

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ, ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΑΓΡΟΝΟΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΞΥ
ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΦΑΣΟΛΙΩΝ
ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *PHASEOLUS COCCINEUS***



ΚΑΤΣΑΒΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

ΒΟΛΟΣ, 2006



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ & ΚΕΝΤΡΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 5752/1
Ημερ. Εισ.: 28-08-2007
Δωρεά: Συγγραφέα
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ - ΦΠΑΠ
2006
ΚΑΤ

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ, ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΑΓΡΟΝΟΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΞΥ
ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΦΑΣΟΛΙΩΝ
ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *PHASEOLUS COCCINEUS***

ΚΑΤΣΑΒΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

ΒΟΛΟΣ, 2006

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ, ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΑΓΡΟΝΟΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΞΥ
ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΦΑΣΟΛΙΩΝ
ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *PHASEOLUS COCCINEUS***

ΚΑΤΣΑΒΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Α. ΜΑΥΡΟΜΑΤΗΣ

(Επιβλέπων)

Λέκτορας

Ν. ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ

(Μέλος)

Επικ. Καθηγητής

Α. ΧΑ

(Μέλος)

Επικ.Καθηγητής

ΒΟΛΟΣ, 2006

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Περίληψη.....	6
2. Εισαγωγή.....	7
3. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας	9
3.1 Καταγωγή και ταξινόμηση του φασολιού.....	9
3.2 Βοτανικά χαρακτηριστικά.....	11
3.3 Οικολογικές απαιτήσεις	13
3.4 Εχθροί και ασθένειες	13
3.5 Πρακτικές καλλιέργειας	13
3.6 Βελτίωση φασολιού <i>P. coccineus</i>	14
3.6.1 Αξιοποίηση γενετικής παραλλακτικότητας.....	16
3.6.2 Κλασσική βελτίωση.....	17
3.6.3 Σύγχρονες τεχνικές βελτίωσης	23
3.6.3.1 Βιοχημικοί και μοριακοί δείκτες.....	23
3.6.3.2 <i>In vitro</i> αναγέννηση.....	25
3.6.4 Βελτίωση παραδοσιακών πληθυσμών	27
4. Υλικά και μέθοδοι.....	33
4.1 Γενετικό υλικό.....	33
4.2 Εγκατάσταση πειράματος	33
4.3 Καλλιεργητικές φροντίδες.....	35
4.4 Συγκομιδή.....	35
4.5 Μετρήσεις και παρατηρήσεις.....	36
4.6 Αξιολόγηση γενοτύπων με τη βοήθεια μοριακών δεικτών.....	38
4.6.1 Μέθοδος απομόνωσης DNA.....	38
4.6.2 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός DNA.....	39
4.6.3 Μοριακή γενετική ανάλυση με δείκτες RAPD'S.....	40
4.7 Στατιστική ανάλυση.....	41
5. Αποτελέσματα και συζήτηση.....	43
5.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά.....	43
5.2 Αγρονομικά χαρακτηριστικά.....	47
5.3 Μοριακή ανάλυση.....	52

5.3.1 Ποσοτικός και ποιοτικός προσδιορισμός DNA.....	52
5.3.2 Ανάλυση με μοριακούς δείκτες RAPD'S.....	52
6. Συμπεράσματα.....	56
7. Βιβλιογραφία	57
8. Παράρτημα.....	66

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της προπτυχιακής διατριβής μου, πολλοί ήταν οι άνθρωποι που με βοηθήσαν και με στήριξαν.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Αθανάσιο Μαυρομάτη, Λέκτορα Γενετικής φυτών του εργαστηρίου γενετικής βελτίωσης φυτών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τη συνολική συμβολή του κατά τη διάρκεια του πειράματος και της συγγραφής της παρούσας εργασίας καθώς και για την ηθική στήριξη που προσέφερε.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της επιτροπής Επίκουρο καθηγητή κ. Παπαδόπουλο και Επίκουρο καθηγητή κ.Χα για τις εύστοχες και γόνιμες παρατηρήσεις τους.

Τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον Δρ. Αθανάσιο Κορκόβελο για την πολύτιμη βοήθεια του και την συμπαράσταση του σε δύσκολες στιγμές, στον υποψήφιο Δρ. Βασίλειο Χατζηθεοδώρου για την βοήθεια που προσέφερε κατά τη διάρκεια του πειράματος και στην κ, Μίνα Πανάγου, γεωπόνο για την συμπαράσταση που προσέφερε.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου που χωρίς την στήριξη, την κατανόηση και την βοήθεια τους δεν θα είχε πραγματοποιηθεί η παρούσα διατριβή και τους φίλους που μου παρείχαν εκτός από την συμπαράσταση, πολύτιμη βοήθεια κατά την διάρκεια του πειράματος.

1. Περίληψη

Στην παρούσα εργασία έγινε αξιολόγηση πέντε παραδοσιακών πληθυσμών φασολιών τύπου γίγαντες (*Phaseolus coccineus* L.) με βάση τα αγρονομικά χαρακτηριστικά και τη βοήθεια μοριακών δεικτών τύπου RAPD's. Οι παραδοσιακοί πληθυσμοί προέρχονται από τις περιοχές των Γρεβενών, της Ζαγοράς, της Βυζίτσας, των Πρεσπών (Αροσης) και της Φλώρινας. Ως μάρτυρας για την αξιολόγηση των πληθυσμών χρησιμοποιήθηκε μια οικογένεια του πληθυσμού των Γρεβενών (4ΚΣ) που επιλέχτηκε με βάση την απόδοση.

Η πειραματική διάταξη ήταν RCB με τρεις χρονικές επαναλήψεις και χρήση μάρτυρα για έλεγχο της ομοιομορφίας του αγρού. Για κάθε έναν από τους πληθυσμούς καταγράφηκαν παρατηρήσεις που αφορούσαν τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά και τα συστατικά της απόδοσης. Έμφαση δόθηκε στις παρατηρήσεις που αφορούσαν σε συνδυασμό με την εποχή σποράς, έτσι ώστε να βρεθεί η κατάλληλη περίοδος για σπορά και αυτών των γενοτύπων σε πεδινές περιοχές καλλιέργειας.

Η απομόνωση του DNA έγινε από ιστό νεαρών φύλλων για κάθε πληθυσμό σύμφωνα με την τροποποιημένη μέθοδο CTAB. Χρησιμοποιήθηκαν 21 RAPD's εκκινητές με τυχαία νουκλεοτιδική ακολουθία εκ των οποίων οι δεκαοχτώ έδωσαν πολυμορφικές ζώνες με συνέπεια τη δυνατότητα για γενετική ταυτοποίηση και διάκριση των πληθυσμών.

Παρατηρήθηκε σημαντική γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ των εξεταζόμενων πληθυσμών όσον αφορά τα περισσότερα μορφολογικά χαρακτηριστικά. Επίσης παρουσιάστηκε παραλλακτικότητα εντός των πληθυσμών ως προς τα χαρακτηριστικά ταχύτητα ανάπτυξης φυτού, τύπος φύλλου και χρώμα άνθους.

Η εποχή σποράς επηρέασε σημαντικά την απόδοση και τα συστατικά της ενώ βρέθηκε ότι η όψιμη σπορά εξαιτίας του συγχρονισμού της μέγιστης ανθοφορίας με τις δροσερές νύχτες του Αυγούστου, οδήγησαν σε υψηλότερες αποδόσεις.

Οι μοριακές γενετικές αναλύσεις έδειξαν γενετική συγγένεια μεταξύ των πληθυσμών Βυζίτσας, Ζαγοράς, Πρέσπες και Φλώρινας ενώ την μεγαλύτερη ομοιότητα εμφανίζουν οι πληθυσμοί της Βυζίτσας και Ζαγοράς. Ο πληθυσμός των Γρεβενών φαίνεται να έχει διαφορετική γενετική βάση αφού έχει την μικρότερη ομοιότητα σε σχέση με τους υπόλοιπους πληθυσμούς.

2. Εισαγωγή

Τα φασόλια είναι από τα σημαντικότερα όσπρια για όλον τον κόσμο λόγω της κατανάλωσης τους τόσο από ανθρώπους όσο και από τα ζώα. Οι χλωροί λοβοί τους καταναλώνονται ως λαχανικό στην δυτική Ευρώπη και οι ξηροί (λευκοί) σπόροι τους αποτελούν παραδοσιακά πιάτα σε αρκετές περιοχές του κόσμου. Η ρίζα του φυτού έχει φαρμακευτικές ιδιότητες ενώ σε περιοχές όπως το Μεξικό συνηθίζεται, η κατανάλωση των ανθέων. Η έντονη ανθοφορία του και τα όμορφα χρώματα του *P. coccineus* είναι πιθανώς ο λόγος της πρόσφατης αξιοποίησης του και ως καλλωπιστικό φυτό στην Ευρώπη και Αμερική (Kaplan, 1988).

Η θρεπτική αξία των σπόρων συνίσταται στο υψηλό ποσοστό πρωτεΐνης που περιέχουν, το οποίο κυμαίνεται στο γένος *Phaseolus* από 17 έως 32 % (Baldi and Salamini, 1973 ; Salunkhe *et al.*, 1985). Το γεγονός αυτό, κάνει τα φασόλια μια οικονομική πηγή πρωτεΐνης, αν και η θρεπτική τους αξία εμφανίζεται μειωμένη λόγω των μικρών ποσοτήτων κάποιων απαραίτητων αμινοξέων όπως η μεθειονίνη. Εν τούτοις έχει βρεθεί παραλλακτικότητα στο επίπεδο κάποιων αμινοξέων σε ορισμένα είδη φασολιού, γεγονός που καθιστά τη χρήση τους ιδιαίτερα σημαντική (Alvarez *et al.*, 1998).

Η χρήση του *P. coccineus* ως συμπλήρωμα ζωοτροφής σε συνδυασμό με τον αραβόσιτο αξίζει να ερευνηθεί όπως επίσης και η αξία χορτονομής της, δεδομένου ότι, τα φυτά αυτά μπορεί να περιορίσουν την εδαφική διάβρωση. Μπορεί επίσης να είναι χρήσιμο να σπέρνεται στις νέες φυτείες δασών ή λαχανοκομικών κήπων (για να δώσει την εδαφική προστασία, την αξία λίπανσης ή το πρόσθετο εισόδημα) (Delgado- Salinas, 1988).

Η καλλιέργεια του φασολιού στην Ελλάδα βασίζεται κυρίως σε τοπικούς παραδοσιακούς πληθυσμούς, καθώς και σε ποικιλίες που εισάγονται από τις εταιρίες σποροπαραγωγής.

Η εκτίμηση της παραγωγής κυμαίνεται από 400 έως 1000 Kg ανά εκτάριο στις θαμνοειδείς μορφές ενώ στις αναρριχόμενες ποικιλίες, η παραγωγή μπορεί να είναι πολύ υψηλότερη. Στο Ηνωμένο Βασίλειο, η απόδοση σε νεαρούς λοβούς, κυμαίνεται από 23 έως 25 τόνους καρπού / ha. Το είδος *P. coccineus* διακρίνεται λόγω του υψηλού ποσοστού σταυρογονιμοποίησης που εμφανίζει καθώς και για το μεγάλο μέγεθος των σπόρων του (το βάρος των 100 σπόρων, κυμαίνεται από 80 – 170 gr. (Debouck, 1991).

Γενετικό υλικό του είδους *P.coccineus* υπάρχει σήμερα σε τράπεζες γενετικού υλικού, κυρίως στο Μεξικό (INIFAP), στην Αμερική (USDA), και στην Κολομβία (CIAT). Έχει ήδη γίνει συλλογή του καλλιεργούμενου υλικού σε μεγάλη έκταση, εκτός από ορισμένες περιοχές της Γουατεμάλας που και ίσως είναι πολύ αργά για κάτι τέτοιο. Άγριες μορφές συλλέγονται γύρω από το Μεξικό, το οποίο είναι κέντρο καταγωγής του *P.coccineus* και έτσι εμφανίζει πλούσια γενετική παραλλακτικότητα. Πολλές περιοχές παραμένουν ακόμη ανεξερεύνητες κυρίως λόγω των δυσκολιών κατά τη συλλογή του (**Debouck, 1991**).

3. Ανασκόπηση Βιβλιογραφίας

3.1 Καταγωγή και ταξινόμηση του φασολιού

Η οικογένεια *Fabaceae* (*Leguminosae*) περιέχει την υποοικογένεια *Papilionoideae* της οποίας η φυλή *Phaseoleae* είναι μια από τις σημαντικότερες επειδή περιέχει γένη όπως τα *Glycine*, *Phaseolus* και *Vigna*, τα οποία συμβάλουν στην διατροφή των ανθρώπων και των ζώων (Lackey, 1981).

Το γένος *Phaseolus* κατάγεται από την Κεντρική Αμερική και περιλαμβάνει πάνω από 30 είδη (Debouck, 1991, 1999; Delgado and Salinas, 1985; Marechal *et al.*, 1978; Westphal, 1974 από Singh *et al* 2000). Από αρχαιολογικά ευρήματα, προκύπτει ότι πολλά είδη φασολιού είχαν καλλιεργηθεί από τους ιθαγενείς της Αμερικής (Berglund-Brucher, 1976). Στη Γουατεμάλα και στο Μεξικό απαντώνται διάφοροι άγριοι τύποι του γένους *Phaseolus* που θεωρούνται πρόγονοι του καλλιεργούμενου φασολιού. Υπάρχουν όμως και ενδείξεις ότι το γένος *Phaseolus* πιθανώς να εξημερώθηκε στην περιοχή της Βραζιλίας και Βόρειας Αργεντινής και προέρχεται από το άγριο είδος *Phaseolus aborigineus* (Berglund-Brucher, 1976).



Εικόνα 1: Κέντρο καταγωγής (κόκκινο χρώμα) και εξάπλωσης (πράσινο χρώμα) του γένους *Phaseolus*

Η αρχική περιγραφή του γένους *Phaseolus* έγινε από τον Λίνναιο το 1753. Αυτή περιείχε 11 είδη τα οποία με τον καιρό αυξήθηκαν στα 200 και είναι κατανεμημένα τόσο στον Παλαιό όσο και στον Νέο Κόσμο (**Linnaeus, 1753**). Το 1970, ενισχύθηκε η άποψη ότι κατάγεται αποκλειστικά από το Νέο Κόσμο και περιέχει περίπου 50 είδη, των οποίων τα χαρακτηριστικά είναι παρόμοια με το *P. vulgaris* (**Verdcourt, 1970**). Αυτός ο επαναπροσδιορισμός επιβεβαιώθηκε από πολλές μελέτες ως σωστός (**Marechal et al., 1978 ; Lackey, 1981**). Η τελευταία επανεξέταση του γένους έγινε το 1985 όπου αναγνωρίστηκαν μόνο 36 είδη στην Νότια και Κεντρική Αμερική (**Delgado Salinas, 1985**). Παρόλες τις ταξινομικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στο γένος και έχουν βοηθήσει στην οριοθέτηση του, ούτε ο αριθμός των taxa ούτε οι γενετικές σχέσεις μεταξύ των ειδών έχουν καλά εξακριβωθεί (**Debouck, 1991**). Εκτιμάται ότι το γένος περιέχει 36 είδη, στη Νότια και Κεντρική Αμερική, κάποια από αυτά με υποείδη από τους **Delgado-Salinas (1985)** ενώ σύμφωνα με τον **Debouck (1991)** περιλαμβάνει 52 είδη χωρίς υποείδη.

Από τα είδη που ανήκουν στο γένος *Phaseolus* μόνο πέντε πιθανώς να εξημερώθηκαν: *P. acutigolius* A.Gray (Tepary bean), *P. coccineus* L. (scarlet runner bean), *P. lunatus* L. (Lima bean), *P. polyanthus* (*P. coccineus* υποείδος *darwinianus*) Greenman και *P. vulgaris* L. (common bean) (**Debouck, 1999, 2000 ; από Singh et al 2000 ; Gepts et al., 1986**). Μεταξύ αυτών των ειδών το κοινό φασόλι (*Phaseolus vulgaris*) είναι το πιο ευρέως καλλιεργούμενο, κατέχοντας πάνω από το 85% της παραγωγής ενώ το υπόλοιπο 15% καλλιεργείται από τα υπόλοιπα καλλιεργούμενα είδη.

Το *P. coccineus* καλλιεργούνταν στα υψίπεδα της Κεντρικής Αμερικής για πολλούς αιώνες. Στο Μεξικό η καλλιέργεια ήταν εντατική. Η εισαγωγή του στην βόρεια Κολομβία και στην Ευρώπη πιθανότατα συνέβη κατά τον δέκατο έβδομο αιώνα πριν εξαπλωθεί σε άλλα μέρη του κόσμου, όπως στα υψίπεδα της Αιθιοπίας. Έχουν δε βρεθεί καλλιεργούμενες μορφές σε αρχαιολογικές ανασκαφές μόνο στις περιοχές Durango και Puebla και άγριες μόνο στην περιοχή Tamaulipas του Μεξικού. Αν και οι αρχαιολογικές πληροφορίες είναι σπάνιες, μπορεί να υποθεθεί ότι η μεξικάνικη εξημέρωση του έγινε σε υγρές και υψηλές ζώνες (**Delgado-Salinas, 1988**). Το *P. coccineus* καλλιεργούνταν στο κέντρο καταγωγής του για τους ξηρούς και χλωρούς σπόρους του. Η κατανάλωση νεαρών σπόρων έκανε δυνατή την επέκταση της καλλιέργειας σε μεγαλύτερα υψόμετρα, αφού η σαρκώδης ρίζα του αυξάνεται ιδιαίτερα όταν εκτεθεί σε συνθήκες ελαφρού παγετού (όπως για παράδειγμα σε κάποια περιοχή της Γουατεμάλας) (**Kaplan, 1988**).

Οι άγρια μορφή του είδους έχει μεγάλη φαινοτυπική παραλλακτικότητα, σε αντίθεση με άλλα είδη του γένους αυτού. Μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι ένα σύμπλεγμα πολλών μορφών, που έχουν προκαλέσει διαφοροποίηση σε αυτό το είδος στην περιοχή της εξάπλωσής του. Κάποιες μορφές του όπως το *P.glabellus*, είναι πιθανόν να έχουν διαφοροποιηθεί και να αποτελούν μια νέα ομάδα η οποία παρεκκλίνει από το είδος. Η σταυρογονιμοποίηση είναι υψηλή και για αυτό οι διασταυρώσεις μεταξύ άγριων και καλλιεργούμενων μορφών δημιούργησαν νέους τύπους και μορφές. Λόγω της ενεργής εξέλιξης, δεν μπορούν να ταξινομηθούν εύκολα οι πολλές μορφές του είδους, αλλά και για τον ίδιο λόγο, είναι μεγάλες οι δυνατότητες που μπορεί να προσφέρουν σε έναν βελτιωτή (**Debouck, 1991**).

Κατά τη διάρκεια της εξημερώσεώς του, το φασόλι υπέστη διάφορες μορφολογικές και φυσιολογικές αλλαγές. Έχει εξελιχθεί από εξαιρετικά ακαθόριστης, αναρριχώμενης ανάπτυξης σε καθορισμένης νάνας ανάπτυξης, από ευαίσθητο σε μακρά φωτοπερίοδο σε αντίστοιχο ουδέτερης αντίδρασης, από μικρόσπερμο σε μεγαλόσπερμο, από τύπο με λήθαργο σπόρου και στεγανότητα στην περατότητα νερού του περισπερμίου σε έλλειψη λήθαργου και με περισπέρμιο διαπερατό στο νερό, από εξαιρετικά ινώδη λοβό και θρυμματιστό σε αντίστοιχο λοβό χωρίς ίνες και αθρυμματιστό (**Gepts and Debouck, 1991; Smartt, 1988; από Gepts et al., 1986**).

3.2 Βοτανικά χαρακτηριστικά

Το *P.coccineus* είναι ένα συνεχούς ανάπτυξης είδος, το οποίο μεγαλώνει ως ετήσιο σε εύκρατα κλίματα για τα ελκυστικά του άνθη και τους σαρκώδεις, χωρίς ίνες, άγουρους λοβούς του (**Marta Santalla et al., 1998**). Γενικά είναι πολυετές αναρριχώμενο αλλά υπάρχουν και κάποιες μη αναρριχώμενες ποικιλίες. Ανάλογα με τις κλιματολογικές συνθήκες το ύψος του φυτού μπορεί να ξεπερνά τα 3 m (**Steve Christman, 2005**).

Η ρίζα είναι παχιά και συμπαγής και ξεπερνά σε μήκος τα 30cm. Τα δυο πρώτα φύλλα είναι απλά ενώ τα υπόλοιπα σύνθετα με τρία φυλλάκια και έχουν συνήθως καρδιόσχημη μορφή με μήκος 10-12 cm (**Steve Christman, 2005**). Ανθίζει περίπου 50 ημέρες από τη σπορά ενώ συνεχίζει να παράγει λουλούδια για μεγάλο χρονικό διάστημα αφού παρουσιάζει σταδιακή άνθιση και ωρίμανση λοβών. Τα άνθη του είναι τέλεια, ανοικτού κόκκινου χρώματος, αλλά μπορεί να είναι λευκά ή ακόμη

και να παρουσιάζουν διχρωμία (Debouck, 1991). Η ανθορροια είναι ένα σοβαρό πρόβλημα, αφού μπορεί κατά περιόδους να είναι μεγάλη ίσως λόγω της έλλειψης επικονιαστών καθώς και από την επίδραση υψηλών θερμοκρασιών, γεγονός που προκαλεί σημαντικές απώλειες στην παραγωγή τους (Huxley, 1992).

