

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ
ΔΙΑΠΛΟΕΙΔΩΝ ΣΕΙΡΩΝ ΜΑΛΑΚΟΥ
ΣΙΤΑΡΙΟΥ
(*Triticum aestivum* L. em. Thell).**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΤΟΥ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗ ΡΗΓΑ

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ
Δρ. Ι. Ν. ΞΥΝΙΑΣ
Αναπληρωτής Καθηγητής**

Καλαμάτα 2005

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μετά την ολοκλήρωση της Πτυχιακής μου Διατριβής αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα Καθηγητή Δρ. Ι. Ν. Ξυνιά, για την ανάθεση του θέματος και τη βοήθεια που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και την παρουσίαση της Διατριβής. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου και την αρραβωνιαστικιά μου που με στήριξαν σε όλη τη διάρκεια της εργασίας αυτής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
1. Εισαγωγή.....	5
2. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας.....	7
2.1. Η καταγωγή, η καλλιέργεια και η σπουδαιότητα του μαλακού σιταριού.....	7
2.1.1. Η καταγωγή του μαλακού σιταριού.....	7
2.1.2. Η καλλιέργεια του μαλακού σιταριού.....	8
2.1.3. Η σπουδαιότητα του μαλακού σιταριού.....	9
2.2. Η κλασική μεθοδολογία βελτίωσης του σιταριού.....	11
2.2.1. Βελτίωση με επιλογή καθαρής σειράς.....	11
2.2.2. Μαζική επιλογή.....	12
2.2.3. Γενεαλογική επιλογή.....	13
2.2.4. Μέθοδος μίγματος.....	14
2.2.5. Μέθοδος καταγωγής από μεμονωμένους σπόρους.....	14
2.2.6. Μέθοδος αναδιασταύρωσης.....	15
2.2.7. Πολλαπλές διασταυρώσεις.....	15
2.2.8. Παραγωγή υβριδίων.....	16
2.2.9. Επανεπιλογή.....	17
2.2.10. Συνθετικές ποικιλίες.....	18
2.3. Χρησιμοποίηση της εφαρμοσμένης βιοτεχνολογίας.....	19
2.3.1. Μέθοδος της <i>in-vitro</i> καλλιέργειας ανθών.....	19
2.3.2. Τα στάδια της <i>in-vitro</i> καλλιέργειας ανθών.....	22
3. Υλικά και μέθοδοι.....	25
3.1. Φυτικό υλικό.....	25
3.2 Παρατηρήσεις.....	27
3.3. Ορολογία.....	28
4. Αποτελέσματα.....	29
5. Συζήτηση.....	43
6. Συμπεράσματα.....	44
7. Περίληψη.....	45

8. Βιβλιογραφία.....	46
8.1. Ελληνική	46
8.2. Αγγλόφωνη	47

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το σιτάρι είναι το σπουδαιότερο χειμωνιάτικο σιτηρό και θεωρείται από πολλούς ως η βάση για τη δημιουργία του σύγχρονου πολιτισμού (Ανώνυμος 1991). Οι περισσότερες ποικιλίες σιτηρών που καλλιεργούνται ανά τον κόσμο ανήκουν στο μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum* L. (em) Thell, $2n = 6x = 42$) και καλύπτουν μια συνολική έκταση 2,5 δις. στρεμμάτων. Το 50% αυτής της έκτασης βρίσκεται στις αναπτυσσόμενες χώρες και κατά 70% χρησιμοποιούνται ποικιλίες ανοιξιότικου τύπου. Το μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum* L. (em) Thell) αποτελεί μια από τις πλέον προσαρμοσμένες καλλιέργειες στην Ελλάδα, με μεγάλη οικονομική σπουδαιότητα (Νικόπουλος 2003). Η καλλιέργεια αυτή ανταποκρίνεται σε γόνιμα εδάφη με ψυχρό και υγρό καιρό και κατά την ωρίμανση προτιμά φωτεινό, ξηρό και θερμό καιρό. Το μαλακό σιτάρι καταλαμβάνει μια έκταση περίπου 3.000.000 στρεμμάτων και η παραγωγή του ετησίως ανέρχεται σε 1,3 εκατομμύρια τόνους (Ευρωπαϊκή Επιτροπή 1997). Ο κύριος όγκος της καλλιέργειάς του μαλακού σιταριού βρίσκεται στην Κεντρική και Βόρεια Ελλάδα.

Η διαδικασία βελτίωσής του μαλακού σιταριού θα πρέπει να βρίσκεται σε διαρκή εξέλιξη και θα πρέπει να έχει ως στόχο τη δημιουργία ποικιλιών που να συνδυάζουν υψηλή απόδοση, (όπου αποτελεί το σπουδαιότερο γνώρισμα για τη βελτίωση ενός φυτικού είδους), ποιότητα με καλή προσαρμοστικότητα και σταθερότητα συμπεριφοράς στον αγρό. Η κλασική βελτιωτική μεθοδολογία για τη δημιουργία νέων ποικιλιών είναι μια χρονοβόρα διαδικασία που απαιτεί τουλάχιστον 7 κύκλους επιλογής, ώστε οι γενότυποι που θα έχουν επιλεγεί να είναι πρακτικά ομοζύγωτοι. Στη συνέχεια θα πρέπει να ακολουθήσουν τρεις τουλάχιστον χρονιές αξιολόγησης σε συγκριτικά διατοπικά πειράματα, ώστε να επιλεγούν αυτοί με την καλύτερη απόδοση και ποιότητα. Κατόπι, οι γενότυποι που θα έχουν επιλεγεί θα πρέπει να αξιολογηθούν για άλλα δύο χρόνια από το Ι. Ε. Π. Κ. Φ. (Ινστιτούτο Ελέγχου Ποικιλιών Καλλιεργουμένων Φυτών). Αυτοί που θα περάσουν με επιτυχία από την αξιολόγηση αυτή θα έχουν δικαίωμα να

εγγραφούν στον Ελληνικό και Ευρωπαϊκό Κατάλογο Ποικιλιών. Όσες ποικιλίες εγγραφούν στον παραπάνω κατάλογο μπορούν να μπουν στη διαδικασία της σποροπαραγωγής, η οποία κρατά άλλα 5 χρόνια και τότε και μόνο τότε ο σπόρος της ποικιλίας θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τους αγρότες (Ξυνιάς 2005).

Από τα παραπάνω είναι σαφές ότι απαιτούνται τουλάχιστο 17 χρόνια για να δημιουργηθεί μια ποικιλία. Για το λόγο αυτό οι βελτιωτές στράφηκαν σε εναλλακτικές τεχνικές, με σκοπό να συντομεύσουν το αυτό το χρονικό διάστημα. Με την παραγωγή διαπλοειδών σειρών (έτσι ονομάζονται οι γενότυποι που δημιουργούνται από χρωμοσωματικό διπλασιασμό απλοειδών φυτών) από την F_1 γενεά χρησιμοποιώντας την τεχνική της καλλιέργειας ανθήρων, αποτελεί μια χρήσιμη εναλλακτική προσέγγιση. Με την εφαρμογή της η μακρόχρονη βελτιωτική διαδικασία για τη δημιουργία μιας ποικιλίας μπορεί να επιταχυνθεί κατά τρία τουλάχιστον χρόνια. Τα απλοειδή φυτά, παράγονται από διασπώμενους πληθυσμούς και μπορούν να διευκολύνουν τον εντοπισμό των καλύτερων γενετικών ανασυνδυασμών. Αυτό οφείλεται στο ότι οι διαπλοειδείς σειρές που δημιουργούνται είναι ομοζύγωτες και συνεπώς η επιλογή των υπέρτερων σειρών είναι σχετικά εύκολη (Henry and De Buyser 1990).

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη και περιγραφή 38 Ελληνικών διαπλοειδών σειρών μαλακού σιταριού (από ελληνικές διαπλοειδείς σειρές μαλακού σιταριού) ως προς επτά γνωρίσματα: α) αδελφωμα, β) ημέρες έως ξεστάχιασμα, γ) αριθμό στάχων, δ) μήκος στάχων, ε) αριθμό σταχυδίων, στ) ύψος ωρίμανσης και ζ) απόδοση.

2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

2.1. Η ΚΑΤΑΓΩΓΗ, Η ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΑΙ Η ΣΠΟΥΔΑΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΜΑΛΑΚΟΥ ΣΙΤΑΡΙΟΥ

2. 1. 1. Η καταγωγή του μαλακού σιταριού.

Ως προς την καταγωγή του το σιτάρι αποτελεί κλασικό παράδειγμα του τρόπου με τον οποίο συγγενή είδη μπορούν να συνδυαστούν στη φύση και να δημιουργήσουν μια νέα πολυπλοειδή σειρά (Καλτσίκης 1992).

Το σιτάρι ανήκει στο γένος *Triticum* το οποίο συγγενεύει με τα άγρια γένη *Prosporon* και *Aegilops* (Σφήκας 1973). Τα είδη του γένους *Triticum* ταξινομούνται σε τρεις ομάδες ανάλογα με το επίπεδο πλοειδίας τους. Τα διπλοειδή, με $2n=2x=14$ χρωμοσώματα, τα τετραπλοειδή, με $2n=4x=28$ και τα εξαπλοειδή, με $2n=6x=42$ (Χρησιτίδης 1963, Καλτσίκης 1992, Παπαθανασίου 1999, Νικόπουλος 2003). Το μαλακό σιτάρι *Triticum aestivum* L. em Thell έχει γένωμα AABBDD. Το εξαπλοειδές αυτό σιτάρι προέρχεται από ένα αλλοπλοειδές που συνδυάζει το τετραπλοειδές είδος *Triticum turgidum* και το διπλοειδές είδος *Triticum tauschii* (Sears 1975, Hassan και Gustafson 1996).

Πίνακας 1. Ταξινόμηση των διαφόρων ειδών σιτηρών ανάλογα με το επίπεδο πλοειδίας

Είδος:

I. Διπλοειδή ($2n = 2x = 14$)	Γένωμα
<i>T. monococcum</i> L.	AA
<i>T. Spedtoides</i> Gren ex Richter	BB
<i>T. tauschii</i> scmad	DD
II. Τετραπλοειδή ($2n = 4x = 28$)	
<i>T. dicoccum</i> _Schald	AABB
<i>T. durum</i> Desf	AABB
<i>T. polonicum</i> L.	AABB

Πίνακας 1 (συνέχεια). Ταξινόμηση των διαφόρων ειδών σιτηρών ανάλογα με το επίπεδο πλοειδίας

<i>T. turgidum</i> L.	AABB
<i>T. timopheevi</i> Zhuk.	AAGG
III. Εξαπλοειδή ($2n = 6x = 42$)	
<i>T. spelta</i> L.	AABBDD
<i>T. vulgare</i> Host	AABBDD
<i>T. aestivum</i> L.	AABBDD
<i>T. compactum</i> Host	AABBDD
<i>T. sphaerococcum</i> Perc.	AABBDD

Τα διπλοειδή είδη κατά πάσα πιθανότητα προέρχονται από ένα κοινό γονέα, αλλά με την πάροδο του χρόνου έχουν εξελιχτεί σε τέτοιο βαθμό που τα γενώματά τους είναι διαφορετικά. Τα είδη της τετραπλοειδούς ομάδας είναι αλλοπλοειδή δύο διπλοειδών ειδών, όπως φαίνεται από τη γενωμική τους σύνθεση. Τα εξαπλοειδή είδη προέρχονται από την πρόσθεση ενός τρίτου γενώματος σε ένα τετραπλοειδές είδος.

Ο Jiang το (1993) μετά από σειρά διασταυρώσεων πρότεινε ότι μόνο τα *Triticum speltoides* και *Tr. sharonense* φαίνεται να είναι πραγματικά οι δότες του Β γενώματος. Ένα εξαπλοειδές σιτάρι που μοιάζει με τα σπελτοειδή και δίνει γόνιμα υβρίδια μ' αυτό έχει παραχθεί τεχνητά μετά από τη διασταύρωση του *Triticum turgidum* με το *Triticum tauschii* (Καλτσίκης 1992).

2. 1. 2. Η καλλιέργεια του μαλακού σιταριού.

