

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΚΑΤΣΙΜΠΑΡΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΓΡΑΜΜΩΝ
ΠΑΡΕΜΒΟΛΗΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ
ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ
ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2014

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΚΑΤΣΙΜΠΑΡΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

**ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΓΡΑΜΜΩΝ
ΠΑΡΕΜΒΟΛΗΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ
ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ
ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Supervisors: Richard Finkers
Pim Lindhout**

**Επιβλέπων καθηγητής: Δελής Κωνσταντίνος
Κώτσιρας Αναστάσιος**

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2014

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	3
---------------	---

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
---------------	---

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α - ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
1.1 Ευρωπαϊκό κατεστημένο παραγωγής τομάτας.....	5
1.2 Βελτίωση φυτών	6
1.3 Εργαλεία της βελτίωσης φυτών.....	7
1.3.1 Θέσεις γονιδίων ποσοτικών χαρακτηριστικών (QTL's) στα χρωμοσώματα.....	7
1.3.2 Πληθυσμοί υβριδίων 2 ^{ης} γενιάς και πρώτης αναδιασταύρωσης.....	7
1.3.3 Πληθυσμοί ανασυνδυασμένων καθαρών γραμμών	8
1.3.4 Πληθυσμοί γραμμών παρεμβολής.....	9
1.3.5 Επιλογή βασισμένη σε δείκτες.....	10
1.4 Το είδος <i>Solanum habrochaites</i>	11
1.5 Αγρονομικά σημαντικά χαρακτηριστικά.....	12
1.6 Οι στόχοι της έρευνας	13

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ - ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 Σκοπός	14
3.2 Υλικά και Μέθοδοι	14
3.2.1 Πειραματικές συνθήκες και το σχεδιασμό.....	14
3.2.2 Ανάλυση Ανάπτυξης.....	16
3.3 Αποτελέσματα	17
3.3.1 Αναπτυξιακή αλλαγές στην RGR, NAR, SLA και LAR	19
3.3.2 Συσχέτιση RGR, NAR, SLA, LAR και LWR	20
3.4 Συζήτηση	24
3.5 Συμπεράσματα	25

Βιβλιογραφία	27
Παραρτήματα.....	29

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πτυχιακή μου εργασία στα πλαίσια της ολοκλήρωσης των προπτυχιακών μου σπουδών στο Τμήμα Φυτικής Παραγωγής του Τ.Ε.Ι Καλαμάτας. Η συγκεκριμένη εργασία αποτελεί το δεύτερο μέρος μιας εργασίας αποτελούμενης από δύο πειράματα, η οποία πραγματοποιήθηκε σε απόλυτη συνεργασία με τον συμφοιτητή και πολύ καλό μου φίλο Ν. Γερακάρη. Για την ολοκλήρωση αυτής της εργασίας συνέβαλαν ορισμένοι άνθρωποι για τους οποίους θα ήθελα να εκφράσω μια σειρά ευχαριστιών.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο της πρακτικής μου άσκησης, που έλαβε μέρος στο Wageningen της Ολλανδίας, Dr Richard Finkers για την υπόδειξη του θέματος και για τις πολύτιμες συμβουλές του. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον προϊστάμενο της εταιρείας Plant Research International τον Pim Lindhout για τις σημαντικές υποδείξεις του και την συμβολή του στην εξασφάλιση του απαραίτητου εργαστηριακού εξοπλισμού. Έπειτα, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου προς τους καθηγητές μου Κωνσταντίνο Δελή και Αναστάσιο Κώτσιρα που δέχτηκαν να αναλάβουν την επίβλεψη της εργασίας μου και για την πολύτιμη βοήθεια τους και τις διορθώσεις τους κατά τη διάρκεια της συγγραφής της .

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Ν. Γερακάρη για τις υποδείξεις του και την συμβολή του στη συγγραφή της εργασίας, για τη συντροφιά του στις πολλές ώρες εργαστηριακής δουλειάς και την ακατάπαυστη στήριξη του όλα αυτά τα χρόνια εντός και εκτός των σπουδαστικών μας υποχρεώσεων.

Επίσης, ευχαριστώ όλους τους δασκάλους και καθηγητές που με ενέπνευσαν και μου μετέδωσαν τις γνώσεις τους . Τέλος οφείλω να πω, ίσως το μεγαλύτερο ευχαριστώ, στην οικογένεια μου και τους φίλους μου για την στήριξη και την ανιδιοτελή αγάπη τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στη βελτίωση της ανάλυσης ανάπτυξης με τη χρήση περισσότερων επαναλήψεων και αξιολογήσεων για τον καθορισμό μεγαλύτερης αξιοπιστίας της γενετικής διαφοράς της υποκείμενης ανάπτυξης των φυτών. Για το σκοπό αυτό, 27 γονότυποι τομάτας επιλέχθηκαν με βάση τα προηγούμενα πείραμα που αντιπροσώπευον μια ευρεία γενετική παραλλαγή στην ανάπτυξη. Στην έρευνα αυτή, που έλαβε χώρα στο Wageningen της Ολλανδίας, πραγματοποιήθηκε μία μεταξύ ειδών διασταύρωση ανάμεσα στα είδη *Solanum lycopersicum* cv. MoneyMaker και *Solanum habrochaites* LYC4 και αναπτύχθηκαν γραμμές ομόμεικτης αναδιασταύρωσης με τη επιλογή 27 παρεμβολών βασισμένη σε δείκτες (MAS). Για κάθε ένα από αυτά τα φυτά εξετάστηκαν και μετρήθηκαν τα χαρακτηριστικά όπως το ξηρό βάρους των φυτών (DW), η φυλλική επιφάνεια (LA), η διάμετρος στελέχους, ο αριθμός των φύλλων και το μήκος των φυτών. Μέσω στατιστικής ανάλυσης όλες οι παρατηρήσεις για όλα αυτά τα χαρακτηριστικά συνδέθηκαν με τον μάρτυρα (MoneyMaker). Το πείραμα περιελάμβανε 2 επαναλήψεις ανά γονότυπο και 7 εσοδείες σε μια περίοδο 11 έως 52 ημέρες μετά τη σπορά (DAS days after sowing). Επιπροσθέτως της RGR, προσδιορίστηκαν τα συστατικά της ανάπτυξης των καλλιεργειών: καθαρό ποσοστό αφομοίωσης (NAR) και LAR κατά την ίδια περίοδο. Στους 16 ° C παρατηρήσαμε ότι τα πιο συσχετιζόμενα γνωρίσματα ήταν η LAR με RGR ($r = 0,58$). Η NAR και SLA με την RGR βρέθηκαν να συσχετίζονται αντίστοιχα ($r = 0,26$, $r = 0,54$). Καμία σημαντική συσχέτιση δεν βρέθηκε μεταξύ του LWR και RGR. Στους 21 ° C, επίσης, παρατηρήθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της LAR και RGR ($r = 0,66$). Η ανάλυση συσχέτισης έγινε για να μελετηθεί η σχέση των μεταβολών στην RGR με τα συστατικά ανάπτυξης της καλλιεργειας κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των νεαρών φυτών τομάτας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οικογένεια των σολανωδών (*Solanaceae*) περιλαμβάνει πολλά χρήσιμα φυτά. “Σολανώδη” είναι στην πραγματικότητα το σύνθετο όνομα που χρησιμοποιείται για την περιγραφή περισσότερων από 2.800 είδη, αρκετά εκ των οποίων με πολλές διαφορετικές ιδιότητες και συστατικά. Η οικογένεια των σολανωδών αποτελείται από ανθοφόρα φυτά, πολλά από τα οποία είναι βρώσιμα και άλλα τα οποία είναι δηλητηριώδη. Αν και οι κόνδυλοι της πατάτας είναι ο σημαντικότερος φαγώσιμος βλαστός παγκοσμίως, οι καρποί της τομάτας (φρέσκια /άμεση κατανάλωση και βιομηχανία) συνιστούν από οικονομική άποψη, το πιο σημαντικό εμπορεύσιμο λαχανικό σε παγκόσμιο επίπεδο (Stevens & Rick, 1986; Nuez, 1995, Purseglove, 1969). Η καλλιεργούμενη τομάτα είναι ένα εξημερωμένο αυτό-γονιμοποιούμενο είδος με συγκριτικά χαμηλή γενετική διαφοροποίηση. Ο θεωρούμενος άγριος πρόγονος του *Solanum Lycopersicum* είναι κυρίως αυτό-συμβατός (Miller and Tanksley 1990; Kondo et al 2002) και αυτή η αυτό-συμβατότητα του θεωρείται ότι έχει προκαλέσει την εξημέρωση του (Rick 1995). Όλα τα είδη στην οικογένεια των σολανωδών έχουν έναν απaráλλαχτο χρωμοσωματικό αριθμό ($2n=2x=24$). Η τομάτα είναι πολύ ευαίσθητη στις χαμηλές θερμοκρασίες (0-12 °C). Αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος κλιμάτων, τόσο στην ύπαιθρο όσο και υπό προστασία σε πλαστικά θερμοκήπια και σε θερμαινόμενα γυάλινα θερμοκήπια.

1.1 Ευρωπαϊκό κατεστημένο παραγωγής τομάτας

Υπάρχουν δύο μοντέλα παραγωγής τομάτας στην Ευρωπαϊκή Ένωση: α) στην Ολλανδία, το Βέλγιο, τη Μ. Βρετανία, τη Δανία και τη Γερμανία χρησιμοποιούν κυρίως εκτός εδάφους συστήματα στα οποία οι τομάτες καλλιεργούνται σε θερμοκήπια σε κατάλληλα υποστρώματα (κυρίως rock wool). Σε αυτές τις βόρειες χώρες, οι τομάτες καλλιεργούνται για την φρέσκια /άμεση κατανάλωση. β) Στις

Μεσογειακές χώρες οι τομάτες αναπτύσσονται στο έδαφος είτε στην ύπαιθρο είτε σε θερμοκήπια.. Οι τέσσερις Μεσογειακές χώρες (Ελλάδα, Ιταλία, Πορτογαλία και Ισπανία) παράγουν 15 δισεκατομμύρια τόνους τομάτας σε 236.000 εκτάρια με αξία 8.7 δισεκατομμυρίων ευρώ ανά χρόνο (βλέπε Πίνακα1). Περίπου το 6% της Ιταλικής παραγωγής τομάτας προέρχεται από θερμοκήπια. Περίπου το 65% της παραγωγής των τεσσάρων Μεσογειακών χωρών προορίζεται για βιομηχανική επεξεργασία ενώ το υπόλοιπο για την φρέσκια /άμεση κατανάλωση.