Παρόλο που έχουν τέλεια άνθη με αρσενικό και θηλυκό μέρος, δεν μπορούν να αυτογονιμοποιηθούν εκτός αν για κάποιο λόγο έρθει ο στήμονας σε άμεση επαφή τον ύπερο με τη βοήθεια μελισσών ή άλλων εντόμων. Σε κάθε ανθοταξία μπορεί να υπάρχουν από τρία έως και είκοσι άνθη. Το μήκος των λοβών ποικίλλει από 15 – 30 cm και μπορεί να περιέχουν 6 – 10 σπόρους ανά λοβό (Steve Christman, 2005). Ο σπόρος των άγριων ποικιλιών διασκορπίζεται μέσω της εκρηκτικής διάρρηξης των λοβών κατά τη διάρκεια της ξηρής περιόδου. Σε μερικούς άγριους πληθυσμούς υπάρχει μια μικρή λανθάνουσα κατάσταση ληθάργου. Στην περίπτωση αυτή, η βιωσιμότητα των σπόρων κάτω φυσικές συνθήκες δεν υπερβαίνει τα τρία έτη (Debouck, 1991).



Εικόνα 2: Βλαστικό στάδιο ανάπτυξης του *Phaseolus coccineus*

Η αύξηση και ανάπτυξη του φασολιού χωρίζεται σε δυο στάδια στο βλαστικό και στο αναπαραγωγικό. Το βλαστικό στάδιο καθορίζεται από τον αριθμό των γονάτων στον κεντρικό άξονα ενώ το αναπαραγωγικό στάδιο καθορίζεται από

τη θεμελίωση του λοβού και του σπόρου στα γόνατα (**Fageria, Baligar and Jones 1997; από Singh, 2000**).

Λόγω του τύπου βλάστησής του, το *P.coccineus* είναι ένα χρήσιμο είδος για την καταπολέμηση της μύγας των φασολιών (*Ophiomyia phaseoli*) στις ορεινές περιοχές της Ανατολικής Αμερικής (**Gepts and Debouck, 1991; Smartt, 1988**).

3.3 Οικολογικές απαιτήσεις

Ευδοκίμει στα περισσότερα είδη εδαφών και κυρίως στα ελαφρά αμμώδη, έως και τα μέσης σύστασης εδάφη. Προτιμά όμως τα καλά στραγγιζόμενα εδάφη που έχουν την ικανότητα να συγκρατούν αποδεκτά επίπεδα υγρασίας. Από πλευράς οξύτητας, προτιμά εδάφη ελαφρώς αλκαλικά έως ουδέτερα. Ως ψυχανθές είδος, δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις σε λίπανση ενώ καλύπτει τις ανάγκες του σε άζωτο εξαιτίας της ικανότητας του να δεσμεύει το άζωτο του εδάφους με τη βοήθεια των ριζοβακτηρίων. Χρειάζεται άφθονο νερό καθόλη την καλλιεργητική περίοδο και κυρίως κατά την περίοδο της ανθήσεως, καρπόδεσης και ανάπτυξης των λοβών (**Debouck, 1991**).

3.4 Εχθροί και ασθένειες

Το φασόλι υπόκειται σε μεγάλο αριθμό βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων. Μεταξύ των αβιοτικών καταπονήσεων, είναι η χαμηλή γονιμότητα των εδαφών και ειδικά οι ελλείψεις αζώτου, φωσφόρου και ψευδαργύρου καθώς και η τοξικότητα αργιλίου και μαγγανίου. Ομοίως, η ξηρασία είναι μεταξύ των πιο διαδεδομένων αβιοτικών καταπονήσεων που έχουν άμεσες επιπτώσεις στην παραγωγή του φασολιού. Τα κυριότερα παθογόνα που επηρεάζουν την καλλιέργεια του φασολιού είναι: ο ιός του κοινού μωσαϊκού της φασολιάς (BCMV), ο ιός του κίτρινου μωσαϊκού της φασολιάς (BYMV), η ανθράκωση (*Colleototrichum lindemuthianum*) και η σκωρίαση (*Uromyces phaseoli*). Μεταξύ των εχθρών της καλλιέργειας διακρίνονται ιδιαίτερα ο τετράνυχος (*Tetranychus talarius*) και ο βρούχος (*Bruchus obtectus*) (**Singh et al., 2000**).

3.5 Πρακτικές καλλιέργειας

Στις περισσότερες περιοχές του κόσμου το είδος *P.coccineus* σπέρνεται μαζί με τον αραβόσιτο και άλλα είδη φασολιών (*P.vulgaris*, *P.polyanthus*) μετά από τεκμηριωμένες πρακτικές, δεδομένου ότι έχουν παρόμοιες απαιτήσεις. στις περιοχές του Durango και της Zacatecas (Μεξικό), όταν υπάρχει δυνατή βροχή, σπέρνεται απ'ευθείας, είτε σε γραμμές φαρδιές η στενές ανάλογα με τον τύπο οργώματος. Η συγκομιδή γίνεται με το χέρι και οι λοβοί μαζεύονται και αφήνονται για να ξεραθούν στον ήλιο. Ακολουθεί αλώνισμα των λοβών και αποθήκευση των σπόρων σε σάκους (Debouck, 1991).

Η σπορά μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο όταν η θερμοκρασία του εδάφους ξεπεράσει τους 10 °C. Αφού φυτρώσει το φυτό και αναπτυχθεί αρκετά, απαιτείται η τοποθέτηση στηριγμάτων για να αναρριχηθεί (Steve Christman, 2005). Έχουν αναπτυχθεί και νέες ποικιλίες οι οποίες λόγω του μικρού μεγέθους δεν απαιτούν στηρίγματα (Huxley, 1992). Ο κύκλος ανάπτυξης του φυτού, ποικίλλει από 90 – 365 ημέρες ανάλογα με τις εδαφοκλιματικές συνθήκες και το γεωγραφικό πλάτος που καλλιεργείται. Όταν καλλιεργείται για τον καρπό, οι λοβοί πρέπει να συγκομίζονται ανώριμοι σε τακτικά χρονικά διαστήματα, ώστε να προκαλείται περαιτέρω παραγωγή ανθέων και κατά συνέπεια να παρατηρούνται μεγαλύτερες αποδόσεις (Debouck, 1991).

3.6 Βελτίωση φασολιού *P.coccineus*

Το *P.coccineus* θεωρείται σταυρογονιμοποιούμενο είδος με μικρό ποσοστό αυτογονιμοποίησης (Debouck, 1991). Έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλές περιπτώσεις για τη βελτίωση του κοινού φασολιού ενώ οι ειδικοί συμφωνούν σχετικά με την ανθεκτικότητα του είδους ενάντια σε διάφορους μύκητες, βακτήρια και ιούς.

Υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας έχουν βρεθεί για τη γωνιώδη κηλίδωση (Ferreira *et al.*, 2003; Pastor-Corrales *et al.*, 1998), την ανθράκωση (Alzate-Marin *et al.*, 1997; Balardin and Kelly, 1998; Melotto and Kelly 2000; από Singh *et al.*, 1998; Young and Kelly, 1996), BCMV (Kelly 1997), BGMV (Molina Castaneda and Beaver, 1998; Morales and Niessen, 1988; από Urrea *et al.*, 1996; Velez *et al.*, 1998), τις σηψιριζίες (Abawi and Pastor-Corrales, 1990; Beebe *et al.*, 1981 από Singh *et al.*, 2000), τη σκωρίαση (Stavely, 1999 από Singh 2001) καθώς και την

έλλειψη νερού (Abebe *et al.*, 1998; Acosta *et al.*, 1999 ; Acosta-Gallegos *et al.*, 1996; Singh and Teran,1995 ; Teran and Singh, 2002). Αντιθέτως τα επίπεδα ανθεκτικότητας στον ιό CBB, τον περονόσπορο, την ασκοχύτωση, τον βοτρυτή, την ριζοκτονία, το ωίδιο, τη σκωρίαση και τον βρούχο δεν είναι ικανοποιητικά (Singh *et al.*, 2001).

Γενικά παρατηρείται γενετική παραλλακτικότητα στο φασόλι ως προς το μέγεθος του σπόρου. Έτσι οι ποικιλίες διακρίνονται σε μεγαλόσπερμες (>40g οι 100 σπόροι), μικρόσπερμες (<25 g οι 100 σπόροι) και μεσαίου μεγέθους (25-40 g οι 100 σπόροι) (Singh, 1992). Ο Singh (1992) περιέγραψε με λεπτομέρειες το πρότυπο της ποικιλομορφίας στις ποικιλίες φασολιού, οι οποίες διαχωρίζονται περαιτέρω σε έξι φυλές: i) των Άνδεων (όλες μεγαλόσπερμες) = Chile, Nueva, Granada και Peru, ii) της Κεντρικής Αμερικής (μετριόσπερμες και ημιαναρριχώμενες)=Durango, iii) του Jalisco (μετριόσπερμες, αναρριχώμενες) και iv) της Μέσο Αμερικής (μικρόσπερμες). Κάθε μια έχει τα δικά της ξεχωριστά χαρακτηριστικά, οικολογική προσαρμοστικότητα και αγρονομικά χαρακτηριστικά.



Εικόνα 3: Παραλλακτικότητα λοβών του γένους *Phaseolus*

Κύρια αποθηκευτική πρωτεΐνη του φασολιού είναι η φασεολίνη που αποτελεί γύρω στο 35-50% της συνολικής πρωτεΐνης στους σπόρους του φασολιού (Ma and Bliss, 1978; από Johnson *et al.*, 1993). Δυο κύριοι και πολλοί δευτερεύοντες τύποι φασεολίνης έχουν αναγνωρισθεί με βάση τα πρότυπα ζωνών σε μονοδιάστατες πηκτές πολυακρυλαμίδης SDS. Ο κύριος τύπος που βρέθηκε σε καλλιεργούμενο γενετικό υλικό είναι ο τύπος 'S' (από τη Sanilac, την ποικιλία στην οποία αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά) και ο τύπος 'T' (από την Tendergreen) (Brown *et al.*, 1982; από Singh *et al.*, 1998). Οι 'S' και 'T' τύποι, χαρακτηρίζουν το 80% των καλλιεργούμενων ποικιλιών (Gepts and Bliss, 1985). Ο τύπος της φασεολίνης, έχει χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο για διαφοροποίηση μεταξύ άγριων και καλλιεργούμενων τύπων φασολιού που ανήκουν στα γονιδιακά αποθέματα της Μεσοαμερικάνικης (S τύπος φασεολίνης) και της ζώνης των Άνδεων (T τύπος) (Gepts and Bliss, 1986; Debouck *et al.*, 1993; Gepts, 1993; από Singh *et al.*, 2000).

Υπάρχουν αρκετές ποικιλίες *P. coccineus* που καλλιεργούνται σήμερα σε όλον τον κόσμο. Η πιο γνωστή είναι η "Scarlet Runner" που έχει κόκκινα άνθη και σκούρους μωβ και μαύρους διάστικτους σπόρους. Η "Painted Lady" έχει λευκά άνθη με κόκκινα στίγματα. Οι "White Dutch Runner", "White Holland" και "Case Knife" έχουν άσπρα λουλούδια και άσπρους σπόρους. Οι 'Butler' και Polestar' είναι νέες μη αναρριχόμενες ποικιλίες με πολύ μακριούς λοβούς (30,5 εκατ.) και οι 'Hammond's Dwarf' και 'Pickwick Dwarf' είναι μη αναρριχόμενες ποικιλίες που ωριμάζουν 2-3 εβδομάδες νωρίτερα από τις συνήθεις ποικιλίες (www.floridata.com).



Εικόνα 4: Παραλλακτικότητα ανθέων του γένους *Phaseolus coccineus*

Παρόλο που είναι πολύ σημαντική η κυτογενετική μελέτη από πολλούς συγγραφείς (Thomas, 1973; Green *et al.*, 1980; Almeda και Chuang, 1992) οι περισσότερες έρευνες έχουν περιορισθεί σε οικονομικώς σημαντικά είδη, αγνοώντας το δυναμικό των άγριων ειδών και ασχολούνται μόνο με τα καλλιεργούμενα όπως το

Phaseolus. Οι πρώτες αναφορές για το χρωμοσωμικό αριθμό του γένους *Phaseolus* έγιναν το 1925, από τον **Karpetschenko**, ο οποίος παρατήρησε $2n=22$ χρωμοσώματα για τα *P. vulgaris*, *P. coccineus*, *P. acutigolius*, *P. lunatus*. Από τότε μεγάλος αριθμός κυτογενετικών μελετών έχει επικεντρωθεί στον προσδιορισμό του χρωμοσωμικού αριθμού επαληθεύοντας τον βασικό χρωμοσωμικό αριθμό $x=11$. (**Mercado-Ruaro και Delgado- Salinas, 1996**). Το περιεχόμενο του πυρήνα σε DNA για το είδος *P. coccineus* είναι 3,5 pg (**Ayonoadu, 1974**) και για το είδος *P. vulgaris* είναι 1,98 pg (**Castagnaro et al., 1990**). Οι διαφορές αυτές πιθανώς οφείλονται στο γενετικό υλικό, στη διαφορετική μεθοδολογία και στα τυχόν σφάλματα της τεχνικής. Από μελέτες βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ βάρους του σπόρου και περιεχόμενου του πυρήνα σε DNA. Επίσης βρέθηκε ότι οι ποικιλίες με υψηλό περιεχόμενο DNA στον πυρήνα προσαρμόζονται καλύτερα σε κρύες και εύκρατες περιοχές, σε αντίθεση με τις ποικιλίες που έχουν μικρότερη ποσότητα DNA στον πυρήνα τους όπου προσαρμόζονται κυρίως σε θερμά, ξηρά περιβάλλοντα. (**Castagnaro et al., 1990**).

Στο είδος *P. coccineus* εντοπίστηκαν σιστρόνια (τμήματα του DNA) τόσο στον πυρήνα όσο και σε μικροδορυφορικές περιοχές από τα χρωμοσωμικά ζευγάρια I και V χρησιμοποιώντας ισότοπα υδρογόνου με rRNA. Αυτές τις μελέτες με πολυταινικά χρωμοσώματα, έδειξαν την δυνατότητα in situ υβριδισμών για τη δημιουργία χρωμοσωμικού χάρτη (**Ananzi et al, 1972**).

3.6.1 Αξιοποίηση της γενετικής παραλλακτικότητας

Η παραλλακτικότητα εντός του γένους *Phaseolus*, διακρίνεται σε δυο κύρια γονιδιακά αποθέματα (gene pools), των Άνδεων και της Κεντρικής Αμερικής. Μεταξύ των ειδών οργανώνεται σε πρωτογενή, δευτερογενή, τριτογενή και τεταρτογενή γονιδιακά αποθέματα (**Smartt 1995; Debouck, 1999, 2000; όπως αναφέρεται από τους Singh et al., 2000**). Στα πρωτογενή γονιδιακά αποθέματα περιλαμβάνονται τοπικές ποικιλίες και άγριοι πληθυσμοί, που είναι και οι άμεσοι πρόγονοι των ποικιλιών του κοινού φασολιού (**Berglund-Brucher, 1976 ; Brucher 1988; Gentry, 1969; Kami et al., 1995; Kaplan, 1981; Miranda, 1967; Weiseth, 1954 όπως αναφέρονται από τους Gepts et al., 1986**). Οι άγριοι πληθυσμοί κατανέμονται από το βόρειο Μεξικό (Chihuahua) έως την βορειοδυτική Αμερική (San Luis) (**Gepts et al., 1986; Koenig et al., 1990**). Πέραν τούτου, το φασόλι είναι μια καλλιέργεια ακεντρική (noncentric), δηλαδή δεν μπορεί να αποδοθεί σε ένα μόνο

κέντρο καταγωγής και έτσι εμφανίζονται πολλαπλά κέντρα εξημέρωσης με γενική διασπορά στην Κεντρική και Νότια Αμερική (Gepts *et al.*, 1986).

Στα δευτερογενή γονιδιακά αποθέματα, περιλαμβάνονται τα είδη *P. coccineus*, *P. costaricensis* (Freitag and Debouck, 1982) και *P. polyanthus*. Αυτά τα τρία είδη διασταυρώνονται μεταξύ τους και κάθε ένα μπορεί να διασταυρωθεί με το κοινό φασόλι ειδικά όταν το κοινό φασόλι χρησιμοποιείται ως θηλυκός γονέας (Camarena and Baudoin, 1987; Manshardt and Bassett, 1984 από Singh *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 1997). Αντιθέτως διασταυρώσεις των προηγούμενων τριών ειδών με το κοινό φασόλι ως αρσενικό γονέα είναι πιο δύσκολες, επειδή οι νεοσυνδυασμοί είναι ασταθείς ενώ υπάρχει η τάση να επανέρχονται στο φαινότυπο του θηλυκού γονέα (Debouck, 1999 όπως αναφέρεται στο Gepts *et al.*, 1986).

Τα τριτογενή γονιδιακά αποθέματα περιλαμβάνουν τα είδη *P. acutifolius* και *P. parvifolius* (Freitag, 1982). Αυτά τα δυο είδη, μπορούν να διασταυρωθούν και να παράγουν πλήρως γόνιμους απογόνους (Singh *et al.*, 1998) , ενώ οι διασταυρώσεις με το κοινό φασόλι δεν είναι επιτυχείς (Mejia-Jimenez *et al.*, 1994 ; Singh *et al.*, 1998) .

Στα τεταρτογενή γονιδιακά αποθέματα του φασολιού ανήκουν διασταυρώσεις του κοινού φασολιού με τα *P. filiformis*, *P. angustissimus* και *P. lunatus*, αλλά έχουν επιχειρηθεί χωρίς να παραχθούν βιώσιμοι και γόνιμοι απόγονοι (Gepts *et al.*, 1986).

Τα αποτελέσματα διασταυρώσεων μεταξύ *P. coccineus* x *P. vulgaris* έδειξαν υψηλό ποσοστό γενετικής ομολογίας αλλά δεν κατάφεραν να αποδείξουν αν το υβρίδιο που προέκυψε ήταν το νεοφανές είδος *P. polyanthus* (*P. coccineus* υποείδος *darwinianus*) όπως αρχικώς θεωρούσαν (Mercado-Ruaro και Delgado- Salinas, 1996).

3.6.2 Κλασσική βελτίωση

Έχουν αναπτυχθεί διάφορες μεθοδολογίες βελτίωσης για τη δημιουργία ποικιλιών φασολιών. Οι κυριότερες μέθοδοι που εφαρμόζονται είναι, η μαζική (Beebe *et al.*, 1995; Singh *et al.*, 1989, 1993), η γενεαλογική (Kelly *et al.*, 1994) και η επαναδιασταύρωση (Bliss, 1993 από Beebe *et al.*, 2000) στην κλασική της μορφή ή τις διάφορες τροποποιήσεις της. Επίσης έχουν εφαρμοσθεί η ταυτόχρονη επαναδιασταύρωση (congruity backcrossing) (Mejia-Jimenez *et al.*, 1994; Urrea and Singh, 1995), η καταγωγή από μεμονωμένο σπόρο (single seed descent, SSD)

(**Kelly et al.,1989; Urrea and Singh, 1994**), η κυκλική επαναλαμβανόμενη επιλογή (**Beaver and Kelly, 1994 ; Kelly and Adams, 1987 ; Singh et al., 1999**) και η επιλογή γαμέτη (gamete selection) (**Singh et al., 1998**). Τα δεδομένα σύγκρισης της αποτελεσματικότητας των διάφορων μεθόδων επιλογής γενικά είναι περιορισμένα (**Beaver and Kelly, 1994 ; Gutierrez and Singh 1992; Singh and Teran, 1998; Urrea and Singh, 1994, 1995**). Οι **Urrea and Singh, (1994)** βρήκαν ότι η επιλογή σε F_2 οικογένειες ήταν υπέρτερη της καταγωγής από μεμονωμένο σπόρο (SSD) και της μαζικής μεθόδου επιλογής, που συχνά χρησιμοποιούνται ως μέθοδοι επιλογής στις πρώτες διασπώμενες γενεές. Οι **Urrea and Singh, (1995)** πρότειναν επιλογή για απόδοση με αξιολόγηση στις πρώτες διασπώμενες γενεές σε διαφυλετικούς και ενδοφυλετικούς πληθυσμούς με σκοπό να αναγνωρίσουν υποσχόμενους πληθυσμούς με επιθυμητούς ανασυνδυασμούς. Οι ίδιοι ερευνητές σε σύγκριση της ταυτόχρονης επαναδιασταύρωσης με την κλασσική επαναδιασταύρωση βρήκαν την πρώτη μέθοδο ανώτερη. Από δοκιμές πρώιμης επιλογής για απόδοση ($F_2 - F_4$), οι **Singh and Teran, (1998)**, αναγνώρισαν υψηλό και χαμηλό αποδοτικούς πληθυσμούς που τελικά παρήγαγαν υψηλό και χαμηλό αποδοτικές F_7 σειρές.

