y	5255	12	T*Y	5255	$(t-1)^*(t-1)$	12	488	0,12	0,976	$\sigma^2 + 4\sigma^2_{\text{T.0}} + 8\sigma^2_{\text{T.Y}}$	←
T*L	16076	6	T*L(Y)	23709	$(t-1)^*(t-1)^*y$	18	1319	3,74	0,000	$\sigma^2 + 4\sigma^2_{\text{T.0}}$	←
T*L*Y	7598	12									
T*R	2227	18	Σφάλμα	16230	$(t-1)^*(t-1)^*1^*y$	108	1505		$\sigma^2$		←
T*R*Y	5571	36									
T*R*L	4520	18									
T*R*L*Y	4182	36									

Η σύγκριση μίας ποικιλίας σε δύο τυχαίες τοποθεσίες, μέσα σε κάθε έτος δεν έχει νόημα, διότι η προσδοκώμενη τιμή της διαφοράς εκτιμήθηκε ότι ισούται με μηδέν, η διαφορά όμως δύο ποικιλιών σε μία τυχαία τοποθεσία, μέσα σε κάθε έτος, υπάρχει και μπορεί να ελεγχθεί η σημαντικότητά της.

Οι εκτιμήσεις των παραλλακτικότητων λήφθηκαν εξισώνοντας τις εκτιμήσεις των ΜΤ με τις τιμές των ΜΤ του πίνακα ANOVA και λύνοντας το σύστημα των εξισώσεων.

Παράγοντες	Παραλλ/τες	Η παραλλακτικότητα 129,7 του καθορισμένου παράγοντα T δεν αποτελεί παραλλακτικότητα υπό την στατιστική έννοια και για το λόγο αυτό δε δίνεται από τα περισσότερα στατιστικά πακέτα. Οι παραλλακτικότητες των επιδράσεων Y και T*Y βρέθηκαν αρνητικές, πράγμα που μπορεί να οφείλεται στη μη επιλογή του κατάλληλου μοντέλου, σε ανθρώπινη επέμβαση στη διαμόρφωση των δεδομένων, στην ανάγκη για μεγαλύτερο δείγμα ή και να αποτελεί τυχαίο γεγονός.
Y	-3684,4	
L(Y)	9902,4	
R(Y L)	131,2	
T	129,7	
Y*T	-1120,3	
T*L(Y)	2911,5	
Σφάλμα	1505,5	

Η ανάλυση παραλλακτικότητας των αποδόσεων των ποικιλιών βαμβακιού με το λογισμικό Minitab και τη μέθοδο balanced (ίσος αριθμός παρατηρήσεων) ANOVA και το μοντέλο υπό περιορισμούς, οι εκτιμήσεις των MT, τα σφάλματα για τις F-δοκιμές και οι εκτιμήσεις των παραλλακτικότητας των τυχαίων παραγόντων είναι ακριβώς όπως δίνονται και στον πίνακα 2, και που τα στοιχεία άρθθηκαν με την εφαρμογή της παραδοσιακής μεθόδου ANOVA. Για το λόγο αυτό τα αποτελέσματα δεν παρουσιάζονται για δεύτερη φορά.

Το λογισμικό Minitab 13.20 με την εφαρμογή του γενικευμένου γραμμικού μοντέλου ή της balanced ANOVA και το μοντέλο χωρίς περιορισμούς, καθώς και η έκδοση του λογισμικού JMP IN 5.1 με την ANOVA (εκτιμήσεις MT), και για ίσο αριθμό παρατηρήσεων, έδωσαν τα ίδια αποτελέσματα (Πιν. 3), (Minitab 2000, JMP IN 2003), του μοντέλου όμως λαμβανομένου ως τυχαίου.

**Πίνακας 3.** Ανάλυση παραλλακτικότητας αποδόσεων ποικιλιών βαμβακιού, εκτιμήσεις MT, παραλλακτικότητες (3α) και MT για τις δοκιμές σημαντικότητας (3β), με το Minitab (GLM ή ANOVA με το μοντέλο χωρίς περιορισμούς) και το JMP (ANOVA), με ίσο αριθμό παρατηρήσεων

**3α.** Πίνακας ανάλυσης παραλλακτικότητας, εκτιμήσεις μέσω τετραγώνων και παραλλακτικότητες.

Πηγή	β.ε.	ΑΤ	ΜΤ	F	P	Παραλλακτ.	Εκτιμήσεις MT
(1) Y	2	146729	73365	0,27	0,781	-3524,4	(7)+4(6)+8(5)+7(3)+28(2)+56(1)
(2) L(Y)	3	839078	279693	19,88	0,000	9486,6	(7)+7(3)+ 4(6)+28(2)
(3) R(Y,L)	18	43634	2424	1,61	0,070	131,2	(7)+7(3)
(4) T	6	60228	10038	2,40	0,093		(7)+4(6)+8(5)+24Q[4]
(5) Y*T	12	50255	4188	0,32	0,976	-1120,3	(7)+4(6)+8(5)
(6) T*L(Y)	18	236709	13151	8,74	0,000	2911,3	(7)+4(6)
(7) Σφάλμα	108	162590	1505			1505,5	(7)

**3β.** Μέσα τετράγωνα σφαλμάτων για τις F-δοκιμές σημαντικότητας

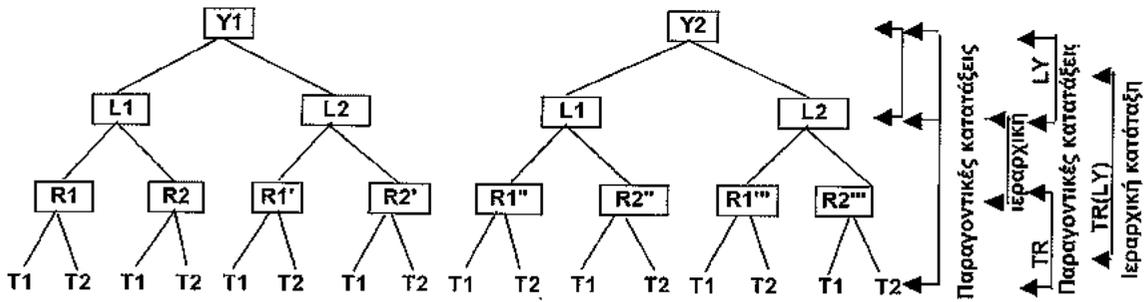
Πηγή	β.ε. σφαλμάτων	ΜΤ σφαλμάτων	Σύνθεση MT σφαλμάτων
(1) Y	2,81	270730	(2) + (5) - (6)
(2) L(Y)	19,88	14069	(3) + (6) - (7)
(3) R(Y L)	108,00	1505	(7)
(4) T	12,00	4188	(5)
(5) Y*T	18,00	13151	(6)
(6) T*L(Y)	108,00	1505	(7)

Η εφαρμογή της μεθόδου REML με το λογισμικό JMP IN 5.1(ή το SPSS 11.0) παρουσίασε προβλήματα σύγκλισης στις διαδοχικές προσεγγίσεις που πιθανώς να οφείλονται στη μη επιλογή των κατάλληλων τιμών εκκίνησης. Τα αποτελέσματα δεν είναι αξιόπιστα και δεν παρουσιάζονται.

β. Τοποθεσίες τυχαίες, σταθερές στα διάφορα έτη

Εικόνα 2. Τυχαίοι παράγοντες: Έτη(Y), Τοποθεσίες(L), Επαναλήψεις-ομάδες(R); Καθορισμένοι παράγοντες: Μεταχειρίσεις-ποικιλίες (T). Τοποθεσίες τυχαίες, σταθερές στα διάφορα έτη

Κατάταξη παραγόντων



Πίνακας 4. Πίνακας ανάλυσης παραλλακτικότητας

Παραγοντική ανάλυση	Πηγές παραλλήλας μετά τη συγχώνευση	Βαθμοί Ελευθερίας	Εκτιμήσεις MT	F-δοκιμές
Y	Y	(y-1)	$\sigma^2 + t\sigma^2_{RLY} + r\sigma^2_{TLY} + r\sigma^2_{TY} + tr\sigma^2_{LY} + tr\sigma^2_Y$	←
L	L	(l-1)	$\sigma^2 + t\sigma^2_{RLY} + r\sigma^2_{TLY} + r\sigma^2_{TY} + tr\sigma^2_{LY} + tr\sigma^2_L$	
L^Y	L^Y	(l-1)^y (r-1)	$\sigma^2 + t\sigma^2_{RLY} + r\sigma^2_{TLY} + tr\sigma^2_{LY}$	←
R	R(L^Y)	(r-1)^l l^y	$\sigma^2 + t\sigma^2_{RLY}$	
R^Y				
R^L				
R^L^Y				
T	T	(t-1)	$\sigma^2 + r\sigma^2_{TLY} + r\sigma^2_{TL} + r\sigma^2_{TY} + r\sigma^2_T$	←
T^Y	T^Y	(t-1)^y (l-1)	$\sigma^2 + r\sigma^2_{TLY} + r\sigma^2_{TY}$	
T^L	T^L	(t-1)^l (l-1)	$\sigma^2 + r\sigma^2_{TLY} + r\sigma^2_{TL}$	←
T^L^Y	T^L^Y	(t-1)^l (l-1)^y (y-1)	$\sigma^2 + r\sigma^2_{TLY}$	
T^R	Σφάλμα T^R(L^Y)	(t-1)^l (r-1)^l l^y	$\sigma^2$	←
T^R^Y				
T^R^L				
T^R^L^Y				

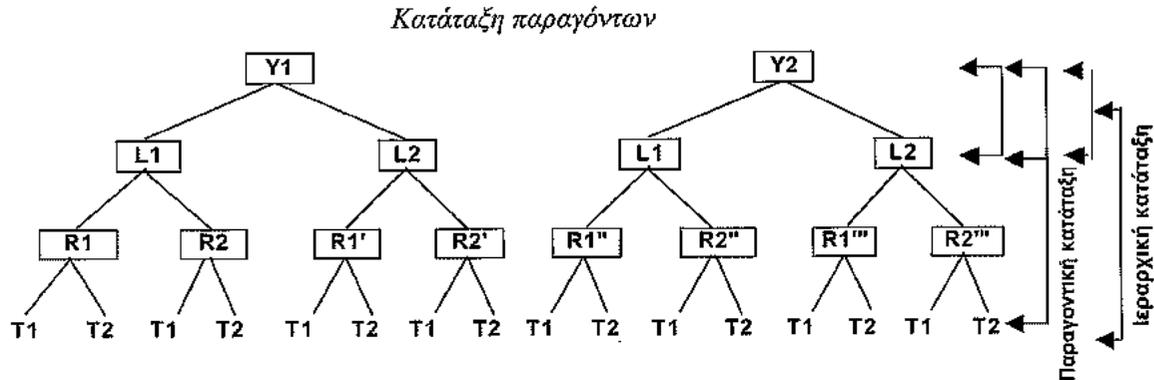
$$n_1 = \frac{(MT(TLY) + MT(T))^2}{\frac{(MT(TLY))^2}{(t-1)^l (l-1)^y (y-1)} + \frac{(MT(T))^2}{(t-1)}}$$

$$n_2 = \frac{(MT(TL) + MT(TY))^2}{\frac{(MT(TL))^2}{(t-1)^l (l-1)} + \frac{(MT(TY))^2}{(t-1)(y-1)}}$$

Για τη δοκιμή σημαντικότητας του παράγοντα T (πχ ποικιλίες) με το F-κριτήριο, δεν υπάρχει κατάλληλο MT για παρονομαστής. Οι γραμμικές συναρτήσεις των διαφόρων MT που επιλέχθηκαν δίνουν το λόγο για τη δοκιμή σημαντικότητας, η οποία ακολουθεί τη μη κεντρική F-κατανομή (noncentral F-distribution) και η οποία όμως κατά προσέγγιση ακολουθεί την  $F_{n1, n2}$ -κεντρική κατανομή (central F-distribution) με  $n_1$  και  $n_2$  βαθμούς ελευθερίας (Satterthwaite, 1946).

**Περίπτωση 2<sup>η</sup>.** Συνδυασμένη ανάλυση πειραμάτων κατά το σχέδιο των τυχαιοποιημένων ομάδων τεμαχίων δικτυωμένων στο χώρο και χρόνο. Έτη και επαναλήψεις τυχαίοι παράγοντες. Τοποθεσίες καθορισμένες, σταθερές στα έτη. Μεταχειρίσεις καθορισμένες (Εικ. 3 και Πιν. 5).

**Εικόνα 3.** Τυχαίοι παράγοντες: Έτη(Y), Επαναλήψεις-ομάδες(R). Καθορισμένοι παράγοντες: Τοποθεσίες(L), Μεταχειρίσεις-ποικιλίες(T). Τοποθεσίες σταθερές στα διάφορα έτη

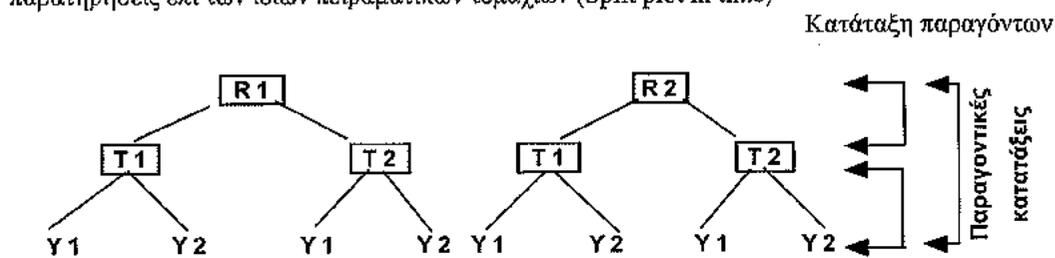


**Πίνακας 5.** Πίνακας ανάλυσης παραλλακτικότητας

Παραγοντική ανάλυση	Πηγές παραλλαγής μετά τη συγχώνευση	Βαθμοί ελευθερίας	Εκτιμήσεις ΜΤ	F-δοκιμές
Y	Y	$(y-1)$	$\sigma^2 + t\sigma^2_{R(LY)} + r\sigma^2_{PLY} + r\sigma^2_{TY} + t\sigma^2_{LY} + tr\sigma^2_Y$	←
L	L	$(l-1)$	$\sigma^2 + t\sigma^2_{R(LY)} + r\sigma^2_{PLY} + r\sigma^2_{PL} + t\sigma^2_{LY} + tr\sigma^2_L$	
L^*Y	L^*Y	$(l-1) \cdot (r-1)$	$\sigma^2 + t\sigma^2_{R(LY)} + r\sigma^2_{PLY} + t\sigma^2_{LY}$	←
R	R(L^*Y)	$(r-1) \cdot l \cdot y$	$\sigma^2 + \sigma^2_{R(LY)}$	
R^*Y		ή άθροισμα των επί μέρους β.ε.		
R^*L				
R^*L^*Y				
T	T	$(t-1)$	$\sigma^2 + r\sigma^2_{PLY} + t\sigma^2_{TL} + l\sigma^2_{TY} + r\sigma^2_T$	←
T^*Y	T^*Y	$(t-1) \cdot (y-1)$	$\sigma^2 + r\sigma^2_{PLY} + l\sigma^2_{TY}$	
T^*L	T^*L	$(t-1) \cdot (l-1)$	$\sigma^2 + r\sigma^2_{PLY} + t\sigma^2_{PL}$	←
T^*L^*Y	T^*L^*Y	$(t-1) \cdot (l-1) \cdot (y-1)$	$\sigma^2 + r\sigma^2_{PLY}$	
T^*R	Σφάλμα T^*R(L^*Y)	$(t-1) \cdot (r-1) \cdot l \cdot y$ ή άθροισμα των επί μέρους β.ε.	$\sigma^2$	
T^*R^*Y				
T^*R^*L				
T^*R^*L^*Y				

**Περίπτωση 3<sup>η</sup>.** Πείραμα με διαδοχικές παρατηρήσεις επί των ίδιων πειραματικών τεμαχίων (Split plot in time).

**Εικόνα 4.** Τυχαίοι παράγοντες: Επαναλήψεις(R). Καθορισμένοι παράγοντες: Μεταχειρίσεις(T) και διαδοχικά Έτη(Y) με παρατηρήσεις επί των ίδιων πειραματικών τεμαχίων (Split plot in time)



Πίνακας 6. Πίνακας ανάλυσης παραλλακτικότητας

Πηγές παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Εκτιμήσεις ΜΤ
R	(l-1)	$\sigma^2 + \sigma^2_{RT} + \sigma^2_{RY} + \sigma^2_R$
T	(r-1)	$\sigma^2 + \sigma^2_{RT} + \sigma^2_{TY} + \sigma^2_T$
R * T	(l-1) * (r-1)	$\sigma^2 + \sigma^2_{RT}$
Y	(t-1)	$\sigma^2 + \sigma^2_{YR} + \sigma^2_{YT} + \sigma^2_Y$
T * Y	(t-1) * (l-1)	$\sigma^2 + \sigma^2_{TY}$
R * Y	(t-1) * (r-1)	$\sigma^2 + \sigma^2_{YR}$
R * Y * T	(t-1) * (l-1) * (r-1)	$\sigma^2$

Σημείωση: η πηγή R\*Y συνήθως βρίσκεται σημαντική και δε συγχωνεύεται με την πηγή R\*Y\*T.

Όταν το πείραμα επαναλαμβάνεται σε τυχαίες τοποθεσίες, τότε οι πηγές παραλλακτικότητας στον πίνακα ANOVA είναι: L R(L) T T\*L T\*R(L) Y T\*Y L\*Y T\*L\*Y R\*Y(L) και T\*Y\*R(L) με τις L, R(L), T\*L, T\*R(L), L\*Y, T\*L\*Y, R\*Y(L) και T\*R\*Y(L) τυχαίες. Οι συγχωνεύσεις των πηγών παραλλακτικότητας του τυπικού παραγοντικού πειράματος που γίνονται είναι: α) R(L)=R+R\*L β) T\*R(L)=T\*R+T\*R\*L γ) R\*Y(L)=R\*Y+R\*Y\*L και δ) T\*R\*Y(L) = T\*R\*Y+ T\*R\*Y\*L.

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η δομή των στατιστικών μοντέλων εξαρτάται από το τυχαίο ή το καθορισμένο των παραγόντων και επομένως την ιεραρχική και παραγοντική κατάταξη. Οι εκτιμήσεις των μέσων τετραγώνων με τη μορφή του μοντέλου υπό περιορισμούς μπορεί να ληφθούν σχετικά εύκολα από τις συνιστώσες παραλλακτικότητας των μέσων τετραγώνων του τυχαίου μοντέλου και διαγράφοντας τις συνιστώσες με έστω έναν καθορισμένο παράγοντα στο δείκτη τους, εκτός της συνιστώσας της αναφερόμενης πηγής παραλλακτικότητας.

Τα δεδομένα καταρχήν μπορεί να επεξεργαστούν προγραμματιστικά όπως σένα τυπικό παραγοντικό πείραμα με όλους τους δυνατούς συνδυασμούς των παραγόντων και στη συνέχεια να πραγματοποιηθούν οι συγχωνεύσεις των βαθμών ελευθερίας και των αθροισμάτων τετραγώνων και να υπολογιστούν τα μέσα τετράγωνα. Τα περισσότερα στατιστικά λογισμικά, δοθέντος του μοντέλου και των τυχαίων παραγόντων, επεξεργάζονται και αναλύουν τα δεδομένα, ενώ άλλα προσφέρουν προς επιλογήν μία σειρά γνωστών τυποποιημένων πειραματικών σχεδίων.

Στα γεωργικά πειράματα για καθορισμένες τοποθεσίες τα αποτελέσματα ισχύουν μόνον για τις τοποθεσίες αυτές και μπορεί να γίνουν και συγκρίσεις μεταξύ των τοποθεσιών. Για τη γενίκευση των αποτελεσμάτων και σε μη δειγματοληφθείσες τοποθεσίες, καθώς και στα επόμενα έτη, οι τοποθεσίες και τα έτη λαμβάνονται ως τυχαίοι παράγοντες.

Τα διάφορα στατιστικά λογισμικά απαιτούν από το χρήστη την εισαγωγή του εκάστοτε στατιστικού μοντέλου, που πρέπει αυτός να κατασκευάσει. Όταν τα λογισμικά προσφέρουν την επιλογή της περιορισμένης μορφής του μοντέλου, τότε δίνουν τα ίδια αποτελέσματα με την παραδοσιακή μέθοδο ANOVA, όσον αφορά αθροίσματα τετραγώνων, βαθμούς ελευθερίας, μέσα τετράγωνα, εκτιμήσεις μέσων τετραγώνων, F-δοκιμές και εκτιμήσεις παραλλακτικότητας. Εφαρμόζοντας το γενικευμένο γραμμικό μοντέλο, το οποίο απαιτεί μεγάλα δείγματα, λαμβάνονται τα ίδια αθροίσματα τετραγώνων, οι ίδιοι βαθμοί ελευθερίας και τα ίδια μέσα τετράγωνα, όπως στην περίπτωση της ANOVA. Οι εκτιμήσεις όμως των μέσων τετραγώνων και ως εκ τούτου τα πειραματικά σφάλματα των F-δοκιμών και οι εκτιμήσεις των παραλλακτικότητας διαφέρουν, του μοντέλου λαμβανομένου ως τυχαίου.

Σε πειράματα με τυχαίους και καθορισμένους παράγοντες και σχετικά λίγους βαθμούς ελευθερίας, όπως συμβαίνει συνήθως στα πειράματα αγρού, και όταν υπάρχει ίσος αριθμός παρατηρήσεων, πρέπει να εφαρμόζεται η παραδοσιακή μέθοδος ANOVA και να γίνεται χρήση στατιστικών πακέτων, που προσφέρουν αναλύσεις για μοντέλα υπό περιορισμούς. Για πειράματα ημιπλήρη με άνισο αριθμό παρατηρήσεων και κατηγοριοποιημένους παράγοντες κρίνεται κατάλληλη η χρήση των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων τα οποία όμως απαιτούν μεγάλα δείγματα και τα οποία δίνουν εκτιμήσεις μέσων τετραγώνων, των μοντέλων

λαμβανομένων ως τυχαίων και ως εκ τούτου επηρεαζόμενων των πειραματικών σφαλμάτων των F-δοκιμών, καθώς και των εκτιμήσεων των παραλλακτικότητων.

Τέλος, η μέθοδος της μεγίστης πιθανοφάνειας υπό περιορισμούς, με μεγιστοποίηση μόνον για τις τυχαίες επιδράσεις, κρίνεται κατάλληλη για τα μεικτά μοντέλα. Η μέθοδος δίνει μικρότερες παραλλακτικότητες ή και τις μηδενίζει, όταν είναι πλησίον στο μηδέν. Επίσης μπορεί να δώσει τα κατάλληλα τυπικά σφάλματα στην περίπτωση αλληλεπιδράσεων, όπου διάφορες συγκρίσεις έχουν διαφορετικές παραλλακτικότητες. Η μέθοδος απαιτεί διαδοχικές προσεγγίσεις, οι οποίες δεν συγκλίνουν πάντα, πράγμα που απαιτεί τη χρήση αποτελεσματικών μεθόδων εκτίμησης των τιμών εκκίνησης. Προς την κατεύθυνση αυτή εργάζονται διάφορες εταιρείες στατιστικών λογισμικών και μέχρις ότου καθοριστούν και δοκιμαστούν οι μέθοδοι αυτές, τα αποτελέσματα από τη χρήση της μεγίστης πιθανοφάνειας υπό περιορισμούς από διάφορα στατιστικά λογισμικά, πρέπει να ελέγχονται με μία από τις γνωστές μεθόδους.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Affi, A., A., and S., P., Azen, 1979. Statistical analysis. A computer oriented approach. Anova via regression. Academic Press, London. p. 442.
- Carner, G., S., W., Walker, and R., D., Seif, 1969. Practical suggestions on pooling variances for F tests of treatment effects. *Agr. J.*, 61: 334-336.
- JMP IN 5.1. The Statistical Discovery Software. A business unit of SAS, 1989-2003. SAS Institute Inc.
- Μιχαηλίδης, Ζ., 1985. Ανάλυση και προγραμματισμός γεωργικών πειραμάτων. Πακέτο στατιστικών προγραμμάτων. Υπ. Γεωργίας, σελ. 181.
- Μιχαηλίδης, Ζ., 2004. Βιομετρία. Γεωργικός πειραματισμός. Στατιστική ανάλυση δεδομένων με το SPSS. ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης. σελ. 260.
- Minitab 13.20. Statistical Software. 2000, Minitab Inc. ([www.minitab.co.uk](http://www.minitab.co.uk))
- MSTAT-C1.41.1987-89Crop& Soil Science Dept.Michigan, State Univ.([www.msu.edu/~free/mstat.htm](http://www.msu.edu/~free/mstat.htm))
- Patterson H., and R., Thompson, 1971. Recovery of interblock information when block sizes are unequal. *Biometrika*, 58:545-54.
- SAS Institute, 1999. SAS/ETS User's Guide, Version 8, Cary NC: SAS Institute Inc.
- Satterthwaite, F., E., 1946. An approximate distribution of estimates of variance components. *Biom. Bull.*, 2:110-114.
- Searle, R., S., 1971. *Linear models*. John Wiley and Sons, New York.
- Searle, R., S., 1987. *Linear models for unbalanced data*. John Wiley and Sons, Inc. p. 504. (use of REML estimating variance components for unbalance data).
- Searle, R., S., Casella, G. and C., E., McCulloch, 1992. *Variance components*, John Wiley & Sons.
- Schultz, E., E., 1955. Rules of thumb for determining expectations of mean squares in analysis of variance. *Biometrics*, 123-135.
- Swallow, W., H. and F., I., Monahan, 1984. Monte Carlo comparisons of ANOVA, MIVQUE, REML, and ML estimators of variance components. *Technometrics*, 26:47-57.
- SPSS for Windows 12.00. 1989-2003, SPSS Inc.
- STATISTICA 6.0. 1984-2001.StatSoft, Inc. 2300 East 14<sup>th</sup> Street, Tulsa, OK 74104 USA. ([www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)).

## CONSTRUCTION OF STATISTICAL MODELS FOR AGRICULTURAL EXPERIMENTS DATA PROCESSING AND STATISTICAL ANALYSIS OF EXPERIMENTAL DATA

Zisis Michailidis

Alexandreion Technological Educational Institute, Thessaloniki, Greece

### SUMMARY

The analysis of variance procedure, ANOVA, was first developed by Fisher and later put in the theoretical frame of linear models, the modern approach to the problem by applying matrices.

The fixed effect models estimate the effect of the factor levels and the significance of the differences. In the case of the random effect model the mean and variability of the random effects are estimated. When in the model, fixed and random effects are included it is about mixed effect model and interactions with one at least random factor are taken as random.

When constructing the models in the present work, the factors, concerning their expected variability, were considered in a descending order. The cross classification of the fixed effect factors and the hierarchical one of the random effect factors, determined the structure of the model and the sources of the variability in the ANOVA table. Fixed factors or random factors, with constant levels in the different levels of a second factor, are cross classified. In this cross classification, the variability of the first and second factor, as well as, of the interaction is included in the ANOVA table. In the hierarchical classification, the variability of the first factor and that of the second factor within the first one obtained after combining the variability of the second factor and the interaction, are estimated.

The mean square expectations were obtained from the variance components of the model first taken as random, where for each source of variability, all variance components with this variability in their index are included and the components with at least one fixed factor crossed out, except for the component under consideration. For the F-significance tests of the sources of variability, for error term, the mean square containing all variance components of the source under consideration except for the tested component, was used.

To work out applications of the models, data were firstly processed as full factorial. Then the suggested pooling of the sources of variation and the tests of significance were carried out.

In the field experimentation, when locations were considered as fixed, the obtained results are applied only to these locations and hence comparisons between locations can be done. In order for the results to have a broad application even to locations not included to experimentation, as well as, to the following years, locations and years were taken as random and hence variances and significances are estimated. The comparison of fixed effect factors within each random location or year found to be possible and the frequency of the observed each time differences can be estimated. In constructing experimental models for perennial crops, as it is also the case with more than one crop picking per year and when the additive through time effect of factors is studied, time is taken as a fixed factor.

The construction of the statistical models according to random or fixed factors, the pooling of the sources of variability, the tests of significance and the estimated variabilities are presented for field experimentation data by applying the traditional ANOVA method, the generalized linear models which are suitable for classified factors and unbalanced experiments and the method of restricted maximum likelihood suggested especially in cases of mixed effect models.

**ΓΡΑΠΤΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ**

## ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ: ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΛΟΓΗ

Καραγκούνης, Χρ.<sup>1</sup> & Μ.Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Εργ.Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών, ΑΠΘ  
541 24 Θεσσαλονίκη, koutsika@agro.auth.gr

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σήμερα οι βελτιωτές καλαμποκιού προτιμούν τις  $F_2$  των απλών εμπορικών υβριδίων ως υλικό εκκίνησης. Στην παρούσα εργασία τίθενται κριτήρια αξιολόγησης των εμπορικών υβριδίων ώστε τα πιο ελπιδοφόρα ν' αποτελούν υλικό εκκίνησης νέων βελτιωτικών προγραμμάτων. Ως κριτήρια αξιολόγησης θεωρούνται: το ποσοστό ομοζυγωτικού εκφυλισμού, η γενική συνδυαστική ικανότητα και η ειδική συνδυαστική ικανότητα. Στο παρόν πείραμα εφαρμόστηκαν τα κριτήρια αξιολόγησης σε τρία απλά εμπορικά υβρίδια τα Constanza, Prezia & Nubia, της εμπορικής εταιρείας Pioneer Hi-Bred Int. Όλα τα πειράματα εγκαταστάθηκαν σε κυψελωτό σχέδιο σποράς, ήτοι το 2002 η αξιολόγηση των υβριδίων και των  $F_2$  και το 2003 η αξιολόγηση κάθε υβριδίου με τις διαλλαλικές διασταυρώσεις και τις διασταυρώσεις δοκιμής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το υβρίδιο Prezia είχε το μικρότερο ομοζυγωτικό εκφυλισμό (28.9%), θετική γενική συνδυαστική ικανότητα (+7.5) και αρνητική ειδική συνδυαστική ικανότητα (-34.5). Στα άλλα δύο ο ομοζυγωτικός εκφυλισμός ήταν υψηλότερος του 40%, ήτοι στην Constanza 44.3% και στη Nubia 54.7%. Επιπλέον, η Constanza έδειξε αρνητική γενική συνδυαστική ικανότητα (-35.5), ενώ η Nubia έδειξε θετική ειδική συνδυαστική ικανότητα (+75.0). Συμπερασματικά, η αξιολόγηση μέσω δικτύου διασταυρώσεων αποδεικνύει ότι το απλό εμπορικό υβρίδιο Prezia διαθέτει επιθυμητό φορτίο γονιδίων και ότι η  $F_2$  του μπορεί ν' αποδειχθεί ελπιδοφόρο γενετικό υλικό δημιουργίας επίλεκτων καθαρών σειρών.

### Εισαγωγή

Η επιλογή του γενετικού υλικού εκκίνησης σ' ένα βελτιωτικό πρόγραμμα καθορίζει την επιτυχία του προγράμματος (Fountain & Hallauer, 1996). Το υλικό εκκίνησης για τους βελτιωτές καλαμποκιού επικεντρώνεται κυρίως σε  $F_2$  (από διασταυρώσεις επίλεκτων καθαρών σειρών), σε αναδιασταυρώσεις και σε συνθετικούς πληθυσμούς (Bauman, 1981). Ο Jenkins (1978) αναφέρει αύξηση στη χρήση των  $F_2$  και των αναδιασταυρώσεων από το 1948, για τη δημιουργία καθαρών σειρών δεύτερου κύκλου. Οι Hallauer και Miranda (1988) προσδιόρισαν τη συμβολή της αθροιστικής γενετικής παραλλακτικότητας των  $F_2$  και των συνθετικών πληθυσμών και αναφέρουν ότι  $24F_2$  παρουσίασαν μέση εκτίμηση 581.1g ανά φυτό ενώ 15 συνθετικοί πληθυσμοί 225.9g ανά φυτό. Οι ενδείξεις δείχνουν ότι οι βελτιωτές καλαμποκιού δίνουν προτεραιότητα στις  $F_2$  (Jenkins, 1978; Bauman, 1981). Έτσι, παρόλο που η γενετική βάση στενεύει, βρέθηκε ότι η γενετική πρόοδος αυξάνει στα υβρίδια (Duvick, 1984; Russell, 1991). Επίσης, η μέση γενετική παραλλακτικότητα μιας  $F_2$  ξεπερνά την αντίστοιχη παραλλακτικότητα ενός συνθετικού πληθυσμού στενής γενετικής βάσης και είναι ισοδύναμη με αυτή των συνθετικών πληθυσμών ευρείας γενετικής βάσης (Fountain και Hallauer, 1996). Συμπεραίνεται ότι το ενδιαφέρον των βελτιωτών καλαμποκιού έχει στραφεί προς τα υλικά εκκίνησης στενής γενετικής βάσης όπως είναι οι  $F_2$ . Στην παρούσα εργασία προτείνεται ένα δίκτυο διασταυρώσεων που βοηθά στην επιλογή του υλικού εκκίνησης, δηλ. εκείνης της  $F_2$  που θα δώσει επίλεκτες καθαρές σειρές σε συντομότερο χρονικό διάστημα. Ειδικότερα, σε ομάδα εμπορικών υβριδίων εκτιμάται ο ομοζυγωτικός εκφυλισμός και η αγρονομική συμπεριφορά κάθε  $F_2$ , η γενική συνδυαστική ικανότητα κάθε υβριδίου από τις διαλλαλικές διασταυρώσεις αυτού με τα άλλα εμπορικά υβρίδια και η ειδική συνδυαστική ικανότητα κάθε υβριδίου από τις διασταυρώσεις δοκιμής αυτού με μια επίλεκτη καθαρή σειρά.

### Υλικά και Μέθοδοι

Τρία εμπορικά απλά υβρίδια καλαμποκιού αποτέλεσαν το γενετικό υλικό του πειράματος: το Constanza (PR3245) που εισήλθε στην αγορά το 1992, το Prezia (PR3335) που εισήλθε στην αγορά το 1996 και το Nubia (PR3260) που εισήλθε στην αγορά το 1999. Όλα τα εμπορεύεται η Pioneer Hi-Bred Int. Χρησιμοποιήθηκε, επίσης, η καθαρή σειρά 28M σαν δοκιμαστική, σειρά του Εργ.Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών του ΑΠΘ. Η σειρά 28M προήλθε από το βελτιωτικό πρόγραμμα του διδακτορικού της Παπαδοπούλου (1996) που

εργάστηκε με το εμπορικό απλό υβρίδιο Lorena (PR 3183) της Pioneer Hi-Bred Int. Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Αγρόκτημα του ΑΠΘ, ήτοι: οι απαραίτητες διασταυρώσεις το 2001, και τα πειράματα αξιολόγησης το 2002 και το 2003. Τα πειράματα σπάρθηκαν σε κυψελωτό σχέδιο σποράς (Fasoulas, 1977), που ήταν R-7 για το 2002 και R-12 για το 2003. Η απόσταση μεταξύ φυτών ήταν 1.25 εκ. και μεταξύ γραμμών 1.08 εκ. (πυκνότητα σποράς 7.390 φυτά/ha). Σε κάθε όρχο σπέρνονταν περισσότεροι από ένας σπόροι και αργότερα αραιώνονταν σε ένα φυτάριο ανά όρχο. Το 2002 αξιολογήθηκαν τα εμπορικά απλά υβρίδια και οι F<sub>2</sub> αυτών. Μάρτυρας ήταν το υβρίδιο B73 x MO17. Κάθε υλικό σπάρθηκε σε 105 θέσεις, συνολικές θέσεις σποράς 735. Το 2003 αξιολογήθηκαν τα διαλληλικά υβρίδια Constanza x Nubia, Prezia x Constanza και Prezia x Nubia, οι διασταυρώσεις δοκιμής Constanza x 28M, Nubia x 28M, Prezia x 28M, τα εμπορικά υβρίδια Constanza, Prezia, Nubia, η καθαρή σειρά 28M και ο μάρτυρας, το υβρίδιο B73 x MO17. Κάθε υλικό σπάρθηκε σε 42 θέσεις, συνολικές θέσεις σποράς 504. Σε όλα τα πειράματα έγιναν οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες και μετρήθηκαν τα παρακάτω χαρακτηριστικά: (1) άνθηση για όλα τα φυτά, (2) αριθμός σπαδικών για όλα τα φυτά, (3) μέσο ύψος πρώτου σπάδικα σε εκ. και σε μεσογονάτια για όλα τα φυτά, (4) απόδοση σε γρ./φυτό για όλα τα φυτά, σταθμισμένη σε 15,5% υγρασία, (5) αριθμός σειρών σπάδικα σε δύο σπάδικες ανά φυτό, (6) μήκος σπάδικα, σε δύο σπάδικες ανά φυτό και (7) αριθμός αδερφιών σε όλα τα φυτά.

Η στατιστική ανάλυση έγινε: (i) Με t-κριτήριο για τις διαφορές των μέσων τιμών με την εφαρμογή της προσέγγισης του Cochran (Snedecor και Cochran, 1967). (ii) Με την εφαρμογή του τύπου των Meghji et al. (1984) για την εκτίμηση του ομοζυγωτικού εκφυλισμού. (iii) Με την εξίσωση του Falconer (1989) για τη γενική και ειδική συνδυαστική ικανότητα.

### Αποτελέσματα

Το εμπορικό υβρίδιο Prezia έδειξε μικρότερο του 30% ομοζυγωτικό εκφυλισμό, ενώ τα Constanza και Nubia μεγαλύτερο του 40% (Πιν.1). Ο ομοζυγωτικός εκφυλισμός των χαρακτηριστικών (Πιν.2) ήταν μικρότερος στο εμπορικό υβρίδιο Prezia.

Οι διαλληλικές διασταυρώσεις έδειξαν θετική γενική συνδυαστική ικανότητα στα εμπορικά υβρίδια Prezia και Nubia και αρνητική ειδική συνδυαστική ικανότητα στα εμπορικά υβρίδια Constanza και Prezia (Πιν.3). Στα μορφολογικά χαρακτηριστικά τα εμπορικά υβρίδια έδωσαν τις παρακάτω τιμές γενικής συνδυαστικής ικανότητας: Constanza (-0.9), Prezia (+0.7) και Nubia (-5.9) (Πιν.4).

### Συζήτηση

Η επιλογή κατάλληλου πληθυσμού εκκίνησης αποτελεί το κλειδί της επιτυχίας στη δημιουργία ανασυνδυασμένων σειρών αραβοσίτου (Dunick, 1996). Το πιο συνηθισμένο υλικό εκκίνησης που χρησιμοποιείται (Bernardo, 1996), είναι η F<sub>2</sub> γενεά απλού υβριδίου που προήλθε από τη διασταύρωση επίλεκτων καθαρών σειρών. Μία γενίκευση που αφορά τον τρόπο δράσης των γονιδίων στα υβρίδια καλαμποκιού είναι ότι η κυριαρχία είναι πιο σημαντική από την υπερκυριαρχία (Paterniani, 1973; Sprague and Eberhart, 1977; Jenkins, 1978). Το γεγονός αυτό εμπεριέχει το ότι ο ομοζυγωτικός εκφυλισμός οφείλεται σε ανεπιθύμητα γονίδια που στα υβρίδια διατηρούνται σε ετερόζυγη κατάσταση (Fasoulas, 1988). Γι'αυτό και τα εμπορικά υβρίδια που δείχνουν υψηλό ομοζυγωτικό εκφυλισμό δεν θα πρέπει να προτιμούνται σαν υλικό εκκίνησης.

Το φορτίο των εκφυλιστικών γονιδίων επηρεάζει, επίσης, και την συνδυαστική ικανότητα. Είναι παραδεκτό ότι δύο καθαρές σειρές έχουν καλή συνδυαστική ικανότητα όταν τα γονιδιά τους αλληλοσυμπληρώνονται και επικαλύπτουν τη δράση των εκφυλιστικών (Fasoulas, 1988). Στα υβρίδια, η ετερόζυγη κατάσταση επισκιάζει τη δράση των εκφυλιστικών γονιδίων. Έτσι, τα γονίδια αυτά συσσωρεύονται και δεν επιτρέπουν στα ευνοϊκά αθροιστικά γονίδια να εκφραστούν πλήρως σε ετερόζυγη κατάσταση. Οι Sprague και Eberhart (1977) υποστηρίζουν ότι τα συστατικά της γενετικής παραλλακτικότητας των σειρών καλαμποκιού, που δείχνουν γενική συνδυαστική ικανότητα έχουν κυρίως αθροιστική δράση, ενώ τα συστατικά της γενετικής παραλλακτικότητας των σειρών με ειδική συνδυαστική δράση οφείλεται σε κυριαρχη επίδραση. Απο αυτό συμπεραίνεται ότι η συνδυαστική ικανότητα συνδέεται με την ετέρωση, λόγω της ύπαρξης των εκφυλιστικών γονιδίων. Εμπορικά απλά υβρίδια αραβοσίτου που δείχνουν χαμηλό ομοζυγωτικό εκφυλισμό στην F<sub>2</sub>, θετική γενική συνδυαστική ικανότητα και αρνητική ειδική συνδυαστική ικανότητα, διαθέτουν ένα επιθυμητό γενετικό φορτίο που αντιστοιχεί σε μία F<sub>2</sub> ικανή να δώσει επίλεκτες καθαρές σειρές.

Την αξιοπιστία του προταθέντος δικτύου διασταυρώσεων για τον προσδιορισμό της πλέον ελπιδοφόρας  $F_2$  αποτελεί το γεγονός ότι στη σύγκριση επτά εμπορικών υβριδίων: Prisma, Bianca, Polaris, Luana, Alba, Lorena και Dona, βρέθηκε ότι το υβρίδιο Lorena ήταν το μοναδικό που συνδυάζει ομοζυγωτικό εκφυλισμό 35%, θετική γενική συνδυαστική ικανότητα (+184) και αρνητική ειδική συνδυαστική ικανότητα (-194) δείχνοντας ότι ήταν το καλύτερο για υλικό εκκίνησης (Koutsika-Sotiriou, 1999). Πράγματι, οι ανασυνδυασμένες σειρές που προέκυψαν από το υβρίδιο Lorena, ξεπέρασαν σε απόδοση στις διαλληλικές τους διασταυρώσεις, το αρχικό υβρίδιο σε ποσοστό 32.5% (Παπαδοπούλου, 1996) και 6.8% (Ευγενίδης, 1997) και σε διασταυρώσεις δοκιμής σε ποσοστό 20.6% (Παπαδοπούλου, 1996) και 6.8% (Ευγενίδης, 1997).

Η εφαρμογή του δικτύου των διασταυρώσεων έδειξε στα παρόντα υβρίδια ότι το υβρίδιο Prezia διαθέτει ομοζυγωτικό εκφυλισμό 28.9%, θετική γενική συνδυαστική ικανότητα (+7.5%) και αρνητική ειδική συνδυαστική ικανότητα (-34.5%). Γι'αυτό η  $F_2$  του Prezia μπορεί να αποτελεί ελπιδοφόρο υλικό εκκίνησης.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- BAUMAN L.F., 1981 Review of methods used by breeders to develop superior corn inbreds. Proceedings of the Annual Corn and Sorghum Industrial Research Conference, 36: 199-208.
- BERNARDO R., 1996 Testcross selection prior to further inbreeding in maize. Mean performance and realized genetic variance. *Crop Sci.* 36: 867-871.
- DUVICK D.N., 1984 Genetics contribution to yield gains in U.S. hybrid maize. pp. 15-47 *In: W.R. FEHR (ed.). Genetic Contribution to Yield Gains of Five Major Crop Plants.* Madison, WI: Crop Science Society of America.
- DUVICK D.N., 1996 Plant breeding, an evolutionary concept. *Crop Sci.* 36: 539-548.
- EUGENIDIS G., 1997 Hybrid reconstruction of Lorena (PR 3183). Ph.D. Thesis, Dept. Genet. Plant Breed., Aristotelian Univ., Thessaloniki, Greece.
- FASOULAS, A.C., 1977 Field Designs for Genotypic Evaluation and Selection. Dept. Genet. Plant Breed., Aristotelian Univ., Thessaloniki, Greece, Publication 3.
- FASOULAS, A.C., 1988 The Honeycomb Methodology of Plant Breeding. A.C. Fasoulas, P.O. Box 1555, GR-54124, Thessaloniki 17, Greece, pp. 167.
- FOUNTAIN, M.O., A.R. HALLAUER, 1996 Genetic variation within maize breeding populations. *Crop Sci.* 36: 26-32.
- HALLAUER A.R., J.B. MIRANDA, 1988 Quantitative Genetics in Maize Breeding. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.
- JENKINS M.T., 1978 Maize breeding during the development and early years of hybrid maize. pp. 13-28. *In: D.B. WALDEN (ed.). Breeding and Genetics.* Proceedings of the International Maize Symposium. John Wiley & Sons, New York.
- KOUTSIKA-SOTIRIOU M., 1999 Hybrid seed production in maize. pp. 25-64. *In: A.S. BASRA (ed.). Heterosis and Hybrid Seed Production in Agronomic Crops.* The Haworth Press, Inc, NY.
- PAPADOPOULOU A., 1996 Correlation between the yielding and combining ability of inbred lines in corn (*Zea mays* L.). Ph.D. Thesis, Dept. Genet. Plant Breed., Aristotelian Univ., Thessaloniki, Greece.
- PATERNIANI E., 1973 Recent studies on heterosis. pp. 1-22. *In: R. Moav (ed.). Agricultural Genetics: Selected Topics.* John Wiley & Sons, New York.
- RUSSELL W.A., 1991 Genetic improvement of maize yields. *Advances in Agronomy* 46: 245-298.
- SPRAGUE G.F., S.A. EBERHART, 1977 Corn Breeding. pp. 305-363. *In: G.F. SPRAGUE (ed.). Corn and Corn Improvement.* Madison, WI: American Society of Agronomy

## Abstract

Current maize (*Zea mays* L.) breeders prefer genetically narrow base populations. The  $F_2$  of commercial single cross hybrids provide germplasm for extracting recombinant lines. In the present study a mating design was proposed for maize hybrids evaluation as source germplasm. According to mating design three criteria were used: the percentage of inbreeding depression, the general combining ability and the specific combining ability. The commercial single-cross hybrids, Constanza, Prezia and Nubia, distributed by the Commercial Company Pioneer Hi-Bred Int., were evaluated for their usefulness as germplasm. All experiments were conducted in honeycomb design, i.e., in 2002 the comparison of each hybrid with its  $F_2$ ; and in 2003 the comparison of each hybrid with its diallel crosses and its testcross with an inbred line. Prezia had a lower percentage of inbreeding depression (28.9%), which also was combined with positive general combining ability (+7.5) and negative specific combining ability (-34.5). the estimated percentage of inbreeding depression was greater in Constanza (44.3%) and in Nubia (54.7%). Constanza also had negative general combining ability (-35.5), while Nubia had positive specific combining ability (+75.0). Therefore, the

evaluation through mating designs showed that the commercial hybrid Prezia possesses more desirable genes and that its  $F_2$  may be a more profitable germplasm for developing elite inbred lines.

**Πίνακας 1.** Απόδοση σε σπόρο (g/φυτό) στην  $F_1$  και  $F_2$  γενεά και ομοζυγωτικός εκφυλισμός (%) καθενός εμπορικού υβριδίου καλαμποκιού. Η απόδοση σε ποσοστό % σε σχέση με αυτή του υβριδίου B73xMO17 στο ίδιο πείραμα δίνεται επίσης.

Γενότυποι		Απόδοση φυτό <sup>-1</sup> (g) ( $\pm$ s.e.)	Ομοζυγωτικός εκφυλισμός	Απόδοση σε σχέση με το υβρίδιο B73xMO17
Constanza	$F_1$	530 (24.2)		146.7
"	$F_2$	295 (17.6)	44.3	81.8
Prezia	$F_1$	662 (27.0)		183.6
"	$F_2$	471 (27.0)	28.9	130.6
Nubia	$F_1$	639 (24.7)		177.1
"	$F_2$	289 (21.4)	54.7	80.3
B73xMO17 (μάρτυρας)		361 (14.8)		100

**Πίνακας 2.** Ο ομοζυγωτικός εκφυλισμός (%) στα μορφολογικά χαρακτηριστικά καθενός εμπορικού υβριδίου καλαμποκιού.

ΓΕΝΟΤΥΠΟΙ	Μέρες για διάχυση γύρης	Σπάδικες φυτό <sup>-1</sup>	Ύψος σπάδικα (cm)	Ύψος σπάδ (γόνατα)	Σειρές σπάδικα <sup>-1</sup>	Μήκος σπάδικα <sup>-1</sup>	Αδέλφια φυτό <sup>-1</sup>	M.O
Constanza	-1.5	22.6	3.3	11.6	3.5	11.1	56.6	15.2
Prezia	-6.1	21.2	-13.7	-9.0	1.6	10.4	42.2	6.6
Nubia	-4.6	19.0	0.3	11.0	3.8	16.4	63.4	15.6

**Πίνακας 3.** Απόδοση σε σπόρο (g/φυτό), γενική και ειδική συνδυαστική ικανότητα, και ετέρωση στις κριτικές διασταυρώσεις καθενός υβριδίου καλαμποκιού. Η απόδοση σε ποσοστό % του υβριδίου B73xMO17 και η απόδοση της καθαρής σειράς 28M στο ίδιο πείραμα, δίνονται επίσης.

Γενότυποι	Απόδοση φυτό <sup>-1</sup> (g) (± s.e.)	Γενική Συνδυαστική Ικανότητα	Ειδική Συνδυαστική Ικανότητα	Ετέρωση σε σχέση με τη MP (%)	Απόδοση σε σχέση με το υβρίδιο B73xMO17
Constanza	631 (33.9)	-35.5	-40.5	109	206
Prezia	1067 (50.4)	+7.5	-34.5	57	348
Nubia	649 (34.8)	+28.0	+75.0	124	211
Καθαρή σειρά 28M	656 (47.8)				214
B73xMO17 (μάρτυρας)	307 (12.7)				100

**Πίνακας 4.** Μέση συμπεριφορά ως προς τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των εμπορικών υβριδίων. Η μέση συμπεριφορά της καθαρής σειράς 28M και του υβριδίου B73xMO17 δίνεται επίσης.

Γενότυποι	Ημέρες για διάχυση γύρης		Σπάδικες φυτό <sup>-1</sup>		Ύψος σπάδικα (cm)		Ύψος σπάδικα (γόνατα)		Σπέρμα σπάδικα <sup>-1</sup>		Μήκος σπάδικα <sup>-1</sup>		Αδέλφια φυτό <sup>-1</sup>	
	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003
Constanza	69.0 <sup>b</sup>	76.3 <sup>b</sup>	3.1 <sup>b</sup>	2.7 <sup>b</sup>	47.4 <sup>c</sup>	73.4 <sup>b</sup>	3.7 <sup>d</sup>	4.2 <sup>b</sup>	15.7 <sup>ab</sup>	16.4 <sup>ab</sup>	21.7 <sup>b</sup>	24.4 <sup>a</sup>	0.7 <sup>b</sup>	0.6 <sup>c</sup>
Prezia	69.2 <sup>b</sup>	72.7 <sup>d</sup>	5.4 <sup>a</sup>	6.0 <sup>a</sup>	52.3 <sup>b</sup>	69.1 <sup>c</sup>	4.1 <sup>c</sup>	4.2 <sup>b</sup>	15.4 <sup>b</sup>	15.6 <sup>b</sup>	22.5 <sup>a</sup>	22.9 <sup>b</sup>	2.3 <sup>a</sup>	3.2 <sup>b</sup>
Nubia	70.9 <sup>a</sup>	73.4 <sup>c</sup>	3.6 <sup>b</sup>	3.2 <sup>b</sup>	67.6 <sup>a</sup>	81.4 <sup>a</sup>	5.0 <sup>a</sup>	5.2 <sup>a</sup>	16.7 <sup>a</sup>	16.8 <sup>a</sup>	22.9 <sup>a</sup>	23.4 <sup>b</sup>	0.5 <sup>b</sup>	0.7 <sup>c</sup>
Καθαρή σειρά 28M	-	85.2 <sup>a</sup>	-	6.2 <sup>a</sup>	-	54.5 <sup>d</sup>	-	4.3 <sup>b</sup>	-	10.9 <sup>c</sup>	-	17.7 <sup>c</sup>	-	4.7 <sup>a</sup>
B73xMO1 7 μάρτυρας	69.3 <sup>b</sup>	73.9 <sup>c</sup>	1.9 <sup>c</sup>	1.3 <sup>c</sup>	66.1 <sup>a</sup>	72.9 <sup>b</sup>	4.5 <sup>b</sup>	4.2 <sup>b</sup>	14.7 <sup>c</sup>	15.1 <sup>b</sup>	22.1 <sup>ab</sup>	24.5 <sup>a</sup>	0.1 <sup>c</sup>	0.1 <sup>d</sup>

*Γενετικά υλικά με το ίδιο γράμμα στην ίδια στήλη δε διαφέρουν σημαντικά.*

## ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΛΥΜΕΤΑΒΛΗΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΕΠΙΛΕΚΤΩΝ ΕΜΠΟΡΙΚΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙ

Τερτιβανίδης, Κ.<sup>1</sup>, Κουτίτα Ο.<sup>1</sup> και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ελληνική Βιομηχανία Ζάχαρης, Α.Ε. Σίνδος

<sup>2</sup> Εργ.Γενετικής & Βελτίωσης των Φυτών, ΑΠΘ, 54124 Θεσ/νίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα καλλιεργούμενα υβρίδια καλαμποκιού είναι προϊόντα ανακύκλωσης εκλεκτών καθαρών σειρών των οποίων ο αριθμός είναι περιορισμένος με αποτέλεσμα το στένεμα της γενετικής βάσης. Στην παρούσα εργασία μελετάται η δυνατότητα αξιοποίησης της πολυμεταβλητής ανάλυσης στον προσδιορισμό επίλεκτων υβριδίων καλαμποκιού, τα οποία θα πρέπει να αξιοποιηθούν ως γενετικά υλικά από τις σποροπαραγωγικές εταιρείες. Το πειραματικό υλικό αποτελούσαν 10 εμπορικά υβρίδια τα οποία καταλαμβάνουν ή καταλάμβαναν υψηλά ποσοστά καλλιέργειας την τελευταία εικοσαετία στη χώρα μας. Τα υβρίδια ήταν Lorena, Polaris, Luana, Bianca, Dona, Prisma, Alba, Constanza, Prezia και Nubia. Εκτιμήθηκε το ποσοστό ομοζυγωτικού εκφυλισμού για τα γνωρίσματα: αδελφωμα, άνθηση, ύψος πρώτου σπάδικα σε μεσογονάτια και σε εκατοστά, αριθμός σπαδικών, μήκος και σειρές σπάδικα και απόδοση σε σπόρο. Επίσης, εκτιμήθηκε η γενική και η ειδική συνδυαστική ικανότητα αυτών. Το υβρίδιο Lorena βρέθηκε ότι διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα, αποτελεί επίλεκτο υλικό εκκίνησης.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στο καλαμπόκι (*Zea mays* L.) πηγή δημιουργίας καθαρών σειρών αποτελούν οι ελεύθερα επικονιαζόμενες ποικιλίες. Είναι άγνωστος ο αριθμός των καθαρών σειρών που έγιναν από το 1910 έως σήμερα. Οι Hallauer & Miranda (1988) υπολογίζουν ότι 720.000 σειρές δημιουργήθηκαν μετά από το 1939 ήτοι, περίπου 1.000.000 σειρές δημιουργήθηκαν από το 1910 ως σήμερα. Μετά τις πρώτες καθарές σειρές που δημιουργήθηκαν, από το 1920 ως το 1930, οι ίδιες ποικιλίες χρησίμευσαν στο να δώσουν καθарές σειρές δεύτερου κύκλου επιλογής. Ο Bauman (1981) αναφέρει ότι το 1936 το 97.7% των αμερικάνικων σειρών προέρχονταν από τους ελεύθερα επικονιαζόμενους πληθυσμούς και μόνο το 2.3% ήταν σειρές δεύτερου κύκλου. Η συχνότητα των σειρών δεύτερου κύκλου το 1960 έφθασε το 50%, ενώ μετά το 1960 οι περισσότερες σειρές είναι δεύτερου κύκλου σειρές (Jenkins 1978). Μερικές ελεύθερα επικονιαζόμενες ποικιλίες είναι πιο παραγωγικές σε καθарές σειρές από άλλες. Η συχνότητα εμφάνισης χρήσιμων καθарών σειρών είναι 0.13% (Hallauer 1990). Το γενετικό υλικό για επιλογή καθарών σειρών έχει αλλάξει τα τελευταία χρόνια. Αντί των ελεύθερα επικονιαζόμενων πληθυσμών πρόσφατα το προσφιλέστερο γενετικό υλικό αποτελούν συνθετικές ποικιλίες που συνίστανται από 4 έως 16 καθарές σειρές (Jenkins 1978). Το εξωτικό γενετικό υλικό χρησιμοποιήθηκε μόνο για την εισαγωγή ειδικών γνωρισμάτων στα ήδη υπάρχοντα υλικά. Το στένεμα της γενετικής βάσης δημιούργησε μεγάλες ανησυχίες στους βελτιωτές αραβοσίτου (Smith 1988, Troyer *et al.* 1988). Στην πραγματικότητα το 100% των υβριδίων που καλλιεργούν οι αγρότες είναι προϊόν εταιρειών και η μείωση της γενετικής ποικιλότητας οφείλεται κυρίως στην ανακύκλωση εκλεκτών καθарών σειρών από τις σποροπαραγωγικές εταιρείες (Hallauer 1990, Troyer 1996). Μεταξύ των καθарών σειρών που χρησιμοποιούν οι σποροπαραγωγικές εταιρείες, οι περισσότερες προέρχονται από οκτώ καθарές σειρές: B14, B37, B73, B84, C103, Oh43, Mo17 και H99 (Lu and Bernardo 2001). Αυτές οι οκτώ καθарές σειρές αντιπροσωπεύουν τις δύο ετερωτικές ομάδες καλαμποκιού, το BSSS και τα μη BSSS. Ο περιορισμός της γενετικής ποικιλομορφίας στο γενετικό υλικό εκκίνησης του καλαμποκιού, οδηγεί σε γενετική ευπάθεια στις καταπονήσεις καθώς και σε περιορισμό της αποτελεσματικότητας της επιλογής (Tailleur and Bernardo 2004).

Σκοπός της εργασίας ήταν να διερευνηθεί η φυλογενετική σχέση μεταξύ εμπορικών υβριδίων καλαμποκιού. Ειδικότερα, να διερευνηθεί αν εμπορικά απλά υβρίδια αραβοσίτου διαφορετικών σποροπαραγωγικών εταιρειών έχουν γενετική συγγένεια ή με άλλα λόγια αν οι εταιρείες διαφοροποιούνται ως προς το γενετικό υλικό εκκίνησης ή όχι. Για την πραγματοποίηση του σκοπού επιλέχθηκαν δέκα εμπορικά

απλά υβρίδια και αξιολογήθηκαν με βάση τον ομοζυγωτικό εκφυλισμό όλων των χαρακτηριστικών, και τη γενική και ειδική συνδυαστική ικανότητα αυτών.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το πειραματικό υλικό αναπτύχθηκε σε δύο χρονικές περιόδους στο Αγρόκτημα του Παν/μίου Θεσ/νίκης. Η πρώτη καλλιεργητική περίοδος ξεκίνησε το 1991 και περατώθηκε το 1995. Η δεύτερη καλλιεργητική περίοδος ξεκίνησε το 2001 και περατώθηκε το 2003.

Το 1991 σπάρθηκαν επτά απλά εμπορικά υβρίδια τα: Lorena (PR 3183, Pioneer Hi-Bred Int), Polaris (NC 7003, Nicerson-Veterin), Luana (NC 702, Nicerson-Veterin), Bianca (YC 951 Pioneer Hi-Bred Int.), Dona (PR 3165, Pioneer Hi-Bred Int.), Prisma (G-4730, CibaSeeds), Alba (KWS Seed), σε μία γραμμή των 20 φυτών καθένα. Αυτογονιμοποιήθηκαν και συγκεντρώθηκε σπόρος της F<sub>2</sub> γενεάς. Το 1992-93 έγινε η αξιολόγηση των υβριδίων και των F<sub>2</sub> αυτών. Το σχέδιο σποράς που χρησιμοποιήθηκε ήταν το επαναλαμβανόμενο κυκλωτό σχέδιο σποράς R-49 (Fasoulas 1981). Σπάρθηκαν 28 γραμμές με 43 φυτά κάθε μία. Τα φυτά πάνω στη γραμμή απείχαν 1,25 το ένα από το άλλο, ενώ οι γραμμές μεταξύ τους είχαν απόσταση 1,08μ. Ο σπόρος των απλών υβριδίων σπάρθηκε στους κωδικούς 7A (Polaris), 7B (Luana), 7C (Lorena), 7D (Bianca), 7E (Dona), 7F (Prisma), 7G (Alba), ενώ όλοι οι υπόλοιποι κωδικοί συμπληρώθηκαν με το σπόρο των F<sub>2</sub>. Συνολικά σπάρθηκαν 1 200 φυτά. Τη διετία 1993-94 έγινε η σύγκριση των 21 διαλληλικών διασταυρώσεων των εμπορικών υβριδίων μεταξύ τους. Το σχέδιο σποράς ήταν το επαναλαμβανόμενο σχέδιο σποράς R-21. Συνολικά το κάθε έτος σπάρθηκαν 735 φυτά. Το 1995 έγινε η σύγκριση των επτά διασταυρώσεων δοκιμής των εμπορικών υβριδίων με την καθαρή σειρά 5C. Η καθαρή σειρά 5C ανήκε στο Εργ. Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών, ήταν προϊόν βελτιωτικού προγράμματος που εφαρμόστηκε στο πειραματικό υβρίδιο FS68 x NE2 ή LS.027 του Ινστιτούτου Σιτηρών (Koutsika-Sotiropou *et al.* 1990). Η καθαρή σειρά 5C χρησιμοποιήθηκε στις διασταυρώσεις δοκιμής δεδομένης της μη συγγενικής σχέσης αυτής με τα εμπορικά υβρίδια. Το σχέδιο σποράς ήταν το επαναλαμβανόμενο σχέδιο σποράς R-7. Συνολικά σπάρθηκαν 315 φυτά. Όλες οι καλλιεργητικές φροντίδες γίνονταν κανονικά αποβλέποντας στην μεγιστοποίηση της απόδοσης.

Το 2001 τρία εμπορικά απλά υβρίδια καλαμποκιού αποτέλεσαν το γενετικό υλικό του πειράματος της δεύτερης χρονικής περιόδου: Το Constanza (PR3245) που εισήλθε στην αγορά το 1992, το Prezia (PR3335) που εισήλθε στην αγορά το 1996 και το Nubia (PR3260) που εισήλθε στην αγορά το 1999. Όλα τα εμπορεύεται η Pioneer Hi-Bred Int. Χρησιμοποιήθηκε επίσης η καθαρή σειρά 28M σαν δοκιμαστής, σειρά που ανήκει στο Εργ. Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών του ΑΠΘ. Η σειρά 28M προήλθε από το βελτιωτικό πρόγραμμα του διδακτορικού της Αναστασίας Παπαδοπούλου (1996) που εφήρμοσε βελτιωτικό πρόγραμμα στο εμπορικό απλό υβρίδιο Lorena (PR 3183) της Pioneer Hi-Bred Int. Τα πειράματα σπάρθηκαν σε κυκλωτό σχέδιο σποράς (Fasoulas 1981), που ήταν R-7 για το 2002 και R-12 για το 2003. Η απόσταση μεταξύ φυτών ήταν 1.25 εκ. και μεταξύ γραμμών 1.08 εκ. (πυκνότητα σποράς 7.390 φυτά/ha). Το 2002 αξιολογήθηκαν τα εμπορικά απλά υβρίδια και οι F<sub>2</sub> αυτών. Μάρτυρας ήταν το υβρίδιο B73 x MO17. Κάθε υλικό σπάρθηκε σε 105 θέσεις, συνολικές θέσεις σποράς 735. Το 2003 αξιολογήθηκαν τα διαλληλικά τους υβρίδια, οι διασταυρώσεις δοκιμής (Constanza x 28M, Nubia x 28M, Prezia x 28M), τα εμπορικά υβρίδια Constanza, Prezia, Nubia, η καθαρή σειρά 28M και ο μάρτυρας το υβρίδιο B73 x MO17. Κάθε υλικό σπάρθηκε σε 42 θέσεις, συνολικές θέσεις σποράς 504.

Σε όλα τα πειράματα έγιναν οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες και μετρήθηκαν τα χαρακτηριστικά που αναφέρονται παρακάτω. 1. Αδέλφωμα: Ο αριθμός αδελφιών που σχημάτισε κάθε φυτό. 2. Ανθήση: Καταγράφηκε για κάθε φυτό ξεχωριστά η ημερομηνία άνθησης της αρσενικής ταξιανθίας του κεντρικού στελέχους και της θηλυκής ταξιανθίας και εκφράστηκε σε ημέρες. 3. Ύψος πρώτου σπάδικα σε μεσογονάτια διαστήματα και σε εκατοστά. 4. Αριθμός σπαδικών. 5. Μήκος σπάδικα: Δειγματοληπτικά σε δύο σπάδικες ανά φυτό. 6. Αριθμός σειρών σπάδικα: Δειγματοληπτικά σε δύο σπάδικες ανά φυτό. 7. Απόδοση σε σπόρο: Συγκομίσθηκαν οι σπάδικες κάθε μεμονωμένου φυτού και μετρήθηκε σε σπόρο η απόδοση κάθε φυτού αφού η υγρασία τους δεν ξεπερνούσε το 15,5%.

## ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τα δεδομένα αναλύθηκαν σύμφωνα με την πολυμεταβλητή ανάλυση ομάδων (cluster analysis) με τη μέθοδο UPGMA (Unweighed Pair Group Method Arithmetic average) (Rohlf 2000).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο ομοζυγωτικός εκφυλισμός της απόδοσης και των μορφολογικών χαρακτηριστικών καθώς και η γενική και ειδική συνδυαστική ικανότητα απεικονίζονται στον πίν.1.

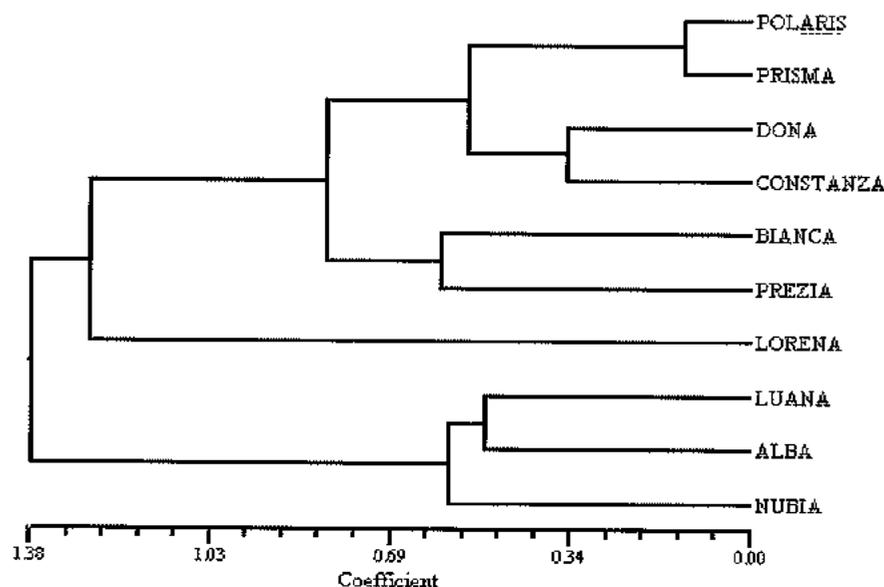
Με τη χρήση των δεδομένων των πίν. 1 βρέθηκαν οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των 10 εμπορικών υβριδίων με βάση τον συντελεστή Ευκλείδειας απόστασης (Πίν 2). Στην συνέχεια με βάση την Ευκλείδεια απόσταση κατασκευάστηκε το δενδρόγραμμα διάκρισης των 10 εμπορικών υβριδίων αραβοσίτου που προέκυψε με την εφαρμογή της μεθόδου UPGMA. (Σχεδ. 1).

**Πίνακας 1.** Ο ομοζυγωτικός εκφυλισμός (OE) 7 γνωρισμάτων και της απόδοσης καθώς και η Γενική και η Ειδική Συνδυαστική Ικανότητα (ΓΣΙ και ΕΣΙ, αντίστοιχα) των 10 εμπορικών υβριδίων αραβοσίτου.

	POLARIS	LUANA	LORENA	BIANCA	DONA	PRISMA	ALBA	CONSTANZA	PREZIA	NUBIA
OE* Αριθμ. στέλεχων	77,32	56,17	25,81	54,93	40,28	66,45	35,5	56,6	42,2	63,4
OE Ανθήσης	-1,85	-3,32	-2,52	-5,00	-1,17	-3,83	-4,24	-1,54	-6,11	-4,58
OE Ύψους Α' Σπάδικα	-0,33	0,42	3,20	1,74	4,59	1,49	4,18	11,60	-9	11,00
OE Ύψους Α' Σπόδ. (εκ)	6,94	12,02	9,72	10,62	7,97	5,90	15,83	3,30	-13,7	0,30
OE Αριθμ. Σπάδικων	8,52	19,85	8,23	16,50	26,92	0,54	32,71	22,60	21,20	19,00
OE Μήκους Σπάδικα	16,51	16,99	13,42	10,93	16,50	13,87	19,65	11,10	10,40	16,40
OE Σειρ. Σπάδικα	8,15	0,46	5,34	6,21	3,72	8,26	1,44	3,50	1,60	3,80
OE Απόδοσης	35,58	47,17	30,81	37,21	45,53	30,13	57,39	44,30	28,90	54,70
ΓΣΙ	-71	-18	184	-31	-32	-74	42	-35,5	7,5	28
ΕΣΙ	9	109	-194	-126	-9	-5	216	-40,5	-34,5	75

**Πίνακας 2.** Οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των 10 εμπορικών υβριδίων με βάση τον συντελεστή Ευκλείδειας απόστασης.

	POLARIS	LUANA	LORENA	BIANCA	DONA	PRISMA	ALBA	CONSTANZA	PREZIA	NUBIA
POLARIS	0,00									
LUANA	1,22	0,00								
LORENA	1,68	1,64	0,00							
BIANCA	1,10	1,21	1,27	0,00						
DONA	1,18	0,81	1,40	1,16	0,00					
PRISMA	0,61	1,36	1,54	0,86	1,39	0,00				
ALBA	1,85	0,88	1,93	1,72	1,13	1,99	0,00			
CONSTANZA	1,24	1,12	1,49	1,03	0,78	1,30	1,59	0,00		
PREZIA	1,83	1,60	1,75	1,34	1,71	1,62	2,06	1,69	0,00	
NUBIA	1,31	0,93	1,67	1,22	1,06	1,36	1,16	0,98	1,70	0,00



Σχέδιο 1. Δενδρόγραμμα διάκρισης των 10 εμπορικών υβριδίων αραβοσίτου με βάση την Ευκλείδεια απόσταση που προέκυψε με την εφαρμογή της μεθόδου UPGMA.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο ομοζυγωτικός εκφυλισμός, το αντίστροφο φαινόμενο της ετέρωσης, είναι το αποτέλεσμα της αναπόφευκτης σταθεροποίησης με την αυτογονιμοποίηση των επιβλαβών υποτελών γονιδίων που τόσο έχει γίνει συνείδηση στους βελτιωτές, ώστε εύρωστα φυτά στη διάρκεια της αυτογονιμοποίησης συνήθως απορρίπτονται ως σταυρογονιμοποιούμενα. Οι Hallauer και Miranda (1988) συνοψίζοντας τα αποτελέσματα του ομοζυγωτικού εκφυλισμού, προσδιόρισαν στην απόδοση σε καρπό μείωση 68%, στο ύψος 25% και στην άνθηση 6,8% οψίμηση.

Στα δεδομένα, το ποσοστό του ομοζυγωτικού εκφυλισμού κυμάνθηκε από γνώρισμα σε γνώρισμα και από υβρίδιο σε υβρίδιο. Μικρότερο ποσοστό ομοζυγωτικού εκφυλισμού έχει το ύψος του πρώτου σπάδικα και η άνθηση, γνωρίσματα ποιοτικά, που ο έλεγχός τους οφείλεται σε λίγα ζεύγη γονιδίων με κυρίαρχη δράση (Dudley 1988). Υψηλότερο ποσοστό ομοζυγωτικού εκφυλισμού έχει η απόδοση που είναι ποσοτικό γνώρισμα. Οι Hallauer και Sears (1973) σε μελέτη τους σε S1 μέχρι και S4 σειρές, συμπέραναν ότι υπεύθυνα για την απόδοση είναι 10 έως 100 γονίδια. Η κατάταξη των εμπορικών υβριδίων με βάση το μέγεθος του ομοζυγωτικού εκφυλισμού στην απόδοση ήταν: Prezia 25-30%, Prisma, Lorena 30-35%, Polaris, Bianca 36-40%, Dona, Constanza 41-45%, Luana 46-50%, Nubia, Alba 61-65%. Η μέση τιμή ομοζυγωτικού εκφυλισμού στο σύνολο των γνωρισμάτων που εκτιμήθηκαν δείχνει το υβρίδιο Lorena να παρουσιάζει τον μικρότερο μέσο εκφυλισμό (13%) από το πειραματισμό της πρώτης χρονικής περιόδου και το υβρίδιο Prezia από το πειραματισμό της δεύτερης χρονικής περιόδου.

Μελέτη του ποσοστού των εκφυλιστικών γονιδίων έδειξε ότι βελτίωση πληθυσμού με επανεπιλογή μειώνει το ποσοστό των εκφυλιστικών γονιδίων (Rodríguez & Hallauer 1988). Επίσης, ολοσυγγενική και ημισυγγενική επανεπιλογή μείωσε κατά 6,6% τον εκφυλισμό για απόδοση σε καρπό (Hallauer 1990). Μειωτική τάση του ποσοστού των εκφυλιστικών γονιδίων έδειξαν και τα δεδομένα των Meghji κ.ά. (1984) σε καθαρές σειρές δεύτερου κύκλου από πληθυσμό βελτιωμένο με τη γενεαλογική. Η ταχύτητα μείωσης κατά τη διάρκεια της βελτίωσης εκτιμήθηκε στο απλό υβρίδιο του Ινστιτούτου Σιτηρών Ι.Σ.027 και βρέθηκε ίση με 4.2% ανά κύκλο επιλογής (Koutsika κ.ά. 1990). Αν ληφθεί υπόψη ότι παρατηρείται επιβράδυνση της προόδου στις προχωρημένες γενεές (Gardner 1961, Moll & Hanson 1984) γίνεται αντιληπτό γιατί σε κάθε γενετικό υλικό η ανθεκτικότητα στον ομοζυγωτικό εκφυλισμό αποτελεί ένδειξη της γενεαλογίας του και κριτήριο επιλογής του σε ανακύκλωση καθαρών σειρών.

Εφαρμογή των δυνατοτήτων της πολυμεταβλητής ανάλυσης να υποδείξει τη γενετική συγγένεια και στη συνέχεια το επίλεκτο γενετικό υλικό που διατηρεί γενετική ποικιλομορφία έναντι των υπολοίπων,

υπέδειξε το απλό υβρίδιο Lorena να έχει τη μεγαλύτερη γενετική απόσταση από όλα τα υπόλοιπα. Το ίδιο υβρίδιο υπέδειξε και το δίκτυο διασταυρώσεων (Koutsika-Sotiriou 1999). Πράγματι, οι ανασυνδιασμένες σειρές που προέκυψαν από αυτό ξεπέρασαν σε απόδοση, στις διαλληλικές τους διασταυρώσεις το αρχικό υβρίδιο σε ποσοστό 32,5% (Παπαδοπούλου 1996) και 6,8% (Ευγενίδης 1997) και σε διασταυρώσεις δοκιμής σε ποσοστό 20,6% (Παπαδοπούλου 1996) και 6,8% (Ευγενίδης 1997). Το παρόν δίκτυο διασταυρώσεων και το στατιστικό πρόγραμμα δείχνει ενθαρρυντικά σημεία στη διάκριση εμπορικών υβριδίων που παρουσιάζουν γενετικό υπόβαθρο που τα καθιστά επίλεκτα στα προγράμματα κάθε σποροαποαραγωγικής εταιρείας και μη κατάλληλα για απόσυρση.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bauman, L.F. 1981. Review of methods used by breeders to developing superior inbreds. *Corn Sorghum Ind. Res. Conf.* 36<sup>th</sup>, 199-208
- Dudley, J.W. 1988. Evaluation of maize populations as sources of favorable alleles. *Crop Sci.*, 28:486-497.
- Eugenidis, G., 1997. Hybrid reconstruction of Lorena (PR 3183). Ph. D. Thesis, Dept. Genet. Plant Breed., Aristotle University, Thessaloniki, Greece.
- Fasoulas, A. 1981. Principles and methods of plant breeding. *Arist. Univ. Thes. Greece. Publ.* 11, pp.147.
- Gardner, C.C. 1961. An evaluation of effects of mass selection and seed irradiation with thermal neutrons on yield of corn. *Crop Sci.*, 1:241-245.
- Hallauer, A.R. & V.H. Sears. 1973. Changes in quantitative traits associated with in breeding in a synthetic variety of maize. *Crop Sci.*, 13:327-330.
- Hallauer, A.R. & J.B. Miranda, Fo. 1988. Quantitative genetics in maize breeding. 2<sup>nd</sup> Ed. Iowa State Un. Press, Ames, Iowa pp.468.
- Hallauer, A.R. 1990. Methods used in developing maize inbreds. *Maydica*, 35:1-16.
- Jenkins, M.T. 1978. Maize breeding during the development and early years of hybrid maize, p.13-28 in D.B., Walclen (ed). *Maize breeding and Genetics*. Wiley, N. York.
- Koutsika-Sotiriou, M., I. Bos and A. Fasoulas. 1990. Hybrid reconstruction in maize. *Euphytica*, 45:257-266.
- Koutsika-Sotiriou, M. 1999. Hybrid seed production in maize. pp. 25-64. In: *Heterosis and hybrid seed production in agronomic crops*. (Eds) Amarjit S. Basra, Food Products Press, Haworth Press, N. York.
- Meghji, M.R., J.W. Dudley, R.J. Lambert & G.F. Sprague. 1984. Inbreeding depression inbred and hybrid grain yields and other traits of maize genotypes representing three eras. *Crop Sci.* 24:545-549.
- Moll, R.H. & M.D.Hanson. 1984. Comparison of the effects of intrapopulations vs. interpopulation selection in maize. *Crop Sci.*, 24:1047-1052.
- Papadopoulou, A., 1996. Correlation between the yielding and combining ability of inbred lines in corn (*Zea mays* L) Ph. D. Thesis, Dept. Genet. Plant Breed., Aristotle University, Thessaloniki, Greece.
- Rodriguez, O.A. & A.R. Hallauer. 1988. Effects of recurrent selection in corn population. *Crop Sci.*, 28:796-800.
- Snedecor, G.W. & W.G. Cochran. 1967. *Statistical methods* (6<sup>th</sup> Ed.). Iowa St.Univ. Press, Ames Iowa, pp.593.
- Tailler, J.M. and R.Bernardo. 2004. Diverse adapted populations for improving northern maize inbreds, *Crop Sci.*, 44:1444-1449.
- Troyer, A.F. 1996. Breeding widely adapted popular maize hybrids. *Euphytica*, 92:163-174.
- Troyer, A.F., S.J. Openshaw and K.H. Knittle. 1988. Measurements of genetic diversity among popular commercial corn hybrids. *Crop Sci.*, 28:491-485.
- Lu, H. and R. Bernardo. 2001. Molecular marker diversity among current and historical maize inbreds. *Theor. Appl. Genet.*, 103:613-617.
- Smith, I.S.C. 1988. Diversity of United States hybrid maize germplasm: Isozymic chromatographic evidence. *Crop Sci.*, 28:63-69.

## ESTIMATION OF ELITE COMMERCIAL HYBRIDS BY MULTIVARIATE ANALYSIS IN MAIZE.

Tertivanidis<sup>1</sup>, K., O. Koutita<sup>1</sup>, M. Koutsika-Sotiriou<sup>2</sup>

1 Hellenic Sugar Industry, S.A.

2 Dept. of Genetics and Plant Breeding, A.U.Th. 54 124 Thessaloniki

### SUMMARY

The cultivated commercial maize hybrids derived from recycling few elite inbred lines, conducted to narrowing of genetic base. The present study estimate multivariate analysis through the elite maize

commercial hybrids that are valuable to be maintain as genetic resources at seed companies. The experimental material was ten commercial hybrids well adapted in our country the last two decades. The hybrids were: Lorena, Polaris, Luana, Bianca, Dona, Prisma Alba, Constanza, Prezia and Nubia. The inbreeding depression on the following characteristics was recordered: tillering, anthesis, placement of the first ear in nodes and in cm ear number, spike's length, rows per spike and grain yield. Besides, the general and specific combining ability were estimated. The commercial hybrid Lorena showed a different genetic profile than the rest, so it consists a prosperous germplasm.

## ΣΙΜΙΓΔΑΛΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΣΚΛΗΡΟΥ ΣΙΤΟΥ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΤΗΝ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ

Λιακοπούλου - Γριβάκου Παναγιώτα

Σταθμός Ελέγχου & Τυποποίησης Δημητριακών - Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η σιμιγδαλοποιητική ικανότητα του σκληρού σιταριού εξαρτάται από πλήθος παραγόντων που επηρεάζονται από το περιβάλλον και ελέγχονται από το γενότυπο. Με σκοπό τη μελέτη της σιμιγδαλοποιητικής συμπεριφοράς των ποικιλιών στον Ελλαδικό χώρο και των παραγόντων που την επηρεάζουν, αναλύθηκαν 431 δείγματα, των εσοδειών 2000, 2001 και 2002, 49 ποικιλιών σκληρού σιταριού, από 33 περιοχές που κάλυπταν ένα ευρύ φάσμα περιβαλλόντων. Προσδιορίστηκαν το βάρος χιλίων κόκκων (BΧΚ), οι κόκκοι με υαλώδη δομή, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, γλουτένη και κίτρινη χρωστική. Τα δείγματα σιμιγδαλοποιήθηκαν σε πειραματικό σιμιγδαλόμυλο και υπολογίστηκαν τα ποσοστά του σιμιγδαλιού (500-180μm), του αλεύρου (<180 μm) και των πιτύρων που παρήχθησαν, ο λόγος ενδοσπερμίου/πιτύρων και το ποσοστό του αλεύρου στο ενδοσπέρμιο. Έξη (6) ποικιλίες (Άθως, Μεξικάλι-81, Mexa, Kronos, Cosmodur, Simeto) συγκρίθηκαν μεταξύ τους και βρέθηκε ότι οι Άθως και Cosmodur είχαν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, οι Simeto και Άθως το υψηλότερο και μικρότερο ΒΧΚ αντίστοιχα και η Kronos μαζί με την Cosmodur το καλύτερο χρώμα σιμιγδαλιού. Ποικιλίες με μεγάλο κόκκο παρήγαγαν παρόμοιες ποσότητες σιμιγδαλιού με ποικιλίες που είχαν μικρό κόκκο. Ο λόγος ενδοσπερμίου/πιτύρων και το ποσοστό των πιτύρων βρέθηκε ότι εξαρτώνται κυρίως από την ποικιλία. Οι ποικιλίες Cosmodur, Mexa και Μεξικάλι-81 είχαν υψηλές αποδόσεις σε σιμιγδάλι. Βρέθηκε ότι η Μεξικάλι-81 παράγει υψηλές ποσότητες αλεύρου σε περιβάλλοντα που ευνοούν την παραγωγή του. Το ΒΧΚ, ο λόγος ενδοσπερμίου/πιτύρων και τα προϊόντα της σιμιγδαλοποίησης συσχετίστηκαν θετικά μεταξύ τους, ενώ με τα πίτυρα αρνητικά. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και οι υαλώδεις κόκκοι είχαν θετική συσχέτιση με την παραγωγή σιμιγδαλιού και αρνητική με την παραγωγή αλεύρου.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η σιμιγδαλοποιητική ικανότητα του σκληρού σιταριού είναι σημαντικό χαρακτηριστικό ποιότητας. Το σιμιγδάλι διατίθεται είτε για κατανάλωση, είτε για παραγωγή ζυμαρικών. Σύμφωνα με τον ελληνικό Κώδικα Τροφίμων τα ζυμαρικά πρέπει να παρασκευάζονται αποκλειστικά και μόνο από σιμιγδάλι που προέρχεται από σκληρό σιτάρι. Το σιμιγδάλι αυτό μπορεί να εμπεριέχει και ένα ποσοστό αλεύρου. Στοιχεία που χαρακτηρίζουν τη σιμιγδαλοποιητική αξία του σκληρού σιταριού είναι η απόδοση σε καθαρό σιμιγδάλι (ΚΣ), η ποσότητα του συνολικά εξαγόμενου προϊόντος της σιμιγδαλοποίησης (ΠΣ), δηλ. καθαρό σιμιγδάλι συμπεριλαμβανομένης και ποσότητας αλεύρου, η κοκκομετρία του σιμιγδαλιού, η καθαρότητα, το χρώμα του και η ικανότητά του να δίδει τελικό μεταποιητικό προϊόν με επιθυμητές ιδιότητες (αντοχή στο βρασμό κλπ). Παρά το γεγονός ότι οι προαναφερόμενοι παράμετροι μπορούν να επηρεασθούν από τις βιομηχανικές συνθήκες και το ποσοστό εξαγωγής σιμιγδαλιού, εξαρτώνται επίσης από πλήθος παραγόντων που επηρεάζονται από το περιβάλλον και είναι, σε διαφορετικό βαθμό ο καθένας, κληρονομούμενοι. Η επίδραση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων της πρώτης ύλης στην σιμιγδαλοποίηση αποτέλεσε αντικείμενο έρευνας από πολλούς. Αναφέρθηκε ότι η απόδοση σε σιμιγδάλι συσχετίζεται θετικά με το μέγεθος του κόκκου και το εκατολιτρικό βάρος (Matsuo και Dexter, 1980, Dexter κ.α., 1987) και ότι η κοκκομετρία του συνδέεται με την υαλότητα του κόκκου και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (Matsuo και Dexter, 1980, Dexter και Matsuo, 1981). Επίσης η σπουδαιότητα του πρωτεϊνικού περιεχομένου και της σύνθεσής του συνδέθηκε από πολύ νωρίς με την ποιότητα των ζυμαρικών (De Cillis, 1942, Matveef, 1966, Dexter και Matsuo, 1977). Όσον αφορά το χρώμα των ζυμαρικών, οι Dexter και Matsuo (1977), βρήκαν ότι ελέγχεται από τις ιδιότητες του σκληρού σιταριού.