Οι ελληνικές εδαφικές και κλιματικές συνθήκες ενδείκνυνται για την καλλιέργεια του μαλακού σιταριού η οποία είναι μια από τις σημαντικότερες καλλιέργειες τόσο σε έκταση όσο και σε οικονομική σημασία. Οι συνθήκες αυτές δεν είναι καθόλου σταθερές και παραλλάσσουν πολύ από χρόνο σε χρόνο και από τόπο σε τόπο. Κύριος ρυθμιστής της ανάπτυξης και της απόδοσης των καλλιεργειών του μαλακού σιταριού είναι οι βροχοπτώσεις και

ιδιαίτερα αυτές των μηνών Μαρτίου, Απριλίου και Μαΐου (Ανώνυμος 1991). Όμως, λόγω της μη κανονικής κατανομής του νερού, διαχρονικά και διατοπικά (στον Ελλαδικό χώρο και γενικότερα στα Βαλκάνια) παρατηρείται συχνά η πτώση των αποδόσεων του μαλακού σιταριού.

Οι ελληνικές κλιματολογικές συνθήκες των κεντρικών και νότιων περιοχών ιδιαίτερα, σπάνια επιτρέπουν τη φυσιολογική ωρίμανση των χειμωνιάτικων σιτηρών, των οποίων ο βιολογικός κύκλος συνήθως κλείνει βίαια, κάτω από τις ξηροθερμικές συνθήκες των μηνών Μαΐου και Ιουνίου (Ανώνυμος 1991). Για το λόγο αυτό, ο κύριος όγκος της καλλιέργειας του μαλακού σιταριού συγκεντρώνεται στη Βόρεια Ελλάδα (Θράκη, Μακεδονία, Θεσσαλία). Στην περιοχή αυτή απαντούν οι μεγαλύτερες και ευφορότερες πεδιάδες, ενώ οι προϋποθέσεις άρδευσης και εντατικοποίησης των καλλιεργειών είναι ιδανικές. Το κλίμα τείνει από Μεσογειακό σε Ηπειρωτικό. Ιδιαίτερα στο εσωτερικό της Μακεδονίας και της Θράκης οι βροχοπτώσεις τείνουν να κατανεμηθούν ομαλότερα κατά τη διάρκεια του έτους, καθώς οι βροχές δεν είναι ραγδαίες και μπορούν να διαρκέσουν επί ημέρες. Ο χειμώνας είναι αρκετά δριμύς, με θερμοκρασία κάτω από -20°C , ενώ το καλοκαίρι η ξηρασία και οι υψηλές θερμοκρασίες, προσδίδουν στο κλίμα μεσογειακό χαρακτήρα. Στις περιοχές αυτές το ετήσιο βροχομετρικό ύψος κυμαίνεται από 500mm έως 800mm, με το 1/3 να πέφτει κατά τους μήνες Μάρτιο, Απρίλιο, Μάιο και Ιούνιο, καθώς και οι θερμοκρασίες του αέρα σταθεροποιούνται στους 15°C περί τα μέσα Απριλίου. Για τους λόγους αυτούς, οι περιοχές αυτές είναι οι καταλληλότερες για την καλλιέργεια χειμωνιάτικων σιτηρών και ιδιαίτερα του μαλακού σιταριού χωρίς άρδευση, ενώ παρέχεται και κάποια ασφάλεια για την επίτευξη υψηλών αποδόσεων (Ανώνυμος 1991).

Θα πρέπει να τονιστεί εδώ ότι οι μεσόφιμες ποικιλίες αποδίδουν καλύτερα στη Μακεδονία και τη Θράκη καθώς και στα ημιορεινά, ενώ νοτιότερα αποδίδουν καλύτερα οι πρώιμες ποικιλίες.

2. 1. 2. Η σπουδαιότητα του μαλακού σιταριού.

Η σπουδαιότητα του μαλακού σιταριού έχει να κάνει με τις ιδιότητες της γλουτένης του, μιας ομάδας πρωτεϊνών, που έχουν την ικανότητα να

επιμηκύνονται με την αύξηση του όγκου του ζυμαριού διατηρώντας την συνοχή τους. Επίσης η γλουτένη παγιδεύει το σχηματιζόμενο κατά τη ζύμωση CO₂ και οδηγεί έτσι στη διόγκωση του ζυμαριού. Η ποσότητα και η ποιότητα της γλουτένης είναι οι σπουδαιότεροι παράγοντες της παραγωγής ψωμιού. Οι χρήσεις αυτές, συνδυαζόμενες με την θρεπτική αξία του και με την ικανότητα του σπόρου του να διατηρείται στην αποθήκη για μεγάλα χρονικά διαστήματα, έχουν συντελέσει στο να γίνει το σιτάρι η βασική τροφή για το ένα τρίτο περίπου του πληθυσμού της γης (Καλτσίκης 1992)

Η περιεκτικότητα των σπόρων του σιταριού σε διάφορα θρεπτικά συστατικά παρουσιάζεται στον Πίνακα 2 (Γκόγκας 1991, Ξυνιάς 2001):

Πίνακας 2. Περιεκτικότητα των σπόρων του σιταριού σε θρεπτικές ουσίες

Θρεπτική ουσία	Περιεκτικότητα %
Υδατάνθρακες (άμυλο κυρίως)	(50-80)%
Πρωτεΐνες	(8-15)%
Λίπη	(1,5-2)%
Μέταλλα	(1,5-2)%
Βιταμίνες συμπλέγματος Α	
Βιταμίνες συμπλέγματος Β	

2. 2. Η ΚΛΑΣΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΣΙΤΑΡΙΟΥ

Γενικά η μέθοδος που θα χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση ενός είδους με γεωργικό ενδιαφέρον εξαρτάται από τον τρόπο γονιμοποίησης του . Αν και οι βασικές αρχές είναι κοινές, οι μέθοδοι βελτίωσης διαφοροποιούνται ανάλογα αν το φυτό είναι αυτογονιμοποιούμενο ή σταυρογονιμοποιούμενο. Το σιτάρι είναι ένα τυπικό αυτογονιμοποιούμενο φυτό και για τη βελτίωσή του μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια από τις παρακάτω μεθόδους

2.2.1. Βελτίωση με επιλογή καθαρής σειράς.

Η βελτίωση με την επιλογή καθαρής σειράς περιλαμβάνει 3 στάδια. Στο πρώτο στάδιο επιλέγεται ένας μεγάλος αριθμός φυτών, από ένα πληθυσμό με μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα. Όσο αυξάνεται ο αριθμός μεμονωμένων φυτών που επιλέγονται, τόσο μεγαλώνει και η πιθανότητα ότι ανάμεσά τους περιλαμβάνονται και κάποιοι υπέρτεροι γενότυποι που υπήρχαν στον πληθυσμό. Στο δεύτερο στάδιο καλλιεργούνται σε χωριστές γραμμές οι απόγονοι καθενός από τα φυτά που επελέγησαν στο πρώτο στάδιο και αξιολογούνται με οπτικές παρατηρήσεις. Οι καλύτεροι απόγονοι διαλέγονται, συγκομίζονται και ο σπόρος από τα φυτά της ίδιας σειράς ανακατώνεται για να αποτελέσει το σπόρο της σειράς. Ο σπόρος λοιπόν κάθε σειράς αποτελεί μια διαλογή που τον επόμενο χρόνο θα σπαρθεί σε χωριστή, από τις άλλες διαλογές, σειρά. Για περίπου 3-7 χρόνια θα καλλιεργηθούν έτσι οι διαλογές ώστε κατά την αξιολόγησή τους να απορρίπτονται οι ακατάλληλες και να σπέρνονται κατά τον επόμενο χρόνο όσες διαλέγονται ως καλύτερες. Στο τρίτο και τελικό στάδιο ο βελτιωτής αξιολογεί τις καθαρές σειρές που έμειναν στο τέλος του δευτέρου σταδίου χρησιμοποιώντας τις αρχές του γεωργικού πειραματισμού. Οι καλύτεροι γενότυποι που προκύπτουν από τα εκτεταμένα αυτά πειράματα στο χωράφι απομονώνονται και διαδίδονται για να καλλιεργηθούν ως νέες ποικιλίες, αφού περάσουν τις δοκιμές του Ι. Ε. Π. Κ. Φ. (Παπαθανασίου 1999, Ξυνιάς 2005).

2.2.2. Μαζική επιλογή (Mass selection)

Η μαζική επιλογή μια από τις παλαιότερες μεθόδους γενετικής βελτίωσης. Βασικά χαρακτηριστικά της είναι ότι ο σπόρος των επιλεγμένων φυτών προέρχεται από ελεύθερη επικονίαση (χωρίς έλεγχο προέλευσης της γύρης) και ότι η μέθοδος αυτή βασίζεται στη φαινοτυπική επιλογή. Συνεπώς, η μαζική επιλογή είναι ένα είδος επιλογής με τυχαία διασταύρωση (Καλτσίκης 1985). Με βάση τον φαινότυπο με τη μέθοδο αυτή επιλέγονται και συγκομίζονται μεμονωμένα φυτά που εκδηλώνουν επιθυμητά γνωρίσματα και στη συνέχεια το προϊόν ανακατώνεται αποτελώντας έτσι το σπόρο της επόμενης γενεάς. Παρόλα αυτά, σκοπός της είναι να αυξηθεί στον πληθυσμό η συχνότητα των γενότυπων με ανώτερα χαρακτηριστικά. Η αποτελεσματικότητα με την οποία επιτυγχάνεται ο σκοπός αυτός εξαρτάται κυρίως από την ακρίβεια με την οποία ο φαινότυπος αντανακλά τον γενότυπο. Η μαζική επιλογή με βάση το φαινότυπο είναι μια μέθοδος κατά την οποία μεμονωμένα φυτά που εκδηλώνουν επιθυμητά χαρακτηριστικά επιλέγονται, συγκομίζονται και το προϊόν ανακατώνεται χωρίς να γίνει έλεγχος από τους απογόνους για να αποτελέσει το σπόρο της επόμενης γενεάς. Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου εξαρτάται από το πόσο επηρεάζεται το χαρακτηριστικό από το περιβάλλον.

Η κυριότερη διαφορά μεταξύ της επιλογής καθαρών σειρών και της μαζικής επιλογής στα αυτογονιμοποιούμενα φυτά είναι ο αριθμός των καθαρών σειρών που διατηρούνται στην τελική ποικιλία, η οποία θα δοθεί για καλλιέργεια στους παραγωγούς. Στη μαζική επιλογή η πλειονότητα των σειρών, που επελέγησαν αρχικά, είναι πιθανόν να περιέχονται στην καινούργια ποικιλία, που θα είναι μίγμα πολλών διαφορετικών ομοζύγων γενότυπων. Με τη μαζική επιλογή σκοπός του βελτιωτή είναι η βελτίωση του γενικού επιπέδου του πληθυσμού και ο σκοπός αυτός εξυπηρετείται με την επιλογή και ανάμιξη των καλύτερων τύπων φυτών που υπάρχουν στον πληθυσμό και τον αποκλεισμό των μειονεκτικών. Ένας αποτελεσματικός τρόπος για να μειωθεί η επίδραση του περιβάλλοντος στην αποτελεσματικότητα της μαζικής επιλογής ως μεθόδου βελτίωσης είναι ο χωρισμός του πειραματικού αγρού σε υπομονάδες και η επιλογή των φυτών να γίνεται μέσα από τις υπομονάδες αυτές.

Μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι κυρίως τα εξής:

- α) η ανικανότητα αναγνώρισης του γενότυπου από το φαινότυπο μεμονωμένων φυτών,
- β) η μη ελεγχόμενη επικονίαση, με αποτέλεσμα τα φυτά που επιλέγονται να έχουν γονιμοποιηθεί αδιάκριτα με γύρη που προέρχεται από υπέρτερα ή μειονεκτικά φυτά,
- γ) η αυστηρή επιλογή που οδηγεί σε μικρότερο πληθυσμό με συνέπεια την αύξηση της ομομιξίας και την εμφάνιση ενδεχομένης καχεξίας.

Τα βασικά πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η απλότητά της και η ευκολία στην εφαρμογή της καθώς και το ότι μπορούν να δημιουργηθούν καινούργιες ποικιλίες σχετικά γρήγορα. Ακόμα, η μαζική επιλογή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διατήρηση της καθαρότητας των ποικιλιών, τόσο στα σταυρογονιμοποιούμενα φυτά όσο και στα αυτογονιμοποιούμενα φυτά.