Όταν τα επιθυμητά γονίδια που ελέγχουν τα ενδιαφέροντα γνωρίσματα, βρίσκονται σε διαφορετικούς γονείς-δότες, η διαδικασία της επαναδιασταύρωσης δεν είναι η πλέον αποτελεσματική όπως στις καθαρά μονογονιδιακές περιπτώσεις (**Singh,2001**). Έτσι πρέπει να προτιμηθούν διασταυρώσεις μεταξύ πολλαπλών γονέων, σε σχέση με ένα μεγάλο αριθμό απλών διασταυρώσεων και επαναδιασταυρώσεων. Αν και συγκριτικά χρειάζεται περισσότερος χρόνος κατά τον υβριδισμό για να δημιουργηθούν πολλαπλές διασταυρώσεις, η διαδικασία επιτρέπει την παραγωγή ανασυνδυασμών με επιθυμητά αλληλόμορφα για πολλαπλά χαρακτηριστικά. Αυτή η δημιουργία ανασυνδυασμών δεν είναι δυνατή μέσω απλών διασταυρώσεων και επαναδιασταυρώσεων και έτσι απαιτείται η αξιοποίηση της κυκλικής επιλογής με τους επαναλαμβανόμενους κύκλους επιλογής για συγκεκριμένα γνωρίσματα. Έτσι έχει προταθεί η μεθοδολογία για επιλογή γαμέτη στην F_1 γενιά σε συνδυασμό με επιλογή στις πρώτες γενιές (early generation $F_2 - F_4$) που μπορεί να βοηθήσει στην αναγνώριση ελπιδοφόρων οικογενειών μέσα στους πληθυσμούς και στη συνέχεια ανάπτυξη ανώτερων σειρών (**Singh, 1994**). Παρατηρήθηκε καλή γενική συνδυαστική ικανότητα μεταξύ των τριών κοινών φυλών φασολιού, στα γονιδιακά αποθέματα της κεντρικής Αμερικής. Έτσι δημιουργήθηκαν, υψηλοαποδοτικοί γενότυποι με εφαρμογή μαζικής - γενεαλογικής

(Singh, 1995; Singh *et al.*, 1993) και επαναλαμβανόμενης επιλογής (Singh *et al.*, 1999) από διαφυλετικούς πληθυσμούς εντός των Κεντροαμερικάνικων γονιδιακών αποθεμάτων. Όσον αφορά την ανάπτυξη ανθεκτικότητας για βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις είναι αναγκαίο να αξιολογούνται ταυτόχρονα πολλές οικογένειες σε διαφορετικές περιοχές ώστε να επιλεγούν οι υποσχόμενες οικογένειες (Singh *et al.*, 1998).

Οι εκτιμήσεις του συντελεστή κληρονομικότητας για απόδοση σε σπόρο βρέθηκε, όπως είναι αναμενόμενο, να διαφέρουν σημαντικά ανάλογα με το γενετικό υλικό (Welsh, 1995). Οι Singh *et al.*, 1999 αναφέρουν τιμές του συντελεστή κληρονομικότητας από 0.32 και 0.34 για το χαρακτηριστικό της απόδοσης ενώ για το βάρος των 100 σπόρων τιμές από 0.75 έως 0.86. Οι Singh *et al.*, (1999) επέλεξαν με επιτυχία για υψηλή απόδοση σε γενοτύπους που προέκυψαν από διασταύρωση Κεντροαμερικάνικων πληθυσμών με πληθυσμούς των Άνδεων. Οι πληθυσμοί αυτοί είχαν αναπτυχθεί με κυκλική επαναλαμβανόμενη επιλογή. Στη διαδικασία της επαναλαμβανόμενης κυκλικής επιλογής, κριτήριο ήταν οι γενότυποι με τη μέγιστη έκφραση πολύτιμων χαρακτηριστικών σε συνδυασμό με το μέγιστο αριθμό επιθυμητών γνωρισμάτων για κάθε κύκλο βελτίωσης.

Ο Mekbib, (2003) μελέτησε 21 γενοτύπους φασολιού που αντιπροσώπευαν τρεις τύπους ανάπτυξης (7 από κάθε τύπο), για να καθορίσει τη σταθερότητα της απόδοσης σε 3 περιοχές και για 3 χρόνια. Οι γενότυποι διέφεραν σημαντικά στην απόδοση και στην παραγωγική σταθερότητα ή την αλληλεπίδραση γενοτύπου με το περιβάλλον. Οι περισσότεροι από τους υψηλοαποδοτικούς γενοτύπους ήταν σταθεροί. Από τους 21 γενοτύπους, οι 11 επιλέχθηκαν για την υψηλή τους απόδοση και τη σταθερότητα. Γενικά γενότυποι με τύπο ανάπτυξης III και I φάνηκε να είναι οι περισσότερο σταθεροί. Επίσης σε μελέτη για την προσαρμοστικότητα και σταθερότητα 18 ποικιλιών φασολιού, σε 23 περιβάλλοντα στη Βραζιλία, οι Morales Carbonell *et al.*, (2004) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι πιο σταθερές ποικιλίες ήταν αυτές με την υψηλότερη απόδοση.

Οι Kolkman and Kelly (2002), προσπάθησαν να μελετήσουν τη σχέση μεταξύ εννέα αγρονομικών χαρακτηριστικών (τύπος ανάπτυξης, μέρες έως την άνθηση, ύψος και πλάτος κόμης, μορφή διακλάδωσης, πλάγιασμα, μέρες έως την ωρίμανση, μέγεθος σπόρου και απόδοση) και την ανθεκτικότητα στη σκληρωτίνια (*Sclerotinia sclerotiorum*) σε συνθήκες αγρού. Εκτιμήθηκαν οι συντελεστές κληρονομικής ικανότητας της ανθεκτικότητας και των αγρονομικών

χαρακτηριστικών και η συσχέτιση μεταξύ των αγρονομικών χαρακτηριστικών και της ανθεκτικότητας. Μια ομάδα εκλεκτών σειρών και δυο ανασυνδυασμένοι πληθυσμοί από διασταύρωση μεταξύ ανθεκτικών ποικιλιών, μελετήθηκαν με βάση τον δείκτη έντασης προσβολής (disease severity index, DSI) σε συνδυασμό με την έκφραση αγρονομικών χαρακτηριστικών. Η κληρονομικότητα για τον DSI ήταν 0.47 στον Bunsil/ Newport πληθυσμό και 0.82 στον πληθυσμό Huron/ Newport. Όλα τα αγρονομικά χαρακτηριστικά είχαν υψηλό συντελεστή κληρονομικότητας. Το πιο ενδιαφέρον αγρονομικό χαρακτηριστικό που μείωσε τον DSI και συνεισέφερε θετικά στην απόδοση ήταν ο τύπος ανάπτυξης. Το αυξημένο ύψος και πλάτος της κόμης καθώς και το πλάγιασμα ήταν γενικά συσχετισμένα με αύξηση του DSI.

Οι **Kolkman and Kelly (2000)** μελέτησαν εάν ο εστέρας του οξαλικού οξέος, ως πρωτεύον παθογόνος παράγοντας της σκληρωτινίας, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κριτήριο έμμεσης επιλογής για ανθεκτικότητα στην ασθένεια. Αξιολόγησαν 27 γενότυπους ως προς τον δείκτη DSI στην σκληρωτινία, ο οποίος βρέθηκε αρνητικά συσχετισμένος με την απόδοση. Οι ίδιοι κατέληξαν ότι ο έλεγχος του εστέρα του οξαλικού οξέος είναι κριτήριο χρήσιμο για τον προσδιορισμό της ανθεκτικότητας και μπορεί να αξιοποιηθεί για την αξιολόγηση μεγάλου αριθμού σειρών σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Οι **De Lange and Labuschagne, (2000)** αξιολόγησαν 6 ποικιλίες φασολιού με λευκό σπόρο σε 11 περιβάλλοντα, για να αποτιμήσουν παραμέτρους ποιότητας και να μελετήσουν την αλληλεπίδραση του γενοτύπου με το περιβάλλον. Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων τους, προέκυψε ότι οι ποικιλίες διέφεραν σημαντικά μεταξύ των περιοχών για 8 μελετηθέντα χαρακτηριστικά. Σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ γενοτύπου και περιβάλλοντος βρέθηκαν για την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, το μέγεθος του σπόρου, τη μάζα μουλιασμένων φασολιών, την οπτική εμφάνιση, το σκίσιμο, την υφή και την απόδοση. Χαμηλή γραμμική συσχέτιση αποδεικνύει ότι καμία παράμετρος από μόνη της δεν μπορεί να ερμηνεύσει την παραλλακτικότητα για την απόδοση και τα χαρακτηριστικά ποιότητας. Οι αλληλεπιδράσεις γενοτύπου με το περιβάλλον είναι αυτές που επηρεάζουν περισσότερο την ποιότητα.

Οι **Ngatia et al., (2004)** σε πρόσφατη μελέτη, προσπάθησαν να καθορίσουν τη επίδραση των δόσεων και του χρόνου εφαρμογής γιβερρλικού οξέως (GA3) στην ανάπτυξη και στα συστατικά της απόδοσης, σε ποικιλίες κοινού φασολιού. Αυτοί ψέκασαν γιβερρλικό οξύ (GA3) σε δόσεις 0, 2.5, 5.0 και 7.5 mg l⁻¹ ολόκληρο το

φυτό στις 7, 14 και 28 μέρες μετά το φύτευμα. Οι επιδράσεις της GA3 στην ανάπτυξη, απόδοση και συστατικά απόδοσης ήταν σημαντικές αυξάνοντας το ύψος του φυτού, το δείκτη φιλικής επιφάνειας, τις ρίζες, τα φύλλα και τη συνολική ξηρά βιομάζα. Επίσης αύξησε την απόδοση ανά φυτό, τους λοβούς ανά φυτό και το βάρος 100 σπόρων. Οι προαναφερόμενοι ερευνητές μέτρησαν αποδόσεις από 1854 Kg ha⁻¹ έως 5890 Kg ha⁻¹ όταν την ίδια στιγμή οι μέσες αποδόσεις στην Κένυα είναι 500 Kg ha⁻¹. Τις καλύτερες επιδράσεις είχε η μεταχείριση 5.0 mg l⁻¹ GA3 στις 14 μέρες μετά το φύτευμα.

Οι **Shirtliffe and Johnson, (2002)** μελέτησαν τη σχέση μεταξύ πυκνότητας και απόδοσης σε δυο νάνες ποικιλίες φασολιού με στόχο την εκτίμηση του άριστου για καλλιέργεια πληθυσμού φυτών. Στις περισσότερες περιοχές, η σχέση απόδοσης-πυκνότητας, ήταν ασυμπτωτική και δεν μπορούσε να καθοριστεί η άριστη πυκνότητα φυτών για μέγιστη απόδοση. Αύξηση στον πληθυσμό των φυτών δεν επηρέασε το βάρος των 1000 σπόρων. Οι **Perin et al., (2002)** μελέτησαν την επίδραση του μεγέθους του σπόρου στην ανάπτυξη, στη συσσώρευση θρεπτικών και στην απόδοση σε 3 ποικιλίες φασολιού με δυο διαφορετικά μεγέθη σπόρου (μεγάλο και μικρό). Οι μεγάλοι σπόροι αύξησαν το ύψος των φυτών, το δείκτη φυλλικής επιφάνειας και τη βιομάζα των βλαστών και των ριζών. Τα φυτά που προήλθαν από μεγάλους σπόρους συσσώρευσαν περισσότερο N και K στους βλαστούς και στις ρίζες.

Ανεκτικές ποικιλίες σε χαμηλής γονιμότητας εδάφη (LF) μπορούν να υποστηρίξουν αειφορικά συστήματα καλλιέργειας, να μειώσουν το κόστος παραγωγής και την εξάρτηση των παραγωγών από τα λιπάσματα. Οι **Singh et al., (2003)** προσπάθησαν να αναγνωρίσουν ντόπιες ποικιλίες αλλά και βελτιωμένους γενοτύπους φασολιού ανεκτικούς σε χαμηλής γονιμότητας εδάφη. Αξιολόγησαν 5000 με 5500 ντόπιες ποικιλίες σε δυο περιοχές της Κολομβίας, (Porayan και Quilichao) μεταξύ των ετών 1978 και 1998. Η μέση τιμή του δείκτη καταπόνησης από LF μεταξύ των περιοχών για απόδοση κυμάνθηκε από 0.35-0.68. Η απόδοση, η βιομάζα και ο δείκτης συγκομιδής σχετίστηκαν θετικά σε εδάφη LF και σε εδάφη HF. Σε 14 γενότυπους και 8 ντόπιες ποικιλίες της κεντρικής Αμερικής (MA) παρατηρήθηκε ανεκτικότητα σε χαμηλής γονιμότητας εδάφη LF. Σε εδάφη LF η μέση απόδοση κυμάνθηκε από 856 Kg ha⁻¹ έως 332 Kg ha⁻¹, δηλαδή μειώθηκε από 31% έως 63%. Η χρήση αυτών των ντόπιων ποικιλιών και βελτιωμένων γενοτύπων ανεκτικών σε LF

εδάφη, θα μπορούσε να αυξηθεί με ερευνητικά προγράμματα βελτίωσης που έχουν ως σκοπό την αύξηση της απόδοσης στα ολοκληρωμένα συστήματα καλλιέργειας.

3.6.3 Σύγχρονες τεχνικές βελτίωσης

3.6.3.1 Βιοχημικοί και μοριακοί δείκτες

Όπως και σε άλλα καλλιεργούμενα είδη, τα ισοένζυμα και οι μοριακοί δείκτες χρησιμοποιούνται ευρέως για να αποτιμήσουν τη γενετική παραλλακτικότητα του γενώματος των ειδών του *Phaseolus*, τόσο σε άγριο όσο και σε καλλιεργούμενο υλικό. Με τις μεθόδους αυτές μπορεί να μελετηθεί η πορεία της εξέλιξης των καλλιεργειών αλλά και να βρεθούν νέες πηγές γενετικής παραλλακτικότητας (Becerra Velasquez and Gepts, 1994 ; Gepts *et al.*, 1992 ; Koenig and Gepts, 1989 ; Singh *et al.*, 1991).

Το φασόλι έχει μελετηθεί επαρκώς ως προς τη γενετική του και έχουν αναπτυχθεί γενετικοί χάρτες σύνδεσης ενώ έχουν προστεθεί νεότεροι με βάση τη μοριακή γενετική ανάλυση (Adam-Blondon *et al.*, 1994; Jung *et al.*, 1996, 1997; Nodari *et al.*, 1993; Vallejos *et al.*, 1992). Μερικοί από αυτούς έχουν αναγνωρίσει συγκεκριμένους μοριακούς δείκτες για ανθεκτικότητα σε ασθένειες (Adam-Blondon *et al.*, 1994; Ariyanthe *et al.*, 1999 ; Miklas *et al.*, 1996,1998,2001 ; Nodari *et al.*, 1993; Park *et al.*,1999 ; Schneider *et al.*, 2001 ; Young and Kelly, 1997 ; Yu *et al.*, 1998), μορφολογικά γνωρίσματα (Young *et al.*,1996 ; Park *et al.*,1999), μέγεθος σπόρου (Park *et al.*, 2000), ποιότητα μαγειρέματος (Walters *et al.*, 1997), αντοχή σε στρες νερού (Schneider *et al.*, 1997). Μέχρι στιγμής από αυτά τα γνωρίσματα μόνο λίγα έχουν ενσωματωθεί στο βασικό χρωμοσωμικό χάρτη του φασολιού (Freyre *et al.*, 1998 ; Gepts, 1999).

Κύρια μεγαλογονίδια, ή γονιδιακές θέσεις ποσοτικών χαρακτηριστικών γνωρισμάτων (QTLs) συνδεδεμένα με χαρακτηριστικά εξημέρωσης του φασολιού έχουν αναγνωριστεί και χαρτογραφηθεί (Freyre *et al.*, 1998; Gu *et al.*, 1998; Koinange *et al.*, 1996). Τα γνωρίσματα αυτά αφορούν, τον τύπο ανάπτυξης του φυτού, την αντίδραση στην φωτοπερίοδο, την παρουσία φυτικών ιών στο λοβό, τον περιορισμό του λήθαργου και την αύξηση του βάρους σπόρου. Η εξημέρωση συνοδεύτηκε από μείωση του αριθμού των διακλαδώσεων και των φύλλων, ενώ η διάμετρος του στελέχους και το μέγεθος των φύλλων αυξήθηκαν. Στους άγριους

τύπους φασολιού κάθε λοβός περιελάμβανε 9 σπόρους ενώ στις περισσότερες καλλιεργούμενες ποικιλίες πέντε (**Evans, 1980**).

Προκειμένου να μελετηθεί ο ρόλος της ετεροζυγωτίας και της επίστασης σε γενετικό υλικό, που προέκυψε από τη διασταύρωση με άγρια είδη φασολιού, δημιουργήθηκε ένας χαμηλής πυκνότητας χάρτης σύνδεσης βασισμένος σε δείκτες AFLP που επιτρέπει τη μελέτη της σχέσης QTLs με χαρακτηριστικά όπως οι απαιτούμενες μέρες για ωρίμανση, η ημερήσια αύξηση της βιομάζας, η απόδοση σε σπόρο και ο δείκτης συγκομιδής. Στην περίπτωση αυτή, φαίνεται να αναγνωρίστηκαν ανεξάρτητες γονιδιακές δράσεις. Η πλειοψηφία των γονιδιακών τόπων που εμπλέκονται σε αυτές τις επιστατικές αλληλεπιδράσεις δεν φάνηκε να έχουν ανεξάρτητες επιδράσεις (**Johnson, 2002**).

Οι **Beebe et al., (1995)** εκτίμησαν το μέγεθος της γενετικής παραλλακτικότητας μεταξύ καθαρών σειρών φασολιού που επιλέχθηκαν για αντοχή στον ιό BGMV στην περιοχή της κεντρικής Αμερικής. Η γενετική απόσταση εκτιμήθηκε με βάση την παρουσία ή απουσία ζωνών RAPD που εκτιμήθηκαν μεταξύ 76 καθαρών σειρών και ποικιλιών κόκκινων και μαύρων φασολιών. Επίσης, συμπεριέλαβαν άλλες 6 μαυρόσπερμες ποικιλίες από τη Βραζιλία και την Αργεντινή για σύγκριση. Ο μέσος όρος της παραλλακτικότητας που μετρήθηκε με τη χρήση των μοριακών δεικτών RAPD, μεταξύ των καθαρών σειρών και επιλογή για αντοχή στον ιό BGMV, ήταν σημαντικά μικρότερος από αυτόν μεταξύ των μη επιλεγμένων σειρών στα κόκκινα και μαύρα φασόλια. Επίσης χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής καταγωγής (CP) για την εκτίμηση των σχέσεων μεταξύ επιλεγμένων και μη καθαρών σειρών. Οι επιλεγμένες σειρές έδειξαν σημαντικά μεγαλύτερο CP από τις μη επιλεγμένες τόσο στα κόκκινα όσο και στα μαύρα φασόλια, αποδεικνύοντας τις στενές γενετικές σχέσεις και την μικρή παραλλακτικότητα.

Προκειμένου να μελετηθεί η ανθεκτικότητα στον ιό BGM, οι **Singh et al., (2000)** χρησιμοποίησαν ένα διαφυλετικό και τέσσερις ενδοφυλετικούς πληθυσμούς. Η F₃ γενεά αξιολογήθηκε στον αγρό σε συνθήκες προσβολής από το βακτήριο *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli* (Smith) και γωνιώδη κηλίδωση του φύλλου (ALS) που προκαλείται από το *Phaeoisariopsis griseola* Sacc. Επιλογή έγινε με βάση το ατομικό φυτό στην F₃ και F₄ γενεά. Συγκομίστηκαν F₃ και F₄ μεικτός πληθυσμός για να αξιολογηθούν για ALS, μωσαϊκό του φασολιού BCM, BGM και CBB. Οι 39 επιλεγμένοι γενότυποι, οι 12 γονείς και οι 6 μάρτυρες επαναξιολογήθηκαν. Επίσης 72 γενότυποι, οι γονείς και οι μάρτυρες αξιολογήθηκαν

με δείκτες RAPD και συγκεκριμένα τον εκκινητή OR2₅₃₀ που συνδέεται με το *bgm-1* γονίδιο και τον SW12₇₀₀ που συνδέεται με QTL που ελέγχει την ανθεκτικότητα στον BGM. Σύμφωνα με τα δεδομένα προέκυψαν γενότυποι με ανθεκτικότητα στους ιούς BGM, ALS, BCM και προτάθηκε αξιοποίηση διαφυλετικών πληθυσμών, με συνδυασμένη αξιολόγηση σε προσβολή από ασθένειες στον αγρό και χρήση μοριακών δεικτών για βελτίωση στις ανθεκτικότητες.