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να μελετηθεί η συμπεριφορά κατά την σιμιγδαλοποίηση ποικιλιών που καλλιεργούνται στον Ελλαδικό χώρο, να εξετασθεί η σταθερότητα των ποικιλιών όσον αφορά στις

αποδόσεις των παραγομένων κατά την σιμιγδαλοποίηση προϊόντων, καθώς και να διερευνηθούν οι σχέσεις μεταξύ των αποδόσεων αυτών και λοιπών ποιοτικών γνωρισμάτων του σκληρού σιταριού.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Αναλύθηκαν 431 δείγματα των εσοδειών 2000, 2001 και 2002, 49 συνολικά ποικιλιών σκληρού σιταριού, από 33 περιοχές της χώρας, που κάλυπταν ένα ευρύ φάσμα περιβαλλόντων. Μεταξύ των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών που προσδιορίστηκαν ήταν το βάρος χιλίων κόκκων (BXC), το ποσοστό των κόκκων με υαλώδη δομή, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, υγρή γλουτένη και κίτρινη χρωστική. Η περιεκτικότητα του σπόρου σε πρωτεΐνη (N<sub>χ5,7</sub>) προσδιορίστηκε με αναλυτή υπερύθρων (NIR) της Bran+Luebbe, η γλουτένη του σιμιγδαλιού με συσκευή Glutomatic System της Perten και η περιεκτικότητα σε β-καροτένιο (δείκτης χρώματος) με φασματοφωτόμετρο Spectronic-21 της Bausch & Lomb. Ποσότητα 100g από κάθε δείγμα σιμιγδαλοποιήθηκε σε εργαστηριακό σιμιγδαλόμυλο Quadrumat Junior της Brabender μετά από εφύγραση του σπόρου και παραμονή του περίπου επί 18ωρο, ώστε να φθάσει σε υγρασία 15%. Το προϊόν της σιμιγδαλοποίησης τοποθετήθηκε προς διαχωρισμό σε δονητή κοσκίνων επί 5 min. Το προϊόν που πέρασε από το κόσκινο των 500μm και κατακρατήθηκε από των 180μm αποτέλεσε το καθαρό σιμιγδάλι, ενώ αυτό που πέρασε από το κόσκινο των 180μm θεωρήθηκε ως άλευρο. Οι αποδόσεις των προϊόντων εκφράστηκαν σε ποσοστά επί ξηράς ουσίας. Υπολογίσθηκαν τα ποσοστά του ΠΣ, του ΚΣ, του αλεύρου, του πτύρου, το ποσοστό του αλεύρου στο ΠΣ, καθώς και ο λόγος ενδοσπερμίου/πτύρων. Οι αναλύσεις και σιμιγδαλοποιήσεις πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο του Σταθμού Ελέγχου και Τυποποίησης Δημητριακών (Σ.Ε.&Τ.Δ.). Έξι (6) ποικιλίες, Άθως, Μεξικάλι-81, Mexa, Kronos, Cosmodur, Simeto, συγκρίθηκαν μεταξύ τους, ως προς τα χαρακτηριστικά που αναφέρθηκαν, με το κριτήριο Tukey-Kramer (n=264). Υπολογίσθηκαν επίσης τα στοιχεία της ευθύγραμμης συμμεταβολής των αποδόσεων των ποικιλιών σε ΠΣ, ΚΣ, άλευρο και πτύρο σε σχέση με το περιβάλλον και οι συντελεστές συσχέτισης μεταξύ των διαφόρων γνωρισμάτων.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στον πίνακα 1 φαίνονται οι μέσες τιμές της τριετίας 2000-2002 πέντε ποιοτικών χαρακτηριστικών των ποικιλιών Άθως, Cosmodur, Kronos, Mexa, Μεξικάλι-81 και Simeto. Οι ποικιλίες διαφοροποιήθηκαν μεταξύ τους σε όλα τα χαρακτηριστικά. Η Άθως εμφάνισε το μικρότερο μέγεθος κόκκου υστερώντας σημαντικά από τις άλλες πλην της Cosmodur. Ως προς το ποσοστό των υαλωδών κόκκων και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη η Kronos υστέρησε σημαντικά από τις Άθως και Cosmodur και στα δύο χαρακτηριστικά και μη σημαντικά από τις άλλες τρεις ποικιλίες. Η ίδια ποικιλία είχε το χαμηλότερο ποσοστό υγρής γλουτένης, ενώ μαζί με την Cosmodur εμφάνισαν τον υψηλότερο δείκτη χρώματος υπερέχοντας σημαντικά από τις τέσσερες άλλες ποικιλίες. Στον ίδιο πίνακα φαίνεται ότι η περιεκτικότητα σε υγρή γλουτένη, παρά το γεγονός ότι εξαρτάται από το γενότυπο, επηρεάζεται πολύ από το περιβάλλον, ενώ η κίτρινη χρωστική είναι κυρίως ποικιλιακό χαρακτηριστικό και η επίδρασή του περιβάλλοντος είναι σαφώς μικρότερη σε σύγκριση με τη γλουτένη.

Πίνακας 1. Ποιοτικά χαρακτηριστικά των ποικιλιών που μελετήθηκαν (n=264)

Ποικιλία	B X K (g)	Υαλώδεις κόκκοι (%)	Πρωτεΐνη (%)	Γλουτένη (%)	Κίτρινη Χρωσπική (ppm)
Άθως	39,14 b	89,04 a	14,81 a	28,35 a	7,79 b
Cosmodur	45,16 ab	88,32 a	14,36 ab	27,34 ab	10,25 a
Kronos	47,94 a	65,07 b	12,48 c	22,72 b	10,59 a
Mexa	46,80 a	74,15 ab	13,61 abc	26,55 ab	8,43 b
Μεξικάλι-81	46,27 a	71,19 ab	13,05 bc	25,64 ab	8,46 b
Simeto	49,27 a	76,16 ab	13,54 abc	24,95 ab	7,93 b
F-Ποικιλιών	8,500***	3,592**	4,866***	2,593*	23,234***
F-Τοποθεσιών	2,592***	3,507***	4,378***	6,510***	1,829**

Τιμές που περιέχουν το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά για επίπεδο σημαντικότητας 5% (κριτήριο Tukey-Kramer)

Στους πίνακες 2 και 3 εμφανίζονται, αντίστοιχα, τα προϊόντα της σιμιγδαλοποίησης εκφρασμένα σε ποσοστά επί ξηράς ουσίας και ο λόγος ενδοσπερμίου/πιτύρων μαζί με το ποσοστό αλεύρου στο ΠΣ. Από την σημαντικότητα των F φαίνεται ότι το καθαρό σιμιγδάλι, το άλευρο και το ποσοστό του αλεύρου στο ΠΣ εξαρτώνται μεν από τον γενότυπο, επηρεάζονται όμως πολύ και από το περιβάλλον. Αντίθετα το ποσοστό των πιτύρων και ο λόγος ενδοσπερμίου/πιτύρων φαίνεται ότι είναι κατά κύριο λόγο ποικιλιακά χαρακτηριστικά. Όσον αφορά στην απόδοση σε συνολικό προϊόν (σιμιγδάλι και άλευρο), χαρακτηριστικό που φάνηκε ότι επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τον γενότυπο, η ποικιλία Simeto

Πίνακας 2. Απόδοση σε προϊόν σιμιγδαλοποίησης, καθαρό σιμιγδάλι, άλευρο, πίτυρα (n=264)

Ποικιλία	Αριθμ.δειγμ.	ποσοστά επί ξηράς ουσίας			
		Προϊόν σιμιγδαλοπ.	Καθαρό σιμιγδάλι	Άλευρο	Πίτυρα
Άθως	15	65,16 ab	55,72 ab	9,44 b	44,93 ab
Cosmodur	20	67,80 ab	57,37 a	10,43 ab	47,22 ab
Kronos	28	65,63 ab	52,97 b	12,66 a	49,23 a
Mexa	38	68,15 a	57,36 a	10,79 ab	43,10 b
Μεξικάλι-81	49	68,13 a	56,96 a	11,17 ab	45,10 ab
Simeto	114	65,16 b	55,05 ab	10,11 b	48,17 a
F-Ποικιλιών		4,994***	3,890**	4,195**	3,384**
F-Τοποθεσιών		1,812**	2,265***	4,885***	1,071ns

Τιμές που περιέχουν το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά για επίπεδο σημαντικότητας 5% (κριτήριο Tukey - Kramer)

υστερήσε σημαντικά από την Mexa και την Μεξικάλι-81, οι οποίες δεν διέφεραν σημαντικά από τις άλλες ποικιλίες. Οι Cosmodur, Mexa και Μεξικάλι-81 παρήγαγαν τα υψηλότερα ποσοστά καθαρού σιμιγδαλιού υπερέχοντας σημαντικά όμως μόνο από την Kronos. Την μικρότερη παραγωγή αλεύρου την είχαν οι Άθως και Simeto. Ωστόσο υστερούσαν σημαντικά μόνο από την Kronos. Ως προς την ποσότητα των πιτύρων η Mexa είχε σημαντικά μικρότερο ποσοστό από τις Kronos και Simeto, που όμως δεν εμφάνισαν σημαντική διαφοροποίηση από τις υπόλοιπες ποικιλίες. Ως επακόλουθο, η Mexa

Πίνακας 3 . Λόγος ενδοσπερμίου / πιτύρων και ποσοστό αλεύρου στο ΠΣ (n=264).

Ποικιλία	ΠΣ x πίτυρα <sup>-1</sup>	αλεύρι x 100 x ΠΣ <sup>-1</sup>
Άθως	1,49 ab	14,58 b
Cosmodur	1,49 ab	15,51 b
Kronos	1,38 b	19,31 a
Mexa	1,62 a	15,87 b
Μεξικάλι-81	1,56 ab	16,41 ab
Simeto	1,41 b	15,51 b
F- Ποικιλιών	3,987 **	4,032 **
F- Τοποθεσιών	1,009 ns	4,866 ***

Τιμές που περιέχουν το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν για επίπεδα σημαντικότητας 5% (κριτήριο Tukey – Kramer)

υπερείχε σημαντικά των ποικιλιών Kronos και Simeto ως προς τον λόγο ενδοσπερμίου/πιτύρων (πιν.3). Στον ίδιο πίνακα φαίνεται επίσης ότι η Kronos εμφάνισε το υψηλότερο ποσοστό αλεύρου στο σιμιγδάλι, διαφοροποιούμενη σημαντικά από τις άλλες ποικιλίες πλην της Μεξικάλι-81.

Για να εξετασθεί η ανταπόκριση των ποικιλιών στο περιβάλλον όσον αφορά τα χαρακτηριστικά της σιμιγδαλοποίησης, υπολογίστηκαν τα στοιχεία της ευθύγραμμης συμμεταβολής των χαρακτηριστικών κάθε ποικιλίας, σε σχέση με τις αντίστοιχες μέσες τιμές του συνόλου των δειγμάτων (n=431) (Πιν.4). Οι ποικιλίες προσδιορίζονται ως σταθερής συμπεριφοράς στα διάφορα περιβάλλοντα όταν εμφανίζουν  $b < 1$ , ως μέσης σταθερότητας συμπεριφοράς όταν το  $b$  είναι κοντά στη μονάδα και ως ευαίσθητες στις περιβαλλοντικές αλλαγές όταν έχουν  $b > 1$ . Ποικιλίες που εμφανίζουν υψηλό MO και  $b$  κοντά στη μονάδα κρίνονται ότι εκφράζουν ικανοποιητικά το εξεταζόμενο χαρακτηριστικό σε ευρύ φάσμα περιβαλλόντων. Συνδυασμός υψηλού MO και  $b > 1$  ή  $b < 1$  υποδηλώνουν ποικιλίες που ανταποκρίνονται ικανοποιητικά σε ειδικά περιβάλλοντα, ευνοϊκά ή μη, αντίστοιχα, για την έκφρασή του εξεταζόμενου χαρακτηριστικού. Στον πίνακα 4 δίδονται οι συντελεστές συμμεταβολής των χαρακτηριστικών της σιμιγδαλοποίησης των έξι (6) ποικιλιών έναντι των αντιστοιχών μέσων όρων του συνόλου των δειγμάτων (n=431), τα τυπικά τους σφάλματα και οι συντελεστές συσχέτισης των συμμεταβολών. Έχοντας υπόψη και τις μέσες τιμές της τριετίας των πινάκων 2 και 3 η ποικιλία Cosmodur έδειξε ότι δίδει υψηλά ποσοστά ΚΣ σε ένα ευρύ φάσμα περιβαλλόντων ( $b$  κοντά στη μονάδα), όπως επίσης ότι οι ποικιλίες Mexa και Μεξικάλι – 81 αποδίδουν σταθερά υψηλές ποσότητες σιμιγδαλιού. Οι ποικιλίες Mexa και Μεξικάλι – 81 έδειξαν ότι εμφανίζουν υψηλές τιμές του λόγου ενδοσπερμίου/πιτύρων, η μεν πρώτη σε περιβάλλοντα που ευνοούν την έκφρασή του ( $b > 1$ ), η δε δεύτερη σε ευρύ φάσμα περιβαλλόντων ( $b$  κοντά στη μονάδα). Φάνηκε επίσης ότι οι Kronos και Μεξικάλι – 81 παράγουν υψηλά ποσοστά αλεύρου η μεν πρώτη σταθερά, η δε δεύτερη σε περιβάλλοντα που ευνοούν την παραγωγή του ( $b > 1$ ). Όσον αφορά στην παραγωγή πιτύρων, η μεν ποικιλία Kronos έδειξε ότι παράγει σταθερά υψηλές ποσότητες, εμφανίζοντας καλή ανταπόκριση σε περιβάλλοντα μη ευνοϊκά για την παραγωγή τους ( $b < 1$ ), η δε Simeto σε ευρύ φάσμα περιβαλλόντων.

Στον πίνακα 5 φαίνονται οι συντελεστές συσχέτισης μεταξύ των χαρακτηριστικών του σκληρού σιταριού και του σιμιγδαλιού. Η απόδοση σε ΚΣ συσχετίστηκε θετικά με το λόγο ενδοσπερμίου/πιτύρων, το μέγεθος του κόκκου, τους υαλώδεις κόκκους, την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και γλουτένη και αρνητικά με τα ποσοστά αλεύρου και τα πίτυρα. Η απόδοση σε άλευρο έδειξε ισχυρή συσχέτιση, θετική με το ποσοστό των αλευρωδών κόκκων και αρνητική με το ποσοστό των υαλωδών κόκκων και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Το ποσοστό των πιτύρων ήταν αρνητικά συσχετισμένο κατά κύριο λόγο με το συνολικό προϊόν της σιμιγδαλοποίησης, με το καθαρό σιμιγδάλι όπως προαναφέραμε, με το παραγόμενο ποσοστό αλεύρου και με το μέγεθος του κόκκου. Όσον αφορά στις συσχετίσεις μεταξύ των λοιπών ποιοτικών χαρακτηριστικών του κόκκου και του σιμιγδαλιού το ΒΧΚ συσχετίστηκε θετικά με τους αλευρώδεις κόκκους και αρνητικά με τους υαλώδεις, την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και γλουτένη, καθώς και με τον δείκτη χρώματος. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, οι υαλώδεις κόκκοι και η περιεκτικότητα σε γλουτένη συσχετίστηκαν ισχυρά θετικά μεταξύ τους και αρνητικά με το ποσοστό των αλευρωδών κόκκων. Ο δείκτης χρώματος έδειξε θετική συσχέτιση με την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και το ποσοστό των υαλωδών κόκκων και αρνητικά με τους αλευρώδεις κόκκους.

**Πίνακας 4.** Συντελεστές συµµεταβολής, τυπικά σφάλµατα και συντελεστές συσχέτισης συµµεταβολών

1. ΠΣ, 2. ΚΣ, 3. Άλευρο, 4. % αλεύρου στο ΠΣ, 5. Πίτυρα, 6. Ενδοσπέρµιο / Πίτυρα

*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	1,000										
2	0,815	1,000									
3	0,198	-0,406	1,000								
4	0,837	0,652	0,218	1,000							
	-0,060	-0,626	0,965	-0,002	1,000						
6	-0,738	-0,591	-0,164	-0,966	0,031	1,000					
7	0,283	0,202	0,105	0,270	0,030	-0,251	1,000				
	-0,128	0,288	-0,690	-0,078	-0,673	0,018	-0,236	1,000			
9	-0,226	0,254	-0,789	-0,249	-0,741	0,207	-0,233	0,734	1,000		
10	0,237	-0,237	0,774	0,228	0,725	-0,180	0,214	-0,754	-0,975	1,000	
11	-0,123	0,236	-0,595	-0,129	-0,576	0,118	-0,153	0,802	0,633	-0,645	1,000
12	0,065	0,114	-0,090	0,002	-0,108	-0,034	-0,116	0,118	0,135	-0,101	0,058

**Πίνακας 5.** Συσχετίσεις µεταξύ των χαρακτηριστικών που µελετήθηκαν (n=431)

Κρίσιµες τιμές του r σε επίπεδο σηµαντικότητας P=0,05 και P=0,01 είναι οι r=0,095 &amp; r=0,124 αντίστοιχα

\* 1. ΠΣ, 2. ΚΣ, 3. Άλευρο, 4. Ενδοσπέρµιο/Πίτυρα, 5. %Αλεύρου στο ΠΣ, 6. Πίτυρα, 7. ΒΧΚ, 8. πρωτεΐνη, 9. Υαλώδεις κόκκοι, 10. Αλευρώδεις κόκκοι, 11. Γλουτένη, 12. κίτρινη χρωστική

Ποικιλίες	Αθως		Cosmodur		Kronos		Mexa		Μεξικάλι – 81		Simeto	
	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r
1	0,85±0,15	0,90	0,94±0,17	0,86	0,92±0,17	0,88	0,91±0,08	0,93	0,96±0,13	0,87	0,91±0,06	0,91
2	0,97±0,14	0,92	1,04±0,13	0,93	1,00±0,25	0,79	0,94±0,07	0,95	0,96±0,12	0,87	0,94±0,05	0,94
3	0,92±0,12	0,93	0,70±0,22	0,70	0,96±0,26	0,78	1,02±0,11	0,90	1,20±0,12	0,92	0,96±0,08	0,86
4	0,99±0,14	0,92	0,83±0,19	0,81	1,07±0,29	0,77	0,97±0,09	0,92	1,10±0,12	0,91	0,95±0,07	0,90
5	0,94±0,14	0,91	0,86±0,12	0,92	0,85±0,17	0,86	1,19±0,10	0,94	1,00±0,06	0,97	1,03±0,04	0,96
6	0,86±0,15	0,88	0,96±0,15	0,90	0,97±0,18	0,87	1,11±0,09	0,94	1,02±0,09	0,94	0,92±0,04	0,95

**ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ****Ποικιλίες**

Στον πίνακα 1 εμφανίζονται οι μέσες τιμές της τριετίας των πέντε χαρακτηριστικών που επελέγησαν να εξετασθούν. Τα χαρακτηριστικά αυτά θεωρούνται βασικά χαρακτηριστικά ποιότητας του σκληρού σιταριού από τους βελτιωτές, τους εμπόρους και την βιοµηχανία άλεσης και ζυµαρικών. Η Ευρωπαϊκή Ένωση θέσπισε, µε τον Κανονισµό ΕΚ 2237/2003, ειδική προµοδότηση ποιότητας για το σκληρό σιτάρι. Σύμφωνα µε τον Κανονισµό, οι ποικιλίες θα αξιολογούνται ως προς τα προαναφερόµενα χαρακτηριστικά, πλην του ποσοστού των υαλωδών κόκκων, µε σκοπό την επί πλέον επιδότηση των παραγωγών. Οι ποικιλίες επελέγησαν µε κριτήρια τον αριθµό και την διασπορά των δειγµάτων που συγκεντρώθηκαν από κάθε μία, την ευρύτητα της καλλιέργειάς τους και τις διαφορές

που εμφανίζουν. Έτσι η Άθως συμπεριλήφθηκε γιατί είναι ποικιλία με μικρό μέγεθος κόκκου, με σκοπό να εξετασθεί κατά πόσο το μέγεθος του κόκκου επηρεάζει τα προϊόντα της σιμιγδαλοποίησης. Η ίδια ποικιλία θεωρείται ότι έχει μεγαλύτερο ποσοστό υαλωδών κόκκων από την Μεξικάλι-81, της οποίας μειονέκτημα θεωρείται το υψηλό ποσοστό αλευρωδών κόκκων που πολλές φορές εμφανίζει. Πράγματι η Μεξικάλι-81 έδωσε το δεύτερο χαμηλότερο ποσοστό υαλωδών κόκκων, χωρίς όμως να διαφέρει σημαντικά από τις άλλες ποικιλίες. Ως προς την περιεκτικότητα όμως σε πρωτεΐνη, υστέρησε μαζί με την Kronos σημαντικά από την Άθως. Όσον αφορά στα χαρακτηριστικά του σιμιγδαλιού ποσότητα υγρής γλουτένης και κίτρινη χρωστική, η Άθως υπερέχει στην περιεκτικότητα σε γλουτένη των άλλων, σημαντική υπεροχή όμως έδειξε μόνο ως προς την Kronos. Ως προς την κίτρινη χρωστική η Cosmodur και η Kronos έδειξαν σαφώς μεγάλη υπεροχή έναντι των άλλων ποικιλιών.

Ποικιλίες	Άθως		Cosmodur		Kronos		Mexa		Μεξικάλι - 81		Simeto	
	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r
	1	0,85±0,15	0,90	0,94±0,17	0,86	0,92±0,17	0,88	0,91±0,08	0,93	0,96±0,13	0,87	0,91±0,06
2	0,97±0,14	0,92	1,04±0,13	0,93	1,00±0,25	0,79	0,94±0,07	0,95	0,96±0,12	0,87	0,94±0,05	0,94
3	0,92±0,12	0,93	0,70±0,22	0,70	0,96±0,26	0,78	1,02±0,11	0,90	1,20±0,12	0,92	0,96±0,08	0,86
4	0,99±0,14	0,92	0,83±0,19	0,81	1,07±0,29	0,77	0,97±0,09	0,92	1,10±0,12	0,91	0,95±0,07	0,90
5	0,94±0,14	0,91	0,86±0,12	0,92	0,85±0,17	0,86	1,19±0,10	0,94	1,00±0,06	0,97	1,03±0,04	0,96
6	0,86±0,15	0,88	0,96±0,15	0,90	0,97±0,18	0,87	1,11±0,09	0,94	1,02±0,09	0,94	0,92±0,04	0,95

Ποικιλίες	Άθως		Cosmodur		Kronos		Mexa		Μεξικάλι - 81		Simeto	
	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r	b±SE	r
	1	0,85±0,15	0,90	0,94±0,17	0,86	0,92±0,17	0,88	0,91±0,08	0,93	0,96±0,13	0,87	0,91±0,06
2	0,97±0,14	0,92	1,04±0,13	0,93	1,00±0,25	0,79	0,94±0,07	0,95	0,96±0,12	0,87	0,94±0,05	0,94
3	0,92±0,12	0,93	0,70±0,22	0,70	0,96±0,26	0,78	1,02±0,11	0,90	1,20±0,12	0,92	0,96±0,08	0,86
4	0,99±0,14	0,92	0,83±0,19	0,81	1,07±0,29	0,77	0,97±0,09	0,92	1,10±0,12	0,91	0,95±0,07	0,90
5	0,94±0,14	0,91	0,86±0,12	0,92	0,85±0,17	0,86	1,19±0,10	0,94	1,00±0,06	0,97	1,03±0,04	0,96
6	0,86±0,15	0,88	0,96±0,15	0,90	0,97±0,18	0,87	1,11±0,09	0,94	1,02±0,09	0,94	0,92±0,04	0,95

### Σιμιγδαλοποίηση

Στον πίνακα 2 παρουσιάζονται οι αποδόσεις των προϊόντων που εξήχθησαν κατά την σιμιγδαλοποίηση. Επειδή οι σιμιγδαλοποιήσεις έγιναν σε πειραματικό σιμιγδαλόμυλο με προκαθαρισμένες ρυθμίσεις, δεν ελήφθη υπόψη η καθαρότητα των προϊόντων. Τα ποσοστά των αποδόσεων έχουν αξία για τις μεταξύ των ποικιλιών συγκρίσεις, δεν μπορούν όμως να θεωρηθούν σαν ποσοστά που επιτυγχάνονται κατά την βιομηχανική σιμιγδαλοποίηση. Όπως προαναφέραμε, φάνηκε ότι το καθαρό σιμιγδάλι, το άλευρο και το ποσοστό του αλεύρου στο ΠΣ εξαρτώνται μεν από τον γενότυπο, επηρεάζονται όμως πολύ και από το περιβάλλον. Αντίθετα το ποσοστό των πιτύρων και ο λόγος ενδοσπερμίου/πιτύρων φάνηκε ότι είναι κατά κύριο λόγο ποικιλιακά χαρακτηριστικά, όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενες εργασίες (Chaurand, κ.α., 1999). Το υψηλό ποσοστό πιτύρων που παράγεται κατά την σιμιγδαλοποίηση της Simeto την κάνει, παρά το μεγάλο ΒΧΚ, να υστερεί σημαντικά σε απόδοση σε συνολικό προϊόν από τις Mexa και Μεξικάλι-81 και να μην διαφοροποιείται από την Άθως που είχε σημαντικά μικρότερο μέγεθος κόκκου από όλες τις ποικιλίες, πλην της Cosmodur. Ωστόσο η χαμηλή παραγωγή αλεύρου της Simeto την κάνει να μη υστερεί σε καθαρό σιμιγδάλι από τις άλλες ποικιλίες αν και καταλαμβάνει την προτελευταία θέση στην κατάταξη των ποικιλιών. Το υψηλό ΒΧΚ που επιτυγχάνει η Simeto και οι χαμηλές αποδόσεις της σε σιμιγδάλι αναφέρθηκαν και για τις Ιταλικές εδαφοκλιματικές συνθήκες (Novaro, κ.α., 2003). Όσον αφορά στην ποικιλία Kronos, η υψηλή παραγωγή αλεύρου την φέρνει στην τελευταία θέση στην κατάταξη των ποικιλιών στην παραγωγή καθαρού

σιμιγδαλιού και δικαιολογεί τον χαρακτηρισμό της ως ποικιλία που έχει εξαιρετικές αποδόσεις σε αλεύρι. Ως προς το ποσοστό αλεύρου στο προϊόν σιμιγδαλοποίησης, συγκρίνοντας της ποικιλίες Cosmodur, Mexa και Μεξικάλι-81, που βρίσκονται στην ίδια ομάδα κατάταξης όσον αφορά στα ποσοστά καθαρού σιμιγδαλιού και αλεύρου, βλέπουμε την Μεξικάλι-81 να μην διαφοροποιείται μεν σημαντικά από τις άλλες δύο, ούτε όμως και από την Κτοπος που καταλαμβάνει την πρώτη θέση στην κατάταξη των ποικιλιών.

### Σταθερότητα αποδόσεων προϊόντων σιμιγδαλοποίησης

Από τους συντελεστές συμμεταβολής φαίνεται ότι οι ποικιλίες Cosmodur, Mexa και Μεξικάλι-81 παρουσιάζουν μέση και υψηλή σταθερότητα αποδόσεων σε συνολικό προϊόν σιμιγδαλοποίησης και σε καθαρό σιμιγδάλι. Οι υψηλές ποσότητες σε ευρύ φάσμα περιβαλλόντων τις κάνει υπέρτερες των άλλων ποικιλιών ως προς αυτά τα χαρακτηριστικά. Ως προς την παραγωγή αλεύρου και το ποσοστό αλεύρου στο σιμιγδάλι φάνηκε ότι η Cosmodur, σε συνδυασμό με τις μη υψηλές μέσες τιμές, εκφράζει περιβαλλοντική σταθερότητα για χαμηλές αποδόσεις αλεύρου. Όσον αφορά στα ίδια χαρακτηριστικά, οι συντελεστές συμμεταβολής της Μεξικάλι-81 και οι μέσες τιμές των χαρακτηριστικών δείχνουν ότι, όταν η ποικιλία καλλιεργείται σε περιβάλλοντα μη ευνοϊκά για την έκφρασή τους, δεν αποδίδει υψηλές ποσότητες, σε αντίθεση με την ποικιλία Κτοπος που παράγει ικανές ποσότητες αλεύρου σε ευρύ φάσμα περιβαλλόντων.

### Συσχετίσεις

Οι συσχετίσεις μεταξύ των χαρακτηριστικών συμφωνούν με τις συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν από διάφορους ερευνητές, σε διαφορετικές εδαφοκλιματικές συνθήκες. Θετική συσχέτιση της απόδοσης σε σιμιγδάλι και του μεγέθους του κόκκου αναφέρθηκε και από άλλους συγγραφείς (Matsuo και Dexter, 1980, Dexter κ.α., 1987). Επίσης ο Novaro κ.α. (2001) βρήκε ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ απόδοσης σε σιμιγδάλι δεδομένης καθαρότητας και ΒΧΚ. Αρνητική συσχέτιση μεταξύ απόδοσης σε άλευρο και υαλωδών κόκκων αναφέρεται και από τον Chaurand κ.α. (1999). Αναφέρθηκε επίσης θετική συσχέτιση πρωτεΐνης - γλουτένης (D' Egidio κ.α., 1990) και πρωτεΐνης - χρωστικής (Kaan κ.α., 1998).

### Συμπεράσματα

Ανακεφαλαιώνοντας, συμπεραίνουμε ότι: Η ποικιλία Cosmodur είχε υψηλή απόδοση σε σιμιγδάλι σε ευρύ φάσμα περιβαλλόντων, χαμηλά ποσοστά αλεύρου και υψηλή περιεκτικότητα σε κίτρινη χρωστική. Οι Mexa και Μεξικάλι-81 είχαν εξ ίσου καλές αποδόσεις σε σιμιγδάλι. Η Μεξικάλι-81 έδειξε ότι παράγει υψηλά ποσοστά αλεύρου όταν καλλιεργείται σε περιβάλλοντα που ευνοούν την παραγωγή αλεύρου.

Ποικιλίες με μεγάλο κόκκο είχαν παρόμοιες αποδόσεις σε σιμιγδάλι με ποικιλίες που είχαν μικρό κόκκο.

Η απόδοση σε πίτυρο και ο λόγος ενδοσπερμίου/πιτύρων βρέθηκε ότι εξαρτώνται κυρίως από τον γενότυπο των ποικιλιών.

Υπήρξε θετική συσχέτιση μεταξύ λόγου ενδοσπερμίου/πιτύρων, ΒΧΚ και των αποδόσεων των προϊόντων της σιμιγδαλοποίησης. Οι συσχετίσεις των ιδίων με την απόδοση σε πίτυρα ήταν αρνητικές.

Η συσχέτιση μεταξύ απόδοσης σε σιμιγδάλι, πρωτεΐνης και ποσοστού υαλωδών κόκκων υπήρξε θετική, ενώ ήταν αρνητική η συσχέτιση των χαρακτηριστικών αυτών με την απόδοση σε άλευρο.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Chaurand, M., I. Lempereur, T.M. Roulland, J.C. Autran, and J. Abecassis, 1999. Genetic and agronomic effects on semolina milling value of durum wheat. *Crop Sci.* 39: 790-795
- De Cillis, V., 1942. La bianconatura dei grani duri. *Pub. 410 Ist. Sperm. Granicoltura Sicilia Catania*
- D' Egidio, M.G., B. M. Mariani, S. Nardi, P. Novaro, and R. Cubadda, 1990. Chemical and Technology Variables and their Relationships: A Predictive Equation for Pasta Cooking Quality. *Cereal Chem.* 67(3):275-281
- Dexter, J.E., and Matsuo R.R., 1977. Influence of protein content on some durum wheat quality parameters. *Can. J. Plant. Sci.* 57:717-727
- Dexter, J.E., and Matsuo R.R., 1981. Effect of starchy kernels, immaturity and shrunken kernels on durum wheat quality. *Cereal Chem.* 58:395-400.
- Dexter, J.E., R.R. Matsuo, and D.G. Martini, 1987. The effect of test weight on durum wheat quality. *Cereal Foods World.* 32:772-777.
- Kaan F., Chihab, B., Borriés, C., Monneveux, P., Branlard, G., 1998. Prebreeding and breeding durum wheat germplasm (*Triticum turgidum* L. var. durum) for quality products. *Options Méditerranéennes Durum Wheat Quality in the Mediterranean Region.* Serrie A: 22

- Matsuo, R.R. and Dexter, J.E., 1980. Relationship between some durum wheat physical characteristics and semolina milling properties. *Can. J. Plant Sci.* 60:49-53
- Matveef, M., 1966. Influence du gluten des blés durs sur la valeur des pâtes alimentaires. *Bull. Anc. Eleves Ec. Fr. Meun.*, 213:133
- Novaro, P., F. Collucci, and M.G. D' Egidio, 2003. Italian Durum Wheat Agroclimatic Areas: their Influence on Kernel Shape and Semolina Yield. *Ital. J. Agron.* 7,1, 57-63
- Novaro, P., F. Collucci, G. Venora and M.G. D' Egidio, 2001. Image Analysis of Whole Grains : A Noninvasive Method to Predict Semolina Yield in Durum Wheat. *Cereal Chem.* 78(3):217-221

## **SEMOLINA MILLING VALUE OF DURUM WHEAT VARIETIES**

**Panayota Liakopoulou - Grivakou**

Station of Cereal Control and Standardization – Thessaloniki

The semolina milling value of durum wheat depends on a number of factors that are influenced by the environment and they are controlled by genotype. In this study we present the data of 431 durum wheat samples of the 2000, 2001 and 2002 crops, of 49 cultivars, from 33 regions in Greece, which cover a wide range of environments. The 1000-kernel weight, percentage of vitreous kernels, protein and gluten content and the yellow pigment of semolina have been determined. The samples were milled in an experimental semolina mill. The yields of semolina (500-180 $\mu$ m), flour (<180 $\mu$ m), bran, the endosperm/bran ratio (semolina+flour/bran), as well as the friability of endosperm have been calculated. Comparisons among six (6) cultivars (Athos, Mexicali-81, Mexa, Kronos, Cosmodur, Simeto) showed that Athos and Cosmodur had high protein content, Simeto and Athos exhibited the highest and lowest 1000-kernel weight respectively, and Kronos as well as Cosmodur had the highest yellow pigment of semolina. Cultivars with large kernels yielded quantities of semolina similar to those with small kernels. It was found that the endosperm/bran ratio and the percentage of bran depends mainly on variety. The cultivars Cosmodur, Mexa and Mexicali-81 had high semolina yields. It was found that Mexicali-81 produces high quantities of flour in high-flour yielding environments. Significant positive correlations were observed between 1000- kernel weight, endosperm/bran ratio, and semolina milling products. These characteristics were also negative correlated with bran. Protein content and vitreous kernels were positive and negative correlated with semolina and flour yields respectively.

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ ΣΠΟΡΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΜΕΙΩΜΕΝΗΣ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑΣ  
ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ  
ΜΑΛΑΚΟΥ ΣΙΤΟΥ (*Triticum aestivum* L.)**

Λιθουργίδης Α. Σ.<sup>1</sup>, Δήμας Κ. Β.<sup>2</sup>, Δαμαλάς Χ. Α.<sup>3</sup>, και Ι. Β. Βασιλάκογλου<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Αγρόκτημα Πανεπιστημίου Θεσ/νίκης, <sup>2</sup>Τμήμα Φυτικής Παραγωγής ΤΕΙ Θεσ/νίκης  
<sup>3</sup>Δ/ση Αγρ. Ανάπτυξης Ν.Α. Πιερίας, <sup>4</sup>Τμήμα Φυτικής Παραγωγής ΤΕΙ Λάρισας

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Σε πείραμα αγρού που πραγματοποιήθηκε στο Αγρόκτημα του Α.Π.Θ. κατά την καλλιεργητική περίοδο 2003-2004 μελετήθηκε η επίδραση τριών καλλιεργητικών τεχνικών κατεργασίας του εδάφους (κλασική, μειωμένη και ελαφρά κατεργασία) και τεσσάρων πυκνοτήτων σποράς (10, 15, 20, και 25 kg/στρ) στον αριθμό φυτών και στάχων, στην απόδοση και στο ενεργειακό κόστος εγκατάστασης της καλλιέργειας του μαλακού σίτου. Σε όλες τις επεμβάσεις κατεργασίας του εδάφους ο αριθμός φυτών ήταν μεγαλύτερος στις δύο μεγαλύτερες πυκνότητες σποράς. Όσον αφορά τον αριθμό στάχων, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην κλασική και ελαφρά κατεργασία μεταξύ των πυκνοτήτων σποράς, ενώ ήταν μικρότερος στη μειωμένη κατεργασία στις δύο μικρότερες πυκνότητες. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην απόδοση τόσο μεταξύ των τεχνικών κατεργασίας του εδάφους όσο και μεταξύ των πυκνοτήτων σποράς. Τέλος, διαπιστώθηκε σημαντική οικονομία χρόνου και καυσίμου στην τεχνική της ελαφράς κατεργασίας του εδάφους σε σύγκριση με τις άλλες δύο τεχνικές, καθώς και στη μειωμένη κατεργασία του εδάφους σε σύγκριση με την κλασική κατεργασία.

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Οι τεχνικές μειωμένης κατεργασίας του εδάφους υιοθετήθηκαν ευρέως τα τελευταία χρόνια λόγω της μείωσης του κόστους παραγωγής που επιτυγχάνεται από την εφαρμογή τους (Gemtos κ.ά. 1998, Janosky κ.ά. 2002, Λιθουργίδης και Τσατσαρέλης 2002). Έτσι, συστήματα μειωμένης κατεργασίας του εδάφους εφαρμόζονται επιτυχώς τόσο στις ΗΠΑ όσο και σε χώρες της Ευρώπης κυρίως στα χειμερινά σιτηρά, τον αραβόσιτο και τη σόγια και λιγότερο στο βαμβάκι, τα ζαχαρότευτλα, τον ηλιάνθο και άλλες καλλιέργειες (Gemtos κ.ά. 1998, Hussain κ.ά. 1999, Beyaert κ.ά. 2002). Στην Ελλάδα συστήματα μειωμένης κατεργασίας του εδάφους εφαρμόζονται σε πειραματικό στάδιο και τα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με το θέμα αυτό είναι περιορισμένα. Συγκεκριμένα, οι Gemtos κ.ά. (1998) βρήκαν ότι είναι δυνατή η καλλιέργεια σίτου με τεχνικές μειωμένης κατεργασίας του εδάφους μετά από καλλιέργεια βαμβακιού με σημαντική μείωση του κόστους εγκατάστασης της καλλιέργειας. Επίσης, οι Λιθουργίδης και Τσατσαρέλης (2002) βρήκαν ότι με την εφαρμογή του συστήματος μειωμένης κατεργασίας σε καλλιέργεια σίτου υπήρξε σημαντική μείωση του χρόνου εργασίας και εξοικονόμηση καυσίμου χωρίς μείωση της απόδοσης του σίτου.

Βασικό κριτήριο για την ευρεία αποδοχή των μεθόδων μειωμένης κατεργασίας στην πράξη θεωρούνται οι αποδόσεις των φυτών που καλλιεργούνται με αυτές τις τεχνικές. Οι αποδόσεις, όπως προκύπτει από πειραματικά δεδομένα, πολλές φορές δεν υστερούν έναντι των αποδόσεων των παραδοσιακών μεθόδων (Hodgson κ.ά. 1989, Gemtos κ.ά. 1998, Hussain κ.ά. 1999, Latta και O'Leary 2003). Ωστόσο, οι κλιματικές συνθήκες που επικρατούν σε κάθε περιοχή, ο τύπος του εδάφους και ο ανταγωνισμός με τα ζιζάνια συχνά διαφοροποιούν τις αποδόσεις μεταξύ των διαφορετικών τεχνικών κατεργασίας του εδάφους (Cannell και Hawes 1994, Lopez-Bellido κ.ά. 1996, Mas και Verdi 2003, Δήμας κ.ά. 2004). Ειδικότερα, Οι Lopez-Bellido κ.ά. (1996) παρατήρησαν ότι σε ξηρές χρονιές η απόδοση του σίτου ήταν μεγαλύτερη σε συστήματα μειωμένης κατεργασίας σε σχέση με τα παραδοσιακά συστήματα κατεργασίας, ενώ το αντίθετο συνέβαινε σε υγρές χρονιές. Γενικά, ελαφρά και καλώς στραγγιζόμενα εδάφη δίνουν υψηλότερες αποδόσεις με τεχνικές μειωμένης κατεργασίας σε σύγκριση με βαριά και κακώς στραγγιζόμενα εδάφη. Επιπλέον, η αυξημένη παρουσία και δυσχερής αντιμετώπιση των ζιζανίων σε συστήματα μειωμένης κατεργασίας αποτελεί συχνά περιοριστικό παράγοντα για τις αποδόσεις των καλλιεργειών στα συστήματα αυτά λόγω του αυξημένου ανταγωνισμού (Bulher 1992; Mas και Verdi 2003, Δήμας κ.ά. 2004).

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν να αξιολογηθεί ο αριθμός φυτών και στάχων, η απόδοση, καθώς και το κόστος της καλλιέργειας μαλακού σίτου με τεχνικές μειωμένης κατεργασίας του εδάφους σε τέσσερις πυκνότητες σποράς.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

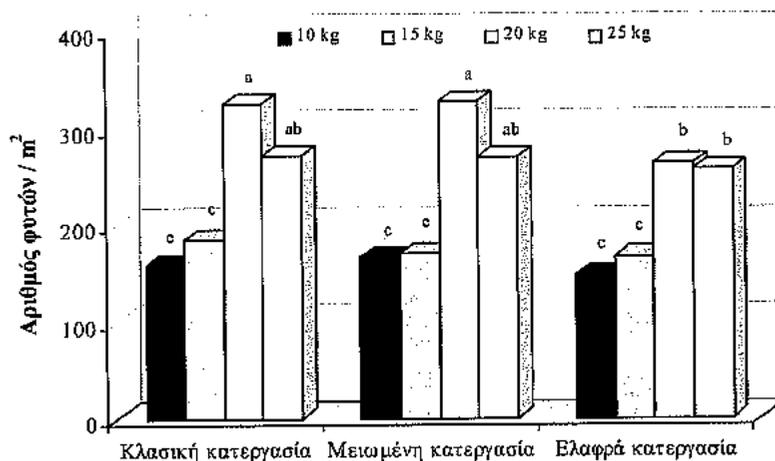
Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο Αγρόκτημα του Α.Π.Θ. την καλλιεργητική περίοδο 2003-2004 σε έδαφος SiC με pH 8,1 και οργανική ουσία 1,25%. Η προηγούμενη καλλιέργεια ήταν μαλακό σιτάρι που συγκομίστηκε στις 18 Ιουνίου 2003. Αμέσως μετά τη συγκομιδή έγινε συλλογή και δεματοποίηση του αχύρου με απόδοση περίπου 350 kg/στρ. Το ύψος του θερισμού ήταν 20-25 cm από το έδαφος.

Μελετήθηκαν τρεις επεμβάσεις κατεργασίας του εδάφους σε τέσσερις πυκνότητες σποράς (10, 15, 20, και 25 kg/στρ) του μαλακού σίτου 'Yecora'. Στη μια επέμβαση κατεργασίας του εδάφους εφαρμόστηκε, ως μάρτυρας, το κλασικό (συμβατικό) συνήθως εφαρμοζόμενο σύστημα καλλιέργειας (άροση σε βάθος 25 cm, κατεργασία με σβάρνα, λίπανση, καλλιεργητής και σπορά). Στη δεύτερη, εφαρμόστηκε σύστημα μειωμένης κατεργασίας του εδάφους (δισκοσβάρνα βαρέως τύπου σε βάθος 15 cm, λίπανση, κατεργασία με καλλιεργητή και σπορά) και στην τρίτη, εφαρμόστηκε ελαφρά κατεργασία του εδάφους (λίπανση, κατεργασία με καλλιεργητή και σπορά). Η σπορά έγινε στις 12 Νοεμβρίου 2003 με σπαρτική μηχανή κλασικού τύπου γραμμικής σποράς. Η λίπανση του πειραματικού αγρού περιελάμβανε 12 μονάδες N και 6 μονάδες P<sub>2</sub>O. Εφαρμόστηκε προφυτρωτική ζιζανιοκτονία με την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου chlorsulfuron (Glean 75WG) σε δόση 1,5 g σκευάσματος/στρ για την αντιμετώπιση των πλατύφυλλων ζιζανίων και μεταφυτρωτική ζιζανιοκτονία με την εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου clodinafop-propargyl (Torik 8EC) σε δόση 50 ml σκευάσματος/στρ για την αντιμετώπιση της αγριοβρώμης (στάδιο 3-4 φύλλων). Χρησιμοποιήθηκε το πειραματικό σχέδιο των υποδιαιρεμένων τεμαχίων με τέσσερις επαναλήψεις, όπου η τεχνική κατεργασίας του εδάφους αποτελούσε τα κύρια τεμάχια και η πυκνότητα σποράς τα υποτεμάχια. Το μέγεθος κάθε πειραματικού τεμαχίου ήταν 5 m x 200 m.

Μετρήθηκε ο αριθμός των φυτών μετά την ολοκλήρωση του φυτρώματος και των γονίμων στάχων μετά την ολοκλήρωση του ξεσταχιάσματος, σε δύο διαφορετικά σημεία εμβαδού 1m<sup>2</sup> κάθε πειραματικού τεμαχίου. Προσδιορίστηκε επίσης η απόδοση, ο χρόνος εργασιών και η κατανάλωση καυσίμου (πετρελαίου). Η συγκομιδή έγινε στις 16 Ιουνίου 2004 με κλασική θεριζοαλωνιστική μηχανή και από κάθε πειραματικό τεμάχιο συγκομίστηκε επιφάνεια 300m<sup>2</sup>.

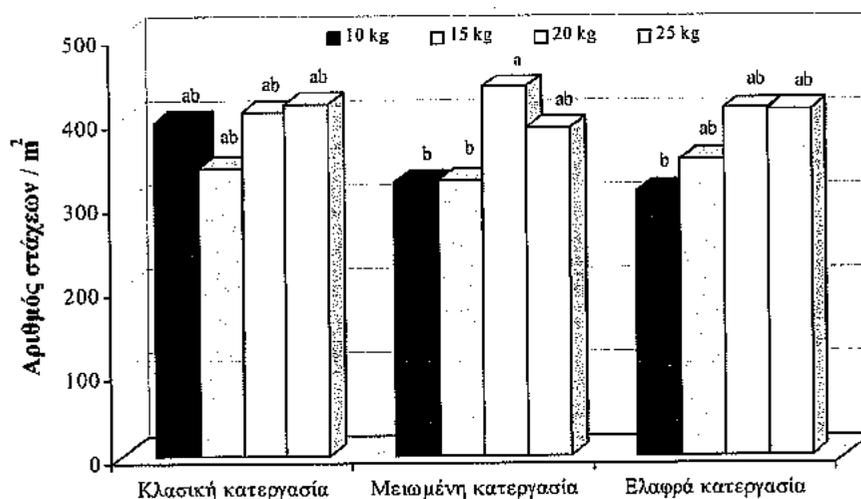
## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

**Αριθμός φυτών.** Σε όλες τις επεμβάσεις κατεργασίας του εδάφους ο αριθμός των φυτών μετά την ολοκλήρωση του φυτρώματος ήταν μεγαλύτερος στις δύο μεγαλύτερες πυκνότητες σποράς (Σχήμα 1). Ωστόσο, ο αριθμός των φυτών στην τεχνική της ελαφράς κατεργασίας, στις δύο μεγαλύτερες πυκνότητες σποράς (20, 25 kg/στρ), ήταν μικρότερος απ' ό,τι στην κλασική και μειωμένη κατεργασία (στην πυκνότητα των 20 kg/στρ). Παρόμοια αποτελέσματα σχετικά με την επίδραση της πυκνότητας σποράς στον πληθυσμό φυτών του σίτου αλλά και σχετικά με τον αριθμό φυτών που φύτρωσαν σε συστήματα συμβατικής και μειωμένης κατεργασίας του εδάφους έχουν αναφερθεί και από άλλους ερευνητές (Hodgson κ.ά. 1989, Gooding κ.ά. 2002, Λιθουργίδης και Τσατσαρέλης 2002). Ειδικότερα, οι Gooding κ.ά. (2002) βρήκαν ότι αύξηση της πυκνότητας σποράς του σίτου αύξησε γραμμικά τον αριθμό φυτών που φύτρωσαν, με εξαίρεση τις πολύ υψηλές πυκνότητες σποράς. Σε σχέση με την κατεργασία του εδάφους, οι Hodgson κ.ά. (1989) και Λιθουργίδης και Τσατσαρέλης (2002) δεν παρατήρησαν διαφορές μεταξύ συμβατικών και μειωμένων συστημάτων κατεργασίας του εδάφους σε ότι αφορά τον αριθμό φυτών σίτου που φύτρωσαν.



Σχήμα 1. Αριθμός φυτών στις τρεις διαφορετικές κατεργασίες του εδάφους (το ίδιο γράμμα δηλώνει στατιστικώς μη σημαντικές διαφορές για  $P=0.05$ , κριτήριο Duncan).

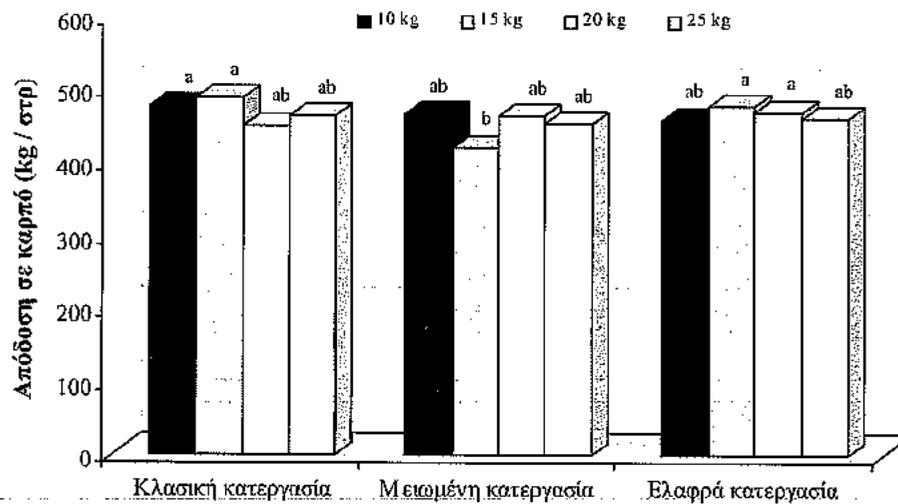
**Αριθμός στάξεων.** Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ως προς τον αριθμό στάξεων τόσο μεταξύ των πυκνοτήτων σποράς όσο και μεταξύ των τριών τεχνικών κατεργασίας του εδάφους (με εξαίρεση τον μεγαλύτερο αριθμό στάξεων στην πυκνότητα των 20 kg/στρ της μειωμένης κατεργασίας σε σύγκριση με τις δύο μικρότερες πυκνότητες) (Σχήμα 2). Αυτό οφείλεται στη μεγαλύτερη ικανότητα αδελφώματος των φυτών στις μικρότερες από ό,τι στις μεγαλύτερες πυκνότητες σποράς. Μειωμένη ικανότητα αδελφώματος του σίτου εξαιτίας της αύξησης της πυκνότητας σποράς έχει παρατηρηθεί και από άλλους ερευνητές (Gooding κ.ά. 2002).



Σχήμα 2. Αριθμός στάξεων στις τρεις διαφορετικές κατεργασίες του εδάφους (το ίδιο γράμμα δηλώνει στατιστικώς μη σημαντικές διαφορές για  $P=0.05$ , κριτήριο Duncan).

**Απόδοση σε καρπό.** Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε ότι αφορά την απόδοση του μαλακού σίτου τόσο μεταξύ των πυκνοτήτων σποράς όσο και μεταξύ των τεχνικών κατεργασίας του εδάφους (Σχήμα 3). Ανάλογα αποτελέσματα σχετικά με την απόδοση σε συστήματα συμβατικής και μειωμένης κατεργασίας του εδάφους έχουν αναφερθεί τόσο στο σιτάρι και όσο και στον αραβόσιτο (Λιθουργίδης και Τσατσαρέλης 1998, 2002, Beyaert κ.ά. 2002, Hemmat και Eskandari 2004). Ομοίως, σχετικά με την πυκνότητα σποράς, οι

Gooding κ.ά. (2002) βρήκαν ότι παρά την αύξηση του πληθυσμού του σίτου λόγω αύξησης της πυκνότητας σποράς δεν παρατηρήθηκε αύξηση της απόδοσης.



Σχήμα 3. Απόδοση σε καρπό στις τρεις διαφορετικές κατεργασίες του εδάφους (το ίδιο γράμμα δηλώνει στατιστικώς μη σημαντικές διαφορές για  $P=0.05$ , κριτήριο Duncan).

**Ανάλυση χρόνου εργασιών και καυσίμου.** Διαπιστώθηκε σημαντική οικονομία χρόνου και καυσίμου μετά από ελαφρά κατεργασία του εδάφους σε σύγκριση με τις άλλες δύο τεχνικές, καθώς επίσης και μετά από μειωμένη κατεργασία σε σύγκριση με την κλασική κατεργασία (Πίνακας 1). Συγκεκριμένα, στην ελαφρά κατεργασία προέκυψε οικονομία χρόνου 53.9% και καυσίμου 55.6%, ενώ στην μειωμένη κατεργασία 42.7% και 46.8% αντίστοιχα, σε σύγκριση με την κλασική κατεργασία. Τέλος, στην ελαφρά κατεργασία προέκυψε οικονομία χρόνου 19.5% και καυσίμου 16.7% απ' ότι στην μειωμένη κατεργασία του εδάφους. Σε ανάλογα πειράματα στο σιτάρι αναφέρεται μικρότερη διαφορά χρόνου και καυσίμου μεταξύ της μειωμένης και συμβατικής κατεργασίας, ως αποτέλεσμα της μεγαλύτερης κατανάλωσης χρόνου και καυσίμου κατά την κατεργασία του εδάφους στα πειραματικά τεμάχια της μειωμένης κατεργασίας, εξαιτίας της υγρασιακής κατάστασης του εδάφους (Λιθουργίδης και Τσατσαρέλης 2002). Αντίθετα, σε καλλιέργεια αραβοσίτου δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στο σύνολο των εργασιών (Λιθουργίδης και Τσατσαρέλης 1998). Γενικότερα, το κόστος παραγωγής σίτου με συστήματα περιορισμένης κατεργασίας του εδάφους άλλες φορές είναι μικρότερο ή ίσο (Janosky κ.ά. 2002) και άλλες μεγαλύτερο σε σύγκριση με εκείνο της συμβατικής κατεργασίας, ιδιαίτερα αν υπάρχουν δυσκολοεξόντωτα ζιζάνια και χρειαστεί εφαρμογή ζιζανιοκτόνων (Smith κ.ά. 1996).

Πίνακας 1. Ανάλυση χρόνου εργασιών και καυσίμου

Τεχνική Κατεργασίας	Κατεργασία εδάφους		Λοιπές εργασίες		Σύνολο	
	Χρόνος h/στρ	Κατανάλωση l/στρ	Χρόνος h/στρ	Κατανάλωση l/στρ	Χρόνος h/στρ	Κατανάλωση l/στρ
Κλασική (μάρτυρας)	0,292	4,520	0,155	1,764	0,447	6,284
Μειωμένη (% μάρτυρα)	0,101 34,6	1,580 35,0	0,155 100,0	1,764 100,0	0,256 57,3	3,344 53,2
Ελαφρά (% μάρτυρα)	0,051 17,5	1,020 22,6	0,155 100,0	1,764 100,0	0,206 46,1	2,784 44,4
(% μειωμένης)	50,5	64,6	100,0	100,0	80,5	83,3

Συμπερασματικά προκύπτει ότι η απόδοση του μαλακού σίτου δεν επηρεάστηκε από τα τρία συστήματα κατεργασίας του εδάφους που εφαρμόστηκαν. Επιπλέον, η απόδοση του μαλακού σίτου δεν επηρεάστηκε από την πυκνότητα σποράς κατά την εγκατάσταση. Με την εφαρμογή των συστημάτων μειωμένης κατεργασίας του εδάφους υπήρξε σημαντική μείωση του χρόνου εργασιών και του καυσίμου χωρίς μείωση της απόδοσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι τεχνικές της περιορισμένης κατεργασίας του εδάφους θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν επιτυχώς στην καλλιέργεια του μαλακού σίτου για μείωση του κόστους παραγωγής χωρίς να απαιτείται αύξηση της πυκνότητας σποράς.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Beyaert, R.P., J.W. Schott, P.H. White. 2002. Tillage effects on corn production in a coarse-textured soil in southern Ontario. *Agronomy Journal* 94: 767-774.
- Bulher, D.D. 1992. Population-dynamics and control of annual weeds in corn (*Zea mays*) as influenced by tillage systems. *Weed Science* 40: 241-248.
- Cannell, R.Q., J.D. Hawes. 1994. Trends in tillage practices in relation to sustainable production with special reference to temperate climates. *Soil & Tillage Research* 30: 245-282.
- Δήμας, Κ., Α. Λιθουργίδης, Ι. Βασιλάκογλου, Σ. Παπαδοπούλου. 2004. Επίδραση συστημάτων κατεργασίας του εδάφους στην απόδοση χειμερινών σιτηρών και στον πληθυσμό της αγριοβρώμης και των εντόμων. Πρακτικά 10<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, Αθήνα, (υπό δημοσίευση).
- Gemtos, T.A., S. Galanopoulou, C. Kavalaris. 1998. Wheat establishment after cotton with minimal tillage. *European Journal of Agronomy* 8: 137-147
- Gooding, M.J., A. Pinyosinwat, R.H. Ellis. 2002. Responses of wheat grain yield and quality to seed rate. *Journal of Agricultural Science* 138: 317-331.
- Hemmat, A., I. Eskandari. 2004. Conservation tillage practices for winter wheat-fallow farming in the temperate continental climate of northwestern Iran. *Field Crops Research* 89: 123-133.
- Hodgson, D.R., N.A. Kipps, M.A. Braim. 1989. Direct drilling compared with plowing for winter wheat grown continuously and the effects of subsoiling. *Soil Use and Management* 5: 189-194.
- Hussain, I., K.R. Olson, S.A. Ebelhar. 1999. Impacts of tillage and no-till on production of maize and soybean on an eroded Illinois silt loam soil. *Soil & Tillage Research* 52: 37-49
- Janosky, J.S., D.L. Young, W.F. Shillinger. 2002. Economics of conservation tillage in wheat-fallow rotation. *Agronomy Journal* 94: 527-531.
- Latta, J., G.J. O'Leary. 2003. Long-term comparison of rotation and fallow tillage systems of wheat in Australia. *Field Crops Research* 83: 173-190
- López-Bellido, L., M. Fuentes, J.E. Castillo, F.J. López-Garrido, E.J. Fernández. 1996. Long-term tillage, crop rotation, and nitrogen fertilizer effects on wheat yield under rainfed Mediterranean conditions. *Agronomy Journal* 88: 783-791.
- Λιθουργίδης, Α.Σ., Κ.Α. Τσατσαρέλης. 1998. Καλλιέργεια επίσπορου αραβοσίτου με το σύστημα της κατευθείαν σποράς. Πρακτικά 1<sup>ου</sup> Εθνικού Συνεδρίου Γεωργικής Μηχανικής, Αθήνα, σελ. 81-88.
- Λιθουργίδης, Α.Σ., Κ.Α. Τσατσαρέλης. 2002. Καλλιέργεια μαλακού σίτου (*Triticum aestivum*) με τεχνικές μειωμένης κατεργασίας του εδάφους. Πρακτικά 9<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, Θεσ/νίκη, σελ. 131-136.
- Mas, M.T., A.M.C. Verdú. 2003. Tillage system effects on weed communities in a 4-year crop rotation under Mediterranean dryland conditions. *Soil & Tillage Research* 74: 15-24.
- Smith, E.G., T.L. Peters, R.E. Blackshaw, C.N. Lindwall, F.J. Larney. 1996. Economics of reduced tillage in crop-fallow systems. *Canadian Journal of Soil Science* 76: 411-416.

## SEEDING RATE AND TILLAGE TECHNIQUE EFFECTS ON BREAD WHEAT (*Triticum aestivum* L.) CULTIVATION

A.S. Lithourgidis<sup>1</sup>, K.V. Dhima<sup>2</sup>, C.A. Damalas<sup>3</sup>, and I.B. Vasilakoglou<sup>4</sup>

<sup>1</sup>University Farm, Aristotle University of Thessaloniki, <sup>2</sup>Technological Education Institute of Thessaloniki

<sup>3</sup>Department of Agricultural Development of Pieria, <sup>4</sup>Technological Education Institute of Larissa

The effect of three conservation tillage techniques (conventional tillage, reduced tillage, shallow tillage) and four seeding rates (100, 150, 200, 250 kg/ha) on wheat cultivation was studied in a field experiment conducted at the University Farm of Aristotle University of Thessaloniki. For all tillage techniques, the number of wheat plants emerged was greater for the two higher seeding rates. No significant differences in

panicle number were observed between seeding rates with conventional and shallow tillage practices; however, panicle number was lower with reduced tillage for the two lower seeding rates. No significant differences were observed in wheat yield among tillage practices or among seeding rates. Considerable saving in time labor, fuel, and energy inputs was achieved with shallow tillage compared with the other two techniques and also with reduced tillage compared with conventional tillage.

## ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΔΙΑΠΛΟΕΙΔΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΜΑΛΑΚΟΥ ΣΙΤΑΡΙΟΥ ΜΕ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ

I. N. Ξυνιάς<sup>1</sup>, N. Kozub<sup>2</sup>, I. Sosinov<sup>2</sup>, G. Lisova<sup>2</sup>, I. Αθ. Ζαμάνη<sup>3</sup>, E. Γουλή-Βαβδινούδη<sup>4</sup> και Δ. Γ. Ρουπακιάς<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institute of Plant Protection, Vasilkovska St., 33, Kiev 03022, Ukraine,

<sup>2</sup> Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τ. Ε. Ι. Καλαμάτας, Αντικάλamos, 24 100 Καλαμάτα, email: xynias@teikal.gr

<sup>3</sup> Διεύθυνση Αγροτικής Ανάπτυξης, 51100 Γρεβενά,

<sup>4</sup> Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, Α. Π. Θ.

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παραγωγή διαπλοειδών σειρών μπορεί να βοηθήσει στην επιτάχυνση της δημιουργίας νέων ποικιλιών. Ειδικά για την περίπτωση του μαλακού σιταριού, αποτελεί μια πολύ αποτελεσματική προσέγγιση, μειώνοντας τον χρόνο που απαιτείται για την παραγωγή ομοζύγων σειρών. Το νέο όμως υλικό που θα δημιουργηθεί θα πρέπει να ταυτοποιηθεί με ακρίβεια. Στο σημείο αυτό η περιεκτικότητα σε αποθηκευτικές πρωτεΐνες μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένα ασφαλές κριτήριο για την ταυτοποίηση του υλικού και την αναγνώριση των αλληλομόρφων που υπάρχουν στις αντίστοιχες γονιδιακές θέσεις. Αυτό έχει σημασία για την εγγραφή της ποικιλίας, για την προστασία των δικαιωμάτων του βελτιωτή και για την ανάλυση της ομοιογένειας του υλικού. Σκοπός της παρούσης εργασίας ήταν να μελετηθεί η περιεκτικότητα σε αποθηκευτικές πρωτεΐνες 13 διαπλοειδών σειρών μαλακού σιταριού. Από κάθε διαπλοειδή σειρά χρησιμοποιήθηκαν 15-20 σπόροι για να καθορισθούν οι γονιδιακές θέσεις των υπομονάδων γλιαδίνης και γλουτενίνης. Για τον καθορισμό των γλιαδινών χρησιμοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης, ενώ για τις γλουτενίνες SDS- ηλεκτροφόρηση. Τα αποτελέσματα της ταυτοποίησης των διαπλοειδών σειρών με βάση την περιεκτικότητά τους σε αποθηκευτικές πρωτεΐνες, επέτρεψαν την κατάταξη των διαπλοειδών σειρών της διασταύρωσης Αχελώος X Βεργίνα σε τέσσερις διαφορετικές ομάδες. Επιπλέον, η ανάλυση έδειξε ότι οι διαπλοειδείς σειρές της διασταύρωσης Πηνειός X KVZ που προήλθαν από την F<sub>1</sub> ήταν μεταξύ τους πανομοιότυπες. Τέλος, σε δύο περιπτώσεις βρέθηκε ότι κάποιο σπάνιο βιότυπο των γονικών ποικιλιών πήρε μέρος στις διασταυρώσεις.

Λέξεις κλειδιά: διαπλοειδή, ταυτοποίηση, ηλεκτροφόρηση, γλουτενίνες, γλιαδίνες

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διαπλοειδία είναι μια τεχνική που μπορεί να επιταχύνει τη δημιουργία ποικιλιών (Χυνίας κ. ά. 2001). Ειδικά στην περίπτωση του μαλακού σιταριού, αποτελεί μια πολύ αποτελεσματική προσέγγιση, μειώνοντας τον χρόνο που απαιτείται για την παραγωγή 100% ομοζύγων γενοτύπων (Ζαμάνη 2001). Η χρησιμοποίηση γενετικού υλικού με επιθυμητά γονίδια διασφαλίζει τη δημιουργία καλών νέων συνδυασμών. Οι νέοι όμως γενότυποι θα πρέπει να διακρίνονται και από καλή ποιότητα. Αυτό είναι δυνατό να ελεγχθεί με αρκετή ασφάλεια, μελετώντας τις αποθηκευτικές πρωτεΐνες των διαπλοειδών σειρών σε σχέση με τις γονικές ποικιλίες. Η αναγνώριση των σχετικών αλληλομόρφων γονιδίων μπορεί να γίνει με ηλεκτροφόρηση των αποθηκευτικών πρωτεϊνών, που προέρχονται από τους σπόρους των διαπλοειδών φυτών. Η διεργασία αυτή είναι καθοριστική στην πιστοποίηση της καθαρότητας του γενετικού υλικού και για το λόγο αυτό συνιστάται για τις δοκιμές διάκρισης, ομοιομορφίας και σταθερότητας (DUS tests, Υρον 1996, Skerrit, 1998). Σκοπός της παρούσης εργασίας ήταν η ταυτοποίηση 13 διαπλοειδών σειρών μαλακού σιταριού με βάση την περιεκτικότητά τους σε αποθηκευτικές πρωτεΐνες.

## ΥΑΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για το σκοπό της εργασίας αυτής χρησιμοποιήθηκαν 13 διαπλοειδείς σειρές σιταριού, που έχουν δημιουργηθεί στο Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών του ΑΠΘ (Ζαμάνη 2001). Από κάθε σειρά χρησιμοποιήθηκαν 15-20 ατομικοί σπόροι για να καθορισθούν οι γονιδιακές θέσεις των υπομονάδων γλιαδίνης και γλουτενίνης. Για τον καθορισμό των γλιαδινών χρησιμοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης (Kozub και Sozínov 2000) και για τις υψηλού μοριακού βάρους (YMB) υπομονάδες γλουτενίνης SDS-ηλεκτροφόρηση (Laemmli 1970).

Τα αλληλόμορφα των Υ. Μ. Β. υπομονάδων της γλουτενίνης προσδιορίστηκαν σύμφωνα με τον κατάλογο των Payne και Lawrence (1983). Οι γλιαδίνες προσδιορίστηκαν με γράμματα σύμφωνα με την πρόταση του Metakovsky (1991). Τα αλληλόμορφα στη γονιδιακή θέση *Gli-A3* χαρακτηρίστηκαν ως "1" (το συστατικό με τη μεγαλύτερη κινητικότητα), ως "2" (το συστατικό με τη μικρότερη κινητικότητα,) και ως "0" (όταν δεν υπήρχε το αλληλόμορφο). Οι ζώνες των αποθηκευτικών πρωτεϊνών των διαπλοειδών σειρών συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες των γονικών τους ποικιλιών (Kozub κ. ά. 2003). Τα κενά κελιά στην περίπτωση της γονιδιακής θέσης της *Gli-2* (Πίνακας 1) σημαίνουν ότι τα αλληλόμορφα στους γονείς ήταν όμοια, ή ότι δεν είναι δυνατή η διάκρισή τους με τη διαθέσιμη μέθοδο ηλεκτροφόρησης.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ηλεκτροφόρηση των αποθηκευτικών πρωτεϊνών των σπόρων των διαπλοειδών σειρών έδωσε μια σαφή εικόνα της προέλευσης των αντιστοιχών γονιδίων στα διαπλοειδή φυτά (Πίνακας 1). Από τα αποτελέσματα είναι σαφές ότι και οι δύο γονείς κάθε διασταύρωσης είχαν την ίδια συνεισφορά. Στην περίπτωση των γλουτενινών και για τη γονιδιακή θέση *Glu-A1* φαίνεται να επικρατεί ένα αλληλόμορφο (το b), που είναι κοινό όλων των Ελληνικών ποικιλιών. Το αλληλόμορφο c που βρέθηκε στη διασταύρωση Μύκονος Χ Χίος, προέρχεται από την ποικιλία KVZ, που φαίνεται να συμμετείχε σε κάποια φάση της δημιουργίας της ποικιλίας Χίος (Kozub και Ξυνιάς 2004). Στη γονιδιακή θέση *Glu-B1* παρατηρήθηκε μεγαλύτερη παραλλακτικότητα και βρέθηκαν να εκφράζονται τέσσερα διαφορετικά αλληλόμορφα. Τέλος, στη γονιδιακή θέση *Glu-D1* βρέθηκε να επικρατεί το αλληλόμορφο a. Όσον αφορά τις γλιαδίνες, αρκετή παραλλακτικότητα βρέθηκε στις γονιδιακές θέσεις *Gli-A1* και *Gli-B1*. Στις γονιδιακές θέσεις *Gli-D1*, *Gli-A2*, και *Gli-D2* φαίνεται να επικρατούν τα αλληλόμορφα των ποικιλιών Αχελώος, Πηνειός και KVZ αντίστοιχα. Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι υπήρξαν περιπτώσεις στις οποίες η ηλεκτροφόρηση δεν αποκάλυψε διαφορές (γονιδιακή θέση *Gli-2*) είτε γιατί τα αλληλόμορφα στους γονείς ήταν όμοια, είτε γιατί η διάκρισή τους δεν ήταν δυνατή με τη μέθοδο ηλεκτροφόρησης που χρησιμοποιήθηκε.

**Πίνακας 1.** Αλληλόμορφα των γονιδιακών θέσεων των υπομονάδων γλιαδίνης (Gli) και υψηλού μοριακού βάρους (HMW) γλουτενίνης (Glu) 13 διαπλοειδών σειρών μαλακού σιταριού.

DHL no	Διασταύρωση	Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1	Gli-A1	Gli-B1	Gli-D1	Gli-A3	Gli-A2	Gli-B2	Gli-D2
59	Αχελώος × Βεργίνα	<i>b</i>	<i>k</i> Βεργίνα	<i>a</i>	<i>o</i> 2 Βεργίνα	<i>e</i> 4 Βεργίνα	<i>b</i> 1 Αχελώος	0-allele Βεργίνα		Αχελώος	
106	Αχελώος × Βεργίνα	<i>b</i>	<i>k</i> Βεργίνα	<i>a</i>	<i>g</i> 10 Αχελώος	<i>e</i> 4 Βεργίνα	<i>b</i> 1 Αχελώος	1 Αχελώος		Αχελώος	
107	Αχελώος × Βεργίνα	<i>b</i>	<i>k</i> Βεργίνα	<i>a</i>	<i>g</i> 10 Αχελώος	<i>e</i> 4 Βεργίνα	<i>b</i> 1 Αχελώος	1 Αχελώος		Αχελώος	
120	Αχελώος × Βεργίνα	<i>b</i>	<i>b</i> Αχελώος	<i>a</i>	<i>g</i> 10 Αχελώος	<i>c</i> 15 Αχελώος	<i>h</i> Βεργίνα	1 Αχελώος		Βεργίνα	
126	Αχελώος × Βεργίνα	<i>b</i>	<i>b</i> Αχελώος	<i>a</i>	<i>o</i> 2 Βεργίνα	<i>c</i> 15 Αχελώος	<i>b</i> 1 Αχελώος	0-allele Βεργίνα		Αχελώος	
127	Αχελώος × Βεργίνα	<i>b</i>	<i>b</i> Αχελώος	<i>a</i>	<i>o</i> 2 Βεργίνα	<i>c</i> 15 Αχελώος	<i>b</i> 1 Αχελώος	0-allele Βεργίνα		Αχελώος	
128	Αχελώος × Βεργίνα	<i>b</i>	<i>b</i> Αχελώος	<i>a</i>	<i>o</i> 2 Βεργίνα	<i>c</i> 15 Αχελώος	<i>b</i> 1 Αχελώος	0-allele Βεργίνα		Αχελώος	
151	Αχελώος × Βεργίνα	<i>b</i>	<i>k</i> Βεργίνα	<i>a</i>	<i>o</i> 2 Βεργίνα	<i>c</i> 15 Αχελώος	<i>b</i> 1 Αχελώος	0-allele Βεργίνα		Αχελώος	
16	Πηνεϊός × KVZ F <sub>1</sub>	<i>b</i> Πηνεϊός	<i>c</i> KVZ	<i>d</i> KVZ	<i>a</i> 11 Πηνεϊός	<i>l</i> 3 KVZ	<i>b</i> 1 Πηνεϊός	<i>l</i>	Πηνεϊός	KVZ	KVZ
17	Πηνεϊός × KVZ F <sub>1</sub>	<i>b</i> Πηνεϊός	<i>c</i> KVZ	<i>d</i> KVZ	<i>a</i> 11 Πηνεϊός	<i>l</i> 3 KVZ	<i>b</i> 1 Πηνεϊός	1	Πηνεϊός	KVZ	KVZ
18	Πηνεϊός × KVZ F <sub>4</sub>	<i>b</i> Πηνεϊός	<i>f</i> #	<i>d</i> KVZ	<i>a</i> 11 Πηνεϊός	<i>c</i> 15 Πηνεϊός	<i>f</i> 2 KVZ	1	KVZ	Πηνεϊός	KVZ
19	Αχελώος × <i>S. cepos</i>	<i>b</i>	<i>b</i> Αχελώος	<i>a</i>	<i>g</i> 10 Αχελώος	<i>d</i> # 2	<i>b</i> 1	1			
20	Μύκονος × Χίος	<i>c</i> Χίος	<i>c</i> Χίος* βιότυπος	<i>a</i>	<i>g</i>	<i>d</i> 2	<i>f</i> 2	0-allele Μύκονος		Χίος	

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ανάλυση των αποθηκευτικών πρωτεϊνών αποκάλυψε αρκετές ομοιότητες αλλά και διαφορές μεταξύ των διαπλοειδών σειρών με κοινή καταγωγή. Έτσι, οι οκτώ διαπλοειδές σειρές της διασταύρωσης Αχελώος Χ Βεργίνα ταυτοποιήθηκαν σε τέσσερις διαφορετικές ομάδες, με ένα, δύο, ένα και τέσσερα μέλη αντίστοιχα. Αντίθετα οι διαπλοειδές σειρές της διασταύρωσης Πηνηϊός Χ ΚVZ που προήλθαν από την F<sub>1</sub> βρέθηκε ότι είναι πανομοιότυπες. Στις διαπλοειδές σειρές Νο 18 και 19 το σύμβολο # σημαίνει ότι πιθανά κάποιος σπάνιος βιότυπος της αρχικής ποικιλίας πήρε μέρος στη διασταύρωση, γιατί φέρουν αλληλόμορφα που δεν υπήρχαν στις γονικές ποικιλίες. Ο γενότυπος αυτός, κατά πάσα πιθανότητα είναι η ποικιλία ΚVZ, η οποία μεταβίβασε στην ποικιλία Χίο τη μετατόπιση 1BL/RS (Kozub και Ξυνιάς 2004).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Kozub, N. O. και Sozinov, I. O. 2000. Special features of segregation for alleles at the gliadin locus *Gli-B1* in winter common wheat hybrids. *Tsitologiya i Genetika* 34: 69-76. (στην Ρωσική γλώσσα)
- Kozub, N. O., Sosinoy, I. O., Lisova, G. M., Sosinoy, O. O., Xynias, I. N., Roupakias, D. G. and Gouli-Vavdinoudi, E. 2003. The allelic composition of the group of Greek spring common wheat varieties with respect to storage protein loci. *Cytology and Genetics*, 37.
- Kozub, N. O. και Ξυνιάς, I. N. 2004. Περιεκτικότητα Ελληνικών ποικιλιών μαλακού σιταριού σε αποθηκευτικές πρωτεΐνες. Περilahψεις 10<sup>ου</sup> Επιστημονικού Συνεδρίου της Ελληνικής Επιστημονικής Εταιρείας Γενετικής Βελτίωσης Φυτών. Αθήνα, 24-26 Νοεμβρίου 2004.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage. *Nature* 227: 680-685.
- Metakovsky, E. V. 1991. Gliadin allele identification in common wheat. II Catalogue of gliadin alleles in common wheat. *J. Genet. Breed.* 45: 325-344.
- Payne, P. και Lawrence, G. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun.* 11: 29-34.
- Skerritt, J. H. 1998. Gluten proteins: genetics, structure and dough quality- a review. *Ag. Biotech News and Information*, 10, no 8.- P. 247N-270N.
- UPOV. 1996. Corrigendum to Guidelines for the conduct of Tests for Distinctness, Uniformity and Stability. TG/3/11/Corr., 1996-10-18
- Xynias, I. N., Zamani, I. A., Gouli-Vavdinoudi, E. and Roupakias D. G. 2001. Effect of cold pretreatment and incubation temperature on bread wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. *Cereal Res. Commun.* 29:331-338.
- Ζαμάνη, I. Αθ. 2001. Αντίδραση Ελληνικών ποικιλιών σιταριού στην *in-vitro* καλλιέργεια ανθέρων και δημιουργία καθαρών σειρών. Διδακτορική διατριβή. Θεσσαλονίκη, 2001

## IDENTIFICATION OF GREEK DIHAPLOID LINES IN BREAD WHEAT WITH BIOCHEMICAL MARKERS

N. Kozub<sup>1</sup>, I. Sozinov<sup>1</sup>, G. Lisova<sup>1</sup>, I. N. Xynias<sup>2\*</sup>, I. A. Zamani<sup>3</sup>, E. Gouli-Vavdinoydi<sup>4</sup> and D. G. Roupakias<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institute of Plant Protection, Vasilkovska St., 33, Kiev 03022, Ukraine,

<sup>2</sup> Department of Plant Production, School of Agricultural Technology, T. E. I. of Kalamata, Antikalamos, 24 100 Kalamata, Greece

<sup>3</sup> Division for Agricultural Development, 51100 Grevena, Greece.

<sup>4</sup> Laboratory of Genetics and Plant Breeding, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Gametic embryogenesis could contribute in shortening the time needed to produce a new cultivar. This approach appears to be very effective in the case of bread wheat. However, the new material produced is needed to be well characterized. This could be accomplished by evaluation of the storage protein composition. Cultivar identification is important for its registration, the protection of breeder's rights and for the analysis of uniformity of the material. This work was undertaken to study the storage protein composition of 13 doubled haploid bread wheat lines. For this, 15-20 seeds per each doubled haploid line were used to determine alleles at the loci for high molecular weight glutenin subunits and gliadins. Acid polyacrylamide gel electrophoresis was applied to identify glianin alleles, whereas SDS-electrophoresis was used in the case of high molecular weight

glutenin subunits. The identification results of the doubled haploid lines (DHLs) with respect to their storage protein composition enabled the classification of the DHLs derived from the cross Acheloos X Vergina in four different classes. Furthermore, protein composition analysis revealed that DHLs derived from F<sub>1</sub> (Penios X KVZ) were identical. Finally, it was observed that in two of the cases studied one rare biotype of the parental varieties was involved in crosses.

**Key words:** doubled haploids, identification, electrophoresis, glutenins, gliadins.

\* Corresponding author, email: xynias@teikal.gr

## ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΤΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΣΙΤΟΥ ΠΟΥ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟ ΩΪΔΙΟ

Σαρδελής Σ.<sup>1</sup>, Hsam S.L.K.<sup>2</sup> και Γ. Συμιλλίδης<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα

<sup>2</sup> Technical University of Munich  
Division of Plant Breeding, Lange Point 51, D-85350 Freising-Weihenstephan, Germany

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εννέα ποικιλίες μαλακού σίτου και επτά ποικιλίες σκληρού σίτου έχουν ταυτοποιηθεί με ηλεκτροφόρηση (A-PAGE) των γλιαδινών τους. Για κάθε ποικιλία που μελετήθηκε, έχει ταυτοποιηθεί ένας αλληλόμορφος σε κάθε γονιδιακό τόπο, ως εξής: Στον γονιδιακό τόπο *Gli-A1* ταυτοποιήθηκε ένας αλληλόμορφος εκ των *a*, *b*, *f*, *l* ή *m*, στον *Gli-B1*, ένας εκ των αλληλομόρφων *a*, *b*, *c*, *g*, *h*, *k* ή *l*, και στον *Gli-D1* ένας εκ των *a*, *b* ή *d*. Σε οκτώ ποικιλίες μαλακού σίτου έγινε δοκιμασία ανθεκτικότητας στο ωΐδιο, που προκαλείται από το *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*, χρησιμοποιώντας έντεκα διαφορετικές απομονώσεις του ωΐδιου. Οι ποικιλίες Ευρυδίκη, Βεργίνα, Αίγες και Ορφέας παρουσίασαν ευαισθησία ως προς τις πιο πάνω απομονώσεις. Η παρατήρηση έκφρασης του γονιδίου *Pm5* στις ποικιλίες Λούρος και Αχελώος ερμηνεύεται ως παρουσία ανθεκτικότητας. Σε αντίθεση, η εικόνα για τη Τζεβενρόζο "Ε" και τη Γεκόρα "Ε" δεν είναι σαφής. *Λέξεις κλειδιά:* Γλιαδίνες, σίτος, ωΐδιο

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο σίτος αποτελεί ένα από τα σπουδαιότερα καλλιεργούμενα φυτά παγκοσμίως και ως εκ τούτου οι ερευνητικές εργασίες και μελέτες που ασχολούνται με το είδος αυτό αυξάνονται γεωμετρικά. Η διαρκής δημιουργία και εισαγωγή νέων ποικιλιών μεγεθύνει και τις ανάγκες για την ταυτοποίηση και το διαχωρισμό τους.

Η ηλεκτροφόρηση των γλιαδινών, ως μία από τις πλέον απλές και αποδεκτές μεθόδους για το διαχωρισμό των μακρομορίων, με σκοπό την ταυτοποίηση και το διαχωρισμό των ποικιλιών, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί ακόμη και για πολύ συγγενές γενετικό υλικό. Οι γλιαδίνες ελέγχονται από γονίδια που εντοπίζονται στον κοντό βραχίονα των 1 και 6 ομοιολόγων χρωματοσωμάτων του σίτου. Μελέτες (Wringley και Shepherd 1973, Payne κ.α. 1982, Jackson κ.α. 1983) εντόπισαν τα γονίδια αυτά, σε γενετικούς τόπους γνωστούς ως *Gli-A1*, *Gli-B1*, *Gli-D1* (για την πρώτη ομοιόλογη ομάδα) και *Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2* (για την έκτη ομοιόλογη ομάδα). Όλοι οι παραπάνω αλληλόμορφοι, που έχουν εντοπιστεί στις διάφορες ποικιλίες σκληρού και μαλακού σίτου και οι οποίοι βρίσκονται ένας σε κάθε γονιδιακό τόπο από ένα σύνολο 150-180 διαφορετικών αλληλομόρφων, ελέγχουν ομάδες γλιαδινικών υπομονάδων (Metakovsky, 1991), παρέχοντας έτσι αυξημένη διακριτική δυνατότητα. Επιπλέον, έχουν εντοπιστεί και οι γονιδιακοί τόποι που ελέγχουν τις γλουδενίνες οριζόμενοι ως *Glu-A3*, *Glu-B3* και *Glu-D3* (Payne κ.α. 1984), οι οποίες είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν συμπληρωματικά στη ταυτοποίηση των ποικιλιών.

Το ωΐδιο προκαλείται από το παθογόνο *Erysiphe graminis* (*Blumeria graminis*) DC. f. Sp. *tritici*, (Huang κ.α. 2002). Εικοσιπέντε διαφορετικοί γονιδιακοί τόποι, σχετικοί με την ανθεκτικότητα στο ωΐδιο (*Pm1-Pm25*) έχουν εντοπιστεί σε συγκεκριμένα χρωματοσώματα στον σίτο (Szunics και Szunics 1999; McIntosh κ.α. 1998; Huang κ.α. 2002). Πιο συγκεκριμένα, γονίδια ανθεκτικότητας έχουν ανιχνευθεί στους γονιδιακούς τόπους *Pm1* (Hsam κ.α. 1998), *Pm3* (Zeller κ.α. 1993), *Pm4* (Baier κ.α. 1973; The κ.α. 1979) και *Pm8* (Hsam και Zeller 1997). Από τα παραπάνω γονίδια ανθεκτικότητας στο ωΐδιο, το γονίδιο ανθεκτικότητας *Pm5*, που εντοπίστηκε στο μακρύ βραχίονα του 7B χρωματοσώματος (Law και Wolfe, 1966), που προέρχεται από τη Yaroslav Emmer (*T.dicoccum* Schübl) και που αρχικά μετατοπίστηκε στην ποικιλία σίτου Hope, είναι το μοναδικό γονίδιο στο *T.aestivum* που παρουσιάζει υπολειπόμενη μορφή κληρονομικότητας (Hsam κ.α. 2001).

Μελέτη, που έχει γίνει με ποικιλίες που καλλιεργούνται στη Γαλλία (Zeller κ.α. 1993), έδειξε πως οι συνήθεις εμπορικές ποικιλίες έχουν τα γονίδια ανθεκτικότητας: *Pm2*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6* και *Pm8*. Βρέθηκε όμως επίσης ότι, οι μισές από τις ποικιλίες που εξετάστηκαν δεν παρουσίασαν καμιά μορφή έκφρασης μείζονος γονιδίου ανθεκτικότητας. Το ωΐδιο εμφανίζεται συνήθως σε δροσερό και μεσογειακό κλίμα, τα τελευταία όμως χρόνια εμφανίζεται και σε περιοχές με ξηρό και ζεστό κλίμα. Η πιο αποδοτική προσέγγιση για

την αντιμετώπιση της ασθένειας είναι η χρήση γονιδίων ανθεκτικότητας. Στα παραπάνω πλαίσια εντάσσεται και η παρούσα ερευνητική εργασία, με στόχο την ταυτοποίηση και το διαχωρισμό ποικιλιών σίτου που καλλιεργούνται στην Ελλάδα, καθώς και την ανίχνευση γονιδίων ανθεκτικότητας στο ωΐδιο.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Χρησιμοποιήθηκαν 16 ποικιλίες, εκ των οποίων 9 μαλακού *Triticum aestivum* L.) και 7 σκληρού σίτου (*Triticum durum* L.). Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν οι ποικιλίες C.S. (Chinese Spring) και Bussard. Οι ποικιλίες μαλακού σίτου είναι οι: Τζενερόζο "Ε", Αχελώος, Βεργίνα, Δίο, Ευρυδική, Λούρος, Γεκόρα "Ε", Ορφέας και Αίγες. Οι ποικιλίες σκληρού σίτου είναι οι: Σκήτη, Σέλας, Σίφνος, Άθως, Μεξικάλι 81, Καλλιθέα και Σκύρος.

Για την ταυτοποίηση των ποικιλιών χρησιμοποιήθηκε η ηλεκτροφόρηση των γλιαδινών σε πηκτή πολυακρυλαμίδης, σύμφωνα με το πρωτόκολλο A-PAGE (Bushuk και Zillman, 1978; Jackson κ.α. 1996).