2.2.3. Γενεαλογική επιλογή (pedigree selection)

Η γενεαλογική επιλογή είναι η μέθοδος επιλογής των καλύτερων γενότυπων με βάση τόσο το φαινότυπο του ατομικού φυτού όσο και τη συμπεριφορά των απογόνων του (Υφούλης 1983). Στα προγράμματα γενεαλογικής επιλογής καταβάλλεται φροντίδα ώστε να καταγραφούν ακριβή στοιχεία για τα γνωρίσματα των φυτών και την προέλευσή τους. Έτσι ώστε για κάθε επιλογή να μπορεί να βρεθεί ολόκληρη η γενεαλογική καταγωγή του ατόμου μέχρι και τους αρχικούς γονείς. Επίσης είναι δυνατή η σύγκριση μεταξύ συγγενικών ατόμων (ή οικογενειών) σε κάθε γενεά.

Η εφαρμογή της γενεαλογικής επιλογής δίνει καλύτερα αποτελέσματα από την μαζική διότι συν της άλλης επιβάλλει και τον έλεγχο της κληρονομικότητας του επιλεγόμενου γενότυπου. Επίσης καταλήγει είτε σε κάποια καινούργια ποικιλία, καθαρής σειράς, είτε σε κάποιο μίγμα τέτοιων καθαρών σειρών (Καλτσίκης 1985). Βασικός αντικειμενικός σκοπός της γενεαλογικής επιλογής είναι ο συνδυασμός των επιθυμητών γονιδίων που βρίσκονται σε δύο ή περισσότερους γενότυπους σε μία νέα εξέχουσα ποικιλία.

2.2.4. Μέθοδος μίνυατος (Bulk selection)

Η μέθοδος αυτή προϋποθέτει την εκλογή των κατάλληλων γονέων πριν από τη διασταύρωση καθώς και την ασφαλή επιλογή των καλύτερων γενότυπων ανάμεσα στους απογόνους της διασταύρωσης, στις διαδοχικές γενεές. Κυρίως αναφέρεται στον τρόπο με τον οποίο γίνεται ο χειρισμός του διασπώμενου υλικού που προέρχεται από τις διασταυρώσεις που προηγήθηκαν (Παπαθανασίου 1999, Ξυνιάς 2005).

Η μέθοδος μίγματος διαφέρει από τη γενεαλογική επιλογή στο ότι τα φυτά που επιλέγονται στις πρώτες διασπώμενες γενεές συγκομίζονται μαζί και το προϊόν αναμιγνύεται για να αποτελέσει το σπόρο της επόμενης γενεάς αντί να αξιολογούνται το καθένα χωριστά με ιδιαίτερη γραμμή απογόνων. Στα μίγματα αυτά αφήνεται να επιδράσει η φυσική επιλογή για να αποκλείσει τα μειονεκτικά φυτά, ενώ ταυτόχρονα ο βελτιωτής με την τεχνητή επιλογή αυξάνει τη συχνότητα παρουσίας στα μίγματα των καλύτερων γενοτύπων βελτιώνοντας έτσι τον πληθυσμό γενικά.

2.2.5. Μέθοδος καταγωγής από μεμονωμένους σπόρους.

Η μέθοδος αυτή είναι μια μέθοδος επιλογής για χαρακτηριστικά με μικρό συντελεστή κληρονομικότητας, καθώς είναι μια τροποποίηση, μεγαλύτερης αποτελεσματικότητας, της γενεαλογικής επιλογής. Κεντρική ιδέα της μεθόδου αυτής είναι να μη γίνεται καμία επιλογή στην F_2 και στις επόμενες γενεές αφού η αποτελεσματικότητα της επιλογής είναι αμφίβολη.

Συνεπώς σκοπός της κάθε γενεάς θα είναι να προωθήσει ένα αριθμό φυτών σε προχωρημένες γενεές αυτογονιμοποίησης για να σταθεροποιηθούν τα χαρακτηριστικά τους. Όταν τα φυτά φτάσουν σε ικανοποιητικό βαθμό ομοζυγωτίας τότε γίνεται η επιλογή. Η μέθοδος αυτή δεν απαιτεί την τήρηση γενεαλογικών βιβλίων και αυτό την κάνει εύκολη και απλή καθώς και επιταχύνει τη διαδικασία βελτίωσης.

Μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί το γεγονός ότι κάθε ένα φυτό που παίρνεται στην τύχη από τους απογόνους του κάθε φυτού δεν έχει

απαραίτητα και τον καλύτερο γενότυπο, ειδικά όταν οι διασπάσεις συνεχίζονται και στους απογόνους (Παπαθανασίου 1999, Ξυνιάς 2005).

2.2.6. Μέθοδος αναδιασταύρωσης (Back-cross selection)

Η μέθοδος αναδιασταύρωσης είναι ένας ασφαλής τρόπος για να βελτιωθούν ποικιλίες που έχουν ένα μεγάλο αριθμό ευνοϊκών γνωρισμάτων ενώ μειονεκτούν σε ένα ή δύο γνωρίσματα (Παπαθανασίου 1999, Ξυνιάς 2005).

Συνεπώς είναι μια μέθοδος επιλογής κατά την οποία γίνονται διαδοχικές διασταυρώσεις με τον ένα γονέα και αποβλέπει στην ενσωμάτωση ενός πολύ καλού χαρακτηριστικού σε μια επιθυμητή κατά τα άλλα ποικιλία. Από τους δύο γονείς που διασταυρώνονται ο πρώτος ονομάζεται *επαναλαμβανόμενος* γονέας και είναι μια καλή ποικιλία με μεγάλη προσαρμοστικότητα, καλή ποιότητα και πολλά άλλα επιθυμητά γνωρίσματα. Ο δεύτερος γονέας που είναι μια ποικιλία η οποία έχει ένα-δύο πολύτιμα γνωρίσματα που τα στερείται ο πρώτος γονέας, ονομάζεται *δότης* γονέας και είναι αυτός που δωρίζει μόνο αυτό το χαρακτηριστικό χωρίς ο υπόλοιπος γενότυπος του να συμμετέχει στο προϊόν της αναδιασταύρωσης. Σκοπός της μεθόδου αυτής είναι να μεταφερθούν το ή τα επιθυμητά γνωρίσματα από το *δότη* στον *επαναλαμβανόμενο* γονέα και συγχρόνως τα καλά γνωρίσματα του τελευταίου να διατηρηθούν.

2.2.7. Πολλαπλές διασταυρώσεις

Όταν ο βελτιωτής θέλει να συνδυάσει σε μια ποικιλία πολλά γνωρίσματα που βρίσκονται σε περισσότερους από δύο διαφορετικούς γονείς, τότε χρησιμοποιούνται οι πολλαπλές διασταυρώσεις. Στις διασταυρώσεις αυτές το προϊόν της διασταύρωσης δύο γονέων διασταυρώνεται με ένα τρίτο γονέα ή με την F_1 που προήλθε από διασταύρωση δύο άλλων γονέων κ. ο. κ. Λόγω όμως των διασπάσεων που αρχίζουν να εμφανίζονται από την F_1 γενεά και μετά, η πιθανότητα να βρεθούν ευνοϊκοί συνδυασμοί γονιδίων μετά από μια διασταύρωση

$F_1 \times F_1$ είναι μικρότερη από ότι στην F_2 μετά την αυτογονιμοποίηση μιας F_1 . Για τον λόγο αυτό η τεχνική αυτή δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται αν πρόκειται να συνδυαστούν περισσότερα από 10 επιθυμητά γονίδια. Στην περίπτωση που επιχειρηθεί να συνδυαστούν περισσότερα από 10 γονίδια είναι πιθανό κάποια από αυτά να χαθούν σε κάποια από τις πολλές διασταυρώσεις. Οι πολλαπλές διασταυρώσεις δεν αποτελούν μια ολοκληρωμένη τεχνική από μια διαδικασία με την οποία μπορούν να αντικατασταθούν τα στάδια επιλογής γονέων και δημιουργίας διασπώμενου γενετικού υλικού με μεγάλη παραλλακτικότητα. Στο υλικό αυτό η επιλογή και η αξιολόγηση μπορεί να συνεχισθεί με μια οποιαδήποτε άλλη τεχνική (Παπαθανασίου 1999, Ξυνιάς 2005).

2.2.8. Παρανωγή υβριδίων

Η παραγωγή του σπόρου ενός υβριδίου γίνεται με τη διασταύρωση των γονέων του (Παπαθανασίου 1999, Ξυνιάς 2005).

Εμπορικό υβρίδιο: είναι η παραγωγή F_1 πληθυσμών για να χρησιμοποιηθούν για εμπορική καλλιέργεια. Η σταθερότητα των γονέων (δηλαδή να είναι καθαρές σειρές) εξασφαλίζει την ομοιομορφία όλων των σπόρων του F_1 υβριδίου. Όμως, F_1 υβρίδια μπορεί να παράγονται και με διασταυρώσεις κλώνων, ποικιλιών, πληθυσμών ανοιχτής επικονίασης, πράγμα που δεν είναι επιθυμητό για τη μέθοδο αυτή. Η διαδικασία παραγωγής υβριδίων περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια:

- A) Επιλογή των επιθυμητών φυτών από ετεροζύγωτο πληθυσμό.
- B) Αυτογονιμοποίηση των φυτών αυτών και επιλογή επί σειρά γενεών, για τη δημιουργία καθαρών σειρών που θα χρησιμοποιηθούν ως γονείς των υβριδίων.
- Γ) Διασταύρωση των καθαρών σειρών και αξιολόγηση των παραγόμενων υβριδίων.

Πλεονεκτήματα των υβριδίων είναι η ετέρωση (αυξημένη ευρωστία), η ομοιομορφία των φυτών σε όλα τα γνωρίσματά τους, η συμπληρωματική

δράση γονιδίων, η οποία έχει ως αποτέλεσμα το συνδυασμό των επιθυμητών χαρακτηριστικών των δυο γονέων. Τα υβρίδια στο σιτάρι, παρά τις επαναλαμβανόμενες προσπάθειες που έχουν γίνει, δεν έχουν καταφέρει να μπουκ στην παραγωγή λόγω του αυξημένου κόστους παραγωγής των γονικών σειρών.

2.2.9. Επανεπιλογή

Η εφαρμογή της επανεπιλογής προϋποθέτει αρκετές διασταυρώσεις με σκοπό να συγκεντρωθούν τα επιθυμητά γονίδια για ένα ποσοτικό γνώρισμα του πληθυσμού χωρίς απώλεια της γενετικής παραλλακτικότητας του (Παπαθανασίου 1999, Ξυνιάς 2005). Με τη μέθοδο αυτή βελτιώνεται το γενικό επίπεδο του πληθυσμού για το συγκεκριμένο ποσοτικό γνώρισμα. Η αποτελεσματικότητά της μεθόδου εξαρτάται από τη δυνατότητά της να διακρίνει σε ένα πληθυσμό τα φυτά εκείνα που έχουν τα επιθυμητά γνωρίσματα.

Ανάλογα με τον τρόπο επιλογής φυτών που φέρουν τα επιθυμητά γνωρίσματα διακρίνονται οι εξής τύποι:

- Απλή επανεπιλογή
- Επανεπιλογή για γενική συνδυαστική ικανότητα
- Επανεπιλογή για ειδική συνδυαστική ικανότητα
- Αμοιβαία επανεπιλογή

Οι παραπάνω τύποι επανεπιλογής περιλαμβάνουν δυο φάσεις για κάθε κύκλο:

A) η φάση της επιλογής, όπου αποβλέπει στο να διαχωρίσει τα φυτά εκείνα που έχουν τα επιθυμητά γονίδια, ώστε με την επιλογή να αυξηθεί η συχνότητά τους για το ποσοτικό γνώρισμα που επιδιώκεται να βελτιωθεί.

B) η φάση του ανασυνδυασμού των επιλεγμένων φυτών, όπου σταυρογονιμοποιούνται μεταξύ τους, ούτως ώστε να ανασυνδυαστούν τα επιθυμητά γονίδια και συγχρόνως να μην γίνει αυτογονιμοποίηση ή γονιμοποίηση συγγενών φυτών, που θα οδηγούσε σε ομοζυγωτικό εκφυλισμό. Συνεπώς, επιδιώκεται τα ευνοϊκά γονίδια που υπάρχουν σε μερικά φυτά, να συνδυαστούν με τα ευνοϊκά γονίδια άλλων φυτών.