Οι μοριακοί δείκτες έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης στο φασόλι, για να συνδέσουν θέσεις ποσοτικών χαρακτηριστικών (QTLs) για αντοχή στη βακτηριακή σήψη (Yu *et al.*, 1998) τον ιό του κίτρινου μωσαϊκού (Urrea *et al.*, 1996) και ανεκτικότητα στην ξηρασία (Schneider *et al.*, 1997). Οι Beattie *et al.*, (2003) ανέπτυξαν ένα γενετικό χάρτη σύνδεσης για το φασόλι χρησιμοποιώντας ως γενετικό υλικό 110 καθαρές σειρές που προήλθαν από διασταύρωση του 'WO3391' και του 'OAK Speedvale'. Ο χάρτης αποτελούνταν από 105 RAPD, SSR και STS μοριακούς δείκτες. Είχε συνολικό μήκος 641 cM κατανεμημένος σε 8 ομάδες σύνδεσης. Εικοσιένα QTLs αναγνωρίστηκαν σε τρεις περιοχές για οχτώ αγρονομικά γνωρίσματα εξηγώντας τη συνολική φαινοτυπική διακύμανση από 10.6% για τη διάμετρο του υποκοτύλιου έως 45.4% για την ωρίμανση.

Οι Faleiro *et al.*, (2000) χρησιμοποιώντας 242 F₂ άτομα που προήλθαν από διασταύρωση μεταξύ της ποικιλίας "Ouro Negro" και της "US Pinto 111" προσπάθησαν με δείκτες RAPD να συνδέσουν γονίδια για ανθεκτικότητα στη σκωρίαση που προκαλείται από το μύκητα *Uromyces appendiculatus*. Σύμφωνα με τα δεδομένα τους φάνηκε ότι η ανθεκτικότητα είναι μονογενετικό χαρακτηριστικό με κυριαρχική δράση. Δυο δείκτες αναγνωρίστηκαν να συνδέονται με την ανθεκτικότητα ο OX11₆₃₀ και ο OF10_{1,050}.

3.6.3.2 *In vitro* αναγέννηση

Η αξιοσημείωτη πρόοδος στις τεχνικές αναγέννησης φυτών από μεμονωμένα κύτταρα και ιστούς, καθώς και τα πρωτόκολλα για μεταφορά γονιδίων σε φυτικά κύτταρα, θα επιτρέψουν την παραγωγή καλλιεργειών που δεν μπορούν να πραγματοποιηθούν με συμβατική βελτίωση (Kim and Minamikawa, 1997). Η βελτίωση με συμβατικούς τρόπους έχει πετύχει *αν* και η παραγωγή υβριδίων μεταξύ των ειδών εντός του γένους είναι περιορισμένη λόγω περιοριστικών παραγόντων. Η πρόσφατη πρόοδος στην ιστοκαλλιέργεια προσέφερε τη δυνατότητα παραγωγής

καλλιεργειών που ήταν δύσκολες με συμβατική βελτίωση (**Marta Santalla et al., 1998**). Παρόλα αυτά, τα είδη *Phaseolus* συγκεκριμένα παραμένουν δύστροπα και είναι δύσκολη η ιστοκαλλιέργεια τους. Πρόσφατα, έγιναν ιστοκαλλιέργειες με επιτυχία, αν και πειράματα για μεταφορά ξένων γονιδίων είχαν περιορισμένη επιτυχία (**Kim and Minamikawa, 1997**). Η παραγωγή διαγονιδιακών φυτών στο γένος *Phaseolus* απαιτεί να βρεθούν οι ιστοί οι οποίοι είναι ικανοί για αναγέννηση, αν και η ικανότητα κάποιου φυτού στην *in vitro* καλλιέργεια εξαρτάται συχνά από την σωστή επιλογή γενοτύπων, τη φυσιολογική κατάσταση του φυτού δοτή, τον ιστό δέκτη, τις συνθήκες καλλιέργειας και την μεταξύ τους αλληλεπίδραση (**Henry et al., 1994**). Προηγούμενες μελέτες (**Keyes et al., 1980 ; Miah et al., 1985 ; Becraft and Taylor, 1992**) έδειξαν ότι τα συστατικά της *in vitro* καλλιέργειας είναι κληρονομήσιμα και μεταβιβάσιμα στους απόγονους με διασταυρώσεις. Δεν είναι όμως πλήρως γνωστή η μέθοδος κληρονόμησης και οι συσχέτιση μεταξύ των μητρικών φυτών, οι κυτοπλασματικές και πυρηνικές διεργασίες που ελέγχουν τη διαδικασία.

Υπάρχουν αποδείξεις σύμφωνα με τις οποίες μόνο κάποιοι συγκεκριμένοι ιστοί και συγκεκριμένα έκφυτα είναι δεκτικά και στη μεταφορά και στην αναγέννηση και η *de novo* (εξ αρχής) αναγέννηση δεν θα έπρεπε να είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την παραγωγή διαγονιδιακών φυτών (**Nagl et al., 1997**). Για το λόγο αυτό, οι τεχνικές που χρησιμοποιούν πολλαπλή διαφοροποίηση σε προϋπάρχοντα μεριστώματα μπορούν να παρέχουν ιδανικά συστήματα μεταφοράς και πολλαπλασιασμού στα όσπρια (**Ramsay, 1993**). Η δημιουργία πολλαπλής διαφοροποίησης πραγματοποιήθηκε στο είδος *P.coccineus* ιστούς σε ανώριμων κοτυληδόνων (**Angelini and Allavena, 1989**), και σε κοτηλιδόνες ριζών (**Vaquero et al., 1993**). Η προσθήκη BA κατά τη διάρκεια του φυτρώματος και της καλλιέργειας του έκφυτου είναι ένας από πιο σημαντικούς παράγοντες αναγέννησης. Μελέτες έδειξαν ότι η έκφραση των γονιδίων στα φυτά διαμορφώνεται με κυτοκινίνες, και αλλαγές στις πρωτεΐνες παρατηρήθηκαν όταν έκφυτα καλλιεργούνταν με παρουσία αυτής της φυτοορμόνης (**Fernandez-Caso et al., 1996**).

Μια μεθοδολογία αναγέννησης καθορίστηκε ώστε να είναι κατάλληλη για τις Elite βελτιωτικές γραμμές του *P. vulgaris* και τους παραδοσιακούς πληθυσμούς του *P. coccineus*. Η *in vitro* αναγέννηση διέφερε ανάμεσα στα είδη και μεταξύ των γενοτύπων. Κάποια τμήματα ιστών του *P. coccineus* παρήγαγαν μεγάλο αριθμό ριζών με πολύ γρήγορο ρυθμό. Φαίνεται λοιπόν ότι οι γενετικοί παράγοντες παίζουν

σημαντικό ρόλο. Αναγνωρίστηκαν διαφορετικοί γενότυποι, που ήταν πιο ανταγωνιστικοί στην ιστοκαλλιέργεια και που θα μπορούσαν να παράγουν πολύ καλά υβρίδια. Η *in vitro* αναγέννηση σε αυτά τα είδη θα μπορούσε να βοηθήσει στην διάδοση τους και στη μετέπειτα αξιοποίηση των τυχόν υβριδίων που θα προκύψουν, αν ενσωματωθεί η τεχνική αυτή για τη βελτίωση τους (Marta Santalla et al., 1998).

3.6.4 Βελτίωση παραδοσιακών πληθυσμών

Η γενετική βάση των περισσότερων καλλιεργούμενων φασολιών σε εμπορική κλίμακα είναι στενή (Adams, 1977: Me-Clean et al., 1993: Voyest et al., 1994 Zaumeyer, 1972). Και αυτό γιατί μόνο ένα μικρό μέρος των άγριων πληθυσμών εξημερώθηκε (Gepts et al, 1986). Η στενή γενετική βάση των ποικιλιών αποδίδεται στην περιορισμένη ποιοτική χρεία που απαιτούν τόσο οι παραγωγοί όσο και οι καταναλωτές (Ghaderi et al., 1984 : Hostfield et al., 2000 : Myers, 2000 : Wang et al., 1988), στην περιορισμένη χρήση εξωτικού γενώματος (Miklas, 2000: Silbernagel and Hannan, 1998, 1992) και στις συντηρητικές προσπάθειες βελτίωσης των βελτιωτών (Singh, 1992).

Για να διευρυνθεί η γενετική βάση και να μεγιστοποιηθεί το κέρδος από την επιλογή, είναι απαραίτητο να συγκεντρωθούν οι κατάλληλοι άγριοι και παραδοσιακοί πληθυσμοί καθώς και άγρια είδη (Singh, 2001). Η αξιοποίηση της μεγάλης παραλλακτικότητας στο εξωτικό γενετικό υλικό των φασολιών καθώς και των παραδοσιακών πληθυσμών με ενσωμάτωση επιθυμητών γονιδίων στις καλλιεργούμενες ποικιλίες φασολιών, παραμένει ενδιαφέρουσα. Προκειμένου όμως να γίνει εφικτή, απαιτούνται γνώσεις σχετικά με την απόδοση σε σπόρο των γονέων και άλλα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά, την συνδυαστική ικανότητα, την ύπαρξη γονιδίων ασυμβατότητας και των ανεπιθύμητων συνδέσεων. Το πρόβλημα που προκύπτει από τον ανασυνδυασμό των γονιδίων και τη δυνατότητα να προκύψουν χρήσιμοι ανασυνδυασμοί, δηλαδή νέοι επιθυμητοί γενότυποι γίνεται εντονότερο όσο μεγαλώνει η γενετική απόσταση μεταξύ των γονέων που υβριδίζονται (Mumba and Galwey, 1999; Singh and Molina, 1996).

Οι αλλαγές σε ποικιλίες καλαμποκιού (πρώιμες και με πιο εύκαμπτα στελέχη), η χρήση λιπασμάτων (όπως ουρία) και η ευκολότερη εξόντωση ζιζανίων στα καλαμποκοχώραφα οδήγησε στη σταδιακή εγκατάλειψη της καλλιέργειας του *P.coccineus* στην ανατολική Γουατεμάλα και στην Κόστα Ρίκα. Είναι λογικό το ίδιο

να συνέβη και σε άλλες περιοχές της καλλιέργειας σε όλο τον κόσμο. Λόγω της οικολογικής θέσης του το *P.coccineus* υπέφερε από έντονο ανταγωνισμό με εξωτικές καλλιέργειες οι οποίες είχαν μεγαλύτερη κατανάλωση και καλύτερο εμπόριο (Delgado- Salinas, 1988), η κατάσταση αυτή καθόρισε μια δραματική διάβρωση της γενετικής παραλλακτικότητας στο γενετικό υλικό του *P. coccineus*. Η τάση για επανεύρεση παραδοσιακών και εγκαταλελειμμένων ποικιλιών εξαπλώνεται στους καταναλωτές και η αγορά επανεκτιμά κάποια εγκαταλελειμμένα χαρακτηριστικά και ανάμεσα τους κάποιους τοπικούς πληθυσμούς φασολιών. Επίσης το *P. coccineus* έχει τη δυνατότητα να συγκαταλέγεται ανάμεσα στα πολύτιμα παραδοσιακά πιάτα. Σημαντικό ρόλο στην προώθηση του, παίζει η αποτίμηση της υπάρχουσας παραλλακτικότητας του υπάρχοντος γενετικού υλικού, τόσο του αποθηκευμένου όσο και του καλλιεργούμενου. Είναι σημαντική η αξιολόγηση των διατροφικών χαρακτηριστικών , που είναι σχετικά με την περιεκτικότητα πρωτεϊνών στους σπόρους.

Αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για να βρεθεί το επίπεδο παραλλακτικότητας των παραδοσιακών πληθυσμών *P.coccineus*, για περαιτέρω αξιοποίηση τους στην βελτίωση του φασολιού. Οι A. Acambora *et al.*, (2003) παρατηρήσαν ότι κατά τις τελευταίες δεκαετίες έχει μειωθεί κατα πολύ η καλλιέργεια όλων των φασολιών και ιδιαίτερα του *Phaseolus coccineus* στην Ιταλία. Στις πιο πολλές περιοχές καλλιεργείται μόνο μια ποικιλία η Bianco di Spagna, ενώ πολλοί τοπικοί πληθυσμοί περιορίζονται και περιθωριοποιούνται. Στόχος της εργασίας τους ήταν ο προσδιορισμός της γενετικής παραλλακτικότητας στο *P.coccineus* χρησιμοποιώντας μοριακούς και βιοχημικούς δείκτες. Συλλέχτηκαν από αγρότες κάποιοι από τους 53 διαθέσιμους πληθυσμούς από διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας και από διαφορά Ινστιτούτα. Αναλύθηκαν οι πρωτινές 27 πληθυσμών του *P. coccineus* με SDS-PAGE ηλεκτροφόρηση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ευρεία παραλλακτικότητα εντός και μεταξύ των πληθυσμών, όπως αναμένεται σε σταυρογονιμοποιούμενα είδη. Συγκεκριμένα κάποιοι γενότυποι εμφάνισαν υψηλά ποσοστά φασεολίνης, της πιο σημαντικής αποθηκευτικής πρωτεΐνης που όμως έχει χαθεί από τους περισσότερους γενοτύπους, και που είναι υπεύθυνη για ανθεκτικότητα σε έντομα. Η παραλλακτικότητα καθορίστηκε με διάφορους μοριακούς δείκτες. Από δέκα RAPD δείκτες μόνο οι τρεις εντόπισαν παραλλακτικότητα μεταξύ γενοτύπων οι οποίοι επιλέχτηκαν για περαιτέρω ανάλυση. Κάποιοι AFLP δείκτες έδειξαν χαμηλό επίπεδο παραλλακτικότητας. Μόνο ένας από τους ISSR δείκτες ανίχνευσε

πολυμορφισμούς. Τέλος οι IRAP και REMAP, δυο δείκτες που βασίζονται σε ρετρομεταθετά στοιχεία που είχαν εφαρμοστεί στο κριθάρι, αναπτύχθηκαν στο *P.coccineus* και παρήγαγαν πολλές πολυμορφικές ζώνες. Κάποιοι πληθυσμοί της Κεντρικής Αμερικής συγκρίθηκαν με διαφορετικούς δείκτες. Οι πολυμορφισμοί ήταν πολλοί περισσότεροι σε σχέση με τους ιταλικούς πληθυσμούς υποδηλώνοντας χαμηλό επίπεδο παραλλακτικότητας στο ιταλικό απόθεμα γονιδιωμάτων του *P. coccineus*.

Οι **Zeven et al., (1993)** μελέτησαν την φαινοτυπική παραλλακτικότητα σε έναν παραδοσιακό πληθυσμό της Ουγγαρίας. Οι απόγονοι πολλών παραδοσιακών πληθυσμών *P.coccineus* από την Βουδαπέστη, χωρίστηκαν σε 5 ομάδες σύμφωνα με το χρώμα των σπορών. Τελικά 131 φυτά αναπτύχθηκαν τυχαία και παρατηρήθηκαν σε αυτά 27 μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά. Τα στοιχεία αναλύθηκαν με χρήση της ANOVA και παρουσιάστηκαν με τη μορφή δέντρογραμμάτων. Από την ανάλυση, εξαιρέθηκαν τα χαρακτηριστικά που αφορούσαν ανθοκυάνες καθώς βρέθηκε ότι ελέγχονται από ένα κυρίαρχο γονίδιο. Τα αποτελέσματα διαχώρισαν τις πέντε ομάδες με βάση αυτά τα χαρακτηριστικά, δηλώνοντας ότι δεν ήταν διαφορετικές γραμμές αλλά συνέθεταν έναν μεγάλο πανμικτικό πληθυσμό. Εντοπίστηκαν κάποιοι χαρακτήρες που συνδέονταν όπως φυτά που προέρχονταν από λευκούς σπόρους ωρίμασαν αργότερα από αυτά των μαύρων σπορών, φυτά από λευκούς σπόρους με λίγες σκούρες βούλες παρήγαγαν σπόρους πολύ βαρύτερους από το μέσο όρο, σε αντίθεση με φυτά από λευκούς και μαύρους σπόρους που παρήγαγαν σπόρους ελαφρούς αν και ο μέσος όρος παραγωγής ανά φυτό δεν διέφερε σημαντικά.

Οι **Alvarez et al., (1998)** αξιολογήσαν την γενετική παραλλακτικότητα εντός και μεταξύ ισπανικών παραδοσιακών πληθυσμών φασολιών με τη βοήθεια ισοενζύμων και RAPDs μοριακών δεικτών. Εκτιμήθηκαν η αποθηκευμένη ποσότητα πρωτεΐνης και των αμινοξέων μεθιονίνη και κυστεΐνη σε ξηρούς σπόρους. Μελετήθηκαν έξι παραδοσιακοί του *P. coccineus*. Από τα επτά ισοενζυμικά συστήματα και τους τρεις μοριακούς δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν οι τρεις μοριακοί δείκτες και τρία από τα ισοένζυμα έδειξαν παραλλακτικότητα στα είδη. Η ισοενζυμική ανάλυση αποκάλυψε ότι υπάρχει γενετική παραλλακτικότητα τόσο εντός όσο και μεταξύ των παραδοσιακών πληθυσμών. Η ανάλυση των στοιχείων έδειξε ότι οι ισπανικοί πληθυσμοί έχουν χαμηλότερο επίπεδο γενετικής παραλλακτικότητας από το άγριο υλικό της Αμερικής και πιθανότατα και από τους αμερικανικούς παραδοσιακούς πληθυσμούς. Η RAPD ανάλυση βοήθησε στον σαφή διαχωρισμό όλων των

πληθυσμών. Η γενετική ομοιότητα μεταξύ των πληθυσμών εκτιμήθηκε και με τις δυο μεθόδους αλλά δεν συσχετίστηκε με μορφολογικά χαρακτηριστικά (χρώμα, μέγεθος, σχήμα) τα οποία προσδιορίζουν κάθε ποικιλία και πληθυσμό. Η παραλλακτικότητα σε πρωτεΐνη και αμινοξύ που περιείχε ο κάθε πληθυσμός ανιχνεύτηκε. Ο μέσος όρος πρωτεΐνης των πληθυσμών του *P. coccineus* που ήταν 16,33%. Το περιεχόμενο σε αμινοξέα (μεθιονίνη και κυστεΐνη) ήταν πολύ υψηλό στους πληθυσμούς του *P. coccineus* αν και παρουσιάστηκαν διαφορές και εντός του είδους.

Σκοπός της έρευνας των **Novosielski et al., (2002)** ήταν να εξακριβωθεί η γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ 25 εμπορικών ποικιλιών που ήταν καταγεγραμμένες στην Πολωνία και 14 παραδοσιακών πληθυσμών που διατηρούνταν στο εθνικό κέντρο φυτικών γενετικών πόρων στο Radzikow. Μέρος της μελέτης ήταν να γίνει σύγκριση της ακρίβειας και της αποτελεσματικότητας των δυο τεχνικών της PCR (RAPD και AFLP) που χρησιμοποιούνται για να εκτιμήσουν τη παραλλακτικότητα των φασολιών. Οι ποικιλίες καταχωρήθηκαν μεταξύ 1950 και 2000 ενώ οι πληθυσμοί συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια αποστολών που διεξήχθησαν από το 1985 έως το 1988, και προέρχονταν κυρίως από το ανατολικό και βόρειο τμήμα της Πολωνίας. Οι δείκτες RAPD και AFLP χρησιμοποιούνται συχνά στην βελτίωση φυτών. Από την ηλεκτροφορήση προέκυψαν αρκετές πολυμορφικές ζώνες. Οι πολυμορφισμοί από τους RAPD δείκτες ανήκαν σε 6 εκκινητές ενώ με τους AFLP σε 15 εκκινητές. Οι πληθυσμοί του *P. coccineus* και του *P. vulgaris* με τη βοήθεια των δεικτών τοποθετήθηκαν σε διαφορετικές ομάδες. Η AFLP τεχνική έδωσε πολύ μεγαλύτερο αριθμό πολυμορφισμών σε σχέση με την RAPD. Η γενετική ομοιότητα μεταξύ των πληθυσμών και με τις δυο μεθόδους δεν μπόρεσε να συσχετιστεί με μορφολογικά χαρακτηριστικά των σπόρων που καθορίζουν κάθε ποικιλία ή παραδοσιακό πληθυσμό.

Οι **Escalande et al., (1994)** ανέφεραν μεγάλη παραλλακτικότητα σε τέσσερις μεξικάνικους πληθυσμούς χρησιμοποιώντας επτά ισοένζυμα αν και ο αριθμός τόσο των πληθυσμών όσο και των ισοενζύμων ήταν μικρός. Η παραλλακτικότητα για τους άγριους και καλλιεργούμενους πληθυσμούς ήταν παρόμοια λόγω των πολλών τυχαίων διασταυρώσεων σε αυτά τα είδη. Οι **Myers et al., (1999)** διασταύρωσαν με επιτυχία δυο σειρές του είδους *P. vulgaris* (OR91G & 5-593) με ανθεκτικούς παραδοσιακούς πληθυσμούς του *P. coccineus*. Η ανθεκτικότητα που απέκτησαν τα υβρίδια διέφερε. Από 500 RAPD δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν, οι 370 εμφάνισαν μια ή περισσότερες πολυμορφικές ζώνες. Οι 7 εκκινητές (OPA₁₃₀₀, OPB₃₆₀₀,

OPC13₁₆₀₀, OPD10₁₀₀₀, OPS13₅₀₀, OPT4₁₁₀₀, OPTS5₁₆₅₀) βρέθηκε ότι σχετίζονται με την ανθεκτικότητα στο λευκό μωσαϊκό (white mold) και οι οποίοι βρέθηκε ότι αναγνωρίστηκαν σε 6 υβρίδια που προέκυψαν με υψηλό επίπεδο της ανθεκτικότητας.