Για το χαρακτηρισμό της ανθεκτικότητας, χρησιμοποιήθηκαν δύο Κινέζικες σειρές σίτου, η Jieyan 94-1-1 και η Siyan 94-1-2 (Huang κ.α. 2002) με γνωστή ανθεκτικότητα στις 11 διαφορετικές απομονώσεις του *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* (Igt), που έχουν ανεβρεθεί σε διαφορετικές περιοχές της Ευρώπης και διατηρούνται στο Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Weihenstephan Germany αριθμημένες κατά την ταξινόμηση Weihenstephan.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης A-PAGE (Πίνακας 1), στις υπό μελέτη ποικιλίες, ανιχνεύονται στον γλιαδινικό τόπο *Gli-A1*, ένας εκ των αλληλομόρφων *a, b, f, l* ή *m*, στον *Gli-B1*, ένας εκ των *a, b, c, g, h, k* ή *l* και στον *Gli-D1*, ένας αλληλόμορφος εκ των *a, b* ή *d*.

Πίνακας 1. Αλληλόμορφοι των χρωματοσωμάτων A1, B1, και D1 που ελέγχουν τις γλιαδινικές υπομονάδες

Όνομα ποικιλίας	<i>Gli-A1</i>	<i>Gli-B1</i>	<i>Gli-D1</i>
Τζενερόζο "Ε"	<i>l</i>	<i>g</i>	<i>a</i>
Αχελώος	<i>f</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
Βεργίνα	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
Δίο	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>d</i>
Ευρυδική	<i>f</i>	<i>c</i>	<i>a</i>
Λούρος	<i>a</i>	<i>c</i>	<i>a</i>
Γεκόρα "Ε"	<i>m</i>	<i>h</i>	<i>a</i>
Ορφέας	<i>a</i>	<i>l</i>	<i>a</i>
Αίγες	<i>l</i>	<i>k</i>	<i>a</i>
Σκήτη	<i>m</i>	<i>b</i>	-
Σέλας	<i>m</i>	<i>b</i>	-
Σίφνος	<i>m</i>	<i>b</i>	-
Άθως	<i>f</i>	<i>b</i>	-
Μεξικάλι 81	<i>b</i>	<i>b</i>	-
Καλλιθέα	<i>b</i>	<i>b</i>	-
Σκύρος	<i>m</i>	<i>k</i>	-
C.S.	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>a</i>
Bussard	<i>f</i>	<i>c</i>	<i>b</i>

Στον Πίνακα 2, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της δοκιμασίας για ανθεκτικότητα στις έντεκα απομονώσεις του ωΐδιου.

Πίνακας 2. Δοκιμασία ανθεκτικότητας 8 ποικιλιών μαλακού σίτου σε απομονώσεις του ωιδίου

Ποικιλίες	Απομονώσεις του <i>Erysiphe graminis</i> f.sp. <i>tritici</i>											Αντίδραση ποικιλιών
	W2	W5	W6	W9	W10	W12	W13	W14	W15	W16	W17	
Ευρυδίκη	10	8	8	7	7	10	9	8,5	9,5	10	10	E
Βεργίνα	8	7	7,5	6	7,5	8,5	10	7,5	9	9	8	E
Αχελώος	6	0	6,5	7	0	6,5	7,5	0	7	7	6,5	Pm5
Τζενερόζο "Ε"	2,5	1,5	4,5	0,5	0,5	5	1,5	2	0	2	8	?
Αίγες	8	3,5	7	6,5	6	7	9,5	9	10	7,5	8,5	E
Ορφέας	7,5	3	6	6	6	7	8,5	10	10	9	8	E
Γεκόρα "Ε"	7	1,5	6,5	7,5	6,5	7	8	8	7,5	8	8,5	?
Λούρος	2,5	0	3	2	0	9	2,5	0	5,5	9	10	Pm5

Κλίμακα βαθμολογίας: 0-10 (ανθεκτικά-ευαίσθητα). Τα αποτελέσματα αποδίδονται ως διάμεσοι 4 επαναλήψεων. Pm5: Έκφραση του γονιδίου ανθεκτικότητας. E: Ευαίσθησία. ?: Μη ευκρινές.

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο πολυμορφισμός των γλιαδινών (Πίνακας 1), παρέχει τη δυνατότητα ταυτοποίησης και διαχωρισμού των ποικιλιών. Στην περίπτωση που οι ελεγχόμενες από το 1<sup>ο</sup> χρωματόσωμα γλιαδίνες δεν επαρκούν για το διαχωρισμό των ποικιλιών, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν και οι γλιαδίνες που ελέγχονται από αλληλομόρφους του 6<sup>ου</sup> χρωματοσώματος ή ακόμη και οι γλουδερίνες. Χρησιμοποιώντας την παρουσία-απουσία των αλληλομόρφων του Πίνακα 1 και τους αλληλομόρφους που ελέγχουν τις γλουδερίνες είναι δυνατό να διαχωριστούν οι ποικιλίες σε μία ομάδα μαλακών ποικιλιών που περιλαμβάνει τις ποικιλίες Τζενερόζο "Ε", Αχελώο, Βεργίνα, Δίο, Ευρυδίκη, Λούρο, Γεκόρα "Ε", Ορφέα και Αίγες καθώς και τη μαλακή ποικιλία-μάρτυρα Chinese Spring. Σε μία δεύτερη ομάδα διαχωρίζονται οι σκληρές ποικιλίες Σκήτη, Σέλας, Σίφνος, Άθως, Μεξικάλι 81, Καλλιθέα και Σκύρος και η ποικιλία μάρτυρας Bussard. Περαιτέρω διαχωρισμός των ποικιλιών μέσα στις ομάδες θα πρέπει να μελετηθεί περισσότερο και σε συνάρτηση με τις γενεαλογικές τους σχέσεις.

Τα αποτελέσματα από τα πειράματα ελέγχου για ανθεκτικότητα στο ωίδιο (Πίνακας 2), δείχνουν ότι στις ποικιλίες Αχελώος και Λούρος εκφράζεται ένα γονίδιο που βρίσκεται στο γονιδιακό-τόπο Pm5, που σχετίζεται με την ανθεκτικότητα στο ωίδιο. Οι ως άνω ποικιλίες βρέθηκαν ανθεκτικές στις απομονώσεις W5, W10 και W14, που αντιμετωπίζονται από το γονίδιο Pm5, ενώ δεν διαθέτουν ανθεκτικότητα στις υπόλοιπες απομονώσεις του ωιδίου αυτού, γεγονός που μπορεί να χαρακτηριστεί ως έκφραση κατακόρυφης ανθεκτικότητας. Για τις ποικιλίες Γεκόρα "Ε" και Τζενερόζο "Ε", η εικόνα δεν είναι πολύ ευκρινής. Η Τζενερόζο "Ε" παρουσιάζει μέτρια ανθεκτικότητα στις απομονώσεις W6, W12 και W17 και αρκετά υψηλή στις υπόλοιπες οκτώ απομονώσεις. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να χαρακτηριστεί και ως έκφραση μέτριας οριζόντιας ανθεκτικότητας ως προς τις έντεκα απομονώσεις που έχουν χρησιμοποιηθεί για τα πειράματα. Η εικόνα της Γεκόρα "Ε" είναι λιγότερο ευκρινής, παρουσιάζοντας υψηλό επίπεδο ανθεκτικότητας μόνο ως προς την απομόνωση W5, δεν φαίνεται όμως ανθεκτική κατά των απομονώσεων W10 και W15. Σε κάθε περίπτωση οι δύο αυτές ποικιλίες καθώς και οι υπόλοιπες ποικιλίες που έχουν μελετηθεί είναι αναγκαίο να διερευνηθούν περισσότερο.

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι:

1. Με ηλεκτροφόρηση των γλιαδινών έγινε ταυτοποίηση και διαχωρισμός μερικών ποικιλιών μαλακού και σκληρού σίτου που καλλιεργούνται στην Ελλάδα.
2. Από τη δοκιμασία ανθεκτικότητας στο ωίδιο, φαίνεται ότι οι ποικιλίες Αχελώος και Λούρος διαθέτουν τον γενετικό τόπο Pm5, που είναι υπεύθυνος για πιθανή κατακόρυφη ανθεκτικότητα στο ωίδιο, ενώ η Τζενερόζο "Ε" παρουσιάζεται μέτρια οριζόντια ανθεκτική. Για τις υπόλοιπες ποικιλίες που μελετήθηκαν χρειάζεται περισσότερη έρευνα.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Baier, A.C., Zeller, F.J., Oppitz, K., Fischbeck, G., 1973. Monosomen-analyse der Mehltau- und Schwarzrostresistenz des Sommerweizens 'Solo.' Z. Pflanzenzuecht, 70: 177-194
- Bushuk W. and Zillman R.R., 1978. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. 1. Apparatus, method and nomenclature. Canad. J. Plant Sci., 58: 505-515
- Hsam, S.L.K., Zeller, F.J., 1997. Evidence of allelism between genes *Pm8* and *Pm17* and chromosomal location of powdery mildew and leaf rust resistance genes in the common wheat cultivar Amigo. Plant Breed, 116: 110-122
- Hsam, S.L.K., Huang, X.Q., Ernst, F., Hartl, L., Zeller, F.J., 1998. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) 5. Alleles at the *Pm1* locus. Theor Appl Genet 96: 1129-1134
- Hsam, S.L.K., Huang, X.Q., Zeller, F.J., 2001. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.) 6. Alleles at the *Pm5* locus. Theor Appl Genet 102: 127-133
- Huang, X.Q., Hsam, S.L.K. and Zeler, F.J., 2002. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in Chinese wheat lines Jieyan 94-1-1 and Siyan 94-1-2. Hereditas 136: 212-218
- Jackson E.A., Holt, L.M. and P.J. Payne, 1983. Characterisation of high molecular weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localisation of their controlling genes. Theor Appl Genet 66: 29-37
- Jackson, E.A., Morel, M.-H., Sontag-Strohm, T., Branlard, G., Metakovsky, E.V. and Redaelli R., 1996. Proposal for combining the classification systems of *Gli-1* and *Glu-3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) J. Genet. & Breed., 50: 321-336
- Law C.N. and Wolfe M.S., 1966. Location for genetic factors for resistance and ear emergence time on chromosome 7B of wheat. Can. J. Genet. Cytol. 8: 462
- McIntosh, R.A., Hart, G.E., Devos, K.M., Gale, M.D., Rogers, W.J., 1998. Catalogue of gene symbols for wheat. In: Slinkard AE (ed) Proc 9<sup>th</sup> Int Wheat Genet Symp (vol. 5) University Extension Press, Saskatchewan, Saskatoon, Canada, pp 1-30
- Metakovsky, E.V., 1991. Gliadin allele identification in common wheat II. Catalogue of gliadin alleles in common wheat. J. Genet. & Breed., -47045: 325-344
- Payne, P.I., Holt, L.M., Lawrence, G.J. and Law, C.N., 1982. The genetics of gliadin and glutenin, the major storage proteins of the wheat endosperm. Qual. Plant Foods Hum. Nutr., 31: 229-241
- Payne, P.I. and Lawrence G.J., 1983. Catalogue of alleles for the complex loci, *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* which coded for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid. Cereal Research Communications, 11: 29-35
- Payne, P.I., Jackson, E.A., Holt, L.M. and C.N. Law, 1984. Genetic linkage between endosperm storage protein genes on each of the short arms of chromosomes 1A and 1B in wheat. Theor Appl Genet 67:235-243
- Szunics, L., Szunics, L., 1999. Wheat powdery mildew resistance genes and their application in practice. Acta Agronomica Hungarica 47: 69-89
- The T.T., McIntosh, R.A., Bennet, F.G.A., 1979. Cytogenetical studies in wheat. IX. Monosomic analyses, telocentric mapping and linkage relationships of genes, *Sr21*, *Pm4* and *Mle*. Aus J Biol Sci 32: 115-125
- Wrigley C.W. and Shepherd K.W., 1973. Electrofocussing of wheat grains from wheat genotypes. Ann NY Acad Sci 209: 154-162
- Zeller, F.J., Lutz, J. and Stephan, U., 1993. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L.) 1. *Mlk* and other alleles at the *Pm3* locus. Euphytica, 68: 223-229

## ELECTROPHORETIC IDENTIFICATION OF WHEAT VARIETIES UNDER CULTIVATION IN GREECE AND TRACKING OF POWDERY MILDEW RESISTANT GENES

Sardelis<sup>1</sup> S., Hsam<sup>2</sup> L.K.S. and Y Symillides<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Agricultural University of Athens, Laboratory of Plant Breeding and Agricultural Experimentation

Iera Odos 75, Athens 11855, Greece, E-mail:symillides@aua.gr

<sup>2</sup>Technical University of Munich, Division of Plant Breeding, Large Point 51, D-85350 Freising-Weihenstephan, Germany. E-mail: hsam@wzw.tum.de

### SUMMARY

Nine common wheat varieties and seven durum wheat varieties have been identified by A-PAGE gliadins electrophoresis. For each variety under investigation, the following corresponding alleles have been

attributed to each locus: Out of five different alleles *a*, *b*, *f*, *l* or *m*, one has been identified at *Gli-A1* locus, one out of seven different alleles: *a*, *b*, *c*, *g*, *h*, *k*, and *l*, has been identified at *Gli-B1* locus and one out of three different alleles: *a*, *b* and *d*, has been identified at the *Gli-D1* locus. Eight common wheat varieties, were tested for resistance to powdery mildew by applying eleven different isolations of *Erysiphe graminis* (*Blumeria graminis*) DC. f. sp. *tritici*. Euridiki, Vergina, Aiges and Orpheus proved to be sensitive to these isolations. Expression of *Pm5* gene in Louros and Acheloos suggests vertical resistance to powdery mildew. On the contrary, Generoso "E" and Yecora "E" do not present a clear picture.

**Key words:** Gliadins, wheat, downy mildew

## ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΞΙ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΚΡΙΘΑΡΙΟΥ (*Hordeum vulgare* L.)

Γρεβενιώτης Β.<sup>1</sup>, Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>1</sup> και Κ. Μπλαδενόπουλος<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των φυτών, Α.Π.Θ., 541 24 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Σιτηρών Θεσσαλονίκης, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., 570 01 Θέρμη-Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η εργασία έγινε με σκοπό την αξιολόγηση του δυναμικού παραγωγής παλαιών και νέων ποικιλιών, κριθαριού σε συνθήκες έλλειψης ανταγωνισμού. Τα γενετικά συστατικά στα οποία αναλύθηκε το παραγωγικό δυναμικό των γενοτύπων ήταν: η απόδοση ανά φυτό, η ανθεκτικότητα στις βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις και η ικανότητα αξιοποίησης εισροών. Το φθινόπωρο του 2002 εγκαταστάθηκε στο Αγρόκτημα του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης πειραματικός αγρός, που περιλάμβανε τις ποικιλίες: ΚΩΣ, ΝΙΚΗ, ΘΕΡΜΗ (παλαιές ποικιλίες) και ΔΗΜΗΤΡΑ, ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ, ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ (νέες ποικιλίες). Παλαιές και νέες ποικιλίες αποτελούν δημιουργίες του ΕΘΙΑΓΕ-Ινστιτούτου Σιτηρών των τελευταίων 18 ετών. Επιλέχθηκε το κυψελωτό σχέδιο R-7 με τουλάχιστον 36 επαναλήψεις για την κάθε ποικιλία με σκοπό να εξασφαλισθούν ομοιόμορφες άριστες συνθήκες σύγκρισης μεταξύ τους. Οι ποικιλίες αξιολογήθηκαν στα παρακάτω γνωρίσματα: ύψος φυτού στο στάδιο φουσκώματος της ταξιανθίας και κατά την ωρίμανση, βλαστική περίοδος, αριθμός αδελφιών, μήκος στάχρας, αριθμός κόκκων ανά στάχυ, απόδοση σε καρπό ανά φυτό, περιεκτικότητα του καρπού σε πρωτεΐνη % του καρπού, εκατολιτρικό βάρος καρπού, βάρος 1000 κόκκων και ποσοστό % κόκκων με διάμετρο  $\geq 2,5$  mm. Οι παλαιές ποικιλίες υπολείπονταν σημαντικά των νέων στην απόδοση σε καρπό κατά 26,2%, ( $t=3,32$ ,  $p<0.05$ ). Ως προς τα τρία χαρακτηριστικά παραγωγικότητας συνολικά οι δύο νέες ποικιλίες ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ και ΔΗΜΗΤΡΑ φάνηκε να υπερέχουν των υπολοίπων.

**Λέξεις κλειδιά:** Κριθάρι, δυναμικό παραγωγής, αγρονομικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διαχρονική μελέτη της παραγωγικότητας κάθε φυτικού είδους αποτελεί αντικείμενο ερμηνείας των παραγόντων που συμβάλουν σ' αυτήν. Στις Η.Π.Α. αύξηση της παραγωγικότητας του σιταριού κατά 32% από το 1958 μέχρι το 1980 (Heid, 1980) αποδόθηκε στη συμβολή της βελτίωσης στην απόδοση (17%) και στη βελτίωση των τεχνικών καλλιέργειας (15%). Σύμφωνα με τον Jensen (1978) όταν σημειώνεται μία αλλαγή, όπως συνέβη με τις ημιάνες ποικιλίες, μελλοντικά δεν μπορεί να επαναληφθεί. Το ίδιο επεσήμανε και ο Reitz (1974) με την δημιουργία ποικιλιών ειδικής προσαρμοστικότητας. Άρα συνεπάγεται ότι σημαντικοί σταθμοί στη βελτίωση προσφέρουν αύξηση στην παραγωγικότητα αλλά δεν μπορούν να επαναληφθούν. Έτσι η πρόοδος στην απόδοση συνεχίζεται σε χαμηλούς ρυθμούς (Jensen, 1978). Τα τελευταία χρόνια σημαντική αύξηση στην απόδοση επιτυγχάνεται με ενσωμάτωση της ανθεκτικότητας (Schmidt, 1984) σε βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες. Συνοψίζοντας τη συμβολή της βελτίωσης στην παραγωγικότητα ο Evans (1984) αναφέρει τους εξής τρεις κύριους παράγοντες που συμβάλουν σ' αυτήν: α) αύξηση της προσαρμοστικότητας, β) αύξηση της ανθεκτικότητας στα έντομα και τα παθογόνα και γ) πλαστικότητα στην αξιοποίηση των εισροών και στις αλλαγές της καλλιεργητικής τεχνικής.

Ανάλυση του δυναμικού παραγωγής επιχειρήθηκε από τις Fasoula και Fasoula (2002), με ταυτόχρονη πρόταση για τρία πειραματικά κριτήρια αξιολόγησης γενοτύπου/ποικιλιών. Σκοπός της εργασίας ήταν η σύγκριση παλαιών και νέων ποικιλιών κριθαριού μετά από ανάλυση του δυναμικού παραγωγής τους στα τρία επί μέρους συστατικά.

### ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στο αγρόκτημα του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης εγκαταστάθηκε πειραματικός αγρός που περιλάμβανε ποικιλίες κριθαριού δημιουργίες του Ινστιτούτου Σιτηρών Θεσσαλονίκης που δίνοντα στον πίνακα 1, οι οποίες δημιουργήθηκαν με την κλασσική γενεαλογική μέθοδο σε συνθήκες οργανικής βελτίωσης. Η προετοιμασία του χωραφιού έγινε με τη συνήθη για την εποχή τεχνική της καλλιέργειας που περιλάμβανε βασική λίπανση 40 Kg/στρ. του τύπου 20-10-0 και χρησιμοποιήθηκε προφυτρωτικό εντομοκτόνο. Μετά την

σπορά ουδεμία επέμβαση (προσθήκη λιπάσματος ή εντομοκτονία ή ζιζανιοκτονία) έγινε μέχρι τη συγκομιδή του πειράματος. Στις 22/11/2002, έγινε σπορά σε επαναλαμβανόμενο κυψελωτό σχέδιο R - 7. Το εν λόγω σχέδιο επιλέχθηκε με σκοπό να εξασφαλισθούν ομοιόμορφες άριστες συνθήκες σύγκρισης μεταξύ των ποικιλιών (Fasoulas και Fasoula 1995). Έτσι κάθε ποικιλία συγκρίνεται μόνο με τις ισαπέχουσες που την περιβάλλουν με αποτέλεσμα να ελέγχεται η ετερογένεια του εδάφους. Οι αποστάσεις των φυτών επάνω στην γραμμή ήταν 1 m. Οι αποστάσεις μεταξύ των γραμμών ήταν 87 cm. Σπάρθηκαν οκτώ γραμμές με 35 φυτά η κάθε γραμμή και σε κάθε θέση σπάρθηκαν 3-4 σπόροι. Στις 9 και 21 Ιανουαρίου 2003 έγινε αραίωμα των φυτών με το χέρι ώστε να μείνει τελικά ένα φυτό ανά θέση, το φυτό που φαινομενικά ήταν καλύτερο. Ακολούθησε μέτρηση των κενών ώστε να υπολογιστεί το ποσοστό επιτυχίας του φυτρώματος.

Τα χαρακτηριστικά που εξετάστηκαν ήταν: ύψος Μαρτίου (στο φούσκωμα της ταξιανθίας, 10 στάδιο κατά Feecks) και ύψος ωρίμανσης του φυτού σε cm, βλαστική περίοδος (ημερομηνία φυτρώματος έως ημερομηνία ξεσταχύασματος) σε ημέρες, αριθμός αδελφιών, μήκος στάχως σε cm, αριθμός κόκκων ανά στάχυ και απόδοση σε καρπό σε g. Η σύγκριση έγινε με το t κριτήριο (Φασούλας 1979). Επίσης προσδιορίστηκαν στο Χημείο του Ινστιτούτου Σιτηρών τα γνωρίσματα σε ένα δείγμα σπόρων για κάθε ποικιλία: περιεκτικότητα κόκκων σε πρωτεΐνη (%), εκατολιτρικό βάρος βάρος 1000 κόκκων και ποσοστό κόκκων με διάμετρο  $\geq 2,5$  mm.

**Πίνακας 1.** Γενεαλογική καταγωγή των ποικιλιών κριθαριού που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα.

Όνομα	Γενεαλογικός Αριθμός	Διασταύρωση	Έτος εγγραφής στον Ε.Κ.
<b>ΚΩΣ</b>	Γ - 015785	(Carina x no 7372)	1989
<b>ΝΙΚΗ</b>	Γ - 015630	(Georgie x Rika)	1988
<b>ΘΕΡΜΗ</b>	Γ - 07833	Επιλογή από Clipper	1985
<b>ΔΗΜΗΤΡΑ</b>	Γ - 019678	(Nicola x 7200)	2000
<b>ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ</b>	Γ - 019315	(Triumpf x 7200)	2000
<b>ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ</b>	Γ - 019310	(Κρόνος x 7200)	2003

Η κυψελωτή μέθοδος που εφαρμόστηκε αναπτύχθηκε από τον Fasoulas (1981). Βασίζεται στις αρχές του γειτονικού μάρτυρα, του κινητού μέσου όρου και των ομάδων ομοιογένειας, που αναφέρθηκαν παραπάνω. Η μέθοδος εξασφαλίζει ομοιόμορφες συνθήκες σύγκρισης για όλα τα φυτά. Ως βασική μονάδα ομοιομορφίας έχει το εξάγωνο. Έχει τέσσερα βασικά χαρακτηριστικά. 1) Κάθε φυτό είναι μία πειραματική μονάδα. 2) Κάθε φυτό, με εξαίρεση τα περιθώρια, βρίσκεται στο κέντρο ενός κανονικού εξαγώνου και ισαπέχει από τα έξι φυτά, που βρίσκονται στις κορυφές του. 3) Εφαρμόζονται μεγάλες αποστάσεις μεταξύ των φυτών ώστε να μην υπάρχει καμιά μορφή ανταγωνισμού. 4) Χρησιμοποιεί κινητές επαναλήψεις.

#### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στα χαρακτηριστικά ύψος Μαρτίου και ύψος ωρίμανσης οι ποικιλίες ΔΗΜΗΤΡΑ, ΘΕΡΜΗ και ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ διαφέρουν σημαντικά (υψηλότερες) από τις υπόλοιπες (πιν.2). Σύμφωνα με τη βλαστική περίοδο η ποικιλία ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ήταν η οψιμότερη ποικιλία και η ΘΕΡΜΗ η πρωιμότερη, διαφέροντας και οι δύο σημαντικά από τις υπόλοιπες (Πιν.2). Για το χαρακτηριστικό αριθμός αδελφιών η ποικιλία ΚΩΣ παρουσίασε την υψηλότερη τιμή διαφέροντας σημαντικά από τις υπόλοιπες ενώ οι ποικιλίες ΔΗΜΗΤΡΑ, ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ και ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, δηλαδή οι νέες ποικιλίες, διέφεραν σημαντικά από την ΝΙΚΗ και ΘΕΡΜΗ με μεγαλύτερο αριθμό αδελφιών (πιν.2). Η ποικιλία ΚΩΣ είχε μεγαλύτερο αριθμό κόκκων ανά στάχυ από τις υπόλοιπες ποικιλίες. Οι ποικιλίες ΚΩΣ και ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ για το χαρακτηριστικό μήκος στάχως έδειξαν να διαθέτουν στάχυ με το μεγαλύτερο μέσο μήκος (13 cm.) διαφέροντας από τις υπόλοιπες. Οι ποικιλίες ΔΗΜΗΤΡΑ, ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ και ΘΕΡΜΗ ήταν οι πλέον υψηλοαποδοτικές (Πιν.2) και οι παλαιές ποικιλίες έδειξαν να υπολείπονταν των νέων κατά 26,2%, σημαντικά ( $t=3,32$ ,  $P \leq 0,05$ ).

**Πίνακας 2.** Μέσοι όροι των ποικιλιών στο ύψος Μαρτίου, ύψος ωρίμανσης, βλαστική περίοδο, αριθμό αδελφιών, αριθμό κόκκων ανά στάχυ, μήκος στάχους και απόδοση σε καρπό.

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	Ύψος Μαρτίου (cm)	Ύψος Ωρίμανσης (cm)	Βλαστική περίοδος (Ημέρες)	Αριθμός αδελφιών	Αριθμός κόκκων/στάχυ	Μήκος στάχους (cm)	Απόδοση σε καρπό (g/φυτό)
ΚΩΣ	14 b	76 b	155 b	41 a	39 a	13 a	41 b
ΝΙΚΗ	13 c	72 b	155 b	28 c	29 b	11 b	23 c
ΘΕΡΜΗ	18 a	95 a	152 c	32 c	30 b	9 b	52 a
ΔΗΜΗΤΡΑ	18 a	92 a	155 b	39 b	31b	10 b	59 a
ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ	18 a	96 a	156 b	38 b	34 b	13 a	56 a
ΚΩΝ/ΝΟΣ	12 c	78 b	162 a	36 b	30 b	11 b	42 b

Ποικιλίες με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους για επίπεδο σημαντικότητας  $P \leq 0,05$

**Πίνακας 3.** Μέσοι όροι των έξι ποικιλιών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά

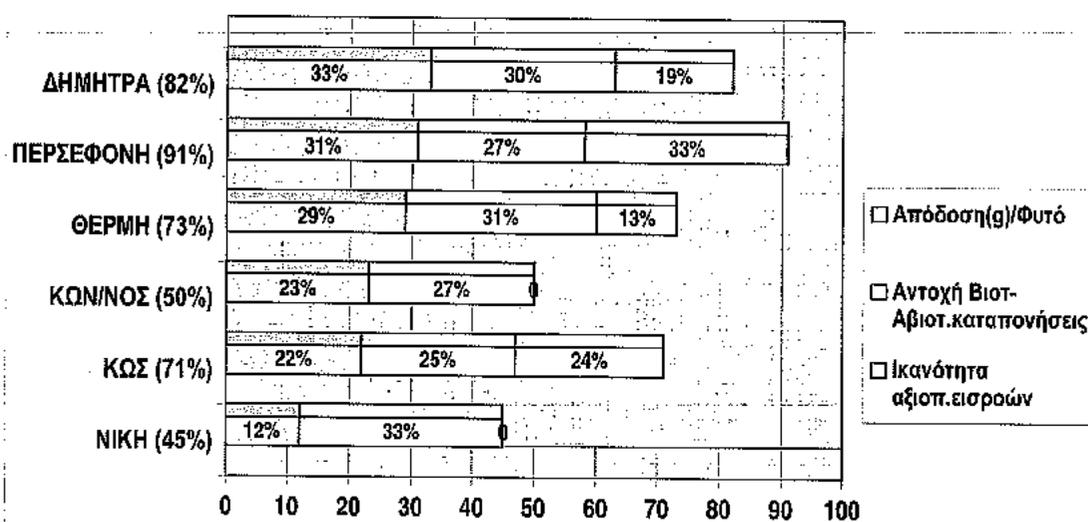
ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	Πρωτεΐνη κόκκου (%)	Εκατολιτρικό βάρος (kg/100 lt)	Βάρος 1000 κόκκων (g)	•έγεθος •••••••• • 2,5 mm
ΚΩΣ	15,43	64,75	41,1	65,2
ΝΙΚΗ	14,09	63,5	40,9	67,8
ΘΕΡΜΗ	14,83	65,4	42,2	58,5
ΔΗΜΗΤΡΑ	13,64	63,5	45,3	66,5
ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ	12,88	64,3	37,6	58,3
ΚΩΝ/ΝΟΣ	15,37	63,7	41,4	55,8

Στον πίνακα 3 εμφανίζονται οι μέσοι όροι των έξι ποικιλιών στα ποιοτικά χαρακτηριστικά παρουσιάζοντας μία ποικιλομορφία στις τιμές του ποσοστού της πρωτεΐνης και του πάχους του κόκκου. Στο εκατολιτρικό και το βάρος 1000 κόκκων δεν παρουσίασαν ιδιαίτερες διαφορές, ενώ οι τιμές τους ήταν ικανοποιητικές.

Χρησιμοποιώντας τις αποδόσεις των ποικιλιών με βάση το μεμονωμένο φυτό, την τυπική απόκλιση που έδειξαν ως προς το χαρακτηριστικό αυτό και σημειώνοντας τον αριθμό των επλεγμένων φυτών για κάθε ποικιλία, διαμορφώθηκε ο πίνακας 4 με τις τιμές του δυναμικού παραγωγής και των συστατικών του για την κάθε ποικιλία. (Fasoula και Fasoula, 2002). κατατάσσοντας έτσι τις ποικιλίες με βάση το δυναμικό παραγωγής. Αν θεωρήσουμε τη συμβολή του κάθε συστατικού ίση προς την συμβολή του άλλου και διανέμουμε το συνολικό δυναμικό παραγωγής στα τρία του συστατικά, τότε θεωρητικά η μέγιστη τιμή του κάθε συστατικού ισοδυναμεί με 33/100, εάν ως 100 συμβολιστεί το δυναμικό παραγωγής. Έτσι μέσα σε κάθε παρένθεση βρίσκονται τα εκατοστά στα οποία αντιστοιχεί το κάθε συστατικό της κάθε ποικιλίας.

Πίνακας 4. Τα συστατικά του δυναμικού παραγωγής στις έξι ποικιλίες

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	Απόδοση g/φυτό (X)	Αντοχή στις βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις (X/s)	Ικανότητα αξιοποίησης των εισροών (X ΕΠ - X/s)
ΔΗΜΗΤΡΑ	59 (33)	2,6 (30)	0,6 (19)
ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ	56 (31)	2,3 (27)	1,0 (33)
ΘΕΡΜΗ	52 (29)	2,7 (31)	0,4 (13)
ΚΩΝ/ΝΟΣ	42 (23)	2,3 (27)	0,0 (0)
ΚΩΣ	41 (22)	2,2 (25)	0,7 (24)
ΝΙΚΗ	23 (12)	2,8 (33)	0,0 (0)



Σχήμα 1. Συγκριτική αθροιστική απεικόνιση των συστατικών του δυναμικού παραγωγής κάθε ποικιλίας

Συγκριτική αθροιστική απεικόνιση των συστατικών γίνεται στο Σχήμα I, όπου δύο από τις νέες ποικιλίες, η ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ και η ΔΗΜΗΤΡΑ φαίνεται ότι έχουν το μεγαλύτερο δυναμικό παραγωγής σε σχέση με τις υπόλοιπες. Δεδομένου ότι δημιουργήθηκαν όλες με την κλασσική γενεαλογική μέθοδο οι διαφορές πιθανόν να οφείλονται στο ότι οι νέες ποικιλίες δημιουργήθηκαν κάτω από συνθήκες οργανικής βελτίωσης που εφαρμόστηκαν στο Ινστιτούτο Σιτηρών. Στην έννοια της οργανικής βελτίωσης εμπεριέχεται η ενσωμάτωση της προσαρμοστικότητας σε μία διαδικασία επιλογής χωρίς υψηλές εισροές και χρήση αγροχημικών, ώστε η προσέγγιση του γενοτύπου να γίνεται σε μία αγροοικολογική βάση.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι νέες ποικιλίες έδωσαν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη απόδοση σε καρπό γεγονός που οφείλεται κυρίως από την πιο ισορροπημένη αξιοποίηση των συστατικών του δυναμικού παραγωγής των. Στα ποιοτικά χαρακτηριστικά εμφανίστηκαν κάποιες ποικιλιακές γενικά διαφορές, όμως με ικανοποιητικές τιμές.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Evans, L.T., 1980. The natural history of crop yield. *American Scientist*. 68: 388-397.
- Fasoula, V.A. and D. A., Fasoula 2002. Principles underlying genetic improvement for high and stable crop yield potential. *Field crops*. 75: 191-209.
- Fasoulas, A.C. and Fasoula, V.A., 1995. Honeycomb Selection Designs. *In: Plant Breeding Reviews*. Volume 13. (Ed.), Jules Janick, pp. 87-138.
- Fasoulas, A. 1981. Principles and Methods of Plant Breeding. Pub. No 11. Dept. of Genetics and Plant Breeding. Aristotelian University of Thessaloniki. Thessaloniki.
- Heid, W.G., Jr. 1980. U.S. Wheat industry, USDA- ESCS, Agric. Econ. Report no. 432, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Jensen, N.F. 1978. Limits to growth in world food production. *Science* (Washington, D.C) 201: 317-320.
- Reitz, L.P. 1974. Breeding for more efficient water use – is it real or a mirage? *Agric. Meteorol.* 14: 3-11.
- Schmidt, J.N. 1984. Genetic Contributions to yield gains in wheat. pp. 89-101. *In: Genetic Contributions to yield gains of five major crop plants*. CSSA Special Publicatio No 7, Madison, U.S.A. Φασούλας, Α.Κ., 1979. Στοιχεία πειραματικής στατιστικής. Θεσσαλονίκη.

### EVALUATION OF THE YIELD POTENTIAL OF SIX BARLEY CULTIVARS (*Hordeum vulgare* L.)

Greveniotis. B<sup>1</sup>, M. Koutsika- Sotiriou<sup>1</sup> and K. Bladenopoulos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Genetics and Plant Breeding. AUTH 541 24 Thessaloniki

<sup>2</sup>Institute of Cereal Crops of Thessaloniki, 570 01 Thermi-Thessaloniki

#### ABSTRACT

The main objective of this study was the evaluation of the crop yield potential of six barley cultivars under no competition conditions. Crop yield potential was analyzed into three particular components: yield potential per plant, tolerance to biotic and abiotic stresses, and responsiveness to inputs. The cultivars used were KOS, NIKI, THERMI, (old varieties), and DIMITRA, PERSEPHONI and KONSTANTINOS (new varieties), developed by the Cereal Institute of National Agricultural Research Foundation, Greece during the last 15-18 years. Experimentation was conducted at the Aristotle University farm of Thessaloniki, Greece, during the 2002-03 growing season. The honeycomb R- 7 experimental design was used including at least 36 replications per cultivar, in order to ensure uniform and ideal for comparison conditions. The cultivars were evaluated for the following traits: plant height in March (cm), final plant height (cm), number of tillers, spike length (cm), number of kernels per spike, grain yield (g), kernel protein (%), hectolitre weight (kg/100 lt), 1000 kernels weight (g), percentage of grains with diameter greater than 2.5 mm. As far as the grain yield is concerned, it was found that the old varieties produce 26.2 % less compared to the new ones with significant differences ( $t = 3.32$ ,  $P < 0.05$ ). Considering the three yield components as a whole, we found that the new cultivars PERSEPHONI and DIMITRA seemed to have greater crop yield potential rather than the rest six cultivars.

*Key words:* Yield potential, barley, agronomic and quality characteristics.

## ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ P<sub>v</sub>LHY ΠΟΥ ΣΥΜΜΕΤΕΧΕΙ ΣΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΟΥ ΦΩΤΟΠΕΡΙΟΔΙΣΜΟΥ ΣΤΟ ΦΥΤΟ *Phaseolus vulgaris*

Γιακουντής Α.<sup>1,2</sup>, Μαυρομάτης Α.<sup>1</sup> και Α. Προμπονά<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Οδός Φυτόκου, 384 46 Βόλος

<sup>2</sup> ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Ινστιτούτο Βιολογίας, Εργαστήριο Φωτοσύνθεσης και Μοριακής Βιολογίας Φυτών, 153 10 Αγ. Παρασκευή, Αττική

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το βιολογικό ρολόι αποτελεί έναν ενδογενή μηχανισμό μέτρησης του χρόνου και συγχρονισμού των φυσιολογικών λειτουργιών των οργανισμών με τις εναλλαγές φωτισμού του περιβάλλοντος. Στον κεντρικό μηχανισμό του ρολογιού ανήκουν μεταγραφικοί παράγοντες, οι οποίοι μέσω πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων ελέγχουν τη μεταγραφή των ίδιων γονιδίων τους. Ο παράγοντας P<sub>v</sub>LHY είναι υποψήφιο στοιχείο του κεντρικού μηχανισμού στο βιολογικό ρολόι του φασόλιου και ρυθμίζει επιπλέον την έκφραση του φωτοσυλλεκτικού συμπλόκου του φωτοσυστήματος II (LHCII). Για την κατανόηση των μηχανισμών συγχρονισμού των λειτουργιών του φασόλιου με το περιβάλλον, απαραίτητη είναι η μελέτη της έκφρασης του P<sub>v</sub>LHY. Η μελέτη του πρωτεϊνικού παράγοντα P<sub>v</sub>LHY με την βοήθεια του αντισώματος που παρασκευάζουμε, θα συμπληρώσει την εικόνα που έχουμε για τη ρύθμιση της γονιδιακής του έκφρασης από το φως και το βιολογικό ρολόι.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Κιρκαδικοί ονομάζονται οι ρυθμοί που είναι συγχρονισμένοι με την κίνηση της γης γύρω από τον εαυτό της και παρουσιάζουν ως εκ τούτου περιοδικότητα 24 ωρών. Οι ρυθμοί αυτοί ελέγχονται στους ζωντανούς οργανισμούς από έναν ενδογενή μηχανισμό, το βιολογικό ρολόι, το οποίο αποτελεί το σύστημα καταγραφής του χρόνου που συντονίζει τις φυσιολογικές λειτουργίες με τις εναλλαγές μέρας-νύχτας (Dunlap, 1999). Η παρουσία του έχει επιβεβαιωθεί σε οργανισμούς από όλα τα Βασίλεια (θηλαστικά, έντομα, μύκητες, φυτά, κυανοβακτήρια) και αποτελείται από τρία δομικά στοιχεία: τα μονοπάτια σηματοδότησης του κεντρικού ταλαντωτή (input pathways), τον κεντρικό ταλαντωτή (central oscillator) και τα μονοπάτια εξόδου από τον κεντρικό ταλαντωτή (output pathways) (Strayer and Kay, 1999). Ο κεντρικός ταλαντωτής είναι ένας αυτορυθμιζόμενος βρόχος επανατροφοδότησης που αποτελείται κυρίως από μεταγραφικούς παράγοντες. Τα μονοπάτια εισόδου σηματοδοτούν την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων σε συγκεκριμένες στιγμές της ημέρας (φάσεις του κιρκαδικού κύκλου), ενώ η ρύθμιση της μεταγραφής τους από τις πρωτεΐνες-προϊόντα των ίδιων των γονιδίων που τους κωδικοποιούν, συμβάλλει στην εμφάνιση μεγίστων και ελαχίστων της μεταγραφής τους, δημιουργώντας έτσι τις κιρκαδικές ταλαντώσεις.

Ο κύριος παράγοντας σηματοδότησης του κεντρικού ταλαντωτή των φυτών είναι το φως και υπεύθυνα μέρη είναι οι φωτοϋποδοχείς. Οι μεταγραφικοί παράγοντες που ανήκουν στον κεντρικό ταλαντωτή του είδους *Arabidopsis thaliana* κωδικοποιούνται από τα γονίδια *LHY* (*Late Elongated Hypocotyl*), *CCA1* (*Circadian Clock Associated 1*) και *APRR1/TOC1* (*Arabidopsis Pseudo-Response Regulator 1 / Timing Of Cab Expression 1*), και θεωρείται ότι αποτελούν τα κύρια στοιχεία αυτού. Αυτοί ρυθμίζουν με την σειρά τους την κιρκαδική έκφραση άλλων γονιδίων. Στόχοι των παραγόντων *LHY* και *CCA1* είναι τα γονίδια των αποπρωτεϊνών των αντενών των φωτοσυστημάτων (*Lhc*), ενώ άλλα φαινόμενα που ελέγχονται από το βιολογικό ρολόι είναι οι κινήσεις των φύλλων και η άνθιση (Hayama and Coupland, 2003, Mizoguchi et al., 2002, Alabadi et al., 2001).

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η παρασκευή αντισώματος έναντι της πρωτεΐνης P<sub>v</sub>LHY στο *Phaseolus vulgaris* (v. Red kidney). Ο παράγοντας P<sub>v</sub>LHY αποτελεί ορθόλογο στοιχείο του *LHY* στο φασόλι (Kaldis et al., 2003, Schaffer et al., 1998). Η αναλυτική μελέτη της κιρκαδικής του έκφρασης μας έχει δείξει ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στον συγχρονισμό του βιολογικού ρολογιού από το φως ανάμεσα στο φασόλι και το πειραματόφυτο *Arabidopsis*. Ένας τρόπος για την κατανόηση αυτού του μηχανισμού είναι η μελέτη της πρωτεΐνης P<sub>v</sub>LHY. Γι' αυτό το σκοπό βρίσκεται υπό εξέλιξη η παρασκευή πολυκλωνικού αντισώματος έναντι του P<sub>v</sub>LHY, το οποίο θα βοηθήσει στην μελέτη τόσο του μεταφραστικού του προφίλ όσο και των



πολυπεπτιδίο εκτείνεται από την Arg<sup>210</sup> έως την Tyr<sup>360</sup> ενώ το C<sub>2</sub> πολυπεπτιδίο εκτείνεται από την Asp<sup>510</sup> έως την Lys<sup>660</sup>. Ενδιάμεσα των C<sub>1</sub> και C<sub>2</sub> περιοχών της PVLHY πρωτεΐνης, υπάρχει μια υδροφοβή αλληλουχία μήκους 148 αμινοξέων και μοριακού βάρους 15 kDa που εκτείνεται από την Glu<sup>361</sup> έως την Leu<sup>539</sup> (Εικ. 1Α, Β).

Σύμφωνα με τον έλεγχο υδροφοβικότητας, το MYB μοτίβο αντιπροσωπεύει μια έντονα υδρόφιλη περιοχή της PVLHY πρωτεΐνης (Εικ. 1Α). Αυτό ήταν αναμενόμενο, καθώς το MYB μοτίβο είναι υπεύθυνο για την αναγνώριση και πρόσδεση σε συγκεκριμένο νουκλεοτιδικό πυρήνα, συνεπώς πρέπει να είναι εκτεθειμένο στο εξωτερικό της πρωτεΐνης. Ωστόσο, όπως ήδη αναφέρθηκε, είναι μια ισχυρά συντηρημένη περιοχή, συνεπώς αν επιλεγόταν ως αντιγόνο για την παρασκευή αντισωμάτων, τα τελευταία δεν θα ήταν εξειδικευμένα ως προς την PVLHY πρωτεΐνη. Γι' αυτό το λόγο αποκλείστηκε η MYB περιοχή, ενώ χρησιμοποιήθηκαν οι περιοχές C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> και C<sub>1-2</sub> (περιοχή που περιλαμβάνει το C<sub>1</sub>, το C<sub>2</sub> και την ενδιάμεσή τους, Εικ. 1Β) ως αντιγόνα για την παρασκευή πολυκλωνικών αντισωμάτων έναντι της PVLHY πρωτεΐνης.

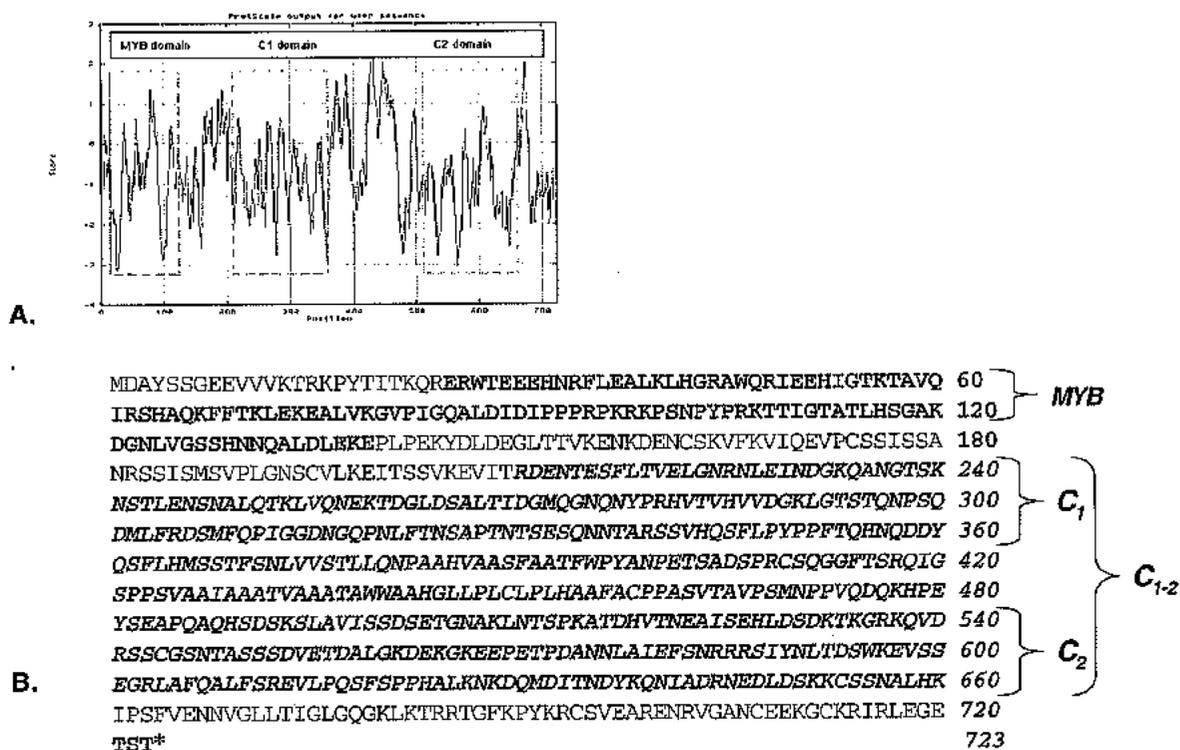
## 2. Μελέτη της έκφρασης των πεπτιδίων C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> και C<sub>1-2</sub>

Οι νουκλεοτιδικές αλληλουχίες που αντιστοιχούν στα πεπτιδία C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> και C<sub>1-2</sub> κλωνοποιήθηκαν στον βακτηριακό φορέα υπερέκφρασης *pGEX-5x*. Τα C<sub>1</sub> και C<sub>1-2</sub> ενθέματα κλωνοποιήθηκαν στο *pGEX 5x2* τύπο, ενώ για την κλωνοποίηση του C<sub>2</sub> ενθέματος χρησιμοποιήθηκε ο *pGEX 5x1* τύπος, ώστε να εξασφαλιστεί το σωστό πλαίσιο ανάγνωσης. Στην περιοχή πολλαπλής κλωνοποίησης υπάρχει η αμινοξική αλληλουχία Pe – Glu – Gly – Arg και στα δύο στελέχη. Η συγκεκριμένη αλληλουχία αποτελεί την περιοχή αναγνώρισης μιας εξειδικευμένης πρωτεάσης, του παράγοντα Xa (Factor Xa), η οποία κόβει το πολυπεπτιδίο αμέσως μετά την αργινίνη. Ο συγκεκριμένος παράγοντας θα χρησιμοποιηθεί στο στάδιο της απομόνωσης του αντιγόνου πριν τον εμβολιασμό για ανοσοποίηση. Ακριβώς πριν από την περιοχή πολλαπλής κλωνοποίησης, εδρεύει η αλληλουχία του ενζύμου S-Τρανσφεράση της Γλουταθειόνης ή GST (Glutathione – S – Transferase). Ο υποκινητής της περιοχής πολλαπλής κλωνοποίησης βρίσκεται ανοδικά της αλληλουχίας του GST. Ενεργοποίηση της μεταγραφής από τον εν λόγω υποκινητή, παράγει ένα χμαιορικό μεταγράφημα, το οποίο δίνει τελικά μια χμαιορική πρωτεΐνη με δύο πολυπεπτιδία, το GST και το ενθεματικό πεπτιδίο. Έτσι, οι C<sub>1</sub> και C<sub>2</sub> χμαιορικές πρωτεΐνες έχουν προβλεπόμενο μοριακό βάρος 45 kDa, ενώ η C<sub>1-2</sub> περίπου 75 kDa.

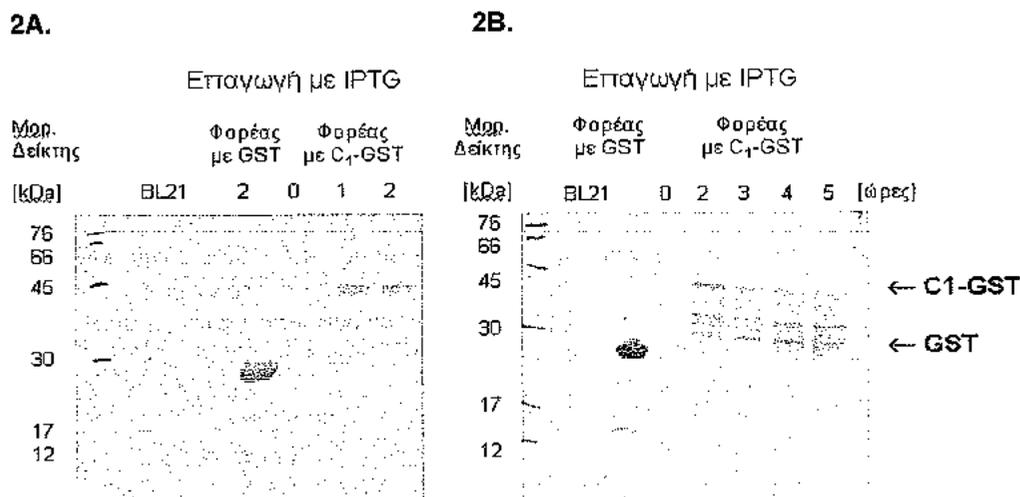
Η μελέτη της έκφρασης των χμαιορικών πρωτεϊνών έγινε υπό διαφορετικές συνθήκες. Σημαντικότερο ρόλο έπαιξε η θερμοκρασία ανάπτυξης της καλλιέργειας. Η υψηλότερη θερμοκρασία των 29°C ευνοούσε την πρωτεόλυση. Για την προστασία των πρωτεϊνών και την καλύτερη παραγωγή πρωτεΐνης επομένως η καλλιέργεια αναπτύσσονταν σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Επίσης δοκιμάστηκαν διαφορετικές πυκνότητες της καλλιέργειας, συγκεντρώσεις του επαγωγέα της μεταγραφής IPTG, καθώς και διαφορετικές ώρες επαγωγής. Η πυκνότητα της καλλιέργειας βρέθηκε να έχει περιορισμένη επίδραση στην παραγωγή και σταθερότητα της πρωτεΐνης, οπότε κρατήθηκε σταθερή σε όλες τις περιπτώσεις σε οπτική πυκνότητα 0,7 (στα 600 nm). Σημαντικό ρόλο επίσης βρέθηκε ότι παίζουν η τελική συγκέντρωση του παράγοντα επαγωγής IPTG καθώς και η διάρκεια της επαγωγής. Στην εικόνα 2Α παρατηρείται σημαντική μείωση στην πρωτεόλυση και αύξηση επομένως στην ποσότητα της C<sub>1</sub> χμαιορικής πρωτεΐνης (45 kDa), όταν η καλλιέργεια αναπτύσσεται στους 25°C και η επαγωγή περιορίζεται στη μία ή δύο ώρες, σε σύγκριση με τους 29°C και τις πέντε ώρες επαγωγής (Εικ. 2Β).

Στην Εικ. 3 παρουσιάζεται μία δοκιμασία έκφρασης της C<sub>2</sub> χμαιορικής (45 kDa). Στην περίπτωση αυτή δοκιμάστηκαν, και εφ' όσον τα χμαιορικά μόρια C<sub>1</sub> και C<sub>2</sub> έχουν το ίδιο μοριακό βάρος, οι ίδιες συνθήκες υπερέκφρασης της χμαιορικής πρωτεΐνης που εφαρμόστηκαν για την υπερέκφραση του C<sub>1</sub>. Φαίνεται πως η C<sub>1</sub> χμαιορική παρουσιάζει ελαφρώς μεγαλύτερη σταθερότητα από την C<sub>2</sub> (σύγκρισε Εικ.2Α και 3Β).

Στην Εικ. 4 εμφανίζεται η υπερέκφραση του χμαιορικού πεπτιδίου C<sub>1-2</sub>. Αρχικά δοκιμάστηκαν οι ίδιες συνθήκες καλλιέργειας και επαγωγής, όπως στις προηγούμενες περιπτώσεις, παρ' όλο που το μοριακό βάρος του C<sub>1-2</sub> είναι μεγαλύτερο, συγκεκριμένα 75 kDa. Παρατηρήθηκε μειωμένη παραγωγή χμαιορικής πρωτεΐνης σε σύγκριση με τις περιπτώσεις που παρουσιάστηκαν πιο πάνω (σύγκρισε Εικ. 3Α, 4Α).



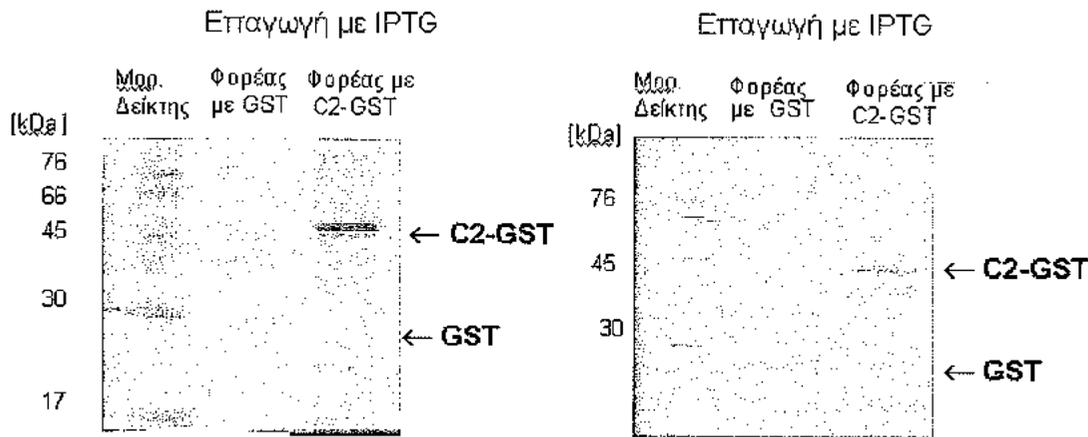
**Εικ. 1:** Η εξαγόμενη από το cDNA πρωτεϊνική αλληλουχία του PvLHY. **A.** Έλεγχος υδροφιλότητας κατά Kyte και Doolittle. Ο κατακόρυφος άξονας δίνει την τιμή της υδροφοβικότητας, ενώ ο οριζόντιος άξονας αντιπροσωπεύει με βασική μονάδα μέτρησης τα 100 αμινοξέα, ολόκληρη την αλληλουχία αμινοξέων της PvLHY. Οι αρνητικές τιμές δείχνουν υδροφιλικότητα, ενώ οι θετικές υδροφοβικότητα. Το μαύρο διακεκομμένο πλαίσιο εσωκλείει το MYB μοτίβο, ενώ το μπλε και το κόκκινο διακεκομμένο πλαίσιο εσωκλείουν αντίστοιχα τις C<sub>1</sub> και C<sub>2</sub> υδρόφιλες περιοχές. **B.** Η πλήρης ακολουθία αμινοξέων της PvLHY πρωτεΐνης. Τα έντονα μαύρα γράμματα αντιπροσωπεύουν το MYB μοτίβο, ενώ τα μπλε και κόκκινα αντιστοιχούν στις C<sub>1</sub> και C<sub>2</sub> υδρόφιλες περιοχές που επιλέχθηκαν για την κλωνοποίηση. Τα πράσινα γράμματα αντιστοιχούν στην μήκους 150 αμινοξέων, υδρόφοβη περιοχή που εσωκλείουν οι C<sub>1</sub> και C<sub>2</sub> αλληλουχίες, ενώ η C<sub>1-2</sub> που κλωνοποιήθηκε επίσης για να χρησιμοποιηθεί ως αντιγόνο, αποτελείται από τις περιοχές με μπλε, πράσινα και κόκκινα γράμματα της PvLHY αμινοξικής αλληλουχίας.



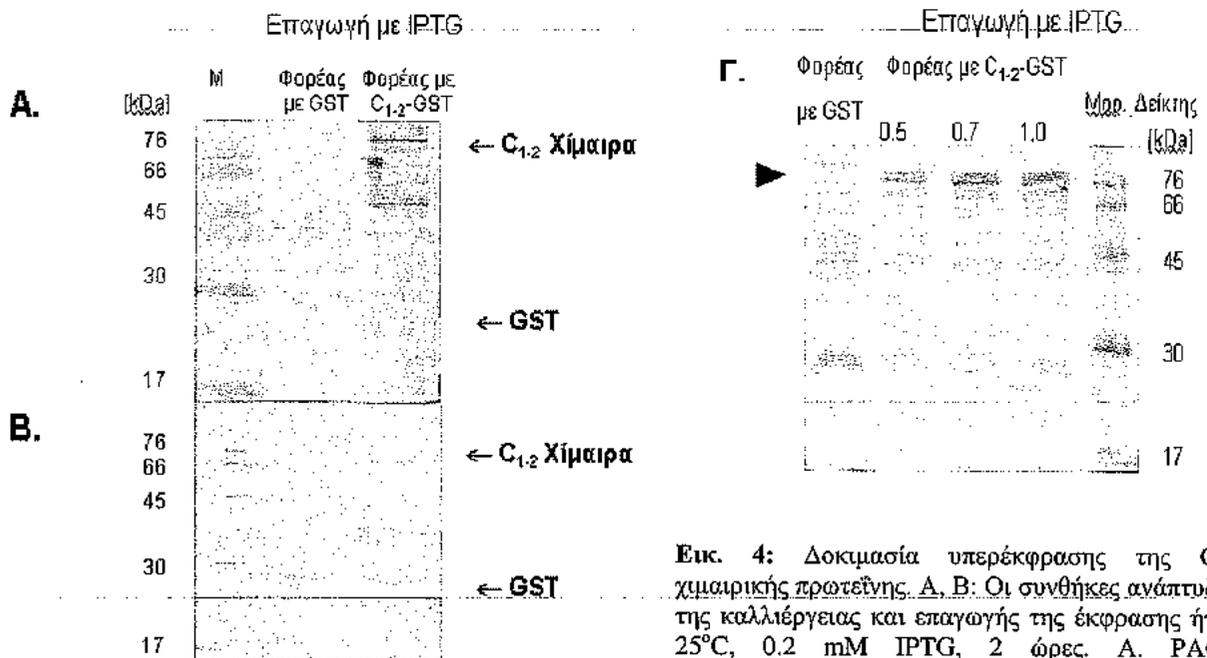
**Εικ. 2:** Ανοσοαποτύπωση της C<sub>1</sub> χίμαιρας με μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της γλουταθειόνης (GST). Οι συνθήκες καλλιέργειας και επαγωγής είναι: **A.** 25<sup>0</sup> C, 0.2 mM IPTG, 0-2 ώρες **B.** 29<sup>0</sup> C, 0.7 mM IPTG, 0-5 ώρες.

3A.

3B.



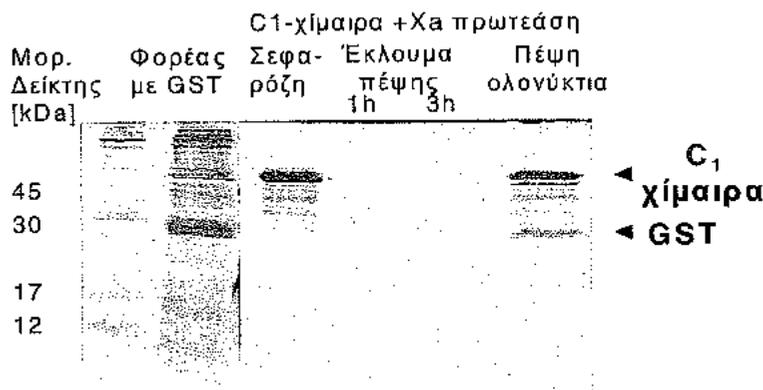
**Εικ. 3:** Δοκιμασία υπερέκφρασης της C2 χιμαιρικής πρωτεΐνης. Οι συνθήκες ανάπτυξης της καλλιέργειας και επαγωγής της έκφρασης ήταν 25°C, 0.2 mM IPTG, 2 ώρες. **A.** PAGE ηλεκτροφόρηση και χρώση με κουμάση **B.** Ανοσοαποτύπωση με μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της γλουταθειόνης (GST).



**Εικ. 4:** Δοκιμασία υπερέκφρασης της C<sub>1-2</sub> χιμαιρικής πρωτεΐνης. **A, B:** Οι συνθήκες ανάπτυξης της καλλιέργειας και επαγωγής της έκφρασης ήταν 25°C, 0.2 mM IPTG, 2 ώρες. **A.** PAGE ηλεκτροφόρηση και χρώση με κουμάση. **B.** Ανοσοαποτύπωση με μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της γλουταθειόνης (GST). **Γ.** PAGE ηλεκτροφόρηση και χρώση με κουμάση μετά από επαγωγή με διαφορετικές συγκεντρώσεις IPTG. Το βέλος δείχνει τη C<sub>1-2</sub> χιμαιρική πρωτεΐνη.

Γι' αυτό το λόγο έγιναν δοκιμές και σε εναλλακτικές συνθήκες με στόχο την αύξηση της έκφρασης. Έτσι εφαρμόστηκαν στην ίδια θερμοκρασία ανάπτυξης της καλλιέργειας (25°C) μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του επαγωγέα, δηλ. 0.5, 0.7 και 1 mM IPTG. Όπως φαίνεται στην Εικ. 4Γ, έχουμε αύξηση της παραγωγής της C<sub>1-2</sub> χίμαιρας σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του επαγωγέα. Τέλος, έγινε μία πρώτη δοκιμή πέψης της χιμαιρικής πρωτεΐνης σε πεπτιδίο και γλουταθειόνη (GST) (Εικ. 5). Εδώ παρατηρούμε και μη ειδική δράση της Χα πρωτεάσης μετά από ολονύκτια επώαση στους 4°C. Συγκεκριμένα, από την πέψη προκύπτουν εκτός του άθικτου GST και προϊόντα αποικοδόμησής του. Επιπλέον, δεν παρατηρείται το αναμενόμενο πεπτιδίο μεγέθους 15 kDa. Η υπόθεση είναι ότι η Χα πρωτεάση αναγνωρίζει μεν την αμινοξική αλληλουχία Pe - Glu - Gly - Arg, αλλά παρουσιάζει και μη ειδική δράση με συνέπεια την πλήρη πρωτεόλυση και απώλεια του πεπτιδίου C<sub>1</sub>.

## Πρωτεάση Χα και C<sub>1</sub>-χίμαιρα



Εικ. 5: Πέψη της C<sub>1</sub> χιμαιρικής πρωτεΐνης με πρωτεάση Χα. Φορέας με GST: θετικός μάρτυρας, σεφαρόζη: C<sub>1</sub>-χίμαιρα σε GST-σεφαρόζη πριν την πέψη, πέψη 1h, 3h, ολονύκτια: στους 4°C.

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται η κλωνοποίηση και οι δοκιμασίες υπερέκφρασης χιμαιρικών GST πρωτεϊνών, με σκοπό την παρασκευή πολυκλωνικών αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης PvLHY του φασολιού. Από προηγούμενες εργασίες γνωρίζουμε ότι ο συγκεκριμένος παράγοντας ελέγχει την απόκριση στο φωτοπεριόδιο γονιδίων του φωτοσυλλεκτικού συμπλόκου του φασολιού. Είναι επομένως σημαντικός ο ρόλος του για την απόκριση των φυτών στο φως και τη λειτουργία της φωτοσύνθεσης (Kaldis et al., 2003). Οι μέχρι τώρα μελέτες που αφορούν το PvLHY είναι σε επίπεδο γονιδιακής έκφρασης. Θεωρείται επομένως σημαντικό να μελετηθεί και ο πρωτεϊνικός παράγοντας και γι' αυτό το σκοπό προχωρήσαμε στην διεργασία για την παρασκευή αντισωμάτων. Τα πειράματα που παρουσιάζονται εδώ δείχνουν ότι οι χιμαιρικές πρωτεΐνες με το αναμενόμενο μοριακό βάρος υπερέκφραζονται στα βακτήρια BL 21 σε κανονποιητικό επίπεδο. Πρόβλημα έχει παρουσιάσει η δράση της πρωτεάσης Χα, η οποία φαίνεται να μην είναι απόλυτα εξειδικευμένη. Γι' αυτό το λόγο έχουμε προχωρήσει στην ανοσοποίηση κουνελιών με τις τρεις χιμαιρικές πρωτεΐνες C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> και C<sub>1-2</sub>. Η απομόνωση των αντισωμάτων θα γίνει με χρήση στήλης χρωματογραφίας συγγένειας.

Η μελέτη των πρωτεϊνικών παραγόντων-στοιχείων του κεντρικού ταλαντωτή των φυτών, είναι εξαιρετικά περιορισμένη. Αναφορικά με τον LHY παράγοντα του *Arabidopsis thaliana* έχει διαπιστωθεί, ότι η μετάφραση των μηνυμάτων του είναι φωτοεξαρτώμενη (Kim et al., 2003). Κατά την μελέτη της λειτουργίας του βιολογικού ρολογιού στο φασόλι διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές ως προς το *Arabidopsis* στην επαγωγή του ρολογιού από το φως. Έχει επομένως σημασία η μελέτη του πρωτεϊνικού παράγοντα στο φασόλι, ώστε να κατανοήσουμε το ρόλο κεντρικών στοιχείων του ρολογιού κατά τον επανασυγχρονισμό του από το φως. Επίσης έχει διερευνηθεί στο *Arabidopsis* η συμμετοχή του παράγοντα LHY σε μια θηλιά αυτορύθμισης με τον παράγοντα TOC1 (Alabadi et al., 2001). Σε αυτή τη μοριακή θηλιά το TOC1 είναι ο επαγωγικός παράγοντας, ενώ το LHY ο κατασταλτικός (αρνητικό στοιχείο). Συγχρόνως γνωρίζουμε, ότι το LHY επάγει τη μεταγραφή του φωτοσυλλεκτικού συμπλόκου, δηλ. δρα ως θετικό στοιχείο της μεταγραφής (Wang et al., 1995, Kaldis et al., 2003). Επομένως, τα αντισώματα έναντι του PvLHY θα μας επιτρέψουν να μελετήσουμε τον πιθανό διπλό ρόλο του παράγοντα αυτού στο φασόλι, εξετάζοντας αν η πρόσδεσή του στους αντίστοιχους υποκινητές ακολουθεί ρυθμικό πρότυπο.

Επιπλέον η χρήση του αντισώματος έναντι του PvLHY παράγοντα θα μπορούσε να συμβάλει στην ανοσοαποτύπωση γενοτύπων προσαρμοσμένων σε διαφορετικές φωτοπεριόδους, ώστε να γίνει μία κατάταξη των γενοτύπων που αποτελούν ένα φυσικό πληθυσμό με κριτήριο την ομοιομορφία στις κερκαδικές ταλαντώσεις τους που αντανάκλα και αντίστοιχη ομοιομορφία στη λειτουργία του βιολογικού ρολογιού. Αυτά τα αποτελέσματα θα βοηθήσουν, σε συνδυασμό με εκείνα που θα προκύψουν από την αξιολόγηση της αγρονομικής αξίας νέων ποικιλιών στον αγρό, στην επιλογή γενοτύπων με αυξημένη φωτοσυνθετική ικανότητα, καλή προσαρμογή στις αλλαγές της φωτοπεριόδου αλλά και ταχύτερη αξιοποίηση των φωτοσυνθετικών προϊόντων. Τέλος, αν αποκαλυφθεί στο φασόλι έλεγχος από το κερκαδικό ρολόι στη μετάβαση από το βλαστικό στο αναπαραγωγικό στάδιο, θα είναι πλέον δυνατή με την βοήθεια και των μοριακών δεικτών, η γενετική ανάλυση με σκοπό την ανίχνευση και επιλογή πρώιμων γενοτύπων φασολιού,

γεγονός που θα οδηγήσει στη σύντμηση του χρόνου που απαιτεί η αξιολόγηση του ίδιου χαρακτηριστικού στον αγρό.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alabadi D., Oyama T., Yanovsky M. J., Harmon F.G., Mas P. and Kay S.A., 2001. Reciprocal regulation between TOC1 and LHY/CCA1 within the *Arabidopsis* circadian clock. *Science* 293: 880-883.
- Dunlap J.C. 1999: Molecular bases for Circadian clocks. *Cell* 96, 271-290
- Hayama R. and Coupland G. 2003. Shedding light on the circadian clock and the photoperiodic control of flowering. *Curr. Opin Plant Biol.* 6: 13-19
- Jin H. and C. Martin, 1999. Multifunctionality and diversity within the plant *MYB*-gene family. *Plant Mol. Biol.* 41: 577-585.
- Kaldis A.D., Kousidis P., Kesanopoulos K. and Prombona A., 2003. Light and circadian regulation in the expression of *LHY* and *Lhcb* genes in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Mol. Biol.*, 52: 981-997.
- Kim J-Y., Song H.-R., Taylor L. B. and Carre I. A. 2003. Light-regulated translation mediates gated induction of the *Arabidopsis* clock protein LHY. *The EMBO Journal* 22: 935-944.
- Mizoguchi T., Wheatley K., Hanzawa Y., Wright L., Mizoguchi M., Song H-R., Carre I.A. and Coupland G. 2002. *LHY* and *CCA1* are partially redundant genes required to maintain circadian rhythms in *Arabidopsis*. *Develop.Cell*, 2: 629-641.
- Schaffer, R., Ramsay, N., Samach, A., Corden, S., Putterill, J., Carre, I.A. and Coupland, G., 1998. The late elongated hypocotyl mutation of *Arabidopsis* disrupts circadian rhythms and the photoperiodic control of flowering. *Cell* 93: 1219-1229.
- Stayer C.A. and Kay S.A., 1999. The ins and outs of circadian regulated gene expression. *Curr. Opin Plant Biol.*, 2: 114-120.
- Wang Z. Y. Keningsbush D., Sun L., Harel E. Ong M.S. and Tobin E., 1997. A Myb-related transcription factor is involved in the phytochrome regulation of an *Arabidopsis Lhcb* gene. *Plant Cell* 9: 491.

## SUMMARY

The endogenous biological clock allows the organisms to measure the time and synchronize their physiology with the changing environmental light conditions. The pacemaker mechanism constitutes of transcription factors that through protein-protein interactions control the transcription of their own genes. PvLHY is a putative component of the central pacemaker of *Phaseolus vulgaris* and it is also a positive transcription factor for the *Lhcb* genes (Light-harvesting complex of photosystem II). In order to gain insight into the synchronization mechanism of the *Phaseolus* physiology to the changing environmental light conditions, it is necessary to study the expression of PvLHY. The study of the protein factor PvLHY by means of the antibody will complement our understanding of regulation of PvLHY gene expression by light and the biological clock.

## ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΜΕΛΙΤΖΑΝΑΣ ΛΑΓΚΑΔΑ ΜΕ ΓΕΝΕΑΛΟΓΙΚΗ ΚΥΨΕΛΩΤΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

Φ. Α. Μπλέτσος<sup>1</sup> και Δ. Γ. Ρουπακιάς<sup>2</sup>

1. Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.), Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας-Θράκης, Τ.Θ. 60458, 570 01 Θέρμη, Θεσσαλονίκης
2. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.), Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, 540 06 Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παραδοσιακή ποικιλία μελιτζάνας Λαγκαδά καλλιεργείται σε όλη την Ελλάδα γιατί ικανοποιεί τις συνήθειες των καταναλωτών. Επειδή όμως για αρκετά χρόνια δεν έγινε καμία συστηματική βελτιωτική προσπάθεια για τη διατήρηση της γενετικής της καθαρότητας, τα τελευταία χρόνια παρουσίασε εκτροπή από την αρχική της μορφή στην απόδοση και στο σχήμα του καρπού. Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η δυνατότητα βελτίωσης της γενετικής καθαρότητας της ποικιλίας. Γι' αυτό 560 ατομικά φυτά της καλλιεργούμενης ποικιλίας (γενετικό υλικό εκκίνησης) εγκαταστάθηκε στο χωράφι το 2002 σε μη επαναλαμβανόμενο κυψελωτό σχέδιο (NR-0). Εφαρμόστηκε συνδυασμένη ατομική επιλογή για απόδοση (πίεση επιλογής 14.3%) και επιθυμητό σχήμα καρπού με αποτέλεσμα να επιλεγούν 12 φυτά. Τα φυτά που επιλέχθηκαν αποτέλεσαν τις οικογένειες για συνέχιση της γενεαλογικής κυψελωτής επιλογής το 2003. Οι 12 οικογένειες εγκαταστάθηκαν στο χωράφι σε επαναλαμβανόμενο κυψελωτό σχέδιο R-13. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το γενετικό υλικό εκκίνησης της ποικιλίας. Η συνδυασμένη επιλογή για απόδοση (πίεση επιλογής 14.3%) και επιθυμητό σχήμα καρπού επαναλήφθηκε και στη γενεά αυτή και επιλέχθηκαν 12 φυτά. Τα φυτά που επιλέχθηκαν αποτέλεσαν τις οικογένειες που σπάρθηκαν το 2004 σε επαναλαμβανόμενο κυψελωτό σχέδιο R-13. Η μέση απόδοση των διαλογών της ποικιλίας Λαγκαδά αυξήθηκε το 2003 κατά 9.73% και το 2004 κατά 3.39% σε σύγκριση με το μέσο όρο του γενετικού υλικού εκκίνησης. Η επιλογή θα συνεχισθεί τα επόμενα χρόνια μέχρι να επιτευχθεί η γενετική καθαρότητα της ποικιλίας.

*Λέξεις κλειδιά:* απόδοση, ενδοποικιλιακή επιλογή, *Solanum melongena* L.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μελιτζάνα (*Solanum melongena* L.) καλλιεργείται σε όλο τον κόσμο για τους καρπούς της, οι οποίοι χρησιμοποιούνται ως τροφή (Daunay and Lester 1988). Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες μελιτζάνας παρουσιάζουν μεγάλη παραλλακτικότητα στο σχήμα και στο μέγεθος του καρπού (Nonecke 1989). Οι καταναλωτές ανάλογα με το σκοπό της χρήσης προτιμούν τον ένα ή τον άλλο τύπο. Στην Ελλάδα η μελιτζάνα καλλιεργείται σε έκταση 30.000 στρεμμάτων και έχει μεγάλη οικονομική και διαιτητική αξία (Μπλέτσος και Ρουπακιάς 2000). Τα περισσότερα στρέμματα καλλιεργούνται με ελληνικές ποικιλίες γιατί δίνουν μελιτζάνες καλής ποιότητας και ικανοποιούν τις παραδοσιακές καταναλωτικές συνήθειες. Στη Βόρεια Ελλάδα καλλιεργείται κυρίως η ποικιλία Λαγκαδά η οποία έχει κυλινδρικούς μακρείς καρπούς με έντονο μαύρο χρώμα. Τα τελευταία χρόνια καλλιεργούνται και πολλά εισαγόμενα F<sub>1</sub> υβρίδια, κυρίως λόγω της πρωιμότητάς τους (Μπλέτσος 1999). Η μελιτζάνα αναφέρεται ως αυτογονιμοποιούμενο φυτό, αλλά το ποσοστό φυσικής διασταύρωσης κυμαίνεται από 0.2-48% (Quaglioti 1992). Το ποσοστό σταυρογονιμοποίησης στην Ελλάδα πιθανόν να είναι πολύ υψηλό λόγω της μεγάλης ηλιοφάνειας και των υψηλών θερμοκρασιών που ευνοούν την κινητικότητα των εντόμων τα οποία διασταυρώνουν τις ποικιλίες. Σε αυτές τις ανεξέλεγκτες διασταυρώσεις πιθανόν να οφείλεται και η εκτροπή της ποικιλίας Λαγκαδά από την αρχική της μορφή σε απόδοση και στο σχήμα του καρπού.

Η εργασία αυτή έγινε με σκοπό να μελετηθεί η δυνατότητα βελτίωσης της γενετικής καθαρότητας της ποικιλίας μελιτζάνας Λαγκαδά με κυψελωτή γενεαλογική επιλογή.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τα πειράματα έγιναν στο Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας και Θράκης τα έτη 2002, 2003 και 2004. Τα φυτά αναπτύχθηκαν σε φυτοδοχεία στο θερμοκήπιο μέχρι το στάδιο μεταφύτευσης στο χωράφι (λίγο πριν την ανθοφορία) και το τρίτο 10ήμερο του Μαΐου μεταφυτεύθηκαν στο χωράφι. Το 2002 αναπτύχθηκαν στο χωράφι 560 ατομικά φυτά της καλλιεργούμενης ποικιλίας (γενετικό υλικό εκκίνησης) σε 14 σειρές χωρίς ανταγωνισμό σε αποστάσεις 90 εκ. μεταξύ των φυτών. Το σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν το μη επαναλαμβανόμενο κυψελωτό σχέδιο NR-0 (Fasoulas 1993). Έγιναν 3 συγκομιδές από 12/7/2002 - 2/8/2002 για να υπολογισθεί η παραγωγή κάθε φυτού και στη συνέχεια τα φυτά παρέμειναν στο χωράφι μέχρι 30/9/2002 για φυσιολογική ωρίμανση των καρπών. Εφαρμόστηκε συνδυασμένη ατομική επιλογή για απόδοση (πίεση επιλογής 14.3%) και επιθυμητό σχήμα καρπού με αποτέλεσμα να επιλεγούν 12 φυτά. Τα 12 φυτά που επιλέχθηκαν αποτέλεσαν τις οικογένειες για συνέχιση της γενεαλογικής κυψελωτής επιλογής το 2003.

Απόγονοι των 12 οικογενειών αναπτύχθηκαν σε φυτοδοχεία μέχρι το στάδιο μεταφύτευσης στο χωράφι (λίγο πριν την ανθοφορία) και μεταφυτεύθηκαν στο χωράφι το τρίτο 10ήμερο του Μαΐου το 2003 σε επαναλαμβανόμενο κυψελωτό σχέδιο R-13. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το αρχικό υλικό της ποικιλίας. Έγιναν 3 συγκομιδές από 27/7/ 2003 - 19/8/2003 για να υπολογισθεί η παραγωγή κάθε φυτού και στη συνέχεια τα φυτά παρέμειναν στο χωράφι μέχρι τις 10/10/2003 για να ωριμάσουν φυσιολογικά οι καρποί. Εφαρμόστηκε και πάλι συνδυασμένη κυψελωτή επιλογή για απόδοση (πίεση επιλογής 14.3%) και επιθυμητό σχήμα καρπού και επιλέχθηκαν 12 φυτά. Τα 12 φυτά που επιλέχθηκαν αποτέλεσαν τις οικογένειες για συνέχιση της γενεαλογικής κυψελωτής επιλογής το 2004.

Απόγονοι των 12 οικογενειών αναπτύχθηκαν σε φυτοδοχεία και μεταφυτεύθηκαν το τρίτο 10ήμερο του Μαΐου του 2004 στο χωράφι σε επαναλαμβανόμενο κυψελωτό σχέδιο R-13. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το αρχικό υλικό της ποικιλίας. Έγιναν 4 συγκομιδές από 13/7/ 2004 - 5/8/2004 για να υπολογισθεί η παραγωγή κάθε φυτού και στη συνέχεια τα φυτά παρέμειναν στο χωράφι μέχρι τις 25/9/2004 για να ωριμάσουν φυσιολογικά οι καρποί τους. Όπως και τα προηγούμενα χρόνια εφαρμόστηκε συνδυασμένη κυψελωτή επιλογή για απόδοση και επιθυμητό σχήμα καρπού και επιλέχθηκαν 12 φυτά.

Σε όλα τα πειράματα εφαρμόστηκαν οι συνηθισμένες πρακτικές άρδευσης, λίπανσης και φυτοπροστασίας. Σε κάθε γενεά επιλογής υπολογίστηκε για τα χαρακτηριστικά αριθμός καρπών ανά φυτό, απόδοση ανά φυτό και το μέσο βάρος του καρπού (M.B.K.) ανά φυτό, ο μέσος όρος του πληθυσμού ( $X_p$ ), ο μέσος όρος των επιλεγέντων φυτών ( $X_s$ ), το διαφορικό επιλογής  $S=X_s - X_p$ , ο μέσος όρος του μάρτυρα ( $X_m$ ) και η αύξηση/μείωση (%) των χαρακτηριστικών που μετρήθηκαν σε σύγκριση με το μάρτυρα. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα HONEY των Batzios and Roupakias (1997).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η αύξηση του μέσου όρου του πληθυσμού (σε σύγκριση με το μάρτυρα) όσον αφορά τον αριθμό καρπών /φυτό κατά 4.68% το 2003 και της παραγωγής/φυτό κατά 9.73% το 2003 και κατά 3.39% το 2004 δείχνει ότι η κυψελωτή επιλογή με βάση το ατομικό φυτό ήταν αποτελεσματική στην επιλογή υψηλοαποδοτικών φυτών μελιτζάνας με επιθυμητό σχήμα καρπού (Πίν. 1). Από τον Πίνακα 1 φαίνεται ότι το MBK μειώθηκε σε σύγκριση με το μάρτυρα κατά 21% το 2003 και κατά 4.53% το 2004. Αύξηση της παραγωγής στο καλαμπόκι πέτυχαν με γενεαλογική επιλογή και οι Bletsos and Goulas (1999).

Ο συντελεστής παραλλακτικότητας ( $CV$ =τυπική απόκλιση/μέσος όρος) συνήθως χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της παραλλακτικότητας μεταξύ των ατομικών φυτών (Edmeades and Daynard 1979) και είναι ένας τρόπος εκτίμησης της γενετικής βελτίωσης της απόδοσης (Tollenaar and Wu 1999). Στην εργασία αυτή παρατηρήθηκε μείωση του συντελεστή παραλλακτικότητας στον αριθμό των καρπών/φυτό από 60.33 σε 49.19, στην απόδοση από 66.62 σε 50.64 και στο MBK από 40.60 σε 27.37. Αυτό ίσως να οφείλεται στην απομάκρυνση των ανεπιθύμητων αλληλομόρφων από το γενετικό υλικό (Πίν. 2) με συνέπεια τη βελτίωση της σταθερότητας των παραπάνω χαρακτηριστικών.

Αυτό ενισχύεται και από τον αρνητικό συντελεστή συσχέτισης ( $r$ ) που παρατηρήθηκε μεταξύ του μέσου όρου της απόδοσης και του σχετικού συντελεστή παραλλακτικότητας το 2003 ( $r=-0.941^{**}$ ) και δείχνει ότι η βελτίωση του ατομικού φυτού για απόδοση μειώνει το φορτίο των ανεπιθύμητων γονιδίων τα οποία με τη σειρά τους αυξάνουν τη σταθερότητα της απόδοσης (Πίν. 3).

**Πίνακας 1.** Μέσος όρος ( $\pm$  sd) αριθμού καρπών/φυτό, απόδοσης/φυτό και μέσου βάρους καρπού (M.B.K.) της ποικιλίας μελιτζάνας Λαγκαδά (Χρ) και των επιλεγέντων φυτών (Χs) και του μάρτυρα (Χ<sub>Μ</sub>), εκτίμηση του διαφορικού επιλογής (S) και της αύξησης% της ποικιλίας Λαγκαδά σε τρεις κύκλους επιλογής.

Γενετικό υλικό	Καρποί/φυτό	Απόδοση/φυτό (g)	M. B. K. (g)
Αρχικό υλικό 2002, Σχέδιο επιλογής NR-0, N=560 φυτά			
Χρ	6.5 $\pm$ 3.9	1453 $\pm$ 968	197.2 $\pm$ 80
Χs	12.1 $\pm$ 6.1	2962 $\pm$ 479	250 $\pm$ 41
S	5.6	1509	53
Επιλογή 2003, Σχέδιο επιλογής R-13, N=390 φυτά			
Χρ	6.7 $\pm$ 5.3	1725 $\pm$ 1401	196.9 $\pm$ 120
Χ <sub>Μ</sub> (μάρτυρα)	6.4 $\pm$ 5.8	1572 $\pm$ 1472	249 $\pm$ 37
Χs	12.2 $\pm$ 3.0	3215 $\pm$ 711	270 $\pm$ 47
S	5.5	1477	73
Αύξηση % του μάρτυρα	+4.68	+9.73	-21.0
Επιλογή 2004, Σχέδιο επιλογής R-13, N=390 φυτά			
Χρ	9.9 $\pm$ 4.9	2433 $\pm$ 1229	232 $\pm$ 63
Χ <sub>Μ</sub> (μάρτυρα)	10.1 $\pm$ 4.9	2353 $\pm$ 1315	243
Χs	15.7 $\pm$ 1.9	3863 $\pm$ 445	296 $\pm$ 26
S	5.8	1430	64
Αύξηση % του μάρτυρα	-2.0	+3.39	-4.53

**Πίνακας 2.** Μέσος όρος του συντελεστή παραλλακτικότητας (CV%) του αρχικού υλικού και της κάθε γενεάς επιλογής.

Γενετικό υλικό	Καρποί/φυτό	Απόδοση/φυτό (g)	M. B. K. (g)
Αρχικό υλικό 2002	60.33	66.62	40.60
Επιλογή 2003	79.58	81.19	61.22
Επιλογή 2004	49.19	50.64	27.37

**Πίνακας 3.** Συντελεστής συσχέτισης (r) μεταξύ μέσου όρου της απόδοσης και του σχετικού συντελεστή παραλλακτικότητας (CV) για κάθε γενεά επιλογής.

Γενετικό υλικό	Απόδοση/φυτό (g)
Αρχικό υλικό 2002	
Επιλογή 2003	-0.941**
Επιλογή 2004	-0.564*

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το πρόγραμμα βελτίωσης της γενετικής καθαρότητας της ποικιλίας, έδειξε ότι η εφαρμοσθείσα γενεαλογική ενδοποικιλιακή επιλογή για σταθερή υψηλή απόδοση και ομοιόμορφο σχήμα καρπού με βάση το ατομικό φυτό είχε ως αποτέλεσμα την απομόνωση επιθυμητών γενοτύπων.