Σε σύγκριση με τις άλλες μεθόδους επιλογής, το πλεονέκτημα της επανεπιλογής είναι ότι το ανώτατο επίπεδο για την απόκτηση καθαρών σειρών με τη βελτίωση δεν καθορίζεται από το γενότυπο ενός μόνο φυτού, που επιλέχτηκε αρχικά, αλλά από τον πιο καλύτερο συνδυασμό των γονιδίων που περιέχονται στον πληθυσμό των φυτών. Επίσης είναι δυνατόν να διατηρηθεί μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα, η οποία θα προσφέρεται για αποτελεσματικότερη εφαρμογή της επιλογής για περισσότερα χρόνια.

2.2.10. Συνθετικές ποικιλίες

Συνθετική ποικιλία είναι αυτή που προέρχεται από τη διασταύρωση ενός αριθμού γενότυπων επιλεγμένων για την καλή συνδυαστική τους ικανότητα σε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς υβριδίων και φανερώνει ένα πληθυσμό τεχνητά παραγόμενο ή μια ποικιλία που συντίθεται τεχνητά από το βελτιωτή (Παπαθανασίου 1999, Ξυνιάς 2005).

Συνθετικές ποικιλίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν στις περιπτώσεις φυτών που εκδηλώνουν αξιόλογη ετέρωση αλλά η παραγωγή κάθε χρόνο σπόρου F₁ γενεάς είναι πρακτικά αδύνατη ή ασύμφορη.

Μόνο οι γενότυποι (όπου μπορεί να είναι καθαρές σειρές, κλώνοι, επιλεγμένοι πληθυσμοί, κ. τ. λ.) που συνδυάζονται καλά μεταξύ τους σε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία της συνθετικής ποικιλίας, καθώς παράγουν και ορισμένο αριθμό υβριδίων. Η συνθετική ποικιλία διατηρείται με ανοιχτή γονιμοποίηση καθώς διατηρείται σταθερή από γενεά σε γενεά χωρίς να αλλοιώνονται τα χαρακτηριστικά της.

Η διαφορά μεταξύ μιας συνθετικής ποικιλίας και μιας ποικιλίας από μαζική επιλογή βρίσκεται στον τρόπο με τον οποίο επιλέγονται οι γενότυποι που τις απαρτίζουν.

Το βασικό πλεονέκτημα των συνθετικών ποικιλιών είναι ότι ο γεωργός δεν είναι υποχρεωμένος να προμηθεύεται κάθε χρόνο καινούργιο σπόρο υβριδίων. Το μειονέκτημα από την άλλη μεριά είναι ότι η συμπεριφορά της συνθετικής ποικιλίας υπολείπεται από τη συμπεριφορά της καλύτερης F₁.

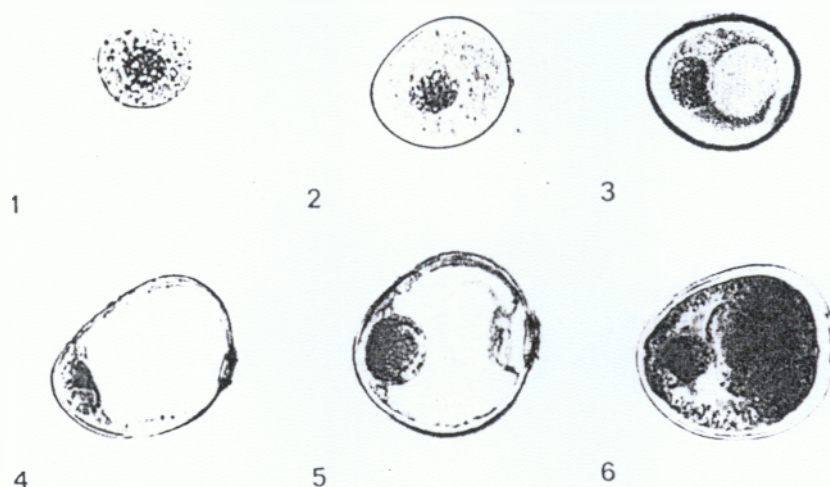
2. 3. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

2.3.1. Μέθοδος της *in-vitro* καλλιέργειας ανθέρων (ή *in-vitro* καλλιέργειας γύρης)

Η πιο διαδεδομένη τεχνική για παραγωγή απλοειδών φυτών είναι η *in-vitro* καλλιέργεια ανθέρων (Ζαμάνη κ. ά. 2000). Η ευρεία χρήση της οφείλεται στο γεγονός ότι ο ανασυνδυασμός των γονιδίων κατά τη διάρκεια της μείωσης εκφράζεται στα φυτά που προκύπτουν από την *in-vitro* διαδικασία. Έτσι βελτιώνεται η ικανότητα επιλογής σε σχετικά μικρούς πληθυσμούς (Griffing 1975). Η επιλογή κατάλληλων γονέων μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των απλοειδών φυτών που θα παραχθούν από την F₁ γενεά (Lazar κ. ά. 1984, Bjornstad, κ. ά. 1989, Hassawi κ. ά. 1990, Masojc κ.α. 1993).

Με την καλλιέργεια ανθέρων παράγονται απλοειδή φυτά, δηλαδή φυτά που έχουν χρωμοσωματικό αριθμό του ενός γαμέτη και συνεπώς είναι *στείρα*. Όμως ο αριθμός των χρωμοσωμάτων τους αυτοδιπλασιάζεται σε ένα ποσοστό από 25-60%. Με τον τρόπο αυτό αποκτώνται 100% ομοζύγωτες σειρές, που είναι απαραίτητες για τη διαδικασία βελτίωσης των φυτών, τόσο των αυτογονιμοποιούμενων όσο και των σταυρογονιμοποιούμενων. Οι σειρές που προκύπτουν με τον τρόπο αυτό ονομάζονται *διαπλοειδείς*. Όσα φυτά μιας διαπλοειδούς σειράς είναι ομοζύγωτα ως προς κάποιο/α θανατηφόρο/α υποτελές/η γονίδιο/α δεν μπορούν να επιβιώσουν (Ξυνιάς 2000). Μόνο ευνοϊκοί συνδυασμοί επιβιώνουν καθώς πολλαπλασιάζονται και αξιολογούνται ως προς διάφορα αγρονομικά γνωρίσματα.

Η τεχνική καλλιέργειας ανθέρων ακολουθεί κατά βάση τη διαδικασία που εφαρμόζεται στην ιστοκαλλιέργεια για αναγέννηση φυτών. Ολόκληροι ανθήρες του φυτού καλλιεργούνται σε στερεό ή (υγρό) θρεπτικό υπόστρωμα εμπλουτισμένο με κατάλληλες βιταμίνες, ορμόνες, κτλ. Γενικά το στάδιο μέσου έως τελευταίου μονοπύρηνου μικροσπορίου είναι το καταλληλότερο για την παραγωγή απλοειδών φυτών (He και Ouyang 1984, Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Στάδια ανάπτυξης μικροσπορίων: 1, 2 πρώιμο μονοπύρηνο, 3, μέσο μονοπύρηνο, 4, τελευταίο μονοπύρηνο, 5, προμιτωτικό, 6, διπύρηνο. (Προσαρμογή από Ξυνιάς 2004)

Η καλλιέργεια της γύρης έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή εμβρυοειδών δομών, είτε απευθείας όπως πχ. στον καπνό, είτε διαμέσου της παραγωγής κάλου, όπως πχ. στο κριθάρι (όπου η καλλιέργεια μεταφέρεται σε υπόστρωμα κατάλληλο για αναγέννηση φυτών). Τα παραγόμενα νεαρά φυτάρια (απλοειδή) μεταφέρονται από το περιβάλλον της ιστοκαλλιέργειας στο θερμοκήπιο για πλήρη ανάπτυξη. Η δημιουργία απλοειδών φυτών σιταριού διαμέσου της καλλιέργειας ανθέρων παρουσιάστηκε για πρώτη φορά το 1973 από τρεις διαφορετικές ομάδες (Ouyang *κ.α* 1983 , Picard και De Buyser 1977). Από τότε έως σήμερα, γίνονται προσπάθειες βελτίωσης της τεχνικής αυτής. Αποτέλεσμα της προσπάθειας αυτής ήταν να αυξηθεί το ποσοστό εμβρυοειδών δομών που παράγονται από τους καλλιεργούμενους ανθήρες καθώς και το ποσοστό παραγωγής πράσινων φυτών.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή απλοειδών φυτών κατά την καλλιέργεια ανθέρων είναι οι εξής (Nitsch και Nitsch 1969, Orlov *κ. ά.* 1993):

- Είδος του φυτού

- Φυσιολογική κατάσταση των αρχικών φυτών καθώς και ο γενότυπος των φυτών αυτών αφού υπάρχουν ποικιλίες που αντιδρούν καλά στην καλλιέργεια των ανθέρων και άλλες που εμφανίζουν ποσοστά παραγωγής εμβρυοειδών δομών και πράσινων φυτών κατά πολύ μειωμένων (Ζαμάνη 2001)
- Οι μεταχειρίσεις των ανθέρων πριν από την *in-vitro* καλλιέργεια (μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανθήρες από φυτά που έχουν καλλιεργηθεί στο θερμοκήπιο ή στο χωράφι). Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι ανθήρες από τον ίδιο γενότυπο έχουν διαφορετική αντίδραση στην καλλιέργεια εάν και εφόσον τα φυτά έχουν αναπτυχθεί σε διαφορετικό περιβάλλον (Ouyang κ.ά 1983, Ouyang 1986, Ouyang κ. ά. 1987).
- Το στάδιο ανάπτυξης της νύρης κατά την έναρξη της *in-vitro* καλλιέργειας
- Στάδιο κοπής στάξεων. Η κοπή των στάξεων πριν τη διαδικασία της καλλιέργειας ανθέρων γίνεται με την έναρξη της έκπτυξης του στάξεως από τον κολεό του τελευταίου φύλλου.
- Το στάδιο στο οποίο βρίσκονται τα μικροσπόρια όταν τοποθετούνται στο υπόστρωμα οι ανθήρες παίζει ρόλο στην αποτελεσματικότητα της μεθόδου (Herberle – Bors 1985). Καταλληλότερο στάδιο στο οποίο θα πρέπει να βρίσκονται τα μικροσπόρια για την εφαρμογή της καλλιέργειας ανθέρων είναι αυτό πριν την πρώτη μιτωτική διαίρεση (δηλαδή στο μέσο ή στο τέλος του μονοπύρηνου σταδίου, βλέπε Εικόνα 1).
- Η ύπαρξη ή μη αυξορρυθμιστικών ουσιών στο θρεπτικό υπόστρωμα. Το θρεπτικό υπόστρωμα περιλαμβάνει ανόργανα άλατα, βιταμίνες, ορμόνες, σάκχαρα και παράγοντες σταθεροποίησης. Αποφασιστική είναι η προσθήκη σουκρόζης σε μεγάλη συγκέντρωση διότι αυξάνει το οσμωτικό δυναμικό του υποστρώματος και οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των πράσινων φυτών, ενώ ταυτοχρόνως μειώνει τον αριθμό των αλβίνων φυτών (Ζαμάνη 2001). Βελτίωση της αντίδρασης στην *in-vitro* καλλιέργεια ανθέρων στο μαλακό σιτάρι παρατηρείται όταν το pH μειώνεται από 5,8 σε 4-4,5.
- Οι συνθήκες περιβάλλοντος (Marcinska κ. ά. 1999, Ζαμάνη κ. ά. 2001, Χηγίας κ. ά. 2001) όπου ο υπερβολικός φωτισμός δημιουργεί αρνητικά

αποτελέσματα καθώς η ικανοποιητική ένταση φωτός είναι 500-2000/x για την δημιουργία πράσινων βλαστών (Henry και De Buyser 1990). Άριστη θερμοκρασία για την *in-vitro* καλλιέργεια ανθέρων μαλακού σπαριού είναι από 28 έως 32 C° , αυτό όμως εξαρτάται από τον γενότυπο και τις συνθήκες καλλιέργειας του φυτού.

Έτσι, εάν αν τηρηθούν οι άριστες συνθήκες των ανωτέρω παραγόντων αναμένεται ικανοποιητική αναγέννηση φυτών, η οποία μπορεί να φτάσει σε ποσοστό 1-2% του συνολικού αριθμού γύρης που καλλιεργείται στο υπόστρωμα (Pauk κ. ά. 1991, Puolimatka κ. ά. 2000).