Προηγούμενες μελέτες που χρησιμοποίησαν την πρωτεΐνη του σπόρου του φασολιού ως δείκτη, αποκάλυψαν ότι το καλλιεργούμενο φασόλι προήλθε από πολλαπλές εξημερώσεις στην Μεσοαμερικής και στις Άνδεις. Επειδή αυτές οι μελέτες βασίστηκαν στην παραλλακτικότητα μιας απλής γονιδιακής θέσης, η επιβεβαίωση αναζητήθηκε στην ανάλυση προτύπων παραλλακτικότητας με 9 πολυμορφικές γονιδιακές θέσεις αλλοενζύμων, ασύνδετες με την γονιδιακή θέση της φασεολίνης. Στο πείραμα των **Singh et al., (1991)** αξιολογήθηκε ένα σύνολο από 227 ντόπιες ποικιλίες που αντιπροσώπευαν γεωγραφικές περιοχές από το Μεξικό έως την Αργεντινή και τη Χιλή. Η ανάλυση δέσμης ομοειδών συνόλων που βασίστηκε στη γενετική απόσταση κατά **Nei's (1973)**, αποκάλυψε την ύπαρξη δύο κύριων ομάδων, της Κεντρικής Αμερικής (MA) και αυτής των Άνδεων της Νοτίου Αμερικής.

Οι **Santalla et al.,(2004)** μελέτησαν τα αγρονομικά και ποιοτικά γνωρίσματα του γενώματος των φασολιών *P.coccineus* και τη σημασία τους για τη βελτίωση τους. Μεγάλοι αριθμοί παραδοσιακών πληθυσμών (landraces) άσπρων φασολιών υπάρχουν στις βόρειες ορεινές περιοχές της Ισπανίας λόγω της άριστης ποιότητας του σπόρου τους. Στη χώρα αυτή υπάρχει αύξηση της καλλιέργειας των γιγάντων όπως και απλών φασολιών. Η ποικιλομορφία μέσα σε μια συλλογή γιγάντων (31 πληθυσμών) από την ιβηρική χερσόνησο (Ισπανία και Πορτογαλία) εξετάστηκε χρησιμοποιώντας μορφολογικά και αγρονομικά γνωρίσματα καθώς και με γνωρίσματα ποιότητας σπόρου. Οι παραδοσιακοί πληθυσμοί (Landraces) παρουσίασαν σημαντικές διαφορές για τα περισσότερα από τα αγρονομικά γνωρίσματα και την ποιότητα του σπόρου εκτός από το χαρακτηριστικό σπόρο ανά το λοβό, την απορρόφηση ύδατος, την τρυφερότητα περιβλήματος σπόρου και την αλευρώδη σύσταση. Οι παραδοσιακοί πληθυσμοί (Landraces) παρουσίασαν ικανοποιητική παραλλακτικότητα για επιλογή καθαρών σειρών σε προγράμματα μελλοντικής βελτίωσης ενώ η αλληλεπίδραση γενοτύπου και περιβάλλοντος ήταν σημαντική για τα χαρακτηριστικά πρωιμότητα άνθισης, τις ημέρες σχηματισμού των πρώτων ξηρών λοβών, των σπόρων ανά λοβό και για το μήκος του σπόρου. Η πλειοψηφία των φυσικών και θρεπτικών ποιοτικών γνωρισμάτων σπόρου που μελετήθηκαν και που είναι σημαντικά για να καθορίσουν την εμπορική αξία μιας ποικιλίας δεν υπόκειντο στις περιβαλλοντικές επιρροές. Οι διαφορετικές πιέσεις

επιλογής που έχουν επιπτώσεις στο γενετικό υλικό των γιγάντων θα μπορούσαν να έχουν εμφανιστεί σε διάφορες περιοχές της ιβηρικής χερσονήσου. Το γένωμα των γιγάντων υπερβολικά μεγάλης και υψηλής παραγωγικότητας προσδιορίστηκε και αντιπροσωπεύει μια πολύτιμη πηγή γενετικής παραλλακτικότητας για χρησιμοποίηση τους σε βελτιωμένες ποικιλίες που επιλέγονται για την εμπορική χρήση.

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της δυνατότητας προσαρμογής πέντε κύριων καλλιεργούμενων ορεινών πληθυσμών φασολιού τύπου γίγαντες (*Phaseolus coccineus* L.) σε πεδινές περιοχές. Η μελέτη έγινε με βάση τα αγρονομικά χαρακτηριστικά σε τρεις διαφορετικές εποχές σποράς (ανά δεκαπέντε ημέρες) και τη βοήθεια μοριακών δεικτών τύπου RAPD's.

4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Γενετικό υλικό

Το γενετικό υλικό αποτέλεσαν 5 παραδοσιακοί πληθυσμοί φασολιών γίγαντες *Phaseolus coccineus*. Οι πληθυσμοί προήλθαν από τις περιοχές των νομών Γρεβενών, Μαγνησίας, και Φλώρινας και συγκεκριμένα από τις περιοχές της Ζαγοράς, της Βυζίτσας, των Πρέσπων (Άροσης) και της Φλώρινας (γίγαντες Πολωνίας). Ως μάρτυρας για την αξιολόγηση των πληθυσμών χρησιμοποιήθηκε οικογένεια των Γρεβενών (4) που επιλέχτηκε με βάση την απόδοση από προηγούμενο πείραμα (πίνακας 1) (Χατζηθεοδώρου, 2004).

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά γενετικού υλικού

Όνομα Πληθυσμού	Προέλευση	Τύπος ανάπτυξης	Χρώμα σπόρου	Μέγεθος Σπόρου	Χρώμα άνθους
Γρεβενά	Δίστρατο Γρεβενών	IV	λευκό	Μεγάλο	λευκό
Ζαγορά	Ζαγορά Μαγνησίας	IV	λευκό	Μεγάλο	λευκό
Βυζίτσα	Βυζίτσα Μαγνησίας	IV	λευκό	Μεγάλο	λευκό
Πρέσπες (Άροσης)	Πρέσπες Φλώρινας	IV	Λευκό	Μεγάλο	λευκό
Πολωνία	Πολωνία	IV	Λευκό	Μεγάλο	λευκό
Οικογένεια 4 Γρεβενών	Δίστρατο Γρεβενών	IV	λευκό	Μεγάλο	λευκό

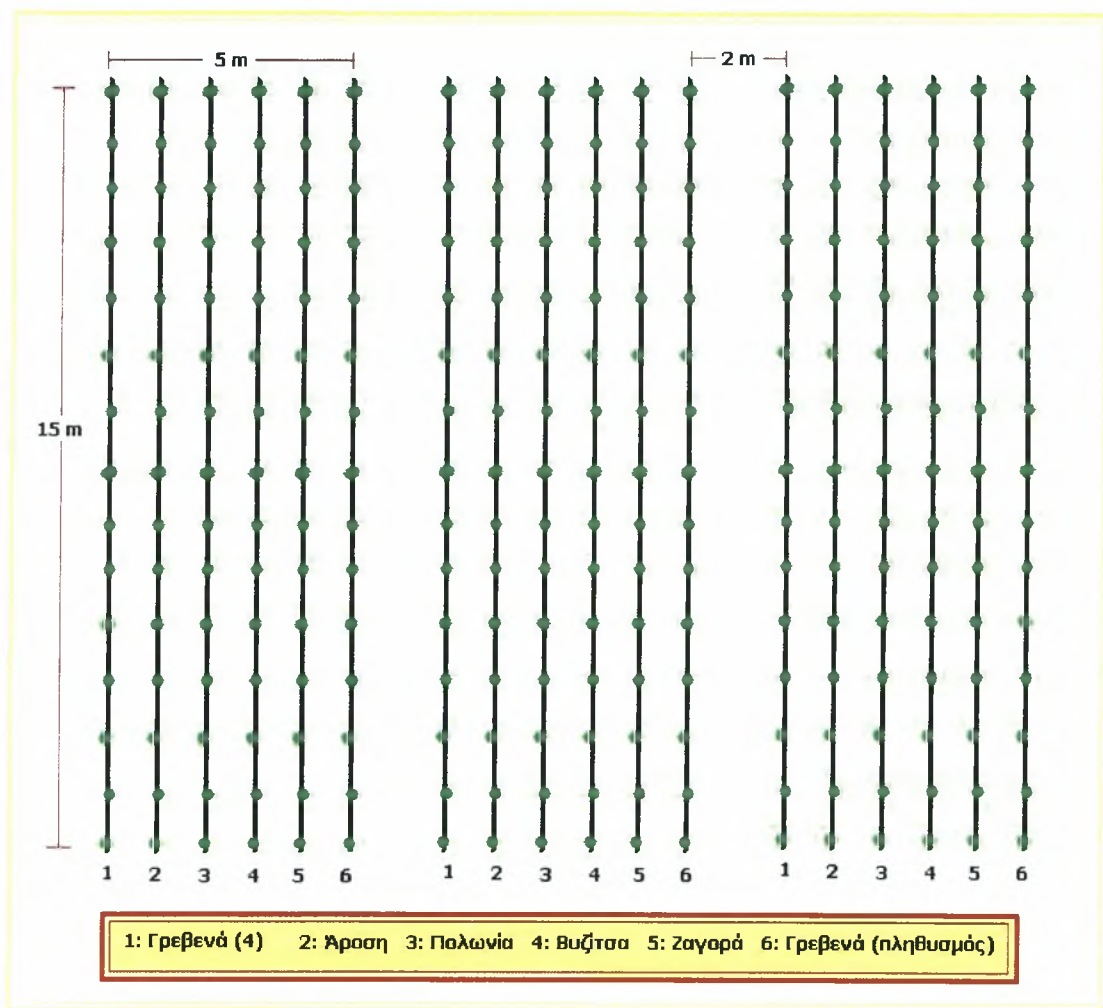
4.2 Εγκατάσταση πειράματος

Το πείραμα εγκαταστάθηκε, στον πειραματικό αγρό του Πανεπιστήμιου Θεσσαλίας στο Βελεστίνο, που βρίσκεται σε γεωγραφικό πλάτος 39⁰ 23' και στο γεωγραφικό μήκος 22⁰ 45' κατά την καλλιεργητική περίοδο του έτους 2005. Ο οργανικός αγρός την προηγούμενη χρόνια είχε μείνει ακαλλιέργητος ενώ δεν εφαρμόστηκαν λιπάνσεις για τα δυο προηγούμενα χρόνια . Το έδαφος ανήκει στην υποομάδα Typic Xerochert, με μηχανική σύσταση αργιλοπηλώδες, pH =7,9-8,

οργανική ουσία 1,44%, P_2O_5 (ΚΑΤΑ Olsen) 15-17 ppm και ολικό $CaCO_3$ 2,8-5,3 % (Μήτσιος, 2000).

Η πειραματική διάταξη ήταν RCB με τρεις χρονικές επαναλήψεις ανά δεκαπέντε ημέρες και χρήση επαναλαμβανόμενου μάρτυρα για έλεγχο της ομοιομορφίας του αγρού. Η πρώτη επανάληψη σπάρθηκε στις 26/4/05, η δεύτερη στις 10/5/05 και η τρίτη στις 23/5/05. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιούνταν επισκέψεις στο αγρόκτημα, ανά τρεις ημέρες, για έλεγχο της καλλιέργειας και καταγραφή των παρατηρήσεων.

Το πειραματικό τεμάχιο αποτέλεσε μια γραμμή μήκους 15 m. Ο διάδρομος μεταξύ των επαναλήψεων ήταν 2m. Έγινε γραμμική σπορά ποικιλιών σε όρχους (2 σπόρους σε κάθε όρχο), ενώ μετά το φύτευμα διατηρήθηκαν 15 φυτά σε κάθε γραμμή με απόσταση 1m μεταξύ των γραμμών και 1 m μεταξύ των φυτών (σχήμα 1).



Σχήμα 1: Πειραματικό τεμάχιο

Τα μετεωρολογικά δεδομένα (θερμοκρασία αέρα και βροχόπτωση) καταγράφηκαν σε ωριαία βάση σε πλήρως αυτοματοποιημένο μετεωρολογικό σταθμό που υπήρχε σε απόσταση 100 m από τον πειραματικό αγρό.

4.3 Καλλιεργητικές φροντίδες

Η καλλιέργεια ακολούθησε το πρότυπο BIO- της βιολογικής καλλιέργειας (οργανική) με στόχο την σωστή ανάπτυξη των φυτών φασολιού, εφαρμόστηκαν οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες χωρίς την εφαρμογή λιπασμάτων και τη διενέργεια ψεκασμών (μειωμένες εισροές σε λίπανση και φυτοφάρμακα).

Συγκεκριμένα οι πρώτες απαιτήσεις της κάθε επανάληψης για νερό, κυρίως, κατά το φύτευμα και την πρώτη ανάπτυξη, ικανοποιήθηκαν με την πρώτη άρδευση που έγινε μετά από κάθε σπορά. Οι υπόλοιπες αρδεύσεις γίνονταν σε διαστήματα πέντε έως επτά ημερών καθ' όλη τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου. Οι πρώτες τρεις αρδεύσεις έγιναν με αυτοκινούμενο εκτοξευτήρα με παροχή $34 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ (λειτουργία πίεσης 4,5 atm και ένταση βροχής 18mmh^{-1}). Η τοποθέτηση του δικτύου στάγδην άρδευσης έγινε στις 30 Μαΐου. Οι αγωγοί άρδευσης ήταν από μαλακό πολυαιθυλένιο διατομής 20 mm και αντοχής 6 atm. Οι σταλάκτες ήταν αυτορυθμιζόμενοι και αυτοκαθαριζόμενοι, ισαποχής 1 m επί των και παροχής 4 l/h. Οι σταλακτιφόροι σωλήνες τοποθετήθηκαν σε κάθε γραμμή των φασολιών. Σε όλα τα φυτά πραγματοποιήθηκε υποστήριξη με καλάμια. Σε κάθε θέση σποράς έγινε αφαίρεση του ενός φυτού σε περιπτώσεις που υπήρχαν δυο.

Με στόχο την εφαρμογή συστήματος χαμηλών εισροών σε λιπάσματα και φυτοφάρμακα εφαρμόστηκε καταπολέμηση των ζιζανίων με τη χρήση φρέζας περιφερειακά της έκτασης του πειράματος και επί των διαδρόμων. Μεταξύ των γραμμών και πάνω στη γραμμή έγινε 5 φορές τσάπισμα των ζιζανίων με το χέρι.

Πραγματοποιήθηκε μια επέμβαση στα μέσα Αυγούστου, με το μυκητοκτόνο Manozeb WP (manozeb 50%) για την αντιμετώπιση μυκητολογικών ασθενειών και μια δεύτερη στο τέλος Αυγούστου με το εντομοκτόνο σκεύασμα Talstar (bifenthrin 25%) για τον έλεγχο προσβολής από τετράνυχο και βρούχο.

4.4 Συγκομιδή

Έγινε συγκομιδή σταδιακά σε τρεις φάσεις ανά δεκαπενθήμερο για όλες τις επαναλήψεις και για τον μάρτυρα στο διάστημα από 10/10/05 έως 10/11/05. Οι λοβοί

συγκομίστηκαν σε χάρτινες σακούλες για κάθε φυτό χωριστά και παρέμειναν σε προστατευόμενο χώρο στο αγρόκτημα ώστε να φύγει η υγρασία από τους λοβούς.

4.5 Μετρήσεις και παρατηρήσεις

Οι παρατηρήσεις λαμβάνονταν σύμφωνα με τον κατάλογο UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants) για το *Phaseolus coccineus* L. είτε σε επίπεδο πληθυσμού είτε σε επίπεδο ατομικών φυτών.

Οι σπορά έγινε σε τρεις επαναλήψεις ανά 15 μέρες ώστε να μελετηθεί το πρόβλημα της ανθόρροιας που παρουσιάζεται σε πρώιμες σπορές πιθανότατα λόγω χαμηλών θερμοκρασιών.

Φυτρωτική ικανότητα

Έγιναν τρεις έλεγχοι φυτρώματος σε σχέση με την εποχή σποράς ώστε να μελετηθεί η φυτρωτική ικανότητα των ελεγχόμενων πληθυσμών (πίνακας 2).

Πίνακας 2. Ημερομηνίες σποράς των επαναλήψεων και φυτρωτικοί έλεγχοι

Σπορά	Ημερομ. σποράς	1 ^{ος} Έλεγχος	2 ^{ος} Έλεγχος	3 ^{ος} Έλεγχος
1 ^η	26/4/05	10/5/05	20/5/05	23/5/05
2 ^η	10/5/05	23/5/05	2/6/05	5/6/05
3 ^η	23/5/05	7/6/05	17/6/05	20/6/05

Παρουσία η απουσία ανθοκυανών

Καταγράφηκε η παρουσία ή η απουσία ανθοκυανών σε δείγματα φυτών της τρίτης σποράς κατά το στάδιο των δυο πραγματικών φύλλων.

Τύπος ανάπτυξης φυτού

Καταγράφηκε το ποσοστό των φυτών που ήταν αναρριχώμενα.

Ταχύτητα ανάπτυξης φυτών

Καταγράφηκε το ποσοστό των φυτών για το σύνολο των 15 φυτών από κάθε πληθυσμού στο σύνολο των τριών επαναλήψεων με μικρή, μεσαία και μέτρια ανάπτυξη. Ως κριτήριο της ανάπτυξης αποτέλεσε το ύψος των φυτών (απόκλιση από

το 1 m) και το μέγεθος της φυτομάζας, σε σχέση με τον τύπο ανάπτυξης των φυτών (UPOV).

Έναρξη και ποσοστό 50% της ανθοφορίας

Εκτιμήθηκε ο αριθμός ημερών που απαιτείται από τη σπορά έως το χρόνο που παρατηρείται η παρουσία του πρώτου ανθούς κάθε πληθυσμού (έναρξη άνθισης) και ο αριθμός ημερών που απαιτείται από τη σπορά έως το χρόνο που παρατηρείται άνθιση στο 50 % των φυτών κάθε πληθυσμού (50% άνθισης). Καταγράφηκε σε όλους τους πληθυσμούς για όλες τις εποχές σποράς. .

Μελέτη ποσοστού ανθόρροιας

Στο 50% της άνθισης επιλέχθηκαν τυχαία 5 φυτά ανά γραμμή. Σε κάθε φυτό έγινε τυχαία επιλογή 5 ανθέων και τοποθετήθηκαν καρτέλες με την ημερομηνία της άνθισης. Μετά από τρεις ημέρες γινόταν έλεγχος και σημειωνόταν αν έχει δημιουργηθεί λοβός ή το άνθος έχει πέσει για να βρεθεί το ποσοστό της ανθόπτωσης. Έγινε αναγωγή του ποσοστού για το σύνολο των φυτών του πληθυσμού.

Χρώμα ανθέων

Έγινε καταγραφή του χρώματος των ανθέων σε επίπεδο ατομικών φυτών. Έτσι υπολογίστηκε το ποσοστό των λευκών και κόκκινων ανθέων σε κάθε πληθυσμό.

Περιεκτικότητα χλωροφύλλης στα φύλλα (SPAD)

Η εκτίμηση στην περίπτωση αυτή έγινε έμμεσα με το χλωροφυλλόμετρο SPAD-502 της MINOILTA και υπολογίστηκε με βάση τον μέσο όρο 10 μετρήσεων από φύλλα ίδιου μεγέθους κάθε φυτού. Το όργανο μετρά την ένταση του πράσινου χρώματος του φύλλου και σχετίζεται με την περιεκτικότητα του φύλλου σε χλωροφύλλη. Έγινε μια μέτρηση, κατά την περίοδο της πλήρους άνθισης

Σχήμα φύλλων

Προέκυψε από την πλειοψηφία του σχήματος των φύλλων σε κάθε πληθυσμό. Το σχήμα φύλλου κάθε πληθυσμού αντιστοιχεί σε κάποια κατηγορία σύμφωνα με τον κατάλογο UPOV από το 1 ως το 5.

Η απόδοση και τα συστατικά της

Καθαρή απόδοση

Εκτιμήθηκε το συνολικό βάρος των σπόρων (g) για το σύνολο των φυτών κάθε πληθυσμού.

Αριθμός λοβών/ φυτό

Έγινε καταγραφή του αριθμού των λοβών σε δείγμα 5 τυχαίων φυτών για κάθε πληθυσμό.

Αριθμός σπόρων/ λοβό

Ο αριθμός σπόρων ανά λοβό εκτιμήθηκε στο σύνολο των σε 5 τυχαία φυτά για κάθε πληθυσμό κατά τη διάρκεια της εξαγωγής των σπερμάτων από τους λοβούς και μετά την ξήρανση τους.

Βάρος 100 σπόρων

Μετρήθηκε το βάρος 100 σπόρων (g) σε κάθε πληθυσμό.