Απομένει όμως να δειχθεί εάν οι γενότυποι αυτοί είναι περισσότερο αποδοτικοί και πιο σταθεροί από τον αρχικό πληθυσμό σε συνθήκες εμπορικής καλλιέργειας.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Batzios, D. P. and D. G. Roupakias. 1997. HONEY: A microcomputer program for plant selection and analyses of the honeycomb design. *Crop Sci.* 37, 744-747.
- Bletsos, E. A. and Ch. K. Goulas. 1999. Mass Selection for Improvement of grain yield and protein in a maize population. *Crop Sci.* 39: 1302-1305.
- Daunay, M. C. and R. N. Lester. 1988. The usefulness of taxonomy for Solanaceae breeders, with special reference to the Genus *Solanum* and to *Solanum melongena* L. (eggplant). *Capsicum Newsletter* 7: 70-79.
- Edmeades, G. O. and T. B. Daynard. 1979. The relationship between final yield and photosynthesis at flowering in individual maize plants. *Canadian J. of Plant Science* 59, 585-601.
- Fasoulas, A. C. 1993. Principles of Crop Breeding. Thessaloniki, Greece: A. C. Fasoulas.
- Μπλέτσος, Α. Φ. 1999. Σύγκριση ποικιλιών και υβριδίων μελιτζάνας (*Solanum melongena* L.) που καλλιεργούνται στην Ελλάδα και στην Κίνα. *Γεωπονικά* 384: 6-12.
- Μπλέτσος, Α. Φ. και Δ. Γ. Ρουπακιάς. 2000. Μελέτη της ετέρωσης στη μελιτζάνα. Πρακτικά 8<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου της Ελληνικής Επιστημονικής Εταιρείας της Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, 'Προστασία και Βελτίωση Γενετικών πόρων' Απολογισμός-Προοπτικές στην αρχή του 21<sup>ου</sup> αιώνα', 23-25 Οκτωβρίου 2002, Άρτα, σελ. 433-439.
- Nonnecke, Ib. L. 1989. *Vegetable production*. Van Nostrand Reinhold. New York. USA, 657 pp.
- Quaglioti, L. 1992. Pepper and eggplant breeding in Italy in the last twenty years. In: *EUCARPIA Proceedings of the 7<sup>th</sup> Meeting on Genetics and breeding of Capsicum and Eggplant*, 7-10 September, Rome, p: 18-31.
- Tollenaar, M. and J. Wu. 1999. Yield improvement in temperate maize is attributable to greater stress tolerance. *Crop Sci.* 39, 1597-1604.

## GENETIC IMPROVEMENT OF EGGPLANT CULTIVAR LANGADA WITH HONEYCOMB PEDIGREE SELECTION

F. A. Bletsos<sup>1</sup> and D. G. Roupakias<sup>2</sup>

<sup>1</sup>N.AG.RE.F., Agricultural Research Centre of Macedonia and Thrace, Greece.

<sup>2</sup>Aristotle University, Faculty of Agriculture, Genetics and Plant Breeding Lab., Greece.

## ABSTRACT

The traditional eggplant cultivar Langada is cultivated throughout Greece because it satisfies the customer's demand. However no breeding for the genetic maintenance of the cultivar has been applied during the last decade. This resulted in a decline of the cultivar from the original plant type in yield and fruit shape. This study was undertaken to investigate the possibility to improve the agronomic traits after selection within the cultivar. For this, 560 plants from the primitive genetic material were grown in the field in a non-replicated honeycomb design (NR-0). Honeycomb mass selection was applied for yield (14.3% pressure selection) and desirable fruit shape. Thus, 12 plants were selected. Progenies of the 12 selected plants were the families grown in 2003. The 12 families were established in the field in a replicated honeycomb design (R-13). In addition the primitive genetic material was used as control. Honeycomb mass selection was applied for yield (14.3% pressure selection) and desirable fruit shape. Again the best 12 plants were selected. Progenies of these plants were the families grown in 2004. The 12 families were established in the field in a replicated honeycomb design (R-13). The primitive genetic material was also used as control. Honeycomb mass selection was applied for yield (14.3% pressure selection) and desirable fruit shape and the best 12 plants were selected. The mean yield of selected plants increased in 2003 by 9.73% and in 2004 by 3.39% in relation to the mean of the primitive eggplant cultivar Langada. It remains to be verified, however, whether the selected plants outyield the original cultivar under commercial cultivation.

## «ΘΕΟΔΩΡΑ»: ΝΕΟ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ ΤΟΜΑΤΑΣ

Αικατερίνη Τράκα-Μαυρωνά<sup>1</sup> και Μεταξία Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.), Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας-Θράκης, 570 01 Θέρμη-Θεσσαλονίκη.

<sup>2</sup>Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.), Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, 541 24 Θεσσαλονίκη.

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα εργασία παρουσιάζει το υβρίδιο τομάτας (*Lycopersicon lycopersicum* L. Karsten) νοπής κατανάλωσης «Θεοδώρα», προϊόν διασταύρωσης δύο εγχώριων ποικιλιών: (α) της «Αρτέμιδας», με δημιουργό και διατηρητή το Ινστιτούτο Αμπέλου και Οπωροκηπευτικών Πύργου, και (β) της «Μακεδονίας, με δημιουργό και διατηρητή το Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας Θράκης. Η «Θεοδώρα» ανήκει στα κλασσικά υβρίδια, με συνεχή τύπο ανάπτυξης. Το ύψος του φυτού, όπως και η ευρωστία, είναι ενδιάμεσα μεταξύ των γονέων. Ο καρπός έχει σχήμα ελαφρώς πεπλατυσμένο - σφαιρικό και μεσαίο μέγεθος (140-157 g). Διαθέτει πράσινους άμους πριν την ωρίμανση. Η αντίσταση της σάρκας στην πίεση δεν διαφοροποιείται από αυτή των γονέων (0,87 kg/m<sup>2</sup>). Το περικάρπιο (63 mm) και η εσωτερική δομή του καρπού (5,11 καρπόφυλλα) δεν τον διαφοροποιούν από άλλα μεγαλόκαρπα υβρίδια. Η απόδοση σε καλλιέργεια θερμοκηπίου κυμάνθηκε στα 4.942 g/φυτό ή 32,36 καρπού/φυτό (υπεροχή 23% και 41%, αντίστοιχα έναντι της μέσης τιμής των γονέων). Σε συνθήκες ανοιχτού αγρού η υπεροχή κυμάνθηκε στο εύρος 37-46%. Η σύγκριση με άλλα εμπορικά υβρίδια στο παραγωγικό δυναμικό δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. Καταληκτικά, το υβρίδιο Θεοδώρα συνδυάζει υψηλή ετέρωση και επιθυμητά χαρακτηριστικά φυτού και καρπού, και προσαρμόζεται για καλλιέργεια στο θερμοκήπιο και στο ύπαιθρο.

**Λέξεις κλειδιά:** *Lycopersicon lycopersicum*, αξιολόγηση, ετέρωση, περιγραφή, ποικιλία, τομάτα, υβρίδιο.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια, στην Ελλάδα, έχει επικρατήσει η καλλιέργεια εμπορικών υβριδίων τομάτας (*Lycopersicon lycopersicum* L. Karsten), που εισάγονται από το εξωτερικό, ενώ η εμπορική εκμετάλλευση των παλιών εγχώριων ποικιλιών έχει σχεδόν εγκαταλειφθεί είτε λόγω μικρών αποδόσεων είτε λόγω ευπάθειας σε ασθένειες και αντιξοότητες του περιβάλλοντος. Πολλές από τις παραδοσιακές ποικιλίες αποτελούν πολύτιμους γονείς για δημιουργία υβριδίων, αφού συγκεντρώνουν ορισμένα επιθυμητά χαρακτηριστικά, όπως ευρεία προσαρμοστικότητα και αποδεκτή ποιότητα, και απαιτούν βελτίωση σε ένα ή περισσότερα άλλα χαρακτηριστικά. Είναι σημαντικό οι γονιδιακές δεξαμενές των γονέων να έχουν ευρεία γενετική βάση και να διαφέρουν γενετικά (μεγάλη γενετική απόσταση), διότι η ετέρωση εξαρτάται από τις διαφορές στις συχνότητες των αλληλομόρφων των γονέων (Falconer 1989, Scott & Angell 1998).

Η δημιουργία υβριδίων τομάτας αποτελεί βασικό τομέα έρευνας από τις αρχές του 20ού αιώνα, αφού παρέχει καλύτερη προστασία στο δημιουργό, μείωση χρόνου ενσωμάτωσης μιας σειράς επιθυμητών χαρακτηριστικών και δυνατότητα αξιοποίησης γονιδίων, τα οποία απαιτούν ετεροζυγωτία για να ευνοήσουν τα παραγωγικά συστήματα (Scott & Angell 1998). Το βελτιωτικό πρόγραμμα της τομάτας συμπεριέλαβε στις βασικές του δράσεις και ένα ευρύ δίκτυο διασταυρώσεων, αυτογονιμοποιήσεων και επιλογών σε μια σειρά από εγχώριες ποικιλίες, καθαρές σειρές και διασπώμενο υλικό, με απώτερο στόχο τη δημιουργία ελληνικών υβριδίων. Η παρούσα εργασία παρουσιάζει το υβρίδιο «Θεοδώρα», προϊόν διασταύρωσης δύο εγχώριων ποικιλιών: (α) της Αρτέμιδας, με δημιουργό και διατηρητή το Ινστιτούτο Αμπέλου και Οπωροκηπευτικών Πύργου (Christakis & Fasoulas 2002), και (β) της Μακεδονίας, με δημιουργό και διατηρητή το Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας Θράκης.

### ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκήπιο και ανοιχτό αγρό του Κ.Γ.Ε.Μ.Θ., την τριετία 2002-04. Το δίκτυο διασταυρώσεων μεταξύ διαφόρων εγχώριων ποικιλιών και εμπορικών υβριδίων τομάτας

ξεκίνησε την άνοιξη του 2002. Το υβρίδιο Θεοδώρα προήλθε από διασταύρωση των ποικιλιών Αρτέμιδα και Μακεδονία. Η «Αρτέμιδα» είναι νέα ποικιλία, που προέκυψε από επιλογή για σταθεροποίηση σύγχρονου εμπορικού υβριδίου (Christakis & Fasoulas 2002), ενώ η Μακεδονία είναι πολύ παλιά εγχώρια ποικιλία του ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. Και οι δύο ποικιλίες έχουν κοινά ορισμένα χαρακτηριστικά (συνεχής τύπος ανάπτυξης, μεγάλος καρπός «κλασσικού» τύπου, προορισμός η νοπή κατανάλωση, κ.ά.), αλλά διαφοροποιούνται σε βασικά περιγραφικά και αγρονομικά χαρακτηριστικά, τα οποία τις κατατάσσουν σε ανεξάρτητες ομάδες με βάση τη μελέτη της φυλογενετικής τους συγγένειας (Τράκα-Μαυρωνά κ.ά. 2004). Η περιγραφή και αξιολόγηση της «Θεοδώρας» πραγματοποιήθηκε εντός της άνοιξης και του θέρους, τη διετία 2003-04, σε συνθήκες ανοιχτού αγρού και θερμοκηπίου, αντίστοιχα. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν οι δύο γονείς, και τα εμπορικά υβρίδια Sahara και Iron (Γεωπονικό Σπίτι). Εφαρμόστηκε μονοστέλεχο σύστημα καλλιέργειας. Το πειραματικό σχέδιο ήταν πλήρεις τυχαιοποιημένες ομάδες με τέσσερις επαναλήψεις (5 φυτά ανά πειραματικό τεμάχιο).

Λήφθηκαν παρατηρήσεις σε επίπεδο ατομικού φυτού των περιγραφικών χαρακτηριστικών σύμφωνα με τους καταλόγους της International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV 1976), του παραγωγικού δυναμικού και βασικών ποιοτικών χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος. Συνολικά αξιολογήθηκε το προϊόν εφτά συγκομιδών εντός του 2003 και πέντε συγκομιδών εντός του 2004.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σήμερα, η εμπορική εφαρμογή υβριδίων έχει καθολικό χαρακτήρα όχι μόνο στα συμβατικά συστήματα καλλιέργειας τομάτας, αλλά ακόμη και σε αυτά των χαμηλών εισροών ή της βιολογικής γεωργίας. Σύμφωνα με τους Scott και Angell (1998), στο 100% των εκτάσεων της τομάτας νοπής κατανάλωσης - θερμοκηπίου και αγρού - χρησιμοποιούνται υβρίδια. Ανάλογη είναι και η κατάσταση στη χώρα μας, όπου διακινείται ένας πολύ μεγάλος αριθμός εμπορικών υβριδίων, επί το πλείστον μεγάλων σποροπαραγωγικών οίκων. Σύμφωνα με τον εθνικό κατάλογο ποικιλιών του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (2004), υπάρχουν εγγεγραμμένες 88 ποικιλίες τομάτας, εκ των οποίων 79 υβρίδια ξενικά, 7 ελληνικές ποικιλίες και 2 ελληνικά υβρίδια. Η αναγκαιότητα δημιουργίας ελληνικών υβριδίων από εγχώριο γενετικό υλικό, που είναι προσαρμοσμένο στις εδαφοκλιματικές συνθήκες της χώρας, είναι καταφανής. Η «Θεοδώρα» είναι το πρώτο υβρίδιο του βελτιωτικού προγράμματος της τομάτας και αποτελεί προϊόν διασταύρωσης των ποικιλιών Αρτέμιδα και Μακεδονία. Έχει συνεχή τύπο ανάπτυξης, όπως οι δυο γονείς, και διαθέτει πυκνό, σκούρο πράσινο φύλλωμα, το οποίο εξασφαλίζει επαρκή κάλυψη του καρπού. Το ύψος φυτού, όπως και η ευρωστία, είναι ενδιάμεσα μεταξύ των δύο γονέων. Σε αντίθεση με τους γονείς, η «Θεοδώρα» δεν εμφανίζει παραμόρφωση του πρώτου άνθους (fasciation), αλλά ούτε και της κορυφής του καρπού. Ορισμένα από τα βασικά περιγραφικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά του καρπού παρουσιάζονται στον πίνακα 1. Σύμφωνα με τα στοιχεία του πίνακα, το σχήμα του καρπού είναι ελαφρά πεπλατυσμένο - σφαιρικό (πηλίκιο πολικής και ισημερινής διαμέτρου 0,81). Σε αντίθεση με το θήλυ γονέα, την «Αρτέμιδα», που στερείται πράσινων ώμων προ της ωρίμανσης (uniform green, u), η «Θεοδώρα» παρουσιάζει έντονη παρουσία, όπως και ο άρρην-γονέας, η «Μακεδονία». Επίσης, το πράσινο χρώμα στο «ώριμο πράσινο» στάδιο του καρπού της «Θεοδώρας» είναι πιο έντονο από αυτό του θήλυ γονέα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν κληρονομία των δύο γονισμάτων από τον άρρην γονέα. Με την ωρίμανση, ο καρπός αποκτά βαθύ κόκκινο φατεινό χρώμα εξωτερικά και εσωτερικά. Η αντίσταση της σάρκας στην πίεση του ώριμου καρπού είναι 0,87 kg/m<sup>2</sup> και δεν διαφοροποιείται από αυτή των γονέων. Ανήκει, δηλαδή, η «Θεοδώρα» στα «κλασσικά» υβρίδια τομάτας (Τράκα-Μαυρωνά 1997). Το περικάρπιο (63 mm), όπως και η εσωτερική δομή του καρπού (5,11 καρπόφυλλα), δεν διαφοροποιούν τον καρπό από άλλα μεγαλόκαρπα υβρίδια. Ο καρπός, σε πρώιμη καλλιέργεια θερμοκηπίου, δεν παρουσιάζει ευαισθησία σε σοβαρές φυσιολογικές ανωμαλίες, όπως φούσκωμα, παραμορφώσεις, κηλιδωτή ωρίμανση και σήψη της κορυφής. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά °Brix (4,98), pH (4,08) και ξηρή ουσία (5,20%) δεν απείχαν από αυτά των γονέων.

**Πίνακας 1.** Περιγραφικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά του καρπού της «Θεοδώρας».

Χαρακτηριστικό	ΤΙΜΗ - ΕΚΦΡΑΣΗ
Πηλικο πολικής και ισημερινής διαμέτρου	0,81 ± 0,03
Πράσινοι ώμοι προ ωρίμανσης	Παρουσία
Συνεκτικότητα (Kg/m <sup>2</sup> )	0,87 ± 0,21
Πάχος περικαρπίου (mm)	63 ± 7,12
Αριθμός κοιλοτήτων	5,11 ± 0,78
<sup>0</sup> Brix	4,98 ± 0,37
pH	4,08 ± 0,05
Ξηρή Ουσία (%)	5,20 ± 0,42

**Πίνακας 2.** Συνολικός αριθμός καρπών (N/φυτό) της «Θεοδώρας», των γονέων της και δύο εμπορικών υβριδίων, και υπεροχή ή υστέρηση έναντι του πιο παραγωγικού εμπορικού υβριδίου, σε συνθήκες καλλιέργειας ανοιχτού αγρού και θερμοκηπίου.

Γενετικό υλικό	Ανοιχτός αγρός		Θερμοκήπιο	
	M.O.	Έναντι της Sahara	M.O.	Έναντι της Sahara
Θεοδώρα	18,21 a*	161	32,36 a	116
Αρτέμιδα	14,09 b	125	26,53 b	95
Μακεδονία	10,81 bc	78	19,50 c	70
Sahara	11,26 bc	100	27,94 b	100
Iron	9,10 c	81	22,03 c	79

\*Μέσοι όροι στην ίδια στήλη ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν με στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ πολλαπλών ευρών Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

**Πίνακας 3.** Συνολικό βάρος καρπών (g/φυτό) της «Θεοδώρας», των γονέων της και δύο εμπορικών υβριδίων, και υπεροχή ή υστέρηση έναντι του πιο παραγωγικού εμπορικού υβριδίου, σε συνθήκες καλλιέργειας ανοιχτού αγρού και θερμοκηπίου.

Γενετικό υλικό	Ανοιχτός αγρός		Θερμοκήπιο	
	M.O.	Έναντι της Sahara	M.O.	Έναντι της Sahara
Θεοδώρα	2225 a*	120	4942 ab	91
Αρτεμη	1676 a	90	3969 c	73
Μακεδονία	1567 a	84	4092 c	75
Sahara	1857 a	100	5439 a	100
Iron	1548 a	83	4342 bc	79

\* Μέσοι όροι στην ίδια στήλη ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν με στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ πολλαπλών ευρών Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

Η συνολική απόδοση της «Θεοδώρας» (Πίν. 2, 3), σε καλλιέργεια ανοιχτού αγρού, κυμάνθηκε στα 2.225 g/φυτό ή 18,21 καρπούς/φυτό (εφτά συγκομιδές), και παρουσίασε υπεροχή 37% και 46% έναντι της μέσης τιμής των γονέων, αντίστοιχα. Η συνολική απόδοσή της, σε καλλιέργεια υπό κάλυψη (πέντε συγκομιδές), ήταν πάνω από διπλάσια από αυτήν στον αγρό (4.942 g/φυτό), και έδειξε υπεροχή στο βάρος 23% και στον αριθμό καρπών 41% έναντι της μέσης τιμής των γονέων. Οι διαφορές της συνολικής απόδοσης της «Θεοδώρας» έναντι των δύο γονέων ήταν στατιστικά σημαντικές με εξαίρεση το συνολικό βάρος στον αγρό, στο οποίο δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση για κανένα γενετικό υλικό. Από τα προαναφερθέντα διαπιστώνεται μεγαλύτερη υπεροχή στον αριθμό καρπών σε σχέση με το βάρος και για τις δύο συνθήκες αξιολόγησης. Αυτό υπονοεί συγκριτική υπεροχή στο μέγεθος ταξιανθίας και την καρπόδεση, και επακόλουθη μείωση μεγέθους καρπού (Πίν. 6), εξαιτίας ισχυρού ανταγωνισμού εντός της ταξιανθίας για τροφοδοσία προϊόντων φωτοσύνθεσης (Ho & Hewitt 1986). Το μέσο βάρος καρπού της «Θεοδώρας» δεν διέφερε από αυτό του θήλυ γονέα (140 g στον αγρό και 157 g στο θερμοκήπιο), ήταν όμως μικρότερο από αυτό του άρρενα γονέα με στατιστικά σημαντικές διαφορές στο θερμοκήπιο.

Η υπεροχή της «Θεοδώρας» έναντι των δύο γονέων διατηρήθηκε και όταν εξετάστηκε η εμπορεύσιμη απόδοση (Πίν. 4, 5). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πινάκων, η υπεροχή στον αριθμό καρπών κυμάνθηκε

στο εύρος 49-50% και στο βάρος 32-41% έναντι της μέσης τιμής των γονέων. Σε ό,τι αφορά την πρωιμότητα, αυτή βρέθηκε να υπερέχει κατά 28% έναντι της μέσης τιμής των γονέων, σύμφωνα με τους Κούτσικα-Σωτηρίου κ.ά. (2003).

**Πίνακας 4.** Αριθμός εμπορεύσιμων καρπών (N/φυτό) της «Θεοδώρας», των γονέων της και δύο εμπορικών υβριδίων, και υπεροχή ή υστέρηση έναντι του πιο παραγωγικού εμπορικού υβριδίου, σε συνθήκες καλλιέργειας ανοιχτού αγρού και θερμοκηπίου.

Γενετικό υλικό	Ανοιχτός αγρός		Θερμοκήπιο	
	Μ.Ο.	Έναντι της Sahara	Μ.Ο.	Έναντι της Sahara
Θεοδώρα	12,79 a*	139	28,51 a	130
Αρτέμιδα	8,64 b	94	20,97 b	95
Μακεδονία	8,39 b	91	17,42 b	79
Sahara	9,19 b	100	22,03 b	100
Iron	7,25 b	79	18,50 b	84

\* Μέσοι όροι στην ίδια στήλη ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν με στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ πολλαπλών ευρών Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

**Πίνακας 5.** Βάρος εμπορεύσιμων καρπών (g/φυτό) της «Θεοδώρας», των γονέων της και δύο εμπορικών υβριδίων, και υπεροχή ή υστέρηση έναντι του πιο παραγωγικού εμπορικού υβριδίου, σε συνθήκες καλλιέργειας ανοιχτού αγρού και θερμοκηπίου.

Γενετικό υλικό	Ανοιχτός αγρός		Θερμοκήπιο	
	Μ.Ο.	Έναντι της Sahara	Μ.Ο.	Έναντι της Sahara
Θεοδώρα	1802 a*	107	4472 ab	100
Άρτεμη	1223 a	72	3173 b	71
Μακεδονία	1339 a	79	3609 ab	81
Sahara	1687 a	100	4457 a	100
Iron	1380 a	82	3940 ab	88

\* Μέσοι όροι στην ίδια στήλη ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν με στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ πολλαπλών ευρών Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

Η σύγκριση της «Θεοδώρας» με τα εμπορικά υβρίδια τομάτας Sahara και Iron δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς το βάρος τόσο της εμπορεύσιμης όσο και της συνολικής παραγωγής (Πίν. 3, 5). Η υπεροχή της στον αριθμό καρπών έναντι των δύο υβριδίων (Πίν. 2, 4) ερμηνεύεται, όπως προαναφέρθηκε, από το μικρότερο μέγεθος καρπού (Πίν. 6).

**Πίνακας 6.** Μέσο βάρος καρπού (g/καρπό) της «Θεοδώρας», των γονέων της και δύο εμπορικών υβριδίων σε συνθήκες καλλιέργειας ανοιχτού αγρού και θερμοκηπίου.

Γενετικό υλικό	Ανοιχτός αγρός	Θερμοκήπιο
Θεοδώρα	140 b*	157 b
Άρτεμη	140 b	154 b
Μακεδονία	159 ab	216 a
Sahara	183 a	206 a
Iron	187 a	214 a

\* Μέσοι όροι στην ίδια στήλη ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν με στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το τεστ πολλαπλών ευρών Duncan ( $\alpha=0,05$ ).

Καταληκτικά, το νέο υβρίδιο Θεοδώρα διαφοροποιήθηκε από τους γονείς σε βασικά περιγραφικά χαρακτηριστικά και ενσωμάτωσε υψηλή ετέρωση και σταθερότητα συμπεριφοράς σε παραγωγικά χαρακτηριστικά που το καθιστούν ανταγωνιστικό άλλων εμπορικών υβριδίων τομάτας νωπής κατανάλωσης.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Christakis, P.A., and A.C. Fasoulas, 2002. The effects of the genotype by environmental interaction on the fixation of heterosis in tomato. *J. Agric. Sci.* 139: 55-60.
- Falconer, D.S., 1989. *Introduction to Quantitative Genetics*, 3<sup>rd</sup> edn. Longman, New York, 340 pp.

Πρακτικά 10<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ.

- Ho, L.C. and J.D. Hewitt, 1986. Fruit Development. In J.G. Atherton and J. Rudich (eds.) The Tomato Crop. Chapman and Hall Ltd., Cambridge, Great Britain, pp. 201-240.
- Κούτσικα-Σωτηρίου, Μ., Τράκα-Μαυρωνά, Αικ., Σαμαράς, Σ. και Ν. Σταυρόπουλος, 2003. Κριτήρια επιλογής σε αρχικό υλικό εκάίνησης τομάτας. Πρακτικά 21<sup>ου</sup> Πανελληνίου Επιστημονικού Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Ο., Ιωάννινα, 8-10/10/03. Με κρίση (υπό εκτύπωση).
- Scott, J.W. and F.F. Angell, 1998. Tomato. In S.S. Banga and S.K. Banga (eds.) Hybrid Cultivar Development, Narosa Publ. House, New Delhi, pp. 453-475.
- Τράκα-Μαυρωνά, Αικ., 1997. Νέες τάσεις στην καλλιέργεια τομάτας υπό κάλυψη. Αγροτ. Έρευνα & Τεχνολογία, Τεύχος 5: 22-23.
- Τράκα-Μαυρωνά, Αικ., Τσιβελίκας, Α.Λ., Σαμαράς, Σ., Σταυρόπουλος, Ν. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου, 2004. Φυλογενετική συγγένεια μεταξύ της εγχώριας ποικιλίας «Τοματάκι Σαντορίνης» και άλλων εγχώριων ποικιλιών τομάτας. Συνέδριο, με θέμα «Ο φυτογενετικός πλούτος και η αγροτική παράδοση των Κυκλάδων», Σαντορίνη, 23-25/9/04 (υπό εκτύπωση).

## “THEODORA”: A NEW GREEK TOMATO HYBRID

Ekaterini Traka-Mavrona<sup>1</sup> and Metaxia Koutsika-Sotiriou<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Agricultural Research Foundation (N.AG.RE.F.), Agricultural Research Center of Macedonia-Thrace, 570 01 Thermi, Thessaloniki, Greece.

<sup>2</sup>Aristotelian University of Thessaloniki, Faculty of Agriculture, Laboratory of Genetics and Plant Breeding, 541 24 Thessaloniki, Greece.

### SUMMARY

The present study presents “Theodora”, a new fresh-market tomato (*Lycopersicon lycopersicum* L. Karsten) hybrid. It is the F1 hybrid of the cross between: (a) “Artemida”, a new pure line cultivar (N.AG.RE.F., Institute of Viticulture and Horticulture, Pirgos), and (b) “Makedonia”, an old pure line cultivar (N.AG.RE.F., Agricultural Research Center of Macedonia Thrace). The hybrid has a vigorous indeterminate plant with dense, dark green foliage that provides good fruit cover. Plant height and vigor are intermediate between the two parents. Medium size fruit of “Theodora” are comparable with those of female parent. They have an average 5,11 locules, and are slightly flattened globular in shape, and symmetrical. The blossom-end-scar is small and smooth. Contrary to “Artemida”, whose nonripe fruit are a glossy, uniform, light green (u), “Theodora” s nonripe fruit are dark green with dark green shoulders, resembling those of male parent”. Fruit ripen to a bright red exterior and interior color, and have a medium wall and firmness, and resistance to cracking and cat-face. Total and marketable yields of “Theodora” exceeded those of mid parents in trials conducted under open field and protected cultivation growing conditions. The evaluation with commercial hybrids under the two conditions indicated no significant differences for marketable and total yield. In conclusion, “Theodora” provides the growers with a heterotic tomato hybrid with desirable combination of plant and fruit characteristics.

*Key words:* cultivar, description, evaluation, heterosis, hybrid, *Lycopersicon lycopersicum*, tomato.

## ΠΟΛΛΑΠΛΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ

Αικατερίνη Τράκα-Μαυρονά<sup>1</sup>, Μεταξία Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>2</sup> και Κωνσταντίνος Τερτιβανίδης<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.),  
Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας-Θράκης, 570 01 Θέρμη-Θεσσαλονίκη.

<sup>2</sup>Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.), Τμήμα Γεωπονίας,  
Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών, 541 24 Θεσσαλονίκη.

<sup>3</sup>Διεύθυνση Αγροτικής Ανάπτυξης Χαλκιδικής, 631 00 Πολύγυρος.

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Κριτήρια επιλογής ενός υλικού εκκίνησης σε ένα βελτιωτικό πρόγραμμα είναι η προέλευση, η γενετική σύσταση, η ετερωτική συμπεριφορά, η συμπεριφορά του ατομικού φυτού, η ανοχή στον ομοζυγωτικό εκφυλισμό, η προσαρμοστικότητα και τα επιθυμητά αγρονομικά χαρακτηριστικά. Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζεται ένα δίκτυο διασταυρώσεων που βοηθά στην επιλογή του υλικού εκκίνησης στην τομάτα, ενσωματώνοντας τα ανωτέρω κριτήρια σε τρεις ομάδες: (α) ετερωτικά χαρακτηριστικά, (β) ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά, και (γ) γενετική συγγένεια υλικών. Τα ανωτέρω μελετώνται στις διασταυρώσεις δοκιμής ενός εμπορικού υβριδίου με δύο εγχώριες ποικιλίες, σε σχέση με τη διασταύρωση των εγχώριων ποικιλιών και τη διασταύρωση του εμπορικού υβριδίου με άλλο υβρίδιο, εξετάζοντας χαρακτηριστικά παραγωγικού δυναμικού, ποιότητας, ευαισθησίας στις φυσιολογικές ανωμαλίες και περιγραφής φυτού. Η μελέτη της γενετικής συγγένειας των υλικών πραγματοποιήθηκε με την πολυμεταβλητή ανάλυση ομάδων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι για τη δημιουργία νέων ποικιλιών και υβριδίων τομάτας, σημαντικό ρόλο παίζουν: (α) η γνώση του γενετικού φορτίου του υλικού εκκίνησης και του τρόπου δράσης των γονιδίων, που θα μεγιστοποιήσει την πιθανότητα απομόνωσης επίλεκτων καθαρών σειρών, και (β) η αξιοποίηση γονιδιακών αποθεμάτων μεγάλης γενετικής απόστασης, η οποία ευνοώντας τις απότομες αλλαγές στις συχνότητες των γονιδίων δημιουργεί νέα παραλλακτικότητα.

*Λέξεις κλειδιά:* *Lycopersicon lycopersicum*, γενετική συγγένεια, εκφυλισμός, ετέρωση, κριτήρια επιλογής, ποικιλότητα, υλικό εκκίνησης.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η επιλογή του υλικού εκκίνησης είναι το ευκολότερο και ίσως το πιο βασικό στάδιο στη βελτίωση ενός φυτού, αφού καθορίζει την αποτελεσματικότητα του προγράμματος επιλογής (Dudley 1988, Scott & Angell 1998). Υλικό εκκίνησης μπορεί να αποτελέσουν οι  $F_2$ , συνθετικοί πληθυσμοί, οι εγχώριες ποικιλίες/πληθυσμοί και οι πληθυσμοί από αναδιασταυρώσεις μεταξύ ποικιλιών. Η πιθανότητα απομόνωσης υπέρτερων διασταυρώσεων είναι μεγαλύτερη μεταξύ πληθυσμών με γνωστά ετερωτικά πρότυπα (Dhillon 1998). Τα ετερωτικά πρότυπα ασκούν ισχυρή επίδραση σ' ένα βελτιωτικό πρόγραμμα και από τη στιγμή που θα καθοριστούν, δύσκολα αλλάζουν. Στο καλαμιτόκι καθορίστηκαν ετερωτικά πρότυπα εμπειρικά με βάση την προέλευση των γονέων και τη συμπεριφορά τους σε μεταξύ τους διασταυρώσεις. Μια ιδανική προσέγγιση θα ήταν να διασταυρωθούν όλες οι πηγές γενετικού υλικού διαλληλικά και να επιλεγούν τα πιο ετερωτικά πρότυπα. Ωστόσο, κάτι τέτοιο είναι αδύνατο εξαιτίας του μεγάλου αριθμού υλικών που απαιτείται. Από την άλλη μεριά, οι υπολογισμοί της ετέρωσης σε διαφορετικές μελέτες δεν είναι συγκρίσιμοι. Επιπρόσθετα, είναι σημαντικό να υπάρχει γενετική απόσταση μεταξύ των γονιδιακών αποθεμάτων (έλλειψη γενετικής συγγένειας), διότι η ετέρωση εξαρτάται από τις διαφορές στις συχνότητες των αλληλομόρφων των γονέων (Falconer 1989).

Με βάση τα ανωτέρω, η επιλογή του υλικού εκκίνησης στην τομάτα θα πρέπει να βασίζεται στην προέλευση, τη γενετική σύσταση, την ετερωτική συμπεριφορά, τη συμπεριφορά του ατομικού φυτού, την ανθεκτικότητα στον ομοζυγωτικό εκφυλισμό, την προσαρμοστικότητα και τα επιθυμητά αγρονομικά χαρακτηριστικά (Scott & Angell 1998). Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζεται ένα δίκτυο διασταυρώσεων που αποβλέπει να βοηθήσει στην επιλογή του υλικού εκκίνησης, δηλαδή εκείνης της  $F_2$  που θα δώσει επίλεκτες καθαρές σειρές σε σύντομο χρονικό διάστημα. Τα προηγούμενα κριτήρια επιλογής ομαδοποιούνται

σε τρεις κατηγορίες: (α) ετερωτικά χαρακτηριστικά, (β) ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά, και (γ) γενετική συγγένεια υλικών. Για την αξιολόγηση χρησιμοποιείται γενετικό υλικό από διασταυρώσεις δοκιμής ενός εμπορικού υβριδίου με δύο εγχώριες ποικιλίες, διασταύρωση μεταξύ δύο εγχώριων ποικιλιών και διασταύρωση μεταξύ δύο εμπορικών υβριδίων.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκήπιο του Κέντρου Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας Θράκης (Κ.Γ.Ε.Μ.Θ.), την τριετία 2002-04. Εντός του 2002 δημιουργήθηκε ένα δίκτυο διασταυρώσεων μεταξύ των γενετικών υλικών, εντός του 2003 λήφθηκε η  $F_2$  με μαζική επιλογή και εντός του 2004 μελετήθηκε η αγρονομική συμπεριφορά των προϊόντων των διασταυρώσεων και της  $F_2$  σε σχέση με τους αντίστοιχους μάρτυρες. Στο δίκτυο διασταυρώσεων συμμετείχαν οι εγχώριες ποικιλίες Μακεδονία και Αρτέμιδα (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.), και τα εμπορικά υβρίδια Iron και Sahara (Γεωπονικό Σπίτι). Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν τέσσερις διασταυρώσεις: (α) οι διασταυρώσεις δοκιμής Sahara X Μακεδονία και Sahara X Αρτέμιδα, (β) η διασταύρωση Αρτέμιδα X Μακεδονία και (γ) το διπλό υβρίδιο Sahara X Iron, η  $F_2$  όλων των ανωτέρω, και οι τέσσερις γονείς, ήτοι Μακεδονία, Αρτέμιδα, Iron και Sahara.

Κάθε γενετικό υλικό συμμετείχε με 20 φυτά, τα οποία αναπτύχθηκαν σε μονοστέλεχο σύστημα καλλιέργειας.

Μελετήθηκαν, σε επίπεδο ατομικού φυτού, συνολικά 50 χαρακτηριστικά παραγωγικού δυναμικού, ποιότητας, ευαισθησίας σε φυσιολογικές ανωμαλίες και περιγραφής φυτού, σύμφωνα με την International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV 1976) και την International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR 1989). Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η συμπεριφορά των γενετικών υλικών: (α) σε μια ομάδα ετερωτικών ή μη ετερωτικών χαρακτηριστικών (απόδοση, °Brix, pH, κ.ά.), και (β) σε μια ομάδα ανεπιθύμητων χαρακτηριστικών, τα οποία είτε είναι δυαδικά, δηλαδή εκφράζονται ως απουσία ή παρουσία (π.χ. πράσινοι ώμοι καρπού), είτε είναι ποσοτικά πολλαπλά, που εκφράζονται με μέτρηση, αριθμηση, κ.ά. (π.χ. δείκτης σχήματος καρπού). Τέλος, παρουσιάζεται για σύνολο 36 χαρακτηριστικών, η φυλογενετική συγγένεια, εφαρμόζοντας την πολυμεταβλητή ανάλυση ομάδων, με τη μέθοδο UPGMA (Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average), χρησιμοποιώντας τους συντελεστές ευκλείδειας απόστασης.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην τομάτα, η δημιουργία υβριδίων αποτελεί βασικό τομέα της βιομηχανίας σπόρων, αφού εξασφαλίζει προστασία του δημιουργού, μείωση του χρόνου ενσωμάτωσης διαφόρων χαρακτηριστικών και αξιοποίηση γονιδίων, τα οποία σε ετερόζυγη κατάσταση ευνοούν την παραγωγικότητα (Scott & Angell 1998). Ετέρωση αναφέρεται για την ευρωστία, αύξηση, ανάπτυξη, πρωιμότητα, απόδοση, ομοιομορφία και προσαρμοστικότητα σε ποικίλα περιβάλλοντα. Ορισμένα χαρακτηριστικά (pH, °Brix, πάχος περικαρπίου) ταξινομούνται και ως ετερωτικά και ως μη ετερωτικά (Scott & Angell 1998).

Το δίκτυο διασταυρώσεων της παρούσας έρευνας χρησιμοποιεί δύο διασταυρώσεις δοκιμής, μία απλή και μία διπλή διασταύρωση. Η διασταύρωση δοκιμής αξιολογεί την ειδική συνδυαστική ικανότητα, η διπλή τη γενική συνδυαστική ικανότητα, που εκτιμάται μαζί με την απλή με την υπεροχή έναντι των γονέων. Στα υβρίδια, η ετερόζυγη κατάσταση επισκιάζει τη δράση των εκφυλιστικών γονιδίων, τα οποία συσσωρεύονται και δεν επιτρέπουν στα ευνοϊκά αθροιστικά γονίδια να εκφραστούν (Fasoulas 1988). Οι Sprague και Eberhart (1977) υποστηρίζουν ότι τα συστατικά της γενετικής παραλλακτικότητας με γενική συνδυαστική ικανότητα έχουν κυρίως αθροιστική δράση, ενώ αυτά με ειδική συνδυαστική δράση ανταναικλούν κυρίως κυρίαρχη επίδραση. Από αυτό συμπεραίνεται ότι η συνδυαστική ικανότητα συνδέεται με την ετέρωση λόγω της ύπαρξης των εκφυλιστικών γονιδίων.

Η αξιολόγηση του προταθέντος δικτύου διασταυρώσεων με βάση τα τρία κριτήρια επιλογής έδωσε τα κατωτέρω αποτελέσματα:

(α) Ετερωτικά χαρακτηριστικά: Οι διασταυρώσεις δοκιμής της Sahara με τις δύο εγχώριες ποικιλίες υστέρησαν στα παραγωγικά χαρακτηριστικά του καλύτερου γονέα (Πίν. 1), διατηρώντας ως ένα βαθμό τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά (Πίν. 2, 3). Η  $F_2$  των ανωτέρω διασταυρώσεων δημιουργεί αισιοδοξία απομόνωσης ελπιδοφόρων συνδυασμών τόσο για παραγωγικά όσο και ποιοτικά χαρακτηριστικά (Πίν. 1, 2, 3). Από την αξιολόγηση της διασταύρωσης Αρτέμιδα X Μακεδονία (Πίν. 1), διαπιστώνεται μεγάλη υπεροχή στην απόδοση (23-41% έναντι της μέσης τιμής των γονέων), συμπεριφορά που βρίσκεται σε συμφωνία με δεδομένα

προηγούμενων ετών (Κούτσικα-Σωτηρίου κ.ά. 2003). Η μελέτη της συμπεριφοράς της  $F_2$  της ίδιας διασταύρωσης έδειξε εκφυλισμό, γεγονός που αποκαλύπτει πιθανή κυρίαρχη και όχι αθροιστική δράση των αλληλομόρφων, και απομακρύνει το βελτιωτή για περαιτέρω επιλογή. Σε ό,τι αφορά τα ποιοτικά χαρακτηριστικά (Πίν. 2, 3), δεν παρατηρείται εκφυλισμός, στοιχείο που ενισχύει πιθανή αθροιστική δράση. Τέλος, η διασταύρωση Sahara X Iron δεν έδειξε υπεροχή στα παραγωγικά χαρακτηριστικά έναντι της μέσης τιμής των γονέων (Πίν. 1), σε συμφωνία με Κούτσικα-Σωτηρίου κ.ά. (2003), ενώ έδειξε υπεροχή στα διαλυτά και ολικά στερεά (Πίν. 2), και υστέρηση στον αριθμό κοιλοτήτων, στη συνεκτικότητα και στο πάχος περικαρπίου (Πίν. 3). Τα ανωτέρω αναφέρονται ως μη ετερωτικά χαρακτηριστικά (Scott & Angell 1998). Ωστόσο, η έκφραση της  $F_2$  ευνοεί την επιλογή για συνδυασμένη έκφραση επιθυμητών παραγωγικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών.

(β) Ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά (Πίν. 4): Διαφάνηκε ότι η έκφρασή τους επηρεάστηκε από τον τρόπο δράσης των γονιδίων. Για παράδειγμα, η παρουσία πράσινων ώμων βρέθηκε ότι ελέγχεται από τον επικονιαστή, ενώ το σχήμα καρπού από το θήλυ γονέα. Ειδικά για το σχήμα, μην έχοντας διαφοροποίηση στους γονείς, δεν προσδιορίστηκε παραλλακτικότητα σε καμία  $F_2$ . Η παραμόρφωση του πρώτου άνθους αντανάκλα ευαισθησία του θήλυ γονέα, ισχυρή περιβαλλοντική επίδραση και συσχέτιση με τον αριθμό καρποφύλλων (Stevens & Rick 1986). Επί το πλείστον, ο καρπός έχει πιο πεπλατυσμένο και ακανόνιστο

**Πίνακας 1.** Ετέρωση (H) των γενετικών υλικών στα συστατικά της απόδοσης.

Γενετικό υλικό	Αριθμός		Βάρος καρπών		Αριθμός	
	καρπών/φυτό		g/φυτό		ταξιανθιών/φυτό	
	M.O.	H	M.O.	H	M.O.	H
Sahara X Μακεδονία $F_1$	21,8	78*	3343	61*	7,8	79*
Sahara X Μακεδονία $F_2$	26,2	120***	2865	86***	6,6	85***
Sahara X Αρτέμιδα $F_1$	12	43*	1508	27*	7,9	80*
Sahara X Αρτέμιδα $F_2$	24,7	206***	3226	214***	7,56	96***
Αρτέμιδα X Μακεδονία $F_1$	32,4	141**	4942	123**	8,37	113**
Αρτέμιδα X Μακεδονία $F_2$	22,5	70***	3912	79***	7,33	88***
Sahara X Iron $F_1$	13,2	53**	2417	49**	7	75**
Sahara X Iron $F_2$	19,1	145***	2781	115***	7,8	111***
Μακεδονία	19,5		4092		7,1	
Αρτέμιδα	26,5		3969		7,7	
Sahara $F_1$	27,9		5439		9,9	
Iron $F_1$	22		4342		8,7	

\* Έναντι του υψηλοαποδοτικού γονέα, \*\* Έναντι του μ.ό. των γονέων, \*\*\* Έναντι της  $F_1$ .

**Πίνακας 2.** Ετέρωση (H) των γενετικών υλικών στα διαλυτά στερεά συστατικά ( $^{\circ}$ Brix), ξηρή ουσία (%) και pH του καρπού.

Γενετικό υλικό	$^{\circ}$ Brix		Ξηρή ουσία (%)		pH	
	M.O.	H	M.O.	H	M.O.	H
Sahara X Μακεδονία F <sub>1</sub>	5,72	114*	6,17	117*	4,07	93*
Sahara X Μακεδονία F <sub>2</sub>	5,03	88***	5,58	90***	4,1	101***
Sahara X Αρτέμιδα F <sub>1</sub>	4,58	92*	5,35	106*	4,11	97*
Sahara X Αρτέμιδα F <sub>2</sub>	5	109***	5,48	102***	4,1	100***
Αρτέμιδα X Μακεδονία F <sub>1</sub>	4,98	99**	5,2	101**	4,08	96**
Αρτέμιδα X Μακεδονία F <sub>2</sub>	4,58	92***	4,88	94***	4,11	101***
Sahara X Iron F <sub>1</sub>	4,91	118**	5,76	125**	4,22	101**
Sahara X Iron F <sub>2</sub>	5,4	110***	5,82	101***	4,21	100***
Μακεδονία	5,02		5,29		4,38	
Αρτέμιδα	4,98		5,03		4,08	
Sahara F <sub>1</sub>	4,23		4,61		4,22	
Iron F <sub>1</sub>	4,12		4,6		4,15	

\* Έναντι του υψηλοαποδοτικού γονέα, \*\* Έναντι του μ.ό. των γονέων, \*\*\* Έναντι της F<sub>1</sub>.

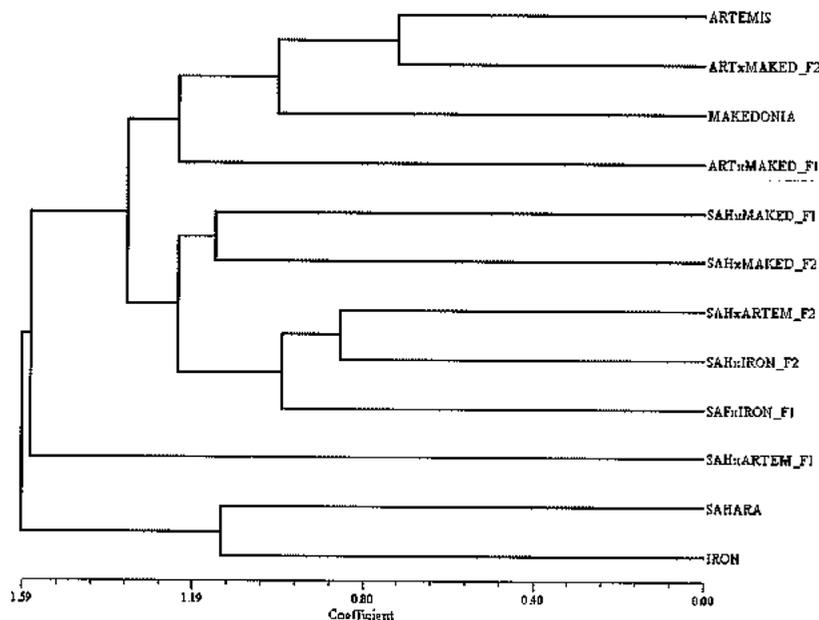
**Πίνακας 3.** Ετέρωση (H) των γενετικών υλικών στη συνεκτικότητα (kg/m<sup>2</sup>), στον αριθμό κοιλοτήτων και στο πάχος περικαρπίου (mm).

Γενετικό υλικό	Συνεκτικότητα (kg/m <sup>2</sup> )		Αριθμός κοιλοτήτων		Πάχος περικαρπίου (mm)	
	M.O.	H	M.O.	H	M.O.	H
Sahara X Μακεδονία F <sub>1</sub>	1,44	95*	5,4	112*	72	92*
Sahara X Μακεδονία F <sub>2</sub>	1,5	104***	4,63	86***	64	89***
Sahara X Αρτέμιδα F <sub>1</sub>	1,19	79*	3,47	72*	72	92*
Sahara X Αρτέμιδα F <sub>2</sub>	1,21	102***	4,5	130***	77	107***
Αρτέμιδα X Μακεδονία F <sub>1</sub>	0,87	86**	5,11	97**	63	89**
Αρτέμιδα X Μακεδονία F <sub>2</sub>	0,96	110***	5,56	109***	64	102***
Sahara X Iron F <sub>1</sub>	1,37	87**	3,66	76**	71	92**
Sahara X Iron F <sub>2</sub>	1,49	109***	5,21	142***	60	85***
Μακεδονία	1,14		4,25		67	
Αρτέμιδα	0,89		6,28		75	
Sahara F <sub>1</sub>	1,51		4,83		78	
Iron F <sub>1</sub>	1,65		4,8		76	

\* Έναντι του υψηλοαποδοτικού γονέα, \*\* Έναντι του μ.ό. των γονέων, \*\*\* Έναντι της F<sub>1</sub>.

**Πίνακας 4.** Παρουσία ή απουσία τριών ανεπιθύμητων χαρακτηριστικών στα γενετικά υλικά.

Γενετικό υλικό	Πράσινοι ώμοι (1=απουσία 9=παρουσία)		Σχήμα καρπού Δπολ/Δισημ		Παραμόρφωση 1 <sup>ου</sup> άνθους (1=απουσία 9=παρουσία)	
	M.O.	CV(%)	M.O.	CV(%)	M.O.	CV(%)
Sahara X Μακεδονία F <sub>1</sub>	9	0	0,80	6	1	0
Sahara X Μακεδονία F <sub>2</sub>	9	0	0,84	9	1	0
Sahara X Αρτέμιδα F <sub>1</sub>	1,8	141	0,89	9	1	0
Sahara X Αρτέμιδα F <sub>2</sub>	1	0	0,81	9	1	0
Αρτέμιδα X Μακεδονία F <sub>1</sub>	9	0	0,81	4	2,6	1
Αρτέμιδα X Μακεδονία F <sub>2</sub>	3,4	114	0,78	6	8,11	33
Sahara X Iron F <sub>1</sub>	1,8	141	0,97	9	1	0
Sahara X Iron F <sub>2</sub>	1	0	0,85	5	1,8	141
Μακεδονία	9	0	0,76	6	5	84
Αρτέμιδα	1	0	0,73	4	7,4	5
Sahara F <sub>1</sub>	8,2	31	0,86	8	1	0
Iron F <sub>1</sub>	1	0	0,89	9	1,8	141



Σχέδιο 1. Δενδρόγραμμα, με βάση δεδομένα 36 μορφολογικών χαρακτηριστικών από τα τέσσερα γενετικά υλικά και τις διασταυρώσεις τους, που προέκυψε με την εφαρμογή της μεθόδου UPGMA.

σχήμα. Η παραμόρφωση άνθους αποκρύφτηκε στην  $F_1$  της διασταύρωσης Αρτέμιδα Χ Μακεδονία, ενώ μεγιστοποιήθηκε στην  $F_2$ , επιβάλλοντας προσεκτικούς χειρισμούς στο πρόγραμμα επιλογών. Επιπλέον, το σχήμα της ανωτέρω  $F_1$  βελτιώθηκε προς το σφαιρικό, συσχετιζόμενο με την απουσία παραμόρφωσης άνθους. Αυτό σημαίνει ότι απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή στους γονείς με ανεπιθύμητο συνδυασμό χαρακτηριστικών.

(γ) Γενετική συγγένεια υλικών: Η διερεύνηση της γενετικής συγγένειας των συγκεκριμένων γενετικών υλικών (Σχέδ. 1) επιτρέπει την εκτίμηση του επιπέδου και της κατανομής της γενετικής ποικιλότητας εντός και μεταξύ αυτών. Υπαρξη περιορισμένης ποικιλότητας μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη ανθεκτικότητα σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις, καθώς και περιορισμένη πρόοδο με την επιλογή (Taller & Bernardo 2004). Το δενδρόγραμμα αποδίδει ομαδοποίηση των γενετικών υλικών σύμφωνα με την προέλευση, ως εξής: (1) Το εγχώριο γενετικό υλικό ταξινομείται σε διαφορετική ομάδα, πολύ απομακρυσμένη, από το εισαγόμενο. Η παλαιά εγχώρια ποικιλία Μακεδονία ταξινομείται στην ίδια ομάδα με τη νέα ποικιλία Αρτέμιδα (Christakis & Fasoulas 2002), υποδηλώνοντας ότι η Αρτέμιδα έχει πιθανό πρόγονο που εξελικτικά προσεγγίζει την παλαιά ποικιλία. (2) Η διασταύρωση εντός του εγχώριου υλικού (απλό υβρίδιο) ταξινομείται στην ομάδα του εγχώριου υλικού, αλλά σε απόσταση από τους γονείς, και ιδιαίτερα από το θήλυ γονέα. (3) Η διασταύρωση εντός των εισαγόμενων υλικών (διπλό υβρίδιο) ταξινομείται σε ανεξάρτητη ομάδα, που προσεγγίζει τα εισαγόμενα υλικά. (4) Οι διασταυρώσεις δοκιμής εισαγόμενο υλικό Χ εγχώρια ποικιλία, προκαλώντας απότομες αλλαγές στις συχνότητες των γονιδίων, απομάκρυναν τα προϊόντα τους από τους γονείς. (5) Οι  $F_2$  όλων των ανωτέρω ταξινομούνται στην ίδια ομάδα με την αντίστοιχη  $F_1$ , αφού αποτελούν προϊόντα μαζικής επιλογής, η οποία προκαλεί μικρή αλλαγή στη συχνότητα των γονιδίων.

Καταληκτικά, σε ένα βελτιωτικό πρόγραμμα τομάτας, απαραίτητη είναι η γνώση του γενετικού φορτίου του υλικού εκκίνησης. Για να μεγιστοποιηθεί η πιθανότητα απομόνωσης επίλεκτων καθαρών σειρών ή ποικιλιών, δηλαδή να επιτευχθεί η σταθεροποίηση της ετέρωσης, απαιτείται γνώση της δράσης των γονιδίων. Είναι επίσης γνωστό, ότι στο υλικό εκκίνησης το φορτίο των εκφυλιστικών γονιδίων μειώνεται με την εφαρμογή μεθοδολογίας βελτίωσης (Rodríguez and Hallauer 1988), ενώ η ταχύτητα μείωσης αυτού επιβραδύνεται στις προχωρημένες γενεές (Gardner 1978). Άρα το υλικό εκκίνησης θα πρέπει να έχει χαμηλό φορτίο εκφυλιστικών γονιδίων, ώστε η πορεία της επιλογής να μην είναι χρονοβόρα. Τέλος, στην προσπάθεια δημιουργίας νέων ποικιλιών και υβριδίων τομάτας, είναι σημαντική η αξιοποίηση γονιδιακών αποθεμάτων μεγάλης γενετικής απόστασης, η οποία ευνοώντας τις απότομες αλλαγές στις συχνότητες των γονιδίων δημιουργεί νέα παραλλακτικότητα.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Christakis, P.A., and A.C. Fasoulas, 2002. The effects of the genotype by environmental interaction on the fixation of heterosis in tomato. *J. Agric. Sci.* 139: 55-60.
- Dhillon, B.S., 1998. Maize. In S.S. Banga and S.K. Banga (eds.) *Hybrid Cultivar Development*. Springer Verlag, Berlin, pp. 282-315.
- Dudley, J.W., 1988. Evaluation of maize populations as sources of favorable alleles. *Crop Sci.* 28: 486-491.

- Falconer, D.S., 1989. Introduction to Quantitative Genetics, 3<sup>rd</sup> edn. Longman, New York, 340 pp.
- FASOULAS, A.C., 1988 The Honeycomb Methodology of Plant Breeding. A.C. Fasoulas, P.O. Box 1555, GR-54124, Thessaloniki 17, Greece, pp. 167.
- Gardner, C.O., 1978. Population improvement in maize. In D.H. Walden (ed.) Maize Breeding and Genetics, pp. 207-228, New York, John Willey & Son.
- Κούτσικα-Σωτηρίου, Μ., Τράκα-Μαυρονά, Α., Σαμαράς, Σ. και Ν. Σταυρόπουλος, 2003. Κριτήρια επιλογής σε αρχικό υλικό εκκίνησης τομάτας. Πρακτικά 21<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Ο., Ιωάννινα, 8-10/10/03 (υπό εκτύπωση).
- Rodriguez, O.A. and A.R. Hallauer, 1988. Effects of recurrent selection in corn population. Crop Sci. 28: 796-800.
- Scott, J.W. and F.F. Angell, 1998. Tomato. In S.S. Banga and S.K. Banga (eds.) Hybrid Cultivar Development. Springer Verlag, Berlin, pp. 453-475.
- Sprague, G.F. and S.A. Eberhart, 1977. Corn Breeding. pp. 305-363. In: G.F. SPRAGUE (ed.). Corn and Corn Improvement. Madison, WI: Amer. Soc. Agron.
- Stevens, M. and C.M. Rick, 1986. Genetics and Breeding. In J.G. Atherton and J. Rudich (eds.) The Tomato Crop, Chapman and Hall, London, pp. 35-100.
- Tailler, J.M. and R. Bernardo, 2004. Diverse adapted populations for improving northern maize inbreds. Crop Sci. 44: 1444-1449.

## MULTIPLE CRITERIA OF ASSESSMENT OF TOMATO GERMPLASM

Ekaterini Traka-Mavrona<sup>1</sup>, Metaxia Koutsika-Sotiriou<sup>2</sup> and Kostantinos Tertivanidis<sup>3</sup>

<sup>1</sup>National Agricultural Research Foundation (N.A.G.R.E.F.), Agricultural Research Center of Macedonia-Thrace, 570 01 Thermi, Thessaloniki, Greece.

<sup>2</sup>Aristotelian University of Thessaloniki, Faculty of Agriculture, Laboratory of Genetics and Plant Breeding, 541 24 Thessaloniki, Greece.

<sup>3</sup>Direction of Agricultural Development of Chalkidiki, Poligiros.

### SUMMARY

In hybrid breeding, the choice of germplasm should be based on geographic origin, pedigree, heterotic patterns, performance *per se*, tolerance to inbreeding, adaptability, and desirable agronomic traits. The present study proposes a mating design for tomatoes hybrid evaluation as source germplasm, incorporating the above criteria into three groups, as follows: (a) heterotic traits, (b) undesirable traits, and (c) phylogenetic relationships. The source germplasm included the testcrosses of the commercial hybrid Sahara (F<sub>1</sub>) with the local cvs. Makedonia and Artemida, the single cross Artemida X Makedonia, the cross Sahara (F<sub>1</sub>) X Iron (F<sub>1</sub>), and the F<sub>2</sub> of all crosses. Yield potential, fruit quality, physiological disorders and plant description were recorded on a single plant basis. Phylogenetic relationship was studied by the multivariate cluster analysis, using UPGMA (Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average) and PCA (Principal Component Analysis). The probability of identifying superior crosses through the proposed mating designs is greater, when: (a) heterotic populations of known gene action are used as stock gene pools, and (b) the heterotic pools are as diverged as possible because the heterosis depends on the differences in allele frequency between the two populations.

## Η ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΣΤΟ ΜΑΡΟΥΛΙ

Ποντίκη Μ., Τσαντάρης Α. Σ., Κούτσικα-Σωτηρίου Μ. και Ε. Γουλή-Βαβδινούδη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το μαρούλι (*Lactuca sativa*) είναι μέλος της οικογένειας Compositae (Asteraceae) και ανήκει στο γένος *Lactuca*. Η παρούσα εργασία έχει ως σκοπό την βιβλιογραφική ανασκόπηση της γενετικής – βελτίωσης στο μαρούλι. Το γένος αυτό περιλαμβάνει περισσότερα από 100 είδη με βασικό χρωμοσωμικό αριθμό  $x=5$ , 8 ή 9. Μέσα στο είδος *L. sativa* υπάρχει ευρεία μορφολογική παραλλακτικότητα και όσον αφορά στο φυλλώδες τμήμα του, χαρακτηρίζεται ως ένα έντονα πολυμορφικό είδος. Η μεγάλη σπουδαιότητα της καλλιέργειας ως λαχανικό προέτρεψε τους βελτιωτές να ασχοληθούν με αυτό και οδήγησε από πολύ νωρίς τις μεγάλες εταιρείες σποροπαραγωγής στην δημιουργία και εισαγωγή νέων και ασυνήθιστων ποικιλιών κάθε χρόνο. Οι στόχοι των βελτιωτικών προγραμμάτων σήμερα εκτείνονται στις αντοχές σε ασθένειες και παθογόνα, σε αυξημένη παραγωγή, ομοιομορφία παραγωγής, βελτίωση αγρονομικών χαρακτηριστικών όπως η ποιότητα και η αντοχή στην πρόωρη έκπτυξη ανθικού στελέχους.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μαρούλι (*Lactuca sativa*) είναι ένα από τα πιο δημοφιλή λαχανοκομικά φυτά στον κόσμο. Είναι φυτό ετήσιο που ευδοκίμει στην διάρκεια ψυχρών περιόδων του έτους και καλλιεργείται κυρίως στο ύπαιθρο. Χωρίς να είναι ιδιαίτερα πλούσιο σε βιταμίνες και ανόργανα άλατα εκτιμάται ιδιαίτερα από τους καταναλωτές για την διατητική του αξία. Με βάση την θρεπτική του αξία το μαρούλι κατατάσσεται στην 26<sup>η</sup> θέση στον κόσμο ανάμεσα στα κοινά φρούτα και λαχανικά. Επίσης κατέχει την 4<sup>η</sup> θέση, σε κατανάλωση, στις Η.Π.Α. μετά από την τομάτα, τα εσπεριδοειδή και την πατάτα. Όσον αφορά στη βελτίωση, η ιδιαίτερη προτίμηση των καταναλωτών στο μαρούλι ως λαχανικό, οδήγησε από πολύ νωρίς τις μεγάλες εταιρείες σποροπαραγωγής στην δημιουργία και εισαγωγή νέων και ασυνήθιστων ποικιλιών κάθε χρόνο. Κάποιες από αυτές τις «νέες ποικιλίες» ήταν στην πραγματικότητα πολύ παλιές που καλλιεργούνταν σε συγκεκριμένες περιοχές για πολλά χρόνια. Μέχρι το 1848 υπήρχαν λίγες ποικιλίες για επιλογή αλλά αργότερα καθώς το ενδιαφέρον για την καλλιέργεια του μαρουλιού ολοένα αυξανόταν, άρχισε η επιλεκτική βελτίωση.

### Καταγωγή ιστορικό και διάδοση

Το μαρούλι πιστεύεται ότι είναι ιθαγενές της Ανατολικής Μεσογείου και του εσωτερικού της Μικράς Ασίας. Σε σύγκριση με το καλαμπόκι και τα κολοκυνθοειδή, έχει εισαχθεί σχετικά πρόσφατα στη ζωή του ανθρώπου ως καλλιεργούμενο είδος.

Η καλλιέργειά του πιστεύεται ότι άρχισε το 4.500 π.Χ. περίπου, από του Αρχαίους Αιγυπτίους. Σε τοίχους Αιγυπτιακών τάφων βρέθηκαν ζωγραφίες που αντιπροσώπευαν φύλλα μαρουλιού του τύπου ρομάνο, γεγονός που δείχνει ότι το μαρούλι αποτελούσε μία κοινή καλλιέργεια για την εποχή εκείνη. Οι χρήσεις του αρχικά περιορίζονταν στις θεραπευτικές του ιδιότητες και στην παραγωγή εδώδιμου λαδιού από τους σπόρους του. Ως λαχανικό εξαπλώθηκε πολύ γρήγορα στην Ευρώπη ιδίως στην περιοχή της Μεσογείου όπου οι Αρχαίοι Έλληνες και Ρωμαίοι του είχαν δώσει ιδιαίτερη αξία. Αργότερα με την συμβολή Ισπανών εξερευνητών μεταφέρθηκε και έγινε γνωστό στον Νέο Κόσμο το 1494 μ.Χ. περίπου.

### Καλλιεργούμενη έκταση και παραγωγή

Στην παγκόσμια κατάταξη, τα τελευταία χρόνια, η Κίνα κατέχει την πρώτη θέση στην παραγωγή μαρουλιού ενώ ακολουθούν οι Η.Π.Α. και η Ισπανία. Επίσης από το 2002 μέχρι σήμερα η παγκόσμια παραγωγή κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα, γύρω στους 18-19 χιλιάδες μετρικούς τόνους. Στην Ελλάδα η έκταση που καταλαμβάνει η καλλιέργεια του μαρουλιού είναι 37.300 στρέμματα (1998) ενώ η ετήσια παραγωγή φτάνει τους 69.340 τόνους (1998). Τα τρία τελευταία χρόνια παρατηρείται μία σταθερότητα στην παραγωγή της καλλιέργειας (Σιάμος, 2000)

## Ταξινόμηση και βοτανικό χαρακτηριστικά

Το μαρούλι είναι μέλος της οικογένειας Compositae (Asteraceae) και ανήκει στο γένος *Lactuca*. Το γένος αυτό περιλαμβάνει περισσότερα από 100 είδη, κυρίως ενδημικά των νοτίων εύκρατων περιοχών. Το καλλιεργούμενο μαρούλι ανήκει στο είδος *Lactuca sativa* και μαζί με τα άγρια είδη *Lactuca virosa*, *Lactuca saligna* και *Lactuca serriolla* συνιστά μια ομάδα τεσσάρων ειδών, γηγενών της λεκάνης της Μεσογείου, που εμφανίζεται γενετικά απομονωμένη από άλλα είδη με εννέα χρωμοσώματα. Το καλλιεργούμενο είδος διαφέρει από τα άγρια, στα πλατιά κατώτερα φύλλα και στην τάση να σχηματίζει κεφαλή.

Είναι φυτό ετήσιο, ποώδες με γαλακτώδη χυμό. Το ριζικό του σύστημα αποτελείται από μια ταχύτατα αναπτυσσόμενη ρίζα και πλάγιες ρίζες με αρχικά οριζόντια ανάπτυξη. Η βλαστική ανάπτυξη γίνεται με τη μορφή ροζέτας των φύλλων πάνω σε ένα βραχύ βλαστό. Όσον αφορά στο φυλλώδες τμήμα του, το μαρούλι χαρακτηρίζεται ως ένα έντονα πολυμορφικό είδος. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην φαινοτυπική πλαστικότητα των χαρακτηριστικών του φυλλώματος και της κεφαλής αλλά και στην έντονη φυσική και ανθρώπινη επιλογή που ασκήθηκε στο τμήμα αυτό.

Κατά την αναπαραγωγική ανάπτυξη του φυτού σχηματίζεται το ανθικό στέλεχος. Τα άνθη φέρονται σε ταξιανθία κεφάλιο η οποία περιβάλλεται από μια σειρά βράκτιων. Κάθε ταξιανθία φέρει πάνω από 20 ανθίδια. Κάθε ανθίδιο αποτελείται από 5 πέταλα και 5 ανθήρες που ενώνονται σχηματίζοντας έναν σωλήνα που περιβάλλει τον κεντρικό στύλο. Το άνθος είναι ερμαφρόδιτο και ανοίγει για μια μόνο φορά το πρωί και για σύντομο χρονικό διάστημα. Το μαρούλι θεωρείται ένα υποχρεωτικά αυτογονιμοποιούμενο είδος ενώ έχει βρεθεί ότι το ποσοστό σταυρογονιμοποίησης φτάνει στο 1%. Ο καρπός του είναι αχάινιο με ένα μόνο σπέρμα.

### Καλλιεργούμενοι τύποι μαρουλιού

Όλες οι ποικιλίες και τα υβρίδια μαρουλιού που καλλιεργούνται ανά τον κόσμο κατατάσσονται σε 5 τύπους ή αλλιώς βοτανικές ποικιλίες: στον συμπαγή κεφαλωτό (var. *capitata*), χαλαρό κεφαλωτό ή βουτύρου ή ημικεφαλωτό (var. *capitata*), ρωμάνα (var. *longifolia*), σαλάτα (var. *crispa*) και στον τύπο σπαραγγιού ή κινέζικο μαρούλι (var. *asparagina*).

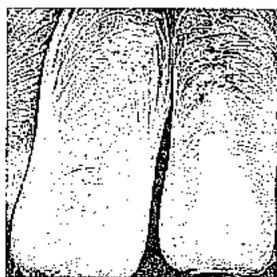
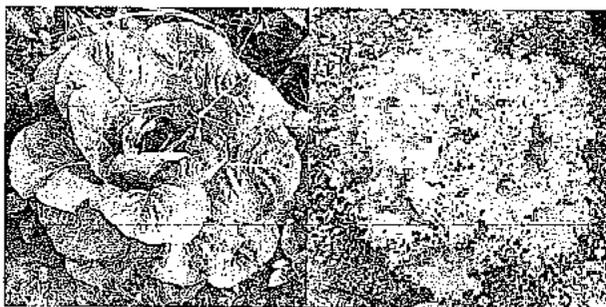
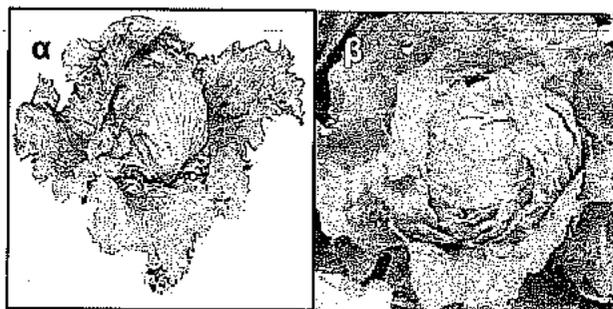
Ο κεφαλωτός τύπος (*crisphead* ή *iceberg*) είναι ο πιο διαδεδομένος στον κόσμο και κυριαρχεί στις Η.Π.Α., ενώ στη χώρα μας καλλιεργείται σε περιορισμένη έκταση. Χαρακτηρίζεται από συμπαγείς και μεγάλες κεφαλές και φύλλα εύθραυστα, κατασρά με ευδιάκριτα νεύρα (Εικόνα 1α). Είναι ευαίσθητος στις υψηλές θερμοκρασίες ενώ παρουσιάζει την μεγαλύτερη αντοχή στο ψύχος. Επίσης εμφανίζει μεγάλη αντοχή στους μετασυλλεκτικούς χειρισμούς και μπορεί να καλλιεργηθεί τόσο στο θερμοκήπιο όσο και στην ύπαιθρο.

Ο ημικεφαλωτός τύπος (*butterhead*) είναι περισσότερο διαδεδομένος στην Βόρεια και Κεντρική Ευρώπη και καλλιεργείται συνήθως στο θερμοκήπιο. Έχει λεία, μαλακά και ευλύγιστα φύλλα που σχηματίζουν μια χαλαρή και μικρή κεφαλή. Τα φύλλα του λόγω της μορφολογίας του το καθιστούν ευαίσθητο στους χειρισμούς μετά την συγκομιδή (Εικόνα 1β). Ο τύπος αυτός έχει κανονποιητική αντοχή στο ψύχος.

Τα μαρούλια του τύπου ρωμάνα (*romaine* ή *cos*) είναι τα δημοφιλέστερα στην χώρα μας. Χαρακτηρίζονται από μακριά, στενά και σε όρθια έκφυση φύλλα (Εικόνα 1γ). Είναι ο πιο ευαίσθητος τύπος σε αντίξοες καιρικές συνθήκες και έχει μικρή αντοχή στο ψύχος.

Ο τύπος σαλάτα (*looseleaf* ή *bunching* ή *leaf*) είναι αρκετά διαδεδομένος στη χώρα μας και καλλιεργείται στις χώρες της Κεντρικής και Βόρειας Ευρώπης σε θερμοκήπια ενώ στην Λεκάνη της Μεσογείου στο ύπαιθρο. Πρόκειται για μια εξαιρετικά ετερογενή ομάδα με μικρή αντοχή στις χαμηλές θερμοκρασίες και περιορισμένη μετασυλλεκτική ζωή.

Τέλος ο τύπος σπαραγγιού (*stem lettuce* ή *celtuce*) περιλαμβάνει πολυετή φυτά, δημοφιλή κυρίως στην Απω Ανατολή, με χονδρό και σαρκώδες στέλεχος.



Εικόνα 1: Οι καλλιεργούμενοι τύποι του μαρουλιού. α) κεφαλωτός, β) ημικεφαλωτός, γ) ρωμάνα, δ) σαλάτα και ε) σπαραγγιού

### Γενετική στο μαρούλι

Το γένος *Lactuca* περιλαμβάνει είδη με βασικό χρωμοσωμικό αριθμό  $x=5$ , 8 ή 9. Κάποια από αυτά είναι φυσικά πολυπλοειδή με σωματικό αριθμό  $2n=32$ , 34, 36 και 48. Ωστόσο υπάρχουν και είδη προερχόμενα από πολυπλοειδή, με  $n=17$ , όπως τα *L. canadensis* και *L. gaminifolia*. Αυτά τα είδη ενδημούν στην Βόρεια Αμερική και πιθανόν να είναι αμφιδιπλοειδή προερχόμενα από υβριδισμό μεταξύ  $n=8$  και  $n=9$  διπλοειδών φυτών.

Το μαρούλι θεωρείται φυτό κατάλληλο για γενετικές μελέτες λόγω του μικρού κύκλου ζωής, του ολοκληρωτικά αυτογόνιμου χαρακτήρα του που του εξασφαλίζει υψηλό ρυθμό αυτεπικονίασης και του μεγάλου αριθμού διασταυρώσεων που είναι δυνατό να διεξαχθούν σε ένα φυτό. Η δυσκολία παραγωγής υβριδίουσπορου και ο μικρός αριθμός παραγόμενων σπόρων από μία επικονίαση είναι προβλήματα τα οποία εύκολα μπορούν να ξεπεραστούν κατά τη διάρκεια των βελτιωτικών προγραμμάτων.

Η μεγάλη σπουδαιότητα της καλλιέργειας ως λαχανικό σε Αμερική και Ευρώπη προέτρεψε τους βελτιωτές να ασχοληθούν με το μαρούλι γεγονός που στην καλύτερη κατανόηση της γενετικής του. Οι Robinson *et al.* (1983) περιέγραψαν 59 γονιδιακές θέσεις οι οποίες περιελάμβαναν: 6 που επηρεάζουν την ανθοικιανίνη, 10 που καθορίζουν την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη, 11 που επιδρούν στη μορφολογία του φύλλου, 4 που επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά κεφαλής, 7 για τα χαρακτηριστικά του άνθους και του σπόρου, 7 για την αρρενοστεριότητα 13 για αντοχή σε ασθένειες και 1 για αντοχή σε συστηματικό εντομοκτόνο.

Γονίδια όπως αυτά που καθορίζουν την περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνη και την κατανομή και περιεκτικότητα της χλωροφύλλης είναι πολύ χρήσιμα καθώς εκφράζονται στο στάδιο του φυταρίου. Η γενετική ανάλυση στο μαρούλι μπορεί να γίνει σε σύντομο χρόνο και με μικρή προσπάθεια. Τέτοια γονίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες στο στάδιο του φυταρίου ώστε κατά τις σταυρεπικονιάσεις να μπορεί να διαχωριστεί ο αυτογονιμοποιούμενος σπόρος από το υβρίδιο.

## Γενετικό υλικό

### I. Υπάρχουσες συλλογές

Μέσα στο είδος *L. sativa* υπάρχει ευρεία μορφολογική παραλλακτικότητα. Αλλαγές στο σχήμα των φύλλων και στην ανάπτυξη της κεφαλής έχουν οδηγήσει στην κατάταξη όλων των καλλιεργούμενων ποικιλιών του μαρουλιού στους 5 βοτανικούς τύπους που προαναφέρθηκαν.

Οι ήδη υπάρχουσες ποικιλίες ποικίλλουν όσον αφορά το μέγεθος χρώμα και εμφάνιση και αποτελούν μια καλή γενετική πηγή για τον βελτιωτή. Πολλές από αυτές διαθέτουν γονίδια ανθεκτικότητας σε ασθένειες, ιούς, αφίδες και άλλα παθογόνα. Οι περισσότερες από τις παλιές ποικιλίες δεν διατηρούνται πλέον από τους βελτιωτές αλλά είναι διαθέσιμες σε εκτεταμένες συλλογές ανά τον κόσμο. Τέτοιες συλλογές γενετικού υλικού του μαρουλιού βρίσκονται στα: Department of Agriculture στην Αμερική, Centre for Resources Genetic στην Ολλανδία, και Resources Horticulture Research International στην Μ. Βρετανία.

### II. Άγρια είδη

Πέρα από τις καλλιεργούμενες ποικιλίες και τους οικότυπους, υπάρχουν κάποια στενά συγγενικά είδη που αποτελούν μια δυναμική πηγή παραλλακτικότητας κυρίως όσον αφορά την αντοχή σε ασθένειες και παθογόνα. Από τα πολλά είδη του γένους *Lactuca* μόνο 4 βρέθηκαν να αποτελούν μια χρήσιμη για τη βελτίωση ομάδα. Πρόκειται για τα *L. sativa*, *L. serriola*, *L. saligna* και *L. virosa* τα οποία είναι αναπαραγωγικά απομονωμένα από τα υπόλοιπα του γένους. Κάθε ένα από αυτά έχει  $2n=2x=18$  χρωμοσώματα.

Το *L. serriola* παρά τις μορφολογικές διαφορές που εμφανίζει με το μαρούλι, διασταυρώνεται εύκολα με αυτό και δίνει παραγωγικό υβρίδιο. Το είδος αυτό θεωρείται πρόγονος του μαρουλιού. Από την άλλη πλευρά οι διασταυρώσεις με το *L. saligna* δεν είναι πάντα επιτυχείς. Ωστόσο αν αυτό χρησιμοποιηθεί ως θηλυκός γονέας λαμβάνονται γόνιμα υβρίδια. Όσον αφορά το *L. virosa* σπάνια οι διασταυρώσεις του με το μαρούλι είναι επιτυχείς και συνήθως παράγονται στείρα υβρίδια. Παρολ' αυτά από μια τέτοια διασταύρωση δημιουργήθηκε η ποικιλία "Vanguard" χρησιμοποιώντας το *L. virosa* ως πηγή αντοχής στην αφίδα και το *L. serriola* σαν γέφυρα (Benink *et al.*, 1982). Σήμερα με την τεχνική της εμβρυοδιάσωσης είναι δυνατό να αυξηθούν οι πιθανότητες επιτυχίας τέτοιων διασταυρώσεων (Maisonpneuve, 1988). Τέλος η σύντηξη πρωτοπλαστών μπορεί να βοηθήσει καλύτερη αξιοποίηση εξωτικού γενετικού υλικού, ιδίως για είδη όπως το *L. perennis* το οποίο δεν είναι συμβατό με το *L. sativa* (Brown, 1986).

## Η ιστορία της βελτίωσης στο μαρούλι

Η πορεία της εξέλιξης του καλλιεργούμενου μαρουλιού είναι αβέβαιη. Μια θεωρία αναφέρει ότι πιθανόν το *L. sativa* προήλθε άμεσα από το *L. serriola* μέσω επιλογής καθώς όλες οι μορφές παραλλακτικότητας στο καλλιεργούμενο μαρούλι είναι εμφανείς και στο *L. serriola* εκτός από κάποιους ακραίους τύπους. Αν δεν λάβουμε υπόψη αυτή τη θεωρία τότε θα πρέπει να εξετάσουμε τις ομοιότητες των δύο ειδών με άλλο τρόπο. Ο Lindqvist (1960) προτείνει τρεις πιθανότητες: α) και τα δύο είδη μπορεί να προήλθαν από πληθυσμούς υβριδίων που διαχωρίζονται σε δύο ομάδες, *L. sativa* καλλιεργούμενο από τον άνθρωπο και *L. serriola* που προσαρμόστηκε στο περιβάλλον του ανθρώπου, β) οι πρόγονοι του *L. sativa* μπορεί να ήταν υβρίδια μεταξύ του *L. serriola* και ενός τρίτου είδους, γ) το *L. serriola* μπορεί να ήταν ένα προϊόν υβριδισμού μεταξύ *L. sativa* και άλλων ειδών.

Κατά τη μεταβίβαση από τα άγρια είδη στο καλλιεργούμενο μαρούλι η επιλογή γινόταν με βάση χαρακτήρες όπως η μορφή της «καρδιάς», η μειωμένη περιεκτικότητα σε γαλακτικό χυμό, η απουσία αγκαθιών, αυξημένο μέγεθος κεφαλής και αντοχή σε πρόωρη έκπτυξη ανθικού στελέχους. Η πρώτη επιλογή πραγματοποιήθηκε στο μαρούλι κατά την εξημέρωσή του ήταν η επιλογή για χαμηλή περιεκτικότητα σε πικρό, γαλακτικό χυμό. Μεγάλη έμφαση ωστόσο δόθηκε και στις κεφαλές που δεν τινάζουν τον σπόρο καθώς επίσης και στο μέγεθος του σπόρου. Αργότερα πιο επίσημα προγράμματα βελτίωσης άρχισαν να στρέφονται σε αυξημένες αντοχές σε ασθένειες, κυρίως περονόσπορο, και στο μωσαϊκό του μαρουλιού.

Η μεγάλη παραλλακτικότητα που εμφανίζει το μαρούλι περιορίζεται στο βλαστικό τμήμα του, που αποτελεί και το οικονομικής αξίας μέρος του φυτού. Υπάρχει μια μεγάλη παραλλακτικότητα όσον αφορά το μήκος, σχήμα και υφή των φύλλων, το μέγεθος και τον τύπο κεφαλής. Αυτή πιθανόν να οφείλεται στην προέλευση και προηγούμενη ανάπτυξη των ειδών στη Μεσόγειο, όπου οι πολλοί και ποικίλοι πολιτισμοί άσκησαν διάφορων μορφών πίεση επιλογής.

Οι περισσότερες από τις πρώτες ποικιλίες που δημιουργήθηκαν ήταν με στενά φύλλα και χωρίς κεφαλή. Η ανάπτυξη ποικιλιών στην Ευρώπη και αργότερα στις Η.Π.Α. έδινε έμφαση στο σχηματισμό κεφαλής. Οι ευρωπαϊκές ποικιλίες ήταν κυρίως ημικεφαλωτές ενώ στην Αμερική κυριαρχούσαν οι κεφαλωτές. Δεν είναι γνωστό πότε εμφανίστηκε για πρώτη φορά ο κεφαλωτός χαρακτήρας αλλά η πρώτη ακριβής απόδειξη για την ύπαρξή του ήταν το 1543 (Helm, 1954).

Στις αρχές του 1926 η εμφάνιση μιας ασθένειας άγνωστης προελεύσεως οδήγησε στην ανάπτυξη μιας μεγάλης ομάδας ποικιλιών ανθεκτικών, της ομάδας Imperial. Η συνεχής έμφαση στο χρώμα, μέγεθος, βάρος και αντοχή στην πρόωρη άνθηση και σε ασθένειες οδήγησε στην ανάπτυξη των ποικιλιών Great Lakes που πρωτοεμφανίζονται το 1941 και υπερέχουν των Imperial.

Οι Imperial και Great Lakes βρέθηκε ότι ήταν ευαίσθητες σε μία νέα φυλή του περονόσπορου που εμφανίστηκε το 1932. Τότε δημιουργήθηκαν οι ανθεκτικές ποικιλίες Valverde και Calmar. Άγρια είδη του γένους *Lactuca* αξιοποιήθηκαν αρκετά στα βελτιωτικά προγράμματα. Το *L. serriola* χρησιμοποιήθηκε σαν πηγή αντοχής στον περονόσπορο για τον σχηματισμό των ποικιλιών Valverde και Calmar.

### Η σύγχρονη βελτίωση στο μαρούλι

Οι στόχοι των βελτιωτικών προγραμμάτων σήμερα εκτείνονται στις αντοχές σε ασθένειες και παθογόνα, σε αυξημένη παραγωγή, ομοιομορφία παραγωγής, βελτίωση αγρονομικών χαρακτηριστικών όπως η ποιότητα και στην αντοχή στην πρόωρη έκπτυξη ανθικού στελέχους.

Οι Ryder και Waycott (1993) διαπίστωσαν ότι στην Αμερική, στην Δυτική Ευρώπη και σε πολλά άλλα μέρη του κόσμου συνέβησαν θεμελιώδεις αλλαγές στην χρήση του μαρουλιού ως λαχανικό. Η πιο σημαντική αλλαγή είναι η υιοθέτηση του κεφαλωτού τύπου μαρουλιού από χώρες που ποτέ πριν δεν χρησιμοποιούνταν. Έτσι οι συγκεκριμένοι ερευνητές δίνουν έμφαση σε νέες κατευθύνσεις και προσεγγίσεις στην έρευνα και βελτίωση του μαρουλιού.

Οι Curtis *et al.* (1996) κατάφεραν να παράγουν F<sub>1</sub> υβρίδια στο μαρούλι με μια τελείως διαφορετική προσέγγιση μέχρι τότε. Κατάφεραν να παράγουν αρρενόστειρα φυτά εκφράζοντας σε αυτά το γονίδιο μιας γλουκονάσης (PR), χρησιμοποιώντας δηλαδή την γενετική τροποποίηση.

Τα πιο πρόσφατα προγράμματα βελτίωσης αναπτύσσουν κυρίως ποικιλίες με αντοχή σε ασθένειες και ιούς. Συνεχώς εμφανίζονται νέοι παθότυποι και φυλές και η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών είναι η καλύτερη μέθοδος ελέγχου αυτών (Ryder *et al.*, 2003). Η Maisonneuve B. (2003) χρησιμοποίησε το *L. virosa* ως πηγή αντοχής στον *Bremia lactucae* ένα μερικώς συμβατό είδος με το καλλιεργούμενο μαρούλι. Απέδειξε ότι είναι δυνατό να διεισδύσουν γονίδια ανθεκτικότητας στο μαρούλι και δημιούργησε υλικό ανθεκτικό, γόνιμο με τη μορφή του ημικεφαλωτού τύπου.

### Μέθοδοι βελτίωσης

Γενεαλογική. Στη μέθοδο αυτή εφαρμόζεται επιλογή ατομικού φυτού μέχρι να επιτευχθεί η ομοζυγωτία και η τελική επιλογή είναι γενική μεταξύ των οικογενειών. Η γενεαλογική μέθοδος χρησιμοποιείται μόνο στην περίπτωση που έχουμε χαρακτηριστικά με υψηλή κληρονομικότητα που μπορούν να επιλεγούν από νωρίς. Έτσι στην περίπτωση της απόδοσης (χαμηλή κληρονομικότητα) δεν είναι αποτελεσματική η επιλογή στις πρώτες γενιές. Επίσης η μέθοδος αυτή στην περίπτωση του μαρουλιού απαιτεί 10-12 χρόνια για ολοκλήρωση καθώς για ομοζυγωτία απαιτούνται τουλάχιστον 8 γενιές αυταπικονίασης. Παρόλα αυτά η γενεαλογική επιλογή είναι πιθανόν η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τη βελτίωσή του.

Καταγωγή από μεμονωμένο σπόρο. Στόχος αυτής της μεθόδου είναι το πέρασμα των πρώτων γενεών σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα παράγοντας αν είναι δυνατό 2 ή 3 γενιές το χρόνο. Έτσι για αρκετές γενιές αυτογονιμοποίησης δεν ασκείται επιλογή. Όταν το υλικό φτάσει σε αυξημένα επίπεδα ομοζυγωτίας τότε γίνεται η πρώτη επιλογή. Η μέθοδος είναι ακατάλληλη όταν διεξάγεται πρόγραμμα που περιλαμβάνει άγρια είδη καθώς θα πρέπει να παραχθεί ένας τεράστιος αριθμός καθαρών σειρών ώστε να είμαστε σίγουροι ότι φιξάραμε τον καλύτερο γενότυπο.