	1990			2000		
	Export	Import	SB	Export	Import	SB
Belgium-Lux.	7.43	7.07	-6.02	9.53	8.14	1.87
Denmark	6.06	2.31	37.65	5.10	2.59	27.23
France	21.10	13.86	12.43	17.02	12.57	9.15
Germany	14.00	22.64	-31.44	12.94	17.18	-19.88
Greece	1.47	1.78	-17.98	1.17	1.41	-15.33
Ireland	3.25	1.25	37.93	3.12	1.52	29.14
Italy	6.74	15.03	-45.08	7.50	12.15	-29.24
Netherlands	18.12	9.10	25.33	15.91	8.64	24.06
Portugal	1.26	1.87	-27.60	1.15	2.19	-36.35
Spain	5.33	5.87	-13.29	7.86	7.02	-0.30
UK	8.51	14.19	-32.81	0.78	13.44	-90.23
Others	6.75	5.05	0.05	17.93	13.15	0.09
EU-15	100.00	100.00	-8.49	100.00	100.00	-5.96
Extra-EU-15			-26.29			-18.69
Intra-regional trade			-0.13			0.00

Source: based on WTO (2001)

Πίνακας 1 : (E.E-15. Εμπορία αγροτικών προϊόντων (%) ανά χώρα και εμπορικό ισοζύγιο ανά κράτος-μέλος τα έτη 1990-2000)

1.2 Βελτίωση φυτών

Η βελτίωση των φυτών στοχεύει στην απόκτηση καλύτερων γονότυπων. Είναι μια τέχνη η οποία εξασκείται για χιλιάδες χρόνια. Η εξημέρωση και η κλασική βελτίωση των φυτών αποτελούν δύο διαδικασίες που ενισχύουν την ποιότητα της καλλιέργειας. Στα φυτά η **παρεμβολή** (introgression) είναι μια σημαντική στρατηγική βελτίωσης. Ο σκοπός ενός προγράμματος παρεμβολής είναι να εισάγει ένα γονίδιο 'στόχο', από μια γραμμή με χαμηλή οικονομική αξία σε μια γραμμή υψηλής παραγωγικότητας που στερείται αυτό το συγκεκριμένο γονίδιο.

Νέες ποικιλίες προκύπτουν συνήθως από διασταυρώσεις μεταξύ γενετικά συνδεδεμένων σύγχρονων ποικιλιών, ενώ ταυτόχρονα αποκλείουν τους γενετικά διαφοροποιημένους αρχικούς προγόνους (Tanksley and McCouch 1997) και εγχώριες ποικιλίες. Η σημασία της γενετικής ποικιλομορφίας είναι παράγοντας κλειδί για την βελτίωση των φυτών. Επιπλέον η γενετική ποικιλομορφία είναι απαραίτητη για την βελτίωση της καλλιεργούμενης τομάτας (Miller and Tanksley 1990). Λόγω της περιορισμένης γενετικής ποικιλομορφίας στις καλλιεργούμενες ποικιλίες πολλών ειδών, κρίνεται απαραίτητο να επικεντρωθούμε πέρα από τις εκλεκτές ποικιλίες για νέα γονίδια, έτσι ως ώστε να αυξηθούν οι δυνατότητες για βελτιώσεις (Tanksley and Nelson 1996).

1.3 Εργαλεία της βελτίωσης φυτών

1.3.1 Θέσεις γονιδίων ποσοτικών χαρακτηριστικών (QTL's) στα χρωμοσώματα

Στη βελτίωση φυτών υπάρχουν ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά. Η διαφορά μεταξύ ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών είναι το ότι ένα ποιοτικό χαρακτηριστικό ελέγχεται από ένα γονίδιο, ενώ τα ποσοτικά χαρακτηριστικά είναι αποτέλεσμα της συνδυασμένης δράσης διαφόρων γονιδίων. Σε περίπτωση που ένα χαρακτηριστικό είναι κάτω από την επιρροή περισσότερων του ενός γονιδίων αυτό το χαρακτηριστικό καλείται ποσοτικό χαρακτηριστικό και η γενετική τοποθεσία των γονιδίων του αποκαλείται θέση ποσοτικού χαρακτηριστικού (quantitative trait loci) (QTLs). (Mackay 2004)

1.3.2 Πληθυσμοί υβριδίων 2^{ης} γενιάς και πρώτης αναδιασταύρωσης

Οι πληθυσμοί υβριδίων 2^{ης} γενιάς (F2) και πρώτης αναδιασταύρωσης (BC1) χρησιμοποιούνται κοινώς για την ανεύρεση θέσεων ποσοτικών χαρακτηριστικών (QTLs) στα χρωμοσώματα (εν συντομία αυτό ονομάζεται χαρτογράφηση). Και οι δύο πληθυσμοί, F2 και BC1, χρησιμοποιούνταν για την χαρτογράφηση ενός εκτεταμένου αριθμού χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένων της ποιότητας και της ανθεκτικότητας σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις (stress). Έρευνες διαχωρίζουν μια μεγάλη συλλογή από 'άγριες' προσθήκες, και αναγνωρίζουν αυτές τις προσθήκες ως τις πιο ευνοϊκές για το χαρακτηριστικό που μας ενδιαφέρει (van

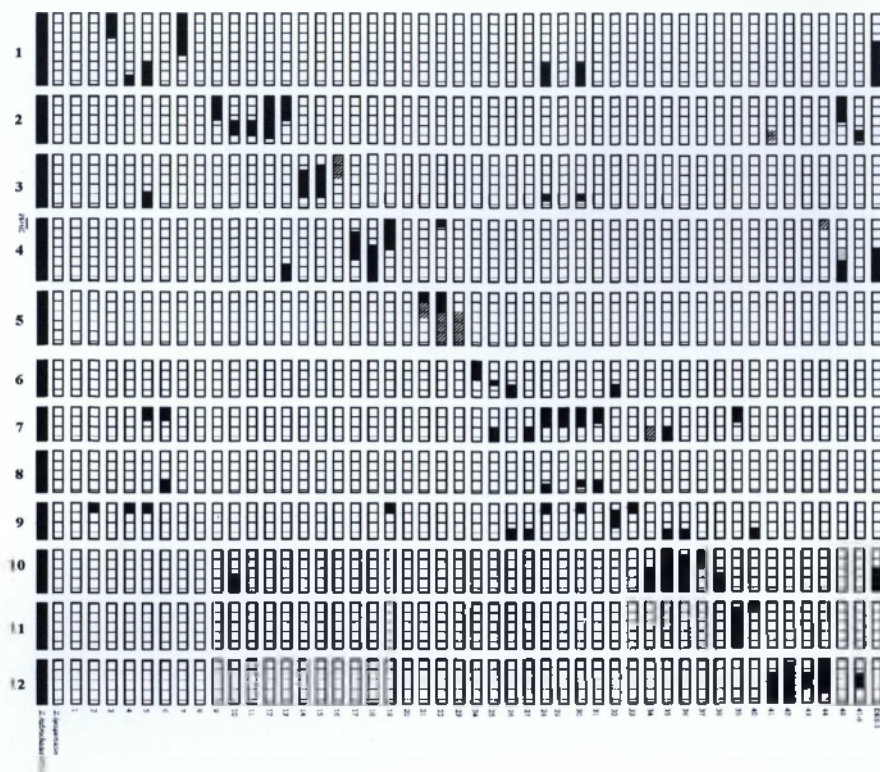
Heusden *et al*, 1995, Franchis *et al*, 2001, Urbasch and Reissenz, 1986, Lindhout, 1994). Ύστερα από την αναγνώριση μιας προσθήκης που περιλαμβάνει το υπό ενδιαφέρον χαρακτηριστικό, ένας F2 ή BC1 πληθυσμός μπορεί αμέσως να δημιουργηθεί διότι οι περισσότερες διασταυρώσεις είναι πιθανές. Αυτή η διαδικασία είναι κοινώς αποδεκτή για τη χαρτογράφηση των γονιδίων που αυξάνουν την ανθεκτικότητα ενάντια των παθογόνων αιτιών (Van Heusden *et al*, 1999, Bai *et al*, 2003, Thoquet *et al*, 1996, Moreau *et al*, 1998, Maliepaard *et al*, 1995). Άλλες έρευνες επικεντρώθηκαν στην αντίδραση ενάντια στη βιοτική καταπόνηση (Saranga *et al* 1992, 1993) ή την ποιότητα των καρπών (Alpert, 1995, Lindhout *et al*, 1994, Mutschler *et al*, 1996). Το τεράστιο πλεονέκτημα της χρήσης F2 ή BC1 πληθυσμών για τον εντοπισμό των QTLs είναι ότι ο απαιτούμενος χρόνος από τον εντοπισμό του ζητούμενου χαρακτηριστικού και την διαθεσιμότητα ενός χαρτογραφημένου πληθυσμού περιορίζεται στους 8 μήνες. Η γενετική βάση της μορφολογικής διαφοροποίησης μπορεί να μελετηθεί σε F2 πληθυσμούς. Ωστόσο, μια μη γενετική αστάθεια ανάμεσα σε F2 φυτά είναι πιθανό να δυσκολέψει ή να κάνει ακόμα και απίθανο τον εντοπισμό QTLs με σχετικά μικρή επιρροή (π.χ ελάσσων QTL). Ένας F2 ή BC1 πληθυσμός είναι πιο κατάλληλος για τον εντοπισμό καλών ανιχνεύσιμων χαρακτηριστικών στα οποία μόνο λίγες κυρίαρχες θέσεις είναι υπεύθυνες για αυτή τη διαφορά.