4.6 Αξιολόγηση γενοτύπων με τη βοήθεια μοριακών δεικτών

Για την αξιολόγηση του γενετικού υλικού μετά από απομόνωση του DNA χρησιμοποιήθηκαν δείκτες RAPD. Έγινε αξιολόγηση σε επίπεδο πληθυσμών αλλά και σε επιλεγμένα ατομικά φυτά κάθε πληθυσμού με στόχο την μελέτη της γενετικής συγγένειας των εξεταζόμενων πληθυσμών και της γενετικής παραλλακτικότητας εντός των πληθυσμών.

4.6.1 Απομόνωση DNA

Η απομόνωση του DNA έγινε από μείγμα ιστού νεαρών, υγιών φύλλων συνολικού βάρους 0,3g από τους 5 γενοτύπους κάθε πληθυσμού, σύμφωνα με την CTAB μέθοδο για απομόνωση ολικού DNA.

Η CTAB μέθοδος που ακολουθήθηκε είναι η εξής:

- ✚ Ομογενοποίηση των ιστών του φύλλου με αποστειρωμένο γουδί και υγρό άζωτο.

- ✚ Τοποθέτηση των εκχυλισμάτων σε μικροφυγοκεντρικούς σωλήνες με προσθήκη 800 μL ρυθμιστικού διαλύματος CTAB και 10 μL β -μερκαπτοαιθανόλης (1%v/v).
- ✚ Αποστείρωση του διαλύματος σε υδατόλουτρο για 25 min στους 60 °C.
- ✚ Εξαγωγή από το υδατόλουτρο και προσθήκη φρέσκου διαλύματος χλωροφόρμιου : ισοαμυλικής αλκοόλης (24-1 v/v) έως πληρώσεως του όγκου και ανακίνηση με το χέρι και κατόπιν φυγοκέντρηση για 25 min σε 10.000 στροφές.
- ✚ Εξαγωγή της υπερκείμενης υγρής φάσης σε νέους μικροφυγοκεντρικούς σωλήνες και προσθήκη 2/3 του όγκου ισοπροπανόλης και 1/10 του όγκου Na-acetate.
- ✚ Ανακίνηση και εισαγωγή στην κατάψυξη σε θερμοκρασία -20 °C για 30 min.
- ✚ Φυγοκέντρηση για 20 min σε 10.000 στροφές και προσεκτική αφαίρεση της υγρής φάσης των μικροφυγοκεντρικών σωλήνων για να μην αφαιρεθεί και το λευκό ίζημα που είναι εμφανές.
- ✚ Προσθήκη 900 μL αιθανόλη (EtOH) 70% και 100 μL K-acetate και φυγοκέντρηση για 15 min σε 14.000 στροφές. Εξαγωγή του υπερκείμενου και επανάληψη της φυγοκέντρωσης.
- ✚ Εξαγωγή του υπερκείμενου και πλύση με προσθήκη 900 μL καθαρής αιθανόλης και κατόπιν φυγοκέντρηση για 5 min σε 10.000 στροφές.
- ✚ Ξήρανση των δειγμάτων σε κενό αέρος και θερμοκρασία 60 °C για 10 min.
- ✚ Διάλυση του τελικού προϊόντος σε 200 μL TE και αποθήκευση στην συντήρηση του ψυγείου για περαιτέρω χρήση.

4.6.2 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός DNA

Η συγκέντρωση της ποσότητας του dsDNA σε $\text{ng}/\mu\text{L}$ προσδιορίστηκε σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους/ορατού με απορρόφηση των δειγμάτων στα 260nm. Ο ποιοτικός προσδιορισμός των δειγμάτων έγινε με απορρόφηση στα 280nm. για να εκτιμηθεί το επίπεδο παρουσίας πρωτεϊνών στο δείγμα, από το λόγο των μετρήσεων των 260/280nm. Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης DNA των δειγμάτων για τους πληθυσμούς, υπολογίστηκε στα 100ng/ μL . Τα παραπάνω δείγματα αραιώθηκαν με TE ώστε να έχουν όλα την ίδια αναλογία DNA και TE. Οι παραπάνω εκτιμήσεις

επιβεβαιώθηκαν και με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 0,8% με πρότυπο δείγμα DNA ως μάρτυρα.

4.6.3 Μοριακή γενετική ανάλυση με μοριακούς δείκτες RAPD's

Κατά την μοριακή ανάλυση των πληθυσμών χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 21 εκκινητες (primers) με τυχαία νουκλεοτιδική ακολουθία, των σειρών OPB, OPC, OPD, OPE, OPF και OPG (πίνακας 3) και για ατομικά φυτά OPC, OPF και OPE (πίνακας 4) της εταιρίας OPERON.

Πίνακας 3. Τύπος και αλληλουχία των RAPD εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν στους πληθυσμούς

OPB 13	5' - TTCCCCCGCT -3'	OPC 19	5' -GTTGCCAGCC -3'
OPC 1	5' -TTCGAGCCAG-3'	OPC 20	5' -ACTTCGCCAC -3'
OPC 3	5' -GGGGGTCTTT-3'	OPD 1	5- ACCGCGAAGG-3'
OPC 4	5' -CCGCATCTAC-3'	OPE 6	5' -AAGACCCCTC-3'
OPC 7	5' -GTCCCGACGA-3'	OPE 13	5- CCCGATTCGG-3'
OPC 8	5' -TGGACCGGTG-3'	OPE 20	5-AACGGTGACC-3'
OPC 10	5' -TGTCTGGGTG-3'	OPF 4	5' -GGTGATCAGG-3'
OPC 12	5' -TGTCATCCCC -3'	OPF 7	5' -CCGATATCCC -3'
OPC 13	5' -AAGCCTCGTC-3'	OPF 13	5' -GGCTGCAGAA-3'
OPC 14	5' -TGCGTGCTTG-3'	OPG 2	5' -GGCACTGAGG-3'
OPC 15	5' -GACGGATCAG-3'		

Σε κάθε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης για τους πληθυσμούς χρησιμοποιήθηκαν:

Πίνακας 5: Συστατικά της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης για την φυλογενετική ανάλυση σύμφωνα με το RAPD πρότυπο

150 ng γενωμικού DNA
2,5 μl από 10x διάλυμα αντίδρασης PCR (Minotech)
10 pmoles (0.625 μM) από τον 10-νουκλεοτιδικό RAPD εκκινητή (Operon Tech.)
2 mM από dNTPs
150 unit από Taq Πολυμεράση
Προσαρμογή σε τελικό όγκο 25 μl με ddH ₂ O

Πίνακας 6: Συνθήκες του προγράμματος Αντίδρασης Αλυσιδωτής Πολυμεράσης κατά RAPD

Στάδιο	Συνθήκες	Κύκλοι
Προ-αποδιάταξη των αλυσίδων (Hot Start)	94 βαθμοί Κελσίου, 8 λεπτά	-
Αποδιάταξη των αλυσίδων	94 βαθμοί Κελσίου, 1 λεπτό	-
Επικόλληση των εκκινητών	35 βαθμοί Κελσίου, 1 λεπτό	35
Σύνθεση και επιμήκυνση των νέων αλυσίδων	72 βαθμοί Κελσίου, 1,5 λεπτό	-
Τελική επιμήκυνση των νεοσυντιθέμενων αλυσίδων	72 βαθμοί Κελσίου, 10 λεπτά	-
Αποθήκευση των προϊόντων της αντίδρασης	4 βαθμοί Κελσίου	-

Στα προϊόντα της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης για κάθε γενότυπο, γινόταν προσθήκη 2μL διαλύματος φόρτωσης και ηλεκτροφορούσαν για 1 ώρα σε πηκτή αγαρόζης 1%, η οποία περιείχε 0,004% (w/v) βρωμιούχο αιθίδιο. Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης, γινόταν έκθεση της πηκτής σε υπεριώδη ακτινοβολία και φωτογραφιζόταν μετά την καταγραφή των πολυμορφισμών των δειγμάτων DNA.

4.6.4 Στατιστική ανάλυση

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του προγράμματος NTSYS, μετά την κωδικοποίηση των μοριακών δεδομένων. Πιο συγκεκριμένα, η παρουσία ζώνης αντιπροσωπεύτηκε με (1) και η απουσία με (0). Στη συνέχεια ο υπολογισμός της γενετικής ομοιότητας των δειγμάτων έγινε χρησιμοποιώντας τον συντελεστή του Jaccard $S_{ij}=a/(a+b+c)$ (Sneath and Sokal, 1973) και τον συντελεστή του Dice $S_{ij}=2a/(2a+b+c)$ (Nei and Li, 1979) όπου:

1. S_{ij} : η γενετική ομοιότητα των δειγμάτων i και j .

2. a: το πλήθος των πολυμορφικών τμημάτων DNA που είναι παρόντα στο δείγμα i και στο δείγμα j.
3. b: το πλήθος των πολυμορφικών τμημάτων DNA που είναι παρόντα στο δείγμα i.
4. c: το πλήθος των πολυμορφικών τμημάτων DNA που είναι παρόντα στο δείγμα j.

Με βάση τις μήτρες γενετικής ομοιότητας, κατασκευάστηκαν δενδρογράμματα φυλογενετικής σχέσεων με την μέθοδο Neighbourjoining και με την μέθοδο UPGMA. Τελικά επιλέχθηκε η μέθοδος UPGMA ως η καταλληλότερη και περισσότερο αντιπροσωπευτική για τα δεδομένα.

Στα δεδομένα των αγρονομικών χαρακτηριστικών έγινε ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA), με τη βοήθεια του προγράμματος SPSS 10.0 για τα Windows SE, και ανάλυση με διαγράμματα με τη βοήθεια του Excel για τα Windows SE.

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της δυνατότητας προσαρμογής πέντε κύριων καλλιεργούμενων ορεινών πληθυσμών φασολιού σε πεδινές περιοχές. Από παρατηρήσεις των ίδιων των αγροτών που καλλιεργούν φασόλια, καθώς και από τις οικολογικές απαιτήσεις του είδους, φαίνεται ότι επίδραση υψηλών θερμοκρασιών κατά το στάδιο της άνθισης προκαλεί απώλεια δεσίματος λοβών και πτώση τους σε μικρό στάδιο, με σοβαρές απώλειες στην παραγωγή. Για τον σκοπό αυτό μελετήθηκαν τα ποσοστά ανθόρροιας κατά τη διάρκεια των μηνών Ιουνίου, Ιουλίου και Αύγουστου μετά την εφαρμογή σποράς σε τρεις διαφορετικές χρονικές περιόδους με διάστημα 15 ημερών. Η κλιμάκωση αυτή έγινε ώστε να εξαχθούν πιθανά συμπεράσματα που θα οδηγήσουν στην βελτίωση και προσαρμογή των εξεταζόμενων πληθυσμών φασολιού.

Αναλύθηκαν τα αγρονομικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά των πέντε πληθυσμών φασολιού ενώ παράλληλα εκτιμηθήκαν η απόδοση και τα συστατικά της.

5.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά

Η περιγραφή των πληθυσμών έγινε με βάση την κατάταξη κατά UPOV και παρουσιάζεται στον πίνακα 7.

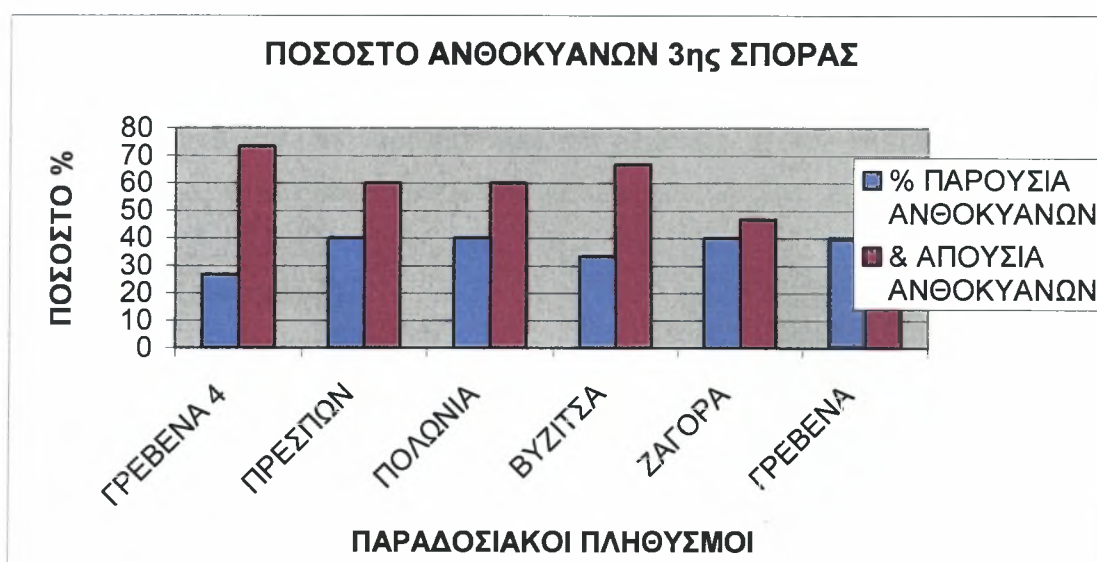
Πίνακας 7. Μορφολογικά χαρακτηριστικά έξι πληθυσμών φασολιού (*P.coccineus*)

Γενότυπος	Παρουσία Ανθοκυανών (%)	Τύπος ανάπτυξης	Χρώμα Ανθέων (%)		Σχήμα φύλλων	Μέγεθος Σπόρων	Χρώμα Σπόρων (%)	
			Λ	Κ			Λ	Κ
ΓΡΕΒΕΝΑ 4	26,67	IV	100	0	V	Μεσαίο	100	0
ΠΡΕΣΠΕΣ	40	IV	86,6	13,3	IV	Μεγάλο	86,6	13,3
ΠΟΛΩΝΙΑ	40	IV	100	0	II	Μεγάλο	100	0
ΒΥΖΙΤΣΑ	33,33	IV	86,6	13,3	III	Μεσαίο	86,6	13,3
ΖΑΓΟΡΑ	40	IV	93,3	6,67	III	Μεσαίο	93,3	6,67
ΓΡΕΒΕΝΑ	40	IV	100	0	V	Μεσαίο	100	0

Όπου Λ= λευκό χρώμα και Κ= κόκκινο χρώμα

Παρουσία ανθοκυανών

Το ποσοστό των φυτών κάθε πληθυσμού με παρουσία ή απουσία ανθοκυανών παρουσιάζεται στην εικόνα 5. Από το διάγραμμα παρατηρείται ότι οι αναλογίες παρουσίας-απουσίας είναι συγκριτικά παρόμοιες (3:1) για όλους τους πληθυσμούς και δεν υπάρχει διαφοροποίηση της ομοιογένειας κάθε πληθυσμού των περιοχών προέλευσης. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα των Zeven *et al.*, (1993), οι οποίοι εξείρεσαν τα χαρακτηριστικά που αφορούσαν ανθοκυανές στην κατασκευή των δενδρογραμμάτων γενετικής συγγένειας, καθώς βρέθηκε ότι ελέγχονται από ένα κυρίαρχο γονίδιο.



Εικόνα 5. Γραφική παράσταση ανθοκυανών τρίτης σποράς

Τύπος ανάπτυξης

Έγινε περιγραφή του τύπου ανάπτυξης των πληθυσμών σύμφωνα με την κατάταξη UPOV. Όλοι οι πληθυσμοί ανήκουν στην κατηγορία IV και είναι αναρριχώμενοι.

Χρώμα ανθέων και χρώμα σπόρων

Το χρώμα των ανθέων κάθε πληθυσμού παρουσιάζεται στον πίνακα 7. Έγινε αναγωγή του ποσοστού του συνόλου των φυτών κάθε πληθυσμού στο οποίο παρατηρήθηκαν λευκά και κόκκινα άνθη. Βρέθηκε ότι οι πληθυσμοί Γρεβενών και Πολωνίας δεν παρουσίασαν φυτά με κόκκινα άνθη, ενώ αντίθετα οι πληθυσμοί Πρεσπών, Πολωνίας και Ζαγοράς είχαν ένα ποσοστό φυτών με κόκκινα άνθη

(πίνακας1). Μια αξιοσημείωτη παρατήρηση έγκειται στο γεγονός ότι ενώ τα δείγματα των αρχικών πληθυσμών αποτελούνταν από λευκούς σπόρους, εμφανίστηκαν και φυτά με κόκκινα άνθη τα οποία στη συνέχεια έδωσαν σκουρόχρωμους σπόρους. Η σταυρογονιοποίηση του είδους με κάποιον άλλο πληθυσμό με κόκκινα άνθη που μπορεί να έγινε στις περιοχές από όπου προήλθε το υλικό του πειράματος και ενσωμάτωση του χαρακτηριστικού στους σπόρους των φυτών στα οποία πραγματοποιήθηκε, μπορεί να δώσει μια πιθανή εξήγηση του φαινομένου. Μια άλλη πιθανή εξήγηση είναι η ετεροζυγωτία των φυτών που καλύπτει την υποτελή δράση αλληλομόρφων υπεύθυνων για το κόκκινο χρώμα και πιθανή εμφάνιση λόγω διασπάσεων στις επόμενες γενιές.

Σχήμα φύλλων

Το σχήμα φύλλων παρατηρήθηκε και σύμφωνα με τον κατάλογο UPOV ο κάθε πληθυσμός κατατάσσεται σύμφωνα με το σχήμα φύλλων στις εξής κατηγορίες :

ΠΡΕΣΠΕΣ : Κατηγορία 5

Σχήμα τετραγωνικό



ΠΟΛΩΝΙΑ : Κατηγορία 4

Σχήμα κυκλικό προς τετραγωνικό



ΒΥΖΙΤΣΑ : Κατηγορία 2

Σχήμα τριγωνικό προς κυκλικό



ΖΑΓΟΡΑ : Κατηγορία 2

Σχήμα τριγωνικό προς κυκλικό



ΓΡΕΒΕΝΑ : Κατηγορία 3

Σχήμα κυκλικό



Μέγεθος σπόρων

Οι πληθυσμοί κατατάσσονται ως προς το μέγεθος των σπόρων σε κατηγορίες σύμφωνα με τον κατάλογο UPOV και έμμεσα, σύμφωνα με το βάρος των 100 σπόρων. Διακρίνονται σε αυτούς που χαρακτηρίζονται από μεγάλο μέγεθος σπόρων όπως οι πληθυσμοί των Πρεσπών και της Πολωνίας ή σε αυτούς με μεσαίο μέγεθος σπόρων όπως οι πληθυσμοί των Γρεβενών, της Βυζίτσας και της Ζαγοράς (πίνακας 7).

5.2 Αγρονομικά χαρακτηριστικά και συστατικά απόδοσης

Τα αγρονομικά χαρακτηριστικά και συστατικά απόδοσης των παραδοσιακών πληθυσμών για τις τρεις εποχές σποράς καταγράφηκαν στους πίνακες 8 και 9.

Πίνακας 8. Αγρονομικά χαρακτηριστικά έξι πληθυσμών φασολιού (*P.coccineus*) σε σχέση με την εποχή σποράς

Γενότυπος	Εποχή σποράς	Φυτρωτική ικανότητα (%)	Περιεκτ/τα σε χλωρ/λη SPAD	Ανθόρροια (%)	Έναρξη Άνθισης (ημέρες από σπορά)	50% Άνθισης (ημέρες από σπορά)
ΓΡΕΒΕΝΑ 4	I	100	36,41	64	36	44
	II	100	36,09	68	34	41
	III	86,67	40,34	65,33	35	43
ΠΡΕΣΠΕΣ	I	100	34,2	60	37	45
	II	100	39,74	66,6	34	42
	III	93,33	41,12	57,33	34	41
ΠΟΛΩΝΙΑ	I	100	36,13	61,33	36	43
	II	100	41,047	80	36	43
	III	93,33	40,41	76	33	40
ΒΥΖΙΤΣΑ	I	100	36,9	58,67	35	42
	II	100	41,95	70,67	35	42
	III	100	41,47	74,67	36	43
ΖΑΓΟΡΑ	I	100	31,62	54,67	38	45
	II	93,33	43,36	77,33	37	45
	III	100	43,7	73,33	36	44
ΓΡΕΒΕΝΑ	I	100	37,93	69,33	39	46
	II	100	44,99	72	38	46
	III	100	40,73	70,67	38	45
F		NS	*	*	*	*
LSD		-	8,77	10,7	1,9	2,1

Φυτρωτική ικανότητα

Με βάση τα δεδομένα της καλής κατάστασης των σπόρων και την σταθερή καλλιεργητική πρακτική που ακολουθήθηκε για όλους τους πληθυσμούς, παρατηρήθηκαν κάποιες διαφορές που οφείλονται κατά κύριο λόγο στις συνθήκες του περιβάλλοντος. Από το υψηλό ποσοστό φυτρωτικής ικανότητας για την πρώτη και δεύτερη εποχή σποράς συμπεραίνεται ότι υπάρχουν ευνοϊκές συνθήκες για όλους τους πληθυσμούς. Αντίθετα στην τρίτη εποχή σποράς παρουσιάζονται γενικά

μικρότερα ποσοστά φυτρώματος των σπόρων, γεγονός που δείχνει μειωμένη καταλληλότητα των όψιμων χρόνων σποράς για την περιοχή του Βελεστίνου όπου πραγματοποιήθηκε το πείραμα.