**Αναδιασταύρωση.** Πρόκειται για μια στρατηγική χρήσιμη στην περίπτωση που ο στόχος του βελτιωτή είναι η μεταφορά περιορισμένων χαρακτηριστικών από τον ένα γονέα στον άλλο. Μετά από 4 γενιές αναδιασταύρωσης οι απόγονοι θεωρητικά έχουν αποκτήσει σύσταση 97% όμοια με τον επαναλαμβανόμενο γονέα. Οι ποικιλίες κεφαλατού τύπου Vanguard και Vanguard 75 δημιουργήθηκαν με αυτή την μέθοδο.

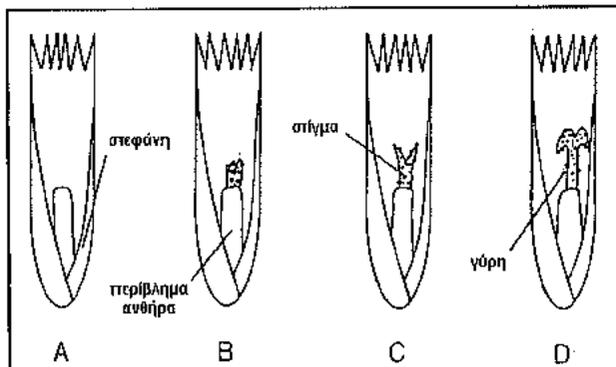
**F<sub>1</sub> υβρίδια.** Η παραγωγή F<sub>1</sub> υβριδίων είναι σπάνιο να επιτύχει καθώς το μαρούλι έχει ένα τέλειο σύστημα αυτογονιμοποίησης και δεν υπάρχουν έντομα επικονίασης που έλκονται από τα άνθη του. Επιπρόσθετα τα F<sub>1</sub> υβρίδια έχουν περιορισμένη χρήση λόγω της μειωμένης ευρωστίας τους.

**Βιοτεχνολογικές μέθοδοι.** Τα εργαλεία της βιοτεχνολογίας που χρησιμοποιούνται για τη βελτίωση του μαρουλιού είναι κυρίως η ιστοκαλλιέργεια, οι μοριακοί δείκτες και η εισαγωγή διαγονιδίων (γενετική τροποποίηση). Ο πολλαπλασιασμός από ακραίους οφθαλμούς της κεφαλής που επιλέγεται καθώς και η τεχνική της εμβρυοδιάσωσης χρησιμοποιούνται συχνά από τους βελτιωτές και διευκολύνουν το έργο τους. Η τεχνολογική πρόοδος έχει δημιουργήσει νέους και πιο αποτελεσματικούς τρόπους για την ανάλυση και διαχείριση της φυσικής γενετικής παραλλακτικότητας. Σήμερα είναι διαθέσιμοι διάφοροι τύποι γενετικών δεικτών που βοηθούν στην διάκριση κύριων διαφορών μεταξύ ειδών αλλά και λεπτών διαφορών ανάμεσα και μέσα στις ποικιλίες μαρουλιού. Οι στόχοι των βιοτεχνολογικών μεθόδων είναι η αντοχή σε ιούς, βακτήρια, μύκητες, αντοχή σε ζιζανιοκτόνα (κυρίως στις Η.Π.Α.) και η διαφοροποίηση του μεταβολισμού των νιτρικών.

### Η τεχνική των διασταυρώσεων

Όπως προαναφέρθηκε τα άνθη του μαρουλιού φέρονται σε ταξιανθία κεφάλιο. Τα άνθη ανοίγουν μόνο μια φορά και η διαδικασία διαρκεί μια με δύο ώρες. Υψηλή θερμοκρασία και αυξημένο φως επιταχύνουν την διαδικασία άνθησης. Γι' αυτό και η αποστημόνωση πρέπει να γίνεται πολύ νωρίς στις ζεστές και ηλιόλουστες μέρες.

Για την προετοιμασία του θηλυκού άνθους απομακρύνονται τα περιφερειακά ανθίδια. Η αποστημόνωση γίνεται σε ανθίδια που ανοίγουν την ίδια μέρα και στο κατάλληλο στάδιο της άνθησης (Εικόνα 2).



**Εικόνα 2:** Δομή και στάδια άνθησης του ανθιδίου του μαρουλιού. Το στάδιο C είναι το κατάλληλο για αποστημόνωση.

Μια - δυο μέρες πριν την άνθηση συγκεντρώνεται η γύρη για την επικονίαση. Η έκχυση της γύρης μπορεί να γίνει μετά το χωρισμό των λοβών του στίγματος και την έκθεση της υποδεκτικής επιφάνειάς τους (Γουλή - Βαβδινούδη κ.α., 2001).

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Brown, C. 1986. The generation of variability in lettuce, *Lactuca sativa* L., using tissue culture methods. PhD Thesis. University of Nottingham.
- Γουλή-Βαβδινούδη, Ε., Κούτσικα-Σωτηρίου, Μ. 2001. Εγχειρίδιο στην τεχνική των διασταυρώσεων στα καλλιεργούμενα φυτά. Σημειώσεις: σελ. 162-165.
- Curtis, S., He, C., Scott, R., Power, J.B., and Davey, R.M. 1996. Genomic male sterility in lettuce, a baseline for the production of F<sub>1</sub> hybrids. *Plant Science* 113:113-119.
- Eenink, A.H., Groenwold, R., and Dielman, F.L. 1982. Resistance of lettuce to the leaf aphid *Nasonovia ribis-nigri*. 1. Transfer of resistance from *L. virosa* to *L. sativa* by interspecific crosses and selection of resistant breeding lines. *Euphytica* 31:291.
- Helm, J. 1954. *Lactuca sativa* in morphologisch-systematischer Sicht. *Kulturpflanze* 2:72-129.
- Lindvist, K. 1960. On the origin of cultivated lettuce. *Hereditas* 46:319.

- Maisonneuve, B. 1988. Utilisation de la culture in vitro d'embryons immatures par les cross interspécifiques entre *Lactuca sativa* et *L. virosa* ou *L. salina*; étude des obtens. *Agronomie* 7:313.
- Maisonneuve, B. 2003. *Lactuca virosa*, a source of disease resistance genes for lettuce breeding: results and difficulties for gene introgression. *Eucarpia Leafy Vegetables*.
- Robinson, R.W., McCreight, J.D., and Ryder, E.J. 1983. The genes of lettuce and closely related species, In: Janick, J. (eds.), *Plant Breeding Reviews*, Vol. I., pp. 267.
- Ryder, E.J., Grube, R.C., Subbarao, K.V. and Koike, S.T. 2003. Breeding for resistance to diseases in lettuce: successes and challenges. *Eucarpia Leafy Vegetables*.
- Ryder, E.J., Waycott, W. 1993. New directions in salad crops: New forms, new tools, and old philosophy. In: Janick, J. And Simon, J.E. (eds.), *New Crops*. Wiley, New York.
- Σιώμος, Α. Σ. 2000. Σημειώσεις Ειδικής Λαχανοκομίας Ι, Μέρος Β'.

**ΑΠΟΚΛΙΝΟΥΣΑ ΕΠΙΛΟΓΗ ΓΙΑ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ  
ΣΤΟ *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* ΣΕ ΕΓΧΩΡΙΑ ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΠΕΠΟΝΙΟΥ**

**Γιακαλής Α. Α.<sup>1</sup>, Αναστασιάδου Α.<sup>1</sup>, Κούτσικα-Σωτηρίου Μ.<sup>1</sup>, Τράκα-Μαυρώνα Αικ.<sup>2</sup> και Κ.  
Τζαβέλα-Κλωνάρη<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.), Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών, 54 124, Θεσσαλονίκη.

<sup>2</sup>Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.), Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Μακεδονίας-Θράκης, 57 001, Θέρμη

<sup>3</sup>Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.), Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, 54 124, Θεσσαλονίκη.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της εργασίας ήταν ο εντοπισμός γενοτύπων εντός της εγχώριας ποικιλίας χειμερινού πεπονιού «Θρακιώτικο» (*Cucumis melo* L., ομάδας Inodorus, τύπου Casaba), με ανθεκτικότητα στο παθογόνο *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (fom). Το γενετικό υλικό προήλθε από επιτόπιες επιλογές σε αγρούς της ευρύτερης περιοχής Πέπλου-Πετάλου του νομού Έβρου, όπου καλλιεργείται το «Θρακιώτικο» πεπόνι. Από τις επιτόπιες επιλογές, επιλέχθηκαν με βάση τα χαρακτηριστικά του σπόρου και του καρπού έντεκα από αυτές. Είκοσι σπόροι από κάθε επιλογή τοποθετήθηκαν σε σποροθήκες στις 29 Απριλίου 2003. Στις 29 Μαΐου έγινε μεταφύτευση των φυταρίων, όταν είχαν ένα πραγματικό φύλλο. Προηγουμένως οι ρίζες εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα κονιδίων 10<sup>6</sup>κονιδίων/ml. Τα μολυσμένα φυτά διατηρήθηκαν σε θάλαμο με θερμοκρασία 23°C, σχετική υγρασία 70% και 16/8 εναλλαγή φωτός με σκοτάδι. Δέκα ημέρες αργότερα και επί τέσσερις εβδομάδες καταγράφονταν τα συμπτώματα και η ένταση του παθογόνου. Τα επιζήσαντα 16 φυτά, εγκαταστάθηκαν σε αγρό του αγροκτήματος του Α.Π.Θ., σε απόσταση 1,5 μέτρου τόσο μεταξύ των φυτών όσο και μεταξύ των γραμμών. Σπόροι από τους καρπούς, που δημιουργήθηκαν από ελεύθερη διασταύρωση, συγκομίστηκαν και αποθηκεύθηκαν. Μετά τα φυτά εξετάστηκαν ιστολογικά για εξακρίβωση της ύπαρξης του παθογόνου. Προέκυψαν έξι φυτά υγιή. Ο σπόρος από τα επιλεγέντα φυτά θα αποτελέσει τον πυρήνα για την μελέτη της ανθεκτικότητας στον εγχώριο πληθυσμό.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η συνεχώς διογκούμενη, σε παγκόσμιο επίπεδο, αντίληψη για μια γεωργία οικονομικά βιώσιμη και κοινωνικά υπεύθυνη οδήγησε στην Ολοκληρωμένη Διαχείριση της Παραγωγής, η οποία αποτελεί σήμερα τη νέα στρατηγική για τη γεωργία του μέλλοντος. Κυρίαρχη θέση σε κάθε σύστημα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης της Γεωργικής Παραγωγής έχει η Ολοκληρωμένη Διαχείριση των Εχθρών, η οποία χρησιμοποιεί όλες τις διαθέσιμες μεθόδους για την αντιμετώπιση των εχθρών των φυτών σε ένα αρμονικά συμβατό συνδυασμό, λαμβάνοντας υπόψη οικολογικά αλλά ταυτόχρονα και κοινωνικά κριτήρια. Μεταξύ των ενδεικνυόμενων μεθόδων ολοκληρωμένης διαχείρισης των εχθρών, πρωτεύουσα θέση κατέχει η χρησιμοποίηση ανθεκτικού φυτικού υλικού, του οποίου η δημιουργία προϋποθέτει επιτυχή βελτίωση της αντοχής των φυτών στα παθογόνα. Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών αποτελεί τον πιο οικονομικό και φιλικό προς το περιβάλλον τρόπο για την αντιμετώπιση των ασθενειών καθώς επίσης των ζωικών εχθρών των φυτών, προστατεύει την καλλιέργεια από παθογόνα, των οποίων η αντιμετώπιση με άλλα μέσα είναι οικονομικά ασύμφορη, δυσχερής ή και αδύνατη και προσφέρει μια εξολοκλήρου φιλική προς το περιβάλλον καλλιέργεια.

Η αδροφουζαρίωση της πεπονιάς *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* είναι σοβαρή ασθένεια σε παγκόσμια κλίμακα. Στη χώρα μας προκαλεί σημαντικές ζημιές τόσο στις υπαίθριες όσο και στις υπό κάλυψη καλλιέργειες (Βακαλουνάκης-Φραγκιαδάκης 2003). Παθογόνο αίτιο της ασθένειας είναι ο ατελής μύκητας *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Κύριος ξενιστής είναι το *Cucumis melo* L. Το *Cucumis sativus* L., το *Cucurbita pepo* L. και το *Cucurbita ficifolia* είναι ανθεκτικά στον μύκητα (Booth 1997). Αν και στο παρελθόν είχαν αναφερθεί δέκα φυλές του παθογόνου, σήμερα αναγνωρίζονται μόνο τέσσερις οι 0, 1, 2 και 1,2. Η φυλή 1,2, η οποία παλαιότερα αναφερόταν ως φυλή 3, διαχωρίζεται στα στελέχη 1.2Υ και 1.2W τα οποία

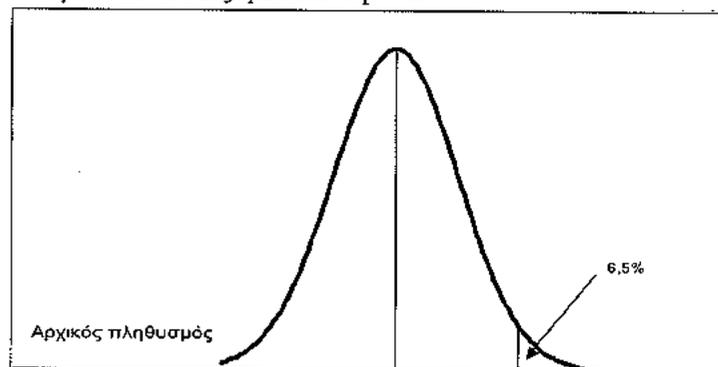
προκαλούν κιτρίνισμα των φύλλων και μαρασμό των φυτών, αντίστοιχα. Στη χώρα μας έχει αναφερθεί η ύπαρξη και των τεσσάρων φυλών (Βακαλουνάκης-Φραγκιαδάκης 2003).

Για την αναγνώριση του μύκητα είναι απαραίτητη η μελέτη των μακροκονιδίων του, καθώς και η δοκιμή παθογένεσης για να αναγνωριστεί η μορφή *melonis* (Sherf και Macnab 1986). Η αντοχή που έχει βρεθεί έναντι της αδροφουζαρίωσης και έχει ενσωματωθεί στα ανθεκτικά υβρίδια πεπονιάς ελέγχεται από τρία κυρίαρχα γονίδια, τα: *Fom-1* (υπάρχει στην ποικιλία Doublon και προσφέρει αντοχή έναντι των φυλών 0 και 2), *Fom-2* (υπάρχει στην ποικιλία CM 17187 και προσφέρει αντοχή έναντι των φυλών 0 και 1) και *Fom-3* (υπάρχει στην ποικιλία Perlita FR και προσφέρει αντοχή έναντι των φυλών 0 και 2) (Πίνακας 1). Τα γονίδια *Fom-1* και *Fom-2* κληρονομούνται ανεξάρτητα, ενώ το γονίδιο *Fom-3* έχει την ίδια φαινοτυπική έκφραση με το γονίδιο *Fom-1* αλλά κληρονομείται ανεξάρτητα από αυτό (Βακαλουνάκης-Φραγκιαδάκης 2003). Σήμερα κυκλοφορούν στην αγορά αρκετά υβρίδια πεπονιάς με αντοχή έναντι, κυρίως, των φυλών 0, 1 και 2. Για τη σωστή επιλογή για καλλιέργεια του πιο κατάλληλου ανθεκτικού υβριδίου σύμφωνα με τους Βακαλουνάκη-Φραγκιαδάκη (2003) απαιτείται πρωτίστως η γνώση της ταυτότητας των φυλών του παθογόνου που επικρατούν στη συγκεκριμένη περιοχή, καθώς και των φυτοτεχνικών χαρακτηριστικών του καρπού που επιζητεί η αγορά για την οποία προορίζεται η καλλιέργεια.

Πίνακας 1. Φυλές του *F. oxysporum* f. sp. *Melonis*

Φυλή	Ξεριστές ποικιλίες πεπονιού		
	Charentais T	Doublon (Fom-1)	CM-17187 (Fom-2)
0	Ευπαθές	Ανθεκτικό	Ανθεκτικό
1	Ευπαθές	Ευπαθές	Ανθεκτικό
2	Ευπαθές	Ανθεκτικό	Ευπαθές
1,2	Ευπαθές	Ευπαθές	Ευπαθές

Ο περισσότερο αποτελεσματικός τρόπος αντιμετώπισης της ασθένειας είναι η χρησιμοποίηση ανθεκτικών ποικιλιών. Τα δύο ανθεκτικά γονίδια που έχουν αναγνωριστεί στο πεπόνι, ήτοι το *Fom-1* που προσφέρει ανθεκτικότητα στις φυλές 0 και 2 του παθογόνου και το *Fom-2* που προσφέρει ανθεκτικότητα στις φυλές 0 και 1 του παθογόνου, χρησιμοποιούνται πολύ σε προγράμματα βελτίωσης. Σε εργαστηριακές μολύνσεις, η εμφάνιση συμπτωμάτων από τον μύκητα εξαρτάται από την μολυσματικότητα του δείγματος, από την κατάσταση του φυτού και από τις συνθήκες θερμοκρασίας και φωτισμού (Βακαλουνάκης-Φραγκιαδάκης 2003). Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο εντοπισμός ανθεκτικών φυτών εντός της εγχώριας ποικιλίας του χειμερινού πεπονιού «Θρακιώτικο», ως προς την παθογόνο φυλή του μύκητα *F. oxysporum* f.sp. *melonis*. Εφαρμόστηκε αποκλίνουσα επιλογή σε ποσοστό 6,5% (Εικ. 1) στο στάδιο των φυταρίων και απέβλεπε στην δημιουργία διαλογής από την ποικιλία «Θρακιώτικο» που θα έδειχνε ανθεκτικότητα στον *F. oxysporum* f.sp. *melonis*.



Εικ.1. Αποκλίνουσα επιλογή σε φυτικό πληθυσμό έντασης 6,5%.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το γενετικό υλικό, του πειράματος, προήλθε από επιτόπιες επιλογές σε αγρούς της ευρύτερης περιοχής Πέπλου-Πετάλου του Νομού Έβρου όπου καλλιεργείται το «Θρακιώτικο» πεπόνι (Οικογένεια: *Cucumis melo*, Ομάδες: *Inodorus* και Τύπος: *casaba*). Οι 11 επιλογές *in situ*, που είχαν πραγματοποιηθεί το 1998 στον Νομό

Έβρου σε εξερευνητική αποστολή των ερευνητών του ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. (Πίνακας 2), μαζί με σπόρο από την ποικιλία «Θρακιώτικο», που εγγράφηκε στον Εθνικό Κατάλογο Ποικιλιών το 2003, αποτέλεσαν το πειραματικό υλικό του πειράματος. Οι 12 συνολικά παράγοντες κωδικοποιήθηκαν με κωδικό από M1-M11 τα επιλεγέντα γενετικά υλικά και M12 η ποικιλία «Θρακιώτικο» η εγγεγραμμένη στον Εθνικό Κατάλογο Ποικιλιών.

**Πίνακας 2.** Περιοχές Νομού Έβρου-Προέλευση των 11 υλικών του πειράματος.

Περιοχή	Όνομα/νυμο Παραγωγού
Πέπλος	Κ. Ταρσούδας
Πέπλος	Κ. Ντάκας
Τυχερό	Κ. Δομπάρος
Πέταλο-Πέπλου	Κ. Καπετανίδης

Η διαδικασία μολύνσεως που ακολουθήθηκε ήταν *in planta* και πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Α.Π.Θ. Η απομόνωση, *F. oxysporum* f.sp. *melonis*, ήταν μια ευγενική προσφορά του Δρ. Δ.Ι. Βακαλουνάκη, Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικών Ερευνών, Ηράκλειο Κρήτης. Οι μύκητες καλλιεργούνταν σε τρυβλία *petri* με στερεό θρεπτικό υπόστρωμα potato dextrose agar (PDA), σε θερμοκρασία 20°C, σε συνθήκες σκότους, για 10 ημέρες. Για την παραγωγή άφθονου μολύσματος με τη μορφή κονιδίων επιλέχθηκε το θρεπτικό υλικό Armstrong Fusarium medium (Singleton et al. 1992). Μετά την αποστείρωση του υλικού (Potato Dextrose Broth, PDB) στους 120°C για 20min, μοιραζόταν σε κωνικές φιάλες των 500ml, οι οποίες εμβολιάζονταν με 15 δίσκους διαμέτρου 4mm περίπου από την περιφέρεια νεαρών καλλιεργειών του μύκητα σε PDA. Στη συνέχεια οι κωνικές επωάζονταν σε θερμοκρασία 24°C πάνω σε αναδευτήρα και σε ταχύτητα 110 στροφές /min, για 2-5 ημέρες. Μετά την επώαση ακολουθούσε η μέτρηση της συγκέντρωσης των σπορίων του μύκητα η οποία πραγματοποιούνταν με τη βοήθεια αιματοκυτταρομέτρου. Όλη η διαδικασία προετοιμασίας του μολύσματος πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Α.Π.Θ (Κλωνάρη και Κατής 1999).

Μετά την παραγωγή άφθονου μολύσματος και τη ρύθμιση της συγκέντρωσης του στην τιμή των 10<sup>6</sup> κονιδίων/ml ακολουθούσε η εμφύσηση των φυταρίων σε αιώρημα κονιδίων της συγκεκριμένης συγκέντρωσης για 10min κατά τη διαδικασία μεταφύτευσης. Κατόπιν τα μολυσμένα φυτάρια ποτίστηκαν με διάλυμα κονιδίων ίδιας πυκνότητας για τρεις φορές, μία φορά ημερησίως για τις επόμενες τρεις ημέρες μετά τη μεταφύτευση. Η θερμοκρασία του θαλάμου που διατηρήθηκαν τα φυτάρια και αργότερα τα μολυσμένα φυτά είχε θερμοκρασία που έφτανε τους 23°C, η σχετική υγρασία 70% και φωτός/σκότους 16/8. Από κάθε υλικό του πειράματος, μολύνθηκαν 20 φυτάρια (συνολικά 20x12=240 φυτάρια).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μετά την μόλυνση των φυταρίων έγιναν 7 μετρήσεις, της έντασης της μόλυνσης των φυτών σε διάρκεια 30 ημερών (Πίνακας 5). Η καταγραφή της έντασης προσβολής βαθμολογούνταν με κλίμακα, όπου 0: κανένα σύμπτωμα, 1: ελαφριά χλώρωση στα φύλλα της βάσης, 2: νεκρώσεις, αποφύλλωση φύλλων βάσης, κίτρινες κηλίδες προς τα ανώτερα φύλλα, 3: νεκρά φυτά. Η τελευταία μέτρηση έδειξε ότι από τα 240 φυτά που μολύνθηκαν μόνο τα 16, ήτοι ποσοστό 6,5% περίπου από τον πληθυσμό έδειξε ανθεκτικότητα στον μύκητα *F. oxysporum* f.sp. *melonis*. Συγκεκριμένα τα ανθεκτικά φυτά προήλθαν από συγκεκριμένους πληθυσμούς όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.

Τα φυτά αυτά μεταφυτεύτηκαν σε αγροτεμάχιο του Αγροκτήματος του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (Εικόνα 2). Τα φυτά απείχαν μεταξύ τους, αλλά και από τους διαδρόμους 1,5m. Με ελεύθερη διασταύρωση έδωσαν ώριμους καρπούς. Μετά την συλλογή του σπόρου, έγινε ιστολογικός έλεγχος των φυτών. Μόνο 6 από τα 16 συνολικά φυτά βρέθηκαν τελείως απαλλαγμένα από τον μύκητα *F. oxysporum* f.sp. *melonis* των οποίων και ο σπόρος διατηρήθηκε.

Πίνακας 3. Αριθμός ανθεκτικών φυτών ανά πληθυσμό.

Κωδικός Πληθυσμού	Αριθμός Ανθεκτικών Φυτών	Κωδικός Πληθυσμού	Αριθμός Ανθεκτικών Φυτών
M2	1	M8	1
M4	2	M10	2
M6	4	M11	3
M7	2	M12	1

Πίνακας 4 Αναλυτικά αποτελέσματα ποσοστού ανθεκτικότητας των υλικών του πειράματος.

Ημ/νία Μετρήσεων	Βαθμός Συμπτ/τος	M2 %	M4 %	M6 %	M7 %	M8 %	M10 %	M11 %	Μάρτυρας (M12) %
25/5/2003	0	40	100	83,3	60	83,3	80	100	40
	1					16,7			60
	2	60		16,7	40		10		
	3								
30/5/2003	0		83,3		40	66,8	40	50	
	1	20	16,7	16,7			40	33,3	
	2	60		66,6	60	33,2	20	16,7	100
	3	20		16,7					
4/6/2003	0				25		25	40	
	1				25	20			
	2	75	40	80			25	40	25
	3	25	60	20	50	80	50	20	75
9/6/2003	0	33,3		60	50	20	25	60	25
	1		40						
	2		20	20			25		
	3	66,7	40	20	50	80	50	40	75
14/6/2003	0	33,3	40	60	50	20	25	60	25
	1						25		
	2			20					
	3	66,7	60	20	50	80	50	40	75
19/6/2003	0	33,3	40	60	50	20	25	60	25
	1						25		
	2			20					
	3	66,7	60	20	50	80	50	40	75
24/6/2003	0	33,3	20	60	50	20	25	60	25
	1		20				25		
	2			20					
	3	66,7	60	20	50	80	50	40	75

0: Κανένα σύμπτωμα, 1: Ελαφριά χλώρωση στα φύλλα της βάσης, 2: Νεκρώσεις, αποφύλλωση φύλλων βάσης, κίτρινες κηλίδες προς τα ανώτερα φύλλα, 3: Νεκρά φυτά

M6	M11	M10
M7	M8	M6
M2	M12	M11
M11	M4	M6
M10	M6	M7
	M4	

Εικ.2. Σχεδιάγραμμα εγκατάστασης στον αγρό ανθεκτικών φυτών

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η αποκλίνουσα επιλογή εφαρμόζεται κυρίως για επιλογή σε ανθεκτικότητα σε γενετικά υλικά μη βελτιωμένα (Dhliwayo και Pixley 2003). Η μη επαναλαμβανόμενη αξιολόγηση των υλικών στην ανθεκτικότητα, αποτελεί το μειονέκτημα της, γι' αυτό απαιτείται σταθερή μεθοδολογία και έμπειρο τεχνικό προσωπικό στην εφαρμογή της. Επιπλέον πολλαπλοί έλεγχοι των ανθεκτικών γενοτύπων, αυτογονιμοποίηση ή ολοσυγγενική επιλογή αυτών, διασφαλίζουν την επιτυχία στην εφαρμογή της.

Οι φυλές του μύκητα που προσβάλλουν αυτή την οικογένεια λαχανοκομικών, είτε ειδικεύονται στην προσβολή ενός μόνο ξενιστή είτε και περισσότερων. Ωστόσο μερικοί από τους ξενιστές της οικογένειας των κολοκυνθοειδών παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε μολύνσεις με το φουζάριο. Εγχώρια γενετικά υλικά της οικογένειας *Cucurbitaceae*, που άνηκαν στα είδη *Cucurbita maxima* Duch., *Cucurbita moschata* Duch. και *Cucurbita pepo* L., παρουσίασαν σημαντική ανθεκτικότητα στον *F. oxysporum* f.sp. *melonis* σε ποσοστό 84,6% του συνόλου τους, έναντι στον *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* με ποσοστό 57,5%, σε εργαστηριακές μολύνσεις (Αναστασιάδου 2003).

Σε πρόσφατη εργασία των Burger et.al. (2003) από 24 ποικιλίες πεπονιού που μολύνθηκαν με τον *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, οι πέντε έδειξαν αντοχή στον μύκητα κάτω από διαφορετικές συνθήκες φωτισμού και θερμοκρασίας. Ακόμη ένας παράγοντας, που μελετήθηκε από τους Douglas και Dexter (1969) και επηρεάζει την αντοχή των φυτών στον ίδιο μύκητα, είναι η συγκέντρωση του μύκητα στο έδαφος. Έτσι σε μικρή συγκέντρωση του μύκητα στο έδαφος, ο αριθμός των φυτών που παρουσίασε αντοχή ήταν μεγαλύτερος.

Η μείωση της ευρύτητας της γενετικής βάσης των νέων ποικιλιών που καλλιεργούνται, η αυξανόμενη γενετική ομοιομορφία και η καλλιέργεια μεγάλων εκτάσεων με μία μόνο ποικιλία αύξησε την ευπάθεια των καλλιεργειών στα παθογόνα. Από γενετική άποψη, η ευπάθεια αυτή μεγαλώνει όσο μειώνεται η γενετική ποικιλότητα που είναι πολύ υψηλή στους μη βελτιωμένους πληθυσμούς. Οι παραδοσιακές ποικιλίες αποτελούν κληρονομικό πλούτο ως πηγή γονιδίων για τις περιβαλλοντικές αλλαγές, για τις καλλιεργητικές απαιτήσεις, για ανθεκτικότητα σε βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες και για προϊόντα άριστης ποιότητας (Σταυρόπουλος 1998).

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμπληρώνουν τις προσπάθειες που έχουν γίνει μέχρι τώρα στην αναζήτηση ανθεκτικών εγχώριων υποκειμένων στους εμβολιασμούς με πεπόνι (Koutsika-Sotiriou κ.α. 2004). Ο σπόρος από τα έξι επιλεγέντα φυτά, χωρίς μόλυνση από τον *F. oxysporum* f.sp. *melonis*, θα αποτελέσει τον πυρήνα για την μελέτη της ανθεκτικότητας στον εγχώριο πληθυσμό του πεπονιού «Θρακιώτικο». Η αξιοποίηση της ανθεκτικότητας αυτής, είτε σε διασταυρώσεις, είτε σε σύγχρονες καλλιεργητικές τεχνικές αποτελεί ένα βήμα προς την χρησιμοποίηση βελτιωμένων εντόπιων πληθυσμών, με λιγότερες απαιτήσεις σε εισροές στην καλλιέργεια και λιγότερες φυτοπροστατευτικές ουσίες.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αναστασιάδου, Α., Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου, Α. Τράκα-Μαυρώνη, Κ. Τζαβέλα-Κλωνάρη. 2003. Περιγραφή αναπολλαπλασιασμός και αξιολόγηση της ανθεκτικότητας στο *Fusarium oxysporum* της Συλλογής *Cucurbita* species της Ελληνικής Τράπεζας Γενετικού Υλικού. Μεταπτυχιακή διατριβή. Σελ: 132. Θεσσαλονίκη.
- Βακαουνάκης, Δ. Ι. και Γ. Α. Φραγκιαδάκης. 2003. Φυτοπαθοβελτίωση με έμφαση στην τομάτα και τα κολοκυνθοειδή. Σελ 19-54, σελ 58-126. Εκδόσεις Δημήτρης Ι. Βακαουνάκης.
- Booth, C. 1997. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, C.A.B.
- Burger, Y., N. Katzir, G. Tzuri, V. Postnoy, U. Saar, S. Shriber, R. Peri-Treves and R. Cohen. 2003. Variation in the response of melon genotypes to *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* race 1 determined by inoculation tests and molecular markers. *Plant Pathology* 52: 204-211.
- Douglas, R. Dexter. 1969. The effect of inoculum concentration on the apparent resistance of muskmelons to *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. *Can. J. Bot.* 48:687-693.
- Koutsika-Sotiriou, M., E. Traka-Mavrona, A.L. Tsivelikas, G. Mpardas, A. Mpeis and E. Klonari. 2004. Use of genetic resources in a dual approach system toward selecting improved scion/rootstock grafting combinations of melon (*Cucumis melo* L.) on *Cucurbita* spp. Cucurbitaceae 2004. Proceedings of 8<sup>th</sup> EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding.
- Σταυρόπουλος, Ν. 1998. ο ρόλος της Τράπεζας Γενετικού Υλικού στην προστασία και αξιοποίηση της γεωργικής βιοποικιλότητας της χώρας. *Αγροτική Έρευνα και Τεχνολογία*, 7:6-7.
- Sherf, F. A., A. A. Macnab. 1986. *Vegetable diseases and their control*, 2<sup>nd</sup> Edition by John Wiley & Sons. Printed in the U.S.A.
- Singleton, L.L., J.D. Mihail and C.M. Rusli 1992. *Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi*. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, U.S.A.
- Τζαβέλα-Κλωνάρη, Κ. και Ν. Κατής. 1999. Ασθένειες λαχανικών και καλλωπιστικών φυτών. Πανεπιστημιακές παραδόσεις. Σελ 109-120.

DIVERGENT SELECTION FOR RESISTANCE TO *Fusarium oxysporum* IN A MELO LANDRACEGiakalis L.A.<sup>1</sup>, A. Anastasiadou<sup>1</sup>, M. Koutsika-Sotiriou<sup>1</sup>, E. Traka-Mavrona<sup>2</sup> and K. Klonari-Tzavela<sup>3</sup><sup>1</sup>Aristotelian University of Thessaloniki, Department of Agriculture, Laboratory of Genetics and Plant Breeding, 541 24 Thessaloniki, Greece<sup>2</sup>National Agricultural Research Foundation (N.AG.RE.F.), Agricultural Research Center of Macedonia-Thrace, 570 01 Thermi, Thessaloniki, Greece<sup>3</sup>Aristotelian University of Thessaloniki, Department of Agriculture, Laboratory of Plant Pathology, 541 24 Thessaloniki, Greece

## SUMMARY

The aim of the present study was to identify genotypes in winter melo landrace "Thrakiotiko" (*Cucumis melo*, Group Inodorus, Type Casata), with resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (fom). The genetic material derived from *in situ* collection from farmers of Peplo-Petaló where the landrace "Thrakiotiko" is cultivated. With reference to seed and fruit characteristics eleven selected landraces have been chosen out of the whole plant population. Twenty seeds from each selection were placed in seedbed on 29<sup>th</sup> April of 2003. On 29<sup>th</sup> of May on the leaf plants were transplanted to pots. Prior to transplanting, roots were dipped in a conidial suspension of 10<sup>6</sup> conidia/ml. The inoculated plants were kept in a growth chamber at 23°C, RH 70% and 16/8 hours of light and darkness. Ten days later the response of each plant was examined and scored for a period of four weeks in a disease scale. Sixteen plants were survived and on 27<sup>th</sup> of June were established at the farm of A.U.T. at a distance of 1,5m between and on the rows. The seeds from ripe fruits that derived after open pollination cross between plants, were harvested and stored. Then, sections were made in plants for infection of the pathogen. Six plants were not affected from the pathogen. The seed from the not affected plants will be the core for the study of resistance of the landrace.

## ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΣΤΟ ΣΠΑΡΑΓΓΙ (*Asparagus officinalis* L.)

Τσιβελίκας Α. Α., Γουλή-Βαβδινούδη Ε., Τσαυτάρης Α. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, 54 124 Θεσσαλονίκη.

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

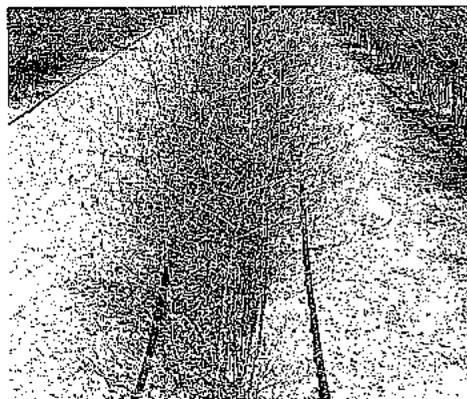
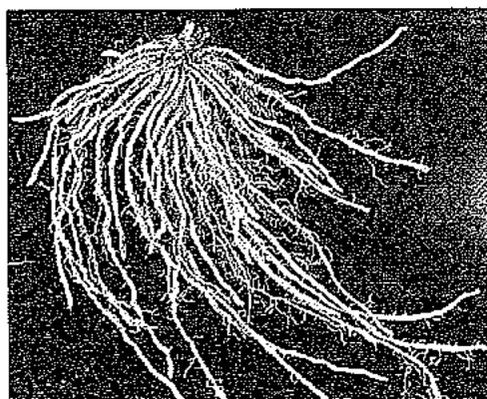
Το σπαράγγι (*Asparagus officinalis* L.), αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα πολυετή και παράλληλα ένα από τα λίγα μονοκοτυλήδονα λαχανοκομικά είδη. Το σύνολο σχεδόν της παραγωγής του ελληνικού σπαραγγιού εξάγεται στις ευρωπαϊκές αγορές, γεγονός που το καθιστά προϊόν με ιδιαίτερα υψηλή ακαθάριστη πρόσοδο. Παρόλα όμως τα σημαντικά οικονομικά οφέλη που αποφέρει η καλλιέργεια, δεν έχει υπάρξει μέχρι σήμερα μια συστηματική προσπάθεια βελτίωσης και δημιουργίας ελληνικών ποικιλιών σπαραγγιού, με αποτέλεσμα να καλλιεργούνται ποικιλίες και υβρίδια ξενικής προέλευσης, ενώ επιπλέον το πολλαπλασιαστικό υλικό που εισάγεται να είναι πολλές φορές χαμηλής ποιότητας και να δημιουργεί προβλήματα στην εύρωστη εγκατάσταση των φυτειών. Με βάση τους παραπάνω προβληματισμούς, η παρούσα εργασία επιχειρεί μία βιβλιογραφική ανασκόπηση πάνω στη βελτίωση και στην παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού σπαραγγιού, με στόχο να αποτελέσει το έναυσμα για το ξεκίνημα μιας ολοκληρωμένης προσπάθειας βελτίωσης του συγκεκριμένου είδους και στον ελλαδικό χώρο.

**Λέξεις κλειδιά:** *Asparagus officinalis* L., αρσενικά υβρίδια, πολλαπλασιαστικό υλικό

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το σπαράγγι (*Asparagus officinalis* L.), είναι ένα από τα σημαντικότερα πολυετή και παράλληλα ένα από τα λίγα μονοκοτυλήδονα λαχανοκομικά είδη. Το κέντρο καταγωγής και εξέλιξης του σπαραγγιού εκτείνεται μεταξύ της ανατολικής λεκάνης της Μεσογείου και της Μικράς Ασίας. Πολύ πριν χρησιμοποιηθεί ως τρόφιμο είχε τη φήμη εξαιρετου φαρμακευτικού φυτού, καθώς χρησιμοποιούταν για τη θεραπεία ενός μεγάλου αριθμού παθήσεων, από τσιμπήματα μελισσών, μέχρι πονοκεφάλους και καρδιαγγειακά προβλήματα. Οι αρχαίοι Έλληνες, από τους οποίους το σπαράγγι πήρε και την ονομασία του, το καλλιεργούσαν ως εκλεκτό λαχανικό περίπου από το 200 π.Χ.. Στη συνέχεια, οι Ρωμαίοι ήταν οι πρώτοι που καλλιεργήσαν το σπαράγγι με τη δημιουργία αναχωμάτων, τεχνική που εφαρμόζεται ακόμη και σήμερα για την παραγωγή λευκών βλαστών.

Στη σύγχρονη εποχή, το σπαράγγι καλλιεργείται στις εύκρατες και τροπικές περιοχές. Στις εύκρατες περιοχές, με την πτώση της θερμοκρασίας στα τέλη του φθινοπώρου, η βλάστηση νεκράνεται, ενώ το υπόγειο τμήμα του φυτού παραμένει σε «λανθάνουσα» κατάσταση στη διάρκεια του χειμώνα (Εικόνα 1α). Την άνοιξη εκπύσσονται οι οφθαλμοί, σχηματίζονται βλαστοί και δημιουργείται νέα βλάστηση (Εικόνα 1β). Το εδάμιμο τμήμα του φυτού είναι οι νεαροί, τρυφεροί, αναπτυσσόμενοι βλαστοί που συγκομίζονται μόλις εμφανιστούν στην επιφάνεια του αναχώματος.

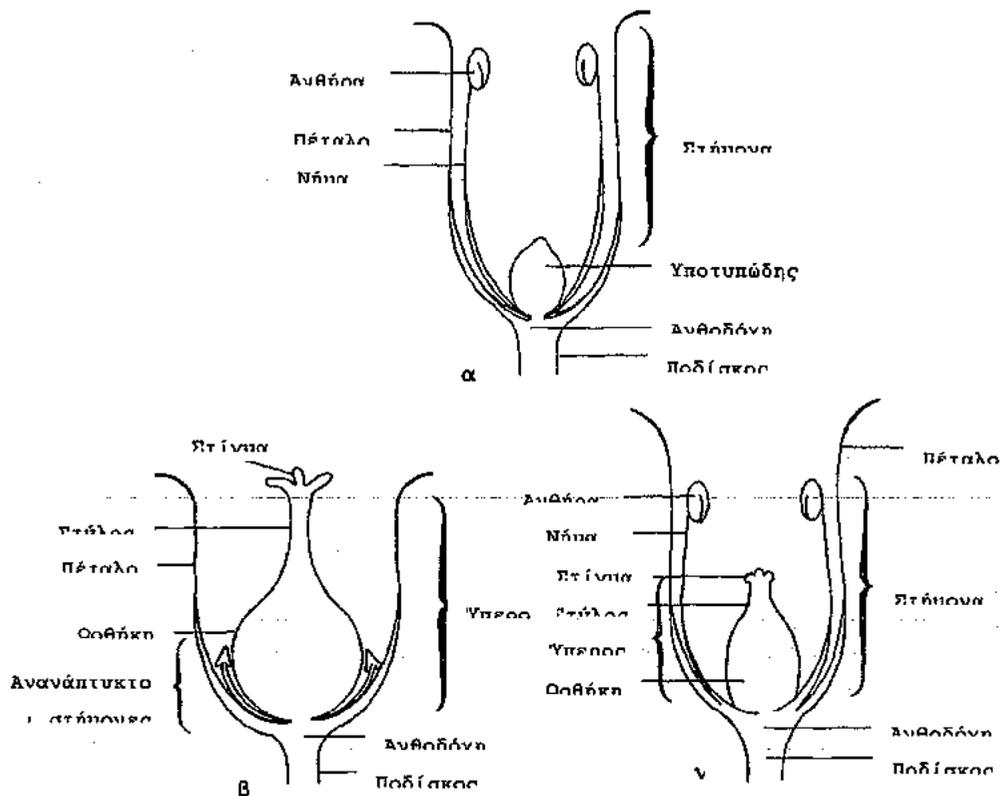


**Εικόνα 1.** α: Ρίζωμα σπαραγγιού ηλικίας 1 έτους, στο οποίο διακρίνονται καθαρά η στεφάνη, οι αποθησαυριστικές ρίζες και τα ριζικά τριχίδια. β: Φυτά σπαραγγιού στον αγρό κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης με τα πράσινα κλαδόφυλλα, να επιτελούν τον κυρίως φωτοσυνθετικό ρόλο.

Οι καλλιεργούμενες με σπαράγγι εκτάσεις στην Ελλάδα ανήλθαν κατά το έτος 2000 στα 75.000 στρέμματα με την ετήσια παραγωγή να αγγίζει τους 34.000 τόνους (Ε.Σ.Υ.Ε., 2001). Το σύνολο σχεδόν της παραγωγής του ελληνικού σπαραγγιού εξάγεται στις ευρωπαϊκές αγορές, γεγονός που το καθιστά προϊόν με ιδιαίτερα υψηλή ακαθάριστη πρόσοδο. Παρά τα σημαντικά οικονομικά οφέλη της καλλιέργειας δεν έχει υπάρξει μέχρι σήμερα μια συστηματική προσπάθεια βελτίωσης και δημιουργίας ελληνικών ποικιλιών σπαραγγιού, με αποτέλεσμα να καλλιεργούνται ποικιλίες και υβρίδια ξενικής προέλευσης, ενώ επιπλέον το πολλαπλασιαστικό υλικό που εισάγεται να είναι πολλές φορές χαμηλής ποιότητας και να δημιουργεί προβλήματα στην εύρωστη εγκατάσταση των φυτειών. Με βάση τους παραπάνω προβληματισμούς, η παρούσα εργασία επιχειρεί μία βιβλιογραφική ανασκόπηση πάνω στη βελτίωση και στην παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού σπαραγγιού, με στόχο να αποτελέσει το έναυσμα για το ξεκίνημα μιας ολοκληρωμένης προσπάθειας βελτίωσης του συγκεκριμένου είδους και στον ελλαδικό χώρο.

## ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΟΥΣ ΚΑΙ ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ

Το σπαράγγι είναι ένα από τα λιγιστά δίοικα είδη, με τα αρσενικά και θηλυκά άνθη να φέρονται σε διαφορετικά φυτά. Μορφολογικές παρατηρήσεις καταδεικνύουν ότι ο καθορισμός του φύλου στο σπαράγγι, οφείλεται στην επιλεκτική αποβολή του γυναικείου ή του ανδρικού στα αρχικά ερμαφρόδιτα ανθικά μεριστώματα των αρσενικών και θηλυκών φυτών, αντίστοιχα (Bracale et al., 1991). Η αποβολή αυτή, συμβαίνει κατά τα τελευταία στάδια της ανάπτυξης των οργάνων του άνθους, έτσι ώστε τα αρσενικά άνθη φέρουν υποτυπώδεις ύπερους, εκ των οποίων ορισμένοι έχουν την ικανότητα να δέσουν καρπούς, ενώ τα θηλυκά άνθη έχουν ανανάπτυκτους στήμονες χωρίς τη δυνατότητα παραγωγής γύρης (Σχήμα 1α, 1β).



Σχήμα 1. (α). Φυσιολογικό αρσενικό άνθος σπαραγγιού, (β). Φυσιολογικό θηλυκό άνθος σπαραγγιού, (γ). Ανδρογενές άνθος ανδρομόνουκου φυτού σπαραγγιού (από Ellison, 1986).

Σύμφωνα με τους Rick και Hanna (1943) και Thuesen (1960), η έκφραση του φύλου στο σπαράγγι κληρονομείται μέσω ενός απλού ζεύγους αλληλόμορφων γονιδίων με το κυρίαρχο *M*, να είναι υπεύθυνο για την αρσενική και το υποτελές *m* σε ομοζύγατη κατάσταση, υπεύθυνο για τη θηλυκή έκφραση του φύλου. Ωστόσο, υπάρχουν αρσενικά φυτά, στα οποία μπορούν περιστασιακά να απαντηθούν και καρποί. Το γεγονός αυτό παρατηρήθηκε από πολύ νωρίς (Norton, 1913) και οφείλεται στην εμφάνιση, έστω και σε μικρή

συχνότητα, λειτουργικών ερμαφρόδιτων ανθέων (Σχήμα 1γ) σε φυτά στα οποία επικρατούν τα αρσενικά άνθη. Τέτοια φυτά είναι γνωστά ως ανδρομόνικα, καθώς η αρσενική έκφραση του φύλου σε αυτά είναι έντονα κυρίαρχη.

## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ

### Δημιουργία υβριδίων:

Οι βελτιωτικές μέθοδοι που εφαρμόζονται στο σπαράγγι, θα πρέπει να λαμβάνουν υπόψη τους την ιδιαίτερη βιολογία του φυτού, καθώς αυτό είναι δίοικο, πολυετές είδος και συνεπώς απαιτούνται τουλάχιστον πέντε έτη προκειμένου να εκτιμηθούν τα χαρακτηριστικά της απόδοσης και της ποιότητας των βλαστών (Thévenin, 1968).

Μέχρι τις αρχές του 1970, τα βελτιωτικά προγράμματα του σπαραγγιού, αποτελούνταν από επαναλαμβανόμενους κύκλους επιλογής κατά τους οποίους αρσενικά άτομα διασταυρώνονταν αδιακρίτως με θηλυκά. Η πρόοδος με την επιλογή ήταν μεγαλύτερη, όταν τα αρσενικά και θηλυκά φυτά επιλέγονταν βάση απογονικού ελέγχου ή προέκυπταν από κατάλληλους συνδυασμούς διασταυρώσεων (Philip and Curtence, 1964).

Ωστόσο, όπως συμβαίνει και σε άλλα αλλόγαμα είδη, ο καλύτερος τρόπος για να επιτευχθεί ταχεία βελτίωση της ομοιομορφίας, της απόδοσης και της ποιότητας των βλαστών στο σπαράγγι είναι η σύνθεση υβριδίων. Το γενετικό υπόβαθρο των φυτών που χρησιμοποιούνται ως γονείς στο σπαράγγι επιτρέπει τη σύνθεση τριών τύπων υβριδίων.

### Διπλά υβρίδια:

Τα διπλά υβρίδια σπαραγγιού δημιουργήθηκαν στη Γαλλία την περίοδο 1960-1970, όταν ο μικροπολλαπλασιασμός των φυτών δε χρησιμοποιούνταν ακόμα σε εμπορική κλίμακα. Η διαδικασία που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή των διπλών αυτών υβριδίων, ήταν ίδια με αυτή που χρησιμοποιήθηκε για τη σύνθεση των «υβριδίων τεσσάρων οδών» στο καλαμπόκι. Συγκεκριμένα, αρσενικά και θηλυκά φυτά διασταυρώνονταν με όλους τους δυνατούς τρόπους σε διάφορες ποικιλίες σπαραγγιού (π.χ. AxB, CxD, ExF, GxH, κτλ.). Στη συνέχεια, επιλέγονταν οι δύο καλύτερες από αυτές τις διασταυρώσεις, π.χ. οι AB και CD. Προκειμένου να υπάρχει καλύτερη έκφραση της ετέρωσης, το φυτό A διασταυρώνονταν με το D και το φυτό C με το B. Ακολούθως, τα θηλυκά φυτά των AD απογόνων διασταυρώνονταν με τα αρσενικά φυτά των CB απογόνων (ή και αντίστροφα), έτσι ώστε η επίδραση της ετέρωσης να εκφραστεί κατά τον καλύτερο δυνατό τρόπο στο υβρίδιο ADCB.

### Απλά υβρίδια:

Αυτά τα υβρίδια, παρουσιάζουν μεγαλύτερη γενοτυπική και φαινοτυπική ομοιομορφία σε σχέση με τα διπλά υβρίδια σπαραγγιού. Η διαδικασία παραγωγής των απλών υβριδίων στην περίπτωση του σπαραγγιού είναι απλή, καθώς στην πραγματικότητα ένα απλό υβρίδιο είναι ο απόγονος δύο ετερόζυγων φυτών σπαραγγιού (ενός αρσενικού και ενός θηλυκού). Για παραγωγή του F<sub>1</sub> υβριδίου σπορου εξάλλου σε μεγάλη κλίμακα, οι δύο γονείς μπορούν να αναπολλαπλασιαστούν *in vitro* και στη συνέχεια να φυτευτούν σε απομονωμένο αγρό σποροπαραγωγής.

### Αποκλειστικά αρσενικά υβρίδια:

Τα αρσενικά φυτά σε μια φυτεία, δίνουν πρωιμότερη και υψηλότερη παραγωγή, έχουν μεγαλύτερη διάρκεια παραγωγικής ζωής και η μείωση στις αποδόσεις τους παρατηρείται χρονικά αργότερα σε σχέση με τα θηλυκά φυτά (Currence and Richardson, 1937; Yeager and Scott, 1938). Γι' αυτούς ακριβώς τους λόγους, οι βελτιωτές στράφηκαν από νωρίς στην προσπάθεια δημιουργίας αποκλειστικά αρσενικών υβριδίων. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές προσεγγίσεις:

(i) Αποκλειστικά αρσενικά υβρίδια μεταξύ ετεροζύγων κλωνικών σειρών: Η προσέγγιση αυτή εφαρμόστηκε ευρέως στην Ολλανδία, στη Γερμανία και στις Η.Π.Α. και βασίζεται όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως στη χρήση των ανδρομόνικων φυτών που απαντώνται σε μικρά ποσοστά στις ελεύθερα επικονιαζόμενες ποικιλίες. Τα ανδρομόνικα αυτά φυτά είναι αρσενικά ως προς τη γενετική τους σύσταση (MM ή Mm), αλλά παράλληλα φέρουν παράγοντες που τροποποιούν το φύλο, έχοντας έτσι τη δυνατότητα να παράγουν σπόρο μέσω αυτογονιμοποίησης. Το Σχήμα 2 δίνει το θεωρητικό πρότυπο που ακολουθείται για την παραγωγή των αποκλειστικά αρσενικών αυτών υβριδίων.

Το θεωρητικό αυτό σχήμα ωστόσο, δεν εφαρμόζεται αυτούσιο στην πράξη. Οι αλλαγές που εντοπίζονται στα συνήθη βελτιωτικά προγράμματα σε σχέση με το θεωρητικό σχήμα συνίστανται κυρίως στο γεγονός ότι πραγματοποιούνται συνήθως δύο κύκλοι αυτογονιμοποιήσεων προκειμένου να παραχθούν οι αρσενικές και



## ΕΠΙΛΟΓΗ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΜΟΡΙΑΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η καλλιέργεια των αποκλειστικά αρσενικών υβριδίων παρέχει πολλά πλεονεκτήματα στους σπαραγγοπαραγωγούς. Για την παραγωγή των αρσενικών αυτών υβριδίων κατά τη βελτιωτική διαδικασία, τα υπέραρρενα άτομα (*MM*), αποτελούν το φυτικό υλικό «κλειδί», καθώς όταν αυτά διασταυρωθούν με θηλυκά άτομα (*mm*), προκύπτει στους απογόνους ένας ομοιογενής πληθυσμός ετεροζύγων αρσενικών ατόμων (*Mm*) (Σχήμα 2). Ο γενότυπος *MM* όμως, μπορεί να πιστοποιηθεί μόνο μέσω επίπλων και χρονοβόρων κριτικών διασταυρώσεων. Συνεπώς, θα ήταν ένα σπουδαίο επίτευγμα, αν υπήρχαν διαθέσιμοι συγκυρίαρχοι μοριακοί δείκτες, οι οποίοι θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε ταχεία ταυτοποίηση των ομοζύγων αρσενικών ατόμων, καθώς η βελτιωτική διαδικασία θα επιταχύνονταν σε μεγάλο βαθμό. Επιπρόσθετα, τέτοιοι δείκτες στενά συνδεδεμένοι με το φύλο, θα επέτρεπαν την ταχεία ταυτοποίηση του φύλου στα φυτά του σπαραγγιού από το στάδιο ακόμα του σποροφύτου, χωρίς την ανάγκη αναμονής για περίπου δύο έτη στον αγρό, προκειμένου να επέλθει η ανθοφορία των φυτών.

Πράγματι σήμερα, έχει αναπτυχθεί ένας συγκυρίαρχος AFLP δείκτης (STS 3660), ο οποίος καθιστά εφικτή τη διαφοροποίηση στο μοριακό επίπεδο των αρσενικών φυτών με γενότυπους *MM* και *Mm* σε έναν  $F_2$  πληθυσμό (Reamon-Büttner and Jung, 2000). Παράλληλα, έχουν αναπτυχθεί 24 διαφορετικοί μοριακοί δείκτες (10 AFLPs και 5 STS), οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη διάκριση μεταξύ αρσενικών και θηλυκών φυτών σε έναν  $F_2$  πληθυσμό από το στάδιο ακόμα του νεαρού σποροφύτου (Reamon-Büttner and Jung, 2000).

## ΔΟΚΙΜΕΣ ΤΩΝ ΕΠΙΔΕΚΤΩΝ ΣΕΙΡΩΝ

Είναι πολύ σημαντικό οι νέες ποικιλίες και τα υβρίδια που προκύπτουν μέσα από τη βελτιωτική διαδικασία να δοκιμάζονται για ευρεία προσαρμοστική ικανότητα, πριν ακόμη φτάσουν στον παραγωγό, καθώς το κόστος εγκατάστασης της καλλιέργειας του σπαραγγιού είναι ιδιαίτερα υψηλό, ενώ επιπρόσθετα, ο πολυετής χαρακτήρας της καλλιέργειας και τα προβλήματα που δημιουργούνται κατά την επαναφύτευση δεν επιτρέπουν να γίνονται λάθη όταν νέες ποικιλίες προτείνονται για καλλιέργεια σε μία συγκεκριμένη περιοχή. Γι' αυτόν ακριβώς το λόγο, οι επίλεκτες σειρές που δημιουργούνται, πρέπει να δοκιμάζονται αρχικά σε απλά και στη συνέχεια σε περισσότερο εκτεταμένα πειράματα με ικανό αριθμό επαναλήψεων και σε όσο το δυνατόν περισσότερες τοποθεσίες.

Έτσι, οι πειραματικές δοκιμές με μία επανάληψη, αποτελούν ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο, όταν πρόκειται να γίνει προκαταρκτική αξιολόγηση ενός μεγάλου αριθμού καθαρών σειρών. Συνήθως, μία απλή γραμμή των 100m σε μήκος για κάθε ένα γενετικό υλικό είναι αρκετή για τη διεξαγωγή του πειραματισμού και των συγκρίσεων (Ellison, 1986).

Στη συνέχεια, ο περισσότερο ελπιδοφόρος σειρές ή υβρίδια, θα πρέπει να αξιολογούνται σε μεγαλύτερης έκτασης πειράματα, τα οποία να διεξάγονται σε όσο το δυνατόν περισσότερες σπαραγγοπαραγωγικές περιοχές. Ωστόσο, δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα όσον αφορά το μέγεθος του πειραματικού τεμαχίου και τον αριθμό των επαναλήψεων που απαιτούνται, ώστε να διασφαλιστούν κατά το δυνατόν περισσότερο αξιόπιστα αποτελέσματα. Ο Ellison (1986), αναφέρει ότι στη Ν. Ζηλανδία, θεωρούν ως καλύτερη πειραματική διάταξη για τη σύγκριση μεταξύ τους 20 περίπου διαφορετικών γενετικών υλικών, ένα σχέδιο με 14 επαναλήψεις όπου το κάθε πειραματικό τεμάχιο αποτελείται από μία απλή γραμμή μήκους 3 m. Ωστόσο, ο Ellison (1986), επισημαίνει ότι, όταν πρόκειται για δοκιμές που συγκρίνουν συνδυασμούς διαλληλικών διασταυρώσεων, δεν απαιτείται τόσο μεγάλος αριθμός επαναλήψεων προκειμένου να υπολογιστούν οι κύριες επιδράσεις, καθώς ουσιαστικά το γενετικό υλικό του κάθε γονέα είναι πολλές φορές επαναλαμβανόμενο εντός της πειραματικής διάταξης, μια και αξιολογούνται όλοι οι δυνατοί συνδυασμοί του με τους γονείς του αντίθετου φύλου. Σε τέτοιες περιπτώσεις, μία πειραματική διάταξη με 4-6 επαναλήψεις και με πειραματικά τεμάχια, τα οποία αποτελούνται από μία γραμμή μήκους 15 m., προσφέρει ικανοποιητική ακρίβεια για τις συγκρίσεις. Οι Falavigna et al. (1999) εξάλλου, χρησιμοποιούν για τη σύγκριση των υβριδίων που προκύπτουν μέσα από το βελτιωτικό τους πρόγραμμα, πειραματικό σχέδιο τυχαιοποιημένων πλήρων ομάδων με 4 επαναλήψεις και 25 φυτά ανά επανάληψη.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bracale, M., E. Coparali, M.G. Galli, C. Longo, G. Marziani-Longo, G. Rossi, A. Spada, C. Soave, A. Falavigna, F. Raffaldi, E. Maestri, F.M. Restivo and F. Tassi, 1991. Sex determination and differentiation in *Asparagus officinalis* L. *Plant Sci.*, 80: 67-77.
- Currence, T.M., and A.L. Richardson, 1937. Asparagus breeding studies. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 35: 554-557.
- Doré, C., 1974. Production de plantes homozygotes males et femelles á partir d' anthères d' asperge, *C.R. Acad. Sci.: Paris, séries D.* 278: 2135-2138.
- Ellison, J.H., 1986. Asparagus breeding. In: Bassett, M.J., (ed.), *Vegetable Breeding*. AVI Publishing Company, Westport, Connecticut.
- Ε.Σ.Υ.Ε., 2001. Εκτάσεις γεωργικών καλλιέργειών κατά είδος 2000. *Προσωρινά αποτελέσματα της ετήσιας γεωργικής στατιστικής έρευνας*.
- Falavigna A. and E. Perri, 1993. Morpho-physiological characteristics of anther-derived asparagus clones from commercial hybrids and varieties. *Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Asparagus Symposium. Acta Horticulturae ISHS*, 415: 419-422.
- Falavigna A., P.E. Casali and A. Battaglia, 1999. Achievement of asparagus breeding in Italy. *Proceedings of the 9<sup>th</sup> International Asparagus Symposium. Acta Horticulturae ISHS*, 479: 67-74.
- Norton, J.B., 1913. Methods used in breeding asparagus for rust resistance. *U.S. Dep. Agric. Bur. Plant Ind. Bull.* 263.
- Phylip, J.I. and T.M. Currence, 1964. Inbreeding and heterosis in Asparagus. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 86: 339-346.
- Reamon-Büttner, S.M. and C. Jung, 2000. AFLP-derived STS markers for the identification of sex in *Asparagus officinalis* L. *Theor. Appl. Genet.*, 100: 432-438.
- Rick, C.M. and G.C. Hanna, 1943. Determination of sex in *Asparagus officinalis* L. *Am. J. Bot.* 30: 711-714.
- Sneep, J., 1953. The significance of andromonoecy for the breeding of *Asparagus officinalis* L., I, *Euphytica* 2: 89-95.
- Thévenin, L., 1968. Les problèmes d' amélioration chez *Asparagus officinalis* L., *Ann. Amélior. Plantes*, 17(1): 33-66.
- Thuesen, A., 1960. Cytogenetical studies in *Asparagus officinalis* L. *R. Vet. Agric. Univ., Yearb., Copenhagen*, 47: 47-71.
- Van den Broek J.H. and P.H. Boonen, 1993. Today's asparagus breeding in the Netherlands. *Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Asparagus Symposium. Acta Horticulturae ISHS*, 271: 145-150.
- Yeager, A.F., and H. Scott, 1938. Studies of mature asparagus plantings with special reference to sex, survival and rooting habits. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 36: 513-514.

## ΕΡΕΥΝΑ ΤΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΕΞΙ ΤΕΡΠΕΝΙΩΝ ΣΤΗΝ ΕΛΑΙΟΡΗΤΙΝΗ ΦΛΟΙΟΥ ΤΟΥ ΥΒΡΙΔΙΟΥ *PINUS BRUTIA* (TEN.) X *PINUS HALEPENSIS* (MIL.)

Αθανάσιος Θ. Γαλλής

Περιφέρεια Αττικής, TK 11147 ΑΘΗΝΑ.

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Με την μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας (GC) καθορίστηκε η τερπενική σύνθεση της ελαιορητίνης φλοιού σε υβρίδια *Pinus brutia* x *Pinus halepensis* F<sub>1</sub> γενιάς από τεχνητές διασταυρώσεις διαφόρων συνδυασμών, υβρίδια F<sub>2</sub> γενιάς, αναδιασταυρώσεις καθώς και σε άτομα των γονικών ειδών. Η χρωματογραφική ανάλυση έδωσε την ίδια ποιοτική τερπενική σύνθεση για τα υβρίδια και τα γονικά είδη. Από τα 15 συνολικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν, αξιολογήθηκαν τα 6 (έξι) σημαντικότερα: *α-pinene*, *β-pinene*, *3-δ-carene*, *myrcene*, *α-terpinene*, *caryophyllene*, αφού τα υπόλοιπα βρέθηκαν σε ίχνη ή σε μικρές ποσότητες. Προκειμένου να μελετηθεί ο τρόπος με τον οποίο ελέγχονται γενετικά οι έξι τερπενικοί χαρακτήρες που αξιολογήθηκαν, υπολογίστηκαν οι συχνότητες κατανομών για το καθένα ξεχωριστά. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα οι χαρακτήρες *β-pinene*, *3-δ-carene*, & *myrcene*, φαίνεται ότι ελέγχονται από μικρό αριθμό γονιδίων, ενώ για τους χαρακτήρες *α-pinene*, *α-terpinene*, & *caryophyllene* ο γενετικός έλεγχος φαίνεται ότι είναι πολυγονιδιακός.

*Λέξεις-κλειδιά:* Χαλέπιος πεύκη, τραχεία πεύκη, τερπένια, αέρια χρωματογραφία, ρητίνη, γενετικός έλεγχος, υβριδισμός.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι τερπενικοί υδρογονάνθρακες δηλ. τα τερπένια αποτελούν συστατικό της ελαιορητίνης των κωνοφόρων αλλά και των αιθέριων ελαίων τους. Η ποιοτική και ποσοτική τερπενική σύνθεση της ρητίνης προσδιορίζεται σχετικά γρήγορα και με υψηλή ακρίβεια με την μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας (GC) καθώς και με τον συνδυασμό αέριας χρωματογραφίας (GC-MS) και φασματογράφου μάζας (Adams et. al. 1979, Adams 1995). Έχει επίσης αποδειχτεί ότι τα τερπένια βρίσκονται κάτω από ισχυρό γενετικό έλεγχο και επηρεάζονται ελάχιστα από το περιβάλλον. Για τους λόγους αυτούς τα τερπένια αποτελούν αξιόλογους και αξιόπιστους διαγνωστικούς χαρακτήρες και χρησιμοποιούνται τις τελευταίες δεκαετίες με επιτυχία στην επίλυση μια σειράς προβλημάτων στην έρευνα όπως η αναγνώριση υβριδίων στα κωνοφόρα, καταγραφή της γεωγραφικής ποικιλότητας του είδους, ανθεκτικότητα σε ασθένειες, την χημειοσυστηματική κ.λ.π. (Squillace 1976, Hanover 1990).

Μελέτες γενετικής έχουν δείξει ότι ο γενετικός έλεγχος των γονιδίων που ελέγχουν τα μονοτερπένια στα διάφορα είδη κωνοφόρων ποικίλλει από ένα ζεύγος αλληλόμορφων γονιδίων με σχέση κυριαρχίας-υποτέλειας για ορισμένα, μέχρι πολυγονιδιακός για κάποια άλλα (Squillace 1976, 1987, Birks and Kanowski 1988, 1993, Hanover 1990).

Με την παρούσα εργασία επιδιώκεται να μελετηθεί ο γενετικός έλεγχος 6 (έξι) κυρίων τερπενικών χαρακτήρων, πέντε μονοτερπένια (C<sub>10</sub> H<sub>16</sub>): *α-pinene*, *β-pinene*, *3-δ-carene*, *myrcene*, *α-terpinene* και ένα σεσκιτερπένιο (C<sub>15</sub> H<sub>24</sub>): *caryophyllene* της ελαιορητίνης φλοιού, σε υβρίδια που προέρχονται από τεχνητές διασταυρώσεις μεταξύ των ειδών τραχείας και χαλεπίου πεύκης. Η τερπενική σύνθεση της ελαιορητίνης φλοιού στα άτομα που μελετώνται στην παρούσα εργασία αναλύθηκε και χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία στην διάκριση των γονικών ειδών μεταξύ τους και στην ταυτοποίηση των υβριδίων τους από τους Γαλλής (1995) και Gallis and Panetsos (1997).

### ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε σε δυο συγκριτικές πειραματικές επιφάνειες δοκιμής υβριδίων και γονέων. Οι φυτείες εγκαταστάθηκαν την περίοδο 1970-72 με φυτάρια που προήλθαν από ελεγχόμενες διασταυρώσεις την περίοδο 1966-69 (Moulalis et.al. 1976), στις θέσεις «Αλαφίνα» του Παν/κου δάσους Ταξιάρχη Χαλκιδικής και Βασιλικά Θεσ/κης. Στην δειγματοληψία συμπεριλήφθησαν συνολικά 283 δένδρα ηλικίας 20-21 ετών από σποράς. Περιλαμβάνονται 105 άτομα χαλεπίου πεύκης, 31 άτομα τραχείας πεύκης, 65 τεχνητά υβρίδια F<sub>1</sub> γενιάς τραχεία x χαλέπιος πεύκη, 19 τεχνητά υβρίδια F<sub>1</sub> γενιάς χαλέπιος x τραχεία πεύκη,

23 υβρίδια  $F_2$  γενιάς και 40 άτομα αναδιασταυρώσεων (back-cross) διαφόρων συνδυασμών. Η δειγματοληψία έγινε συστηματικά από το 1/3 υψηλότερο τμήμα της κόμης του δένδρου και πάντοτε από την ίδια πλευρά (νότια) της κόμης. Από κάθε δένδρο κοβόντουσαν 1-2 πλευρικοί κλαδίσκοι με βλαστούς ενός έτους. Οι κλαδίσκοι τοποθετούνταν σε πλαστικούς σάκους μεταφέρονταν στο εργαστήριο και αποθηκεύτηκαν σε καταψύκτες στους  $-20^\circ\text{C}$ . Η δειγματοληψία ολοκληρώθηκε στις αρχές Φεβρουαρίου 1991 πριν την έναρξη της βλαστικής δραστηριότητας. Χρησιμοποιήθηκε ρέουσα ελαιορητίνη φλοιού (undistilled cortical oleoresin) από ετήσιο βλαστό, η οποία προσλήφθηκε με απλή τομή στην βάση του ετήσιου οφθαλμού. Επειδή ακριβώς ήταν εφικτή η πρόσληψη μικρής αλλά επαρκούς ποσότητας καθαρής ρέουσας ελαιορητίνης δεν υπήρξε ανάγκη για επεξεργασία και προπαρασκευή των δειγμάτων πριν την χρωματογραφική ανάλυση. Απλά πριν την έγχυση (injection) στον αεριοχρωματογράφο για ανάλυση η ελαιορητίνη διαλυόταν με διαλύτη υψηλής καθαρότητας (n-pentane) με αναλογία διαλύτη-ελαιορητίνης 2:1. Η χρωματογραφική ανάλυση έγινε με αεριοχρωματογράφο Hewlett Packard 5890 A II, εξοπλισμένο με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας F.I.D (Flame Ionization Detector), εφοδιασμένο με τριχοειδή στήλη Chrompack fused Silica - WCOT διαστάσεων 25m x 0.22mm με υγρή φάση CPtm-Wax-58 CB. Χρησιμοποιήθηκε το ακόλουθο πρόγραμμα θερμοκρασίας:  $65^\circ\text{C}$  για 8,5 min. έως τους  $170^\circ\text{C}$  με  $10^\circ\text{C}/\text{min}$ . και ισόθερμο για 1min. Η θερμοκρασία λειτουργίας του ανιχνευτή ήταν  $270^\circ\text{C}$  και ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε άζωτο με ταχύτητα ροής 25ml/min. Η ταυτοποίηση των συστατικών έγινε με σύγκριση των σχετικών χρόνων συγκράτησης (retention time) πρότυπων ουσιών (standards) με τους χρόνους συγκράτησης των δειγμάτων, κάτω από τις ίδιες συνθήκες λειτουργίας του αέριου χρωματογράφου. Η ποσότητα κάθε τερπενίου εκφράστηκε ως εκατοστιαίο ποσοστό στο σύνολο όλων των τερπενίων που ανιχνεύθηκαν στο δείγμα (total monoterpene basis). Η δειγματοληψία, η προπαρασκευή των δειγμάτων, η χρωματογραφική ανάλυση της ελαιορητίνης φλοιού, η ταυτοποίηση των συστατικών της και οι ποσοτικοί προσδιορισμοί των τερπενικών χαρακτήρων έγιναν σύμφωνα με τον Squillace (1976) και περιγράφονται αναλυτικά από τους Γαλλής (1995) και Gallis and Panetsos (1997). Για την στατιστική επεξεργασία των δεδομένων και την δημιουργία των συχνοτήτων κατανομής για τον καθένα τερπενικό χαρακτήρα χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS/PC.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

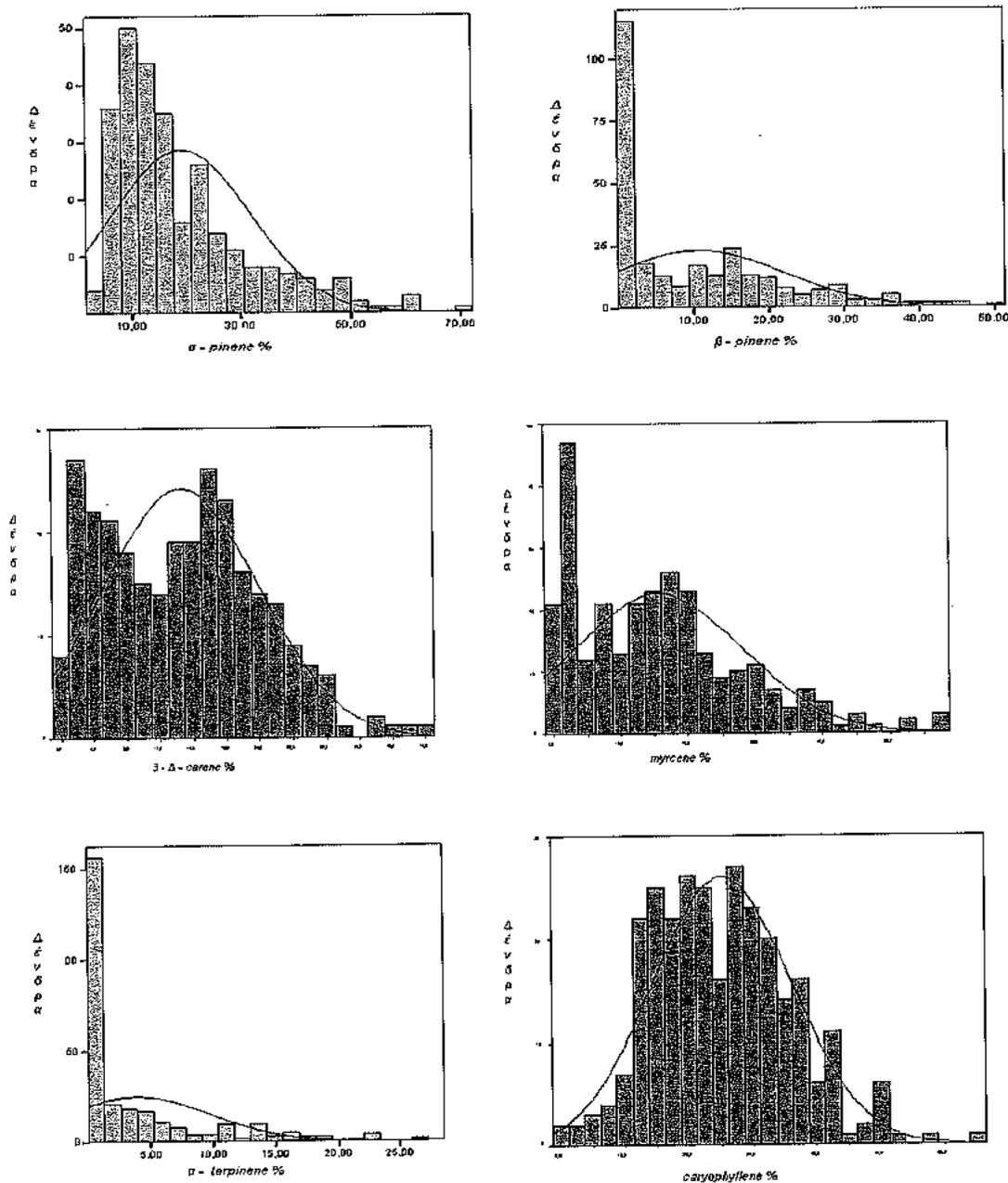
Η χρωματογραφική ανάλυση της ρητίνης φλοιού έδωσε την ίδια ποιοτική τερπενική σύνθεση για τα γονικά είδη, τα υβρίδια και της αναδιασταυρώσεις. Ανιχνεύτηκαν 15 συνολικά συστατικά, από τα οποία αναγνωρίστηκαν 14:  *$\alpha$ -pinene*, *camphene*,  *$\beta$ -pinene*, *sabinene*, *3- $\delta$ -carene*, *myrcene*,  *$\alpha$ -terpinene*, *limonene*, *terpinolene*, *santene*, *caryophyllene*, *humulene*, *bornyl acetate*, *longifolene*. Από τα παραπάνω αναγνωρισθέντα τερπένια αξιολογήθηκαν τελικά 6 (έξι) κύρια συστατικά:  *$\alpha$ -pinene*,  *$\beta$ -pinene*, *3- $\delta$ -carene*, *myrcene*,  *$\alpha$ -terpinene*, *caryophyllene* τα οποία παρουσιάζονται σε μεγάλες ή αξιόλογες ποσότητες σε όλα τα δείγματα της ελαιορητίνης και μαζί αποτελούν το 90% περίπου του συνόλου των τερπενίων που ανιχνεύτηκαν (Πιν. 1).

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι τερπενικοί χαρακτήρες παρουσίασαν ποικιλότητα στο σύνολο των δένδρων που αναλύθηκαν (Πιν.1). Η ποσοτική τερπενική σύνθεση της χαλεπίου πεύκης χαρακτηρίζεται κυρίως από τον υψηλό μ. όρο (25.65%) του χαρακτήρα  *$\alpha$ -pinene* και τον πολύ χαμηλό μ. όρο (2.12%) του χαρακτήρα  *$\beta$ -pinene*. (Πιν.2). Αντίθετα η τερπενική σύνθεση της τραχειάς πεύκης χαρακτηρίζεται από τα υψηλά ποσοστά για το χαρακτήρα  *$\beta$ -pinene* (28.08%) και τα χαμηλά ποσοστά του  *$\alpha$ -pinene* (25.65%). Στα υβρίδια  $F_1$  γενιάς η τερπενική σύνθεση είναι παρουσιάζεται ενδιάμεση των δυο ειδών με εξαίρεση το χαρακτήρα *3- $\delta$ -carene* ο οποίος παρουσιάζεται με υψηλότερα ποσοστά (19.71%) και από τους δυο γονείς. Αξιολόγηση των συγκεκριμένων τεχνητών υβριδίων έδειξε ότι παρουσιάζουν μεγάλη υβριδική υπεροχή σε ταχύτητα αύξησης σε σχέση με τους γονείς που σε ορισμένες περιπτώσεις φθάνει μέχρι και 190%. (Panetsos, et.al. 1983). Μπορούμε κατά συνέπεια να παρατηρήσουμε ότι η ετέρωση σε αύξηση των υβριδίων συνδυάζεται με την υπεροχή των υβριδίων σε σχέση με τα γονικά είδη για την περιεκτικότητα του χαρακτήρα *3- $\delta$ -carene*. Η τερπενική σύνθεση στα υβρίδια  $F_2$  γενιάς χαρακτηρίζεται από το ασυνήθιστα υψηλό ποσοστό του συστατικού  *$\alpha$ -terpinene* (10.23%) αφού γενικά ο χαρακτήρας παρουσιάζει τόσο στο σύνολο των δένδρων (Πιν.1) αλλά και στα γονικά είδη και στα υβρίδια  $F_1$  γενιάς τιμές μικρότερες του 5%. (Πιν.2). Η υβριδική ρώμη εμφανίζεται μόνο στην  $F_1$  γενιά και δεν πρέπει να αναμένεται η έκφρασή της στην  $F_2$  γενιά. Η εμφάνιση υπεροχής σε ορισμένα άτομα της  $F_2$  γενιάς μπορεί να εξηγηθεί με την «υπερβατική διάσπαση» (trgressive segregation), σύμφωνα με την οποία μερικές

φορές ένας ξεχωριστός γενότυπος που προέκυψε από ένα πλήθος διασταυρώσεων μπορεί να υπερéχει από τους δυο γονείς σε ένα ή περισσότερους χαρακτήρες (Fehr, 1987).

**Σχήμα 1.** Συχνότητες κατανομών των :  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, 3- $\delta$ -carene, myrcene,  $\alpha$ -terpinene και caryophyllene



**Πίνακας 1.** Μέσος όρος (%), τυπική απόκλιση, τυπικό σφάλμα και εύρος τερπενικών χαρακτήρων ελαιορτηνής φλοιού στο σύνολο των δένδρων.

Στατιστικά μεγέθη	$\alpha$ -pinene	$\beta$ -pinene	3- $\delta$ -carene	myrcene	$\alpha$ -terpinene	caryophyllene
Μέσος όρος (%)	19,17	10,59	14,63	15,61	3,92	25,56
Τυπ. απόκλιση	12,66	11,42	9,35	12,48	5,91	10,85
Τυπικό σφάλμα	0,76	0,67	0,55	0,74	0,35	0,64
Ελάχιστη τιμή (%)	1,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Μέγιστη τιμή (%)	72,27	51,31	43,51	58,28	28,55	64,90
αριθμός δένδρων (N)	283	283	283	283	283	283

Πίνακας 2. Μέσοι όροι (%) τερπενικών χαρακτήρων ελαιορητίνης φλοιού στα γονικά είδη και τα υβρίδια.

Είδη	$\alpha$ -pinene	$\beta$ -pinene	3- $\delta$ -carene	myrcene	$\alpha$ -terpinene	caryophyllene
Τραχεία πεύκη	14,00	28,08	15,83	10,59	1,20	21,23
Χαλέπιος πεύκη	25,65	2,12	10,04	18,11	4,36	28,36
Υβρίδια F <sub>1</sub> γενιάς	10,98	12,26	19,17	14,26	3,90	28,85
Υβρίδια F <sub>2</sub> γενιάς	20,86	10,91	17,08	13,98	10,23	18,93

Προτάσεις για τον τρόπο κληρονομής και τον γενετικό έλεγχο των τερπενικών χαρακτήρων έχουν διατυπωθεί από αρκετούς ερευνητές. Οι προτάσεις αυτές βασίζονται στο είδος της συχνότητας κατανομής της ποσότητας του χαρακτήρα σε ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων. Στα διάφορα είδη κωνοφόρων έχει προταθεί έλεγχος που ποικίλλει από ένα ζεύγος αλληλόμορφων μέχρι πολυγονιδιακός (Birks and Kanowski 1988, Hanover 1990). Μελέτες της γενετικής των τερπενίων στα κωνοφόρα περιλαμβάνουν την εύρεση του μοντέλου του γενετικού ελέγχου σύμφωνα με την κατανομή των συχνοτήτων καθώς επίσης με την στατιστική επεξεργασία την εκτίμηση της κληρονομικότητας (White and Nilsson 1984). Σύμφωνα με τον Squillace (1976, 1987) όταν τα δεδομένα παρουσιάζουν κανονική κατανομή, αυτό αποτελεί μια σοβαρή ένδειξη ότι ο γενετικός έλεγχος του χαρακτήρα είναι πολυγονιδιακός. Αντίθετα η μη κανονική κατανομή των δεδομένων είναι μια ισχυρή ένδειξη ότι ο χαρακτήρας ελέγχεται από μικρό αριθμό γονιδίων. Για να ισχύει κάτι τέτοιο όμως θα πρέπει επίσης εκτός από την ασύμμετρη κατανομή να παρουσιάζονται δύο ή και περισσότερα μέγιστα. Αν η συχνότητα κατανομής ενός τερπενίου είναι δυνωμική αυτό είναι ένδειξη ότι η περιεκτικότητα του χαρακτήρα ελέγχεται από ένα ζεύγος αλληλόμορφων γονιδίων με σχέση κυριαρχίας - υποτέλειας.

Όπως προκύπτει από τις συχνότητες κατανομής (σχ.1) για τα περισσότερα τερπένια υπάρχει έντονη η τάση για μη κανονική κατανομή των δεδομένων. Εξάιρεση αποτελεί το συστατικό *caryophyllene* το μόνο σεσκιτερπένιο (C<sub>15</sub> H<sub>24</sub>) από τα συστατικά που αναλύθηκαν του οποίου η συχνότητα κατανομής δείχνει συμφωνία με την κανονική κατανομή. Οι συχνότητες κατανομών των χαρακτήρων  *$\alpha$ -pinene* &  *$\alpha$ -terpinene*, (σχ.1) αποκλίνουν της κανονικής κατανομής δεν παρουσιάζουν όμως καθαρά περισσότερα από ένα μέγιστα. Όμως δεν μπορεί να υποστηριχθεί ότι τα μονοτερπένια αυτά ελέγχονται από περιορισμένο αριθμό γονιδίων, όταν τα συμπεράσματα δεν υποστηρίζονται επιπρόσθετα από αναλύσεις οικογενειών, επειδή είναι πιθανόν η απόκλιση της κατανομής από την κανονική κατανομή να μην οφείλεται σε γενετικούς λόγους αλλά να προκαλείται από άλλες αιτίες όπως από το γεγονός ότι τα δεδομένα εκφράζονται ποσοστά. Η συχνότητα κατανομής για το σεσκιτερπένιο *caryophyllene* όπως αναφέρθηκε παραπάνω έδειξε συμφωνία με την κανονική κατανομή, γεγονός που αποτελεί σοβαρή ένδειξη ότι ο γενετικός έλεγχος του χαρακτήρα είναι πολυγονιδιακός. Οι συχνότητες κατανομών για τα συστατικά  *$\beta$ -pinene*, *3- $\delta$ -carene* & *myrcene* (σχ.1) δεν συμφωνούν με την κανονική κατανομή, είναι ασύμμετρες και παρουσιάζουν καθαρά δύο τουλάχιστον μέγιστα. Το γεγονός αυτό αποτελεί σοβαρή ένδειξη ότι τα συστατικά αυτά ελέγχονται από μικρό αριθμό γονιδίων. Μικρός αριθμός γονιδίων για τον γενετικό έλεγχο των μονοτερπενίων  *$\beta$ -pinene*, *3- $\delta$ -carene*, & *myrcene* στην ελαιορητίνη φλοιού υβριδίων F<sub>1</sub> γενιάς που προήλθαν από τεχνητές διασταυρώσεις προτείνεται και από τον Μητσόπουλο (1986).

Έχει αποδειχθεί ότι οι βιοχημικοί αυτοί χαρακτήρες-τερπένια της ελαιορητίνης φλοιού-είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικοί στην αναγνώριση (ταυτοποίηση) υβριδίων F<sub>1</sub>&F<sub>2</sub> γενιάς που προήλθαν από τεχνητές διασταυρώσεις μεταξύ των ειδών τραχείας και χαλέπιου πεύκης (Γαλλής 1995, Gallis and Panetsos, 1997). Επίσης αναλύσεις τερπενίων που αφορούν τόσο τα είδη χαλέπιος και τραχεία πεύκη όσο και τα υβρίδια τους έχουν αποδείξει ότι οι χαρακτήρες  *$\alpha$ -pinene*,  *$\beta$ -pinene*, *3- $\delta$ -carene*, & *myrcene* είναι κύρια συστατικά στην ελαιορητίνη και στα αιθέρια έλαια των δυο ειδών, με μεγάλη διαχωριστική ικανότητα στην διάκριση των ειδών μεταξύ τους, την αναγνώριση των υβριδίων τους, καθώς και την καταγραφή της ποικιλότητας μεταξύ των προελεύσεων των ειδών (Iconomou et. al. 1964, Miron et. al. 1966, Schiller and Crunwald 1986, 1987a, 1987b, Μητσόπουλος 1987, Schiller and Genizi 1993, Gallis et.al. 1998, Petrakis et.al. 2000).