1.3.3 Πληθυσμοί ανασυνδυασμένων καθαρών γραμμών [recombinant inbred line (RIL)]

Ένα μειονέκτημα των υβριδίων 2^{ης} γενιάς, των αναδιασταυρώσεων και της QTL χαρτογράφησης είναι ότι αυτά τα χαρακτηριστικά είναι καθορισμένα σε ανεξάρτητα φυτά και σε φυτά που δεν ζουν απεριόριστα. Δεν είναι έτσι πιθανό να εμφανιστεί ένα χαρακτηριστικό κατ' επανάληψη (διαφορετικές εποχές, διαφορετικές τοποθεσίες κ.λ.π). Ένας πληθυσμός ανασυνδυασμένων καθαρών γραμμών έχει το πλεονέκτημα ότι τα άτομα σε ένα τέτοιο πληθυσμό είναι απολύτως ομόζυγα (υβριδίων 6^{ης} γενιάς μέσω απλής καταγωγής σπόρου) και αποτελείται κατά 50% από τον γονέα 1 και 50% γονέα 2. Τα ομόζυγα φυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ογκώδη πολλαπλασιασμό των σπόρων.

1.3.4 Πληθυσμοί γραμμών παρεμβολής

Μια γραμμή παρεμβολής ή ένας πληθυσμός γραμμής αναδιασταύρωσης συνιστά μια επίπονη διαδικασία.. Χρειάζεται τουλάχιστον τρία χρόνια για να αναπτυχθεί ένας πληθυσμός γραμμών παρεμβολής και απαιτείται η επαναληπτική επιλογή κατάλληλων γονοτύπων σε κάθε γενιά επαναδιασταύρωσης. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα του πληθυσμού γραμμών παρεμβολής είναι ότι τέτοιου είδους πληθυσμός περιέχει μια μεμονωμένη ομόζυγη παρεμβολή από άγριου τύπου δότη γονιδιώματος σε ένα γενετικό υπόβαθρο *Lycopersicum esculentum*. Όλα τα ξεχωριστά χαρακτηριστικά μπορούν να μελετηθούν. Διάφοροι πληθυσμοί γραμμών παρεμβολής έχουν αναπτυχθεί. Οι πιο μελετημένοι πληθυσμοί γραμμών παρεμβολής προέρχονται από περιοχές παρεμβολής από *L. pennellii* LA716 (Eshed, Υ. 1994) σε γενετικό υπόβαθρο υπαίθριας τομάτας (*L. esculentum* M82). Άλλοι πληθυσμοί γραμμών παρεμβολής προέρχονται από παρεμβαλλόμενους αλληλόμορφους από *L. hirsutum* LA1777 (Monforte and Tanksley 2000) & LA407 (Kabelka *et al*, 2002) σε ένα γενετικό υπόβαθρο *L. esculentum*. Ένας πληθυσμός γραμμών παρεμβολής μπορεί επίσης να είναι δραστικός στην αναγνώριση επιπρόσθετων QTLs. Οι Jeuken and Lindhout (2004) βρήκαν δύο πρόσθετα QTLs για αντοχή στον περονόσπορο του μαρουλιού (*Bremia lactucea*) τα οποία δεν είχαν αναγνωριστεί σε F2 μελέτη χαρτογράφησης χρωματοσωμάτων.



Σχεδιάγραμμα 1. Γραφική απεικόνιση του γονότυπου των 44 γραμμών παρεμβολής του πληθυσμού *S.lycopersicum* cv. MoneyMaker x *S.habrochaites* LYC4. Όλα τα χρωματοσώματα είναι σχεδιασμένα σε κλίμακα των 20 cM τμημάτων σύμφωνα με τον F2 γενετικό χάρτη αυτής της διασταύρωσης, με εξαίρεση τις περιοχές των χρωματοσωμάτων 3,4 και 5 για τις οποίες οι δείκτες CAPS μετατράπηκαν σε RFLP (restriction fragment length polymorphism) για τον εντοπισμό ακροτητών σε αυτές τις ομάδες. Οι ομόζυγες παρεμβολές προερχόμενες από *S.habrochaites* παρουσιάζονται με μαύρο χρώμα, ενώ οι ετερόζυγες παρεμβολές είναι σημειωμένες με τη χρήση διαγωνίου. (Tanksley *et al.* 1992)

1.3.5 Επιλογή βασισμένη σε δείκτες

Κατά την τελευταία δεκαετία έχουν γίνει πολυάριθμες αναφορές σχετικά με την χρήση των δεικτών του DNA για την αναγνώριση των θέσεων ποσοτικών χαρακτηριστικών (QTLs) (Tanksley 1993, Paterson 1996). Αυτές οι μελέτες έχουν δείξει ότι η πλειοψηφία των ποσοτικών χαρακτηριστικών τείνουν να ελέγχονται από πολύ λίγες θέσεις ποσοτικών χαρακτηριστικών με μέγιστες επιδράσεις και επιπρόσθετα μείζονες θέσεις ποσοτικών χαρακτηριστικών με μικρότερη επίδραση

(Tanksley 1993). Μελέτες των θέσεων ποσοτικών χαρακτηριστικών σε φυτά έχουν δείξει ότι ο φαινότυπος ενός φυτού δεν αποτελεί πάντα καλό μέσο πρόβλεψης των γενετικών του δυνατοτήτων. Αυτό είναι ιδιαίτερα αληθές σε διασταυρώσεις μεταξύ άγριων και καλλιεργούμενων ειδών (de Vicente and Tanksley 1993; Eshed and Zamir 1995; Xiao *et al.* 1997). Οι περισσότερες εφαρμογές των γενετικών δεικτών σε προγράμματα επιλογής έχουν προηγηθεί από μία ανάλυση που είχε ως στόχο την αναζήτηση θέσεων ποσοτικών χαρακτηριστικών και μόνο θέσεις οι οποίες δείχνουν να έχουν μια σημαντική επίδραση στον φαινότυπο, χρησιμοποιούνται διαδοχικά για επιλογή.

Η τομάτα ήταν ένα από τα πρώτα φυτικά είδη στα οποία ερευνητές ξεκίνησαν την χαρτογράφηση των θέσεων ποσοτικών χαρακτηριστικών με τη χρησιμοποίηση μοριακών δεικτών (Tanksley *et al.* 1982, Paterson *et al.*, 1988). Οι βελτιωτές φυτών μπορούν να χρησιμοποιούν μια γνωστή εφαρμογή μοριακών δεικτών με ένα χαρακτηριστικό ή ένα τμήμα χρωμοσώματος και ύστερα να επιλέξουν για την παρουσία μοριακών δεικτών αντί για τον φαινότυπο. Αυτή η διαδικασία είναι γνωστή ως επιλογή βασισμένη σε δείκτες [marker assisted selection (MAS)].

1.4 Το είδος *Solanum habrochaites* (γνωστό στο παρελθόν ως *L. hirsutum*)

Το *L. hirsutum* είναι ένα άγριο, φυλλώδες, μονοετές είδος το οποίο εντοπίζεται σε μεσαία και υψηλά υψόμετρα στην βορειοδυτική Νότια Αμερική. Δύο μορφές αυτού του είδους είναι γνωστές. Η τυπική μορφή η οποία χαρακτηρίζεται από πυκνά τριχωτούς μίσχους, φύλλα και καρπούς. Έχει μεγάλα εμφανή άνθη με πολύ λιγότερο βαθιά ξεχωριστή στεφάνη του άνθους από αυτή που συναντάται στο *S. lycopersicon* και στους κοντινούς συγγενείς του. Ο τριχωτός καρπός όταν ωριμάζει παίρνει ένα θαμπό πράσινο χρώμα με μια μοβ ρίγα.

Οι σπόροι είναι χρώματος καφέ με μία απαλή επικάλυψη, ερχόμενοι έτσι σε έντονη αντίθεση με τους ωχρούς τριχωτούς σπόρους που συναντώνται στα *S. lycopersicon* και *L. pimpinellifolium*.

Υπάρχει μια γενική συμφωνία ότι η γεύση των καρπών της επιτραπέζιας τομάτας μπορεί να βελτιωθεί εάν αυξηθούν οι συγκεντρώσεις σακχάρων στους καρπούς (Jones and Scott, 1984, Malundo *et al.* 1995). Υπάρχουν διάφορες προσθήκες από γονείς που φέρουν μικρούς καρπούς με υψηλό επίπεδο σακχάρων και μπορούν

να χρησιμοποιηθούν ως γονείς δότες. Αυτοί εμπεριέχουν προσθήκες από *L. hirsutum* (Hadas *et al.* 1995, Schaffer *et al.* 1998, Stommel and Haynes, 1993). Για παράδειγμα, οι Bernacchi *et al.* (1998b) αναγνώρισαν μια θέση ποσοτικού χαρακτηριστικού η οποία προερχόταν από *L. hirsutum* και η οποία συνέβαλε σε μία αύξηση της παραγωγής και του περιεχομένου σε διαλυτά σάκχαρα περίπου κατά 15%.

Επιπροσθέτως, λόγω της προτίμησής του σε υψηλά υψόμετρα, το *L. hirsutum* έχει επίσης εξετασθεί ως μια πιθανή πηγή γονιδίων ανθεκτικών στο ψύχος (Patterson.1988). Επίσης προσθήκες υψηλού υψομέτρου άγριων ειδών τομάτας όπως *L. hirsutum* δείχνουν ένα μεγαλύτερο επίπεδο ανοχής στο ψύχος (όπως αναθεωρήθηκε από τον Venema *et al.* 2000).

Η εναλλακτική μορφή, *L. hirsutum f. glabratum* C.H. Mull. διαφέρει από τα κοινά είδη και φέρει λιγότερο τριχωτά φύλλα και μίσχους, όπως επίσης και μικρότερη στεφάνη άνθους.