Σε ότι αφορά την φυτρωτική ικανότητα του κάθε πληθυσμού για κάθε εποχή σποράς βρέθηκε ότι ενώ στην πρώτη και δεύτερη εποχή υπάρχει σταθερότητας προς το ποσοστό φυτρώματος, στην τρίτη εποχή παρουσιάζεται αυξημένο ποσοστό στους πληθυσμούς της Ζαγοράς, της Βυζίτσας και των Γρεβενών σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες. Το γεγονός αυτό μπορεί να εξηγηθεί εξαιτίας της προέλευσης των εν λόγω ποικιλιών και την προσαρμοστικότητας τους στο συγκεκριμένο περιβάλλον.

Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στην φυτρωτική ικανότητα δεν είναι σημαντικές όπως προκύπτει από την ανάλυση διακύμανσης ούτε μεταξύ των εποχών σποράς ούτε μεταξύ των πληθυσμών για κάθε εποχή.

Περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη (SPAD)

Η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη εκτιμήθηκε έμμεσα με το δείκτη SPAD, για όλα τα φυτά κάθε πληθυσμού και για όλες τις εποχές σποράς. Έγινε ανάλυση διακύμανσης των δυο παραγόντων, πληθυσμοί και εποχές σποράς και βρέθηκε η αλληλεπίδραση τους. Οι διαφορές μεταξύ των εποχών σποράς είναι σημαντικές ενώ ταυτόχρονα σημαντικές είναι και οι διαφορές μεταξύ των πληθυσμών για το χαρακτηριστικό αυτό. Εξαιτίας όμως της αλληλεπίδρασης των δυο παραγόντων, η οποία βρέθηκε στατιστικώς σημαντική, διατηρούμε επιφυλάξεις ως προς τη σημαντικότητα των προηγούμενων.

Ανθόρροια

Στις αναλύσεις διακύμανσης των τριών εποχών σποράς για κάθε μήνα ανθόρροιας, διάφορες βρέθηκαν για τον μήνα Ιούλιο και Ιούνιο μεταξύ των εποχών σποράς και όχι μεταξύ των πληθυσμών. Το γεγονός αυτό είναι σημαντικό αφού κατά τους μήνες Ιούνιο και Ιούλιο υπάρχουν αυξημένες θερμοκρασίες σε πεδινές περιοχές και πλήρη ανθοφορία του φασολιού. Έτσι επιβεβαιώνεται η άποψη ότι οι υψηλές θερμοκρασίες προκαλούν εντονότερη ανθόρροια ενώ αντίθετα κατά τη διάρκεια του Αυγούστου όπου οι περισσότεροι λοβοί έχουν αναπτυχθεί δεν κινδυνεύουν από πτώση. Οι διαφορές που βρέθηκαν μεταξύ των πληθυσμών δεν ήταν σημαντικές γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι καθοριστικός παράγοντας για την ανθόρροια

είναι η εποχή σποράς και κατά συνέπεια το στάδιο του φυτού στο οποίο επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες.

Έναρξη και 50% της άνθισης

Στον πίνακα 8 παρουσιάζεται ο χρόνος (ημέρες) που απαιτείται για την έναρξη άνθισης και το 50% της άνθισης για κάθε εποχή σποράς. Η έναρξη της άνθισης για την πρώτη σπορά κυμαίνεται μεταξύ των πληθυσμών από 35 έως 39 ημέρες. Ακολούθως για τη δεύτερη και τρίτη σπορά το διάστημα μειώνεται ελάχιστα και κυμαίνεται από 33 έως 38 ημέρες. Το 50% της άνθισης για την πρώτη σπορά κυμαίνεται από 42 έως 46 ημέρες, για τη δεύτερη από 42 έως 45 και για την τρίτη από 40 έως 45 ημέρες.

Από την ανάλυση διακύμανσης προκύπτει ότι τόσο για την έναρξη άνθισης όσο και για το 50% αυτής, δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ των εποχών, υπάρχουν όμως διαφορές μεταξύ των πληθυσμών. Παρατηρείται μια σχετική ομοιομορφία των πληθυσμών στην εκδήλωση των προαναφερόμενων χαρακτηριστικών, ως προς την εποχή σποράς, με διαστήματα που κυμαίνονται εντός μιας εβδομάδας. Το γεγονός ενισχύει την άποψη ότι η εποχής σποράς δεν επηρεάζει την έναρξη και τον χρόνο ανθοφορίας σε αντίθεση με τους πληθυσμούς που εμφανίζεται μια μικρή παραλλακτικότητα.

Απόδοση

Όσον αφορά την απόδοση μετρήθηκαν πέντε συστατικά της, η μικτή απόδοση (οι λοβοί μαζί με τους σπόρους), η καθαρή απόδοση (μόνο οι σπόροι), οι λοβοί ανά φυτό, οι σπόροι ανά λοβό και το βάρος των 100 σπορών κάθε πληθυσμού (πίνακας 9).

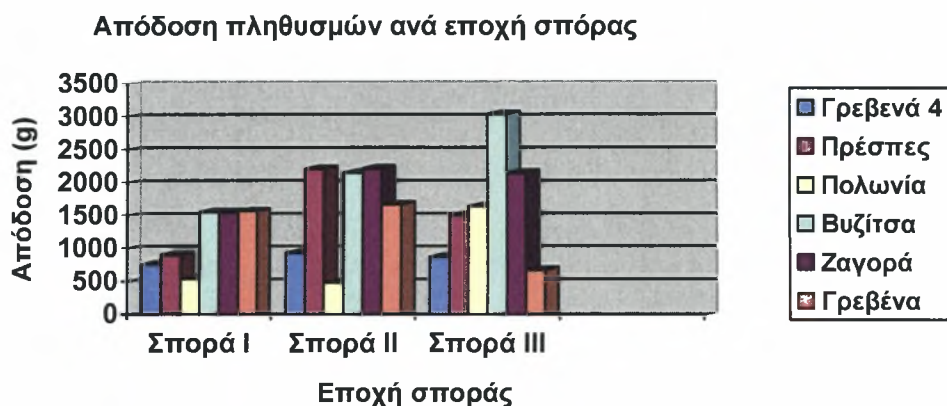
Πίνακας 9. Συστατικά απόδοσης έξι πληθυσμών φασολιού (*P.coccineus*) σε σχέση με την εποχή σποράς

Γενότυπος	Εποχή σποράς	Αριθμός λοβών / φυτό	Αριθμός σπόρων/ λοβό	Βάρος 100 σπόρων (g)	Συνολική απόδοση (g)
ΓΡΕΒΕΝΑ 4	I	25,6	2,06	208,8	766,91
	II	32,8	1,74	205,5	936,4
	III	43	1,98	185,5	880,22
ΠΡΕΣΠΕΣ	I	30	2,06	214,9	908,97
	II	18,8	1,94	204,1	2214,9
	III	21,4	1,92	207,87	1516,96
ΠΟΛΩΝΙΑ	I	20,4	1,36	229,2	546,375
	II	16,6	1,62	231,2	480,9
	III	42,8	1,64	251,4	1650
ΒΥΖΙΤΣΑ	I	25,8	1,98	215,8	1562,4
	II	35,8	1,48	156,3	2155,6
	III	26,6	2,34	205,4	3045,9
ΖΑΓΟΡΑ	I	20	2,34	206,3	1560,3
	II	23,4	2,48	149,8	2225,73
	III	18	1,82	200,3	2159,9
ΓΡΕΒΕΝΑ	I	25,6	2,02	201,9	1577,73
	II	21,2	2,38	209,3	1675,75
	III	47,6	1,62	177,1	676,15
F		*	*	NS	*
LSD		37,5	2,33	-	272,6

Η απόδοση μικτή και καθαρή μετρήθηκε για κάθε ατομικό φυτό κάθε πληθυσμού και στις τρεις εποχές σποράς και έγινε ανάλυση διακύμανσης. Υπάρχει μεγάλη παραλλακτικότητα ως προς όλα τα συστατικά της απόδοσης και οι διαφορές που εμφανίζονται μεταξύ των πληθυσμών είναι σημαντικές. Επίσης σε συνδυασμό με τις εποχές σποράς τα χαρακτηριστικά αυτά εμφανίζουν επίσης σημαντικότητα και μεταβάλλονται για κάθε μια από τις εποχές (πίνακας 9).

Συγκεκριμένα ο αριθμός λοβών ανά φυτό κυμάνθηκε μεταξύ 16 και 48. Ο πληθυσμός των Γρεβενών τόσο ως μείγμα όσο και ως οικογένεια 4 εμφάνισε το μεγαλύτερο αριθμό λοβών ανά φυτό.

Ο αριθμός σπόρων ανά λοβό κυμάνθηκε μεταξύ 1,48 και 2,48 μεταξύ των πληθυσμών και δεν έχει μεγάλες διαφορές μεταξύ τους. Ωστόσο ο υψηλότερος αριθμός σπόρων ανά λοβό παρατηρήθηκε στον πληθυσμό της Ζαγοράς.



Εικόνα 6. Απόδοση παραδοσιακών πληθυσμών στις τρεις εποχές σποράς

Ο μέσος όρος του βάρους των 100 σπόρων ήταν υψηλότερος στην πρώτη και τρίτη σπορά, το οποίο μπορεί να σχετίζεται με ευνοϊκότερες κλιματικές συνθήκες των εποχών αυτών στην καλλιέργεια των φασολιών. Παράλληλα βρέθηκε ο μέσος όρος του κάθε πληθυσμού στο σύνολο των τριών εποχών σποράς (πίνακας 10). Από την σύγκριση προκύπτει ότι ο πληθυσμός της Πολωνίας έχει αυξημένο βάρος σπόρων, ακολουθεί ο πληθυσμός των Πρεσπών ενώ οι πληθυσμοί των Γρεβενών, Ζαγοράς και Βυζίτσας έχουν παρόμοιο βάρος μεταξύ τους και αρκετά μικρότερο από της Πολωνίας (πίνακες 9 & 10).

Πίνακας 10. Βάρος των 100 σπόρων σε g, των πληθυσμών, ανά εποχή σποράς και μέσοι όροι για το σύνολο των εποχών και των πληθυσμών

	1 ^η σπορά	2 ^η σπορά	3 ^η σπορά	X
ΓΡΕΒΕΝΑ 4	208,8	205,6	185,5	199,97
ΠΡΕΣΠΕΣ	214,9	204,1	204,6	207,87
ΠΟΛΩΝΙΑ	229,2	231,2	251,4	237,26
ΒΥΖΙΤΣΑ	215,8	156,3	205,4	192,56
ΖΑΓΟΡΑ	206,3	149,8	200,3	185,47
ΓΡΕΒΕΝΑ	201,9	209,3	177,1	196,1
X	212,82	192,72	204,5	

5.3 Μοριακή ανάλυση

5.3.1 Ποσοτικός και ποιοτικός προσδιορισμός DNA

Μετά την εξαγωγή DNA από τους πέντε εξεταζόμενους πληθυσμούς φασολιών, ακολούθησε ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός τους με σκοπό να εκτιμηθεί η συγκέντρωση DNA στα δείγματα καθώς και η ποιότητα του. Τα δείγματα φωτομετρήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο σε απορρόφηση 260 nm με σκοπό την εκτίμηση της συγκέντρωσης του DNA και στα 280 nm για την εκτίμηση της παρουσίας πρωτεϊνών στα δείγματα από τον λόγο 260/280 nm. Τιμή μεταξύ 1,8-2,2 μονάδων του παραπάνω λόγου βεβαιώνει την απουσία πρωτεϊνικών προσμίξεων στο δείγμα. Ο ποιοτικός έλεγχος των δειγμάτων ολοκληρώνεται με ηλεκτροφόρηση τους σε πηκτή αγαρόζης. Τα πέντε δείγματα που υποβλήθηκαν στις ανωτέρω αναλύσεις, βρέθηκαν να είναι σε ικανοποιητική κατάσταση.

5.3.2 Μοριακή ανάλυση με δείκτες RAPD's

Στα πλαίσια της μοριακής γενετικής ανάλυσης χρησιμοποιήθηκαν συνολικά εκκινητές με τυχαία νουκλεοτιδική αλυσίδα (τύπου RAPD's), των σειρών OPB, OPC, OPD, OPE, OPF και OPG.

Εκ του συνόλου των 21 εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν, οι 18 βρέθηκαν πολυμορφικοί, ενώ οι υπόλοιποι τρεις βρέθηκαν μονομορφικοί για το σύνολο των γενοτύπων που εξετάστηκαν. Όπως φανέρωσε η ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 1% παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου και κατόπιν εκθέσεως της σε υπεριώδη ακτινοβολία, η μοριακή ανάλυση των γενοτύπων φασολιού με βάση το μοριακό πρότυπο των 18 εκκινητών που επιλεχθήκαν, αποτελείται συνολικά από 108 ζώνες που αντιστοιχούν σε ίσο αριθμό περιοχών του γενώματος που πολλαπλασιάστηκαν κατά το σύνολο των αντιδράσεων της PCR.

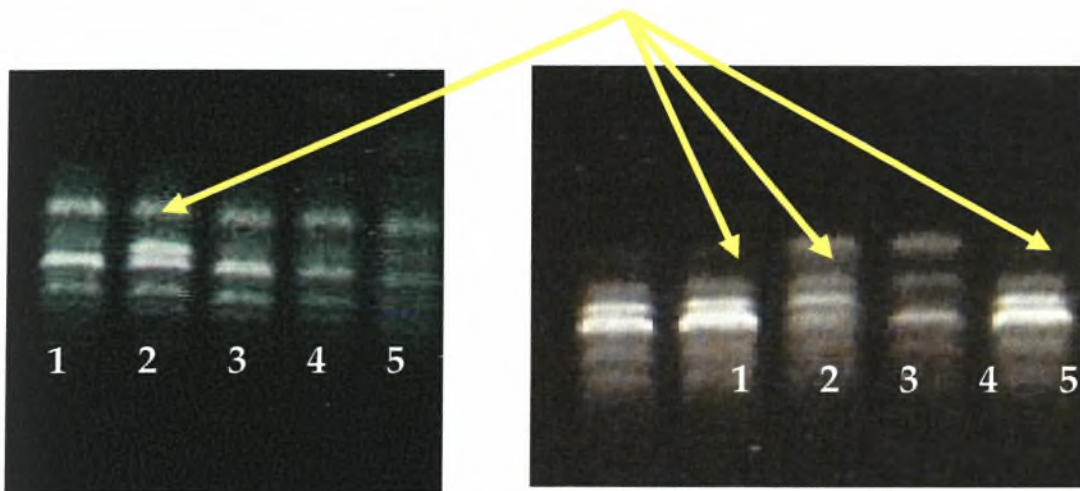
Το ποσοστό των πολυμορφισμών για τη δεδομένη μοριακή ανάλυση, ανήλθε στο 33 % καθώς 35 από τις 108 περιοχές του γενώματος που πολλαπλασιάστηκαν βρέθηκαν πολυμορφικές. Κατά μέσο όρο κατεγράφησαν 2 πολυμορφικές ζώνες ανά εκκινητή, ενώ ο μέγιστος αριθμός πολυμορφικών ζωνών ανά εκκινητή ήταν 4 και ο ελάχιστος 1. Το μοριακό πρότυπο καταγράφηκε και στη συνέχεια κωδικοποιήθηκε για το σύνολο των γενοτύπων. Κατά την κωδικοποίηση, η παρουσία ή η απουσία των ζωνών αντιπροσωπεύτηκε από τη μονάδα «1» ή το μηδέν «0» αντίστοιχα, για την

ηλεκτρονική επεξεργασία των δεδομένων σύμφωνα με το δυαδικό σύστημα. Με το σύνολο των παραπάνω κωδικοποιημένων παρατηρήσεων κατασκευάστηκαν δένδρογράμματα φυλογενετικών σχέσεων με την μέθοδο Neighbourjoining και με την μέθοδο UPGMA. Τελικά επιλέχθηκε η μέθοδος UPGMA ως η καταλληλότερη και περισσότερο αντιπροσωπευτική για τα δεδομένα του πειράματος.

Στο δένδρογράμμα που ακολουθεί αναπαρίστανται γραφικά οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των παραδοσιακών πληθυσμών. Οι γενετικές αποστάσεις του δέντρογράμματος είναι αρκετά μεγάλες (έως 0,97). Ειδικότερα οι πληθυσμοί Βυζίτσα και Ζαγορά είναι πολύ κοντά γενετικά, γεγονός αναμενόμενο λόγω της κοινής περιοχής καλλιέργειας, έχουν συγγένεια με τη Πολωνία και τις Πρέσπες, ενώ τα Γρεβενά έχουν γενετική απόσταση από όλους τους πληθυσμούς,

Με το σύνολο των παραπάνω κωδικοποιημένων παρατηρήσεων κατασκευάστηκαν δένδρογράμματα φυλογενετικών σχέσεων με την μέθοδο Neighbourjoining και με την μέθοδο UPGMA. Από το δέντρογράμμα φαίνεται ότι οι πληθυσμοί Βυζίτσα και Ζαγορά είναι πιο κοντά γενετικά, αποδεκτό και λόγω της ίδιας περιοχής καλλιέργειας, συγγενεύουν με τη Πολωνία και τις Πρέσπες, ενώ τα Γρεβενά έχουν γενετική απόσταση από όλους τους άλλους πληθυσμούς,

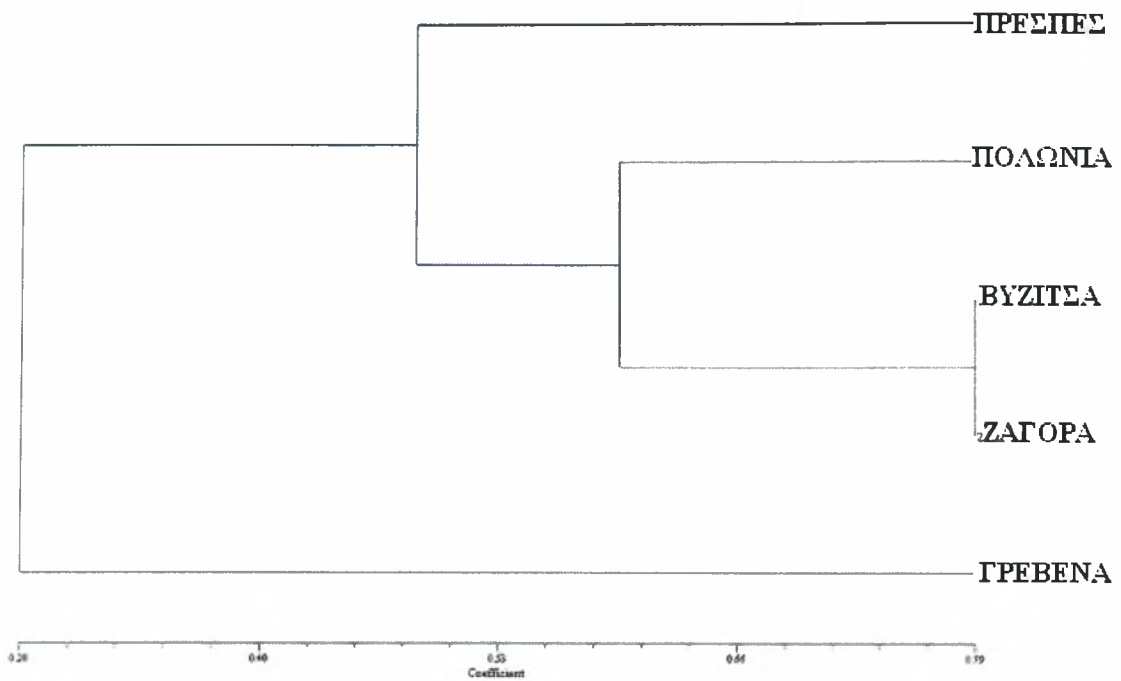
Πολυμορφικές ζώνες



Εικόνα 6. Πολυμορφισμοί του εκκινητή OPC 4 και OPC 14 των παραδοσιακών πληθυσμών. Όπου 1: Πρέσπες, 2: Πολωνία, 3: Βυζίτσα, 4: Ζαγορά, 5: Γρεβενά

Πίνακας 11. Σύνοψη μοριακού προτύπου των 21 εκκινητών

RAPD εκκινητής	Αλληλουχία Εκκινητή	Αριθμός πολυμορφικών ζωνών	Σύνολο ζωνών που πολ/σισσε ο Εκκινητής
OPB 13	5'-TTCCCCCGCT-3'	2	7
OPC 3	5'-GGGGGTCTTT-3'	1	7
OPC 4	5'-CCGCATCTAC-3'	1	4
OPC 7	5'-GTCCCGACGA-3'	2	6
OPC 10	5'-TGTCTGGGTG-3'	2	4
OPC 12	5'-TGTCATCCCC-3'	1	7
OPC 13	5'-AAGCCTCGTC-3'	2	8
OPC 14	5'-TGCGTGCTTG-3'	3	6
OPC 19	5'-GTTGCCAGCC-3'	1	3
OPC 20	5'-ACTTCGCCAC-3'	2	5
OPD 1	5-ACCGCGAAGG-3'	1	4
OPE 6	5'-AAGACCCCTC-3'	4	7
OPE 13	5-CCCGATTCGG-3'	1	4
OPE 20	5-AACGGTGACC-3'	3	7
OPF 4	5'-GGTGATCAGG-3'	2	6
OPF 7	5'-CCGATATCCC-3'	1	4
OPF 13	5'-GGCTGCAGAA-3'	2	4
OPG 2	5'-GGCACTGAGG-3'	4	4
OPC 1	5'-TTCGAGCCAG-3'	Μονομορφικός	4
OPC 8	5'-TGGACCGGTG-3'	Μονομορφικός	4
OPC 15	5'-GACGGATCAG-3'	Μονομορφικός	3



Σχήμα 2. Δενδρόγραμμα φυλογενετικής ανάλυσης των πέντε παραδοσιακών πληθυσμών φασολιού *P.coccineus* με βάση τον JACCARD-UPGMA αλγόριθμο.($r=0,97$)

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Παρατηρήθηκε σημαντική γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ των εξεταζόμενων πληθυσμών όσον αφορά τα περισσότερα μορφολογικά χαρακτηριστικά. Επίσης παρουσιάστηκε παραλλακτικότητα εντός των πληθυσμών ως προς τα χαρακτηριστικά ταχύτητα ανάπτυξης φυτού, τύπος φύλλου και χρώμα άνθους.