Συνοψίζοντας, από την παρούσα έρευνα προκύπτει ότι οι χαρακτήρες  *$\beta$ -pinene*, *3- $\delta$ -carene*, & *myrcene* φαίνεται να ελέγχονται από περιορισμένο αριθμό γονιδίων, ο χαρακτήρας *caryophyllene* από περισσότερα γονίδια, ενώ για τους υπόλοιπους  *$\alpha$ -pinene* &  *$\alpha$ -terpinene* δεν προκύπτει με βάση τα αποτελέσματα ο τρόπος του γενετικού ελέγχου. Όμως η βιοσύνθεση των δευτερογενών αυτών μεταβολιτών δηλ.τα τερπένια είναι ένα φαινόμενο σύνθετο, ρυθμίζεται από την παρουσία και την δραστηριότητα κατάλληλων ενζύμων και η τελική σύνθεση της ελαιορητίνης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Προτείνεται παραπέρα έρευνα προκειμένου να διερευνηθεί και να προσδιοριστεί ο ακριβής τρόπος

κληρονομίας των τερπενικών αυτών υδρογοναθράκων με δεδομένα από επιπρόσθετες αναλύσεις (full και half sub families) οικογενειών καθώς και με την εφαρμογή επιπλέον μεθόδων πολυμεταβλητής στατιστικής ανάλυσης. Θα πρέπει να μελετηθεί εάν υπάρχουν σχέσεις κυριαρχίας – υποτέλειας αλλά και εάν υφίστανται φαινόμενα όπως η επίσταση, η σύνδεση για τα γονίδια που ελέγχουν τους χαρακτήρες αυτούς. Ο προσδιορισμός του ακριβούς τρόπου κληρονομίας και του γενετικού ελέγχου των βιοχημικών αυτών χαρακτήρων – τερπένια της ελαιορητίνης φλοιού – θα αυξήσει την χρησιμότητά τους και σε συνδυασμό με την αποδεδειγμένη διαχωριστική τους ικανότητα, θα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως γονίδια – δείκτες για την έμμεση επιλογή γενότυπων με επιθυμητά χαρακτηριστικά, σε προγράμματα υβριδισμού και γενικότερα στην επίλυση προβλημάτων στην δασική έρευνα.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adams, R. P. 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, USA, pp.1-145.
- Adams, R. P., Granat, M., Hogge, L. P. and von Rudloff, E. 1979. Identification of lower terpenoids from gas chromatography – mass spectral data by on line computer method. *Journal of Chromatography Science*, 17 : 75-81.
- Birks, J. S and Kanowski, P.J. 1988. Interpretation of the composition of coniferous resin. *Silvae Genetica* 37(1): 29-38.
- Birks, J. S and Kanowski, P.J. 1993. Analysis of resin compositional data. *Genetica* 42(6): 340-350.
- Γαλλής, Α.Θ. 1995. Χρησιμοποίηση βιοχημικών δεικτών για την αναγνώριση τεχνητών και φυσικών υβριδίων κωνοφόρων. Διδακτορική Διατριβή. Τμήμα Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Α.Π.Θ. 164 σελ.
- Fehr, W.R. 1987. Principles of cultivar development. Theory and Technique. Vol (1) Collier Macmillan Publish. London. 536pp.
- Gallis, A. T. and Panetsos, K.P. 1997. Use of cortical terpenes to discriminate *Pinus brutia* (Ten.), *Pinus halepensis* (Mill.) and their hybrids. *Silvae Genetica*, 46 (2-3): 82 - 88.
- Gallis, A.T., Lang, K., and Panetsos, K. P. 1998. Bud monoterpene composition in *Pinus brutia* (Ten.), *Pinus halepensis* (Mill.) and their hybrids. *Silvae Genetica*, 47 (2-3): 71-74.
- Hanover, J. W. 1990. Tree fitness as a function of terpene composition. In Proceedings of the International Symposium on Population Genetics of Trees, 31 July 1990, Corvallis, OR. 35pp.
- Iconomou, N., Valkanas, C. and Buchi, J. 1964. Composition of gum turpentine of *Pinus halepensis* and *Pinus brutia* grown in Greece. *Journal of Chromatography*, 16: 29 -33.
- Mirov, N.T., Zavarin, E. and Snajberk, K. 1966. Chemical composition of some Eastern Mediterranean pines in relation to their classification. *Phytochemistry*, 5 : 97-102
- Μητσόπουλος, Δ.Ι. 1986. Η μονοτερπενική σύνθεση της ρητίνης στο φλοιό της *P. halepensis* (Mill) και *P. brutia* (Ten.) . Η σημασία της στην ταυτοποίηση του υβριδίου. *Επιστημ. Επετ. Τμήμ. Δασολογίας και Φυσ. Περι/ντος. Τόμος ΚΘ' - Vol. ΚΘ' Θεσ/νίκη 1986.*: 405-420.
- Μητσόπουλος, Δ.Ι. 1987. Ποσοτική και ποιοτική βελτίωση του τερεβινθελαιίου της ρητίνης στη χαλέπιο πέυκη . Πρακτικά επιστημονικής συνάντησης "Δάση χαλέπιου και τραχίας πέυκης". Χαλκίδα 30 Σεπτ.- 2 Οκτ. 1987, σελ. 433-444.
- Moulalis, D., Bassiotis, C. and Mitsopoulos, D. 1976. Controlled pollinations among *Pine* species in Greece. *Silvae Genetica* 25(3-4): 95-107.
- Panetsos, K.P., Moulalis, D. and Mistopoulos, D. 1983. Artificial hybrids between *Pinus brutia* and *Pinus halepensis* in Greece. Growth Adaptation. Lab. of Forestry Genetics and For. Plant Breeding. Univ. of Thessaloniki. 18 pp
- Petrakis, P. V., Roussis, V. and Ortiz, A. 2000. Monoterpenoid diversity in relation to morphology of *Pinus brutia* and *Pinus halepensis* in an east Mediterranean area (Attiki, Greece): Implications for pine evolution. *Edinburgh Journal of Botany*, 57(3):349-375.
- Schiller, G. and Grunwald, C. 1986. Xylem resin monoterpene composition of *Pinus halepensis* (Mill) in Israel. *Israel Journal of Botany*, vol 35: 23-33.
- Schiller, G. and Grunwald, C. 1987(a). Cortex resin monoterpene composition in *Pinus brutia* provenances grown in Israel. *Biochemical Systematics and Ecology*. Vol. 15(4): 389-394.
- Schiller, G. and Grunwald, C. 1987(b). Resin monoterpenes in range wide provenance trials of *Pinus halepensis* (Mill.) in Israel. *Silvae Genetica*, 36 (3-4):109 -115.
- Schiller, G. and Genizi, A. 1993. An attempt to identify the origin of *Pinus brutia* (Ten.) plantations in Israel by needle resin composition. *Silvae Genetica*, 42 (2-3): 63-68.
- Squillace, A.E. 1976. Analyses of monoterpenes of conifers by gas liquid – chromatography. In: *Modern Methods in Forest Genetics*. J.P. Miksche (Ed) Springer Verlag, New York, Chapter 6: 120-157.
- Squillace, A.E. 1987. Monoterpene Composition in Forest Genetics Research. *Naval Stores review*. Vol 97 (1): 12-15.
- White, E.E. and Nilsson, G.E. 1984. Foliar terpene heritability in *Pinus contorta*. *Silvae Genetica*, 33(1):16-22.

**RESEARCH OF GENETIC CONTROL OF SIX TERPENES IN CORTICAL OLEORESIN OF  
*PINUS BRUTIA* (TEN.) X *PINUS HALEPENSIS* (MILL.) HYBRIDS****Athanassios Gallis**

Authority of the region of Attica, Athens.

**SUMMARY**

The terpene composition of cortical oleoresin in 283 individuals included provenances of *Pinus halepensis*, *Pinus brutia*, their hybrids F<sub>1</sub>, & F<sub>2</sub> generations and back – cross was determined by gas chromatography (GLC). No qualitative differences were found in cortical terpene composition between the species and the hybrids. Fifteen compounds were detected in the cortical oleoresin of all trees, fourteen of which were identified. The major components were: *α-pinene*, *β-pinene*, *3-δ-carene*, *myrcene*, *α-terpinene*, *caryophyllene*, since the rest found in traces or very small quantities and not evaluated. To explore the genetic control of six major terpenes the frequency distribution for each one was calculated. Based on their frequency distribution, the components *β-pinene*, *3-δ-carene*, & *myrcene* appears to be under oligogenic control, whereas the components *α-pinene*, *α-terpinene*, & *caryophyllene* seems to be under multigenic control. Knowledge of the inheritance patterns will enhance the use of terpenes as gene markers in taxonomic studies, in forest genetic experiments and in identifying geographic origin of seed.

**Key words:** *Pinus halepensis*, *Pinus brutia*, terpenes, oleoresin, genetic control, gas chromatography hybrids.

**ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΑΜΠΕΛΟΥ (*Baresana x Baresana*)  
ΣΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ  
IN VITRO**

Γρομματικάκη Γ.<sup>1</sup>, Αυγελής Α.<sup>2</sup>, Ταβουλάρης Π.<sup>1</sup> και Μ. Δοξαστάκη<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τ.Ε.Ι. Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Ηράκλειο Κρήτης

<sup>2</sup>Εργαστήριο Φυτικής Ιολογίας, ΕΘΙΑΓΕ Ηρακλείου Κρήτης

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Πέντε πρέμνα του υβριδίου *Baresana x Baresana* μολυσμένα με τρεις ιούς της αμπέλου (GLRaV-3, GVA, GAMV), υποβλήθηκαν στη διαδικασία της εξυγίανσης με την τεχνική της θερμοθεραπείας *in vitro*. Μετά από μικροπολλαπλασιασμό δημιουργήθηκαν δύο παρτίδες φυταρίων από κάθε πρέμνο (55 και 116 ημέρες παραμονής τους στο θάλαμο ανάπτυξης) που στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε θάλαμο θερμοθεραπείας με  $36,5 \pm 0,5$  °C, ένταση φωτισμού 3500 Lux και φωτοπερίοδο 16 ώρες, όπου παρέμειναν από 87 μέχρι 91 ημέρες.

Από τα αποτελέσματα της μελέτης προκύπτει ότι η βιωσιμότητα στις συνθήκες της θερμοθεραπείας *in vitro* για τα πέντε πρέμνα του υβριδίου *Baresana x Baresana* καθοριστικό ρόλο έχει η ηλικία των *in vitro*-φυταρίων που εισέρχονται σε περιβάλλον θερμοκρασίας  $36,5 \pm 0,50$  C. Πράγματι το ποσοστό βιωσιμότητας ήταν σχεδόν τριπλάσιο στα ηλικίας 55 ημερών (51,5% έναντι 16,6% στα ηλικίας 116 ημερών). Όσον αφορά την επίδραση του πρέμνου-κλώνου φαίνεται ότι υφίσταται συσχέτιση του γενετικού παράγοντα με το επίπεδο ανοχής στις παρατεταμένες συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών, καθόσον η διαφορά του ποσοστού βιωσιμότητας που κυμάνθηκε από 26,6 έως 50%, σίγουρα δεν μπορεί να αποδοθεί στο διαφορετικό επίπεδο φυτοϋγείας, δεδομένου ότι τα πέντε πρέμνα ήταν μολυσμένα με τους ίδιους φυτικούς ιούς.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού αμπέλου ελεύθερου ιώσεων αποτελεί στοιχείο απαραίτητο στη σύγχρονη αμπελουργία. Η επισήμανση υγιών κλώνων στον αγρό, διαμέσου της κλωνικής επιλογής, έχει συνήθως πολύ μικρή επιτυχία. Για το λόγο αυτό η αξιοποίηση των μεθοδολογιών εξυγίανσης (μεριστωματικός πολλαπλασιασμός, θερμοθεραπεία, χημειοθεραπεία, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό) των μολυσμένων με ιούς μητρικών πρέμνων συγκροτεί μια αποτελεσματική εναλλακτική πρακτική.

Η καλλιέργεια μεριστωμάτων *in vitro* έχει πολύ συχνά μικρό ποσοστό επιτυχίας, λόγω της μειωμένης βιωσιμότητας των χρησιμοποιούμενων εκφύτων (0,2 - 0,5 mm) (Altmayer, 1989, Maekawa *et al.*, 1993). Αρκετά καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν η τεχνική αυτή συνδυάζεται με τη χημειοθεραπεία ή τη θερμοθεραπεία, καθόσον παρέχεται η δυνατότητα να απομονωθούν μεγαλύτερων διαστάσεων μεριστώματα, που έχει ως αποτέλεσμα να αυξάνεται η βιωσιμότητά τους (Barba *et al.* 1992, Regner *et al.* 1995).

Όσον αφορά το συνδυασμό θερμοθεραπεία *in vitro* + μεριστώμα, ένα σύνηθες πρόβλημα είναι το χαμηλό ποσοστό επιβίωσης των φυταρίων *in vitro* - δωρητών μεριστωμάτων - στις παρατεταμένες συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας (35 - 40° C), ένα γεγονός που επηρεάζεται τόσο από ενδογενείς (ποικιλία, κλώνος) όσο και από εξωγενείς παράγοντες (διαφοροποιήσεις στις επιλογές και χειρισμούς). Παρά τούτα χρησιμοποιείται ευρέως και δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα. Πρόσφατα η θερμοθεραπεία *in vitro* σε συνδυασμό με τη λήψη μεριστωματικών κορυφών αποδείχθηκε αποτελεσματική στην εξάλειψη σημαντικών ιών που διαβιώνουν τόσο στο παρέγχυμα (GFLV, CarMV), όσο και εκείνων που συγκεντρώνονται στο αγγειακό σύστημα (GLRaV-1, 2, 3, 6 και 7, GVA, GVB και GFkV) σε τρεις διαδομένες ελληνικές ποικιλίες (Ροδίτης, Εινόμαυρο και Σαββατιανό) (Γρομματικάκη κ.ά. 2001). Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η προκαταρκτική αξιολόγηση της συμπεριφοράς στην εφαρμογή της θερμοθεραπείας *in vitro* πέντε πρέμνων του υβριδίου *Baresana x Baresana*, τα οποία είναι μολυσμένα με τρεις σημαντικούς ιούς της αμπέλου.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Κληματίδες του χειμώνα πάρθηκαν από πέντε πρέμνα του υβριδίου *Baresana x Baresana* (B10, B11, B12, B13 και 11b) που διατηρούνται στη συλλογή του Εργαστηρίου Φυτικής Ιολογίας, ΕΘΙΑΓΕ, Ηράκλειο. Τα πέντε πρέμνα είναι μολυσμένα με τρεις ιούς της αμπέλου: ο ιός του γωνιώδους μωσαϊκού της αμπέλου (Grapevine

anguiar mosaic Parvivirus, GAMV) που πρόσφατα επισημάνθηκε στη χώρα μας (Girgis *et al.* 2000), ο ιός 3 που σχετίζεται με το καρούλιασμα του φύλλου της αμπέλου (Grapevine leafroll associated Ampelovirus 3, GLRaV-3) και ιός A της αμπέλου (Grapevine A Vitivirus, GVA).

Οι κληματίδες τοποθετήθηκαν σε δοχεία που περιείχαν θρεπτικό διάλυμα και όταν οι νεαροί βλαστοί απέκτησαν μήκος 5 με 10 cm τεμαχίστηκαν δημιουργώντας έκφυτα μήκους περίπου 1cm αποτελούμενα από τμήμα μεσογονατίου με τον αντίστοιχο κόμβο. Απολυμάνθηκαν σε διάλυμα αλκοόλης (70%) για 30 δευτερόλεπτα και υποχλωριώδες ασβέστιο (10%) για 20 λεπτά και κατόπιν εμφυτεύθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες σακχαρώδους που περιείχαν 10 ml θρεπτικού υποστρώματος (Zlenko *et al.*, 1995), συμπληρωμένο με ινδολοβουτυρικό οξύ (IBA) 0,25 mg/l, άγαρ 8 g/l και σακχαρόζη 10 g/l, ενώ το pH του ρυθμίστηκε στο 5,8.

Οι σωλήνες τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης (θερμοκρασία  $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , φωτοπερίοδο 16 ώρες και ένταση φωτισμού 3.500 Lux), όπου παρέμειναν για 1,5-2 μήνες. Η διαδικασία του μικροπολλαπλασιασμού επαναλήφθηκε αρκετές φορές προκειμένου να δημιουργηθεί ένας αριθμός φυταρίων *in vitro*, τα οποία στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε θάλαμο θερμοθεραπείας για περίοδο 87-91 ημερών, όπου η θερμοκρασία ήταν στους  $36,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , η και η φωτοπερίοδος 16 ώρες.

Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν δύο παρτίδες φυταρίων από κάθε πρέμνο: η πρώτη περιελάμβανε φυτάρια *in vitro* τα οποία είχαν παραμείνει στο θάλαμο ανάπτυξης επί 55 ημέρες, ενώ στη δεύτερη ο χρόνος παραμονής ήταν υπερδιπλάσιος (116 ημέρες). Πρέπει να σημειωθεί ότι τα φυτά που υπέστησαν τη θερμοθεραπεία είχαν επιλεγεί με βάση το σφρίγγος και την καλή ανάπτυξη του ριζικού συστήματος. Ο μακροσκοπικός έλεγχος και η καταγραφή των νεκρωμένων φυταρίων γινόταν περιοδικά με έναρξη του πρώτου ελέγχου μετά 22 ημέρες και στη συνέχεια ανά δέκα ημέρες. Συνολικά έγιναν οκτώ έλεγχοι με απομάκρυνση των νεκρωμένων και προσδιορισμό του ποσοστού βιωσιμότητας.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο αριθμός των φυταρίων που επιβίωσαν στη διαδικασία της θερμοθεραπείας και τελικά αποτέλεσαν το φυτικό υλικό έναρξης για τη λήψη των μεριστωματικών κορυφών, διαφοροποιήθηκε ανάλογα με τη διάρκεια της θερμοθεραπείας, το πρέμνο - δωρητή και την ηλικία του φυτικού υλικού *in vitro* (Πίνακας I). Συγκεκριμένα από το πρέμνο B10 εντάχθηκαν στη διαδικασία της θερμοθεραπείας συνολικά 45 *in vitro*-φυτάρια, από τα οποία τα 15 είχαν παραμείνει 116 ημέρες στο θάλαμο ανάπτυξης, ενώ τα υπόλοιπα 30 μόνο 55 ημέρες. Μετά 63 ημέρες θερμοθεραπείας επιβίωσαν 7 (46,6%) και 25 (83,3%), αντίστοιχα. Στο τέλος (87 ημέρες) η αντίστοιχη βιωσιμότητα ήταν 2 (13,3%) και 16 (53,3%).

Από τα 12 της μεγαλύτερης και τα 30 της νέας ηλικίας *in vitro*-φυτάρια του πρέμνου B11 μετά 63 ημέρες θερμοθεραπείας βιώσιμα ήταν μόνο τα 4 (33,3%) και τα 21 (70%), αντίστοιχα. Στο τέλος της διαδικασίας (88 ημέρες θερμοθεραπείας) επιβίωσαν 1 και 15 φυτάρια, αντίστοιχα (ποσοστό βιωσιμότητας 8% και 50%).

Η συμπεριφορά του πρέμνου B12 ήταν η εξής: Μετά από 63 ημέρες στους  $36,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  είχαν επιβιώσει 7 από τα 15 (46,6%) και 22 από τα 30 (73,3%) *in vitro*-φυτάρια της μεγαλύτερης και νεαρής ηλικίας. Μετά από 89 ημέρες θερμοθεραπείας βιώσιμα παρέμειναν 2 (13,3%) και 10 (33,3%) *in vitro*-φυτάρια, αντίστοιχα.

Από τα 12 ηλικιωμένα και τα 28 νεαρά *in vitro*-φυτάρια του πρέμνου B13 επιβίωσαν μετά 63 ημέρες 8 (66,6%) και 25 (89,3%), αντίστοιχα. Στο τέλος της θερμοθεραπείας (89 ημέρες) τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 5 (41,6%) και 15 (53,6%) φυτάρια, αντίστοιχα.

Τέλος στα *in vitro*-φυτάρια του πρέμνου 11b, μετά 63 ημέρες θερμοθεραπείας είχαν επιβιώσει 2 από τα 12 (16,6%) και 26 από τα 33 (78,8%) της μεγαλύτερης και νεαρής ηλικίας, αντίστοιχα. Τελικά - μετά 91 ημέρες θερμοθεραπείας - οι αντίστοιχες τιμές ήταν 2 στα 33 (6,3%) και 1 στα 12 (8,3%).

Λαμβάνοντας υπόψη τη συμπεριφορά των πέντε πρέμνων-δωρητών σε σχέση με την ηλικία των *in vitro*-φυταρίων παρατηρείται ότι την καλύτερη επίδοση (ανοχή σε περιβάλλον θερμοκρασίας των  $36,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) εμφάνισε το πρέμνο 11b με 63,6% βιωσιμότητα, ακολουθούμενο από τα πρέμνα B13 (53,6%), B10 (53,3%) και B11 (50%). Αντίθετα η μικρότερη ανοχή σημειώθηκε στο πρέμνο B12 (33,3%). Στα μεγαλύτερης ηλικίας *in vitro*-φυτάρια το μεγαλύτερο ποσοστό βιωσιμότητας καταγράφηκε στο πρέμνο B13 (41,6%), ενώ στα υπόλοιπα το ποσοστό κυμάνθηκε μεταξύ 8 και 13,3%.

Όσον αφορά την ηλικιακή κατάσταση των *in vitro*-φυταρίων (116 και 55 ημερών) που υπέστησαν τη διαδικασία θερμοθεραπείας, παρατηρείται ότι καλύτερη συμπεριφορά εμφάνισαν τα νεαρής ηλικίας, καθόσον από τα 151 επιβίωσαν τα 77 (51%), ενώ από τα 66 φυτάρια της μεγαλύτερης ηλικίας επιβίωσαν μόνο 11 (16,6%).

Τέλος η συνολική εκτίμηση της συμπεριφοράς στη διαδικασία της θερμοθεραπείας *in vitro* των πέντε πρέμνων-δωρητών επιτρέπει τις εξής παρατηρήσεις: το συνολικό υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης 50%

καταγράφεται στο πρέμνο B13 ακολουθούμενο από το πρέμνο 11b (48,9%), το B10 (40%) και το B11(38%). Αντίθετα το χαμηλότερο ποσοστό επιβίωσης (26,6%) εμφάνισε το πρέμνο B12.

Από τα αποτελέσματα της μελέτης προκύπτει ότι η βιωσιμότητα στις συνθήκες της θερμοθεραπείας *in vitro* για τα πέντε πρέμνα του υβριδίου Baresana x Baresana καθοριστικό ρόλο έχει η ηλικία των *in vitro*-φυταρίων που εισέρχονται σε περιβάλλον θερμοκρασίας  $36,5 \pm 0,5$  °C. Πράγματι το ποσοστό βιωσιμότητας ήταν σχεδόν τριπλάσιο στα ηλικίας 55 ημερών (51,5% έναντι 16,6% στα ηλικίας 116 ημερών). Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει την ήδη υπάρχουσα κυρίαρχη γνώμη για τα πλεονεκτήματα αξιοποίησης σφριγηλών και νεαρών *in vitro*-φυταρίων (Barba *et al.* 1992, Walter, 1997). Οσον αφορά την επίδραση του πρέμνου-κλώνου φαίνεται ότι υφίσταται συσχέτιση του γενετικού παράγοντα με το επίπεδο ανοχής στις παρατεταμένες συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών, καθόσον η διαφορά του ποσοστού βιωσιμότητας που κυμάνθηκε από 26,6 έως 50%, σίγουρα δεν μπορεί να αποδοθεί στο διαφορετικό επίπεδο φυτοϋγείας, δεδομένου ότι τα πέντε πρέμνα ήταν μολυσμένα με τους ίδιους φυτικούς ιούς.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Altmayer B., 1989. The use of *in vitro* apical culture of grapevine to eliminate pathogens, different viruses, *Agrobacterium tumefaciens*. *Vitis*, Special issue, No 463.
- Barba M., Martino L. and Cupidi A., 1992. Grapevine sanitation: three techniques compared. *Vignevini*, 19:33-36.
- Γραμματικάκη Γ., Αργυράκης Ε., Παπαδοπούλου Δ. και Αυγελής Α., 2001. Εξυγίανση οиноποιήσιμων ποικιλιών αμπέλου (Ροδίτης, Ξινόμαυρο, Σαββατιανό) διαμέσου της θερμοθεραπείας και του μεριστωματικού πολλαπλασιασμού *in vitro*. 20<sup>ο</sup> Επιστ. Συν. Ελλ. Ετ. Επ. Οπωροκηπευτικών, 29/10-1/11. Λάρνακα, Κύπρος, σελ. 60 (περίληψη).
- Girgis S.M., Bem F., Κυριακοπούλου Ρ.Ε., Dovas C.I., Sklavounos A.P., Avgelis A., Katis N., Tzortzakaki S. and Tsagris M., 2000. A new Parvivirus from grapevine in Greece. *Plant Disease*, 84:1345 (Disease Note).
- Maekawa A., Namba I., Tanaka Y. and Yamashita H., 1993. Elimination of viruses by meristem culture. 2. Elimination of grapevine leafroll virus. *Res. Bul. Pl. Protection Service*, 29:57-61.
- Regner F., Brandt S., Romann H. and Stadlhuber A., 1995. Elimination of viruses of grapevine *in vitro*. *Mitteilungen Kloster., Rebe und Wein*, 45:67-74.
- Walter B., 1997. Sanitary selection of the grapevine. *Protocols for detection of viruses and virus-like diseases*. INRA, Paris, 225 p.
- Zlenko V.A., Troshin L.P. and Kotikov I.V., 1995. An optimized medium for clonal micropropagation of grapevine. *Vitis*, 34: 125-126.

## BEHAVIOR OF GRAPEVINE HYBRIDS (Baresana x Baresana) DURING SANITATION THROUGH *IN VITRO* THERMOTHERAPY

G. Grammatikaki<sup>1</sup>, A. Avgelis<sup>2</sup>, P. Taboularis<sup>1</sup> and M. Doxastaki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Technological Education Institute of Crete, Faculty of Agriculture, Heraklion, Crete

<sup>2</sup>Plant Virus Lab, National Agricultural Research Foundation, Heraklion, Crete

## ABSTRACT

For sanitation of five hybrids (Baresana x Baresana) infected by three grapevine viruses (Grapevine leafroll Amplelovirus 3, Grapevine A Vitivirus and Grapevine angular mosaic Parvivirus) the *in vitro* thermotherapy was applied. After previous micro-propagation, two groups of plantlets (55 and 116 days old) arose from each vine and were introduced in a thermotherapy chamber ( $36.5 \pm 0.5$  °C, 3,500 Lux and 16 hours photoperiod).

The results indicated that the viability of plantlets in the thermotherapy chamber was mainly depended on their age. In fact, in the new aged plantlets (55 days old) a c. three times higher percentage of viability (51.5%), than the older ones (16.6%) was observed. The role of vine genetic background was also noticed as the percentage of viability among the five vines ranged from 26.6 to 50%. These value differences certainly can not be attributed to a different level of plant health, since all vines had been infected by the same viruses.

**Πίνακας Ι:** Συμπεριφορά των *in vitro*-φυταρίων πέντε πρέμνων (B10, B11, B12, B13 και 11b) του υβριδίου Baresana x Baresana στη θερμοθεραπεία *in vitro* στους  $36,5 \pm 0,5$  °C.

Η. Θ.*	Αριθμός <i>in vitro</i> - φυταρίων														
	Πρέμνο B10			Πρέμνο B11			Πρέμνο B12			Πρέμνο B13			Πρέμνο 11b		
	55 **	116**	Σύν.	55	116	Σύν.	55	116	Σύν.	55	116	Σύν.	55	116	Σύν.
0	30	15	45	30	12	42	30	15	45	28	12	40	33	12	45
22	30	12	42	29	9	38	30	14	44	28	12	40	33	9	42
32	29	9	38	25	6	31	30	14	44	27	11	38	30	8	38
42	28	7	35	21	4	25	29	11	40	27	8	35	29	5	34
52	26	7	33	21	4	25	25	11	36	26	8	34	26	4	30
63	25	7	32	21	4	25	22	7	29	25	8	33	26	2	28
73	23	5	28	18	3	21	15	5	20	23	6	29	26	2	28
83	21	3	24	15	3	18	12	3	15	18	5	23	24	1	25
87	16	2	18												
88				15	1	16									
89							10	2	12	15	5	20			
91													21	1	22
%	53,3	13,3	40	50	8,3	38,1	33,3	13,3	26,6	53,6	41,6	50	63,6	8,3	48,9

\* Η.Θ. = Ημέρες θεραπείας

\*\* 55 και 116 ημέρες παραμονής των *in vitro* - φυταρίων στο θάλαμο ανάπτυξης πριν μεταφερθούν στο θάλαμο θερμοθεραπείας.

## ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΤΥΠΟΥ ΣΤΟ ΜΙΚΡΟΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΟΥ ΣΚΛΗΘΡΟΥ (*Alnus glutinosa*)

Δερβένη Α. και Μπάρμπας Ε.

Εργαστήριο Δασικής Γενετικής και Βελτίωσης Δασοπονικών Ειδών  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54006 Θεσσαλονίκη.

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η βελτίωση των τεχνικών μικροπολλαπλασιασμού έτσι ώστε να επιτρέπει την καλλιέργεια του μεγαλύτερου δυνατού αριθμού γενοτύπων όπως επίσης και η μελέτη της συμπεριφοράς των διαφορετικών γενοτύπων των υπό πολλαπλασιασμό φυτών είναι καθοριστικής σημασίας για τα προγράμματα διατήρησης γενετικών πόρων. Είναι επίσης σημαντικός παράγοντας για την μελέτη και αξιοποίηση του σκλήθρου, που έχει ιδιαίτερο οικολογικό ρόλο σε παραποτάμια οικοσυστήματα λόγω της δυνατότητας σχηματισμού ακτινόρριζας όπως και δυο διαφορετικών τύπων μυκόρριζας. Εδώ εξετάσθηκε η αύξηση του σκλήθρου σε διαφορετικά θρεπτικά διαλύματα όπως επίσης και η συμπεριφορά διαφορετικών γενοτύπων σκλήθρου σε καλλιέργεια *in vitro*, όσον αφορά τον πολλαπλασιασμό σε θρεπτικό διάλυμα που περιείχε μία κυτοκίνη. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως η αύξηση των εκφύτων εξαρτάται από την επιλογή του θρεπτικού διαλύματος και ότι διαφορετικοί γενότυποι αντιδρούν με διαφορετικό τρόπο στην παρουσία κυτοκίνης ΒΑ στο θρεπτικό διάλυμα.

*Λέξεις-κλειδιά:* Σκλήθρο, μικροπολλαπλασιασμός, συντελεστής πολλαπλασιασμού, κυτοκίνη, εκφυλισμός.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το σκλήθρο αποκτά όλο και μεγαλύτερο ενδιαφέρον λόγω των πολλαπλών χρήσεων του τόσο στη δασοπονία όσο και στη βιομηχανία του ξύλου. (Krstinic, 1994). Θεωρείται εδαφοβελτιωτικό είδος, γιατί λόγω της αζωτοδεσμευτικής του ικανότητας επιτρέπει τον εμπλουτισμό του εδάφους με άζωτο και τη βελτίωση της γονιμότητας υποβαθμισμένων δασικών αμμωδών εδαφών. (Myrtoid και Huss-Danell, 2002). Το σκλήθρο είναι το μόνο δασικό δένδρο στον Ελλαδικό χώρο, που έχει τη δυνατότητα συμβίωσης τόσο με βακτήρια όσο και με μύκητες με τους οποίους σχηματίζει δυο ειδών μυκόρριζες (Mozzon και Azcon, 2001). Οι συμβιώσεις αυτές είναι εξαιρετικής σημασίας για τη θρέψη. Τα φυμάτια που δημιουργούνται με την συμβίωση με τα βακτήρια *Frankia* έχουν τη δυνατότητα δέσμευσης του ατμοσφαιρικού αζώτου και μεταφοράς μετά από την αναγωγή του, στο φυτό (Wall και Huss-Dannell, 1997). Οι μύκητες συνιστούν ένα δεύτερο «ριζικό σύστημα», που προσλαμβάνει και μεταφέρει νερό και θρεπτικά στοιχεία (Gardner και Bagnasco, 1999).

Το σκλήθρο συμμετέχει με διάσπαρτα άτομα ή μικρές συστάδες σε παραποτάμιες και παραλίμνιες φυτοκοινωνίες. Λόγω ανθρωπογενών κυρίως επιδράσεων οι πληθυσμοί αυτοί απειλούνται. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την αδυναμία του σκλήθρου να αναγεννάται φυσικά, έχουν ως αποτέλεσμα τον κίνδυνο εξαφάνισης του σκλήθρου. Σε συνδυασμό με άλλα μέτρα προστασίας, η ανάπτυξη μεθόδων βλαστικού πολλαπλασιασμού και συγκεκριμένα μικροπολλαπλασιασμού θα μπορούσε να συνεισφέρει στη διατήρηση των γενετικών πόρων του σκλήθρου και στην παραγωγή φυτευτικού υλικού για την αποκατάσταση φτωχών σε άζωτο εδαφών.

Ο μικροπολλαπλασιασμός του γένους *Alnus* έχει ήδη αναφερθεί τόσο για το είδος *Alnus glutinosa* (Perinet και Lalonde, 1983; Perinet *et al.*, 1986) όσο και για άλλα είδη του ίδιου γένους (Cremière *et al.*, 1987; Tang *et al.*, 1996). Επίσης έχει αναφερθεί ο μικροπολλαπλασιασμός σκλήθρου από υλικό που προερχόταν από ώριμα δένδρα (Lavarde, 1986) και η απόκτηση πρωτοπλαστών και κλών από κυτταρικές καλλιέργειες (Tremplay *et al.*, 1985).

Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η βελτιστοποίηση της καλλιέργειας *in vitro* του σκλήθρου με την ταυτόχρονη διερεύνηση της συμπεριφοράς διαφορετικών γενοτύπων σε θρεπτικό διάλυμα εντατικού πολλαπλασιασμού.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

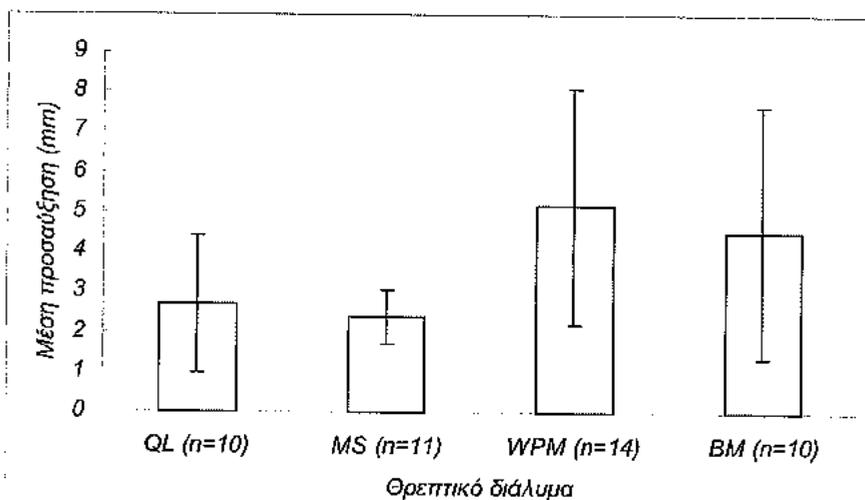
Οι σπόροι που χρησιμοποιήθηκαν συλλέχθηκαν από δένδρα *Alnus glutinosa* σε δυο περιοχές, την Απολλωνία και τα Άνω Πορόια. Προκειμένου να εισαχθούν σε καλλιέργεια *in vitro* οι σπόροι απολυμάνθηκαν επιφανειακά. Έτσι εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα αλκοόλης περιεκτικότητας 80% για 10 δευτερόλεπτα και στη συνέχεια σε διάλυμα NaOCl για 15 λεπτά με συνεχή ανάδευση. Έπειτα ξεπλύθηκαν 3 φορές για 10 λεπτά με αποστειρωμένο απεσταγμένο νερό. Οι σπόροι τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες που περιείχαν σαν υπόστρωμα θρεπτικό διάλυμα σημύδας (BM). Οι σωλήνες τοποθετήθηκαν αρχικά στο σκοτάδι και μετά την φύτευση των σπόρων μεταφέρθηκαν σε φωτοπερίοδο 16/8 ωρών (φως/ σκοτάδι) και θερμοπερίοδο 25°C/20°C. Τα νεαρά φυτά μετά την πάροδο 18 ημερών, πολλαπλασιάστηκαν με την τεχνική των μασχαλαίων οφθαλμών (μικρομοσχεύματα) και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες που περιείχαν διαφορετικά μακροστοιχεία των εξής θρεπτικών διαλυμάτων: WPM (Lloyd και McCown, 1980), QL (Quirín και Lepointe, 1979), MS (Murashige και Skoog, 1962) και BM (Grellier *et al.*, 1984). Μικροστοιχεία, βιταμίνες, σακχαρόζη, ήταν αυτά του θρεπτικού διαλύματος MS για όλα τα θρεπτικά διαλύματα (εκτός του BM). Μετά από 12 εβδομάδες καλλιέργειας τα έκφυτα πολλαπλασιάστηκαν με την ίδια τεχνική και τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα WPM που περιείχε 0,5 μM κυτοκινίνης BA (6-βενζυλοαμινοπουρίνη). Τα έκφυτα πολλαπλασιάζονται και μεταφέρονται σε νέο θρεπτικό διάλυμα κάθε 12 εβδομάδες. Το ποσοστό ριζοβολίας προσδιορίστηκε μετά από 12 εβδομάδες καλλιέργειας στα παραπάνω θρεπτικά διαλύματα χωρίς τη χρήση αυξίνης ή άλλης ειδικής μεταχείρισης. Ο συντελεστής πολλαπλασιασμού υπολογίστηκε ως το πηλίκο της διαφοράς (έκφυτα στη καλλιέργεια  $n+1$  - έκφυτα στην καλλιέργεια  $n$ )/(έκφυτα στην καλλιέργεια  $n$ ).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

## Επίδραση του θρεπτικού διαλύματος στην ανάπτυξη των εκφύτων.

Τα έκφυτα μετά την εγκατάσταση σε καλλιέργεια *in vitro* μεταφέρθηκαν σε 4 διαφορετικά θρεπτικά διαλύματα. Η σύσταση του θρεπτικού διαλύματος επηρεάζει την ανάπτυξη των φυτών σε καλλιέργεια *in vitro*. Διαφορές παρουσιάστηκαν ως προς την αύξηση σε ύψος. Την μεγαλύτερη μέση αύξηση σε ύψος παρουσίασαν τα μικρομοσχεύματα που τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα WPM. Περίπου την ίδια αύξηση παρουσίασαν τα μικρομοσχεύματα που τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα σημύδας. Τα μικρομοσχεύματα που τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό διάλυμα QL παρουσίασαν μικρότερη αύξηση σε σχέση με τα προηγούμενα διαλύματα, ενώ αυτά που τοποθετήθηκαν σε διάλυμα MS παρουσίασαν τη μικρότερη αύξηση σε ύψος από όλα τα θρεπτικά διαλύματα (σχήμα 1). Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν δεν είναι στατιστικά σημαντικές. Ωστόσο, η μεγαλύτερη αύξηση των εκφύτων του σκλήθρου σε θρεπτικό διάλυμα WPM συμφωνεί με αποτελέσματα άλλων ερευνητικών εργασιών στο σκλήθρο, που χρησιμοποιούν το WPM για την καλλιέργεια *in vitro* ειδών *Alnus* με εξαίρεση την *Alnus incana* που αναπτύσσεται καλύτερα σε θρεπτικό διάλυμα MS (Cremière *et al.*, 1987). Έτσι για τη συνέχεια των πειραμάτων προκρίθηκε η χρήση του WPM.

Σχήμα 1. Μέση προσαύξηση ύψους βλαστού (μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση) εκφύτων σκλήθρου σε 4 θρεπτικά διαλύματα.



## Επίδραση της ΒΑ στον μικροπολλαπλασιασμό

Προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της ΒΑ στον μικροπολλαπλασιασμό τα αρτίφυτρα τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό υπόστρωμα WPM που περιείχε ΒΑ και στη συνέχεια πολλαπλασιάστηκαν με την τεχνική των μασχαλιαίων οφθαλμών. Η ΒΑ, προφανώς εξαιτίας της μεταβολής του ισοζυγίου ρυθμιστών αύξησης, έχει σημαντική επίδραση στη μορφολογία των φυτών, όσον αφορά στη δημιουργία πολλαπλών βλαστών και στην εμφάνιση κάλου στη βάση των εκφύτων (εικόνα 1). Η χρήση της ΒΑ προκαλεί την εμφάνιση πολλαπλών βλαστών στο 52% των εκφύτων της 1<sup>ης</sup> υποκαλλιέργειας και στο 44 % των εκφύτων της 2<sup>ης</sup> υποκαλλιέργειας, ενώ σε καλλιέργεια όπου δεν χρησιμοποιείται η ΒΑ, το ποσοστό των εκφύτων με πολλαπλούς βλαστούς είναι μόνο 17%. Οι πολλαπλοί βλαστοί, όταν αυτοί είναι παρόντες, δεν προέρχονται από κύτταρα του κάλου ελαχιστοποιώντας την πιθανότητα εμφάνισης μεταλλάξεων. Η βάση των εκφύτων παρουσιάζει επίσης μορφολογικές αλλαγές με τη χρήση της ΒΑ στο θρεπτικό διάλυμα. Η βάση είναι διογκωμένη και η διογκωση παρουσιάζεται στη στήλη. Στην περιφέρεια της διογκωμένης βάσης αναπτύσσεται κάλος ενώ αργότερα εμφανίζονται και ρίζες, που όμως δεν προέρχονται από τον κάλο αλλά από τη βάση του βλαστού.

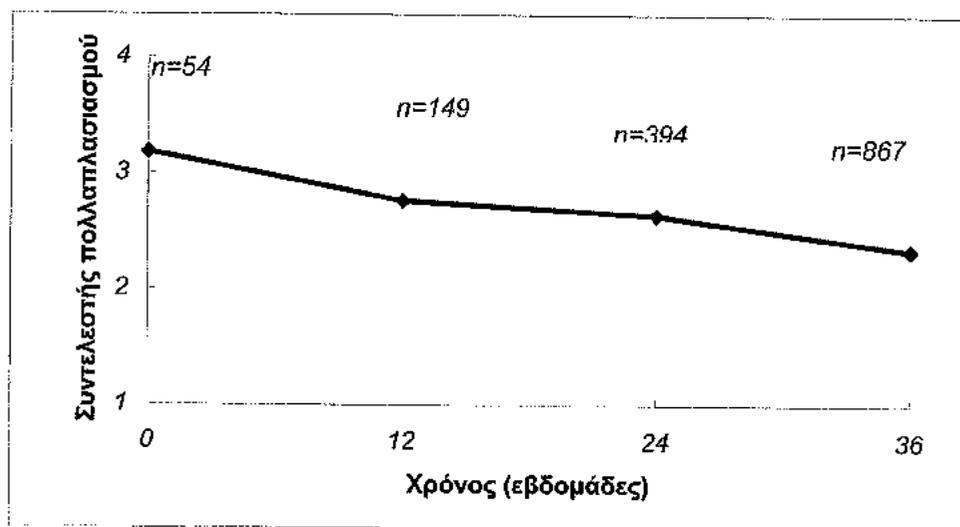


Εικόνα 1. Εμφάνιση πολλαπλών βλαστών και κάλου σε έκφυτο *Ainus glutinosa* σε θρεπτικό διάλυμα WPM με κυτοκινίνη ΒΑ.

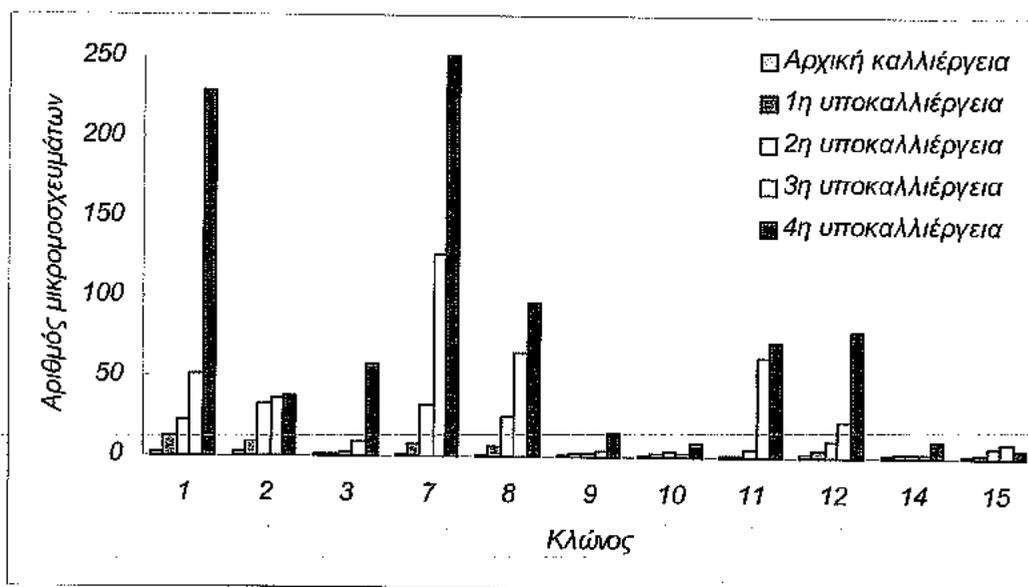
### Συντελεστής πολλαπλασιασμού

Τα αρτίφυτρα πολλαπλασιάστηκαν συνολικά 4 φορές σε θρεπτικό διάλυμα που περιείχε ΒΑ. Το χρονικό διάστημα της κάθε υποκαλλιέργειας ήταν 12 εβδομάδες. Ενώ ο συνολικός αριθμός εκφύτων σε καλλιέργεια αυξάνεται με το πέρασμα του χρόνου, ο συντελεστής πολλαπλασιασμού παρουσιάζει κάμψη (σχήμα 2). Αυτό οφείλεται στη διαφορετική συμπεριφορά των γενοτύπων σε καλλιέργεια. Ορισμένοι γενότυποι παρουσιάζουν σημαντικό ρυθμό πολλαπλασιασμού, ενώ κάποιοι άλλοι δεν αναπτύσσονται αρκετά στο θρεπτικό διάλυμα με συνέπεια να μην πολλαπλασιάζονται και ο αριθμός εκφύτων σε κάθε υποκαλλιέργεια να παραμένει ο ίδιος ή ακόμη και να μειώνεται (σχήμα 3). Το φαινόμενο της διαφορετικής συμπεριφοράς γενοτύπων έχει φυσικά παρατηρηθεί και σε άλλα είδη σε καλλιέργεια *in vitro* όπως το υβρίδιο της καρυδιάς (Cornu και Jay-Allemand, 1989) και μπορεί να οδηγήσει σε εκφυλισμό κλώνων (Bekkaoui *et al.*, 1986).

Συμπληρωματική έρευνα είναι απαραίτητη για να διαπιστωθεί ποιοι είναι οι παράγοντες, που προκαλούν αυτό το φαινόμενο στο σκλήθρο και αν η ΒΑ συνδέεται με αυτούς τους παράγοντες.



Σχήμα 2. Εξέλιξη του συντελεστή πολλαπλασιασμού εκφύτων σκλήθρου. (n ο αριθμός μικρομοσχευμάτων από 11 κλώνους).



Σχήμα 3. Αριθμός μικρομοσχευμάτων για τους διάφορους κλώνους και τις διάφορες υποκαλλιέργειες.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bekkaoui F., Maldiney R., Pilate G., Boulay M. και Franclet A. 1986 Dégénérescence clonale du Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) cultivé *in vitro* ; relation avec la teneur en éléments-minéraux, en auxine, acide abscissique, zéatine et zéatine-riboside. C. R. Acad. Sc., Paris, 303, 111, 13-18
- Cornu D. Jay-Allemand C. 1989 Micropropagation of hybrid walnut trees (*Juglans nigra* *Juglans regia*) through culture and multiplication of embryos. Ann Sci. For. 46 suppl.:113s-116s
- Cremiere L., Sbay H. και Prat D. 1987 *In vitro* culture of *Alnus* species in: Symposium on *in vitro* Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plants. ISHS Acta Horticulturae 212: 543-546
- Gardner I.C. και Barrueco C.R. 1999 Mycorrhizal and Actinorhizal Biotechnology-Problems and Prospects in: Mycorrhiza, Varma & Hock eds., Springer, pp 471-495

- Grellier B, Letouzé, R. και Strullu DG. 1984 Micropropagation of birch and mycorrhiza formation *in vitro*. New phytologist 97: 591-599
- Huss-Dannel K., Uliassi D. και Renberg I. 1977 River and lake sediments as sources of infective Frankia (*Alnus*). Plant and Soil 197: 35-39
- Krstinic, A. 1994 Genetics of Black Alder (*Alnus glutinosa* L. Gaertn.), Annales Forestales, (Zagreb) 19/2:33-37
- Lavarde F. 1986 Apex tissue culture of alder (*Alnus glutinosa* Gaertn). Preliminary results in: Symposium on *in vitro* Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plants. ISHS *Acta Horticulturae* 212: 547-550
- Lloyd G. και McCown B. 1980 Commercially- feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot- tip culture. Proc. Int. Plant Pro. Soc. 30, 421-427
- Monzon A. και Azcon R., 2001 Growth responses and N and P use efficiency of three *Alnus* species as affected by arbuscular-mycorrhizal colonization Plant Growth Regulation 35: 97-104
- Murashige T. και Skoog F. 1962 A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497
- Myrold και Huss-Danell K. 2002 Alder and lupine enhance nitrogen cycling in a degraded forest soil in Northern Sweden. *Plant and Soil* 254: 47-56
- Perinet P. και Lalonde M. 1983 *In vitro* propagation and nodulation of the actinorhizal host plant *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *Plant Science Letters* 29(1): 9-17
- Perinet P., Tremplay F.M., Filion και C. Chatarpaul L. 1986 Commercial micropropagation of five *Alnus* species. in: Symposium on *in vitro* Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plants. ISHS *Acta Horticulturae* 212: 551
- Quoirin M. και Lepoivre P. (1977) Etude de milieux adaptés aux cultures *in vitro* de *Prunus*: *Acta Hort.* 78, 437-442
- Tang DQ., Ishii K. και Ohba K. 1996 *In vitro* regeneration of *Alnus cremastogyne* Burk from epicotyl explants. *Plant Cell Reports* 15 (9): 658-661
- Tremblay F., Power J.B. και Lalonde M. 1985 Callus regeneration from *Alnus incana* protoplasts isolated from cell suspensions. *Plant Sciences* 41(3): 211-216
- Trinajstić, I. N. Komlenovic, A. Krstinic and D. Kabja. 1991 [ Dynamics and significance of weed vegetation in plantations of white willow (*Salix alba* L.) and Black Alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) on peat-clay soils in Podravina]. *Fragmenta herbológica* Vol. 20, No 1-2:35-47
- Wall L.G. και Huss-Dannel K 1997 Regulation of nodulation in *Alnus incana* Frankia symbiosis *Physiologia Plantarum* 99: 594-600

## EFFECT OF GENOTYPE ON MICROPROPAGATION OF BLACK ALDER (*Alnus glutinosa*)

Derveni A. and E. Barbas

Laboratory of Forest Genetics and Plant Breeding, Aristotelian University of Thessaloniki, 54006 Thessaloniki, Greece

### ABSTRACT

The improvement of micropropagation techniques and the study of the performance of different genotypes of the *in vitro* established plants, is of great importance to the projects of conservation. It is also an important factor for the study and the valorization of *Alnus glutinosa*. Because of its ability to form actinorrhizas and two different types of mycorrhizas, *Alnus glutinosa* is a tree with a significant role on riparian ecosystems. The present work investigates the effect of the culture medium on the development of *Alnus glutinosa*. It also examines the response of different genotypes of *Alnus* to the multiplication medium supplemented with BA. The results indicate that the development of the explants depends on the medium used and that different genotypes respond differently throughout successive subcultures.

## ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΣΤΟ ΧΡΥΣΑΝΘΕΜΟ (*Dendranthema grandiflorum* Kitam.)

Μέρμηγκα Γλ.<sup>1</sup>, Α. Τσαυτάρης,<sup>1</sup> Ε. Γουλή-Βαβδινούδη<sup>1</sup>, Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ., 54124 Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα εργασία έχει ως σκοπό τη βιβλιογραφική ανασκόπηση εφαρμογών της γενετικής-βελτίωσης στο χρυσάνθεμο. Ο βοτανολόγος Κάρολος Λινναίος (1753) συνδυάζοντας τις ελληνικές λέξεις «χρυσός» και «άνθος», έδωσε σε αυτό το φυτικό είδος, την ονομασία του. Οι πρόγονοι του σημερινού χρυσάνθεμου *Dendranthema grandiflorum* (Kitam) προέρχονταν από περιοχές της Ανατολικής Ασίας (Κίνα, Ιαπωνία) όπου καλλιεργούνταν για πολλούς αιώνες. Το ανθοκομικό χρυσάνθεμο, προήλθε από εξαπλοειδή είδη ( $2n=6x=54$ ) με βασικό χρωμοσωμικό αριθμό ( $x=9$ ). Στις σημερινές ποικιλίες, ο χρωμοσωμικός αριθμός κυμαίνεται από 36 έως 85, με μεγαλύτερη την συχνότητα των 54 έως 56 χρωμοσωμάτων. Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του είδους, είναι ότι ο χρωμοσωμικός αριθμός παρουσιάζει παραλλακτικότητα τόσο μεταξύ των ποικιλιών όσο και μεταξύ των φυτών που ανήκουν στην ίδια ποικιλία. Σε πολλές περιπτώσεις εμφανίζονται χειμερικά φυτά με διαφορετικό αριθμό χρωμοσωμών μεταξύ των κυττάρων τους εξαιτίας έντονων φαινομένων ενδομίτωσης. Τέτοιου είδους τυχαίες σωματικές μεταλλάξεις ακολουθούμενες από επιλογή οδήγησαν στη δημιουργία μεγάλων οικογενειών νέων ποικιλιών που διαφέρουν ως προς το μέγεθος, το χρώμα του άνθους και την ευρωστία. Η δημιουργία υβριδίων μεταξύ των διπλοειδών ποικιλιών των ιαπωνικών ειδών χρυσανθέμου με διασταυρώσεις ή χρήση ιστοκαλλιέργειας είναι επίσης εφικτή. Το ίδιο όμως δεν συμβαίνει με την παραγωγή υβριδίων μεταξύ διπλοειδών και πολυπλοειδών γενοτύπων, αφού τα  $F_1$  έμβρυα αποβάλλονται κατά τα πρώιμα στάδια της ανάπτυξής τους. Στην περίπτωση αυτή το εμπόδιο μπορεί να ξεπεραστεί με χρήση τεχνικών *in vitro* εμβρυοδιάσωσης. Τέλος, για την παραγωγή νέων ποικιλιών χρυσανθέμων με επιθυμητά χαρακτηριστικά εφαρμόζονται διειδικές διασταυρώσεις, μεταλλάξεις και βιοτεχνολογικές μέθοδοι.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρόγονοι του σημερινού χρυσάνθεμου, *Dendranthema grandiflorum* Kitam. (παλιότερα γνωστό ως *Chrysanthemum morifolium* Ramat) της οικογένειας Compositae ή Asteraceae (σύνθετα), καλλιεργούνταν για χιλιετίδες στις χώρες καταγωγής τους, Κίνα και Ιαπωνία, από τις οποίες διαδόθηκε κατόπιν στον άλλο κόσμο. Οι δύο χώρες διεκδικούν την προέλευση του χρυσάνθεμου με μύθους, ιστορικές αναφορές και παραδόσεις. Αν και πιστεύεται ότι είναι ιθαγενές φυτό της Ιαπωνίας, ο Κομφούκιος (500 π.Χ.) αναφέρει για την καλλιέργειά του με το όνομα «χρυσή δέξα» πριν από 2.500 χρόνια. Ως προς τους Ιάπωνες δεν είναι βέβαιο αν χρησιμοποίησαν δικά τους αυτοφυή φυτά ή εισήγαγαν απευθείας από την Κίνα ή διαμέσου της Κορέας το 386 μ.Χ. είδη και ποικιλίες που καλλιεργήθηκαν στην Κίνα. Η προσπάθεια τόσο των Κινέζων όσο και των Ιαπώνων να μονοπωλήσουν τα πρωτεία για την καλλιέργεια του χρυσανθέμου φαίνεται και από τις τιμές που δίδουν σε αυτό. Έτσι, οι Κινέζοι ονόμασαν μια πόλη «Chu<sup>1</sup>-Hsien» (Πόλη των Χρυσανθέμων) ενώ οι Ιάπωνες θέσπισαν *Εθνική Ημέρα του Χρυσανθέμου* η οποία ονομάζεται και *Γιορτή της Χαράς* υιοθετώντας ένα απλό άνθος χρυσανθέμου ως οικόσημο και επίσημη σφραγίδα του αυτοκράτορά τους. Παράλληλα ταύτισαν το «Αυτοκρατορικό Αξίωμα του Χρυσανθέμου» ως την υψηλότερη τιμή υποτιτισμού στη χώρα τους.

Το χρυσάνθεμο είναι από τα πλέον δημοφιλή ανθοκομικά φυτά, με μεγαλύτερη διάδοση στη Βόρεια Αμερική, Δυτική Ευρώπη και Ιαπωνία. Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός των διαφορετικών συναισθημάτων που συνοδεύουν την προσφορά χρυσανθέμων στις διάφορες περιστάσεις της ζωής. Έτσι, ενώ στη Αμερική συνοδεύει χαρούμενες εκδηλώσεις σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες όπως στην Αυστρία και στο Βέλγιο, χρησιμοποιείται σε πένθιμες περιστάσεις. Όσον αφορά τις χώρες-παραγωγούς χρυσανθέμων, η Ιαπωνία καταλαμβάνει την πρώτη θέση με παραγωγή που πλησιάζει τους δύο εκατομμύρια βλαστούς ετησίως ενώ ακολουθούν, η Ολλανδία (800 εκατομμύρια), η Κολομβία (600 εκατομμύρια), η Ιταλία (500 εκατομμύρια) και οι Η.Π.Α. (300 εκατομμύρια). Μεταξύ των προαναφερόμενων χωρών, η Ολλανδία είναι η κύρια εξαγωγός

<sup>1</sup> Chu ήταν το αρχαίο όνομα του χρυσανθέμου

χώρα είναι που διοχετεύει χρυσάνθεμα δρεπτά και σε γλάστρα στις χώρες της Βόρειας, Κεντρικής και Δυτικής Ευρώπης ενώ ακολουθεί η Κολομβία, η οποία εξάγει κυρίως στις Η.Π.Α.

Το χρυσάνθεμο εκτός από τη χρήση του ως καλλωπιστικό φυτό, σε κήπους και θερμοκήπια, σε φυτοδοχεία και ζαρτινιέρες, χρησιμοποιείται επίσης και στη μαγειρική καθώς και στην παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων και εντομοκτόνων (πυρεθροειδή), τα οποία προέρχονται από την εκχύλιση των ανθέων του.

## ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ-ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

### Α. Περιγραφή

Το χρυσάνθεμο είναι φυτό ζωηρής βλάστησης, με στελέχη μάλλον ξυλώδη που μπορούν να φτάσουν και να ξεπεράσουν το μήκος του ενός μέτρου. Το ύψος του φυτού κυμαίνεται από 25-125 εκατοστά ανάλογα με την ποικιλία και δευτερευόντως, από τις εδαφοκλιματικές συνθήκες καλλιέργειας. Το ριζικό σύστημα του φυτού αναπτύσσεται ταχύτατα για να εκμεταλλευτεί την υγρασία του εδάφους ενώ την άνοιξη παράγει άφθονους νέους βλαστούς (παραφυάδες) με τους οποίους πολλαπλασιάζεται εύκολα. Παράλληλα έχει τη δυνατότητα να αναπαραχθεί εγγενώς ή και αγενώς (παραφυάδες και μοσχεύματα).

Τα άνθη του χρυσάνθεμου (Σχήμα 1) σχηματίζουν ταξιανθία κεφάλιο και μπορεί να είναι μονά (σαν μαργαρίτες) ή διπλά με πολλές σειρές ανθιδίων. Τα ανθίδια των κεφαλίων χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, στα ανθίδια του δίσκου (επιδίσκια) και στα περιφερειακά. Τα τελευταία είναι ως επί το πλείστον θηλυκά ενώ τα επιδίσκια είναι ερμαφρόδιτα. Ο κάλυκας των ανθιδίων λείπει παντελώς ή είναι υποτυπώδης. Το σχήμα της ανθοδοχής των κεφαλίων είναι επίπεδο, θολοειδές, κωνικό ή ροπαλοειδές. Οι στήμονες είναι 4-5 και εκφύονται από το σωλήνα της στεφάνης. Όλα τα άνθη είναι πρώτανδρα. Η ωοθήκη είναι επίγυνος και μονόχωρη ενώ αποτελείται από δύο καρπόφυλλα με μια ανάτροπη σπερμοβλάστη σε κάθε χώρο, τοποθετημένη στη βάση της ωοθήκης. Ο στύλος είναι μονός, διχαλωτός και φέρει τρίχες (Γουλή-Βαβδινούδη και Κούτσικα-Σωτηρίου, 2001).

### Β. Ταξινόμηση

Για την κατάταξη των χρυσανθέμων χρησιμοποιούνται διάφορα χαρακτηριστικά γνωρίσματα όπως, κάποια αγρονομικά χαρακτηριστικά, η μορφή του φυτού (πίν. 1), το χρώμα και η μορφή του άνθους (πίν. 2) κ.α.

Πίνακας 1: Κατάταξη χρυσανθέμων με βάση τον τρόπο ανάπτυξης (Bosae et al., 1997)

Τύπος	Περιγραφή
Spray	Πολλά άνθη σε διακλαδισμένο βλαστό. Δεν απαιτείται κλάδεμα.
Specimens	Τοποθετούνται σε πλαίσια ώστε να δημιουργούν τέλεια συμμετρία, παράγουν πολλά άνθη
Cushions	Προορίζονται για τοποθέτηση σε ανθοδοχεία, έχουν μικρά άνθη
Charms	Συμπαγής τρόπος ανάπτυξης, ύψος 25-45 cm, μεγάλος αριθμός μικρών ανθέων
Cascades	Φέρουν άνθη μονά, τύπου μαργαρίτας
Lilliputs	Νάνα, πωώδη φυτά με μικρά διπλά άνθη

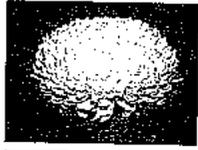
## ΚΥΤΟΛΟΓΙΑ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ

### Α. Κυτολογία

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία το ανθοκομικό χρυσάνθεμο προήλθε από είδη τα οποία ήταν εξαπλοειδή ( $2n=6x=54$ ). Ο βασικός χρωμοσωμικός αριθμός μέσα στο γένος *Dendranthema* είναι  $x=9$ . Στις σημερινές ποικιλίες, ο χρωμοσωμικός αριθμός των σωματικών κυττάρων ποικίλει από 36 έως 85 με την πλειοψηφία να έχει 54 έως 56 χρωμοσώματα.

Υπάρχει παραλλακτικότητα όσον αφορά τον αριθμό των χρωμοσωμάτων μεταξύ φυτών που ανήκουν στην ίδια ποικιλία αλλά ακόμα και μέσα στο ίδιο το φυτό. Αυτό οφείλεται στην απώλεια ή και το σπάσιμο.

**Πίνακας 2:** Κατάταξη χρυσανθέμων με βάση το σχήμα του άνθους (Bosae et al., 1997)

Τύπος	Περιγραφή	Εικόνα
Άνθη καμπτόμενα προς τα μέσα (Incurved)	Άνθη με ανθίδια που βρίσκονται πολύ κοντά μεταξύ τους και που κάμπτονται προς τον άξονα του άνθους, σχηματίζουν μια σφαιρική και πυκνή ταξιανθία	
Άνθη ενδιάμεσα (Intermediate)	Διαφέρει από τον παραπάνω τύπο στο ότι τα ανθίδια κάμπτονται ελαφρώς και ακανόνιστα	
Άνθη ανακλώμενα (Reflexed)	Άνθη ελαφρώς πεπλατυσμένα, ανθίδια κλίνουν προς τα κάτω και επικαλύπτονται	
Άνθη τύπου ανεμώνης (Anemone)	Σωληνοειδής δίσκος ανθιδίων που σχηματίζει ένα προεξέχων κέντρο που μπορεί να έχει διαφορετικό χρώμα με τις ακτινωτές σειρές των ανθιδίων	
Άνθη τύπου πομπόν (Pompon)	Πλώδη ανάπτυξη, με άνθη σφαιρικά ή ημισφαιρικά, τα περιφερειακά ανθίδια είναι σωληνοειδή με επίπεδες άκρες	
Μονά άνθη (Single)	Άνθη τύπου μαργαρίτας με έως και πέντε σειρές από περιφερειακά ανθίδια και ορατά κεντρικά ανθίδια χρώματος κίτρινου ή πράσινου	
Άνθη διακοσμητικά (Decorative)	Παρόμοιο με τον τύπο pompon με τη διαφορά ότι επικρατούν τα περιφερειακά ανθίδια με τα εξωτερικά να είναι μακρύτερα από τα επιδίσκια	
Αραχνοειδής τύπος (Spider)	Άνθη με μακρυά νηματοειδή περιφερειακά ανθίδια που γέρνουν κατά την πλήρη άνθηση, με γαντζοειδείς άκρες	
Φτεροειδή άνθη (Quills)	Άνθη με σωληνοειδή περιφερειακά ανθίδια με ανοιχτές και επίπεδες άκρες	
Βουρτσώδη άνθη (Brush and thistle)	Σωληνοειδή περιφερειακά ανθίδια εκλεπτυσμένα και συχνά με μορφή πινέλου	

χρωμοσωμάτων κατά την Μίτωση λόγω των φαινομένων της μη απόζευξης. Κατά αυτό τον τρόπο, μπορούν τα κύτταρα που περιέχουν ένα νέο χρωμόσωμο να πολλαπλασιαστούν σχηματίζοντας χίμαιρες των οποίων ο τύπος επηρεάζεται από τη θέση αυτών των κυττάρων στους φυτικούς ιστούς. Οι σωματικές μεταλλάξεις που προκύπτουν από τις παραπάνω δομικές αλλαγές των χρωμοσωμάτων μπορούν να διαχωριστούν από τον αρχικό γενότυπο συνήθως με τη μορφή μιας περικλινούς χίμαιρας όπου δημιουργείται βλαστός με αλλαγμένο φαινότυπο. Αυτές οι σωματικές μεταλλάξεις είναι γνωστές ως *sports*. Τέτοιου είδους τυχαίες σωματικές μεταλλάξεις ακολουθούμενες από επιλογή, οδήγησαν στη δημιουργία μεγάλων οικογενειών νέων ποικιλιών που διαφέρουν ως προς το μέγεθος και το χρώμα του άνθους ή ως προς την ευρωστία τους, όπως για παράδειγμα οι ποικιλίες «Indianapolis», «Blue Chip» και «Princess Anna» (Stewart και Derman, 1970). Όσον αφορά το μέγεθος του άνθους των ανθοκομικών χρυσάνθεμων, βρέθηκε ότι συσχετίζεται θετικά με τον αριθμό των χρωμοσωμάτων στα σωματικά κύτταρα των φυτών όπως παρατηρήθηκε σε ιαπωνικές, αγγλικές και αμερικανικές ποικιλίες.

Τέλος, η δημιουργία υβριδίων μεταξύ των διπλοειδών ποικιλιών του ιαπωνικού είδους *Dendranthema spp* και καλλιεργούμενων ποικιλιών, είτε αυτά δημιουργούνται φυσικά ή τεχνητά, είναι εφικτή. Το ίδιο όμως δεν συμβαίνει με την παραγωγή υβριδίων μεταξύ διπλοειδών και πολυπλοειδών γενοτύπων, αφού τα F<sub>1</sub> έμβρυα αποβάλλονται κατά τα πρώιμα στάδια της ανάπτυξής τους. Ωστόσο, με τη χρήση τεχνικών *in vitro* εμβρυοδιάσωσης έχει επιτευχθεί η παραγωγή απογόνων.

## Β. Γενετική

Για ορισμένα από τα σημαντικά γνωρίσματα όπως είναι το ασυμβίβαστο και το χρώμα του άνθους έχουν γίνει μελέτες που αφορούν το γενετικό τους έλεγχο.

Το αυτοασυμβίβαστο, δηλαδή η γενετικά ελεγχόμενη φυσιολογική (αδυναμία του φυτού να γονιμοποιήσει τους θηλυκούς γαμέτες του) ανικανότητα του φυτού να παράγει φυσιολογικούς γαμέτες (Zagorski et al. 1983), αποτελεί ένα μηχανισμό που προάγει τη σταυρογονιμοποίηση. Όμως, ο παραπάνω μηχανισμός, σε ότι αφορά τα βελτιωτικά προγράμματα, παρεμποδίζει τη δημιουργία καθαρών σειρών και έχει ως επακόλουθο την παραγωγή F<sub>1</sub> υβριδίων λόγω και της μειωμένης παραγωγής σπόρων (Ronald και Ascher 1975a; Kawase and Tsukamoto 1977).

Στο χρυσάνθεμο εκτός από το ασυμβίβαστο υπάρχει και το ψευδοασυμβίβαστο δηλαδή η παραγωγή μικρού ποσοστού σπόρου που προέρχεται από αυτογονιμοποίηση (Ronald και Ascher 1975b). Αυτό το φαινόμενο πιθανόν να ελέγχεται από πολλά γονίδια που όμως δεν ταυτίζονται με τα γονίδια που ελέγχουν το ασυμβίβαστο. Όπως συμβαίνει και με το ασυμβίβαστο οι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση του ψευδοασυμβίβαστου.

Το χρώμα του άνθους καθορίζεται από τις ανθοκυάνες και τα καροτενοειδή που εντοπίζονται σε διαφορετικά μέρη των ανθιδίων. Οι ανθοκυάνες βρίσκονται στην άνω και κάτω επιδερμίδα των ανθιδίων ενώ τα καροτενοειδή απαντώνται στην επιδερμίδα και στο μεσόφυλλο (Stewart και Derman 1970; Langton 1980; Shibata και Kawata 1986b). Επίσης, υπάρχει χωρική διαφοροποίηση των δύο χρωστικών μέσα στο ίδιο κύτταρο, με τις ανθοκυάνες να εντοπίζονται στα χυμοτόπια και τα καροτενοειδή στους χρωμοπλάστες (Teynor et al. 1989a). Η γενετική ανάλυση του τρόπου κληρονομής του χρώματος είναι αρκετά πολύπλοκη. Αυτό οφείλεται στη δυσκολία πραγματοποίησης αυτογονιμοποιήσεων και αναδιασταυρώσεων λόγω της ανευλοειδίας που παρατηρείται στο εξαπλοειδές επίπεδο ( $2n=54 \pm 7-9$ ) καθώς και της ύπαρξης του σποροφυτικού ασυμβίβαστου (Teynor et al. 1989b).

## ΒΕΛΤΙΩΣΗ

### Α. Διεδικές διασταυρώσεις

Πολλές νέες ποικιλίες έχουν δημιουργηθεί μετά από διεδικές διασταυρώσεις. Κύριο πρόβλημα κατά την διεξαγωγή των διασταυρώσεων είναι το αυτοασυμβίβαστο και το χαμηλό ποσοστό σποροποίησης. Παρόλα αυτά καθώς η γενετική βάση του ασυμβίβαστου γίνεται ολοένα και πιο κατανοητή, μερικά από τα παραπάνω εμπόδια πιθανόν θα μπορέσουν στο μέλλον να ξεπεραστούν όπως συνέβη σε άλλες καλλιέργειες (π.χ. *Brassica oleracea* L., *Petunia inflata*). Προς αυτή την κατεύθυνση έχουν συμβάλει και οι βιοτεχνολογικές μέθοδοι όπως η τεχνική της εμβρυοδιάσωσης και της *in vitro* καλλιέργειας ωαρίων.

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολλά παραδείγματα δημιουργίας διεδικών υβριδίων μερικά από τα οποία αναφέρονται παρακάτω. Οι Shibata κ.α. (1988a) δημιούργησαν ένα θερμοανθεκτικό χρυσάνθεμο τύπου spray με δυνατότητα παραγωγής άνθεων καθόλη τη διάρκεια του έτους, διασταυρώνοντας ιαπωνικές ποικιλίες που ανθίζουν το θέρος με ποικιλίες τύπου spray συνεχούς παραγωγής άνθεων του *Dendranthema grandiflorum* οι

οποίες εισήχθησαν από την Ολλανδία και τις Η.Π.Α. Το υβρίδιο αυτό που ονόμασαν «Summer Queen», φέρει ένα μονό άνθος διαμέτρου 8 cm, έχει πορφυροειδές χρώμα και μπορεί να ανθίζει ακόμη και κατά την περίοδο των υψηλών θερμοκρασιών της Ιαπωνίας. Στην Κίνα δημιουργούνται συνεχώς νέες ποικιλίες μετά από επιλογή για μια σειρά γνωρισμάτων όπως αντοχή στο ψύχος, την ξηρασία, τη σκίαση, τη περιβαλλοντική μόλυνση, τον τρόπο ανάπτυξης και το χρώμα του άνθους. Είδη που ανήκουν στο γένος *Dendranthema* (π.χ. *D. zawadskii*, *D. Boreale*, *D. nankingense*, *D. vestitum* κ.α.) έχουν διασταυρωθεί με εγχώριες ποικιλίες και έτσι δημιουργήθηκαν περισσότερες από δέκα νέες ποικιλίες με έρκουσα ανάπτυξη (Chen 1985; Wang και Chen 1990).

### Β. Βελτίωση με μεταλλάξεις

Για τη δημιουργία νέων τύπων χρυσανθέμων, έχει χρησιμοποιηθεί ευρύτατα η τεχνική των μεταλλάξεων με αποτέλεσμα τη δημιουργία εκατοντάδων νέων εμπορικών ποικιλιών. Οι λόγοι της επιτυχούς εφαρμογής των μεταλλάξεων στο ανθοκομικό χρυσάνθεμο, είναι η ανευπλοειδία που παρατηρείται στα εξαπλοειδή είδη ( $2n=54 \pm 7-9$ ) και η μεγάλη συχνότητα αυθόρμητων και επαγόμενων μεταλλάξεων (33-56%). Όλες οι ποικιλίες μπορούν να υποστούν τυχαίες μεταλλάξεις, οι οποίες συσσωρεύονται με το χρόνο και μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία περικλιτών χμαιρών.

Ο πιο κοινός τρόπος επαγωγής μεταλλάξεων είναι με την εφαρμογή ακτίνων (x και γ) σε τμήματα ριζών. Κατά αυτό τον τρόπο έχουν επαχθεί αλλαγές στο χρώμα του άνθους καθώς και αλλαγές στο μέγεθος και σχήμα των φύλλων. Επίσης, για την πρόκληση μεταλλάξεων χρησιμοποιήθηκαν νετρόνια τα οποία έδωσαν μεταλλάξεις με συχνότητα 28% μετά την εφαρμογή της άριστης δόσης. Μία άλλη μέθοδος για την παραγωγή μεταλλάξεων, είναι η ακτινοβόληση νεαρών ταξιανθιών ακολουθούμενη από *in vitro* αναγέννηση επίκτητων βλαστών. Ιστολογικές μελέτες έδειξαν ότι αυτοί οι βλαστοί προέρχονται από επιδερμικό ιστό και ότι ο πολλαπλασιασμός αυτών των μεταλλάξεων με τη μορφή κλώνων δίνει φυτά που είναι γενετικά ομοιογενή. Με την παραπάνω διαδικασία παρήχθη μεγάλος αριθμός μη-χμαιρικών φυτών (Broertjes et al. 1976). Σωματικές μεταλλάξεις μπορούν να επαχθούν και με χρήση χημικών μεταλλαξιόγόνων αλλά είναι λιγότερο αποτελεσματικές σε σχέση με τη χρήση ακτίνων. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στη μικρή διεισδυτικότητα των χημικών στα βλαστικά μέρη του φυτού. Κατά τη δημιουργία νέων τύπων με τη χρήση μεταλλάξεων σημασία έχει και το φάσμα των μεταλλάξεων το οποίο διαφέρει ανάλογα με το είδος των μεταχειρίσεων. Επίσης, το φάσμα και η συχνότητα των μεταλλάξεων επηρεάζονται και από τη γενετική σύσταση του υλικού εκκίνησης. Οι μεταλλάξεις σχεδόν πάντα μετατρέπουν ένα κυρίαρχο γονίδιο σε υποτελές, γεγονός που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την επιλογή αυτού. Έτσι, για παράδειγμα, το ροζ χρώμα των ανθοκομικών χρυσανθέμων δημιουργείται όταν υπάρχει ο μέγιστος αριθμός των κυρίαρχων γονιδίων και ακολουθείται από το λευκό, μπρούτζινο, κόκκινο, πορφυρό, κίτρινο, χρυσαφί, πορτοκαλί, μπρουτζο-κίτρινο, κίτρινο-κόκκινο και καφέ. Συνεπώς, όλα τα υπόλοιπα χρώματα θα επαχθούν με μεταλλάξεις σε ποικιλίες που έχουν ροζ ή λευκά άνθη.

Όμως, η χρήση μεταλλάξεων για τη δημιουργία νέων ποικιλιών έχει και ορισμένα μειονεκτήματα. Δεδομένου ότι οι μεταλλάξεις προκαλούν τον σχηματισμό χμαιρών, τα αναγεννημένα φυτά ενδέχεται να είναι γενετικά ασταθή. Ακόμα και μετά από επιλογή των σταθερών μορφών, μπορεί να συμβούν δομικές αλλαγές στα χρωμοσώματα (back-sporting) και να επανέλθουν στον αρχικό τους τύπο.

### Γ. Βιοτεχνολογία

Παραλλακτικότητα στα χρυσάνθεμα μπορεί να δημιουργηθεί και κατά την *in vitro* καλλιέργεια των φυτών. Έτσι, οι Sutter και Langham (1981) συγκρίνοντας φυτά που αναγεννήθηκαν από κάλλους φύλλων, τα οποία διατηρήθηκαν για ένα μήνα σε σχέση με αντίστοιχα που διατηρήθηκαν για εννέα χρόνια (LC φυτά), εντόπισαν ανώμαλες μορφές σε ποσοστό 15% των LC φυτών ενώ στο υπόλοιπο μέρος εμφανίζονταν υπερβολική ανάπτυξη των πλευρικών βλαστών. Η πλειονηφία αυτών εμφάνιζε μικρά άνθη με ακανόνιστο σχήμα και όψιμη άνθηση. Επίσης, οι Miyazaki και Tashiro (1978) βρήκαν ότι μόλις το 32% των κυττάρων που διατηρήθηκαν για καλλιέργεια με τη μορφή κάλλου για δύο βδομάδες και που προήλθαν από το τμήματα βλαστού από το τρίτο μεσογονάτιο μιας ιαπωνικής ανθοκομικής ποικιλίας, είχαν τον ίδιο αριθμό χρωμοσώμων με το μητρικό φυτό.

Τέλος, για τη δημιουργία νέων ποικιλιών χρησιμοποιήθηκε και η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA. Το ανθοκομικό χρυσάνθεμο μπορεί να μολυνθεί από το *Agrobacterium tumefaciens* αλλά η αποτελεσματικότητα μεταφοράς γονιδίων επηρεάζεται από την ποικιλία (Van Wordragen et al. 1991) και τις συνθήκες που απαιτούνται για την αποτελεσματική αναγέννηση των φυτών (Bush και Puerpke, 1991). Ο τύπος του εκφύτου που θα χρησιμοποιηθεί και το υπόστρωμα έναρξης επηρεάζουν τον αριθμό των επίκτητων

βλαστών που θα προκύψουν ανά ποικιλία. Συνεπώς, θα πρέπει ανάλογα με τον τύπο του εκφύτου και την ποικιλία να καθοριστούν οι άριστοι συνδυασμοί και συγκεντρώσεις των ρυθμιστών αύξησης που θα χρησιμοποιηθούν στην *in vitro* καλλιέργεια (Rademaker και De Jong 1990).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bosae M. R., Miller R., Deroles S. C., 1997. Chrysanthemum Systematics, Genetics and Breeding. *Plant Breeding Reviews*, Vol. 14. p. 321-361.
- Γουλή – Βαβδινούδη, Ε., Κούτσουκα-Σωτηρίου, Μ. 2001. Εγχειρίδιο στην Τεχνική των Διασταυρώσεων στα Καλλιεργούμενα Φυτά.
- Broertjes, C. 1978. Mutation breeding of chrysanthemums. *Euphytica* 15: 156-162.
- Broertjes, C., S. Roest and G.S. Bokelmann. 1976. Mutation Breeding of *Chrysanthemum morifolium* using *in vivo* and *in vitro* adventitious bud techniques. *Euphytica* 25:11-19.
- Bush, A. L. and S. K. Pueppke. 1991. Cultivar-strain specificity between *Chrysanthemum morifolium* and *Agrobacterium tumefaciens*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 39: 309-323.
- Chen, J. 1985. Studies on the origin of Chinese florist's chrysanthemum. *Acta Hort.* 167:349-361.
- Kawase, K. and Y. Tsukamoto, 1977. Studies on breeding in chrysanthemum, *Chrysanthemum morifolium*, I: self fertility. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 46: 101-112.
- Langton, F. A., 1980. Chimerical structure and carotenoid inheritance in *Chrysanthemum morifolium*. *Euphytica* 29: 807-817.
- Miyake, K. and Y. Tashiro, 1978. Tissue culture of *Chrysanthemum morifolium*, III: variation in chromosome number and flower color of plants regenerated from different parts of shoot *in vitro*. *Agr. Bull. Saga Univ.* 44: 13-31.
- Rademaker, W. and J. De Jong. 1990. Genetic variation on adventitious shoot formation in *Dendranthema grandiflora* (*Chrysanthemum morifolium*) explants. p. 34-38. In: J. De Jong (ed.), Proc. Integration of *in vitro* techniques in ornamental plant breeding symposium. Wageningen.
- Ronald, W. G., and P. D. Asher, 1975a. Transfer of self compatibility from garden to greenhouse strains of *Chrysanthemum morifolium*. *Am. Soc. Hort. Sci.* 100: 35-353.
- Ronald, W. G., and P. D. Asher, 1975b. Self compatability in garden chrysanthemum: occurrence, inheritance and breeding potential. *Theor. Appl. Genet.* 46: 45-54.
- Shibata, M., and J. Kawata, 1986b. Chimerical structure of the marble sport series in chrysanthemum p. 47-52. In: K. Kitaura, T. Akihama, H. Kukimura, K. Nakajima, M. Horie and I. Kozaki (eds), Development of new technology for identification and classification of tree crops and ornamentals. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan.
- Shibata, M., M. Amano, J. Kawata, and M. Uda. 1988a. Breeding process and characteristics of Summer Queen, a spray type chrysanthemum for summer productions. *Bull. Nat. Res. Inst. Vegetables, Ornametal Plants Tea.* Series A(2): 245-255.
- Stewart, R. N. and h. Derman. 1970. Somatic genetic analysis of the apical layers of chimeral sports in chrysanthemum by experimental production of adventitious sports. *Am. J. Bot.* 57: 1061-1071
- Sutter, E. and R. M. Langham. 1981. abnormalities in chrysanthemum regenerated from long term culture. *Abb. Bot.* 48: 559-568.
- Tal, M. 1980. Physiology of polyploids. p. 61-75. In: W. H. Lewis (ed.), Polyploidy: biological relevance. Plenum, New York.
- Teynor, T. M., P. D. Ascher, R. E. Widmer, and J. J. Luby. 1989a. Inheritance of flower color in *Dendranthema grandiflora* Tzvelev. (*Chrysanthemum morifolium*) using cultivars and inbreds, I: vacuole pigmentation. *Euphytica* 42: 199-207.
- Teynor, T. M., P. D. Ascher, R. E. Widmer, and J. J. Luby. 1989b. Inheritance of flower color in *Dendranthema grandiflora* (*Chrysanthemum morifolium*) using cultivars and inbreds, II: vacuole pigmentation. *Euphytica* 42: 297-305.
- Van Wordragen, M. F., J. De Jong, H. B. M. Huotema, and H. J. M. Dons. 1991. Genetic transformation of Chrysanthemum using wild type *Agrobacterium* strains : strain and cultivar specificity. *Plant Cell Rep.* 9: 505-508.
- Wang, P., and J. Chen. 1990. Studies on breeding ground-cover chrysanthemum new cultivars. *Acta Hort. Sinica* 17: 233-228.
- Zagorski, J. S., P. D. Asher, and R. E. Widmer. 1983. Multigenic self compatibility in hexaploid chrysanthemum. *Euphytica* 32: 1-7.

## ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΣΤΗ *DIGITALIS LANATA* ΕΗΡΗ

Μυλωνάς Ι. Γ., Γουλή-Βαβδινούδη Ε. και Μ. Σ. Κούτσικα-Σωτηρίου

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Γεωπονίας Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών, 541 24 Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η δακτυλίτιδα ανήκει στην οικογένεια *Scrophulariaceae* (2600 είδη, 150 είδη στην Ελλάδα), στην υποοικογένεια *Antirrhinoideae* και στο γένος *Digitalis* (25 ευρωπαϊκά, παραμεσογειακά είδη, 6 είδη στην Ελλάδα). Είναι φυτό δικοτυλήδονο με χρωμοσωμικό αριθμό  $2n=56$ . Στην παρούσα εργασία γίνεται μια ανασκόπηση της βιολογίας της άνθησης, των μηχανισμών αναπαραγωγής και της γενετικής-βελτίωσης σε σχέση με τις δραστικές ουσίες που περιέχει. Είναι διετής ή πολυετής αιθαλής πόα, φέρει όρθιο ισχυρό βλαστό ύψους 40-100 cm και έχει λογχοειδή ή επιμήκη φύλλα. Τα άνθη της είναι ερμαφρόδιτα με τέσσερις στήμονες, είναι πρώτανδρα, έχουν σχήμα καμπάνας και φέρουν διάφορους χρωματισμούς. Η ταξιανθία της είναι μεγάλος βότρυς (30-40 άνθη). Η δακτυλίτιδα ανθίζει από τέλη Μαΐου μέχρι μέσα Ιουλίου. Τα άνθη της ανοίγουν διαδοχικά από κάτω προς τα πάνω κατά μήκος της ταξιανθίας και συνήθως είναι ταυτόχρονα ανοικτά περίπου 10 άνθη. Ο τρόπος άνθησης της σε συνδυασμό με την πρωτανδρία και το γεγονός ότι τα άνθη ανοίγουν διαδοχικά, συντελούν στην ελαχιστοποίηση της γειτονογαμίας και στην μεγιστοποίηση της σταυρεπικονίασης. Ωστόσο, όταν οι ατμοσφαιρικές συνθήκες δεν επιτρέπουν το πέταγμα των εντόμων το φυτό αυτογονιμοποιείται. Οι δραστικές ουσίες που περιέχει είναι ο λανατοζίτης C, η ακετυλοδιγίτοξίνη και η διγίτοξίνη, οι οποίες βρίσκονται στα φύλλα και χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της μειωμένης καρδιακής συσταλτικότητας. Με ελεγχόμενες διασταυρώσεις γίνεται προσπάθεια να μελετηθεί ο τρόπος κληρονομής των δραστικών ουσιών και να επιτευχθεί ο επιθυμητός συνδυασμός χαρακτηριστικών.