1.5 Αγρονομικά σημαντικά χαρακτηριστικά

Η ποιότητα των καρπών, η ανθεκτικότητα σε ασθένειες και η παραγωγή είναι τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά της τομάτας. Η παραγωγή συχνά αναλύεται είτε με το βάρος φρέσκων καρπών που συγκομίστηκαν είτε με την περιεκτικότητα των διαλυτών σακχάρων (Brix) ανά καρπό. Τα Brix σε συνάρτηση με την παραγωγή υπολογίζονται συχνά για να εκτιμηθεί η ποσότητα του επεξεργασμένου προϊόντος η οποία μπορεί να αναμένεται ανά μονάδα επιφάνειας. Επιπρόσθετες μελέτες που είχαν ως σκοπό την βελτίωση της παραγωγής τομάτας έχουν αναφέρει τεράστιες επιτυχίες τόσο στο βάρος φρέσκων καρπών όσο και στην περιεκτικότητα σε διαλυτά σάκχαρα (Alpert *et al.* 1995, Fray *et al.* 2000, Fridman *et al.* 2004, Gur and Zamir 2004). Μια αύξηση του βάρους των συγκομισθέντων καρπών ύψους 47% αναφέρθηκε από τους Alpert *et al.* το 1995.

Άγριου τύπου αλληλόμορφοι που ελέγχουν τη μορφολογία των καρπών έχουν επίσης αναγνωριστεί. Για παράδειγμα οι Kabelka *et al.* (2004a) χρησιμοποίησαν ένα πληθυσμό καθαρής αναδιασταύρωσης που προερχόταν από *L. esculentum* και *L. hirsutum* LA407 προκειμένου να αποτιμήσουν το ενδεχόμενο βελτίωσης των κόκκινων ώριμων καρπών. Έχουν αναγνωριστεί δυο ανεξάρτητοι αλληλόμορφοι οι οποίοι προέρχονται από θέση ποσοτικού χαρακτηριστικού από *L. esculentum* και συσχετίζονται με τη βελτίωση του χρώματος του καρπού. Επίσης έχει αναγνωριστεί

για θέση ποσοτικού χαρακτηριστικού υπεύθυνη για αυξημένο κόκκινο χρωματισμό στον καρπό, σε μια προσθήκη σε φυτά *Lycopersicon hirsutum* με πράσινους καρπούς.

1.6 Οι στόχοι της έρευνας

Στόχος: Η αναγνώριση των γραμμών παρεμβολής που περιέχουν ευνοϊκούς αλληλόμορφους για την ανάπτυξη των φυτών, την εξέλιξη ή την παραγωγή. Τέτοιες γραμμές παρεμβολής μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν αρχικό υλικό για :

- Παρατήρηση και καταγραφή εάν το άγριο είδος *L. hirsutum* LYC4 κρύβει αλληλόμορφους προς ανάπτυξη, εξέλιξη και παραγωγή σε ένα γενετικό υπόβαθρο της τομάτας θερμοκηπίου.
- Εξέταση του μεγέθους της επιρροής του τμήματος ανεξάρτητου ομόζυγου χρωμοσώματος του *L.hirsutum* LYC4 στην ανάπτυξη, εξέλιξη και παραγωγικότητα στις τομάτες θερμοκηπίου.
- Εξέταση των συνεπειών των αποτελεσμάτων για την βελτίωση των φυτών τομάτας θερμοκηπίου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΣΤΟΧΟΣ

Η ανάπτυξη των φυτών ενός πληθυσμού γραμμών παρεμβολής αξιολογήθηκε κάτω από φυσιολογικές και ψυχρές συνθήκες με στόχο την αναγνώριση γραμμών παρεμβολής οι οποίες διατηρούν μια σχετικά καλή απόδοση κάτω από ψυχρότερες συνθήκες.

3.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.2.1 Πειραματικές συνθήκες και σχεδιασμός

Οι σπόροι τομάτας από τον πληθυσμό του πρώτου μας πειράματος, *S. lycopersicum* cv. Moneymaker και *S. habrochaites* LYC4 σπάρθηκαν σε δίσκους εκβλάστησης εντός θερμοκηπίου. Πραγματοποιήθηκε μεταφύτευση των νεαρών φυτών σε κύβους πετροβάμβακα την 11^η μέρα μετά την σπορά.

Στο σύνολο τους 27 γραμμές παρεμβολής διαχωρίστηκαν σε δύο μεταχειρήσεις (16° C και 21° C) και σε δύο αντίγραφα- επαναλήψεις. Συνεπώς: 7 φυτά από κάθε γραμμή παρεμβολής αντιπροσωπεύουν μία πειραματική μονάδα. Κάθε πειραματική μονάδα από τις 27 γραμμές παρεμβολής και στις δύο μεταχειρήσεις τοποθετήθηκε τυχαία σε σύστημα (eb & flow) . Σε εβδομαδιαίο μεσοδιάστημα , ένα φυτό ανά πειραματική μονάδα αφαιρέθηκε για την ανάλυση μέσω καταστροφής.

Οι πειραματικές μονάδες τοποθετήθηκαν σε πάγκους στο θερμοκήπιο σε ένα στρώμα νερού 2-εκατοστών, όπου τα φυτά αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στις νέες συνθήκες περιβάλλοντος. Κατά την έναρξη ενός πειράματος, φυτά τοποθετήθηκαν σε θαλάμους αναπτύξεως. Με προσθήκη νερού και το θρεπτικό διάλυμα, όταν κρίνεται αναγκαίο, η ηλεκτρική αγωγιμότητα κρατήθηκε περίπου στα 3 mS. Το PH ήταν 6-7 και στο πείραμα αυτό το θρεπτικό διάλυμα ανανεώθηκε μετά από 3 εβδομάδες. Στους θαλάμους ανάπτυξης η σχετική υγρασία διατηρήθηκε στο 60-80%.

Δύο μεταχειρήσεις, επιλέχθηκαν να είναι υπό διερεύνηση. Στην πρώτη μεταχείριση η μέση θερμοκρασία ανά 24-h ήταν 16 ° C και στη δεύτερη ήταν 21 ° C σε ένα μήκος της ημέρας 16 h. Τα φυτά φωτιζόνταν με λαμπτήρες τύπου Philips 400W Son-T-Agro.

Το πείραμα διεξήχθη κατά την περίοδο Δεκέμβριος 2005 -Φεβρουάριος 2006 (Πίνακας 1). Κάθε μεταχείριση αποτελούνταν από δύο επαναλήψεις των 27 γραμμών παρεμβολής με 7 φυτά ανά πειραματική μονάδα.

Πειραματικές Μεταχειρήσεις κ Περίοδος Ανάπτυξης

Μεταχειρήσεις (T °C 24-h)	Ημερ. Σποράς	Μεταφύτευση	1 ^ο Μέτρηση	Τελευταία Μέτρηση	Περίοδος Ανάπτυξης (ημέρες)
16 and 21 °C	31 Δεκ.	11 Ιαν.	11 Ιαν.	23 Φεβ.	51

Για την ανάλυση ένα τυχαίο φυτό από κάθε πειραματική μονάδα συλλέχθηκε στις 11,16,23,30,37,44,51 ημέρες μετά τη σπορά. Ξηρά βάρη των φυτών (DW), φυλλική επιφάνεια (LA), διαμέτρος στελέχους, τον αριθμό των φύλλων και το μήκος των φυτών μετρήθηκαν για κάθε ένα από αυτά τα φυτά. Μετά από κάθε συγκομιδή τα φυτά που απομένουν τοποθετήθηκαν πιο αραιά για να αποφεύγεται η σκίαση.

Νωπό βάρος (FW)

Το νωπό βάρος μετρήθηκε για κάθε φυτό με τη ζύγιση τους στελέχους και τα φύλλα μεταξύ τους. Για τη μέτρηση αυτή χρησιμοποιήσαμε μια ζυγαριά με 3 δεκαδικά ψηφία επειδή στην αρχή τα φυτά ήταν πολύ μικρά.

Ξηρό βάρος (DW)

Το ξηρό βάρος των φυτών προσδιορίστηκε για τα φύλλα και τους μίσχους χωριστά σε δοχεία αλουμινίου. Ένα πρότυπο πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για να στεγνώσει τόσο το μίσχο όσο και τα φύλλα: 70 ° C για 3 ώρες ακολουθούμενο από

10 ώρες στους 105 ° C και ένα τελικό στάδιο για 2 ώρες στους 70 ° C. Το ξηρό βάρος μετρήθηκε με μια ζυγαριά τόσο για μίσχο όσο και τα φύλλα ξεχωριστά για κάθε φυτό.

Φυλλική επιφάνεια (LA)

Η επιφάνεια των φύλλων μετρήθηκε σε τετραγωνικά εκατοστά, χρησιμοποιώντας ένα Li-Cor 3100 μέτρο επιφάνειας.

Μήκος των φυτών

Το μήκος των φυτών μετρήθηκε σε εκατοστά από την άνω αυξανόμενη άκρη έως τη βάση του φυτού. Για τον υπολογισμό της ανάπτυξης των φυτών, το μήκος του φυτού συναρτήσε της ημερομηνίας και χρησιμοποιώντας γραμμική παλινδρόμηση, η κλίση προσδιορίστηκε και η οποία αντιπροσωπεύει την ανάπτυξη των φυτών σε cm / ημέρα.

Διάμετρος στελέχους

Το πάχος του στελέχους μετρήθηκε χρησιμοποιώντας ένα παχύμετρο.

Αριθμός φύλλων

Ο αριθμός των φύλλων μετρήθηκε κατά τη διάρκεια του κάθε χρονικού σημείου.

3.2.2 Ανάλυση Ανάπτυξης

Για την αποφυγή μεγάλων υπολογισμών, οι τιμές για τις δύο ομάδες υπολογίστηκαν κατά μέσο όρο. Καμπύλες ανάπτυξης ανά πειραματική μονάδα τοποθετήθηκαν στα φυτικά βάρη σύμφωνα με ένα πολυώνυμο δεύτερης τάξης συνάρτηση όπως περιγράφεται από Lindhout et al. (1991):

$$\ln(W) = a + bt + ct^2 \quad (1)$$

Από ορισμού RGR (Σχετικός ρυθμός ανάπτυξης) είναι μία συνάρτηση του ξηρού βάρους (W):

$$\text{RGR} = d \ln(W) / dt \text{ (η οποία προκύπτει από τον ορισμό } dw / dt = \text{RGR} * W). \quad (2)$$

Χρησιμοποιώντας την εξίσωση (1) RGR μπορεί να εκφραστεί ως συνάρτηση του χρόνου:

$$\text{RGR} = b + 2ct \text{ ή σαν μία συνάρτηση του ξηρού βάρους:}$$

$$\text{RGR} = \sqrt{b^2 - 4c(a - \ln(W))}, \quad (3)$$

Δεδομένου ότι, μελετάμε την ανάπτυξη των φυτών σε ένα νεαρό στάδιο, ο συντελεστής c είναι σχεδόν ίσος με το μηδέν και επομένως, μπορούν να παραλειφθούν από τον τύπο 1. RGR μπορεί επομένως να υπολογιστεί από την εξίσωση: $\ln(W) = a + bt$ στην οποία το b αντιπροσωπεύει την RGR.