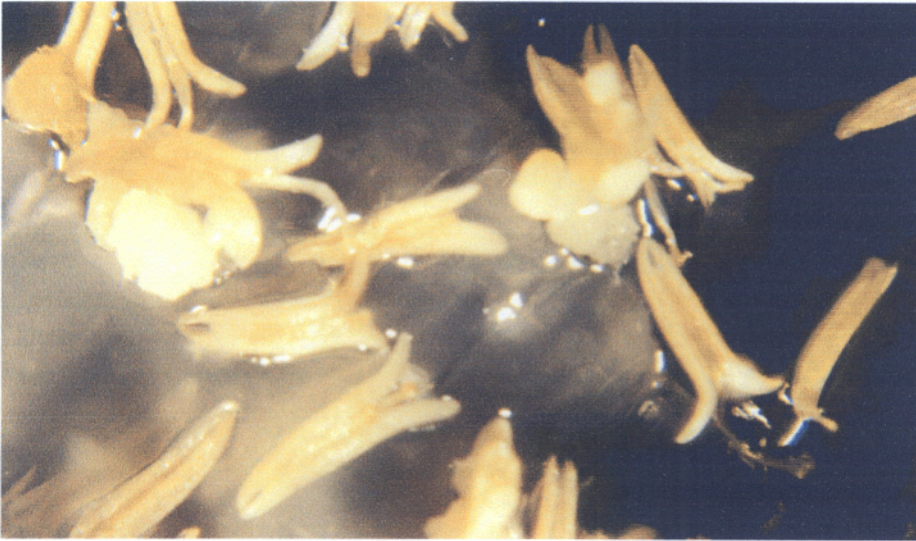
Το κυριότερο πλεονέκτημα της τεχνικής της καλλιέργειας ανθέρων είναι η επιτάχυνση της διαδικασίας με την οποία δημιουργείται μια 100% καθαρή σειρά. Επίσης, σπουδαίο πλεονέκτημα είναι ο γρήγορος εντοπισμός και η απομάκρυνση όλων των μειονεκτικών ή προβληματικών φυτών (Ξυνιάς 2000). Αντιθέτως, η τεχνική αυτή είναι πολύ εξειδικευμένη και κατά συνέπεια απαιτείται ειδικευμένο προσωπικό και εργαστηριακές εγκαταστάσεις που καθιστούν υψηλό κόστος του βελτιωτικού αυτού προγράμματος.

Επίσης, οι μικρότερες ευκαιρίες γενετικού ανασυνδυασμού που έχουν οι γενότυποι είναι ίσως το κυριότερο μειονέκτημα της καλλιέργειας ανθέρων (Ξυνιάς 2000).

2.3.2. Τα στάδια της *in-vitro* καλλιέργειας ανθέρων

Η διαδικασία της *in-vitro* καλλιέργειας ανθέρων αποτελείται από τέσσερα στάδια (Raina 1997, Ξυνιάς 2000):

- A) Επιλογή των στάξεων των φυτών από το χωράφι, παρατήρηση του σταδίου των μικροσπορίων στο μικροσκόπιο.
- B) Τοποθέτηση των ανθέρων στο υπόστρωμα εκκίνησης (Εικόνα 2).
- Γ) Μεταφορά των παραγόμενων εμβρυοειδών δομών στο υπόστρωμα αναγέννησης (Εικόνα 3).
- Δ) Μεταφορά των νεαρών πράσινων φυταρίων στο υπόστρωμα ριζοβολίας (Εικόνα 4), φύτεμα των καλύτερα διαμορφωμένων σε γλάστρες και τοποθέτησή τους στον θάλαμο ανάπτυξης φυτών (Εικόνα 5).



Εικόνα 2. Ανθήρες μαλακού σιταριού σε υπόστρωμα εκκίνησης. Διακρίνονται εμβρυοειδείς δομές (Προσαρμογή από Ξυνιάς 2000).



Εικόνα 3. Εμβρυοειδή που έχουν αντιδράσει στην καλλιέργεια ανθών. (Προσαρμογή από Ξυνιάς 2000).



Εικόνα 4. Μεταφορά των νεαρών πράσινων φυταρίων στο υπόστρωμα ριζοβολίας. (Προσαρμογή από Ξυνιάς 2000).



Εικόνα 5. Φύτεμα των καλύτερα αναπτυγμένων φυτών σε γλάστρες και τοποθέτησή τους στον θάλαμο ανάπτυξης φυτών. (Προσαρμογή από Ξυνιάς 2000).

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. Φυτικό υλικό

Ως πειραματικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν 38 διαφορετικές διπλοειδείς σειρές μαλακού σιταριού. Οι σειρές αυτές προέρχονται από τη διασταύρωση μεταξύ των ποικιλιών μαλακού σιταριού, Αχελώος × Βεργίνα, και έχουν δημιουργηθεί στο Ινστιτούτο Σιτηρών Θεσσαλονίκης.

Η ποικιλία Αχελώος έχει τα παρακάτω αγρονομικά και φυσιολογικά γνωρίσματα (Ανώνυμος 1991): Είναι όψιμη ποικιλία, με μέτριο έως πλούσιο αδελφωμα και παρουσιάζει καλή αντοχή στο πλάγιασμα. Επιπλέον, παρουσιάζει καλή ανθεκτικότητα τόσο στον παγετό της άνοιξης, όσο και του χειμώνα. Έχει καλή προσαρμοστικότητα σε γόνιμα εδάφη και είναι ανοιξιάτικη ποικιλία, με καλή σταθερότητα απόδοσης (Μ. Ο. 465 κιλά /στρ.). Το βάρος 1.000 κόκκων κυμαίνεται από 31 ως 41 g, ενώ το ποσοστό της περιεχόμενης πρωτεΐνης κυμαίνεται από 13 ως 16%. Ως προς τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της έχει μέσο ύψος γύρω στα 80-100 cm, ο στάχυς της είναι κόκκινος – ροπαλοειδής με συμπαγή κορυφή, καθώς και αγανώδης και συμπαγής, με σπόρο κιτρινόλευκο και ωοειδή.

Η ποικιλία Βεργίνα έχει τα παρακάτω αγρονομικά και φυσιολογικά γνωρίσματα: Είναι μεσοόψιμη ποικιλία με μέτριο έως πλούσιο αδελφωμα και παρουσιάζει πολύ καλή αντοχή στο πλάγιασμα. Επιπλέον, παρουσιάζει καλή ανθεκτικότητα στον παγετό της άνοιξης, καθώς και πολύ καλή ανθεκτικότητα στον παγετό του χειμώνα. Έχει καλή προσαρμοστικότητα σε ποικίλα εδάφη και είναι ανοιξιάτικη ποικιλία, με πολύ καλή σταθερότητα απόδοσης (Μ. Ο. 445 κιλά /στρ.). Το βάρος 1.000 κόκκων κυμαίνεται από 31 ως 41 g, ενώ το ποσοστό της περιεχόμενης πρωτεΐνης κυμαίνεται από 11 ως 15%. Ως προς τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της έχει μέσο ύψος γύρω στα 93-107 cm, ο στάχυς της είναι λευκός - παράλληλος με οξύ άκρο, μέτρια χαλαρός με μικρά αγανίδια. Ο σπόρος της είναι κόκκινος και ελλειπτικός.

Σπόροι από τις παραπάνω διπλοειδείς σειρές σπάρθηκαν σε Jiffy στις 11 Δεκεμβρίου 2003 σε αίθουσα εργαστηρίου του Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας. Ο πειραματικός αγρός (αγρόκτημα του Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας) προετοιμάστηκε

κατάλληλα με φρεζάρισμα και στη συνέχεια με πάτημα του εδάφους, Τα νεαρά φυτάρια (μετά την έκπτυξη του δεύτερου φύλλου) μεταφέρθηκαν στον πειραματικό αγρό για φύτευση, η οποία έγινε στις 12 Ιανουαρίου 2004.

Πιο συγκεκριμένα, για να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα της ετερογένειας του εδάφους, χρησιμοποιήθηκαν 5 σπόροι από κάθε διαφορετική σειρά, δηλαδή $5 \times 38 = 190$ σπόροι, οι οποίοι σπάρθηκαν σε δέκα γραμμές (δέκα εννέα φυτά ανά γραμμή σποράς). Οι γραμμές είχαν απόσταση μεταξύ τους 50 cm, ενώ οι αποστάσεις των φυτών επί της γραμμής ήταν 20 cm.

Κατά τη φύτευση, στις 12 Ιανουαρίου 2004, εφαρμόστηκε βασική λίπανση στον πειραματικό αγρό. Ο τύπος λιπάσματος που χρησιμοποιήθηκε ήταν 20-10-0 υπό μορφή φωσφορικής αμμωνίας. Ακολούθησε επιφανειακή λίπανση κατά το αδελφωμα στις 31 Μαρτίου 2004, όπου ο τύπος λιπάσματος που χορηγήθηκε ήταν 33.5-0-0 υπό μορφή νιτρικής αμμωνίας. Ταυτόχρονα με την επιφανειακή λίπανση άρχισε και το ξεβοτάνισμα, ούτως ώστε να διατηρείται ο πειραματικός αγρός καθαρός από ζιζάνια. Περί τα τέλη Μαΐου έγινε στα φυτά εντομοκτονία (χρησιμοποιήθηκε το εντομοκτόνο Dimetron) για την καταπολέμηση της αφίδας. Κατά την περίοδο του ξεσταχυάσματος των φυτών (Απρίλιος του 2004), ο πειραματικός αγρός καλύφθηκε με ειδικό δίχτυ για την προστασία των διαπλοειδών σειρών από τα πουλιά (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Τα διαπλοειδή καλυμμένα με το ειδικό δίχτυ προστασίας από τα πουλιά. (Φωτογραφία Ι. Ν. Ξυνιάς).

3.2. Παρατηρήσεις

Μελετήθηκαν επτά αγρονομικά γνωρίσματα. Αναλυτικότερα έγιναν μετρήσεις ως προς το:

α. Αδέλφωμα

Αδέλφωμα είναι ο αριθμός των στελεχών που εκπτύσσονται ανά φυτό. Στις 31 Μαρτίου 2004 καταγράφηκε ο αριθμός των αδελφιών των φυτών κάθε μιας από τις διαπλοειδείς σειρές.

β, Ξεστάχιασμα

Κατά το ξεστάχιασμα αναγράφεται η ημερομηνία κατά την οποία το 50% των στάχων έχουν βγει από τον κολεό του τελευταίου φύλλου. Το ξεστάχιασμα λήφθηκε τον Απρίλιο του 2004, όπου ύστερα από ένα δεκαπενθήμερο συνεχούς παρακολούθησης του πειραματικού αγρού καταγράφηκε η ημερομηνία ξεσταχυάσματος για κάθε φυτό.

γ) Αριθμός στάχων

Στις 20 Ιουνίου 2004 έγινε η κοπή των στάχων. Ύστερα οι στάχες κάθε φυτού μετρήθηκαν και τοποθετήθηκαν σε χάρτινες σακούλες. Στις σακούλες αυτές αναγραφόταν ο κωδικός του γενότυπου και ο αριθμός του όρχου, για κάθε ένα φυτό χωριστά. Η καταμέτρηση του αριθμού των στάχων ανά φυτό, ολοκληρώθηκε στο εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών του ΤΕΙ Καλαμάτας περί τα τέλη Ιουνίου.

δ) Μήκος στάχων

Μήκος στάχους είναι η απόσταση από την αρχή του στάχους έως το άκρο του, χωρίς να λαμβάνονται υπόψη τα άγανα, εάν και εφόσον υπάρχουν. Η μέτρηση αυτή εκφράζεται σε εκατοστά του μέτρου. Απαραίτητο όργανο για τη μέτρηση αυτή είναι ο χάρακας. Οι μετρήσεις έγιναν στο εργαστήριο Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών του Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας περί τα τέλη Ιουνίου.

ε) Αριθμός σταχιδίων

Είναι μια μέτρηση κατά την οποία υπολογίζεται ο αριθμός σταχιδίων ανά στάχυ και ανά φυτό. Τοποθετώντας το στάχυ επάνω στον πάγκο, διακρίνονται τα σταχίδια που τον απαρτίζουν, έτσι καταγράφεται ο αριθμός σταχιδίων ανά στάχυ (οι μετρήσεις έγιναν στο εργαστήριο).