Άλλες ονομασίες της είναι: διγίταλις η εριώδης, κορακοβότανο, κορακόχορτο, πουντόχορτο, χελιδονόχορτο και λυσοβότανο.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ονομασία της δακτυλίτιδας προέρχεται από την λατινική λέξη *Digitus* που σημαίνει δάκτυλο. Η χρησιμοποίηση της άρχισε τον 13<sup>ο</sup> αιώνα για την θεραπεία του έλκους, ενώ οι καρδιοτονωτικές της ιδιότητες ανακαλύφθηκαν το 1775 (Gunnar, 1992). Η δακτυλίτιδα συναντάται στην Κ. και Ν. Ευρώπη ενώ εισάγεται στις Βόρειες και Ανατολικές Πολιτείες της Αμερικής και τον Καναδά. Στην Ελλάδα είναι αυτοφυής σε δασοσκεπείς περιοχές της Θεσσαλίας, της Βόρειας Ελλάδας και της Πελοποννήσου. Ωστόσο, τα αυτοφυή φυτά δεν επαρκούν για τις θεραπευτικές ανάγκες με αποτέλεσμα να καλλιεργείται σε πολλές χώρες και κυρίως στην Ολλανδία, στην Αγγλία και στις Η.Π.Α.

### ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Είναι διετής ή πολυετής πόα, τον πρώτο χρόνο σχηματίζει μόνο μια ροζέτα με φύλλα και τα επόμενα χρόνια το ύψος της κυμαίνεται από 50-150 cm. Είναι αιθαλές φυτό με φύλλα λογχοειδή ή επιμήκη, τα οποία στη βάση διατάσσονται σε ρόδακα (Εικ. 1). Σε κάθετη τομή των φύλλων της *D. lanata* παρατηρούνται παχύνσεις των κυτταρικών τοιχωμάτων σε μορφή κομβολογίου. Τα άνθη της είναι ερμαφρόδιτα, έχουν τέσσερις στήμονες, οι δύο από τους οποίους (ακραίοι) έχουν μεγαλύτερο μήκος και οι άλλοι δύο (μεσαίοι) είναι κοντότεροι (Εικ. 2). Ακόμη έχουν σχήμα καμπάνας, είναι τοποθετημένα σε ταξιανθία μεγάλου βότρυ και το χρώμα τους είναι ασπροκίτρινο ή τεφροκίτρινο ή λευκό ή πορφυρό (Καββαδάς, 1956). Τα φυτά ανθίζουν κατά τους μήνες Μάιο-Ιούλιο. Ωστόσο, για να σχηματίσει το φυτό ταξιανθία θα πρέπει να υποστεί την επίδραση ενός ελάχιστου αριθμού χαμηλών θερμοκρασιών. Φυτά τα οποία τοποθετήθηκαν σε θερμοκήπιο δεν σχημάτισαν ταξιανθία την άνοιξη. Στην ταξιανθία ανοίγουν πρώτα τα κατώτερα άνθη και στην συνέχεια ανοίγουν διαδοχικά τα επόμενα (Εικ. 3). Συνήθως, είναι ταυτόχρονα ανοικτά γύρω στα 10 άνθη. Η θερμδική αξία στο νέκταρ που περιέχουν μειώνεται από τα κατώτερα προς τα ανώτερα άνθη της ταξιανθίας. Αυτό σε συνδυασμό με την πρωτανδρία και το γεγονός ότι τα άνθη ανοίγουν διαδοχικά, συντελεί στην ελαχιστοποίηση της γειτονογαμίας και στην μεγιστοποίηση της σταυρεπικονίασης. Ωστόσο, όταν οι ατμοσφαιρικές συνθήκες δεν επιτρέπουν το πέταγμα των εντόμων είτε στην περίπτωση απομονωμένων φυτών επιτυγχάνεται η παραγωγή σπόρων με αυτογονιμοποίηση (Richards, 1997).

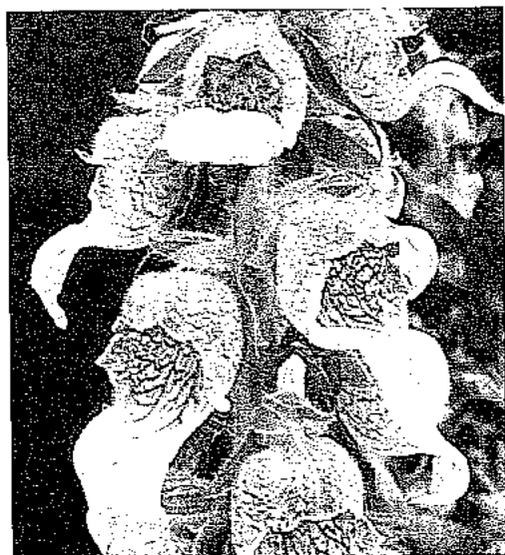


Εικ. 1. Φύλλα της *Digitalis lanata* Ehrh. (α) αρχές Ιουνίου και (β) μέσα Αυγούστου.

### ΓΕΝΕΤΙΚΗ - ΒΕΛΤΙΩΣΗ

Είναι σημαντικό να διεξαχθεί έρευνα στη δακτυλίτιδα ώστε να μελετηθεί ο τρόπος κληρονομησης των δραστικών ουσιών, με στόχο την δημιουργία και την επιλογή γενοτύπων με υψηλότερη ικανότητα σύνθεσης των ουσιών αυτών. Για το σκοπό αυτό είναι απαραίτητη η εφαρμογή ελεγχόμενων διασταυρώσεων. Η σωστή τεχνική στην ελεγχόμενη επικονίαση των καλλιεργούμενων φυτών, επιτρέπει στο βελτιωτή τον έλεγχο του τρόπου κληρονομησης και του δίνει τη δυνατότητα να επιτύχει τους συνδυασμούς των χαρακτηριστικών που επιδιώκει (Γουλή-Βαβδινούδη και Κούτσικα-Σωτηρίου, 2001). Για το σκοπό τα στάδια της διαδικασίας που ακολουθείται είναι τα εξής:

**Αποστημόνωση:** Είναι απαραίτητη διότι η πρωτανδρία δεν είναι αρκετή για να αποτρέψει την παραγωγή σπόρου από αυτογονιμοποίηση. Η πιο σημαντική μέθοδος που ακολουθείται είναι η βασική, στην οποία η αποστημόνωση γίνεται με την απομάκρυνση των ανθέρων χρησιμοποιώντας λαβίδα ή απορροφητήρα στα άνθη που έχουν σύγχρονη άνθηση (δηλ. περίπου 10) και στη συνέχεια η ταξιανθία καλύπτεται με ένα χάρτινο σακουλάκι.



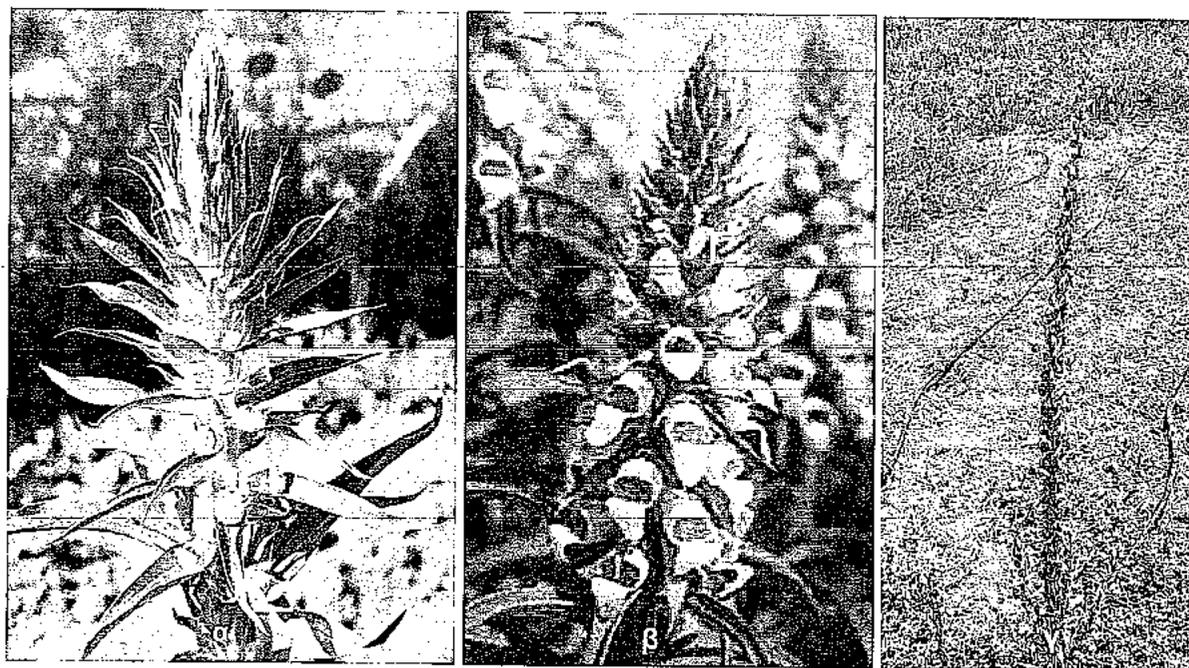
Εικ. 2. Στάδια (α) ανθοφορίας (πηγή διαδικτυο, 4) και (β) σχηματισμού σπόρων της *Digitalis lanata* Ehrh.

**Επικονίαση:** Πραγματοποιείται περίπου 4-6 ημέρες μετά από την αποστημόνωση του κάθε άνθους και όταν το στίγμα είναι υποδεκτικό. Γύρη ώριμων ανθών της ποικιλίας που θα χρησιμοποιηθεί ως πατέρας τοποθετείται πάνω στα ώριμα στίγματα. Το σακουλάκι επανατοποθετείται, στερεώνεται και στο στέλεχος προσδένεται μια ετικέτα με την ημερομηνία της επικονίασης και τα στοιχεία της διασταύρωσης.

Στα βελτιωτικά προγράμματα, όπου απαιτείται η διατήρηση της καθαρότητας μιας ποικιλίας εφαρμόζεται η ελεγχόμενη αυτογονιμοποίηση. Εξαιτίας του υψηλού ποσοστού σταυρογονιμοποίησης που παρουσιάζει η δακτυλίτιδα, για να δημιουργηθεί σπόρος από αυτογονιμοποίηση η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής: Λίγο πριν την έναρξη της ανθοφορίας η ταξιανθία καλύπτεται με ένα χάρτινο σακουλάκι. Στη συνέχεια για χρονικό διάστημα 10-20 ημερών, τις πρωινές ώρες, γίνεται ανακίνηση της ταξιανθίας με σκοπό να μεταφερθεί γύρη πάνω στα ώριμα στίγματα (Γουλή-Βαβδινούδη και Κούτσικα-Σωτηρίου, 2001).

### ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ – ΣΥΛΛΟΓΗ – ΧΡΗΣΕΙΣ

Ο πολλαπλασιασμός της δακτυλίτιδας γίνεται με σπόρους οι οποίοι συγκομίζονται το Σεπτέμβριο. Η σπορά της γίνεται το φθινόπωρο ή την άνοιξη σε σπορείο και στη συνέχεια ακολουθεί η μεταφύτευση. Οι περιοχές καλλιέργειας της βρίσκονται συνήθως κοντά σε εμπορικά κέντρα ξήρανσης φαρμακευτικών φυτών επειδή τα φύλλα της πρέπει να ξηραθούν σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα από τη συγκομιδή τους. Η δακτυλίτιδα δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις σε καλλιεργητικές φροντίδες, σε έδαφος και φως. Ευδοκμεί σε ημιορεινές δροσερές περιοχές και μπορεί να καλλιεργηθεί σε όξινα, ουδέτερα, βασικά, ξηρά εδάφη αλλά και σε σκιερά και ημισκιερά περιβάλλοντα. Σε μελέτη σχετική με την επίδραση της λίπανσης με CO<sub>2</sub> και της υδατικής καταπόνησης, στην παραγωγή βιομάζας και καρδιοενεργών ουσιών της δακτυλίτιδας βρέθηκε ότι: ο εμπλουτισμός της ατμόσφαιρας με CO<sub>2</sub> (1000 ppm) συντέλεσε στην αύξηση της βιομάζας, σε αύξηση των καρδενολιδίων κατά περίπου 160% και της διγοξίνης σε σχέση με το μάρτυρα. Ωστόσο, η υδατική καταπόνηση έδειξε ότι στα διάφορα φυσιολογικά στάδια μειώθηκε η ποσότητα των σημαντικών φαρμακολογικά ουσιών (Stuhlfauth *et al*, 1978).



**Εκ. 3.** *H Digitalis lanata* Ehrh. (α) στην έναρξη της ανθοφορίας (τέλη Μαΐου), (β) στην πλήρη ανθοφορία (μέσα Ιουνίου) (πηγή διαδικτύου, 3) και (γ) στον σχηματισμό σπόρων (μέσα Αυγούστου).

Η ετήσια συλλογή των φύλλων της γίνεται από τα μέσα Σεπτεμβρίου έως το τέλος Οκτωβρίου μετά από το δεύτερο έτος ανάπτυξης των φυτών. Στις καλλιέργειες της δακτυλίτιδας συλλέγεται μόνο ο δακτύλιος των

φύλλων του πρώτου χρόνου, τα οποία δίνουν και την υψηλότερη απόδοση σε δραστική ουσία. Τα δραστικά συστατικά των φύλλων της έχουν τη μεγαλύτερη συγκέντρωση το απόγευμα. Μετρήθηκε η περιεκτικότητα σε καρδενολίδια των ξηρών φύλλων μιας βραζιλιάνικης καλλιεργούμενης ποικιλίας σε φυτά 12 και 18 μηνών και βρέθηκε: 1) μεγάλη παραλλακτικότητα στη συνολική περιεκτικότητα σε καρδενολίδια μεταξύ των φυτών, 2) μεγάλη παραλλακτικότητα στο άθροισμα του λανατοζίτη C και της διγοζίνης και 3) υψηλή περιεκτικότητα σε μερικά φυτά στο άθροισμα του λανατοζίτη C και της διγοζίνης, τα οποία και επιλέχθηκαν για να ξεκινήσει πρόγραμμα βελτίωσης (Braga *et al*, 1997). Η ξήρανση των φύλλων της πραγματοποιείται αμέσως μετά την συγκομιδή σε θερμοκρασία 50-60°C, προς αποφυγή ενζυμικής υδρόλυσης των γλυκοζιτών της. Η θερμοκρασία ξήρανσης δεν πρέπει να είναι πολύ υψηλή επειδή μπορεί να προκληθεί σχηματισμός αδρανών ενώσεων.

Τα φύλλα της δακτυλίτιδας περιέχουν πέντε κύριους γλυκοζίτες, τους λανατοζίτες A-E. Στην θεραπευτική χρησιμοποιούνται ο λανατοζίτης C και τα ακόλουθα παράγωγα των γλυκοζιτών της: 1) η ακετυλοδιγοζίνη 2) η διγοζίνη 3) ο δεακετυλολανατοζίτης C (δελανοζίτης) και 4) η διγοζίνη (Gunnar, 1992). Σε μια μελέτη στα κύτταρα του μεσοφύλλου της δακτυλίτιδας βρέθηκε ότι τα καρδενολίδια στα φύλλα αποθηκεύονται ως γλυκοσίδια. Σε ότι αφορά τα δευτερεύοντα γλυκοσίδια που βρίσκονται στα αποστάγματα των φύλλων, αυτά είναι είτε ενδιάμεσα βιοσυνθετικά προϊόντα είτε προϊόντα διάσπασης (Hoelz *et al*, 1992). Η δράση των γλυκοζιτών της δακτυλίτιδας είναι ποιοτικώς ίδια, διαφέρει μόνο στα εξής σημεία: 1) Στην ισχύ της δράσης. Εξαιτίας του διαφορετικού τρόπου αποικοδόμησης οι πρωτογενείς γλυκοζίτες δρουν ισχυρότερα των δευτερογενών. 2) Στην λανθάνουσα περίοδο δηλαδή το χρονικό διάστημα μεταξύ λήψης και δράσης. Αυτή είναι κυρίως μεγάλη στη διγοζίνη. Οι λαναοζίτες δρουν γρήγορα η δράση τους όμως είναι παροδική. 3) Στον χρόνο δράσης και άθροισης δηλαδή την ιδιότητα μερικών γλυκοζιτών να προσκολλώνται στον καρδιακό μυ λίγο μετά τη λήψη χωρίς να προκαλείται καταφανής δράση. Με τη λήψη όμως νέας δόσης είναι δυνατό να συμβούν βαριές δηλητηριάσεις έστω και αν η δόση που χορηγήθηκε δεν ήταν τοξική. Η διγοζίνη είναι αθροιστικό φάρμακο, ενώ οι λαναοζίτες δεν παρουσιάζουν κάποια αξιόλογη αθροιστική ενέργεια (Φωκάς, 1982).

Τα κονιοποιημένα φύλλα δακτυλίτιδας χορηγούνται σε πολλές χώρες υπό μορφή δισκίων. Όμως σε αρκετές χώρες τα φαρμακευτικά παρασκευάσματα που περιέχουν τη δρόγη των φύλλων της δακτυλίτιδας δεν έχουν πλέον επίσημη κρατική άδεια κυκλοφορίας. Οι λόγοι για τη συγκεκριμένη απαγόρευση είναι αρκετοί και ένας από αυτούς είναι η διαφοροποίηση της περιεκτικότητας της δρόγης σε γλυκοζίτες. Οι δραστικές ουσίες της δακτυλίτιδας έχουν άμεση καρδιοτονωτική δράση στο μυοκάρδιο με αποτέλεσμα την αύξηση της δύναμης συστολής και την χρήση τους για την θεραπεία της μειωμένης καρδιακής συσταλτικότητας. Σε μεγαλύτερες δόσεις παρεμποδίζουν την κολποκοιλιακή αγωγιμότητα και συνεπώς χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του κολπικού περτυγισμού, της κολπικής μαρμαρυγής και της παροξυσμικής κολπικής ταχυκαρδίας. Οι καρδιακοί γλυκοζίτες έχουν εντυπωσιακά αποτελέσματα σε ασθενείς που πάσχουν ταυτόχρονα από μειωμένη καρδιακή συσταλτικότητα και κολπική μαρμαρυγή (Gunnar, 1992).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Braga F.C., W. Kreis, R. A. Récio and A. O. Braga, 1997. Variation of cardenolides with growth in *Digitalis lanata* Brazilin cultivar. *Phytochemistry*, Vol. 45, Issue 3, pp: 473-476.
- Γουλή-Βαβδινούδη, Ε. και Μ. Κούτσικα-Σοτηρίου, 2001. Εγχειρίδιο στην τεχνική των διασταυρώσεων στα καλλιεργούμενα φυτά. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις, Θεσσαλονίκη, σελ.12-26.
- <http://www.alex.eled.duth.gr/Rodopi/flowers/images>.
- [http://www.awl.ch/heilpflanzen/digitalis\\_lanata](http://www.awl.ch/heilpflanzen/digitalis_lanata).
- Gunnar, S., 1994. Φαρμακευτικά προϊόντα φυσικής προελεύσεως, εγχειρίδιο φαρμακολογίας, Απόδοση στην Ελληνική, Γενική Επιστημονική Επιμέλεια: Κορδοπάτης Παύλος, Εβη Μάνεση-Ζούπα, Γιώργος Πάιρας. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, σελ. 269-277.
- Hoelz H., W. Kreis, B. Haug and E. Reinhard, 1992. Storage of cardiac glycosides in vacuoles of *Digitalis lanata* mesophyll cells. *Phytochemistry*, Volume 31, Issue 4, pp: 1167-1171.
- Καββαδάς, Δ.Σ., 1956. Εικονογραφημένον - βοτανικόν - φυτολογικόν λεξικόν, τόμος III, Αθήνα σελ. 1272-1273.
- Richards, A.J., 1997. *Plant Breeding Systems*, Second edition. Published by Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, UK, pp: 88, 131.
- Stuhlfauth, T., K. Klug and H.R. Fock 1987. The production of secondary metabolites by *Digitalis lanata* during CO<sub>2</sub> enrichment and water stress. *Phytochemistry*, Volume 26, Issue 10, pp: 2735-2739.
- Φωκάς, Γ. 1982. Μαθήματα φαρμακογνωσίας. 2<sup>η</sup> έκδοση, Καθηγητής Α.Π.Θ., σελ. 489.

## ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΧΑΡΤΗ ΜΕ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗΝ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΑ

**Hibrand-Saint Oyant L.<sup>1</sup>, Μπάρμπας Ε.<sup>2</sup>, Rajapakse S.<sup>3</sup>, Crespel L.<sup>4</sup> και F. Foucher<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> UMR Génétique et Horticulture (GenHort), INRA, 49071 Beaucouzé, FRANCE

<sup>2</sup> Εργαστήριο Δασικής Γενετικής και Βελτίωσης Δασοπονικών Ειδών, Α.Π.Θ.

<sup>3</sup> Department of Genetics, Biochemistry & Life Science Studies, Clemson University, USA

<sup>4</sup> Ets Meilland, Quart St André, 83340 Le Cannet des Maures, FRANCE

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ένας διειδικός διπλοειδής πληθυσμός F1 τριανταφυλλιάς, αποτελούμενος από 91 υβρίδια, χρησιμοποιήθηκε για να κατασκευασθεί ένας πρώτος γενετικός χάρτης με μοριακούς δείκτες πολυμορφισμού μήκους θραυσμάτων ενισχυμένου DNA (AFLP). Προκειμένου να συμπληρωθεί αυτός ο χάρτης, μετά από τον υβριδισμό μιας γενωμικής τράπεζας με ανιχνευτές μικροδορυφορικών δεικτών, παράχθηκαν πολλές αλληλουχίες μικροδορυφόρων (SSR) που δοκιμάστηκαν πάνω στον προαναφερθέντα πληθυσμό F1. Από τους 108 διαθέσιμους δείκτες, 22 SSRs τοποθετήθηκαν στις 7 ομάδες σύνδεσης του θηλυκού γενετικού χάρτη και 20 SSRs στις 8 ομάδες σύνδεσης του αρσενικού γενετικού χάρτη. Αυτά τα αποτελέσματα επέτρεψαν μια καλύτερη κάλυψη του γενώματος σε σχέση με τον προηγούμενο χάρτη. Το μέγεθος για τον θηλυκό χάρτη παρουσιάζει αύξηση από 238.4 cM σε 435 cM και για το αρσενικό χάρτη αύξηση από 287.3 cM σε 333 cM.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένας πληθυσμός 91 υβριδίων διπλοειδής και διειδικός χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή γενετικού χάρτη μοριακών δεικτών AFLP αρρένων και θηλέων (Crespel *et al.*, 2002). Οι δείκτες AFLP παράγονται μαζικά αλλά παρουσιάζουν πολλά μειονεκτήματα:

- Είναι κυρίαρχοι.
- Ομαδοποιούνται σε συστάδες.
- Δεν μπορούν να μεταφερθούν σε άλλο γενετικό υλικό από αυτό που προέρχονται.

Αντίθετα οι μικροδορυφόροι (αλληλουχίες απλής επανάληψης) είναι λιγότεροι αλλά:

- Μπορούν να χρησιμοποιηθούν εύκολα σε πολλούς γενότυπους
- Επιτρέπουν τη διερεύνηση της δομής των πληθυσμών
- Είναι συγκυρίαρχοι
- Επιτρέπουν τη σύνδεση μεταξύ των χαρτών
- Δεν είναι ομαδοποιημένοι αλλά εκτείνονται σε όλο το γένωμα.

Με απαρχή τον υβριδισμό μια γενωμικής τράπεζας με τη βοήθεια ανιχνευτών παρήχθησαν πολλές ακολουθίες μικροδορυφόρων (Zhang *et al.*, 2000;2001). Αυτοί οι μικροδορυφόροι χρησιμοποιήθηκαν στον πληθυσμό F1 για να συμπληρωθεί ο χάρτης που αποκτήθηκε από τον Crespel (Crespel *et al.*, 2002) και για να συνδεθούν οι χάρτες του αρσενικού με αυτόν του θηλυκού γονέα.

### ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

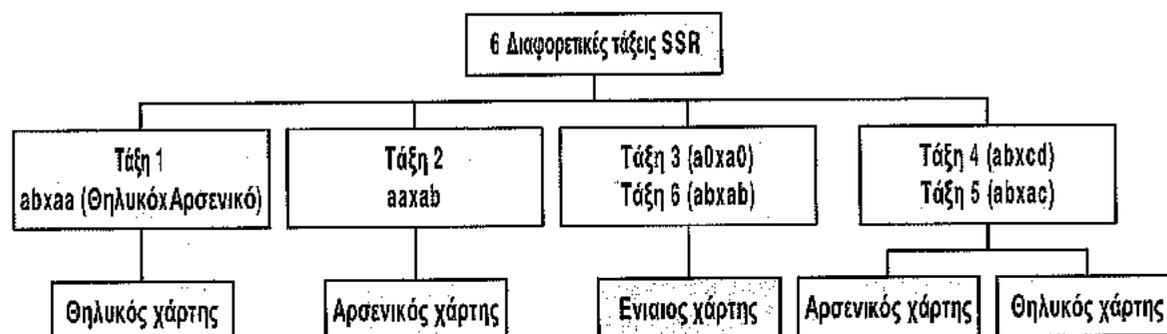
Ο πληθυσμός που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από μια διασταύρωση ανάμεσα σε ένα διαπλοειδές *Rosa x hybrida* H190 (Meynet *et al.*, 1994) και μια τριανταφυλλιά (*Rosa wichuriana*) από βοτανική συλλογή. Το DNA των γονέων και των υβριδίων εκχυλίστηκε από κατεψυγμένα νεαρά φύλλα όπως περιγράφεται από τον Zhang (Zhang *et al.*, 2001).

Οι αντιδράσεις αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματοποιήθηκαν σε 10 μl τελικού διαλύματος που περιείχε 10 ng DNA, 0,15 μM και 0,15 μM εκκινητών, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 250 mM dNTP και 0,5 μονάδα Taq πολυμεράσης (Sigma Aldrich). Οι μικροδορυφόροι αναλύθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτική πολυακρυλαμίδιου και εμφανίστηκαν με νιτρικό άργυρο. Η κατάταξη του μικροδορυφόρου, σε σχέση με τον πολυμορφισμό του, γίνεται μετά από την ανάλυση των αποτελεσμάτων που αποκτούνται από τους γονείς και μερικά υβρίδια (4-6). Οι πολυμορφικοί μικροδορυφόροι εξετάστηκαν στη συνέχεια στον πληθυσμό F1 (91

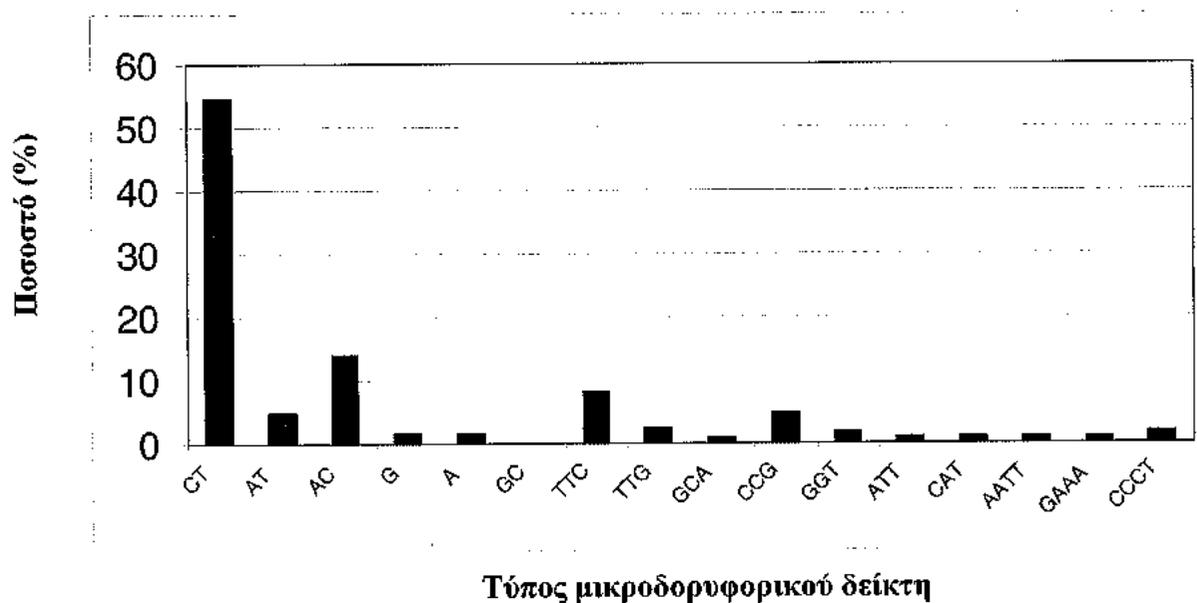
υβρίδια) και η χαρτογράφηση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του λογισμικού Joinmap (Stam και Van Ooijen, 1995).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η μελέτη των 108 διαθέσιμων μικροδορυφόρων δείχνει ότι η ακολουθία που εμφανίζεται με την μεγαλύτερη συχνότητα είναι η ακολουθία CT (54%) όπως και σε άλλα μέλη της οικογένειας των Rosaceae (Sosonski et al., 2000) αλλά και στο ρύζι (Wu and Tanksley, 1993).

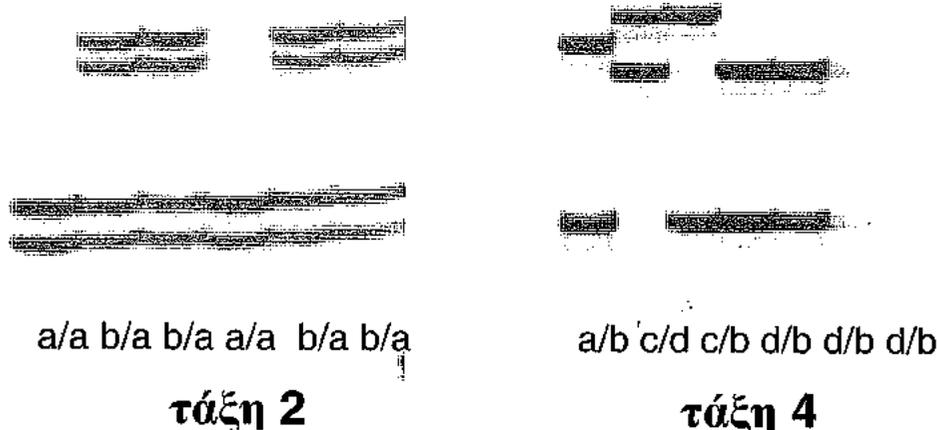


Σχήμα 1 Διαφορετικές τάξεις μικροδορυφορικών δεικτών.



Σχήμα 2 : Διαφορετικοί μικροδορυφορικοί δείκτες

♀ ♂ H1 H2 H3 H4



**Σχήμα 3 :** Παράδειγμα SSR τάξης 2 και 4 : Τα προφίλ αποκτήθηκαν από δυο γονείς (♀ και ♂) και 4 υβρίδια (H1, H2, H3, H4). Τα ενισχυμένα «αλληλόμορφα» (a, b c ει/ου d) δείχνονται στο κάτω μέρος του σχήματος.

Μετά από ανάλυση των τάξεων οι μικροδορυφόροι δοκιμάστηκαν στο σύνολο του πληθυσμού προκειμένου να εμπλουτισθεί ο γενετικός χάρτης των γονέων. Οι δυο χάρτες έγιναν με LOD ίσο με 4.

Εικοσιδύο μικροδορυφόροι τοποθετήθηκαν σε 7 ομάδες σύνδεσης του χάρτη θηλέων και 20 σε 8 ομάδες σύνδεσης του χάρτη αρρένων. Τα αποτελέσματα αυτά επιτρέπουν τη δημιουργία ενός γενετικού χάρτη με μεγαλύτερη κάλυψη του γενώματος από αυτή που επέτρεπε ο χάρτης των Crespel *et al.* (2001). Το μέγεθος που αποκτήθηκε για τον γενετικό χάρτη θηλέων παρουσιάζει μία αύξηση από 238,4 cM στα 435 cM και για τον χάρτη αρρένων μια αύξηση από τα 287,3 στα 333 cM.

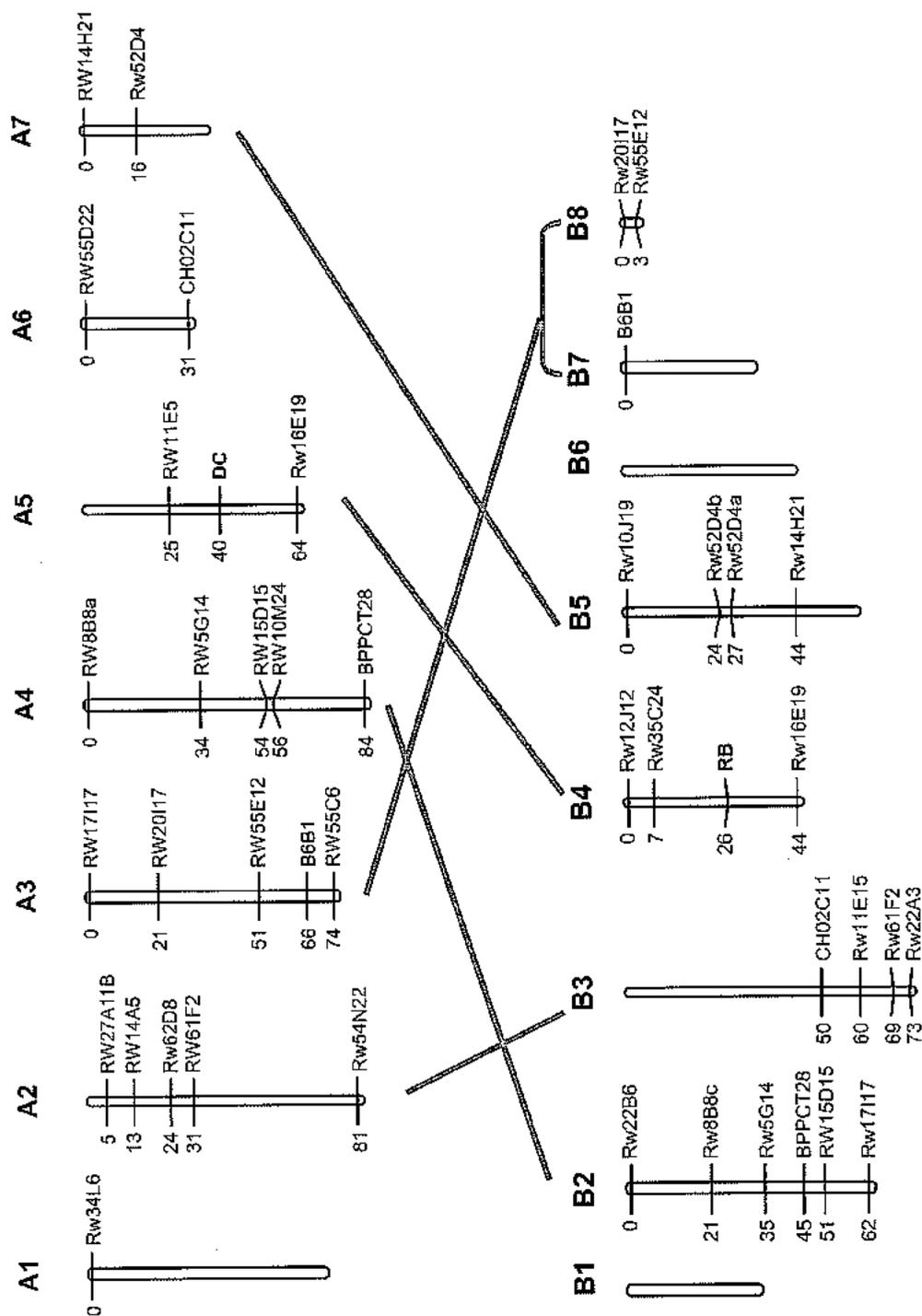
Δέκα τέσσερις μικροδορυφόροι είναι κοινοί στους δυο χάρτες και επιτρέπουν να γίνουν υποθέσεις σύνδεσης ανάμεσα στους γονικούς χάρτες. Ένας μικροδορυφόρος επιτρέπει τη σύνδεση των ομάδων σύνδεσης A2 και B3. Ένα γονίδιο που τοποθετείται στις δυο ομάδες σύνδεσης ενδυναμώνει αυτή την υπόθεση (μη δεικνυόμενο αποτέλεσμα). Τρεις μικροδορυφόροι συνδέουν την ομάδα σύνδεσης A3 με τις ομάδες σύνδεσης B7 και B8. Τέσσερις μικροδορυφόροι συνδέουν τις ομάδες σύνδεσης A4 και B2. Ένας μικροδορυφόρος είναι κοινός στις ομάδες σύνδεσης A5 και B4 και δυο τοποθετούνται στις ομάδες σύνδεσης A7 και B5.

Τέσσερις ομάδες σύνδεσης, οι A1, A6, B1, B6 δεν διαθέτουν μικροδορυφορικούς δείκτες.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Η ανάπτυξη μικροδορυφορικών μοριακών δεικτών στην τριανταφυλλιά συνεχίζεται και ο στόχος είναι η επίτευξη της ολικής κάλυψης του γενετικού χάρτη και η σύνδεση των γονικών ομάδων σύνδεσης στον γενετικό χάρτη.

Ο χάρτης θα επιτρέψει την καλύτερη γνώση του γενώματος του φυτού αυτού και οι μελετηθέντες μικροδορυφόροι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την μελέτη άλλων πληθυσμών με στόχο τη δημιουργία ενός γενετικού χάρτη *consensus* μοναδικού και αξιόπιστου. Οι μικροδορυφόροι μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης στα πλαίσια προγραμμάτων γενετικής βελτίωσης με την βοήθεια δεικτών. Τέλος, οι μικροδορυφόροι αυτοί θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε μελέτες δομής πληθυσμών στα πλαίσια προγραμμάτων διατήρησης γενετικών πόρων.



**Σχήμα 4** Γενετικός χάρτης τριανταφυλλιάς, θηλυκός (ομάδα σύνδεσης A1-A7) και αρσενικός (ομάδες σύνδεσης B1-B8). Οι χάρτες δημιουργήθηκαν με τη βοήθεια δεικτών AFLP και SSR. Για να βελτιωθεί η αναγνωσιμότητα οι δείκτες AFLP δεν τοποθετήθηκαν πάνω στον χάρτη. Δυο γονίδια που ελέγχουν τον διαπλασιασμό της στεφάνης (DC) και την επαναλαμβανόμενη ανθοφορία (RB) τοποθετήθηκαν πάνω στον χάρτη. Οι δείκτες SSR που προέρχονται από την τριανταφυλλιά σημειώνονται σαν RW ακολουθούμενοι από τον αριθμό του κλώνου από τον οποίο προέρχονται. Οι δείκτες BPPCT28, B6B1 είναι δείκτες SSR από την αγριοκερασιά και ο δείκτης CH02C11 είναι ένας δείκτης SSR από την μηλιά.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Crespel L., Chirollet M., Durel C. E., Zhang D., Meynet J. και Gudín S. 2002. Mapping of qualitative and quantitative phenotypic traits in *Rosa* using AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics* 105 (8): 1207-1214
- Meynet J., Barrade R., Duclos A. και Siadous, R. 1994. Dihaploid plants of roses (*Rosa x hybrida*, cv 'Sonia') obtained by parthenogenesis induced using irradiated pollen and in vitro culture of immature seeds. *Agronomie*. 14 (3): 169-175.
- Sosinski B., Gannavarapu M., Hager L. D., Beck L. E., King G.J., Ryder C. D., Rajapakse S., Baird W. V., Ballard R. E. και Abbott A. G. 2000. Characterization of microsatellite markers in peach (*Prunus persica* L.) Batsch). *Theoretical and Applied Genetics* 101 (3): 421-428.
- Stam P. και Van Ooijen J.W. 1995. JOINMAP version 2.0: Software for the calculation of genetic linkage group, CPRO-DLO, Wageningen, The Netherlands.
- Wu K.S. και Tanksley S.D. 1993. Abundance polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice. *Mol. Gen. Genet.* 241: 225-235.
- Zhang L., Ballard R.E., Abbot A. G., Byrne D.H. και Rajapaske S., 2000. Intergrating microsatellite markers into rose genetic map. *Plant, Animal and Microbe Genome VIII Conference*. January 9-12, San Diego.
- Zhang L., Ballard R.E. και Rajapaske S. 2001. Abundance of simple sequence repeats in rose. *Plant, Animal and Microbe Genome IX The International Conference on the Status of Plant, Animal and Microbe Genome VIII Conference*, January 13- 17, San Diego.
- Zhang D., Besse C., Cao M.Q. και Gandelin M.H. 2001. Evaluation of AFLPs for variety identification in modern rose (*Rosa hybrida* L.). *Acta Hort.* 546: 351-357.

## Ευχαριστίες

Οι συγγραφείς ευχαριστούν την Marie Eve Ploteau για την τεχνική βοήθειά της

## DEVELOPMENT OF MICROSATELLITE BASED GENETIC MAP OF ROSA

L. Hibrand-Saint Oyant<sup>1</sup>, E. Μπόρμπας<sup>2</sup>, S. Rajapakse<sup>3</sup>, L. Crespel<sup>4</sup> και F. Foucher<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR Génétique et Horticulture (GenHort), INRA, 49071 Beaucouzé, France

<sup>2</sup> Laboratory of Forest Genetics and Plant Breeding, AUTH.

<sup>3</sup> Department of Genetics, Biochemistry & Life Science Studies, Clemson University, USA

<sup>4</sup> Ets Meilland, Quart St André, 83340 Le Cannet des Maures, France

## SUMMARY

A diploid F1 population of *Rosa* (91 hybrids) has been used to construct the first genetic map with AFLP molecular markers. In order to complete this map a rose genomic library has been hybridized with SSR probes and many repeat sequences have been identified. These SSRs have been evaluated on the 91 hybrids. Twenty-two SSRs, of the 108 SSRs available, assigned to the 7 female linkage groups while 20 SSRs assigned to the 8 male linkage groups. These results allow a better coverage of the genome than the previous map. Female map covers 435 cM instead of 238,4 and male map covers 333 cM instead of 287,3 cM.

## ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΕΩΝ ΣΤΗΝ *VALERIANA OFFICINALIS*

Καργιωτίδου Α., Γουλή Ε. και Κούτσικα Μ.

Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ. 54124 Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας ανασκόπησης είναι η βοτανική περιγραφή και η βιολογία αναπαραγωγής της *Valeriana officinalis* καθώς και η τεχνική των διασταυρώσεων μαζί με την φαρμακευτική χρήση του φυτού.

Η Βαλεριάνα η φαρμακευτική ανήκει στην οικογένεια *Valerianaceae* ( $2x=14$ ,  $2x=56$ ,  $x=7,8$ ). Είναι πολυετής πόα, με βλαστό μονοστέλεχο, τετραγωνικό με αυλάκια κατά μήκος, κούφιο εσωτερικά, ύψους έως 120 εκ. με γόνατα χνουδωτά. Φέρει 5 με 9 ζεύγη φύλλων σε αντίθετη κατεύθυνση. Τα ανθοφόρα στελέχη που προβάλλουν τον δεύτερο ή τον τρίτο χρόνο είναι στρόγγυλα ή ραβδωτά και φτάνουν τα 1,5 μέτρα ύψος. Τα άνθη είναι ερμαφρόδιτα, μικρά, με διάμετρο 5mm ασύμμετρα με άρωμα και διατάσσονται σε πυκνές ομάδες, σε ακραίους σκιαδιόμορφους κορύμβους που έχουν διάμετρο, ολόκληρη η ανθοταξία, 8-10cm. Έχουν συμπέταλη στεφάνη, μήκους 4-6 χιλ., λευκή έως ανοιχτορόδινη, χοανοειδής, με πέντε λίγο άνισους λοβούς και τρεις στήμονες. Η ωοθήκη είναι υποφυής, τριχωρή από τρία καρπόφυλλα με ένα μόνο γόνιμο χώρο με μία σπερμοβλάστη. Ανθίζει Ιούνιο με Αύγουστο. Ο σχηματιζόμενος καρπός είναι μονόσπερμο κάρπιο, λείος, ωοειδής που φέρεται στον υπό μορφή βλεφαριδωτών ή θυσάνου τριχών κάλυκα. Το φυτό πολλαπλασιάζεται με παραφυάδες. Είναι φαρμακευτικό και μελισσοκομικό, ιδιαίτερα εντομόφιλο. Το φαρμακευτικό μέρος του είναι το ρίζωμα και οι ρίζες. Σαν κύριες δραστικές ουσίες αναφέρονται το *αιθέριο έλαιο* και οι μη πιπτικές με υδρατμούς *βαλεποτριάτες* και περιέχονται σε συγκέντρωση έως 0,5% και από 0,5 έως 2% αντίστοιχα.

Άλλες ονομασίες είναι Αγριοζαμπούκος ή Μυριστική, Ερπίνη, Ασπρόφυλλος, Διοσκουρίδειος, Κέντρανθος, Αλεναία, Βιρτισκεία, Ανάλατος, Νάρδος, Ηλιοτρόπιο των κήπων, καθώς και *Herbe aux chats* στα γαλλικά, αγγλικά *Common valerian* και γερμανικά *Baldrian*.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Από την αρχαιότητα ήδη η βαλεριάνα χρησιμοποιούταν ευρέως. Ήταν γνωστή στους αρχαίους Έλληνες και στους ρωμαίους που την ονόμαζαν «Φου» εξαιτίας του δυσάρεστου αρώματος της (Griene, 1973)(Γεννάδιος, 1914). Ο Διοσκουρίδης την ανέφερε ως αντίδοτο σε δηλητηριάσεις και ο Πλίνης τη θεωρούσε ως ανακουφιστικό για τον πόνο. Οι αγγλοσάξονες τον 11<sup>ο</sup> αιώνα την χρησιμοποιούσαν ως καρύκευμα. Πήρε το όνομά της από το ρήμα «valere», που σημαίνει «ισχύω» (είμαι δυνατός, υγιαίνω). Οι ανατολικές πραγματείες το αναφέρουν ως «ζωοδόχο» φυτό. Θεωρούσαν ότι ενεργεί σαν «συμπυκνωτής»: επιτρέπει στον άνθρωπο να συσσωρεύσει ψυχική ενέργεια και να τη χρησιμοποιήσει σε περίπτωση σωματικών και ψυχικών δυνάμεων. Υπογράμμιζαν επίσης και τη «συνθετική» σημασία της βαλεριάνας, δηλαδή το ότι συνδυάζει το ρόλο της προστασίας του νευρικού συστήματος και της αποκατάστασης των νευρικών λειτουργιών. Γιαντό ύστερα από κοπιαστικές και εντατικές προπονήσεις οι ασιατές αθλητές και οι λαϊκοί χειροδύναμοι έπαιρναν βαλεριάνα. Απέδιδαν στη βαλεριάνα την ιδιότητα να συμβάλλει στην επικοινωνία, να προκαλεί αρμονία και ηρεμία. Μια πραγματεία του ίδιου αιώνα γράφει: «δεν είναι τυχαίο που τη χρησιμοποιούσαν στις οικογενειακές φιλονικίες και στους καυγάδες». Η φήμη της βαλεριάνας ήταν τόσο μεγάλη ώστε τη χρησιμοποιούσαν ακόμα και στους κακοήθεις όγκους (Ιβαντσένκο).

### Ταξινόμηση-οικολογία

Ανήκει στην οικογένεια *Valerianaceae*, βαλεριανίδης. Ο αριθμός χρωμοσωμάτων για τα είδη *Valeriana* κυμαίνεται από  $2n=14$  μέχρι  $2n=56$  ( $x=7,8$ ) με περισσότερο κοινό το  $2n=16$  (Fedorov, 1969). Η *Valeriana officinalis* έχει βασικό χρωμοσωμικό αριθμό  $x=7$  και είναι διπλοειδής  $2n=14$ , τετραπλοειδής  $2n=28$  και οκταπλοειδής  $2n=56$  (Darlington et al, 1945). Τα χρωμοσώματά της είναι μικρά και πολυάριθμα γεγονός που σε συνδυασμό με την μορφολογική τους ομοιομορφία δυσκολεύει τη μελέτη τους, το διαχωρισμό των χρωμοσωμικών ζευγαριών, των χρωμοσωμικών τύπων και την παρουσία η όχι δορυφόρου (Weiss, 2002).

Συναντάται σε υγρά μέρη πίσω από ποτάμια και καταρράκτες, ελώδεις περιοχές, σε δάση σε όλη την Ευρώπη εκτός τις πολύ βόρειες και πολύ νότιες περιοχές (Simon et al, 1984) (Μαρσέλλος & Μαρσέλλος, 1981). Στην Ελλάδα συναντούμε το φυτό αυτοφυές στα βόρεια, σε αραιά δάση ή υλοτομούμενα, κοντά στα

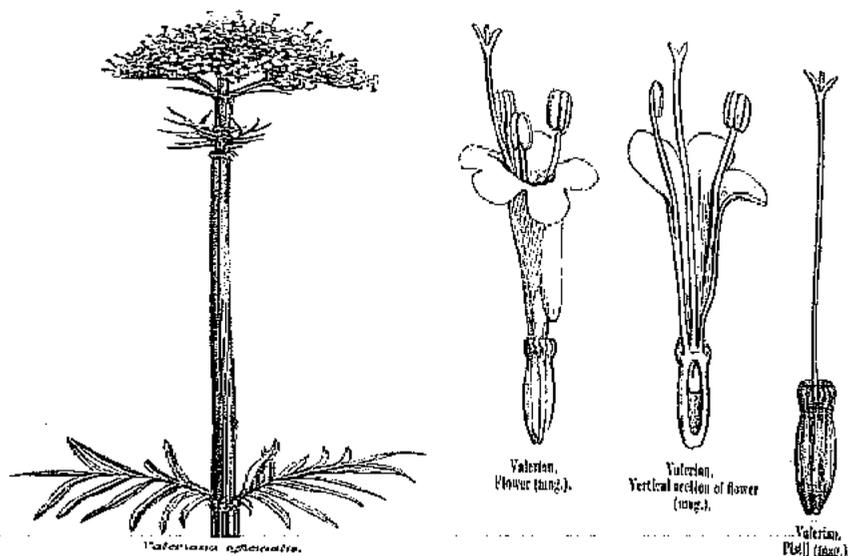
νερά στις όχθες των ρυακιών και στα ξέφωτα των δασών. Ευδοκμεί σε ημιορεινές δροσερές περιοχές και σε χωράφια φτωχά-μέτριας γονιμότητας (Σκούμπης, 1998).

### Βοτανικά χαρακτηριστικά-βιολογία αναπαραγωγής

Είναι πολυετής πόα, με βλαστό μονοστέλεχο, τετραγωνικό με αυλάκια κατά μήκος, κούφιο εσωτερικά, ύψους έως 120 εκ. με γόνατα χνουδωτά. Η ρίζα είναι ινώδης που δίνει άφθονες παραφυάδες. Φέρει 5 με 9 ζεύγη φύλλων σε αντίθετη κατεύθυνση. Τα φύλλα της βάσης, μήκους 8-25 εκ., είναι έμμισχα, σύνθετα και αποτελούνται από φυλλάρια με περίγραμμα γραμμοειδές ή ελλειψοειδές, οδοντωτό ή ακέραιο. Τα φύλλα του βλαστού είναι άμισχα, παρόμοια με εκείνα της βάσης.

Τα ανθοφόρα στελέχη που προβάλλουν τον δεύτερο ή τον τρίτο χρόνο είναι στρόγγυλα ή ραβδωτά και φτάνουν τα 1,5 μέτρα ύψος. Τα άνθη είναι ερμαφρόδιτα (Watson και Dallwitz, 1992), μικρά, με διάμετρο 5mm ασύμμετρα με άρωμα και διατάσσονται σε πυκνές ομάδες, σε ακραίους σκιαδιόμορφους κορύμβους που έχουν διάμετρο, ολόκληρη η ανθοταξία, 8-10cm. Έχουν συμπέταλη στεφάνη, μήκους 4-6 χιλ., λευκή έως ανοιχτορόδινη, χοανοειδής, με πέντε λίγο άνισους λοβούς και τρεις στήμονες (σχήμα 1). Η ωσθήκη είναι υποφυής, τριχώρη από τρία καρπόφυλλα με ένα μόνο γόνιμο χώρο με μία σπερμοβλάστη. Ανθίζει Ιούνιο με Αύγουστο. Ο σχηματιζόμενος καρπός είναι μονόσπερμο κάρυο, λείος, ωοειδής που φέρεται στον υπό μορφή βλεφαριδωτών ή θυσάνου τριχών κάλυκα (Διαπούλης, 1949, Καββαδάς, 1956, Γκανιάτσας, 1967).

Το φυτό είναι κατά ένα ποσοστό αυτογονιμοποιούμενο, αλλά το ποσοστό σταυρογονιμοποίησης είναι πολύ μεγαλύτερο και οφείλεται στη μεταφορά γύρης που γίνεται με τις μέλισσες, σε μεγάλο βαθμό με τις πεταλούδες του αγρού, τα σκαθάρια και άλλα έντομα (Richards, 1986).



Σχήμα 1: βλαστός *Valeriana officinalis*, άνθος, κάθετη τομή άνθους και ύπερος.

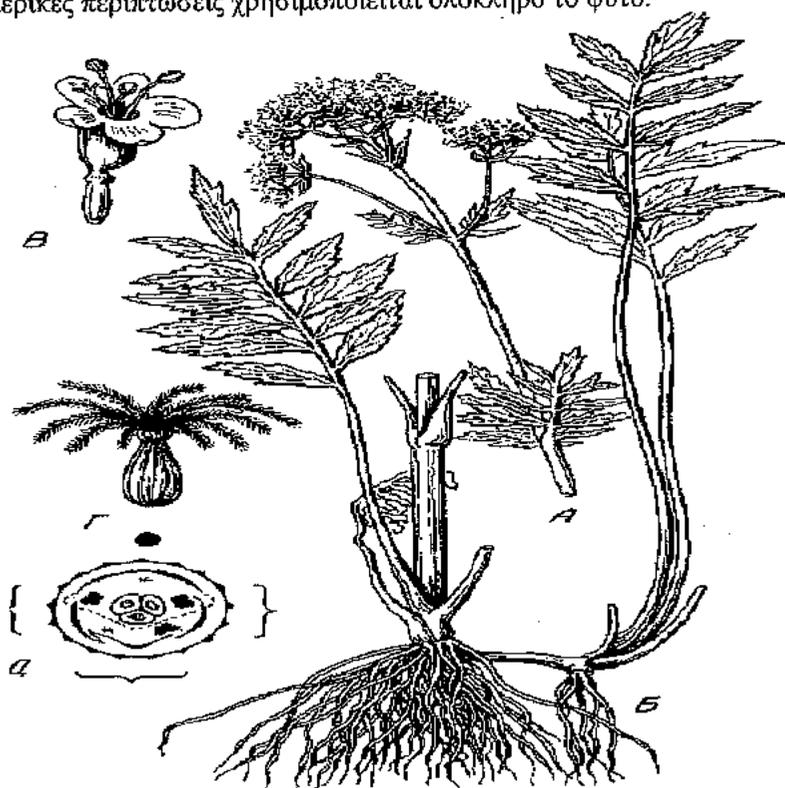
### Πολλαπλασιασμός- καλλιέργεια

Το φυτό πολλαπλασιάζεται μεταφυτεύοντας τις παραφυάδες του, που είναι άφθονες, σε βάθος 30 εκατοστά σε ελαφρύ έδαφος το Φθινόπωρο ή την Άνοιξη. Ακόμη πολλαπλασιάζετε με σπόρο που σπέρνεται σε σπορείο (Σκούμπης, 1998). Η μεταφύτευση γίνεται το φθινόπωρο ή την άνοιξη σε αποστάσεις 50-60 επί 70-80 εκ. Δεν είναι φωτόφιλο φυτό. Οι κορυφές του συχνά κόβονται για να ενισχυθεί η ανάπτυξη του ριζώματος. Συλλέγεται το Σεπτέμβρη με Νοέμβριο το δεύτερο χρόνο καλλιέργειας, το ρίζωμα και οι ρίζες πλένονται καλά και μετά αποξηραίνονται στην σκιά.

### Χρήσιμα μέρη του φυτού

Είναι φυτό φαρμακευτικό και μελισσοκομικό, ιδιαίτερα εντομόφιλο (Watson και Dallwitz, 1992) (Σκούμπης, 1998). Το φαρμακευτικό μέρος του φυτού είναι το ρίζωμα και οι ρίζες που συλλέγονται νωρίς μετά την πτώση των φύλλων. Το ρίζωμα που χρησιμοποιείται έχει μήκος 2-4 εκατοστά και πάχος 1-2

εκατοστά, που φέρει διάφορες ρίζες που έχουν πάχος 2-3 χιλιοστά και μήκος 10-20 εκατοστά, το οποίο προς τα κάτω στενεύει σαν κώνος με χρώμα καφέ ή κίτρινοκαφέ εξωτερικά και εσωτερικά υπόλευκο ή ελαφρός καστανό (σχήμα 2). Σε μερικές περιπτώσεις χρησιμοποιείται ολόκληρο το φυτό.



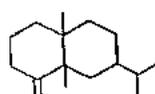
Σχήμα 2: Α. ρίζωμα φυτού και παραφυάδα, Β. άνθος, Γ. καρπός

#### Χημική σύνθεση-Δραστικές ουσίες

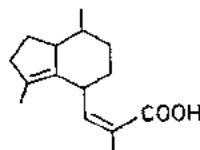
Η ξερή δρόγη περιέχει 8 έως 10% ύδωρ και 5 έως 10% ανόργανα συστατικά. Σε μεγάλη αναλογία υπάρχουν άμυλο και σάκχαρα. Περιέχει επίσης οργανικά οξέα, βενζοϊκό, σαλικυλικό, καφεϊκό και χλωρογενικό οξύ, μικρή ποσότητα λιπαρών ουσιών και στερολών, ρητίνη, ταννίνη, αζωτούχες και λευκοματούχες ουσίες.

Οι έρευνες για τα δραστικά συστατικά αρχίζουν από το 1830, με την απομόνωση του *ισοβαλεριανικού οξέως*, εξακολουθούν δε μέχρι σήμερα. Απομονώθηκαν ακόμα εστέρες με κατευναστικές ιδιότητες στα νεύρα, τις *βαλεποτριάτες*. Η κατευναστική επενέργεια δεν οφείλεται σε ένα μόνο συστατικό, αλλά στην συνέργεια πολλών. Σαν κύριες δραστικές ουσίες αναφέρονται το *αιθέριο έλαιο* και οι μη πτητικές με υδρατμούς *βαλεποτριάτες*.

Στο αιθέριο έλαιο, που βρίσκεται σε συγκέντρωση έως 0,5% και παίρνεται με απόσταξη με υδρατμούς, βρέθηκαν: *μονοτερπένια*, όπως είναι το α- και β- πινένιο, καμφένιο, λεμονένιο, π- κυμόλη, εστέρες της βορνεόλης, μυρτενόλης και κυμόλης με τα οξέα μυρμηκικό, οξικό, βουτυρικό και ισοβαλεριανικό και *σεσκιτερπένια* όπως είναι το καρνοφυλλένιο και β- βισαβολένιο, οι αλκοόλες βαλερόλη, μααλιόλη, η κετόνη βαλερανόνη (ιαταμανσόνη) ως και το βαλερενικό οξύ (σχήμα 3).



Βαλερανόνη



Βαλερενικό οξύ

Οι βαλεποτριάτες είναι εστέρες σε ποσότητα 0,5 έως 2%.

Στην ρίζα της βαλεριάνας που δεν έχει ξεραθεί προσεχτικά, στο βάμμα και το εκχύλισμα οι ευαίσθητες βαλεποτριάτες μερικά διασπώνται σε ελεύθερο οξύ και *βαλδρινάλη*.

Η χαρακτηριστική οσμή της βαλεριάνας σχηματίζεται κατά την ξήρανση και προέρχεται από το βορνυλισοβαλεριανικό και ελεύθερο ισοβαλεριανικό οξύ. Αλκαλοειδή βρέθηκαν σε ίχνη (Σουλεές, 2000)(Φωκάς, 1984).

### Φαρμακευτικές χρήσεις

Σήμερα η βαλεριάνα χρησιμοποιείται κυρίως φαρμακευτικά ως μέσο αντισπασμωδικό, αντιεπιληπτικό, αντιυπρετικό, αντιδιαβητικό και γενικώς άριστο τονωτικό του οργανισμού και καταπραυντικό των διαταραχών του νευρικού συστήματος, ιδιαίτερα για το άγχος και την αϋπνία (Μπαζαίος, 1982-2003). Σε μικρές δόσεις το αφέμημα και το έμβρεγμα της βαλεριάνας ανακουφίζουν από τον πονοκέφαλο και καταπολεμούν τα παράσιτα του εντέρου (είναι ανθελμινθικό-παρασιτοκτόνο).

Εξαιτίας των πολύτιμων φαρμακευτικών αυτών ιδιοτήτων και ιδίως του αιθέριου ελαίου, το φυτό καλλιεργείται για τη ρίζα του, η οποία στην ιατρική χρησιμοποιείται είτε με τη μορφή δισκίων είτε με τη μορφή διαφόρων βαλεριανικών αλάτων (αμμωνίας, ψευδαργύρου, σιδήρου, καφεΐνης), κυρίως με τη μορφή αιθερούχου ή αλκοολούχου βάμματος. Φαίνεται όμως ότι καλύτερα αποτελέσματα έχουν τα σιρόπια που παράγονται από νωπές ρίζες σε συνδυασμό με φύλλα πορτοκαλιάς (Buckland, 1999).

Στην κτηνιατρική χρησιμοποιείται η βαλεριάνα με διάφορες μορφές για την επιληψία και τους σπασμούς των ζώων. Ιδιαίτερη προτίμηση στην βαλεριάνα έχει η γάτα που τρώει του τρυφερούς βλαστούς και τα φύλλα, γι' αυτό και οι Γάλλοι την ονομάζουν *βότανο της γάτας* (Herb aux chats).

Χρησιμοποιείται και ως καλλωπιστικό καθώς υπάρχουν διαθέσιμες πολλές ποικιλίες με διάφορα χρώματα ανθέων.

Δηλητηριάσεις από την βαλεριάνα συνήθως δεν παρατηρούνται, παρά μόνο σε περιπτώσεις μακροχρόνιας θεραπείας ασθενών, οπότε τα έκδηλα συμπτώματα είναι κεφαλαλγίες, ανησυχία, αϋπνία, διεγέρσεις (εκνευρισμός), οπτικές απάτες, μυδρίαση και βλάβη της καρδιακής λειτουργίας.

### Τεχνική των διασταυρώσεων

Προγράμματα βελτίωσης που έχουν πραγματοποιηθεί για να βελτιώσουν την βιολογική δράση των συστατικών του φυτού απέδειξαν ότι η αυτογονιμοποίηση προκαλεί υποβίβαση της περιεκτικότητας σε αιθέρια έλαια σε σύγκριση με φυτά μάρτυρες που επικονιάστικαν ελεύθερα (Messmer et al, 2001). Προκειμένου επομένως να αυξηθεί η περιεκτικότητα της βαλεριάνας σε δραστικές ουσίες, που είναι και ο κύριος λόγος καλλιέργειάς της, πραγματοποιούνται οι ελεγχόμενες διασταυρώσεις.

Η αποστημόνωση είναι αρκετά κοπιαστική και χρονοβόρα διαδικασία. Αν και οι ανθήρες είναι ευμεγέθεις, το μέγεθος, ο αριθμός και η συνεχής ωρίμανση των ανθιδίων είναι παράγοντες που δυσκολεύουν τους βελτιωτές. Κάθε ταξιανθία περιλαμβάνει πολλά άνθη και σε κάθε μια που πρόκειται να αποστημονωθεί, απομακρύνονται όλα τα ανοιχτά άνθη καθώς και εκείνα που έχουν σποροποιήσει και αφήνονται μόνο αυτά που δεν έχουν ανοίξει. Στα σχεδόν ώριμα άνθη σχίζονται τα πέταλα στη βάση της διογκωμένης στεφάνης με μαχαιράκι και αφαιρούνται οι ανθήρες με μια λαβίδα. Η επιτυχία της τεχνικής διασταύρωσης εξαρτάται από την βιωσιμότητα της γύρης, τη διαθεσιμότητα αυτής, όταν το στίγμα είναι υποδεικτικό και τη διάρκεια υποδεκτικότητας του στίγματος (Ε.Γουλή-Βαβδινούδη και Μ.Κούτσικα-Σωτηρίου, 2001).

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Buckland El. M., 1999, Medical Attributes of Valeriana officinalis-Valerian, Wilkes University, Wilker-Barre, D.A.  
 Γεννάδιος Π.Γ., 1914. Λεξικό φυτολογικό. Αθήνα, σελ 491, 691-692  
 Γκανιάτσας Κ. 1967. Συστηματική βοτανική, Μέρος Β', σελ. 853-856  
 Γουλή-Βαβδινούδη Ε. και Μ.Κούτσικα-Σωτηρίου, 2001, Εγχειρίδιο στην τεχνική των διασταυρώσεων στα καλλιεργούμενα φυτά.  
 Grieve M. F.R.H.S., 1973. A modern herbal. Tiger books international, London, 824-829 p.  
 Darlington C.D. FRS and E.K. Janaki, Ammal DSc, 1945. Chromosome atlas of cultivated plants, London, 218 p.  
 Διαπούλης Χ.Α., 1949. Ελληνική χλωρίδα. Υπουργείο Γεωργίας, Αθήνα, σελ. 206, 208  
 Ιβαντσένκο Β.Α., Βότανα και θεραπείες, Εκδόσεις Κ. Καπόπουλος., Σελ 150-152  
 Καββαδάς Σ.Δ., 1956. Εικονογραφημένο βοτανικό λεξικό, Τόμος Β', Αθήνα, σελ. 730-731  
 Μαρσέλλος Μ., Μαρσέλλος Σωτ., 1981. Οδηγός των φαρμακευτικών φυτών. Αθήνα, σελ 199, 319-320

- Messmer M., Berger K., U. Simmers, Parler N., Hasler C., Schaffner W., Buter B., (2001) Breeding of *Valeriana officinalis* for improved biological activity.
- Μπαζαϊός Κώστας, 1982-2003. 100 βότανα 2000 θεραπείες. Εκδόσεις Διατροφή & Υγεία, σελ. 131-133
- Richards A.J., 1986. Plant breeding system. Second edition 1997, 157 p.
- Simon J.E., A.F. Chadwick and L.E. Craker. 1984. Herbs: An Indexed Bibliography. 1971-1980. The Scientific Literature on Selected Herbs, and Aromatic and Medicinal Plants of the Temperature Zone. Archon Books, 770 p.
- Σκούμπης Β., 1998. Αρωματικά, φαρμακευτικά και μελισσοτροφικά φυτά της Ελλάδας. Αθήνα, Εκδόσεις Αγρότυπος, σελ. 50
- Σουλελής Χρ., 2000, Φαρμακογνωσία, Εκδόσεις Πήγασσος, Θεσ/νικη, σελ 353-356
- Fedorov AA. 1969. Chromosome numbers of flowering plants. Leningrad: Academy of Sciences USSR
- Φωκάς Γ.Κ., 1984. Μαθήματα φαρμακογνωσίας. Δεύτερη έκδοση, Θεσ/νικη, σελ. 528-533
- Watson L., Dallwitz M.J., 1992. The families of flowering plants. December 2000. <http://biodiversity.uno.edu/delta/>
- Weiss Hanna et al, 2002. Karyology of plants species endemic to Ullung Island (Korea) and selected relatives in peninsular Korea and Japan. Bot. Journal of the Linnean Society, 138: 93-105

## ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΕΩΝ ΣΤΗΝ *ATROPA BELLADONNA* L.

Τσιροπούλου Χ., Γουλή-Βαβδινούδη Ε. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου

Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ. 54124 Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η *Atropa belladonna* ( $2n=6x=72$ ) είναι γνωστή από την αρχαιότητα ως αναλγητικό. Ανήκει στην οικογένεια *Solanaceae* και απαντάται σε δάση και ξέφωτα σε ασβεστούχα εδάφη στα περισσότερα μέρη της Ευρώπης και της Δ. Ασίας. Η παρούσα βιβλιογραφική εργασία έχει σκοπό την βοτανική περιγραφή του φυτού, τις φαρμακευτικές ιδιότητες και τη γενετική βελτίωσή του. Είναι πολυετής πόα με άνθη πορφυροκαστανά, μασχάλια, μονήρη ή ανά δύο. Η στεφάνη είναι κωδωνοειδής με 5 βραχείς λοβούς. Οι στήμονες είναι 5 άνισοι και έγκλειστοι εντός της στεφάνης. Ο πολλαπλασιασμός του φυτού γίνεται εμπορικά κυρίως με σπόρους, ενώ τα χρήσιμα μέρη του είναι τα φύλλα και οι ρίζες. Η κύρια δραστική ουσία του φυτού που χρησιμοποιείται είναι η ατροπίνη, η οποία σχηματίζεται ύστερα από ραιεμοποίηση της υοσκυαμίνης (κύριο αλκαλοειδές της δρόγης). Τα αλκαλοειδή περιέχονται σε συγκέντρωση 0,6% στις ρίζες και 0,4% στα φύλλα. Χάρη στις ουσίες αυτές το φυτό έχει μυδριατική, σπασμολυτική και καταπραϊντική δράση. Σε μεγάλες δόσεις έχει δηλητηριώδη δράση, γι' αυτό θα πρέπει πάντα να χορηγείται ύστερα από ιατρικές οδηγίες. Με σκοπό τη βελτίωση επιλεγμένων οικοτύπων ως προς την περιεκτικότητά τους σε αλκαλοειδή μπορεί να εφαρμοστεί ελεγχόμενη διασταύρωση ύστερα από επιλογή των κατάλληλων φυτών - γονέων. Λόγω του μεγάλου μεγέθους του άνθους οι τεχνικές αποστημόνωσης και επικονίασης μπορούν να διεξαχθούν με ευκολία. Έτσι με κατάλληλους βελτιωτικούς χειρισμούς η *Atropa belladonna* τόσο ως προς την περιεκτικότητα σε αλκαλοειδή όσο και ως προς κάποια επιθυμητά αγρονομικά χαρακτηριστικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μια εναλλακτική καλλιέργεια και να αξιοποιηθούν ασβεστούχα εδάφη.

**Άλλες ονομασίες:** Μπελλαντόνα, Ευθαλεία, Belladonna, Deadly Nightshade, Devil's Herb, Devil's Cheries, Banewort, Dwale, Tollkirsche, Divale, Great Morel, Dwayberry, Naughty Man's Cheries

**Λέξεις κλειδιά:** *Atropa belladonna*, αλκαλοειδή, ελεγχόμενη διασταύρωση

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο Λινναίος ονόμασε το φυτό από την Άτροπο, μία από τις τρεις μοίρες, που έκοβε το νήμα της ζωής (άτροπος = άκαμπος), που υποδηλώνει ότι το φυτό είναι δηλητηριώδες. Η λέξη Belladonna έχει ιταλική προέλευση και σημαίνει ωραία κυρία. Η ονομασία αυτή αποδόθηκε στο φυτό λόγω της ιδιότητας της περιεχόμενης ουσίας, ατροπίνης, να διαστέλλει την κόρη του οφθαλμού.

Η μπελλαντόνα είναι γνωστή από τους αρχαίους χρόνους. Ο στύχων του Θεόφραστου πιθανόν αναφέρεται στο είδος αυτό. Στην αρχαιότητα η μπελλαντόνα χρησιμοποιούνταν και για την θεραπεία διαφόρων ασθενειών κι όχι μόνο ως ναρκωτικό ή αναλγητικό.

Η χρήση της συνεχίστηκε τόσο στους ρωμαϊκούς χρόνους όσο και στο Μεσαίωνα. Κατά τη ρωμαϊκή εποχή ξεκίνησε μία πλούσια φαρμακοποιία η οποία επηρεάστηκε από την ιατρική της αρχαίας Ελλάδας και συνεχίστηκε και κατά την βυζαντινή εποχή. Αυτή η εξέλιξη επέτρεψε την χρήση φαρμακευτικών φυτών με καταπραϊντικές ιδιότητες σε πιο συγκεκριμένες δόσεις μια και είχαν παρατηρηθεί οι θανατηφόρες ιδιότητές τους. Παρ' όλο που η δράση των διαφόρων φυτών ποίκιλλε πάρα πολύ, εξαρτώμενη, για παράδειγμα, από τις κλιματικές συνθήκες στις οποίες αναπτυσσόταν το φυτό, δεν υπήρχε μέθοδος για να μετρηθεί η δόση που δινόταν πραγματικά και γι' αυτό τα αποτελέσματα ήταν απρόβλεπτα. Έτσι μέχρι την βυζαντινή εποχή, τα περισσότερα παρασκευάσματα χρησιμοποιούνταν αναλλοίωτα ή σε μίγματα με άλλα φυτά αλλά σε συγκεκριμένες ποσότητες (Ramoutsaki et al, 2002).

Το φυτό ήταν γνωστό σε διάφορες φυλές αλλά η πρώτη αναφορά γι' αυτό είναι το 1504, ενώ έγινε αντικείμενο μελέτης κατά τη διάρκεια του 18<sup>ου</sup> αιώνα. Οι μυδριατικές του ικανότητες έγιναν γνωστές το 1802, αλλά οι αναλγητικές του ιδιότητες δεν έγιναν γνωστές πριν το 1850 (Σουλελής, 2000). Στην παρούσα βιβλιογραφική εργασία θα αναφερθούν τα βοτανικά χαρακτηριστικά, η βιολογία αναπαραγωγής, οι φαρμακευτικές χρήσεις και η γενετική βελτίωση του φυτού.

### ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ - ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ

Γένος δικοτυλήδονο της οικογένειας των Σολανωδών (*Solanaceae*) το οποίο πιθανόν προήλθαν από την Ευρώπη και Ασία και καλλιεργείται στην Αγγλία, Γερμανία, Ινδίες και Η.Π.Α. Η *Atropa belladonna* έχει χρωμοσωμικό αριθμό  $2n=6x=72$  (Darlington, 1945). Η οικογένεια *Solanaceae* περιλαμβάνει φυτά ποώδη και

Πρακτικά 10<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ.

θαμνώδη. Όλα τα φυτά της οικογένειας είναι περισσότερο ή λιγότερο δηλητηριώδη, είναι διαδεδομένα σε όλη σχεδόν τη γη, αφθονούν όμως στις θερμές και τροπικές χώρες της Κ. και Ν. Αμερικής και είναι χρήσιμα είτε ως εδάδιμα (τομάτα, πατάτα, μελιτζάνα) είτε ως φαρμακευτικά (μπελλαντόνα, υοσκύαμος, μανδραγόρας) είτε και ως διακοσμητικά.

Η μπελλαντόνα βρίσκεται σε δάση και ξέφωτα σε ασβεστόχρα εδάφη. Στην Ελλάδα απαντάται στη Στερεά Ελλάδα, Μακεδονία, Θράκη και Θεσσαλία. Ευδοκίμει σε ημιορεινές περιοχές και σε χωράφια φτωχά, μέτριας γονιμότητας, ξηρικά (Σκρουμπής, 1998). Έχει δείχθει ότι φυτά που αναπτύσσονται υπό ξηρότερες συνθήκες έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε αλκαλοειδή. Ανθίζει από Μάιο ως Αύγουστο (Σκρουμπής, 1998, Schauenberg and Ferdinand, 1981) ενώ οι καρποί ωριμάζουν το Σεπτέμβριο.

### ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Πολυετής πόα ύψους 0,30-1,50cm (Εικόνα 4), πράσινη ή ερυθροπή χνουδατή και ιώδης, δύσοσμη, με γογγυλώδη ρίζα. Τα φύλλα είναι ωοειδή, οξύληκτα, ακέραια ή ασαφώς κολπωτά, έμμισχα και κατ' εναλλαγή. Τα ανώτερα φύλλα είναι ανά δύο άνισα. Τα άνθη είναι πορφυροκαστανά, μασχαλιαία, μονήρη ή ανά δύο και βρίσκονται επί χνουδατού κοντού ποδίσκου. Η στεφάνη έχει μήκος 20-30 mm, είναι κωδωνοειδής με 5 βραχείς λοβούς. Οι στήμονες είναι 5 άνισοι και έγκλειστοι εντός της στεφάνης (Εικόνες 1, 3). Ο καρπός είναι δίχωρη σφαιρική ράγα μεγέθους μικρού κερασιού, αρχικά πράσινη, στη συνέχεια ερυθροπή και κατά την ωρίμανση μελανή, λαμπερή (Εικόνα 2, 3). Οι ρίζες είναι λευκές, λεπτές και σαρκώδεις, αρκετά διακλαδισμένες. Τα πιο σημαντικά γένη της οικογένειας είναι αυτογονιμοποιούμενα, λόγω της ιδιαίτερης δομής του άνθους είτε λόγω σύγχρονης ωρίμανσης, με μικρό ποσοστό σταυρογονιμοποίησης, η οποία γίνεται με έντομα, όπως συμβαίνει και στην περίπτωση που υπάρχει αυτοασυμβίβαστο.



Εικόνα 4. Φυτό *Atropa belladonna* με άνθη και ώριμους καρπούς

### ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ-ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Πολλαπλασιάζεται κυρίως με σπόρους ή με κομμάτια ριζών. Οι σπόροι σπέρνονται σε σκορείο και η μεταφύτευση γίνεται το φθινόπωρο ή την άνοιξη σε αποστάσεις 40-50 επί 60-70 cm (Σκρουμπής, 1998). Για τα πρώτα 3-5 χρόνια συλλέγονται μόνο τα φύλλα και οι νεαροί βλαστοί. Μετά από 3-5 χρόνια μπορούν να συλλεχθούν και οι ρίζες. Ξηραίνονται στον ήλιο ή γύρω στους 60°C. Ο χρόνος που απαιτείται για το φύτρωμα των σπόρων είναι 4-6 εβδομάδες και ο ρυθμός φυτρώματος είναι σχεδόν πάντα λιγότερο από 70%. Επειδή οι σπόροι της *Atropa belladonna* φυτρώνουν αργά και ακανόνιστα το σκαριφικάρισμα μπορεί να βοηθήσει στο φύτρωμα αλλά μπορούν να χρησιμοποιηθούν και οι παρακάτω τεχνικές (Genova *et al.*, 1997):

- 1 Έκθεση σε μεταβλητές θερμοκρασίες (6h στους 30°C και 18h στους 15°C) προκαλεί σημαντικό ποσοστό φυτρώματος των σπόρων (82,5%) και η περίοδος φυτρώματος συντομεύεται κατά 10 ημέρες.

2 Έκθεση για 24h σε γιβερριλικό οξύ συγκέντρωσης 1mg/l προκαλεί φύτρωμα των σπόρων κατά 89,5%.

3 Σπόροι που έχουν αποθηκευθεί για ένα χρόνο έχουν υψηλότερο ποσοστό φυτρώματος σε σύγκριση με φρέσκους αν εμβαπτιστούν σε γιβερριλικό οξύ συγκέντρωσης 1mg/l.

Οι σπόροι και τα νεαρά φυτά χρειάζονται αρκετό νερό για να επιζήσουν. Σε έρευνα που έχει γίνει έχει βρεθεί ότι η μέγιστη απόδοση σε αλκαλοειδή του τροπανίου (υοσκουαμίνη: 54mg/φυτό και σκοπολαμίνη: 7mg/φυτό) επιτεύχθηκε σε φυτά που αναπτύχθηκαν υπό άριστες συνθήκες άρδευσης που συνοδεύονταν και από συγκεκριμένη ποσότητα αζωτούχου λίπανσης (Baricevic *et al.*, 1999).

### ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ – ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

Τα χρησιμοποιούμενα μέρη του φυτού είναι τα φύλλα και οι ρίζες (Schauenberg and Ferdinand, 1981). Τα φύλλα συλλέγονται κατά τη διάρκεια της άνθησης, δυο φορές τον χρόνο ενώ οι ρίζες συλλέγονται το φθινόπωρο (Φωκάς, 1984). Η δρόγη σαν δραστικά συστατικά περιέχει αλκαλοειδή. Τα αλκαλοειδή της θεωρούνται σαν παράγωγα της αλκαμίνης τροπαν-3-όλης. Με την εισαγωγή μιας υδροξυλομάδας στον δακτύλιο του τροπανίου (σύνθετος πυρήνας πυριδίνης και πυρρολίου) σχηματίζεται κέντρο ψευδοασυμμετρίας. Για το λόγο αυτό από την τροπαν-3-όλη είναι δυνατά δύο γεωμετρικώς ισομερή η τροπίνη και η ψευδοτροπίνη. Με εξαίρεση την τιγλοϊδίνη, που προέρχεται από την ψευδοτροπίνη, όλα τα αλκαλοειδή της οικογένειας *Solanaceae* είναι εστέρες της τροπίνης και γενικά καλούνται τροπεΐνες.

Κύριο αλκαλοειδές της δρόγης είναι η L-υοσκουαμίνη. Η περιεκτικότητα σε υοσκουαμίνη ανέρχεται μέχρι 90% της περιεκτικότητας του συνόλου των αλκαλοειδών. Αυτή είναι εστέρας της τροπίνης μετά του τροπικού οξέος (α-φαίνυλο-β-προπιονικό οξύ).

Η ατροπίνη δε φαίνεται να υπάρχει στα ζωντανά υγιή φυτά. Αυτή σχηματίζεται κατά την κατεργασία του φυτικού υλικού σε αλκαλικό περιβάλλον. Η υοσκουαμίνη κατά την θέρμανση σε υψηλή θερμοκρασία (περίπου 110°C), πιθανόν επίσης και κατά τη ζύμωση και εναποθήκευση της δρόγης, ρακεμοποιείται και σχηματίζεται η ατροπίνη. Η ατροπίνη βιομηχανικώς παίρνεται με ρακεμοποίηση της υοσκουαμίνης. Σήμερα η ατροπίνη παρασκευάζεται και με τη σύνθεση.

Εκτός της υοσκουαμίνης, στα φύλλα περιέχεται το αλκαλοειδές σκοπολαμίνη ή υοσκίνη. Από τα δευτερεύοντα αλκαλοειδή που υπάρχουν στη δρόγη αναφέρονται η αποατροπίνη (ατροπαμίνη), η βελλαδονίνη, η κουσκυγγίνη και η ελλαραδίνη. Από τη δρόγη απομονώθηκαν επίσης και διάφορες άλλες αζωτούχες βάσεις όπως είναι η πυριδίνη, η N-μέθυλοπυρρολιδίνη, η N-μεθυλοπυρολίνη, προϊόντα διάσπασης της υοσκουαμίνης και σκοπολαμίνης (τροπίνη και σκολοπίνη), η χολίνη (Φωκάς, 1984).

Τα αλκαλοειδή μπορούν να κατανεμηθούν στα διάφορα μέρη του φυτού ως εξής: 0,6% στις ρίζες, 0,05% στους βλαστούς, 0,4% στα φύλλα, 0,19% στους άωρους καρπούς, 0,21% στους ώριμους καρπούς και 0,33% στα σπέρματα (Σουλελές, 2000).

### ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ

Η άτροπος είναι εξαιρετικά δηλητηριώδης. Δέκα ως δεκαπέντε ράγες είναι η θανατηφόρα δόση για τον άνθρωπο. Παρ' όλο που είναι θανατηφόρα για τον άνθρωπο και τα σαρκοφάγα ζώα οι ίδιες δόσεις έχουν σχετικά μικρή επίδραση στα πτηνά και τα φυτοφάγα ζώα. Η τοξικότητα του φυτού οφείλεται στη μεγάλη περιεκτικότητά του σε ατροπίνη και σε μικρές ποσότητες υοσκουαμίνης και μελλαντονίνης, ουσίες που είναι όμως πολύτιμες από ιατρικής άποψης ως φαρμακευτικές. Χάρη στις ουσίες αυτές το φυτό έχει μυδριατική, σπασμολυτική και καταπρεϊντική δράση.

Η ατροπίνη, ιδίως υπό την θειική της μορφή είναι πολύτιμη φαρμακευτική ουσία για την οφθαλμιατρική επειδή παρέχει την ευκολία βυθοσκοπήσεως του οφθαλμού, χάρη στην ιδιότητά της να προκαλεί μυδρίαση, δηλαδή διέγερση της κόρης του οφθαλμού. Η ουσία αυτή εξασκεί και ευεργετική επίδραση επί διαφόρων μορφών νευρώσεων και ιδίως του πεπτικού συστήματος, προλαμβάνει επίσης το αίσθημα της ναυτίας εάν ληφθεί με τη μορφή διαφόρων σκευασμάτων μελλαντόνας σε συνδυασμό με άλλες ουσίες. Έχει βρεθεί ότι έχει ανοσοπροστατευτικές και γαστροπροστατευτικές ιδιότητες, οι οποίες μπορούν να συσχετισθούν με τις νευροτροπικές και αγχολυτικές τους επιδράσεις (Bousta *et al.*, 2001).

Η ατροπίνη χορηγείται και ως ασφαλές αντίδοτο κατά των δηλητηριάσεων από δηλητηριώδημανιτάρια καθώς και από τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα (παραθειό, μαλαθειό, διαζινόν κ.α.), διασπώντας την συσσωρευόμενη στο αίμα ακετυλοχολίνη (πτώση της χολινεστεράσης του αίματος κάτω των φυσιολογικών ορίων και επαναφορά αυτής στα κανονικά όρια).

Η σκοπολαμίνη είναι αντιχολινεργικό φάρμακο. Η κεντρική δράση της διαφέρει της δράσης της ατροπίνης, διότι η μεν σκοπολαμίνη δρα κατευναστικά, ενώ η ατροπίνη διεγερτικά. Χρησιμοποιείται κυρίως σαν αντισπασμωδικό σε κολικούς των νεφρών, της χολής και των ουροφόρων οδών (Σουλελής, 2000).

Η υοσκυαμίνη και η ατροπίνη εξασκούν την ίδια επίδραση επιφέροντας σε μεγάλες δόσεις διέγερση του κεντρικού νευρικού συστήματος μέχρι μανίας. Την διέγερση διαδέχεται, μετά την εξαφάνιση των διεγερτικών φαινομένων, ναρκωτική παράλυση και μάλιστα τόσο πιο γρήγορα όσο πιο μεγάλη είναι η δόση, η οποία οδηγεί σε υπνηλία, βαθύ ύπνο, πτώση της θερμοκρασίας, κατάρρευση και θανατηφόρο αναπνευστική παράλυση (Γκανιάτσας, 1967).

Λόγω της δηλητηριώδους δράσης της η μελλαντόνα πρέπει πάντα να χορηγείται μόνο με ιατρικές οδηγίες.

## ΓΕΝΕΤΙΚΗ - ΒΕΛΤΙΩΣΗ

Στη βιοσυνθετική οδό των αλκαλοειδών του τροπανίου συμμετέχουν τα ένζυμα N-μεθυλοτρανσφεράση της πουτρεσκίνης (putrescine N-methyltransferase, PMT), οξειδάση της διαμίνης (diamine oxidase), αναγωγάση I της τροπινόνης (tropinone reductase I, TR-I) και 6β-υδροξυλάση της υοσκυαμίνης (hyoscyamine 6β-hydroxylase, H6H). Το γονίδιο που κωδικοποιεί την N-μεθυλοτρανσφεράση της πουτρεσκίνης, η οποία καταλύει S-αδενοσυλομεθειονίνη-εξαρτώμενη N-μεθυλίωση της πουτρεσκίνης στο πρώτο στάδιο της βιοσυνθετικής οδού των αλκαλοειδών του τροπανίου, έχει απομονωθεί από την *Atropa belladonna* (Suzuki et al., 1999). Επίσης έχει απομονωθεί και το γονίδιο που κωδικοποιεί την 6β-υδροξυλάση της υοσκυαμίνης, η οποία μετατρέπει την υοσκυαμίνη σε σκοπολαμίνη (Suzuki et al., 1999).