Το RGR μπορεί να χωρίζεται σε δύο μέρη: Το καθαρό ποσοστό αφομοίωσης ($\text{NAR} = \text{RGR} \times W / \text{LA}$, όπου LA είναι η φυλλική επιφάνεια (cm^2) και ο δείκτης φυλλικής επιφάνειας ($\text{LAR} = \text{LA} / W$). Το NAR είναι ένα μέτρο της ποσότητας των φωτοσυνθετικών προϊόντων που υεισέρχονται στο φυτικό υλικό, ενώ το LAR είναι η μέτρηση του τμήματος του φυτού που ασχολείται με τη φωτοσύνθεση (Poorter και Remkes 1990, Poorter και Van der Werf 1998). Σε συνδυασμό δίνουν μια σχετική περιγραφή της ανάπτυξης σε βάθος χρόνου με βάση τα χαρακτηριστικά των φυτών.

Οι παράμετροι NAR (Καθαρό ποσοστό αφομείωσης) , LAR (Αναλογία φυλλικής επιφάνειας), SLA (Συγκεκριμένη φυλλική επιφάνεια) και LWR (Αναλογία βάρους φύλλου) υπολογίστηκαν ως ακολούθως.

Το NAR υπολογίστηκε ως $\text{NAR} = \text{RGR} * W / \text{LA}$ και το LAR υπολογίστηκε ως $\text{LAR} = \text{LA} / W$.

Τα δεδομένα μας επέτρεψαν τον υπολογισμό των συσχετίσεων μεταξύ RGR, NAR και LAR, τόσο σε επίπεδο γονότυπων (δηλαδή σε ένα σταθερό ξηρό βάρος) και εντός γονότυπων (δηλαδή σε μια σειρά από τιμές ξηρού βάρους).

Ευτυχώς η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη μας δίνει το απαραίτητο εργαλείο για να διερευνήσουμε τη συσχέτιση μεταξύ RGR και SLA, διότι το βάρος των φυτών μετρήθηκε χωριστά για τα φύλλα και το κύριο στελέχος. Το SLA υπολογίστηκε ως $SLA = LA/DW_l$ όπου DW_l είναι το ξηρό βάρος των φύλλων.

Επιπλέον, η αναλογία βάρους των φύλλων υπολογίστηκε με βάση αυτή την εξίσωση: $LWR = LDW / DW$ (LDW ως το ξηρό βάρος ανά φύλλο).

3.3 Αποτελέσματα

Τα FW (Νωπό βάρος), DW (Ξηρό βάρος), LA (Φυλλική επιφάνεια) , η κλίση ανάπτυξης φυτών, η διάμετρος του στελέχους και ο αριθμός των φύλλων μετρήθηκαν και οι επιδράσεις της κάθε μεταχείρισης εμφανίζονται (παράρτημα 40, 41).

Τα πιο ενδιαφέροντα αποτελέσματα που προκύπτουν από αυτές τις μετρήσεις είναι οι συσχετισμοί μεταξύ της κλίσης της ανάπτυξης των φυτών και τη διάμετρο του στελέχους, αντίστοιχα, με RGR (Εικόνα 2). Τα DW και LA ήταν χρήσιμα για τον υπολογισμό των πολύ ενδιαφερόσων τιμών RGR, NAR, LAR και LWR.



Εικόνα 1-2. Η οπτική παρατήρηση των πιο αργά και πιο γρήγορα αναπτυσσόμενων γραμμών παρεμβολής κατά την τελευταία μέτρηση (52η ημέρα) σε σύγκριση με το S.L.

3.3.1 Αναπτυξιακές αλλαγές στην RGR, NAR, SLA και LAR

Για τη μεταχείριση στους 16 ° C η μέση του $\ln(W)$ επί όλων των γονότυπων κυμαίνονταν από -5,56 την 12^η ημέρα έως 0,55 κατά την 52^η ημέρα. Στους 21 ° C, η μέση του $\ln(W)$ κυμάνθηκε από -5,81 την 12^η ημέρα έως 1,43 την 52^η ημέρα.

Για κάθε πειραματική μονάδα / μεταχείριση, το RGR υπολογίστηκε (Πίνακας 2)

	Μεταχείριση 16 °C	Μεταχείριση 21°C	RGR ratio
IL	RGR	RGR	
3	0,150	0,177	1,19
5	0,138	0,177	1,29
7	0,150	0,188	1,25
Π 9	0,157	0,195	1,24
12	0,162	0,191	1,19
15	0,131	0,184	1,40
Π 16	0,157	0,191	1,22
18	0,160	0,194	1,21
ί 19	0,156	0,181	1,16
ν 21	0,143	0,176	1,23
24	0,148	0,192	1,30
α 25	0,165	0,187	1,13
κ 26	0,144	0,192	1,33
27	0,160	0,185	1,15
α 31	0,164	0,177	1,08
ς 32	0,148	0,194	1,32
33	0,150	0,190	1,27
35	0,149	0,140	0,94
Π 36	0,160	0,173	1,08
37	0,145	0,171	1,18
ί 38	0,159	0,181	1,14
ν 39	0,144	0,187	1,30
41	0,153	0,190	1,24
α 42	0,150	0,199	1,33
κ 45	0,159	0,179	1,13
46	0,186	0,185	0,99
α 47	0,143	0,180	1,25
ς			

Πίνακας 2. Τιμές RGR κάτω από τις δύο μεταχειρήσεις και ο λόγος RGR.

Μια αναλογία RGR υπολογίζεται διαιρώντας τις τιμές RGR στους 21 ° C με αυτές στους 16 ° C. Αυτές οι τιμές συγκρίθηκαν με τις τιμές των SL και έδειξαν ποιοί γονότυποι αυξάνονται πιο γρήγορα ή πιο αργά (Πίνακας 2). Οι περισσότεροι από τους γονότυπους είχαν απόδοση παρόμοια με SL. Μια ομάδα γονότυπων (31, 36) και ειδικότερα 35 έδειξαν ότι κάτω από 16 ° C απέδωσαν καλύτερα και αναπτύχθηκαν ταχύτερα από τους υπόλοιπους γονότυπους. Ωστόσο, οι γονότυποι 15, 32 και 42 έδειξαν σημαντικές διαφορές από την SL σε αναλογία με το RGR, κάτι που εξηγεί τις αρνητικές επιδόσεις τους, ιδίως στους 16 ° C.

Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε για την εξέταση των διαφορών των τιμών NAR μεταξύ των δύο μεταχειρήσεων. Η αναλογία NAR υπολογίστηκε και ορισμένοι

γονότυποι διέφεραν από την SL. Οι γραμμές παρεμβολής 19, 35 και 36 συνδέθηκαν με τη μεγαλύτερη ποσότητα των φωτοσυνθετικών προϊόντων. Από την άλλη πλευρά, οι γονότυποι 32, άγριου ελέγχου, 39 και τέλος, ο πλέον διαφορετικός 41 περιείχαν τη λιγότερη ποσότητα των φωτοσυνθετικών προϊόντων.

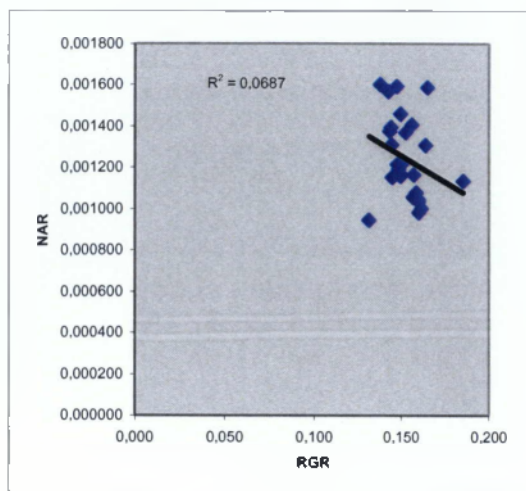
Το SLA μετρήθηκε και μια καλύτερη εκτίμηση των συλλεχθέντων δεδομένων έγινε με τον υπολογισμό της αναλογίας SLA μεταξύ αυτών των δύο μεταχειρήσεων. Η παρατήρηση αυτής της αναλογίας κατέδειξε ότι δύο γονότυποι 41 και 42 είχαν τιμές μεγαλύτερες από SL. Ωστόσο, ορισμένοι γονότυποι όπως 19, 39 και άγριου ελέγχου παρουσίασαν μικρότερες τιμές και επιπλέον λιγότερες τιμές SLA.

Η αναλογία LAR υπολογίστηκε και οι γονότυποι 35, άγριου ελέγχου (δύο πιο διαφορετικοί), 18 και 31 ήταν λιγότεροι από SL. Έτσι, αυτοί οι γονότυποι είχαν μικρότερα τμήματα που ασχολούνταν με τη φωτοσύνθεση σε αντίθεση με πολλούς γονότυπους (5,7,9, 21,24,39,42,47) που είχαν μεγαλύτερες τιμές από ό, τι η SL.