στ) Ύψος ωρίμανσης

Για την εύρεση του ύψους ωρίμανσης μετράται η απόσταση από το έδαφος έως την άκρη του πρώτου στάχους, χωρίς όμως να λαμβάνονται υπόψη τα άγανα. Για τη μέτρηση του ύψους των φυτών χρησιμοποιήθηκε ραβδόμετρο, (η μέτρηση αυτή εκφράζεται σε εκατοστά του μέτρου). Το ύψος ωρίμανσης καταγράφηκε λίγο πριν την κοπή των στάχων.

ζ) Απόδοση

Η απόδοση υπολογίζεται ζυγίζοντας το σπόρο κάθε στάχους, κάθε φυτού και σημειώνοντας το βάρος σε γραμμάρια (g). Για την εύρεση της απόδοσης κάθε πειραματικού τεμαχίου χρησιμοποιήθηκε ζυγαριά ακριβείας.

Σε όλες τις ανωτέρω παρατηρήσεις υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση για τον κάθε μια διαπλοειδή σειρά.

3.3. Ορολογία

Για την απόδοση των αγγλόφωνων όρων χρησιμοποιήθηκε το Λεξικό της Ελληνικής Επιστημονικής Εταιρείας Γενετικής Βελτίωσης Φυτών (1994).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι διαπλοειδείς σειρές που μελετήθηκαν, προέρχονταν από τη διασταύρωση (Αχελώος Χ Βεργίνα). Οι σειρές αυτές παρουσίασαν μεγάλη παραλλακτικότητα και ως προς τα επτά γνώρισμα που μελετήθηκαν. Πιο συγκεκριμένα και ανά μελετώμενο γνώρισμα:

(α) αδέλφωμα: Παρατηρήθηκαν μεγάλες διαφορές μεταξύ των διαπλοειδών σειρών ως προς το γνώρισμα αυτό. Οι τιμές του μέσου όρου του αδελφώματος κυμάνθηκαν από 11 (διαπλοειδής σειρά No. 26) έως 35 αδελφία /φυτό (διαπλοειδής σειρά No. 191, Πίνακας 3). Οι αντίστοιχες τιμές για την τυπική απόκλιση κυμάνθηκαν από 1 (διαπλοειδείς σειρές No. 106 και No. 122) έως 11 (διαπλοειδής σειρά No. 306). Οι διαπλοειδείς σειρές No. 26 και No. 191, που είχαν το μικρότερο και μεγαλύτερο μ. ό. αδελφιών, είχαν τιμές Τ. Α. 3 και 8 αντίστοιχα.

(β) Αριθμός ημερών έως ξεστάχιασμα: Οι διαπλοειδείς σειρές παρουσίασαν αρκετές διαφορές και ως προς το γνώρισμα αυτό. Οι τιμές του μέσου όρου των ημερών έως το ξεστάχιασμα κυμάνθηκαν από 115 (διαπλοειδής σειρά No. 52) έως 129 ημέρες (διαπλοειδής σειρά No. 295), ενώ οι αντίστοιχες τιμές της Τ. Α. κυμάνθηκαν από 0 (σειρές No. 56, 106, 107, 126, 151, 157, 314), έως 2 (σειρές No. 24, 26, 53, 306, Πίνακας 4). Η πιο πρώιμη διαπλοειδής σειρά (No. 52) και πιο όψιμη (No. 295), είχαν τιμή Τ. Α. =1.

(γ) Αριθμός στάξεων: Οι τιμές που καταγράφηκαν για κάθε διαπλοειδή σειρά στο γνώρισμα αυτό παρουσίασαν μεγάλη διαφοροποίηση. Ο αριθμός των στάξεων/φυτό κυμάνθηκε από 11 (στις διαπλοειδής σειρές No. 25 και 26) έως 33 (στη διαπλοειδή σειρά No. 191, Πίνακας 5). Αντίστοιχα οι τιμές της τυπικής απόκλισης κυμάνθηκαν από 3 (διαπλοειδής σειρά No. 26) έως 13 (διαπλοειδής σειρά No. 306).

(δ) Μήκος στάχους: Μεγάλη παραλλακτικότητα παρατηρήθηκε κατά τη μέτρηση του μήκους στάχους ανά διαπλοειδή σειρά. Οι μικρότεροι στάχεις καταγράφηκαν στη διαπλοειδή σειρά No. 26 (7,5cm) και μεγαλύτεροι στη διαπλοειδής σειρά No. 126 (14cm). Οι τιμές της τυπικής απόκλισης στο γνώρισμα αυτό κυμάνθηκαν από 0,1 (διαπλοειδείς σειρές No. 106, 108, 122, 173, 295, 306, 308) έως 7,8 (διαπλοειδής σειρά No. 151, Πίνακας 6).

(ε) Αριθμός σταχυδίων/στάχου: Κατά τη μέτρηση του αριθμού σταχυδίων η μικρότερη τιμή καταγράφηκε στη διαπλοειδή σειρά Νο. 26 (18) και οι μεγαλύτερες στις διαπλοειδείς σειρές Νο. 122 και 126 (25, Πίνακας 7). Οι τιμές της τυπικής απόκλισης κυμάνθηκαν από 0 έως 1.

(στ) Τελικό ύψος ή ύψος ωρίμανσης: παραλλακτικότητα μεταξύ των διαπλοειδών σειρών παρατηρήθηκε και στο τελικό ύψος. Ως υψηλότερες καταγράφηκαν οι διαπλοειδείς σειρές Νο. 52 και 90 (ύψος 113,6cm) και ως χαμηλότερη η Νο. 173 (ύψος 69,8 cm, Πίνακας 8).

(ζ) Απόδοση: Ως προς την απόδοση σε καρπό, η καλύτερη τιμή καταγράφηκε στη διαπλοειδή σειρά Νο. 90 (απόδοση 73,88 g). Αντιθέτως ως η πλέον χαμηλοαποδοτική χαρακτηρίστηκε η διαπλοειδής σειρά Νο. 24 (απόδοση 17,57g, Πίνακας 9). Αντίστοιχα οι τιμές της τυπικής απόκλισης κυμάνθηκαν από 2,52 (διαπλοειδής σειρά Νο. 56) έως 23,42 (διαπλοειδής σειρά Νο. 306)

(η) Μορφολογία των στάχων: Αρκετή διαφοροποίηση παρατηρήθηκε και στη μορφολογία των στάχων των διαφόρων σειρών. Καταγράφηκαν 6 τύποι (Εικόνες 3 έως 9).

Τύπος I: στάχου λευκό, λεπτό μακρύ, χωρίς άγανα (Εικόνα 7),

Τύπος II: στάχου κόκκινο, χονδρό, κοντό, με άγανα (Εικόνα 8),

Τύπος III: στάχου κόκκινο, χωρίς άγανα (Εικόνα 9 & 13),

Τύπος IV: στάχου κόκκινο, ενδιάμεσο, με άγανα (Εικόνα 10),

Τύπος V: στάχου κόκκινο, κοντό, χωρίς άγανα (Εικόνα 11),

Τύπος VI: στάχου κόκκινο, ροπαλοειδές, χωρίς άγανα (Εικόνες 11 & 12),

Συνεπώς παράχθηκαν στάχεις οι οποίοι έφεραν γνωρίσματα και από τις δύο αρχικά διασταυρούμενες ποικιλίες (ΑΧΕΛΩΟΣ-ΒΕΡΓΙΝΑ), όπου η πρώτη χαρακτηρίζεται από ροπαλοειδείς, αγανώδεις και κόκκινους στάχεις και η δεύτερη από λευκούς με μικρά αγανίδια (Ανώνυμος 1991).

Πίνακας 3. Μέσοι όροι (Μ. Ο.) και τυπικές αποκλίσεις (Τ. Α.) του αδελφώματος των διαπλοειδών σειρών

Α/Α	Διαπλοειδής σειρά	Αδελφωμα	
		Μ. Ο.	Τ. Α.
1	24	17	6
2	25	12	3
3	26	11	3
4	27	16	3
5	52	29	6
6	53	17	5
7	54	17	5
8	56	22	3
9	57	17	7
10	59	19	4
11	60	23	6
12	90	34	3
13	106	27	1
14	107	20	4
15	108	24	4
16	120	26	3
17	121	21	3
18	122	17	1
19	123	25	4
20	125	25	4
21	126	23	5
22	127	27	4
23	128	28	4
24	151	32	5
25	152	23	7
26	156	20	10
27	157	26	3
28	173	19	7
29	191	35	8
30	255	19	4
31	262	29	8
32	282	31	4
33	295	19	5
34	297	16	8
35	306	30	11
36	308	33	7
37	314	27	7
38	352	19	8

Πίνακας 4. Μέσοι όροι (Μ. Ο.) και τυπικές αποκλίσεις (Τ. Α.) των ημερών έως το ξεστάχυσμα των διαπλοειδών σειρών

Α/Α	Διαπλοειδής σειρά	Ημέρες έως Ξεστάχυσμα	
		Μ. Ο.	Τ. Α.
1	24	127	2
2	25	126	1
3	26	126	2
4	27	124	1
5	52	115	1
6	53	125	2
7	54	124	1
8	56	121	0
9	57	126	1
10	59	124	1
11	60	124	1
12	90	116	1
13	106	123	0
14	107	123	0
15	108	121	1
16	120	123	1
17	121	124	1
18	122	124	1
19	123	123	1
20	125	123	1
21	126	123	0
22	127	123	1
23	128	121	1
24	151	119	0
25	152	125	1
26	156	126	1
27	157	123	0
28	173	125	1
29	191	121	1
30	255	125	1
31	262	123	1
32	282	121	1
33	295	129	1
34	297	127	1
35	306	118	2
36	308	122	1
37	314	127	0
38	352	127	1

Πίνακας 5. Μέσοι όροι (Μ. Ο.) και τυπικές αποκλίσεις (Τ. Α.) του αριθμού των στάχυων των διαπλοειδών σειρών

Α/Α	Διαπλοειδής σειρά	Αριθμός στάχυων	
		Μ. Ο.	Τ. Α.
1	24	16	7
2	25	11	4
3	26	11	3
4	27	15	5
5	52	28	10
6	53	15	6
7	54	17	7
8	56	21	7
9	57	15	6
10	59	14	8
11	60	21	8
12	90	26	10
13	106	20	9
14	107	30	7
15	108	24	8
16	120	25	8
17	121	20	7
18	122	15	4
19	123	24	8
20	125	24	8
21	126	21	8
22	127	26	9
23	128	27	9
24	151	29	11
25	152	23	10
26	156	19	9
27	157	23	8
28	173	18	8
29	191	33	13
30	255	19	7
31	262	26	12
32	282	30	10
33	295	13	7
34	297	15	8
35	306	29	13
36	308	31	12
37	314	26	10
38	352	17	9

Πίνακας 6. Μέσοι όροι (Μ. Ο.) και τυπικές αποκλίσεις (Τ. Α.) του μήκους των στάχυων των διαπλοειδών σειρών

Α/Α	Διαπλοειδής σειρά	Μήκος στάχυος	
		Μ. Ο. (cm)	Τ. Α.
1	24	11,3	0,6
2	25	8,6	0,3
3	26	7,5	0,2
4	27	9	0,2
5	52	12,9	4
6	53	10,6	0,2
7	54	10,7	0,3
8	56	9,6	0,2
9	57	9,7	0,2
10	59	8	0,2
11	60	9,9	0,2
12	90	11,3	0,2
13	106	10,1	0,1
14	107	10,3	0,3
15	108	10,7	0,1
16	120	13,9	0,3
17	121	13,3	0,4
18	122	13,7	0,1
19	123	12,8	0,2
20	125	11,7	0,3
21	126	14	0,3
22	127	11,5	0,2
23	128	11,9	0,2
24	151	10,3	7,8
25	152	10,4	0,4
26	156	10,6	0,3
27	157	10,7	0,4
28	173	9,9	0,1
29	191	12,7	0,2
30	255	9,9	0,2
31	262	12,6	0,2
32	282	10,9	0,2
33	295	12,3	0,1
34	297	11,1	0,5
35	306	10,7	0,1
36	308	10,2	0,1
37	314	11	0,2
38	352	11	0,4