Επειδή η αναγέννηση γόνιμων φυτών από καλλιέργειες ιστών είναι πολύ εύκολη για το φυτό *Atropa belladonna*, το φυτό έχει χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή σωματικών υβριδίων (Bajaj and Samola, 1991) και γενετικά τροποποιημένων φυτών με αντοχή στα ζιζανιοκτόνα (Saito et al., 1992) ή με βελτιωμένη σύνθεση αλκαλοειδών. Έτσι σε γενετικά τροποποιημένα φυτά, στα οποία έγινε εισαγωγή του γονιδίου της 6β-υδροξυλάσης της υοσκυαμίνης από το φυτό *Hyoscyamus niger*, η περιεκτικότητα σε αλκαλοειδή του φύλλου και του βλαστού ήταν σχεδόν αποκλειστικά σκοπολαμίνη. Τέτοια φυτά μπορούν να αποδειχθούν χρήσιμα στη βελτίωση του είδους με σκοπό την παραγωγή φυτών με ποσοτικώς και ποιοτικώς βελτιωμένες φαρμακευτικές ιδιότητες (Yun et al., 1992). Σε γενετικά τροποποιημένα φυτά όμως, στα οποία υπερεκφράστηκε το γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο PMT, η περιεκτικότητα σε αλκαλοειδή ήταν ποσοτικώς και ποιοτικώς παρόμοια με εκείνη των κανονικών φυτών (Sato et al., 2001).

Με σκοπό την βελτίωση των φυτών του είδους ως προς την περιεκτικότητά τους σε αλκαλοειδή, κυρίως υοσκυαμίνη και σκοπολαμίνη εφαρμόζονται οι ελεγχόμενες διασταυρώσεις. Αρχικά πρέπει να επιλεγθούν οι κατάλληλοι γονείς, ανάμεσα στους διάφορους οικότυπους, με βάση την περιεκτικότητά τους σε αλκαλοειδή και κάποια επιθυμητά αγρονομικά χαρακτηριστικά ενδιαφέρει κυρίως η προσαρμοστικότητά τους στις ελληνικές συνθήκες καλλιέργειας. Δεν υπάρχουν δεδομένα για τους ελληνικούς οικότυπους. Η ανάλυσή των ιστών ως προς την περιεκτικότητά τους σε αλκαλοειδή μπορεί να γίνει με HPLC (υγρή χρωματογραφία υψηλής ανάλυσης) και βιοτεχνολογικές μεθόδους (Hank et al., 2004). Τα στάδια που ακολουθούνται για την εφαρμογή μιας ελεγχόμενης διασταύρωσης είναι τα εξής:

1. **Αποστημόνωση:** Πριν την αποστημόνωση θα πρέπει να απομακρυνθούν τα ανοικτά άνθη. Ύστερα από την αφαίρεση και των 5 στημόνων καλύπτεται το άνθος με σακουλάκι.
2. **Συλλογή γύρης:** Για να εξασφαλιστεί η καθαρότητα της γύρης μπορεί να καλυφθούν και τα άνθη του αρσενικού γονέα. Όταν το στίγμα είναι υποδεκτικό μπορούν να συλλεγούν είτε ολόκληρα άνθη είτε αφού συλλεγούν τα άνθη συγκεντρώνεται η γύρη σε σκούρο δοχείο πιέζοντας τους ανθήρες.
3. **Επικονίαση:** Μπορεί να γίνει την επόμενη ημέρα αφού αφαιρεθεί το σακουλάκι με τους εξής τρόπους:
  - 1<sup>ος</sup> τρόπος: Το αρσενικό άνθος τινάζεται πάνω στο θηλυκό
  - 2<sup>ος</sup> τρόπος: Με την άκρη ενός μαχαιριού μεταφέρεται η γύρη από πρόσφατα ανοικτούς ανθήρες στο στίγμα του αποστημονωμένου άνθους.

Μετά την επικονίαση με οποιονδήποτε τρόπο καλύπτεται το άνθος και προσδένεται ετικέτα με τα στοιχεία της διασταύρωσης και την ημερομηνία πραγματοποίησής της.

Σε βελτιωτικά προγράμματα που επιδιώκεται η διατήρηση της καθαρότητας μιας ποικιλίας, τα άνθη καλύπτονται για να αποφευχθεί η τυχαία διασταύρωση. Τα ανοιχτά και ήδη γονιμοποιημένα άνθη πριν την κάλυψη των ανθέων θα πρέπει να αφαιρούνται.

Η επιτυχία των διασταυρώσεων εξαρτάται από την διάρκεια υποδεκτικότητας του στίγματος, τη διάρκεια βιωσιμότητας της γύρης και την διαθεσιμότητάς της. Η γύρη των περισσότερων ειδών της οικογένειας *Solanaceae* διατηρείται στους 0-5°C για τουλάχιστον 1 μήνα.

Η θερμοκρασία, η ηλιοφάνεια και η σχετική υγρασία κατά την ημέρα της επικονίασης την επηρεάζουν σημαντικά. Κρύος και συννεφιασμένος καιρός εμποδίζουν συνήθως την παραγωγή της γύρης. Ακόμη και αν ελευθερωθεί γύρη με συννεφιασμένες ημέρες έχει βρεθεί ότι αυτή βλαστάνει καλύτερα όταν υπάρχει ηλιοφάνεια (Ε. Γουλή-Βαβδινούδη και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου, 2001).

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αλκαλοειδή του τροπανίου, ιδίως η ατροπίνη και η σκοπολαμίνη, που παραλαμβάνονται από το φυτό *Atropa belladonna* χρησιμοποιούνται ως φαρμακευτικές ουσίες λόγω της μυδριατικής, σπασμολυτικής και καταπραυντικής δράσης τους. Με σκοπό την βελτίωση των φυτών του είδους ως προς την περιεκτικότητά τους στις ουσίες αυτές μπορούν να εφαρμοστούν οι ελεγχόμενες διασταυρώσεις, οι οποίες γίνονται με ευκολία δεδομένου του σχετικά μεγάλου μεγέθους του άνθους του φυτού. Ως είδος της οικογένειας *Solanaceae* είναι κύρια αυτογονιμοποιούμενο, ενδέχεται να παρουσιάζει υψηλή ετέρωση, γεγονός το οποίο μπορεί να αξιοποιηθεί με τη διασταύρωση οικοτύπων και τη δημιουργία νέων γενοτύπων για καλλιέργεια. Με τη δημιουργία γενοτύπων προσαρμοσμένων στις ελληνικές συνθήκες καλλιέργειας μπορούν να αξιοποιηθούν φτωγά και ασβεστούχα εδάφη.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Γκανιάτσας, Κ., 1967, Συστηματική Βοτανική, Τόμος Β'. Θεσσαλονίκη, σελ. 805-807, 817-820.
- Γουλή-Βαβδινούδη, Ε., Κούτσικα-Σωτηρίου, Μ., 2001, Εγχειρίδιο στην τεχνική των διασταυρώσεων στα καλλιεργούμενα φυτά. Αριστοτελείο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, σελ. 1-13, 52-57, 119-134.
- Καββαδάς, Δ. Σ., Βικονογραφημένον Βοτανικόν – Φυτολογικόν Λεξικόν, Τόμος Β', Αθήνα, σελ. 669-670
- Σκρόμπη, Ββ, 1998, Αρωματικά, Φαρμακευτικά και Μελισσοτροφικά Φυτά της Ελλάδας. Αθήνα, Εκδόσεις Αγροτύπος, σελ. 174-175.
- Σουλιάς, Χ., 2000, Φαρμακογνωσία, Θεσσαλονίκη, σελ. 479-485.
- Φωκός, Γ. Κ., 1984, Μαθήματα Φαρμακογνωσίας, δεύτερη έκδοση βελτιωμένη. Θεσσαλονίκη, σελ. 453-458.
- Bajaj, Y.P.S and Simola, L.K., 1991. *Atropa belladonna* L.: *in vitro* culture, regeneration of plants, cytopreservation, and the production of tropane alkaloids. Biotechnology in Agriculture and Forestry 15. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, pp.1-23.
- Barivacic, D., Umek, A., Kreft, S., Maticic, B., Zupancic, A., 1999. Effect of water stress and nitrogen fertilization on the content of hyoscyamine and scopolamine in the roots of deadly nightshade (*Atropa belladonna*), Environmental and Experimental Botany 42: Issue 1, pp.17-24.
- Bousta, D., Soulaimani, R., Jarmouni, I., Belon, P., Falla, J., Froment, N., Younos, C., 2001. Neurotropic, immunological and gastric effects of low doses of *Atropa belladonna* L., *Gelsemium sempervirens* L. and *Poumon histamine* in stressed mice, Journal of Ethnopharmacology, 74: 205-215.
- Darlington, C. D., Janaki Ammal, E. K., 1945, Chromosome Atlas of Cultivated Plants-London; p. 257.
- Flóck, H. Τα φαρμακευτικά φυτά και οι χρήσεις τους, Μετάφραση: Δημητρίου Α., Θεσσαλονίκη, σελ. 145
- Genova, E., Gergana, K., Yundina, B., 1997. Study on the Germination of *Atropa belladonna* L. Seeds Bulg. J. Plant Physiology 23(1-2), 61-66.
- Grieve, M., A Modern Herbal, London, pp. 583-589.
- Hank, H., Szpke, I., Tóth, K., László, I., Kursinszki, L., 2004. Investigation of Tropane Alkaloids in Genetically Transformed *Atropa belladonna* L. Cultures, Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH.
- Ramoutsaki, I. A., Askitopoulou, H., Konsolaki, E., 2002., Pain Relief and sedation in Roman Byzantine texts: *Mandragoras officinarum*, *Hyoscyamos niger* and *Atropa belladonna*, International Congress Series 1242: 43-50.
- Sato, F., Hashimoto, T., Hachiya, A., Tamura, K., Choi, K., Morishige, T., Fujimoto, H., Yamada, Y., 2001, Metabolic engineering of plant alkaloid biosynthesis, PNAS 98, no.1:367-372.
- Saito, K., Yamazaki, M., Anzai, H., Yoneyama, K. and Murakoshi, I., 1992. Transgenic herbicide-resistant *Atropa belladonna* using an Ri vector and inheritance of the transgenic plant. Plant Cell. Physiol. 11:219-224.
- Schauenberg, P., Ferdinand, P., 1981, Οδηγός φαρμακευτικών φυτών. Αθήνα, σελ. 18-19.
- Suzuki, K., Yun, D., Chen, X., Yamada, Y., Hashimoto, T., 1999, An *Atropa belladonna* hyoscyamine 6β-hydroxylase gene is differentially expressed in the root pericycle and anthers, Plant Molecular Biology 40:141-152.
- Suzuki, K., Yamada, Y., Hashimoto, T., 1999, Expression of *Atropa belladonna* putrescine N-methyltransferase gene in root pericycle, Plant Cell Physiology 40(3):289-297.
- Yun, D., Hashimoto, T., Yamada, Y., 1992, Metabolic engineering of medicinal plants: Transgenic *Atropa belladonna* with an improved alkaloid composition, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:11799-11803.

## ΥΠΕΡΙΚΟ ΤΟ ΔΙΑΤΡΗΤΟ: ΕΝΑ ΑΠΟΜΙΚΤΙΚΟ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΟ ΦΥΤΟ

Αυδίκος Η., Γουλή-Βαβδινούδη Ε. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου

Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας  
Α.Π.Θ. 54124 Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το υπερικό το διάτρητο (*Hypericum perforatum* L.) είναι ένα πολύμορφο είδος της οικογένειας των δικότυλων *Hypericaceae* και της τάξης *Parietales*. Σχηματίζει κυρίως σπόρους με απόμιξη. Το φυτό συγχομίζεται στη διάρκεια της άνθησης. Ενδιαφέροντα συστατικά της δρόγης είναι το αιθέριο έλαιο, σε ποσότητα 0,05 έως 0,2%, καθώς και οι χρωστικές υπερικίνη και ψευδοϋπερικίνη, που βρίσκονται στην ίδια αναλογία. Το κύριο συστατικό του υπερικού που χρησιμοποιείται στην φαρμακευτική είναι η υπερικίνη. Για την παραγωγή των επιθυμητών ουσιών εκτός από τη συγκομιδή φυτών σε άγρια κατάσταση, γίνεται και καλλιέργεια στο χωράφι, στο θερμοκήπιο καθώς και ιστοκαλλιέργεια. Έχει βρεθεί πως υπεύθυνο για την κωδικοποίηση της βιοσύνθεσής της από την ουσία εμοδίνη, είναι ένα γονίδιο που ονομάζεται Hyr-1. Οι θεραπευτικές του χρήσεις είναι η επούλωση πληγών, οι αντιφλογιστικές, βακτηριοκτόνες, αντιτυρετικές, στυπτικές, αιμοκαθαρτικές, ελμινθιοκτόνες ιδιότητές του, και η δράση του ως ηρεμιστικό. Σημαντική έρευνα γίνεται στην κατεύθυνση της καταπολέμησης του συνδρόμου επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (έιτζ) και στη θεραπεία του καρκίνου.

**Κοινές ονομασίες:** Υπερικό το διάτρητο, Βότανο του Προδρόμου, Βαλσαμόχορτο, Βαλσαμάκι, Περίκη, Λειχνόχορτο, Ψειροβότανο, Χελονόχορτο, Σπαθόχορτο, Κοψοβότανο, Κουκτσούδι.

### Ιστορικά στοιχεία

Το υπερικό (*Hypericum perforatum* L.) χρησιμοποιείται τόσο πλατιά, ώστε ο λαός το ονόμασε «βότανο για ενενήντα ενιά ασθένειες». Η προέλευση του ονόματος 'υπερικό' είναι ελληνική και προέρχεται από τις λέξεις υπέρ και εικόνα. Χρησιμοποιείται στην βοτανολογική για περισσότερα από 2000 χρόνια, κυρίως γιατί επιταχύνει τη επούλωση των τραυμάτων. Οι πρώτοι χριστιανοί ονόμασαν το φυτό «Βότανο του Προδρόμου» προς τιμήν του Ιωάννη του βαπτιστή. Θεωρούσαν ότι τα μαυροκόκινα στίγματα στα πέταλα αντιπροσώπευαν το αίμα από τον αποκεφαλισμό του Ιωάννη και τα διαφανή στίγματα στα φύλλα, τα δάκρυα των πιστών για τον θάνατό του. Αναφέρεται πως πήρε το όνομα από τους ιπότες του Αγίου Ιωάννου της Ιερουσαλήμ που θέραπευαν μ' αυτό πληγές στις μάχες των σταυροφοριών. Τον πρώτο αιώνα, ο ρωμαίος Πλίνιος χορηγούσε υπερικό σε κρασί ως θεραπεία για τα δαγκώματα δηλητηριωδών φιδιών. Ο Ιπποκράτης κι ο Διοσκουρίδης, κατά τον πρώτο αιώνα, το παρασκεύαζαν και το χρησιμοποιούσαν για την αποθεραπεία διαφόρων ασθενών τους. Οι αρχαίοι Έλληνες και οι Ρωμαίοι πίστευαν ότι το υπερικό προστάτευε από τα μάγια και ότι ξόρκιζε το κακό πνεύμα και όντας κίτρινο, συνδέονταν με τη «χολερική» διάθεση και το έδιναν για τον ίκτερο και την υστερία.



Εικ. 1. Α: Φύλλο υπερικού, Β: Άνθος, Γ: Επικονίαση με μέλισσα, Δ: Ταξικαρπία. (Αυδίκος Η., 2004)

### Ταξινόμηση-Οικολογία

Το υπερικό το διάτρητο είναι ένα πολύμορφο είδος της οικογένειας των δικότυλων *Hypericaceae* ή *Guttiferae*, της τάξης των *Parietales*. Το γένος *Hypericum* αποτελείται από περισσότερα των 350 ειδών (George 1992). Είναι ιθαγενές φυτό της κεντρικής Ευρώπης, της δυτικής Ασίας της βόρειας Αμερικής της νότιας Αφρικής και των Καναριών νήσων (Meusel κ.α. 1978). Φύεται σε όλη την Ελλάδα σε πετρώδεις τόπους, αγρούς, σε χέρσες και ξηρές τοποθεσίες, καθώς και σε καλλιεργούμενα εδάφη (Σαρλής 1999). Ευδοκμεί σε πεδινές και ημιορεινές ηλιόλουστες περιοχές, και σε ξηρικά, φτωχά ή μέτριας γονιμότητας, όξινα προς ουδέτερα χωράφια (pH 5-6.3). Είναι είδος μακροήμερο και αντέχει στον παγετό.

### Περιγραφή - Βιολογία αναπαραγωγής

Το υπερικό είναι φυλλοβόλος, πολυετής πόα. Το φυτό έχει χρώμα σκούρο πράσινο, δεν έχει δυνατό άρωμα, εκτός αν πληγωθεί όπου μυρίζει έντονα και εκλύει μια πορφυρέρυθρη χρωστική. Έχει βλαστό στερεό, όρθιο, ισχυρό, πολύκλαδο, διατρεχόμενο κατά μήκος από δύο προσεχόμενες γωνιώδεις γραμμές, κοκκινωπό, μήκους 30-60 cm (Schauenberg κ.α. 1981). Οι κοτυληδόνες είναι λογχοειδείς. Τα φύλλα του έχουν μήκος 3.5 cm, είναι επιμήκη, ωοειδή, άμισχα, και αντίθετα διατεταγμένα. Στο φύλλο διακρίνονται πολυάριθμες, διαφανείς σφαιροειδείς κοιλότητες στις οποίες συγκεντρώνονται τα αιθέρια έλαια, και στα χείλη πολυκυτταρικές εκκριματοφόρες δομές με σκοτεινόχρωμο περιεχόμενο, που περιέχουν την υπερικίνη και άλλες σχετικές ουσίες (Cellarona κ.α. 1995). Το υπερικό παράγει παραφυάδες. Οι κεντρικές ρίζες φτάνουν σε βάθος 1.5 m.

Το φυτό ανθίζει στο διάστημα από τον Μάιο ως τον Αύγουστο (LeStrange 1977), με αποκορύφωμα από τα μέσα Ιουλίου έως τα μέσα Αυγούστου. Τα άνθη είναι πολλά, μικρά, τέλεια, έντονα χρυσοκίτρινα, 20-25 mm, σε ταξιανθία φόβη. Κάθε φυτό σχηματίζει περίπου 5-20 ταξιανθίες ταυτόχρονης άνθησης, με 30-45 κύριες διακλαδώσεις και 50-80 άνθη ανά ταξιανθία. Η άνθηση του υπερικού διαρκεί 3-4 εβδομάδες και η ωρίμανση περίπου 3 εβδομάδες.

Κάθε άνθος έχει 5 ελλειπτικά πέταλα με μαύρα αδενώδη στίγματα, που εκκρίνουν ένα σκούρο καφέ λάδι όταν πιεστούν. Ο κάλυκας αποτελείται από 5 σέπαλα οξέως λογχοειδή, με μελανά στίγματα, δίχως βλεφαρίδες, εκ των οποίων τα δύο έχουν μικρότερο μέγεθος. Τα σέπαλα ενώνονται στην βάση τους με 6 χρωματιστούς αδένες. Οι στήμονες είναι πολλοί (γύρω στους 70), βραχύτεροι των πετάλων, με νήματα συμφή στην βάση σε 5 δέσμες και μικρούς ανθήρες. Η ωοθήκη είναι επιφυής, 3-5χωρος με 3 χωρισμένους μακρούς όρθιους στύλους. Ο καρπός είναι τρίχωρη, ωοειδής, πολύσπερμη κάψα, έχει μήκος διπλάσιο του κάλυκα, με επιμήκεις, λοξώς παράλληλους ή ακανόνιστα τεταγμένους κυστοειδείς αδένες. Τα σπέρματα είναι μικρά (Campbell κ.α. 1984), κυκλικά, μαύρα και έχουν ρητινώδη οσμή. Εξωτερικά καλύπτονται από μια ζελατινοειδή ουσία που βοηθά στην διασπορά και δεν επιτρέπει την βλάστηση πάνω στο φυτό.

Συνήθως τα φυτά δεν ανθίζουν τον πρώτο χρόνο φύτευσής τους. Η ανάπτυξη ενός πράσινου μπουμπουκιού σε έντονο κίτρινο, παίρνει περίπου 5 με 7 ημέρες. Η άνθηση στο υπερικό αρχίζει από τα άνθη της κορυφής της ταξιανθίας και από τα άκρα των δευτερευόντων αξόνων και προχωρεί προς την βάση (Franke κ.α. 1999). Μία μέρα πριν την άνθηση, όλα τα μέρη του άνθους έχουν πλήρως αναπτυχθεί. Το άνθος του υπερικού πάντα ανοίγει στη διάρκεια της ανατολής του ηλίου. Οι ανθήρες έχουν κίτρινο χρώμα, και τα νήματα εκτείνονται. Μετά το πέρας του πρωινού, τα πέταλα και οι στήμονες κινούνται ξανά προς το κέντρο. Οι ανθήρες και τα νήματα συρρικνώνονται και παίρνουν καφέ χρώμα, πρώτα αυτοί που βρίσκονται στο κέντρο του άνθους και έπειτα οι περιφερειακοί. Επίσης το απόγευμα διακρίνονται νεκρώσεις και σημάδια μαρasmus στα πέταλα, ενώ ο στύλος παραμένει σε σπαργή και ανοιχτός για λίγο ακόμη διάστημα. Πολύ συχνά το άνθος μαραίνεται από το πρώτο μόλις απόγευμα.

Το υπερικό σχηματίζει κυρίως σπόρους με την διαδικασία της απόμιξης (δυνητική απόμιξη). Σε μικρότερο βαθμό είναι σταυρεπικονιαζόμενο εντομόφιλο φυτό, και ελάχιστος αριθμός σπόρων προέρχεται από αυτεπικονίαση (Franke κ.α. 1999). Ανάμεσα στις ποικιλίες και τους πληθυσμούς, υπάρχει μεγάλη παραλλακτικότητα στον τρόπο σχηματισμού των σπόρων, ο οποίος διερευνάται χρησιμοποιώντας δείκτες RFLP και AFLP, για τον καθορισμό του ποσοστού των απογόνων που προήλθαν από εγγενή αναπαραγωγή ή από απόμιξη (Steck κ.α. 2001). Σε πείραμα που έγινε με διασταύρωση δύο αυστραλιανών ποικιλιών (Mayo και Langridge 2003) παρατηρήθηκε πως το 94% των απογόνων είχαν την ίδια ταυτότητα και τον ίδιο αριθμό χρωμοσωμάτων με το μητρικό γονέα και φαίνεται ότι προήλθαν από απόμιξη. Το 6% των απογόνων έδειξαν, με τη χρήση των δεικτών, ότι έχουν ανασυνδυασμένο DNA. Από αυτούς, η κυτολογική ανάλυση έδειξε ότι το 2,5% ήταν τετραπλοειδείς ( $2n=4x=32$ ), το 2,5% εξαπλοειδείς ( $2n=6x=48$ ), και το 1% ανευπλοειδείς ( $2n-1=31$ ), γεγονός που δείχνει πως το επίπεδο του κανονικά διαιρεμένου εμβρυόσாகου ήταν 2,5%.

Για τη μελέτη της αναπαραγωγικής ποικιλομορφίας που χαρακτηρίζει το υλικό εκκίνησης της βελτίωσης, αναλύθηκαν με τη μέθοδο της κυτομετρίας ροής για την μελέτη του σπόρου, 656 φυτά από 92 ποικιλίες υπερικού και συγκρίθηκαν με τα 66 φυτά της ποικιλίας Torraz, που χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας (Panik κ.α. 2003). Από το σύνολο των φυτών των 92 ποικιλιών, το 2,4% ήταν υποχρεωτικά εγγενούς αναπαραγωγής, το 1,4% υποχρεωτικά απομικτικά και το 96,2% δυνητικά απομικτικά. Στα φυτά του μάρτυρα το 9% ήταν υποχρεωτικά και 91% δυνητικά απομικτικά. Ο έλεγχος της αναπαραγωγικής οδούς έδειξε πως στην υπό εξέταση συλλογή, όλα τα απομικτικά φυτά ήταν τετραπλοειδή και όλα τα φυτά εγγενούς αναπαραγωγής διπλοειδή.

Με την ίδια μέθοδο της κυτομετρίας ροής για την μελέτη του σπόρου, χαρακτηρίστηκε ο τύπος αναπαραγωγής για 113 ποικιλίες του *Hypericum perforatum* (Matzk κ.α. 2001). Αυτός ο τύπος ελέγχου καθορίζει τις διαφορετικές διαδικασίες εγγενούς ή αγενούς αναπαραγωγής, βασισμένος στο περιεχόμενο DNA του εμβρύου και των πυρήνων του ενδοσπερμίου. Ο σχηματισμός του σπόρου στο υπερικό φαίνεται να είναι εξαιρετικά πολυμορφικός. Για πρώτη φορά ταυτοποιήθηκε πως μεμονωμένοι σπόροι προήλθαν από δύο εμβρυόσاکους, το ενδοσπέρμιο από έναν απόσπορο και το έμβρυο από έναν μειωτικό εμβρυόσάκο. Επίσης, βρέθηκαν διπλοειδή φυτά με ασυνήθιστη διαδικασία σχηματισμού σπόρου, δηλαδή διπλασιασμό των χρωμοσώμων στα απόσπορα αρχικά κύτταρα, ακολουθούμενος από διπλή γονιμοποίηση. Ωστόσο, τα περισσότερα φυτά ήταν τετραπλοειδή και δυνητικά απομικτικά, διπλοειδή υποχρεωτικά εγγενώς σχηματισμένα και τετραπλοειδή υποχρεωτικά απομικτικά. Επιπροσθέτως, βρέθηκαν γενότυποι που σε μεγάλο βαθμό παράγουν έμβρυα είτε από διαιρεμένα παρθενογενετικά ή μη διαιρεμένα γονιμοποιημένα ωοκύτταρα. Συνήθως το ενδοσπέρμιο αναπτυσσόταν μετά τη γονιμοποίηση του κεντρικού κυττάρου, σε απόσπορο εμβρυόσάκο (ψευδογαμία). Τα αποτελέσματα δείχνουν πως η αναπαραγωγή στο υπερικό παραλλάσσεται και μπορούν να επιλεχθούν διαφορετικοί τύποι φυτών ως αρχικό υλικό για βελτιωτικά προγράμματα. Το ποσοστό των απογόνων που παράχθηκαν εγγενώς εξαρτάται από τον γενότυπο των γονικών σειρών.

#### Το υπερικό ως εναλλακτική καλλιέργεια

Το υπερικό πολλαπλασιάζεται εύκολα με σπόρο που σπέρνεται σε σπορείο και με παραφυάδες που κόβονται τον Αύγουστο. Εύκολα πολλαπλασιάζεται *in vitro*. Θέλει 5-28 ημέρες για να φυτρώσει. Η μεταφύτευση γίνεται το φθινόπωρο ή την άνοιξη. Η πυκνότητα φύτευσης είναι 4000 έως 8000 φυτά/ στρέμμα. Μετά από δυνατή βροχή αυξάνεται η βλαστική ικανότητα των σπόρων, γιατί απομακρύνεται μια ουσία που δρα ως ανασταλτικός παράγοντας της βλάστησης (Rees κ.α. 1995). Η διάρκεια καλλιέργειας είναι έως 4 έτη και θερίζεται με θεριστική μηχανή. Τον δεύτερο χρόνο της καλλιέργειας αποδίδει περισσότερο από τον πρώτο (Buter κ.α. 1998). Δίνει απόδοση μέχρι 120 kg το στρέμμα ετησίως. Η ποσότητα σπόρων που παράγεται κάθε έτος κυμαίνεται από 15000 και 33000 ως τους 100000 χωρίς να έχουν όμως μεγάλη φυτρωτική και βλαστική ικανότητα (Cech 1997). Το φυτό μαζεύεται στη διάρκεια της άνθησής του, απ' τον Ιούνιο ως τον Αύγουστο. Χρήσιμο είναι όλο το υπέργειο τμήμα σε πλήρη άνθηση. Οι φρέσκιες ανθισμένες κορυφές του (μήκους 30 cm) είναι πιο αποτελεσματικές πριν περάσει πολύς καιρός από την άνθηση.

Εκτός από την συγκομιδή των φυτών στην άγρια κατάσταση, πλέον λαμβάνει χώρα καλλιέργεια φυτών υπερικού στο χωράφι και στο θερμοκήπιο καθώς και *in vitro* καλλιέργεια κυττάρων, ιστών και οργάνων (Kirakosyan και Kaufman 2002). Η *in vitro* καλλιέργεια αν και είναι η πιο ακριβή έχει τα πλεονεκτήματα της συνεχούς παραγωγής, της δυνατότητας για γενετική τροποποίηση και επακόλουθο μικροπολλαπλασιασμό των μεταμορφωμένων κυττάρων, καθώς και τις μεγαλύτερες αποδόσεις σε χημικές ουσίες από γενετικά όμοια φυτά αντισταθμίζοντας το κόστος της σταθερής παραγωγής ποιοτικών και τυποποιημένων προϊόντων (Kirakosyan κ.α. 2003). Υπάρχουν αναφορές για υπερεξαπλασιασμό της συγκέντρωσης της υπερικίνης σε καλλιέργειες βλαστών από άγρια συγκομισθέντα φυτά υπερικού (Kirakosyan κ.α. 2003). Η βιοσύνθεση της υπερικίνης σχετίζεται με τον βαθμό διαφοροποίησης του φύλλου και τον σχηματισμό σκούρων αδενικών σχηματισμών.

Μόλις πριν λίγα χρόνια κυριαρχούσε η αντίληψη πως δεν άξιζε η καλλιέργεια αυτού του φυτού. Στο μεσοδιάστημα, αυξήθηκε η φαρμακευτική του χρήση εξαιτίας πολυάριθμων μελετών που έγιναν. Οι ετήσιες απαιτήσεις σε δρόγη πλέον ανέρχονται σε περισσότερες από 5000 τόνους, με μια ισχυρά αυξανόμενη τάση. Η αγορά ανά έτος, όσον αφορά το *Hypericum perforatum* L., έχει υπερβεί τα 210 εκατομμύρια δολάρια στις ΗΠΑ και τα 570 εκατομμύρια δολάρια παγκοσμίως (Sirvent και Walker 2002). Στην Γερμανία, το 1993, εκδόθηκαν περίπου τρία εκατομμύρια συνταγές για το υπερικό και το 1994 χορηγήθηκαν 66 εκατομμύρια δόσεις ημερησίως από σκευάσματα που περιείχαν υπερικίνη, συνολικής αξίας 26 εκατομμυρίων δολαρίων (De Smet και Nolen 1996).

### Ιδιότητες δρόγης και φαρμακευτικές χρήσεις

Η ξηρή δρόγη έχει βαλσαμική οσμή και γεύση στυφή και λίγο πικρή. Περιέχει 8-10% νερό, και 4-5% ανόργανα συστατικά. Ενδιαφέροντα συστατικά της δρόγης είναι το αιθέριο έλαιο, σε ποσότητα 0.05 έως 0,2%, καθώς και διάφορα πολυφαινολικά παράγωγα (Σουλελής 2000). Το αιθέριο έλαιο περιέχει α-πινένιο και διάφορους σεσκιτερπενικούς υδρογονάνθρακες. Από τα πολυάριθμα πολυφαινολικά παράγωγα, πολύ σημαντική θέση κατέχουν οι χρωστικές υπερικίνη και ψευδοϋπερικίνη που βρίσκονται στην ίδια περίπου αναλογία στην δρόγη του υπερικού και συνδέονται με τις αντυικές (Díwu 1995), αντικαρκινικές (Díwu 1995) και αντικαταθλιπτικές (Chatterjee κ.α. 1998) ιδιότητες του φυτού. Το μίγμα και των δύο είναι 0.14% περίπου. Τα εκχυλίσματα του φυτού συνήθως περιέχουν μικρές ποσότητες των άμεσων πρόδρομων ουσιών, πρωτοϋπερικίνη και πρωτοψευδοϋπερικίνη, τα οποία μετατρέπονται σε υπερικίνη και ψευδοϋπερικίνη μέσα σε δύο ώρες με την παρουσία φωτός (Sirvent και Gibson 2000). Ένα από τα κύρια συστατικά (2-4%) στο αποξηραμένο βότανο είναι και η υπερφορίνη που χαρακτηρίζεται από τις αντικαταθλιπτικές (Singer κ.α. 1999) και αντυικές της ιδιότητες.

Η υπερικίνη, ίσως ο πιο σημαντικός δευτερογενής μεταβολίτης του υπερικού, παίζει τον ρόλο του ταξινομικού δείκτη του γένους. Είναι μια ναφθοδιανθρόνη που προέρχεται από την ένωση δυο τρικυκλικών ανθρονών, των εμοδιανθρονών. Η εμοδιανθρόνη είναι το πρώτο προϊόν σχηματισμού δακτυλίων στην αλυσίδα σχηματισμού της υπερικίνης (Chen 1995). Η οξειδωμένη της μορφή είναι η εμοδίνη. Η εμοδιανθρόνη με οξείδωση μετατρέπεται σε πρωτοϋπερικίνη, και η τελευταία οξειδώνεται παρουσία ακτινοβολίας σε υπερικίνη (Thomson 1957). Η πρωτοϋπερικίνη μπορεί να απομονωθεί από εκχυλίσματα *H. perforatum* μόνο στο σκοτάδι. Η εμοδιανθρόνη μπορεί να ανιχνευτεί στα εκχυλίσματα του υπερικού.

Η φαρμακευτική χρήση του υπερικού ήταν γνωστή από πολύ παλιά. Η σύγχρονη επιστήμη επιβεβαίωσε τις θεραπευτικές του ιδιότητες για ένα ευρύ φάσμα παθήσεων, και ανέδειξε την σημαντικότητα και την σπουδαιότητά του. Το λάδι του υπερικού έχει την ιδιότητα να επουλώνει πληγές (Ηλιοπούλου 2003). Κρέμες που περιέχουν υπερικό, βοηθούν πολύ εκτός από την επούλωση πληγών και στην ίαση μολώπων, καψιμάτων και ερεθισμών του δέρματος αλλά και στην ανακούφιση από πόνους λόγω φλεγμονών των αρθρώσεων. Η βιομηχανία καλλυντικών παράγει προϊόντα που περιέχουν υπερικό που μαλακώνουν και απολυμαίνουν το δέρμα. Επίσης, προλαμβάνει την εφίδρωση, τις μυκητιάσεις των ποδιών και δυναμώνει τα πέλματα. Το εκχύλισμα του φυτού βοηθάει στην εξάλειψη του συναχίου, του ερεθισμού του λαιμού και φλεγμονών της στοματικής κοιλότητας. Η εσωτερική λήψη του υπερικού είναι ποικίλη. Το φυτό έχει αντιφλογιστικές, βακτηριοκτόνες, αντιυρετικές, στυπτικές, αιμοκαθαρτικές, ελμινθιοκτόνες ιδιότητες. Το αφέψημα από τα άνθη του υπερικού χρησιμοποιείται γι' αυτούς που πάσχουν από προβλήματα του πεπτικού.

Το υπερικό δρα καταπραυντικά στο νευρικό σύστημα και βοηθά αυτούς που πάσχουν από άγχος, πονοκεφάλους, νεύρα, αϋπνίες, διάφορες νευραλγίες. Τα εκχυλίσματα από υπερικό είναι αποτελεσματικά στην ήπια και μέτρια μορφή κατάθλιψης (Linde κ.α. 1996) και ίσως και στη βαριά κατάθλιψη εάν επιτραπεί η συγκέντρωση επάνω από την συνηθισμένη δόση. Παρεμβαίνουν στον οργανισμό όπως ακριβώς η χημική οξειδάση της μονοαμίνης (ΜΑΟ), μια μεγάλη κατηγορία αντικαταθλιπτικών φαρμάκων. Πολύ σημαντικές είναι οι έρευνες που έχουν γίνει στην κατεύθυνση της καταπολέμησης της υπατίτιδας C (Prince κ.α. 2000) και του έιτζ (Bork κ.α. 1999) με την χρήση του υπερικού. Έτσι, από το 1989, ερευνητές έχουν στοιχεία για πιθανή αποτελεσματικότητα του υπερικού ως διεγερτικό του ανοσοποιητικού συστήματος και μάλιστα κατά του HIV, που προκαλεί το σύνδρομο επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (έιτζ). Ενδιαφέρουσα έρευνα υλοποιείται από το πανεπιστήμιο Ιωαννίνων και την Ουρολογική Κλινική του νοσοκομείου Χατζηκώστα Ιωαννίνων σχετικά με τις εφαρμογές του τοπικού υπερικού στη θεραπεία του καρκίνου της ουροδόχου κύστης.

### Γενετική και Βελτίωση

Το υπερικό είναι ένα αλλοτετραπλοειδές είδος ( $2n=4x=32$ ) (Halusková και Cellárová 1997). Μπορεί να προέκυψε από έναν αρχαίο υβριδισμό μεταξύ δυο διπλοειδών (πιθανόν του *H. maculatum* Crantz με το *H. attenuatum* L.) με επακόλουθο χρωμοσωμικό διπλασιασμό (Campbell και Delfosse 1984). Τα χρωμόσωμα του υπερικού είναι πολύ μικρά (2-3 micrometers).

Η ταυτοποίηση του υπεύθυνου γονιδίου για την κωδικοποίηση της βιοσύνθεσης της υπερικίνης έγινε με τη βοήθεια μιας μεθόδου εξέτασης της βιβλιοθήκης cDNA ( $\lambda$ -Triplex2) σε καλλιέργεια κυττάρων *H. perforatum*, με βάση την ανίχνευση του κόκκινου χρώματος. Η εμοδίνη είναι ένα κίτρινο μόριο σε αντίθεση με την υπερικίνη, μια κοκκινωπή ουσία. Έτσι, είναι εύκολος ο διαχωρισμός των δυο ουσιών. Με τη χρήση του βακτηρίου *E. Coli*, έγινε η γρήγορη παραγωγή κυττάρων. Τα βακτήρια με τα γονίδια του υπερικού αυξήθηκαν σε τριβλία που περιείχαν εμοδίνη. Τα βακτήρια που περιείχαν τον σωστό συνδυασμό εμοδίνης και γονιδίων υπερικού που προκαλούν την παραγωγή της υπερικίνης, παρήγαγαν κύτταρα με υπερικίνη που έγιναν κόκκινα.

Πρακτικά 10<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ.

Με τον τρόπο αυτό οι ερευνητές μπόρεσαν γρήγορα να απομονώσουν το συγκεκριμένο κύριο γονίδιο που σχετίζεται με την παραγωγή υπερικίνης, το οποίο ονόμασαν ως Hyp-1 (Bais κ.α. 2003). Η βιοσύνθεση από εμοδίνη σε υπερικίνη έφτασε το 84,6%. Το μήκος της αλληλουχίας του c-DNA του Hyp-1 είναι 782 νουκλεοτιδία, με πλαίσιο ανάγνωσης των 477 νουκλεοτιδίων, που κωδικοποιούν μια πρωτεΐνη με 159 αμινοξέα. Αντίστροφη τρανσκριπτάση PCR ανάλυση έδειξε υψηλά επίπεδα από Hyp-1 αντίγραφα σε καλλιέργειες κυττάρων που αναπτύσσονται σε σκοτάδι, σε αντίθεση με τα χαμηλά επίπεδα σε καλλιέργειες κυττάρων και φύλλα που αναπτύσσονται στο φως. Επίσης, η νότια αποτύπωση ανέδειξε την παρουσία ενός κύριου γονιδίου Hyp-1 στο *Hypericum perforatum*.

Ενώ παλιότερα δεν υπήρχε σοβαρή ενασχόληση με την δημιουργία καινούριων ποικιλιών, σήμερα γίνεται μια μεγάλη προσπάθεια στην κατεύθυνση της επιλογής νέων ποικιλιών για μεγιστοποίηση της παραγωγής. Ακόμη δεν έχει βρεθεί μια καθαρή σειρά ή ένα υβρίδιο που να ανταποκρίνεται στις σημερινές ανάγκες. Οι ποικιλίες που δημιουργήθηκαν στο παρελθόν όπως οι Toraz, Hyperimed και Hyperixtract, δεν είναι σε θέση να ικανοποιήσουν τις αυξημένες απαιτήσεις όσον αφορά τα καλλιεργητικά χαρακτηριστικά και τις ανάγκες των φαρμακευτικών βιομηχανιών. Προς βελτίωση χαρακτηριστικά είναι ο χρόνος άνθησης, η αντοχή σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, η αντοχή σε ασθένειες κ.α. Ένας σημαντικός στόχος είναι η δημιουργία ποικιλιών ανθεκτικών στο *Colletotrichum gloeosporioides*, ένα μύκητα που ευθύνεται για την απώλεια στην παραγωγή. Το απαιτούμενο, πολύτιμο για την βελτίωση γενετικό υλικό συλλέγεται από την τεράστια δεξαμενή γενετικής παραλλακτικότητας του γένους υπερικό που υπάρχει στην φύση. Οι συστηματικές προσπάθειες του ανθρώπου για την δημιουργία γενετικής παραλλακτικότητας και νέων γενοτύπων με επιθυμητά χαρακτηριστικά, τον οδήγησαν στην εφαρμογή των τεχνητών διασταυρώσεων. Εναλλακτική μέθοδος δημιουργίας νέων επιθυμητών γενοτύπων είναι ο σωματικός υβριδισμός με ένωση πρωτοπλαστών, και η γενετική τροποποίηση μέσω του αγροβακτηρίου (Kirakosyan κ.α. 2003). Για την αύξηση των αποδόσεων σε δευτερογενείς μεταβολίτες, η εφαρμογή της βιοτεχνολογίας των φυτικών κυττάρων φαίνεται να είναι μια πολλά υποσχόμενη προοπτική. Η φύση όμως αποτελεί μια ανεξάντλητη πηγή νέων γενοτύπων που θα πρέπει να διερευνηθούν οι ιδιότητές τους.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bais, H.P., R. Vepachedu, C.B. Lawrence, F.R. Stermitz, J.M. Vivanco, 2003. Molecular and biochemical characterization of an enzyme responsible for the formation of hypericin in St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *J Biol Chem.* 278: 32413-22.
- Bork, P.M., S. Bacher, M.L. Schmitz, U. Kaspers and M. Heinrich, 1999. *Plant. Med.* 65: 297-300.
- Büter, B., C. Orlicchio, A. Soldati and K. Berger, 1998. Significance of genetic and environmental aspects in the field cultivation of *Hypericum perforatum*. *Planta Medica.* 64: 431-437.
- Campbell, M.H. and S.E. Delfosse, 1984. The biology of Australian weeds. *Hypericum perforatum* L. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science.* 50: 63-73.
- Cech, R. 1997. Herb of the Sun Saint John's Wort. Horizon Herbs Publication, Williams, 21 pp
- Cellarova, E., K. Kimakova, Z. Daxnerova and P. Martonfi, 1995. *Biotechnology in Agriculture and Forestry.* pp. 261-275, Y.P.S., Berlin.
- Chatterjee, S.S., S.K. Bhattacharya, M. Wonnemann, A. Singer and W. E. Mueller, 1998. *Life Sci.* 63: 499-510.
- Chen, Z., 1995. Purification and characterization of emodinanthrone oxygenase from *Aspergillus terreus*. *Phytochemistry.* 38: 299-305.
- De Smet, A.P. and W.A. Nolen, 1996. St John's wort as an antidepressant. *BMJ.* 313:241-242.
- Diwu, Z., 1995. *Photochem. Photobiol.* 61: 529-539.
- Franke, R., R. Schenk and U. Bauermann, 1999. Variability in *Hypericum perforatum* L. breeding lines. *Acta Hort.* 502:167-173.
- George, A., 1992. *Manual of Weeds.* The Macmillian Co., New York.
- Halusková, J. and E. Cellárová, 1997. *Euphytica.* 95: 229-235.
- Ηλιοπούλου, Κ., 2003. Όλα για τα βότανα για όλους. Εκδόσεις Τριδα.
- Kirakosyan, A. και P. Kaufman, 2002. *Natural Products in the New Millenium. Prospects and Industrial Application.* pp. 375-389, Kluwer Academic Publishers, Amsterdam.
- Kirakosyan, A., M.D. Gibson and M.T. Sirvert, 2003. *J. Herb Spices Med. Plants.*
- LeStrange, R., 1977. *A History of Herbal Plants.* Angus and Robertson, London.
- Linde, K., G. Ramirez, C.D. Mulrow, A. Pauls, W. Weidenhammer, D. Melchart, 1996. St John's wort for depression an overview and meta-analysis of randomised clinical trials. *BMJ.* 313: 253-258.
- Matzk, F., A. Meister, R. Brutovská and I. Schubert, 2001. Reconstruction of reproductive diversity in *Hypericum perforatum* L. opens novel strategies to manage apomixis. *Plant J.* 26:275-82.

- Mayo, G.M. and P. Langridge, 2003. Modes of reproduction in Australian populations of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort) revealed by DNA fingerprinting and cytological methods. *Genome*. 46:573-9.
- Meusel, H., E. Jager, S. Rauschert, E. Weinert, 1978. Vergleichende Chorologie der zentraleuropaischen Flora. Band 2. Gustav Fischer Verlag Jena.
- Pank, F., F. Matzk, U. Kastner, W.D. Bluthner, E. Foltys de Garsia, A. Meister, U. Ryschka και G. Schumann, 2003. Reproductive diversity and strategies for breeding in St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *Euphytica*. 134:77-84.
- Prince, A. M., D. Pascual, D. Meruelo, L. Liebes, Y. Mazur, E. Dubovi, M. Mandel and G. Lavie, 2000. *Photochem. Photobiol.* 71, 188-195.
- Rees, Norman, et. al., Ed., *Biological Control of Weeds in the West*, Western Society of weed Science, in cooperation with USDA ARS, MT Dept. of Ag. and MT State Univ., Color World Printers, Bozeman, MT, Feb., 1995.
- Schauenberg, P. and P. Ferdinand, 1981. Οδηγός των φαρμακευτικών φυτών. Εκδόσεις Γκιούρδας, Μ.
- Singer, A., M. Wonnemann and W.E. Müller, 1999. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 290, 1363-1368
- Sirvent, T. and D. Gibson, 2000. *J. Liquid Chromatogr.* 23, 251-259.
- Sirvent, T.M. and L.V. Walker., 2002. Variation in hypericins from wild populations of *Hypericum perforatum* L. in the Pacific Northwest of the U.S.A. *Econ. Bot.* 56: 41-49.
- Steck, N., M. Messmer, W. Schaffner and K.B. Bueter, 2001. Molecular markers as a tool to verify sexual and apomictic off-spring of intraspecific crosses in *Hypericum perforatum*. *Planta Med.* 67:384-5.
- Σαρλής, Π. Γ., 1999. Συστηματική Βοτανική Εφαρμογές Κορμοφύτων. Εκδόσεις Σταμούλης, Α.
- Σουλελής, Χ., 2000. Φαρμακογνωσία. Εκδόσεις Πήγασος.
- Thomson, R.H., 1957. *Naturally Occurring Quinones*. Butterworths Scientific, London.

## ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ *SALVIA OFFICINALIS*

Τζηκαλιός Γ. Ζ., Γουλή-Βαβδινούδη Ε. και Μ. Σ. Κούτσικα-Σωτηρίου

Εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας, Α. Π. Θ. 54124, Θεσσαλονίκη

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το είδος *Salvia officinalis* ( $2n=2x=14$ ) που αναφέρεται κοινώς σαν φασκομηλιά και χαρακτηρίζεται από φαρμακευτικές ιδιότητες ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae* (*Labiatae*). Αυτοφύεται κυρίως σε ορεινά θαμνώδη μέρη της Μακεδονίας αλλά και της Κρήτης. Καλλιεργείται και συλλέγεται, εκτός από τον Ελλαδικό χώρο, στις περιοχές της πρώην Γιουγκοσλαβίας, στην Αλβανία, την Τουρκία, την Ιταλία, τις ΗΠΑ, την Ισπανία. Είναι ένα πολυετές, μικρό αειθαλές, πολύκλαδο και χνουδωτό θαμνώδες φυτό ανθεκτικό στο ψύχος και την ξηρασία. Ανθίζει από Μάιο έως και Ιούλιο. Είναι δυνητικά σταυρογονιμοποιούμενο φυτό. Η καλύτερη εποχή για συγκομιδή είναι κατά την πλήρη άνθιση. Η πιο αξιοσημείωτη ιδιότητα του φασκόμηλου είναι να σταματάει την εφίδρωση. Η μυρωδιά, η αρωματώδης γεύση και οι φαρμακευτικές του ιδιότητες οφείλονται στο αιθέριο έλαιο, το οποίο περιέχει κυρίως την ουσία θυμόνη. Είναι σημαντικό να διεξαχθεί έρευνα στη φασκομηλιά με σκοπό την εύρεση και επιλογή γενοτύπων που παρουσιάζουν υψηλότερη ικανότητα σύνθεσης φαρμακευτικών χημικών ουσιών ή τη δημιουργία ομοζύγωτων γενοτύπων μέσω ανθηροκαλλιέργειας, με στόχο τη δημιουργία ποικιλιών με ισχυρότερη φαρμακευτική δράση.

### Άλλες ονομασίες του φυτού

Το *Salvia officinalis* είναι ένα φαρμακευτικό φυτικό είδος γνωστό ως φασκομηλιά ή φασκόμηλο. Μπορεί όμως να αναφέρεται και ως σάλβια, ελελίσφακος, αλισφακιά, χαμοσφακιά, μηλοσφακιά, μοσχακίδι, φουσκομηλιά, λουσφακί, φάσκος, αγριοσφακιά, σφάκα, βουτυρόχορτο και σαρκοθρόφι. Η κοινή αγγλική του ονομασία είναι sage ή αλλιώς garden sage ή Dalmatian sage ή kitchen sage.

### Ιστορικά στοιχεία

Όλα τα γνωστά αυτοφυή είδη σάλβιας αναφέρονται σαν φασκομηλιά. Τα είδη *Salvia* εκτός από φαρμακευτικά είναι αρωματικά, και μελισσοτροφικά φυτά. Η ονομασία *Salvia* του εν λόγω γένους προέρχεται από το λατινικό ρήμα *salvere* που σημαίνει σώζομαι, αναφορικά με τις θεραπευτικές ιδιότητες της φασκομηλιάς. Στην αρχαιότητα το φασκόμηλο χρησιμοποιούνταν από τους προγόνους μας σαν πολυφάρμακο και αυτό έχει εκθειαστεί από τον Ιπποκράτη, το Διοσκουρίδη, το Γαλήνιο και τον Αέτιο. Θεωρούνταν ως γενικό τονωτικό του μυαλού και του σώματος. Οι Λατίνοι το ονόμαζαν "ιερό φυτό" (*herba sacra*), το θεωρούσαν σαν το καλύτερο φάρμακο ενάντια στο θάνατο και το χρησιμοποιούσαν σε τελετές. Ήταν το φυτό της αθανασίας. Στο μεσαίωνα χρησιμοποιούνταν κατά της χολέρας, των κρυολογημάτων, των πυρετών, προς αντιμετώπιση προβλημάτων του ήπατος καθώς και σε περιπτώσεις επιληψίας. Το φασκόμηλο καιγόταν σε ναούς και θρησκευτικές τελετές λόγω των ιδιοτήτων του για κάθαρση. Χρησιμοποιούνταν επίσης και από τους Ινδιάνους της Αμερικής.

### Ταξινόμηση και οικολογία

Η φασκομηλιά είναι ένα δικότυλο φυτό και ανήκει στην οικογένεια των Χειλανθών, την *Lamiaceae* (*Labiatae*). Ο Φωκός (1982), αναφέρει ότι στην Ελλάδα φυτρώνουν γύρω στα 20 είδη ελελίσφακου ενώ ο Σκρουμπής (1988), αναφέρει ότι φυτρώνουν 23. Τα σπουδαιότερα αυτοφυή αρωματικά, φαρμακευτικά και μελισσοτροφικά είδη φασκομηλιάς που απαντώνται στη χώρα μας είναι τα εξής:

- i. *Salvia officinalis* (ελελίσφακος ο φαρμακευτικός).
- ii. *Salvia sclarea* (ελελίσφακος ο ερυθρανθής ή ελελίσφακος ο βαρύσοσμος)
- iii. *Salvia triloba* (ελελίσφακος ο τρίλοβος)
- iv. *Salvia pomifera* (ελελίσφακος ο μηλοφόρος)
- v. *Salvia grandiflora* (ελελίσφακος ο μεγανθής)
- vi. *Salvia calicina* (ελελίσφακος ο καλυκώδης)

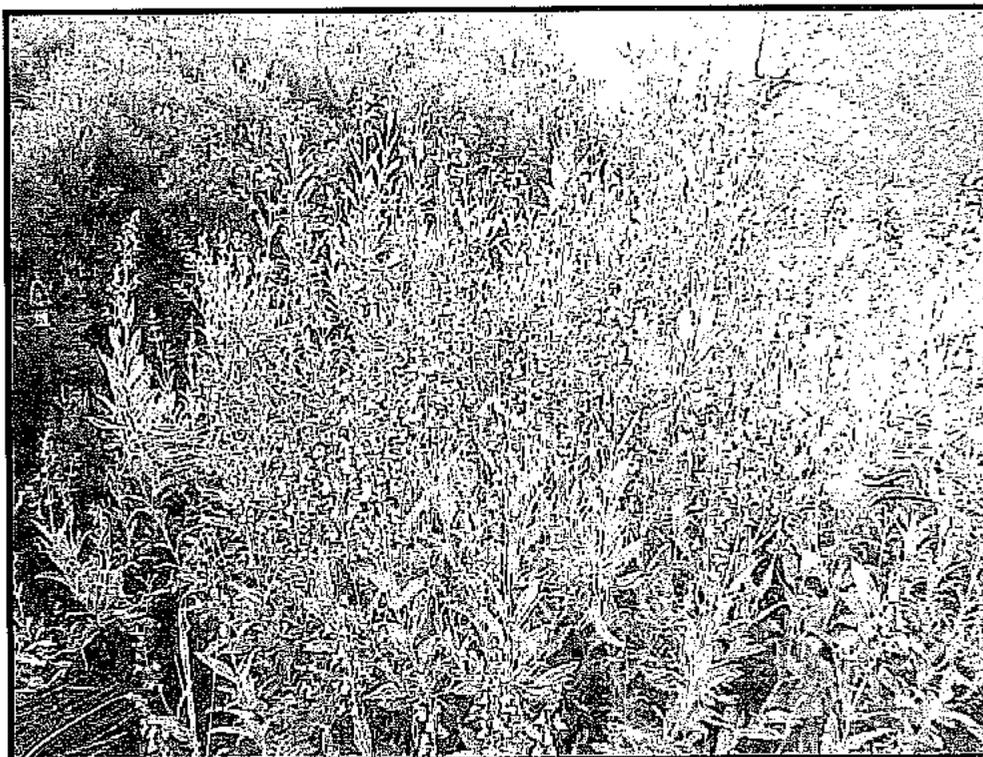
Η φασκομηλιά είναι ιθαγενές είδος των Βαλκανίων και της Μεσογείου, μπορεί όμως να αναπτύσσεται οπουδήποτε σαν καλλωπιστικό φυτό κήπου ή φυτό γλάστρας. Στην ελληνική ύπαιθρο φυτρώνει σε άγρια και ακαλλιεργητά μέρη (Ηλιοπούλου, 2003). Αυτοφύεται κυρίως σε ορεινά θαμνώδη μέρη της Μακεδονίας (Σκρουμπής, 1998) αλλά και της Κρήτης. Αναπτύσσεται τόσο σε ψυχρές όσο και σε θερμές περιοχές. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι απαντάται σαν αυτοφύες σε πολλές περιοχές της ηπειρωτικής και νησιωτικής Ελλάδας και σε υψόμετρο από 0 έως 1500 μέτρα περίπου (Σκρουμπής, 1988). Καλλιεργείται και συλλέγεται, εκτός από τον Ελλαδικό χώρο, στις περιοχές της πρώην Γιουγκοσλαβίας, στην Αλβανία, την Τουρκία, την Ιταλία, τις ΗΠΑ, την Ισπανία. Ως προς τις απαιτήσεις της σε κλίμα, η φασκομηλιά είναι ένα φυτό αξιοσημείωτα ανθεκτικό στο χειμερινό ψύχος και ανθίσταται θερμοκρασίες έως και  $-25^{\circ}\text{C}$ . Παρουσιάζει αντοχή στην ξηρασία. Κατά τον Chatto (1982), αφού το φυτό εγκαταστήσει το ριζικό του σύστημα στο έδαφος, μπορεί να ανέχεται την έλλειψη νερού. Αναπτύσσεται σε περιοχές με ετήσια βροχόπτωση 0,3-2,6 m και ηλιοφάνεια. Ευδοκίμει όταν αναπτύσσεται υπό συνθήκες ελαφράς σκίασης, ωστόσο καλό είναι να μη φυτεύεται υπό τη σκιά δέντρων (Grieve, 1998). Ως προς τα εδάφη, αναπτύσσεται σε διάφορους τύπους, προτιμά όμως τα μέσης μηχανικής συστάσεως, ασβεστιούχα με καλή αποστράγγιση και pH 6,2-6,4 (Σκρουμπής, 1988). Βέβαια, μπορεί να ευδοκίμει και σε πλούσια αργιλώδη εδάφη με καλή όμως αποστράγγιση ενώ μπορεί να ανέχεται και τα πολύ αλκαλικά εδάφη. Συνοπτικά, πρέπει να αποφεύγεται η φύτευσή της φασκομηλιάς σε βαρεία εδάφη με μεγάλη και παρατεταμένη κατακράτηση υγρασίας ή σε όξινα εδάφη (Chittendon, 1956). Κατά τον Σκρουμπή (1988) τα πολύ ελαφράς μηχανικής σύστασης αμμώδη εδάφη είναι ακατάλληλα διότι αφενός μεν η ανάπτυξη των φυτών είναι καθυστερημένη αφετέρου δε όταν βρέχει οι λεπτοί κόκκοι άμμου προσκολλώνται στα κατώτερα φύλλα, όπου και παραμένουν για μεγάλο χρονικό διάστημα με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας του προϊόντος.

#### **Βοτανικά χαρακτηριστικά-Βιολογία αναπαραγωγής**

Η φασκομηλιά είναι ένας πολυετής, μικρός αειθαλής, πολύκλαδος και χνουδωτός θάμνος με ημισφαιρικό σχήμα που φτάνει ως μέγιστο το ύψος των 50-80 εκατοστών. Οι βλαστοί είναι τετράπλευροι με όρθια έκφυση. Τα φύλλα εκφύονται αντίθετα στο βλαστό, είναι ακέραια, έμμοχα, φέρουν ρυτιδώσεις και έχουν σχήμα σφαιρικό-λογοειδές, ροδοειδές (πριονατά στην περιφέρειά τους). Στην κάτω πλευρά τους απαντώνται αδενώδεις τρίχες. Τα άνθη είναι σχετικά μικρά (μήκους 1-2 εκ.) και καλύπτονται από τρίχωμα. Σχηματίζονται 3-6 άνθη σε κάθε σπόνδυλο που έχουν κυανοϊώδες χρώμα και μόνο περιστασιακά λευκό. Διατάσσονται ελικοειδώς σχηματίζοντας στενούς απλούς βότρεις. Οι σχηματιζόμενοι έλικες φέρουν λίγα άνθη και είναι ευδιάκριτοι. Τα ανθικά φύλλα ή βράκτια φύλλα είναι άμισχα, σφαιρικά, οξύληκτα, μεμβρανώδη και ραβδωτά στη βάση τους. Ο κάλυκας του άνθους είναι καμπανοειδής, μεμβρανώδης, έγχρωμος, ραβδωτός και έχει μήκος 10-14 mm. Φέρει 17 νευρώσεις (Καββαδάς, 1959) και χνούδι και είναι δίχειλος, με τριοδοντωτό άνω χείλος, με δόντια λογοειδή μακρόαιχμα. Η στεφάνη είναι δύο ή τρεις φορές μεγαλύτερη σε μήκος από τον κάλυκα (μήκος μέχρι 35 mm), με μακρύ προεξέχοντα στύλο, δακτυλιωτό στο εσωτερικό του και δίλοβο. Το ανώτερο σημείο είναι τοξοειδές, το κατώτερο τμήμα είναι τρίλοβο, με τους πλευρικούς λοβούς να γέρνουν προς τα κάτω. Οι στήμονες προσαρτώνται σε μικρά νήματα. Η άνθηση παρατηρείται, αναλόγως την περιοχή και το κλίμα της, από Μάιο έως και Ιούλιο. Τα άνθη είναι ερμαφρόδιτα και επικονιάζονται από έντομα όπως οι μέλισσες. Πρόκειται για ένα σταυρογονιμοποιούμενο φυτό.

#### **Πολλαπλασιασμός-Καλλιεργητικές τεχνικές**

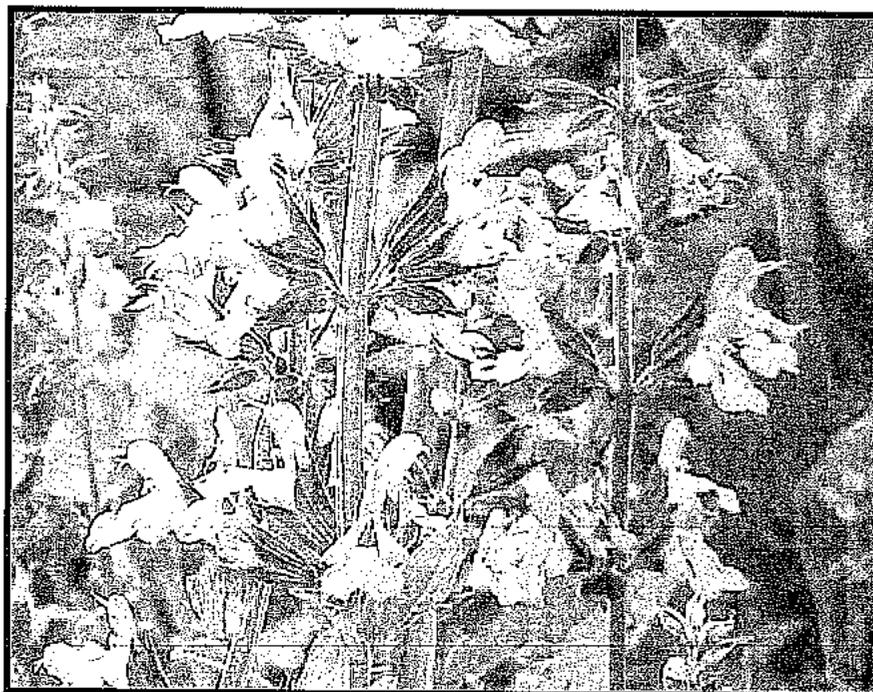
Η φασκομηλιά πολλαπλασιάζεται εγγενώς και αγενώς και συγκεκριμένα με σπόρο, με μοσχεύματα και παραφυάδες. Κατά κύριο λόγο ο πολλαπλασιασμός του είδους γίνεται με αγνή τρόπο και περιστασιακά με σπόρο (Grieve, 1998). Η σπορά ή η μεταφύτευση μπορούν να γίνονται το φθινόπωρο (Οκτώβριο-Νοέμβριο) μετά τις πρώτες βροχές ή και την άνοιξη (Φεβρουάριο-Μάρτιο), σε γραμμές με αποστάσεις φύτευσης 40-50 x 70-80 εκατοστά (Σκρουμπής, 1988, Σκρουμπής, 1998). Σε περιοχές όπου οι κλιματικές συνθήκες είναι οριακές για τη ζωή και ανάπτυξη των φυτών, είναι καλύτερο τα φυτά να παραμένουν εντός θερμοκηπίου κατά τον πρώτο χειμώνα της ζωής τους και στη συνέχεια να φυτεύονται στον αγρό αργά την άνοιξη.



**Εικόνα 1:** Γενική άποψη του φυτού  
(<http://caliban.mpiz-koeln.mpg.de/~stueber/mavica/all/1500/01351.jpg>)



**Εικόνα 2:** Μορφολογία φυτικών οργάνων  
(<http://www.ibiblio.org/herbmed/eclectic/kings/salvia.html>)



Εικόνα 3: Άποψη της ταξιανθίας  
(<http://caliban.mpiz-koeln.mpg.de/~stueber/mavica/part1/01037.jpg>)

Η *Salvia officinalis* και όλα τα συγγενικά της είδη είναι σχετικά βραχύβια. Είναι ένα σκληραγωγημένο φυτό αλλά αν και πολυετές δεν υπερβαίνει τα 3-4 χρόνια χωρίς να υποβαθμιστεί το φυτικό του σώμα, κατάσταση που καθιστά αναγκαία την ανανέωση και επαναφύτευση της φυτείας τουλάχιστο κάθε τέσσερα χρόνια (Grieve, 1998, αναφέρεται και στο βιβλίο Ball Redbook, 1998). Τα ώριμα φυτά συχνά νεκρώνονται στο κέντρο καθώς το ξύλο τους γίνεται ολόενα και πυκνότερο (Ball Redbook, 1998). Τα φυτά της φασκομηλιάς είτε γίνονται αρκετά ξυλώδη ώστε να μην μπορούν να δώσουν μια ικανοποιητική παραγωγή είτε ξηραίνονται τελειώς. Το ώριμο φυτικό κεφάλαιο συνιστάται να ανανεώνεται με τη φύτευση στο έδαφος (δίπλα από τα υπάρχοντα φυτά) 1-2 βλαστικών μοσχευμάτων ή τη στρωμάτωση παραφυάδων και την αφαίρεση των παλαιών φυτών μετά τη ριζοβολία των πρώτων (Ball Red-book, 1998).

Σημαντικό είναι να μεριμνάται τα νεορά φυτά να μην υποφέρουν από την έλλειψη ύδατος κατά το πρώτο καλοκαίρι μετά την εγκατάσταση της φυτείας. Επομένως, εκτός της ευνόητης παροχής των απαιτούμενων ποσοτήτων νερού ανά άρδευση, είναι απαραίτητο να γίνεται χορτοκοπή μεταξύ και επί των σειρών φύτευσης προς αφαίρεση των επιβλαβών ζιζανίων. Τα ζιζάνια ανταγωνίζονται τις νεαρές και ευαίσθητες φασκομηλιές σε νερό και θρεπτικά στοιχεία και η αντιμετώπισή τους, δηλαδή η εξάλειψη ή μείωση του ανταγωνισμού, ευνοεί την απρόσκοπτη βλαστική αύξηση η οποία προάγει την θαμνώδη εμφάνιση των φυτών. Προκειμένου η κόμη των φυτών να κρατηθεί συμπαγής, πρέπει την άνοιξη οι βλαστοί τους να κλαδεύονται (Huxley, 1992). Η αφαίρεση των παλαιών βλαστών την άνοιξη συμβάλλει σε νέα ισχυρή βλαστική ανάπτυξη.

#### Συγκομιδή και χρησιμοποιούμενα μέρη του φυτού

Η αυτοφυής φασκομηλιά συλλέγεται από την εποχή άνθισης (Μάιο-Ιούνιο) έως και το Σεπτέμβριο (Σκρουμπής, 1988). Η καλύτερη εποχή για συγκομιδή είναι όταν τα φυτά βρίσκονται στο στάδιο της πλήρους άνθισης. Σύμφωνα με την Αυστριακή φαρμακοποιία, το καλύτερο είναι η φασκομηλιά να συλλέγεται κατά τη διάρκεια της πλήρους άνθισης (Grieve, 1998). Κατά τον Σκρουμπή (1988), η καλλιεργούμενη φασκομηλιά πρέπει να συγκομίζεται μία φορά τον πρώτο χρόνο ενώ τα επόμενα χρόνια γίνονται 2-3 συλλογές. Κατά τον ίδιο συγγραφέα, η πρώτη συλλογή γίνεται κατά τον Μάιο και οι επόμενες Ιούλιο και Σεπτέμβριο. Είναι δυνατό να συγκομίζονται 15-40 κιλά για κάθε 120 τετραγωνικές γιάρδες (Flück). Κατά τη συλλογή αποκόπτεται ολόκληρο το φυτό λίγο επάνω από τη διασταύρωση των πρώτων βλαστών. Η ξήρανση των συγκομισμένων φύλλων γίνεται υπό σκιά, σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 35°C (Flück).

## Φαρμακευτικές χρήσεις

Το φασκόμηλο έχει μια μακρά ιστορία αποτελεσματικής φαρμακευτικής χρήσης. Είναι παραδοσιακά συνδεδεμένο με τη μακροβιότητα. Πολλοί βοτανολόγοι πιστεύουν πως οι μορφές φασκόμηλου με φύλλα κίτρινου χρώματος έχουν πιο ισχυρή φαρμακευτική δράση (Brown, 1995, Ody, 1994). Κατά τους Schauenberg and Ferdinand (1990), η πιο αξιοσημείωτη ιδιότητα του φασκόμηλου είναι να σταματάει την εφίδρωση. Γενικά, η έναρξη της δράσης του παρατηρείται δύο ώρες μετά τη λήψη της δόσης και μπορεί να παρατείνεται για αρκετές ημέρες (Schauenberg and Ferdinand, 1990). Έχει τη φήμη ότι αποκαθιστά τη μνήμη των ηλικιωμένων (νόσος του Alzheimer-αλτσχάϊμερ) (Ody, 1994). Χαρακτηρίζεται από δράση έναντι των διαταραχών του πεπτικού συστήματος και αντισηπτικές ιδιότητες. Ολόκληρο το φυτό χαρακτηρίζεται από αντιυδρωτικές, αντισηπτικές, αντισπασμωδικές, τονωτικές, αγγειοδιασταλτικές και κατά των φουσκωμάτων ιδιότητες (Laupert 1981 Triska 1975, Lust 1983, Brown 1995). Το φασκόμηλο χρησιμοποιείται επίσης σε περιπτώσεις α) υπερβολικής γαλακτογονίας κατά την περίοδο θηλασμού, β) υπερβολικής σιελόρροιας (όπως κατά τη νόσο του Parkinson), γ) ανησυχίας, δ) μελαγχολίας-κατάθλιψης, ε) θηλυκής στειρότητας και προβλημάτων εμμηνοπάυσης (έχει οιστρογόνο δράση) (Brown, 1995). Αποτελεί όπλο στην πρόληψη του καρκίνου. Είναι δε διουρητικό, ως εκ τούτου βοηθά τα άτομα που πάσχουν από παθήσεις του ουροποιητικού συστήματος καθώς και αυτούς που πάσχουν από προβλήματα των αρθρώσεων, ρευματισμούς κλπ. (Ηλιοπούλου, 2003). Με εξωτερική χρήση, δρα εναντίον της γήρανσης του δέρματος, της τριχόπτωσης και λόγω των αντισηπτικών του ιδιοτήτων, χρησιμοποιείται σε τσιμπήματα από μέλισσες ή σφήκες, σε μολύνσεις του στόματος, του λαιμού και των ούλων (Allardice, 1993). Η τακτική πόση αφεψήματος βοηθά στην μείωση του σακχάρου στο αίμα. Το φασκόμηλο δεν πρέπει να δίνεται σε γυναίκες που κυοφορούν ή σε ανθρώπους που έχουν επιληπτικές κρίσεις. Οι μικρές δόσεις που χρησιμοποιούνται στη μαγειρική είναι ασφαλείς (Ody, 1994). Το φυτό καθίσταται τοξικό όταν λαμβάνεται σε υπερβολικές ποσότητες ή όταν λαμβάνεται για μεγάλο χρονικό διάστημα (Brown, 1995) λόγω της παρουσίας της χημικής ουσίας θυϊόνη (Σαραντίτης, 1929).

## Χημική σύνθεση-δραστικές ουσίες

Τα φύλλα του φυτού είναι αρωματικά, έχουν αρωματώδη αλλά πικρή γεύση. Η μυραδιά και η αρωματώδης γεύση της φασκομηλιάς οφείλεται στο αιθέριο έλαιο της, το οποίο είναι το κύριο συστατικό της δρόγης δηλαδή του φυτικού τμήματος που χρησιμοποιείται στη φαρμακοποιία. Το φυτό μεταδίδει τα ευεργετικά του χαρακτηριστικά σε μορφή εκχυλίσματος μέσα σε βραστό νερό αλλά πιο εύκολα σε αλκοόλη. Το αιθέριο έλαιο (*Oleum salviae*) της φασκομηλιάς αποκτάται μέσω απόσταξης των φύλλων με νερό και είναι ένα κίτρινωπό ή πρασινωπό προς κίτρινο υγρό. Το αιθέριο αυτό έλαιο, το βασικό συστατικό της δρόγης, περιέχει κυρίως θυϊόνη (αναφέρεται και ως σαλβιόλη, salviol) αλλά και μικρές ποσότητες πινίνης και κινεόλης. Η θυϊόνη (κυκλική κετόνη) είναι υγρό με ευχάριστη αναψυκτική οσμή και χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία και την ποτοποιία (Σαραντίτης, 1929). Η κινεόλη είναι άχρωμο υγρό, με καμφορούχο οσμή και χρησιμοποιείται στη θεραπευτική (Σαραντίτης, 1929). Άλλα συστατικά της δρόγης είναι το οξικό βορνύλιο, η θυμόλη, η καρβακρόλη, τα τριτερπενικά οξέα ουρσολικό και ολεανολικό οξύ, οι φλαβονικές ενώσεις υπό γλυκοζιτική μορφή λουτεολίνη και απιγενίνη και η δευική ουσία ροζμαρινικό οξύ κ.α. Ολόκληρο το φυτό παράγει 2% αιθέριο έλαιο το οποίο περιέχει 30% θυϊόνη, 15% κινεόλη, μία καμφορά, τανίνη και πικρές ουσίες (πικροσαλβίνη ή καρνοσόλη κ.α.) (Schauenberg and Ferdinand, 1990). Η περιεκτικότητα και τα επί μέρους συστατικά του αιθέριου ελαίου εξαρτώνται από την εποχή της συλλογής, τις κλιματολογικές συνθήκες και το υποείδος της *Salvia* (Φωκάς, 1982).

## Γενετική-Βελτίωση

Η *S. officinalis* είναι ένα διπλοειδές φυτικό είδος. Ο πυρήνας των σωματικών του κυττάρων διαθέτει  $2n=2x=14$  χρωμοσώματα (Hruby, 1935 από Darlington and Janaki Ammal, 1945). Είναι σημαντικό να διεξαχθεί έρευνα στη φασκομηλιά με σκοπό την εύρεση και επιλογή γενοτύπων που παρουσιάζουν υψηλότερη ικανότητα σύνθεσης φαρμακευτικών χημικών ουσιών ή τη δημιουργία ομοζύγων γενοτύπων μέσω ανθηροκαλλιέργειας, με στόχο τη δημιουργία ποικιλιών με ισχυρότερη φαρμακευτική δράση. Ως προς την επιτυχή διεξαγωγή των διασταυρώσεων για γενετική βελτίωση του είδους πρέπει αυτές να πραγματοποιούνται με την σωστή εφαρμογή των κατάλληλων τεχνικών αφού βεβαίως έχουν ληφθεί πρωτύτερα τα κατάλληλα μέτρα για την αποφυγή των ανεπιθύμητων αυτεπικονιάσεων ή σταυρεπικονιάσεων. Η φασκομηλιά είναι ένα δυνητικά σταυρογονιμοποιούμενο φυτό που ωστόσο αυτογονιμοποιείται σε κάποιο μικρό ποσοστό. Τα άνθη της είναι, όπως έχει προαναφερθεί, ερμαφρόδιτα. Επομένως καθίσταται απαραίτητη η αποστημόνωσή τους στο φυτό-μητέρα προς αποφυγή αυτεπικονιάσής τους. Η αποστημόνωση των ανθέων πρέπει να εκτελείται στον κατάλληλο χρόνο, ο οποίος καθορίζεται έπειτα από πειραματισμό και πρακτική εμπειρία. Μετά την

Πρακτικά 10<sup>ου</sup> Συνεδρίου Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ.

αποστημόνωση τα άνθη καλύπτονται με σακουλάκια προκειμένου να εμποδιστεί η τυχόν προσέλευση ξένης γύρης και η ανεπιθύμητη επικονίασή τους. Η επικονίαση του φυτού-μητέρα πρέπει να γίνεται με γύρη της γυρεοδότριας ποικιλίας (αρσενικός γονέας) όταν το στίγμα είναι υποδεκτικό (όταν είναι διογκωμένο και κολλώδες) και συνήθως αυτή πραγματοποιείται 1-3 ημέρες μετά την αποστημόνωσή. Η επιτυχία της επικονίασης εξαρτάται από την ποιότητα της γύρης και από τις καιρικές συνθήκες. Ωριμη και πρόσφατη γύρη, ηλιοφάνεια και ζεστός καιρός ευνοούν την επικονίαση, ενώ ανώριμη, παλιά γύρη, συννεφιά και χαμηλές θερμοκρασίες μειώνουν σημαντικά το ποσοστό επιτυχίας (Γουλή- Βαβδινούδη και Κούτσικα-Σωτηρίου, 2001).

Συνοπτικά, οι απαραίτητες προϋποθέσεις για την πραγματοποίηση επιτυχημένων διασταυρώσεων είναι οι εξής:

- Προσεκτική μελέτη του άνθους στο μικροσκόπιο.
- Απαραίτητη γνώση του τρόπου άνθησης, της περιόδου υποδεκτικότητας του στίγματος και της ζωτικότητας των γυρεοκόκκων.
- Επιλογή των κατάλληλων εργαλείων, ανάλογα με τη μέθοδο αποστημόνωσης και επικονίασης που θα εφαρμοστεί.
- Προσεκτική μεταχείριση του άνθους, διότι οποιοσδήποτε τραυματισμός των ανθικών μερών έχει δυσμενή επίδραση στο σχηματισμό σπόρων.
- Λιγότερες διασταυρώσεις και προσεκτικές, πάρα πολλές και ανεξέλεγκτες.
- Σπορά των φυτών που θα χρησιμεύσουν ως γονείς μεμονωμένα, σε αποστάσεις μεταξύ τους και σε γραμμές ώστε να διευκολυνθεί η ανάπτυξή τους και το έργο της επικονίασης.
- Κλιμάκωση της σποράς των ποικιλιών που θα χρησιμεύσουν ως γονείς, όταν δεν συμπίπτει ο χρόνος ωρίμανσης του στίγματος της μητέρας και της γύρης του φυτού-πατέρα (Γουλή-Βαβδινούδη και Κούτσικα-Σωτηρίου, 2001).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Allardice, P., 1993. *A-Z of Companion Planting*. Cassell Publishers Ltd. ISBN 0-304-34324-2
- Ball Redbook, 1998. Editor: Vic Ball, 16<sup>th</sup> edition
- Brown, D., 1995. *Encyclopedia of Herbs and their Uses*. Dorling Kindersley, London. ISBN 0-7513-020-31
- Chatto, B., 1982. *The Dry Garden*. ISBN 0460045512
- Chittendon, F., 1956. *RHS Dictionary of Plants plus Supplement*. Oxford University Press
- Darlington, C. D. and E. K. Janaki Ammal, 1945. *Chromosome Atlas of Cultivated Plants*. George Allen & Unwin LTD. London
- Flück, H. *Τα Φαρμακευτικά Βότανα και οι χρήσεις τους*. Μετάφραση Δημητρίου Α. Εκδόσεις Μπίμπης. Θεσσαλονίκη, σελ.194
- Grieve, M., 1998. *A modern herbal*. Tiger Books International PLC. Twickenham, pp. 912
- Huxley, A., 1992. *The New RHS Dictionary of Gardening*. MacMillan Press. ISBN 0-333-47494-5
- Läunert, E, 1981. *Edible and Medicinal Plants*. Hamlyn. ISBN 0-600-37216-2
- Lust, J., 1983. *The Herb Book*. Bantam books. ISBN 0-553-23827-2
- Ody, P., 1994. *The Herb Society's Πλήρης Οδηγός Φαρμακευτικών Βοτάνων*. Πλήρης ξενόγλωσσος τίτλος: *The Herb Society's Complete Medicinal Herbal*. Εκδόσεις Γιαλλελής. Αθήνα. ISBN 960-7555-03-1
- Schauenberg, P. and P. Ferdinand, 1990. *Guide to medicinal plants*. The Lutterworth Press. Hong Kong
- Triska, Dr., 1975. *Hamlyn Encyclopedia of Plants*. Hamlyn. ISBN 0-600-33545-3
- Γουλή-Βαβδινούδη, Ε. και Μ. Κούτσικα-Σωτηρίου, 2001. *Εγχειρίδιο στην τεχνική των διασταυρώσεων στα καλλιεργούμενα φυτά*. Α. Π. Θ. Θεσσαλονίκη, σελ. 242
- Ηλιοπούλου, Ν., 2003. *Όλα για τα Βότανα*. Εκδόσεις Ίριδα. Αθήνα.
- Καββαδάς, Δ. Σ., 1959. *Εικονογραφημένον Βοτανικόν Φυτολογικόν Λεξικόν*. Τομ. 1-9. Αθήνα
- Σαραντίτης, 1929. *Τα αρώματα (Χημεία και βιομηχανία των αρωμάτων)*. Τυποις Αδελφών Π. Ροδίτη. Αθήνα.
- Σκρουμπής, Β. Γ., 1988. *Αρωματικά φυτά και αιθέρια έλαια*
- Σκρουμπής, Β., 1998. *Αρωματικά, Φαρμακευτικά και Μελισσοτροφικά φυτά της Ελλάδας*. Εκδόσεις Αγρότοπος. Θεσσαλονίκη, σελ. 256
- Φωκάς, Γ., 1982. *Μαθήματα Φαρμακογνωσίας*. Θεσσαλονίκη

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ

- Crespel L. σελ: 332  
 Foucher F. σελ: 332  
 Genova I. σελ: 42  
 Hsam L. K. S. σελ: 256  
 Hibrand-Saint σελ: 332  
 Kozub N. Σελ: 251  
 Leinemann L. σελ: 194  
 Lisova G. σελ: 251  
 Oyant L. σελ: 332  
 Rajarakse S. σελ: 332  
 Sozinov I. σελ: 251  
 Vulchinkov St. σελ: 42  
 Αναστασιάδου Α. σελ: 129, 174, 295  
 Αράπη Χρ. σελ: 168  
 Αυγελής Α. σελ: 313, 109  
 Αυγουλάς Χρ. σελ: 180  
 Αυδίκος Η. σελ: 69, 347  
 Βασιλάκογλου Ι. σελ: 90, 104  
 Βολουδάκης Α. σελ: 141  
 Γαλανοπούλου - Σενδουκά Στ. σελ: 35  
 Γαλλής Α. σελ: 307  
 Γεωργιάδης Κ. σελ: 187  
 Γιακαλής Α. σελ: 295  
 Γιακουλάκη Μ. σελ: 104  
 Γιακουντής Α. σελ: 266  
 Γούλας Χ. σελ: 266  
 Γουλή-Βαβδινούδη Ε. σελ: 288, 301, 322, 328, 337, 342, 347, 353, 251  
 Γραμματικάκη Γ. σελ: 109, 313  
 Γρεβενιώτης Β. σελ: 261  
 Δαμαλάς Χ. σελ: 245  
 Δανέλη Ι. σελ: 109  
 Δερβένη Α. σελ: 317  
 Δήμας Κ. σελ: 90, 245, 104  
 Δοξαστάκη Μ. σελ: 313  
 Ευγενίδης Γ. σελ: 42  
 Ζαράνη Ι. σελ: 251  
 Θωμίδης Θ. σελ: 76  
 Καραγκούνης Χρ. σελ: 226  
 Καραμαλίζκας Χ. σελ: 42  
 Καραμάνος Α. σελ: 180,  
 Καργιωτίδου Α. σελ: 337  
 Καρέτσου Κ. σελ: 135  
 Κασιμιάδης Δ. σελ: 194  
 Κατσαντώνης Δ. σελ: 97  
 Κοπαράνης Θ. σελ: 83  
 Κοτζαμανίδης Σ. σελ: 116  
 Κουνάνη Α. σελ: 187  
 Κουτής Κ. σελ: 35  
 Κουτίτα Ο. σελ: 129, 135, 231  
 Κουτρούμπας Σπ. Σελ: 62, 97  
 Κούτσικα-Σωτηρίου Μ. σελ: 49, 62, 69, 83, 129, 150, 174, 226, 231, 261, 277, 282, 288, 295, 301, 322, 328, 337, 342, 347, 353  
 Κυριακίδης Δ. σελ: 201  
 Λαζαρίδου Θ. σελ: 116  
 Λιακοπούλου-Γριβάκου Π. σελ: 237  
 Λίβανος Γ. σελ: 180  
 Λιθουργίδης Α. σελ: 90, 245, 104, 116  
 Μάϊνου Α. σελ: 76  
 Ματθαίου Α. σελ: 207  
 Μαυρομάτης Α. σελ: 266  
 Μελλίδης Β. σελ: 42  
 Μέρμηγκα Γ. σελ: 322  
 Μιχαηλίδης Ζ. σελ: 213  
 Μπάρμπας Ε. σελ: 317, 332  
 Μπλαδενόπουλος Κ. σελ: 83, 261  
 Μπλέτσος Φ. σελ: 273  
 Μυλωνάς Ι. σελ: 49, 328  
 Νιάνιου Ειρ. σελ: 76  
 Νικολάου Ν. σελ: 207  
 Ντάνος Δ. σελ: 97  
 Ντονά Α. σελ: 164  
 Ξυνιάς Ι. σελ: 29, 251

Οικονόμου Γ. σελ: 180	Φασούλα Δ. σελ: 22, 49, 56
Οικονόμου Ι. σελ: 168	
Καλδής Π.σελ: 168	
Πάνου-Φιλοθέου Ε. σελ: 187	
Παπαγεωργίου Αρ. σελ: 194	
Παπαδόπουλος Αιμ. σελ: 76	
Παπαδόπουλος Ι. σελ: 29, 62	
Παπαδοπούλου Σ. σελ: 90	
Παπασταύρου Α. σελ: 180	
Παπή Ρ. σελ: 201	
Παπουτσής Ι. σελ: 164	
Παυλικάκη Χ. σελ: 122	
Ποντίκη Μ. σελ: 288	
Προμπονά Α. σελ: 266	
Ρουπακιάς Δ. σελ: 251, 273, 116	
Σαρδελής Σ. σελ: 256	
Σγούρου-Καραγιάννη Ειρ. σελ: 76	
Σίμος Ν. σελ: 122	
Σιστάνης Ι. σελ: 116	
Σκαράκης Γ. σελ: 129, 135	
Σπανός Κ. σελ: 201	
Στεφανίδου Μ. σελ: 164	
Στυλιανίδης Δ. σελ: 76	
Συμιλλίδης Γ. σελ: 256	
Συργιαννίδης Γ. σελ: 76	
Σφακιανάκης Ι. σελ: 42	
Ταβουλάρης Π. σελ: 313	
Τερπιβανίδης Κ. σελ: 231, 282	
Τζαβέλα-Κλωνάρη Κ. σελ: 295, 174	
Τζηκαλιός Γ. σελ: 353	
Τοκατλίδης Ι. σελ: 29, 62	
Τράκα-Μαυρωνά Α. σελ: 69, 295, 277, 282, 129, 174	
Τσαγρή Μ. σελ: 76	
Τσαυτάρης Α. σελ: 76, 288, 301, 322	
Τσιάλτας Ι. σελ: 29	
Τσιβελίκας Α. σελ: 301, 129	
Τσικαλάς Π. σελ: 109	
Τσιροπούλου Χ. σελ: 342	
Φανουράκης Ν. σελ: 122	