3.3.2 Συσχέτιση μεταξύ RGR, NAR, SLA, LAR και LWR

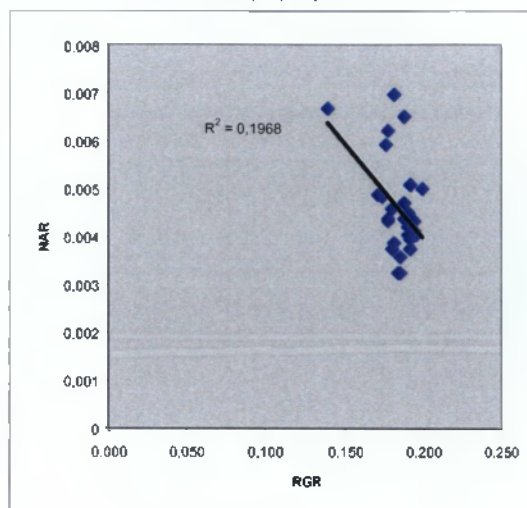
Η συσχέτιση μεταξύ RGR και NAR, RGR και LAR, καθώς και NAR και LAR μελετήθηκαν κατά την περίοδο της ανάπτυξης μεταξύ των γονότυπων. Οι συσχετίσεις μεταξύ RGR και NAR, RGR και LAR, RGR και SLA, RGR και LWR εμφανίζονται στα επόμενα γραφήματα, αντίστοιχα για τις δύο μεταχειρήσεις.

Μεταχείριση: 16 °C



(α)

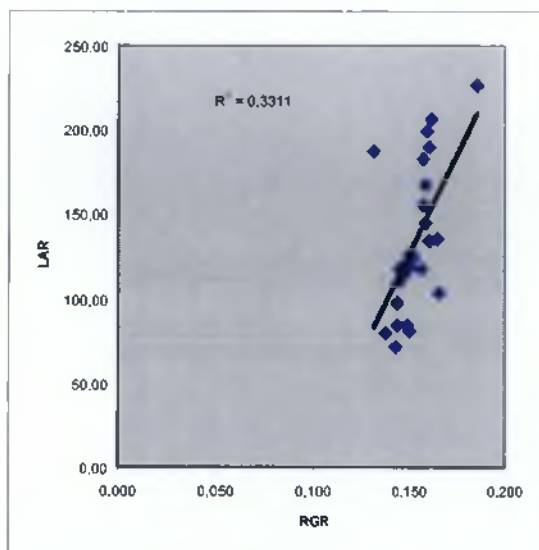
Μεταχείριση: 21 °C



(β)

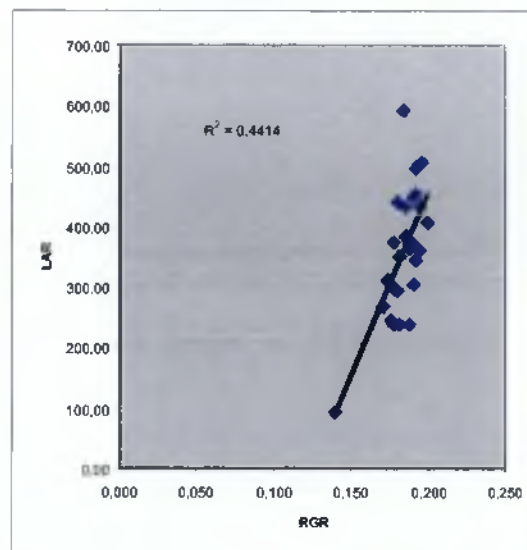
Σχήμα 1. Το NAR έναντι RGR στους 16 ° C (α) και 21 ° C (β) μεταξύ των 27 γονότυπων που διερευνήθηκαν σε αυτή τη μελέτη.

Μεταχείριση: 16 °C



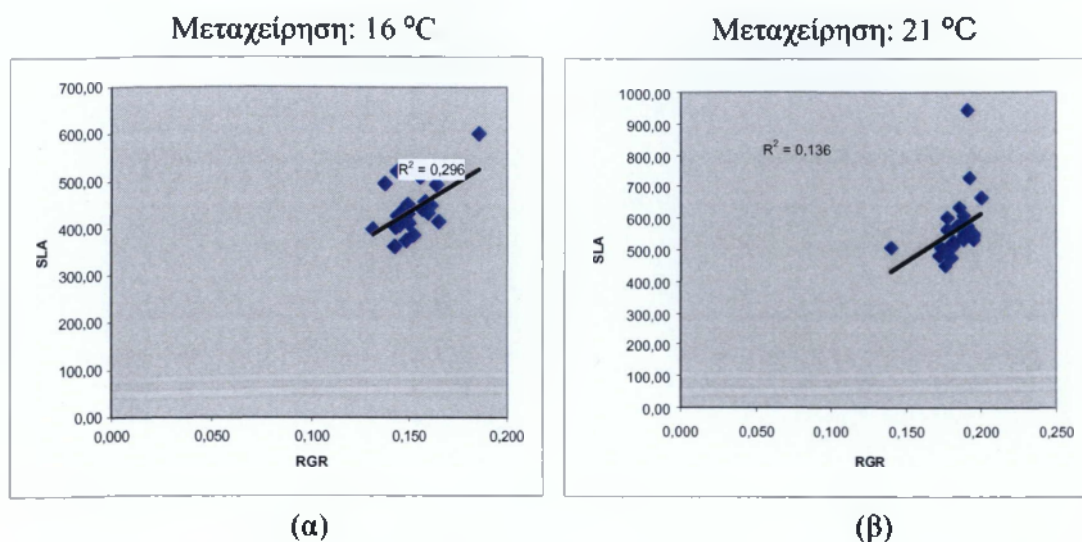
(α)

Μεταχείριση: 21 °C

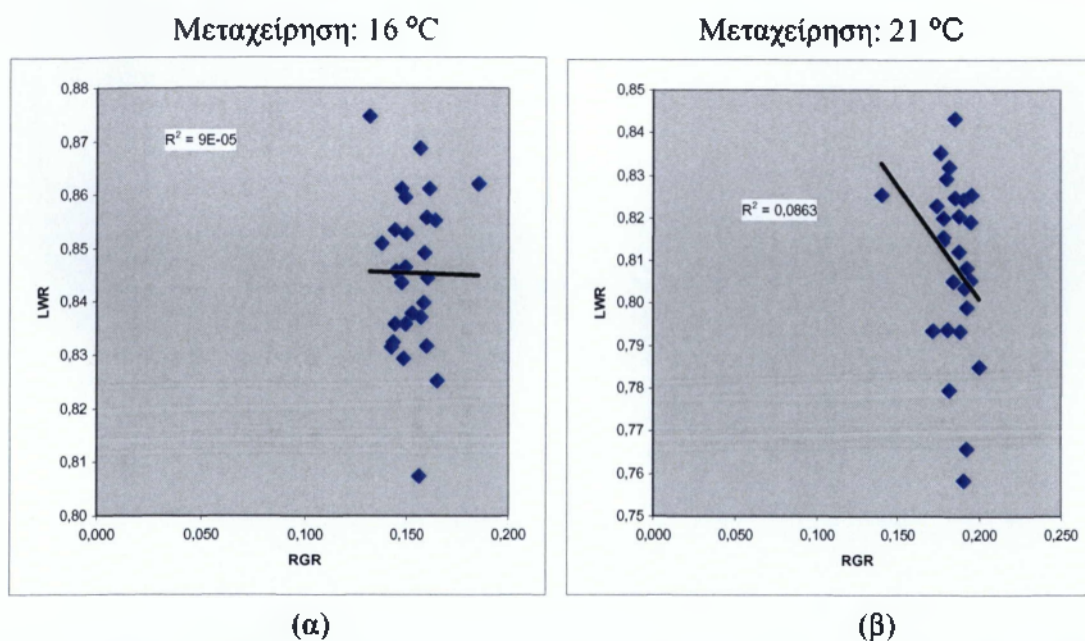


(β)

Σχήμα 2. Η LAR έναντι RGR στους 16 ° C (α) και 21 ° C (β) μεταξύ των 27 γονότυπων που διερευνήθηκαν σε αυτή τη μελέτη.



Σχήμα 3. Η SLA έναντι RGR στους 16 ° C (α) και 21 ° C (β) μεταξύ των 27 γονότυπων που διερευνήθηκαν σε αυτή τη μελέτη.

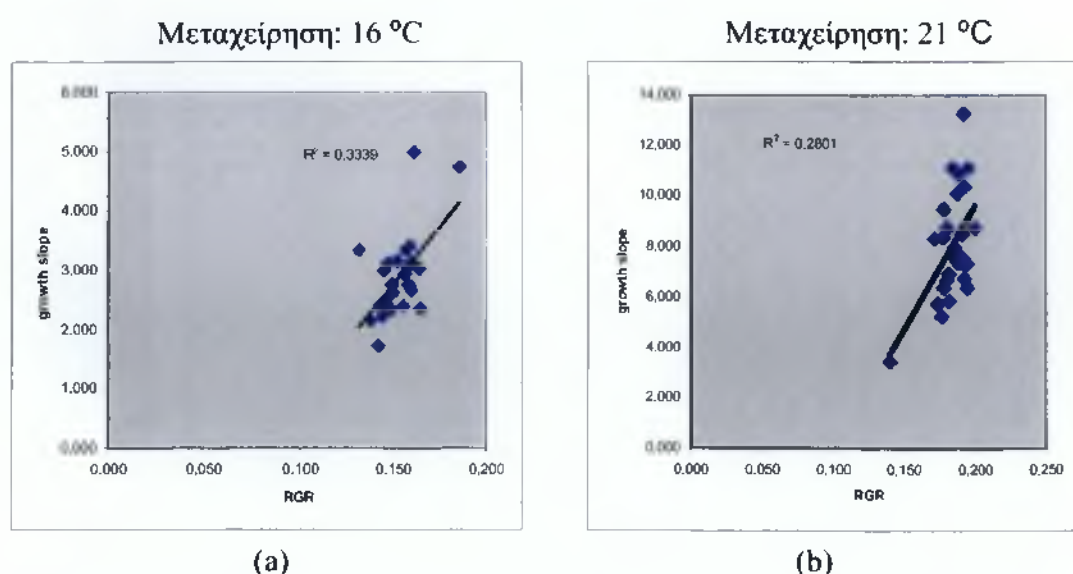


Σχήμα 4. Η LWR έναντι RGR στους 16 ° C (α) και 21 ° C (β) μεταξύ των 27 γονότυπων που διερευνήθηκαν σε αυτή τη μελέτη.