Πίνακας 7. Μέσοι όροι (Μ. Ο.) και τυπικές αποκλίσεις (Τ. Α.) του αριθμού των σταχυδίων/στάχυ των διαπλοειδών σειρών

Α/Α	Διαπλοειδής σειρά	Αριθμός σταχυδίων/στάχυ	
		Μ. Ο.	Τ. Α.
1	24	19	1
2	25	19	1
3	26	18	0
4	27	20	0
5	52	21	0
6	53	24	1
7	54	23	1
8	56	23	1
9	57	23	1
10	59	19	1
11	60	23	0
12	90	22	1
13	106	23	1
14	107	23	0
15	108	24	1
16	120	24	0
17	121	24	0
18	122	25	0
19	123	23	0
20	125	21	0
21	126	25	0
22	127	20	0
23	128	21	0
24	151	21	0
25	152	22	0
26	156	20	0
27	157	23	1
28	173	20	1
29	191	20	0
30	255	21	0
31	262	23	0
32	282	22	0
33	295	22	1
34	297	19	1
35	306	20	0
36	308	19	0
37	314	20	0
38	352	19	0

Πίνακας 8. Μέσοι όροι (Μ. Ο.) και τυπικές αποκλίσεις (Τ. Α.) του ύψους ωρίμανσης των διαπλοειδών σειρών

Α/Α	Διαπλοειδής σειρά	Ύψος ωρίμανσης	
		Μ. Ο. (cm)	Τ. Α.
1	24	79,6	6,2
2	25	82,2	4
3	26	78,3	4,9
4	27	79,7	3,3
5	52	113,6	5,7
6	53	93,4	4,3
7	54	97,2	4,2
8	56	96,7	3,2
9	57	92,3	4,9
10	59	78,9	39,5
11	60	92,2	5,2
12	90	113,6	5
13	106	103,2	6,4
14	107	97,2	8
15	108	97,8	2,9
16	120	88,4	9,4
17	121	96,2	4,4
18	122	88,8	4,5
19	123	91,8	5,2
20	125	100	3,8
21	126	90,4	3,4
22	127	97,2	1,5
23	128	96,0	5
24	151	103,2	3,1
25	152	95,6	8,1
26	156	91,8	3,1
27	157	80,2	3,5
28	173	69,8	9,8
29	191	106,4	3,2
30	255	89	4
31	262	81,2	12,4
32	282	100,6	3,6
33	295	72,2	15,3
34	297	80,6	13,3
35	306	95,6	3,2
36	308	99,2	1,2
37	314	98,5	6,9
38	352	90,4	9,3

Πίνακας 9. Μέσοι όροι (Μ. Ο.) και τυπικές αποκλίσεις (Τ. Α.) της απόδοσης των διαπλοειδών σειρών

Α/Α	Διαπλοειδής σειρά	Απόδοση	
		Μ. Ο. (g)	Τ. Α.
1	24	17,57	10,23
2	25	24,46	8,92
3	26	22,56	9,80
4	27	29,57	6,70
5	52	72,03	17,35
6	53	30,73	12,73
7	54	31,09	11,50
8	56	47,35	2,52
9	57	33,35	15,60
10	59	35,55	12,80
11	60	40,42	11,09
12	90	73,88	19,45
13	106	44,63	3,37
14	107	43,39	9,90
15	108	47,57	8,67
16	120	44,10	19,16
17	121	42,48	7,86
18	122	39,69	6,32
19	123	48,11	8,12
20	125	44,04	6,11
21	126	42,46	3,40
22	127	42,60	9,23
23	128	49,80	10,98
24	151	57,90	13,13
25	152	31,69	12,37
26	156	30,76	13,64
27	157	39,40	8,39
28	173	34,78	20,67
29	191	56,45	9,20
30	255	37,94	9,84
31	262	43,82	14,07
32	282	52,03	12,03
33	295	21,23	11,79
34	297	22,20	7,87
35	306	56,83	23,42
36	308	43,35	15,87
37	314	31,99	8,09
38	352	28,61	12,57

Στον Πίνακα 10 παρουσιάζονται οι διαπλοειδείς σειρές που απέδωσαν καλύτερα σε καθένα από τα γνωρίσματα που μελετήθηκαν.

Πίνακας 10. Μ. Ο των διαπλοειδών σειρών που έδωσαν τις καλύτερες τιμές ως προς τα επτά γνωρίσματα που μελετήθηκαν.

Γνώρισμα	Διαπλοειδής σειρά	Μ. Ο
Αδέλφωμα	191	35
Η πιο πρώιμη	52	115
Η πιο όψιμη	295	129
Αριθμός στάχυων	191	33
Μήκος στάχυων σε cm	126	14
Αριθμός σταχυιδίων	122 & 126	25
Η πιο κοντή (ύψος ωρίμανσης σε cm)	173	69,8
Η πιο ψηλή (ύψος ωρίμανσης σε cm)	52-90	113,6
Απόδοση σε g	90	73,9

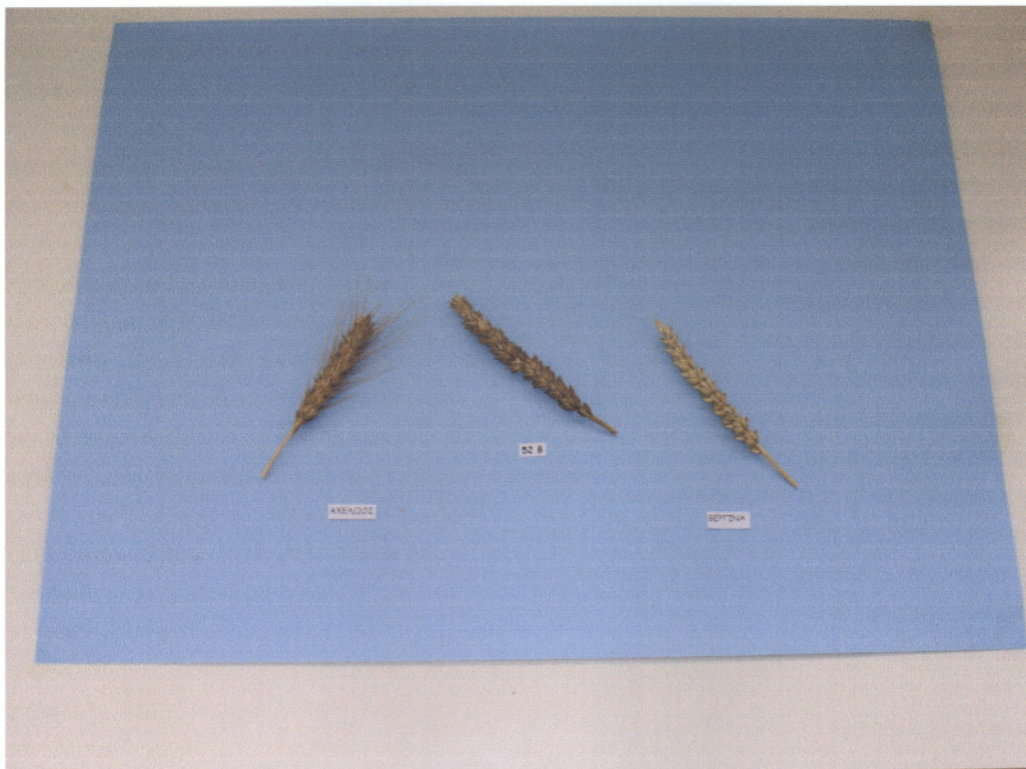
Στο γνώρισμα του αδελφώματος το καλύτερο αποτέλεσμα έδωσε η διαπλοειδής σειρά No. 191 που παρήγαγε τον μεγαλύτερο αριθμό αδελφικών. Η ίδια διαπλοειδής σειρά, όπως άλλωστε αναμένονταν, έδωσε και την καλύτερη τιμή στον αριθμό των παραχθέντων στάχυων. Ως πιο πρώιμη καταγράφηκε η διαπλοειδής σειρά No. 52 ενώ ως πιο όψιμη η διαπλοειδής σειρά No. 295. Η διαπλοειδής σειρά No. 126 έδωσε τα πιο μεγάλα από πλευράς μήκους στάχια και ήταν μια από τις δυο διαπλοειδείς σειρές που έδωσαν τον μεγαλύτερο αριθμό σταχυιδίων ανά στάχυ. Η δεύτερη διαπλοειδής σειρά που απέδωσε καλά στο γνώρισμα αυτό ήταν η No. 122. Ως προς το γνώρισμα ύψος ωρίμανσης πιο κοντή ήταν η διαπλοειδής σειρά No. 173 ενώ πιο ψηλές ήταν οι διαπλοειδείς σειρές No. 52 και 90. Τέλος, ως προς την απόδοση, που είναι το σπουδαιότερο αγρονομικό γνώρισμα την καλύτερη τιμή έδωσε η διαπλοειδής σειρά No. 90.



Εικόνα 7. Τύπος στάχewς λεπτό, μακρύ χωρίς άγανα άσπρο. (Φωτογραφία Ι. Ν. Ξυνιάς)



Εικόνα 8. Τύπος στάχewς χοντρό, κοντό, με άγανα, κόκκινο. (Φωτογραφία Ι. Ν. Ξυνιάς)



Εικόνα 9. Τύπος στάχewς πιο χοντρό από Βεργίνα, κοντό, χωρίς άγανα, κόκκινο. (Φωτογραφία Ι. Ν. Ξυνιάς)



Εικόνα 10. Τύπος στάχewς μακρύ, με άγανα, κόκκινο. (Φωτογραφία Ι. Ν. Ξυνιάς)



Εικόνα 11. Τύπος στάχews ροπαλοειδές, χωρίς άγανα, κόκκινο. (Φωτογραφία Ι. Ν. Ξυνιάς)



Εικόνα 12. Τύπος στάχews πιο χοντρό, ροπαλοειδές, χωρίς άγανα, κόκκινο. (Φωτογραφία Ι. Ν. Ξυνιάς)



Εικόνα 13. Τύπος στάχewς όχι χοντρό, μακρύ, χωρίς άγανα, κόκκινο.
(Φωτογραφία Ι. Ν. Ξυνιάς)

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από την μελέτη των δεδομένων που καταγράφηκαν στην παρούσα εργασία προκύπτει ότι παρατηρήθηκε διαφοροποίηση μεταξύ των διαπλοειδών σειρών που μελετήθηκαν. Η διαφοροποίηση αυτή παρατηρήθηκε παρά το γεγονός ότι οι σειρές αυτές προέρχονται από την F_1 γενεά μιας μόνο διασταύρωσης. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με προηγούμενες αναφορές που τονίζουν ότι ένα από τα πλεονεκτήματα της *in-vitro* καλλιέργειας ανθέρων είναι ότι είναι δυνατό να αποκτηθούν φυτά από όλους τους συνδυασμούς των του αρσενικού γαμέτη (Griffing 1975, He και Ouyang 1984, Heberle-Bors 1985, Henry και De Buyser κ. ά. 1990, Mosojc κ. ά. 1993, Κοπαράνης 2000, Ξυνιάς 2000).

Η σειρά No. 90 που ήλθε πρώτη σε απόδοση, βρέθηκε να έχει υψηλή τιμή στο αδελφωμα καθώς και στα γνωρίσματα αριθμός στάχων, μήκος στάχων και αριθμός σταχυδίων, που εμμέσως πλην σαφώς σχετίζονται θετικά με την απόδοση. Το γεγονός ότι η σειρά αυτή ήταν από τις πιο πρώιμες, την κάνει ακόμα πιο ενδιαφέρουσα, γιατί δείχνει ότι είναι δυνατό να δημιουργηθεί αποδοτικό και πρώιμο γενετικό υλικό. Το μοναδικό αρνητικό σημείο της σειράς αυτής είναι ότι ήταν μια από τις δυο πιο ψηλές σειρές. Αυτό πιθανά να δημιουργήσει προβλήματα πλαγιάσματος, με αρνητικές συνέπειες στην συγκομιδή του σπόρου (Σκόρδα 1981, Υφούλης 1983, Παπαθανασίου 1999). Η διαπλοειδής σειρά No. 52, έδωσε την δεύτερη καλύτερη τιμή στην απόδοση (Πίνακας 9). Η σειρά αυτή και ως προς τα υπόλοιπα αγρονομικά γνωρίσματα, έδωσε καλές τιμές, παρόμοιες με τις αντίστοιχες της αποδοτικότερης σειράς No 90. Είχε όμως και το ίδιο μειονέκτημα με τη διαπλοειδή σειρά No. 90, ήταν δηλαδή το ίδιο πολύ ψηλή. Θα πρέπει να σημειωθεί εδώ ότι στις συνθήκες του αγρού που καλλιεργήθηκαν όλες οι διαπλοειδείς σειρές, καμιά από τις δυο αυτές σειρές δεν πλάγιασε.