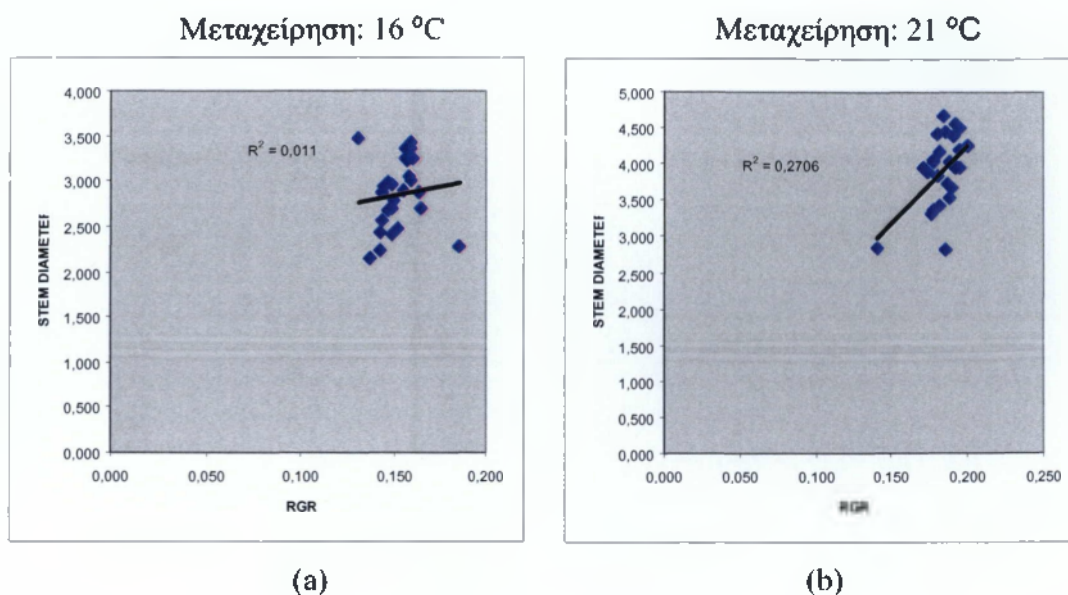
Οι συσχετίσεις μεταξύ αυτών των χαρακτηριστικών που παρατηρήθηκαν με υπολογισμό της τετραγωνικής ρίζας της τιμής R^2 . Έτσι, παρατηρήθηκαν κάποιες ενδιαφέρουσες συσχετίσεις. Στους 16 ° C παρατηρήσαμε ότι τα πιο συσχετιζόμενα γνωρίσματα ήταν η LAR με RGR ($r = 0,58$) (Σχήμα 4α). Η NAR και SLA με την

RGR βρέθηκαν να συσχετίζονται αντίστοιχα ($r = 0,26$, $r = 0,54$) (Σχήμα 1α, 3α). Καμία σημαντική συσχέτιση δεν βρέθηκε μεταξύ του LWR και RGR (Σχήμα 4α). Στους 21 °C, επίσης, παρατηρήθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της LAR και RGR ($r = 0,66$) (Σχήμα 2β). Επιπλέον, συσχετιζόμενα ήταν τα γνωρίσματα NAR ($r = 0,44$), SLA ($r = 0,37$) (Σχήμα 1b, 3b) και λιγότερο συσχετιζόμενο LWR ($r = 0,29$) (Σχήμα 4b), όλα με RGR.

Η συσχέτιση μεταξύ της RGR και της κλίσης της ανάπτυξης, RGR και η διάμετρος στελέχους, επίσης, μελετήθηκαν κατά την ίδια περίοδο ανάπτυξης μεταξύ των γονότυπων. Οι συσχετίσεις μεταξύ RGR και της κλίσης ανάπτυξης, RGR και τη διάμετρο στελέχους εμφανίζονται στα επόμενα γραφήματα, αντίστοιχα για τις δύο μεταχειρήσεις.



Σχήμα 5. Η κλίση ανάπτυξης έναντι RGR στους 16 °C (α) και 21 °C (β) ανάμεσα στα 27 γονότυπους διερευνήθηκαν σε αυτή τη μελέτη.



Σχήμα 6. Η διάμετρος στελέχους έναντι RGR στους 16 ° C (α) και 21 ° C (β) μεταξύ των 27 γονότυπων που διερευνήθηκαν σε αυτή τη μελέτη.

Παρατηρήθηκαν συσχετισμοί μεταξύ αυτών των χαρακτηριστικών, επίσης, από τον υπολογισμό της τετραγωνικής ρίζας της τιμής R^2 . Ο πιο ενδιαφέρον συσχετισμός που παρατηρήθηκε ήταν μεταξύ της κλίσης αύξησης και RGR στις δύο μεταχειρήσεις ($r = 0,58$, $r = 0,53$, αντιστοίχως) (Σχήμα 5α, 5β). Στους 21 ° C παρατηρήθηκε ένα παρόμοιο επίπεδο συσχέτισης μεταξύ της διαμέτρου του στελέχους και RGR ($r = 0,52$) (Σχήμα 6β), όπως ήταν στους 16 ° C. Δεν βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της διαμέτρου του στελέχους και RGR ($r = 0,1$) (Σχήμα 6α).

3.4 Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη αλλαγές της RGR κατά την ανάπτυξη των νεαρών φυτών τομάτας αναλύθηκαν. Σε προηγούμενες μελέτες, η RGR γονότυπων τομάτας υπολογίστηκε σε ένα ορισμένο χρονικό σημείο (Nieuwhof et al.1993, Smeets και Garretsen 1986a, Smeets και Garretsen 1986b), ή σε σταθερά βάρη των φυτών (Lindhout et al. 1991). Σύμφωνα με τελευταία μελέτη, η RGR σαν μία συνάρτηση του βάρους είναι πιο κατατοπιστική, αφού οι συγγραφείς προτείνουν ότι οι αλλαγές στην RGR κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του φυτού μπορεί να διαφέρουν μεταξύ των γονότυπων. Στην παρούσα μελέτη περισσότερα φυτά ανά γονότυπο

χρησιμοποιήθηκαν και περισσότερες αξιολογήσεις έγιναν για να καταστεί δυνατή η ακριβέστερη μελέτη των διαφορών στις αναπτυξιακές αλλαγές στην RGR μεταξύ 27 γονότυπων της ντομάτας.

Μια συσχέτιση μεταξύ RGR και LAR παρατηρήθηκε μεταξύ των γονότυπων και στους δύο χειρισμούς. Αυτό είναι σε συμφωνία με την de Jong και Jansen (1992), Dijkstra και Lambers (1999c), Dijkstra και Lambers (1989b), Nieuwhof et al. (1991), Poorter και Lambers (1991) και Smeets και Gattetsen (1986a), ο οποίος διαπίστωσε ότι SLA, και, κατά συνέπεια, LAR, είναι πιο έντονα συσχετιζόμενα με RGR. Παρά το γεγονός ότι, υπήρχε μια μικρή συσχέτιση μεταξύ RGR και LWR στους 21 ° C (Σχήμα 6b) καμία σημαντική συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε στους 16 ° C (Σχήμα 6a).

Ο Heuvelink (1999) έδειξε ότι το SLA και το στάδιο ανάπτυξης της φυτικής μονάδας έχουν μεγάλη επίδραση στο ρυθμό ανάπτυξης των καλλιεργειών. Ίσως η έμφαση στην αναπτυξιακή φάση σημαίνει, επίσης, ότι η συσχέτιση μεταξύ των SLA και της παραγωγής βιομάζας δεν θα ίσχυε σε όλη την ανάπτυξη των φυτών. Αυτό τουλάχιστον φαίνεται να ισχύει για μερικές φυσιολογικές παραμέτρους όπως την LAR μας.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης σχετικά με τη συσχέτιση μεταξύ RGR και LAR επιβεβαιώθηκαν και στις δύο μεταχειρήσεις που διερευνώνται. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι ένα σχετικά υψηλότερο RGR στους 16 ° C συσχετίζεται με μεγαλύτερο μέρος του φυτού που ασχολείται με τη φωτοσύνθεση. Ειδικά στο γονότυπο 35 βαθμολογήθηκε το υψηλότερο RGR, η επιφάνεια των φύλλων που εμπλέκονται στη φωτοσύνθεση ήταν μεγαλύτερη.

Η μικρή συσχέτιση που παρατηρήθηκε μεταξύ RGR και NAR εξηγεί ότι στον πληθυσμό μας, το ποσό των φωτοσυνθετικών προϊόντων που υπεισέρχονται σε φυτικό υλικό δεν εξαρτάται από το πόσο υψηλή είναι η τιμή RGR. Επιπλέον, μια επίσης ενδιαφέρουσα παρατήρηση ήταν ότι κάτω από 16 ° C, η συσχέτιση μεταξύ RGR και NAR ήταν μικρότερη από ό, τι στους 21 ° C. Αυτό μας δίνει την ευκαιρία να συνειδητοποιήσουμε ότι η ποσότητα των φωτοσυνθετικών προϊόντων αυξάνεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες (21 ° C ή μάλλον υψηλότερα).

Ένας ενδιαφέρον συσχετισμός μεταξύ RGR και της κλίσης ανάπτυξης παρατηρήθηκε και αυτό μας βοήθησε να κατανοήσουμε ότι η ανάπτυξη των φυτών στις περισσότερες από τις γραμμές παρεμβολής συσχετίστηκε με RGR. Όπου

παρατηρήσαμε μεγάλες τιμές RGR είχαμε επίσης μεγάλη κλίση της ανάπτυξης και το αντίθετο. (Σχήμα 5α, 5b)

Μια άλλη συσχέτιση που παρατηρήθηκε στους 21 ° C ήταν μεταξύ RGR και της διαμέτρου του στελέχους. Αυτό δείχνει ότι μεγαλύτερη τιμή RGR σημαίνει παχύτερο στελέχος του φυτού. Ωστόσο, ο ίδιος συσχετισμός δεν παρατηρείται στους 16 ° C. Αυτό μπορεί να συμβαίνει επειδή η ανάπτυξη της διαμέτρου του στελέχους δεν ευνοείται υπό 16 ° C. (Σχήμα 6).

3.5 Συμπεράσματα

Με τα αποτελέσματα που πήραμε από αυτή την έρευνα αναδείξαμε ότι υπάρχει η δυνατότητα χρησιμοποίησης γραμμών παρεμβολής για την αξιοποίηση των γονιδίων πολλαπλών ποσοτικών χαρακτηριστικών της τομάτας. Αυτά τα αποτελέσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα προγράμματα βελτίωσης και για την αναβάθμιση της ποιότητας της τομάτας. Αυτό αποδεικνύει ότι άγριοι αλληλόμορφοι από το *Solanum hirsutum* LYC4 μπορεί να δημιουργήσουν τις προοπτικές για την αγρονομική βελτίωση της τομάτας θερμοκηπίου. Εφόσον ο πληθυσμός που αναπτύξαμε είναι διατηρούμενος στις τράπεζες γενετικού υλικού μπορεί να δοκιμαστεί σε διαφορετικές τοποθεσίες (αφού μερικά από τα αποτελέσματα εξαρτώνται από το περιβάλλον). Έτσι ο πληθυσμός αυτός μπορεί να κινήσει το ενδιαφέρον για μελλοντική έρευνα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- STEVENS, M. A., AND C. M. RICK. 1986.** Genetics and breeding. *In* J. G. Atherton and J. Rudich [eds.], *The tomato crop*, 35–109. Chapman & Hall, London, UK.
- NUEZ, F. 1995.** Desarrollo de nuevos cultivares. *In* F. Nuez [ed.], *El cultivo del tomate*, 625–669. Mundi-Prensa, Madrid, Spain.
- Purseglove, J.W. 1969.** *Tropical Crops – Dicotyledons 2*. Longmans, London and Harlow.
- Miller JC, Tanksley SD (1990)** RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor Appl Genet* 80 : 437-438
- Tanksley ,SD., and McCouch, S.R. 1997.** Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science*(Washington, D.C.) 277: 1063-1066
- Eshed,Y.and D.Zamir.** A genomic library of *Lycopersicon pennellii* in *L.esculentum*:a tool for fine mapping of genes.*Euphytica*.Dordrecht:Kluwer Academic Publishers.1994,1994.73 (3):p.175-179.
- Vicente MC de, Tanksley SD, 1993.** QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. *Genetics* 134: 585-596
- Xiao J, Grandillo S, Ahn SN, McCouch SR, Tanksley SD, 1997.** Genes from the wild boost rice yields, *Nature* 384: 223-224
- Tanksley SD, Medina-Filho H, Rick CM (1982)** Use of naturally occurring enzyme variation to detect and map genes controlling quantitative traits in an interspecific backcross of tomato. *Heredity* 49:11– 25
- Paterson AH. , 1996.** *Genome mapping in plants* . R.G. Laanders Co., Austin, Texas
- Jones,R.A.,and S.J.Scott.1984.**Genetic potential to improve tomato flavor in commercial F1 hybrids.*J.Amer.Soc.Hort.Sci.*109:p.318-321.
- Malundo,T.M.M.,R.L.Shewfelt,and J.W.Scott.1995** .Flavor quality of fresh market tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as affected by sugar and acid levels.*Postharvest Biol.Technol.*6:103-110.
- Hadas,R., A.A.Schaffer, D.Miron, M.Fogelman, and D.Granot.1995** PCR-generated molecular markers for the invertase gene and sucrose accumulation in tomato:*Theor.Appl.Genet.*92:1142-1148.

Tanksley, S.D. & Nelson, J.C. 1996. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theor. Appl. Genet.*, 92:191–203.

Scaffer, A.A., M. Petreikov, D. Miron, M. Fogelman, M. Spiegelman, Z. Bnei-Mosche, S. Slen, D. Granot, R. Hadas, N. Dai, I. Levin, M. Bar, M. Friedman, M. Pilowsky, N. Gilboa, and L. Chen. 1998. Modification of carbohydrate content in developing tomato fruit. *Hortscience* 34:12-15.

Alpert, K.B., S. Grandillo, and S.D. Tanksley, fw 2.2: a major QTL controlling fruit weight is common to both red- and green-fruited tomato species. *Theor appl genet.* Berlin; Springer Verlag. Nov 1995, 1995.91 (6/7):p.994-1000.

Kabelka, E., B. Franchino, and D.M. Francis, Two loci from *Lycopersicon hirsutum* LA407 confer resistance to strains of *Clavibacter michiganensis*. *Phytopathology*. St. Paul, Minn.: American Phytopathological Society, 1911. May 2002, 2002.92 (5):p.504-510.

Bernacchi D, Beck-Bunn T, Eshed Y, Lopez J, Petiard V, Uhlig J, Zamir D, Tanksley S (1998) Advanced backcross QTL analysis in tomato. I. Identification of QTLs for traits of agronomic importance from *Lycopersicon hirsutum*. *Theor Appl Genet* 97:381–397

Stommel, J.R. and K.G. Haynes. 1993. Genetic control of fruit sugar accumulation in a *Lycopersicon esculentum* x *L. hirsutum* cross. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118:859-863.

NIEUWHOF, M., JANSEN, J. and VAN OEVEREN, J. C. (1993). Genotypic variation for relative growth rate and other growth parameters in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under low energy conditions. *Journal of Genetics and Breeding*, 47, 35-44.

SMEETS, L. and GARRETSEN, F. (1986b). Growth analyses of tomato genotypes grown under low night temperatures and low light-intensity. *Euphytica*, 35, 701-715.

SMEETS, L. and GARRETSEN, F. (1986a). Inheritance of growth characters of tomato (*Lycopersicon - esculentum* Mill) under low-energy conditions. *Euphytica*, 35, 877-884

LINDHOUT, P., PET, G., JANSEN, R. and JANSEN, H. (1991). Genetic-differences in growth within and between *Lycopersicon* species. *Euphytica*, 57, 259-265.

DE JONG, J. and JANSEN, J. (1992). Genetic differences in relative growth rate and partitioning growth components in *Chrysanthemum morifolium*. *Scientia Horticulturae*, 49, 267-275.

HEUVELINK, E. (1999). Evaluation of a dynamic simulation model for tomato crop growth and development. *Annals of Botany*, 83, 413-422.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Παράρτημα 40

Κλίση ανάπτυξης, διάμετρος στελέχους, FW, DW, αριθμός φύλλων και LA μεταχειρήσεις στους 16 °C

il	Αντίγραφα	Κλίση	M.O στελέχους	FW	DW	Φύλλα	LA
3	2	2,759	2,959	4,107	0,978	4,4	67,29
5	1	2,143	2,139	2,295	0,923	5,4	46,75
7	1	2,333	2,409	2,508	0,790	4,0	45,51
9	2	3,334	3,248	5,890	1,153	5,2	83,86
12	2	4,972	3,258	6,563	1,275	5,5	108,65
15	2	3,327	3,473	6,421	1,349	5,6	68,90
16	2	2,929	3,349	6,696	1,228	5,6	96,76
18	2	3,413	3,421	7,051	1,304	5,1	73,37
19	2	2,385	2,889	4,195	1,056	5,0	117,15
21	1	1,728	2,236	2,352	0,783	4,6	40,61
24	2	3,112	2,991	4,145	0,983	5,2	65,37
25	1	2,357	2,701	3,287	0,993	4,6	56,19
26	2	2,409	2,881	3,498	0,997	4,7	59,97
27	2	3,138	3,357	6,271	1,165	4,7	99,57
31	2	3,022	2,879	4,532	1,074	5,0	72,94
32	2	2,379	2,672	3,557	1,243	5,4	63,02
33	2	2,587	2,686	3,866	0,912	4,8	64,47
35	1	2,584	2,700	3,123	0,672	4,0	46,43
36	2	2,662	3,016	4,463	0,867	4,3	72,09
37	2	2,997	2,930	4,135	0,928	4,5	63,97
38	2	3,058	3,047	4,829	0,978	4,9	77,10
39	1	2,220	2,561	2,742	0,942	4,6	53,69
41	1	3,151	2,480	4,179	1,113	5,0	124,11
42	2	2,614	2,778	3,801	0,984	4,5	121,51
45	2	2,758	3,236	5,699	1,105	4,9	88,51
46	2	4,720	2,271	5,975	1,381	7,6	226,27
47	2	2,405	2,441	2,970	0,810	4,1	84,40

Παράρτημα 41

Κλίση ανάπτυξης, διάμετρος στελέχους, FW, DW, αριθμός φύλλων και LA μεταχειρήσεις στους 21 °C

il	Αντίγραφα	Κλίση	M.O στελέχους	FW	DW	Φύλλα	LA
3	2	9,468	4,041	14,976	1,931	6,8	372,22
5	1	6,379	3,360	7,716	1,734	9,2	238,26
7	1	10,897	4,029	14,918	2,006	7	363,85
9	2	11,102	4,496	20,482	2,328	8,1	504,42
12	2	13,260	3,945	17,491	2,349	7,8	494,13
15	2	11,095	4,668	22,428	2,595	8,6	591,50
16	2	8,518	4,394	17,761	2,154	8,2	449,71
18	2	7,342	4,197	15,128	2,060	7,6	432,78
19	2	5,854	3,433	8,427	1,444	6,5	236,98
21	1	5,243	3,310	7,903	1,313	6,4	245,11
24	2	10,373	4,559	18,509	2,364	7,8	452,68
25	2	7,383	3,534	8,932	1,658	6,8	239,21
26	2	6,747	3,991	12,467	1,862	7	341,79
27	2	7,984	4,436	16,484	2,016	6,3	432,18
31	2	8,380	4,051	11,673	1,808	7,646	295,84
32	2	6,374	3,950	12,603	1,932	7,1	358,73
33	2	7,367	3,981	13,252	1,863	7,5	370,32
35	1	3,424	2,836	2,949	0,924	5,6	91,52
36	2	5,734	3,892	11,399	1,623	5,9	308,75
37	2	8,336	3,956	11,704	1,670	6,9	268,20
38	2	6,941	4,167	13,017	1,746	6,3	348,76
39	1	10,081	3,719	12,367	1,945	7,8	363,21
41	1	7,591	3,676	10,885	1,652	6,8	304,78
42	2	8,743	4,242	16,408	2,147	6,5	406,10
45	2	8,757	4,412	17,220	2,197	6,9	438,10
46	2	7,617	2,822	9,435	1,981	11	382,49
47	2	6,680	3,849	10,743	1,309	6	293,40