Από τις υπόλοιπες διαπλοειδείς σειρές, ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι σειρές No. 151, 191, 282 και 306 που απέδωσαν ικανοποιητικά.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν προηγούμενα είναι δυνατό να εξαχθούν τα παρακάτω συμπεράσματα

1. Καταγράφηκε παραλλακτικότητα ως προς όλα τα γνωρίσματα μεταξύ των ποικιλιών που μελετήθηκαν.
2. Παρατηρήθηκε και μορφολογική διαφοροποίηση των φυτών ως προς τον τύπο του στάχως.
3. Οι δυο αποδοτικότερες διαπλοειδείς σειρές, η No. 90 και η No. 52, έδωσαν πολύ ικανοποιητικές τιμές και στα υπόλοιπα γνωρίσματα που μελετήθηκαν. Μοναδικό αρνητικό σημείο είναι το μεγάλο ύψος των δυο αυτών σειρών, που πιθανά να δημιουργήσει προβλήματα πλαγιάσματος.

7. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μελετήθηκαν 38 διαπλοειδείς σειρές μαλακού σιταριού που προήλθαν από καλλιέργεια ανθέρων της F_1 γενεάς της διαστάυρωσης Αχελώος χ Βεργίνα. Σπόροι των σειρών αυτών φυτεύτηκαν σε jiffy rods και όταν έφθασαν στο κατάλληλο μέγεθος, μεταφυτεύθηκαν στον αγρό, στο χώρο του ΤΕΙ Καλαμάτας. Πάρθηκαν όλα τα απαραίτητα μέτρα ώστε τα φυτά να αναπτυχθούν όσο το δυνατόν καλύτερα. Για να αποφευχθούν απώλειες από τα πουλιά, τα φυτά με την έναρξη του ξεσταχιάσματος καλύφθηκαν με ειδικό δίκτυ. Καταγράφηκαν παρατηρήσεις στα γνωρίσματα αδελφωμα, ημέρες έως το ξεστάχιασμα, αριθμός στάχων, μήκος στάχων, αριθμός σταχυδίων/στάχυ, ύψος ωρίμανσης, απόδοση και τύπος στάχων. Καταγράφηκε παραλλακτικότητα σε όλα τα γνωρίσματα που μελετήθηκαν. Οι δυο αποδοτικότερες σειρές, έφεραν ευνοϊκούς συνδυασμούς και στα υπόλοιπα γνωρίσματα, με εξαίρεση το ύψος τους (ήταν και οι δυο οι πιο ψηλές). Παρά το μεγάλο τους ύψος, οι σειρές αυτές δεν πλάγιασαν κατά την ωρίμανση. Άλλες τέσσερις διαπλοειδείς σειρές βρέθηκε να παρουσιάζουν ενδιαφέρον και θα πρέπει, μαζί με τις δυο αποδοτικότερες, να πολλαπλασιασθούν και να αξιολογηθούν σε ειδικά πειράματα απόδοσης.

8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

8.1. Ελληνική

- Ανώνυμος. 1991. Οι Ελληνικές ποικιλίες σιτηρών και η καλλιέργειά τους. Αθήνα, 161 σελ.
- Γκόγκας, Δ. Μ. 1991. Το τριτικάλε: ένα νέο σιτηρό. *Γεωργία και Κτηνοτροφία* **5**: 26-33.
- Ελληνική Επιστημονική Εταιρεία Γενετικής Βελτίωσης των Φυτών. 1994. Λεξικό. Θεσσαλονίκη, 96 σελ.
- Ευρωπαϊκή Επιτροπή. 1997. Η κατάσταση της Γεωργίας στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Έκθεση 1997. Λουξεμβούργο. 204 σελ.
- Ζαμάνη, Ι. Α., Γουλή-Βαβδινούδη, Ε. και Ρουπακιάς, Δ. Γ. 2000. Αντίδραση Ελληνικών ποικιλιών και F1 υβριδίων μαλακού σιταριού (*Triticum aestivum* L.) στην *in vitro* καλλιέργεια ανθέρων. *Γεωτ. Επιστ. Θέματα* **11**:325-332
- Ζαμάνη, Ι. Αθ. 2001. Αντίδραση Ελληνικών ποικιλιών σιταριού στην *in-vitro* καλλιέργεια ανθέρων και δημιουργία καθαρών σειρών. *Διδακτορική Διατριβή*. Θεσσαλονίκη, 113 σελ.
- Ζαμάνη, Ι. Α., Γουλή-Βαβδινούδη, Ε., Ξυνιάς, Ι. Ν., Kovacs, G., Ρουπακιάς, Δ. Γ. και Barnabas, B. 2001. Η επίδραση της προμεταχείρισης με χαμηλή θερμοκρασία και κολχικίνη στην ανδρογενετική ικανότητα ποικιλιών μαλακού σιταριού (*Triticum aestivum* L. em. Thell). *Αγροτική Έρευνα Αγροτ. Έρευνα* **24**:28-36.
- Καλτσίκης, Π. Ι. 1985. Βελτίωση φυτών. Εκδόσεις Καραμπελόπουλου, Αθήνα, 474 σελ.
- Καλτσίκης, Π. Ι. 1992. Ειδική Βελτίωση φυτών. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα, 394 σελ.
- Κοπαράνης, Θ. 2000. Μελέτη της παραλλακτικότητας διαπλοειδών σειρών μαλακού σιταριού. *Πτυχιακή Διατριβή*, Θεσσαλονίκη, 44 σελ.
- Νικόπουλος, Δ. 2003. Σημειώσεις Χειμερινών σιτηρών. Καλαμάτα.
- Ξυνιάς, Ι. Ν. 2000. Νέοι δρόμοι δημιουργίας ποικιλιών Ι. Η τεχνική της καλλιέργειας ανθέρων. *Αγροτική Έρευνα και Τεχνολογία*. **14**: 14-15.

- Ξυνιάς, Ι. Ν. 2001 Η γενετική βελτίωση της ποιότητας του σιταριού στην Ελλάδα. σελ. 124-130. Πρακτικά 2^{ου} Διεθνούς Συνεδρίου Τεχνολογίας Τροφίμων, Αρτοποιίας, Ζαχαροπλαστικής και Παγωτού. 16-18 Φεβρουαρίου 2001, Ο. Λ. Π. Πειραιάς
- Ξυνιάς, Ι. Ν. 2004. Βελτίωση Φυτών: Εργαστηριακές ασκήσεις. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα, 136 σελ.
- Ξυνιάς, Ι. Ν. 2005. Βελτίωση Φυτών. Καλαμάτα, 357 σελ.
- Παπαθανασίου, Γ. Α. 1999. Βελτίωση φυτών. Θεσσαλονίκη, 178 σελ.
- Σκόρδα, Ε. Α. 1981. Μαλακό σιτάρι: Βελτίωση. Θεσσαλονίκη, 64, σελ.
- Σφήκας, Α. Ειδική Γεωργία. Θεσσαλονίκη.
- Υφούλης, Α. Χ. 1983. Βελτίωση φυτών. ΟΕΔΒ Αθήνα, 200 σελ
- Χριστίδης, Β. Γ. 1963. Χειμωνιάτικα σιτηρά. Θεσσαλονίκη, 349 σελ.

8.2. Αγγλόφωνη

- Bjornstad, A., H. G. Opsahl-Ferstad, and Aasmø, M. 1989. Effects of donor plant environment and light during incubation on anther cultures of some spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Plant Cells Tiss. Org. Cult.* **17**: 27-37.
- De Buyser, J., Y. Henry, P. Lonnet, R. Hertzog, and A. Hespel. 1987. 'Florin' : A doubled haploid wheat variety developed by the anther culture method. *Plant Breeding.* **98**: 53-56.
- Griffing, J. B. 1975. Efficiency changes due to use of doubled haploids in recurrent selection methods. *Theor. Appl. Genet.* **46**: 367-386.
- Hassan, M. D. and J. P. Gustafson. 1996. Molecular evidence for *Triticum speltooides* as a B-genome progenitor of wheat. *Genome* **39**: 543-548
- Hassawi, D. S. and G. H. Liang. 1990. Effect of cultivar, incubation temperature, and stage of microspore development on anther culture in wheat and triticale. *Plant Breeding* **105**: 332-336.
- He, D. and J. Ouyang. 1984. Callus and plantlet formation from cultured wheat anthers at different developmental stages. *Plant Sc. Lett.* **33**: 71-79.

- Heberle-Bors, 1985. In vitro formation from pollen: a critical review. *Theor. Appl. Genet.* **71**: 361-374.
- Henry, Y. and J. De Buyser. 1985. Effect of the 1B/1R translocation on anther culture ability in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Rep.* **4**: 307-310.
- Henry, Y. and J. De Buyser. 1990. Wheat anther culture: Agronomic performance of doubled haploid lines and the release of a new variety 'Florin'. In Y.P.S. Bajaj (ed.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol 13. *Wheat*.
- Jiang, H. R. 1993. A new approach to the origin of genome B of wheat. *Wheat, barley and triticale abs.* **10**:102
- Lazar, M. D., G. W. Schaeffer, and P. S. Baezinger. 1984. Cultivar and cultivar X environment effects on the development of callus and polyhaploid plants from anther cultures of wheat. *Theor. Appl. Genet.* **67**: 273-277.
- Marcinska, I., M. Wedzony, A. Slusarkiewicz-Jarzina, A. Ponitka, and J. Wozna. 1999. Low temperature and light during the regeneration phase of triticale anther culture enhances the regeneration rate of green plants. In: *Abstracts of the workshop of the WG-1 and WG-4 of the COST 824 Gametic Embryogenesis*, 10-13 June 1999, Jokionen, Finland.
- Masojc, P., O. M. Lukow, R. I. H. McKenzie, and N. K. Howes. 1993. Responsiveness to anther culture in cultivars and F₁ crosses of spring wheat. *Can. J. Plant Sc.* **73**: 777-783.
- Nitsch, J. P. and C. Nitsch. 1969. Haploid plants from pollen grains. *Science* **163**: 85-87.
- Orlov, P. A., E. B. Mavricheva, and A. N. Palilova. 1993. Estimation of the response to anther culturing in 60 genotypes of different wheat species. *Plant Breeding* **111**: 339-342.
- Ouyang, J., S. M. Zhou, and S. E. Jia. 1983. The response of anther culture to culture temperature in *Triticum aestivum*. *Theor. Appl. Genet.* **66**: 101-109.

- Ouyang, J. W. 1986. Induction of pollen plants in *Triticum aestivum*. pp. 26-41. In H. Hu and H. Yang (eds) *Haploids of higher plants in vitro*. China Academic Publishers.
- Ouyang, J., D. G. He, G. H. Feng, and S. E. Jia. 1987. The response of anther culture to culture temperature varies with growth conditions of anther donor plants. *Plant Sc.* **49**: 145-148.
- Pauk, J., O. Manninen, I. Mattila, Y. Salo, and S. Pulli. 1991. Androgenesis in hexaploid spring wheat F₂ populations and their parents using a multiplestep regeneration system. *Plant Breeding* **107**: 18-27.
- Picard, E. and J. De Buyser. 1977. High production of embryoids in anther culture of pollen derived homozygous spring wheats. *Ann. Amelior. Plant* **27**: 483-488.
- Puolimatka, M. and J. Pauk. 2000. Effect of induction duration and medium composition on plant regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. *J. Plant Physiol.* **156**: 197-203.
- Raina, S. K. 1997. Doubled haploid breeding in cereals. In J. Janick (ed.) *Plant Breeding Reviews*. Vol. 15. 141-186pp.
- Sears, E. R. 1975. The wheats and their relatives. pp. 59-91. In R. C. King (ed). *Handbook of Genetics*, Vol. 2 Plenum Press.
- Xynias, I. N., I. A. Zamani, E. Gouli-Vavdinoudi and D. G. Roupakias. 2001. Effect of cold pretreatment and incubation temperature on bread wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. *Cereal Res. Comm.* **29**:331-338.