Όσον αφορά την απόδοση και τα συστατικά της βρέθηκε ότι οι πληθυσμοί αποδίδουν λιγότερο σε σχέση με τις περιοχές προέλευσης τους σε ποσοστό 5-8 %.

Βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των εξεταζόμενων πληθυσμών όσον αφορά τον αριθμό των λοβών ανά φυτό, τον αριθμό των σπόρων ανά λοβό και τη συνολική απόδοση.

Η εποχή σποράς επηρέασε σημαντικά την απόδοση και τα συστατικά της ενώ βρέθηκε ότι η όψιμη σπορά εξαιτίας του συγχρονισμού της μέγιστης ανθοφορίας με τις δροσερές νύχτες του Αυγούστου, οδήγησαν σε υψηλότερες αποδόσεις.

Το χρονικό διάστημα μεταξύ σποράς και συγκομιδής δεν ήταν ανάλογο των διαστημάτων που μεσολάβησαν μεταξύ των εποχών σποράς.

Οι μοριακές γενετικές αναλύσεις έδειξαν συγγένεια μεταξύ των πληθυσμών Βυζίτσας και Ζαγοράς, όπως και μεταξύ Πρεσπών και Φλώρινας. Αυτοί οι πληθυσμοί έχουν μεταξύ τους μεγαλύτερη ομοιότητα από ότι με τον πληθυσμό των Γρεβενών.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Acambora A., M. Ciaffi, A.R.Paolacci and O.A.Tanzarella, 2003. Variation in Italian accessions of *Phaseolus coccineus*. *Poster abstract* -5.39.

Adam-Blondon A.F., Sevignac M., and Dron M., 1994. A genetic map of common bean to localize specific resistance genes against anthracnose. *Genome*, 37:915-924.

Adams M.W., 1977. An estimation of homogeneity in crop plants with specific reference to genetic vulnerability in the dry bean *Phaseolus vulgaris* L. *Euphytica* 26: 665–679.

Almeda F. and Chuang T.I., 1992. Chromosome numbers and systematic significance in some Mexican Melastomataceae. *Syst.Bot.* 17: 583-593.

Alvarez M. T; Saez de la Miera and Perez de la Vega, 1998. Genetic variation in common and runner beans of the Northern Meseta in Spain. *Genet. Resour. Crop. Evol*, 45:241-251.

Angelini R.R and A. Allavena, 1989. Plant regeneration from immature cotyledon explant cultures of bean. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult* 19: 167-174.

Avanzi S., Durante M., Cionini P.G. and D'Amato F., 1972. Cytological localization of ribosomal cistrons in polytene chromosomes of *Phaseolus coccineus*. *Chromosoma* 39: 191-203.

Ayonoadu U.W.U., 1974. Nuclear DNA variation in *Phaseolus*. *Chromosoma* 48: 41-49.

Baldi, G and F. Salamini, 1973. Variability of essential amino acid content in seed of 22 *Phaseolus species*. *Theor. Appl. Genet.* 43: 75- 78.

Beattie, D. Aaron, Jamie Larsen, Tom E.Michaels and Peter K. Pauls, 2003. Mapping quantitative trait loci for a common bean (*Phaseolus vulgaris*.) ideotype. *Genome*, 46(3): 411-422.

Beaver J.S. and Kelly J.D., 1994. Comparison of selection methods for dry bean populations derived from crosses between gene pools. *Crop Sci.*, 34:34-37.

Becerra Velasquez, V.L. and P. Gepts, 1994. RFLP diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris*) in its centers of origin. *Genome* 37: 256-263.

Beebe S., Skroch P.W., Tohme J., Duque M.C., Pedraza F. and Nienhuis J., 2000. Structure of Genetic Diversity among Common Bean Landraces of

Middle American Origin Based on Correspondence Analysis of RAPD. *Crop Sci.*, 40:264-273

Beebe S.E., Ochoa I., Skrock P., Nienhuis J. and Tivang J., 1995. Genetic diversity among common bean breeding lines developed for Central America. *Crop Sci.*, 35:1178-1183

Bercraft R.R., and G.A. Taylor, 1992. Genetic variation for anther inducibility in crosses of highly culturable winter wheats. *Plant Breed.* 108: 19-25.

Berglund-Brucher, O., and H. Brucher, 1976. The South American wild bean (*Phaseolus aborigineus* Burk) as ancestor of the common bean. *Econ. Bot.* 30:257-272.

Castagnaro A.P., Poggio L. and Naranjo C.A., 1990. Nuclear content variation in *Phaseolus* (Fabaceae). *Darwiniana* 30: 195-200.

De Lange A. and Labuschagne M., 2000. Multivariate assessment of canning quality, chemical characteristics and yield of small white canning beans (*Phaseolus vulgaris* L) in South Africa. *J. Sci. Food.Agric.* 81:30-35.

Debouck, D.G. Beans. Διατίθεται στο [Http:// www. hort.purdue.edu](http://www.hort.purdue.edu)

→ Debouck, D.G., 1991. Systematics and morphology. *Common beans: research for crop improvement*, p. 55-118. Wallingford, UK, CAB International.

Delgado S.A. and Mercado R.P., 2000. Cytogenetic studies in *Phaseolus*. *Genet. Mol. Biol.* vol. 23 no.4 Sao Paulo Dec.

Delgado S.A., 1985. Systematics of the genus *Phaseolus* in Mexico and Central America. Ph.D. dissertation, University of Texas, Austin.

Faleiro G.Fabio, Wender Santos Vinhadelli, Vilmar Antonio Ragagnin, Ronan Xavier Correa, Maurilio Alves Moreira and Everaldo Goncalves de Barros, 2000. RAPD markers linked to a block of genes conferring rust resistance to the common bean. *Genet. Mol. Biol.* 23 n.2.

Fernandez Caso, M.I. Pelaez and M.L. Ruiz, 1996. Onset of *in vitro* morphogenetic responses and protein pattern changes in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiol.* 149: 757-761.

Ferreira G.S., Joao Bosco dos Santos and Magno Antonio Patto Ramalho, 2003. Identification of SSR and RAPD markers linked to a resistance allele for angular leaf spot in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) line ESAL 550. *Genetics and Molecular Biology*, 26:459-463.

Freyre R., P. Skroch, V. Geffroy, A.F. Adam-Blondon, A.

Shirmohamadali, W. Johnson, V. Llaca, R. Nodari, P. Pereira, S.M. Tsai, J. Tohme, M. Dron, J. Nienhuis, C. Vallejos and P. Gepts, 1998. Towards an integrated linkage map of common bean. 4. Development of a core map and alignment of RFLP maps. *Theor. Appl. Genet.*, 97:847-856.

Freytag G.F., M.G. Basset and M. Zapata, 1982. Registration of XR. 235-1-1 bean germplasm. *Crop Sci.*, 22: 1268.

Gepts J. and de Ron, 1992. Variation in *Phaseolus vulgaris* in the Northwest of the Iberian Peninsula. *Plant Breeding*, 109: 313-319.

Gepts P., Osborn T.C., Rashka K., and Bliss F.A., 1986. Phaseolin protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. *Econ. Bot.*, 40:451-468.

Ghaderi, A., G.L. Hosfield, M.W. Adams, and M.A. Uebersax. 1984. Variability in culinary quality, component interrelationships, and breeding implications in navy and pinto beans. *J. Am. Soc. Hortic. Prod. Res.* 26:177-186.

Green D.M., Bogart J.P. and Anthony E.H., 1980. An interactive, microcomputer-based karyotype analysis system for phylogenetic cytotaxonomy. *Compyt.Biol.Med.* 10: 219-227.

Gu W.K., J.Q. Zhu, D.H. Wallace, S.P. Singh and N.F. Weeden, 1998. Analysis of genes controlling photoperiod sensitivity in common bean using DNA markers. *Euphytica*, 102:125-132.

Henry Y., P. Vain and De Buyser, 1994. Genetic analysis of *in vitro* plant tissue culture responses and regeneration capacities. *Euphytica* 79: 45-48.

Hosfield, G.L.,M.A.Uebersax, and L.G. Occena. 2000. Technological and genetic improvements in dry bean quality and utilization. p. 135-152. In S.P. Singh (ed.) Bean reseach, production and utilization. Proc. Idaho bean workshop. Univ. of Idaho, Moscow, ID.

Johnson C.W., Cristina Menendez, Rubens Nodari, Epimaki M.K. Koinange, Steve Magnusson, Shree P.Singh and Paul Gepts, 1993. Association of a seed weight factor with the phaseolin seed storage protein locus across genotypes, environments, and genomes in *Phaseolus-Vigna* spp. Sax revisited.

Johnson C.William and Paul Gepts, 2002. The Role of epistasis in controlling seed yield and other agronomic traits in an Andean x Mesoamerican

cross of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica*, 125: 69-79.

Jung G., D.P. Coyne, P.W. Skroch, J. Nienhuis, E. Arnaud-Santana, J. Bokosi, H.M. Ariyaratne, J.R. Steadman, J.S. Beaver, and S.M. Kaeppler, 1996. Molecular markers associated with plant architecture and resistance to common blight, web blight, and rust in common beans. *J. Am. Soc. Hort.*, 121:794-803.

Kaplan, L. and Kaplan, L.N., 1988. *Phaseolus* in archaeology. In P. Gepts ed. *Genetic resources of Phaseolus beans*, p. 125-142. Dordrecht. The Netherlands, Kluwer Academic.

Kelly J.D., Adams M.W. and Varner G.V., 1987. Yield stability of determinate and indeterminate dry bean cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 74:516-521

Keyes G.J., G.B. Collins and N.L. Taylor, 1980. Genetic variation in tissue cultures of red clover. *Theor. Appl. Genet.*, 58: 265-271.

Kim G.J. and T. Minakimawa, 1997. Stable delivery of a canavalin promoter- β -glucuronidase gene fusion into French bean by particle bombardment. *Plant Cell Physiol.* 38(1): 70-75.

Koenig, R. and P. Gepts, 1989. Alloenzyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris*: further evidence for two major centers of genetic diversity. *Theor. Appl. Genet.* 78: 809-817.

Koinange E. M.K., S.P. Singh and P. Gepts, 1996. Genetic control of the domestication syndrome in common bean. *Crop Sci.* 36: 1037-1045.

Kolkman J.M. and Kelly J.D., 2000. An indirect test using oxalate to determine physiological resistance to white mold in common bean. *Crop Sci.*, 40:281-285.

Kolkman J.M. and Kelly J.D., 2002. Agronomic Traits Affecting Resistance to White Mold in Common Bean. *Crop Sci.*, 42:693-699.

Lackey, J.A., 1981. *Advances in Legume Systematics*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 301-327.

Linnaeus, C., 1753. *Species Plantarum*. 1st edn. Salvii, Stockholm.

Marechal, R., J.M. Mascherpa, and F. Stainier. 1978. Etude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces des genres *Phaseolus* et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base de données morphologiques et polliniques, traitées par l'analyse informatique. *Boisera* 28:1-273.

Marta Santalla, Brian Power and Michael R.Davey, 1998. Efficient in vitro regeneration responses of *Phaseolus vulgaris* and *Phaseolus coccineus*. *Euphytica*, 102: 195-202.

McClellan, P.E., J.R. Myers, and J.J. Hammond, 1993. Coefficient of parentage and cluster analysis of North American dry bean cultivars. *Crop Sci.* 33:190–197.

Mejia E.G., Guzman-Maldonado S.H., Acosta-Gallegos J.A., Reynoso Camacho R., Ramirez-Rodriguez E., Pons-Hernandez J.L., Gonzalez-Chavira M.M., Castellanos J.Z. and Kelly J.D., 2003. Effect of cultivar and growing location on the trypsin inhibitors, tannin, and lectins of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in the semiarid highlands of Mexico. *J Agric. Food Chem.*, 51: 5962-5966.

Mejia-Jimenez A., Muiioz C., Jacobsen H.C., Roca W.M., Singh S.P., 1994. Interspecific hybridization between common and tepary bean: Increased hybrid embryo growth, fertility, and efficiency of hybridization through recurrent and congruity backcrossing. *Theor. Appl. Genet.*, 88: 324-331.

Mekbib F., 2003. Yield stability in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *Euphytica*, vol.130, 147-153 (7).

Mercado R.P. and Delgado S.A., 1996. Karyological studies in several Mexican species of *Phaseolus* L. and *Vigna* Savi (Phaseolinae, Fabaceae). In: *Advances in Legume Systematics*. Part 8. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 83-87.

Miah A.A.A., E.D. Earle and G.S. Kush, 1985. Inheritance of callus formation ability in anther cultures of rice, *Oryza sativa* L. *Theor. Appl. Genet.*, 70: 113-116.

Miklas P.N., W.C. Johnson; R. Delorme, and P. Gepts. 2001. QTL conditioning physiological resistance and avoidance to white mold in dry bean. *Crop Set*, 41:309-315

Morais Carbonell S.A., de Azevedo Filho A.J., dos Santos Dias L.A., Franco Garcia A.A. and de Morais L.K., 2004. Common bean cultivars and lines interactions with environments. *Scientia Agricola*, 61: no.2.

Mumba, L.E., and N.W. Galwey. 1999. Compatibility between wild and cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes of the Mesoamerican and Andean gene pools: Evidence from the inheritance of quantitative characters. *Euphytica* 108:105–119.

Myers, J. R. 2000. Tomorrow's snap bean cultivars. p.39–51. In Singh,

S.P. (ed.) Bean research, production and utilization. Proc. Idaho bean workshop. Univ. of Idaho, Moscow, ID.

Myers, J.R., and J.R. Baggett. 1999. Improvement of snap bean. p. 289–329. In S.P. Singh (ed.) Common bean improvement in the twenty-first century. Kluwer, Dordrecht, the Netherlands.

Nagl W., S. Ignacimuthu and J. Becker, 1997. Genetic engineering and regeneration of *Phaseolus* and *Vigna*. State of the art and new attempts. *J. Plant Physiol.* 150: 625-644.

Ngatia T.M., Shibairo S.I., Emongor V.E. and Obukosia S.D., 2004. Effect of levels and timing of application of gibberellic acid on growth and yield components of common beans. *African Crop Science Journal*, 12(2):123-131.

Nodari R.O., Tsai S.M., Guzman P., Gilbertson R.L., and Gepts P., 1993. Towards an integrated linkage map of common bean. III. Mapping genetic factors controlling host-bacteria interactions. *Genetics*, 134:341-350.

Novosielski J., W. Podyma and D. Nowosielska, 2002. Molecular research on the genetic diversity of Polish varieties and landraces of *P.coccineus* and *P.vulgaris*. *Cell. Mol. Biology*, vol.7:756-762.

Park S.O., D.P. Coyne, N. Mutlu, G. Jung, and J.R. Steadman, 1999. Confirmation of molecular markers and flower color with QTL for resistance to common bacterial blight in common beans. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 124:519-526.

Salunkhe, D.K., S.S.Kadam and J.K. Chavan, 1985. Postharvest Biotechnology of Food Legumes, Chapter 3, Nutrients in seeds, pp. 29-52, CRC Press, Boca Raton, Florida.

Santalla M., Monteagudo A.B., Gonzalez A.M., De Ron A.M., 2004. Agronomical and quality traits of runner bean germplasm and implications for breeding. *Euphytica*, 135:205-215.

Schneider K.A., Brothers M.E. and Kelly J.D., 1997. Marker assisted selection to improve drought resistance in common bean. *Crop Sci.*, 37:51-60.

Schneider K.A., Rosales-Serna R., Ibarra-Perez F., Cazares-Enriquez B., Acosta-Gallegos J., Ramirez-Vallejo P., Wassimi N. and Kelly J.D., 1997. Improving common bean performance under drought stress. *Crop Sci.*, 37:43-50.

→ Shirliffe J.S. and Johnston M.A., 2002. Yield-density relationships and optimum plant populations in two cultivars of solid-seeded, dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in Saskatchewan. *Can. J. Plant Sci.*, 82: 521-529.

Silbernagel, M.J., and R.M. Hannan. 1992. Use of plant introductions to develop U.S. bean cultivars. p. 1–8. *In* H. Shands and L.E Weisner (ed.) Use of plant introductions in cultivar development. Part 2. CSSA Spec. Publ. 20. CSSA, Madison, WI.

Singh P. Shree, Henry Teran, Carlos German Munoz, and Juan Carlos Takegami, 1999. Two Cycles of Recurrent Selection for Seed Yield in Common Bean. *Crop Sci*, 39:391-397.

Singh P., Shree Francisco J.Morales, Phillip N. Miklas and Henry Teran, 2000. Selection for Bean Golden Mosaic Resistance in Intra- and Interracial Bean Populations. *Crop Sci.*, 40:1565-1572.

Singh S.P., Cardona C, Morales F.J., Pastor-Corrales M.A., Voysest O., 1998. Gamete selection for upright carioca bean with resistance to five diseases and a leafhopper. *Crop Sci.*, 38(3):666-672.

Singh S.P., Nodari and P. Gepts, 1991. Genetic diversity in cultivated bean: 1. Alloenzymes. *Crop Sci*. 31: 19-23.

Singh S.P., Teran H., 1998. Population bulk versus F1-derived family methods of yield testing in early generations of multiple-parent interracial and inter gene pool crosses of common bean. *Can. J. Plant Sci.*, 78:417-421.

Singh S.P., Teran H., Munoz C.G., Osorao J.M., Takegami J.C., Thung M., 2003. Low soil fertility tolerance in landraces and improved common bean genotypes. *Crop Sci.*, 43(1):110-119.

Singh, S.P., and A. Molina. 1996. Inheritance of crippled trifoliolate leaves occurring in interracial crosses of common bean and its relationship with hybrid dwarfism. *J. Hered.* 87:464–469.

Thomas, B., 1973. Evolutionary implications of karyotypic variation in some insular *Peromyscus* from British Columbia, Canada. *Cytologia* 38: 485-495.

Urrea C.A. and S.P. Singh., 1994. Comparison of mass, F2-derived family, and single-seed-descent selection methods in an interracial population of common bean. *Can. J. Plant Sci.* 74:461-464.

Urrea C.A. and S.P. Singh., 1995. Comparison of recurrent and congruity backcrossing for interracial hybridization in common bean. *Euphytica* 81: 21-26.

Urrea C.A., Miklas P.N., Beaver J.S. and Riley R.H., 1996. A codominant randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) marker useful for indirect selection of bean golden mosaic virus resistance in common bean. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 121:1035-1039.

Vallejos C.E., Sakiyama N.S, and Chase C.D. 1992. A molecular marker based linkage map of *Phaseolus vulgaris* L. *Genetics*, 131:733-740.

Vaquero F., C. Robles and M.L. Ruiz, 1993. A method for long-term micropropagation of *Phaseolus coccineus*. *Plant Cell.Rep.*12:395-398.

Verdcourt, B., 1970. Studies in the Leguminosae- Papilionoideae for the flora of tropical East Africa: IV. *Kew Bull.* 24: 507-569.

Voysest, O.,M.C.Valencia, and M.C.Ame' zquita. 1994. Genetic diversity among Latin American Andean and Mesoamerican common bean cultivars *Crop Sci.* 34:1100–1110.

Walters K.J., Hosfield G.L., Uebersax M.A. and Kelly J.D., 1997. Navy bean canning quality: correlations, heritability estimates and randomly amplified polymorphic DNA markers associated with component traits. *J. Amer. Soc. Hort. Set*, 122:338-343.

Wang, C.R.,K.C. Chang, and K. Grafton. 1988. Canning quality evaluation of pinto and navy beans. *J. Food Sci.* 53:772–76.

Welsh W., Bushuk W., Roca W., Singh S.P., 1995. Characterization of agronomic traits and markers of recombinant inbred lines from intra-and interracial populations of *Phaseolus vulgaris* L. *Theor. Appl. Genet.*, 91:167-177

Young R.A. and Kelly J.D., 1996. Characterization of the genetic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean differential cultivars. *Plant Dis.*, 80:650-654.

Young R.A. and Kelly J.D., 1997. RAPD markers linked to three major anthracnose resistance genes in common bean. *Crop Sci.*, 37:940-946.

Yu, Z.H., R.E. Stall, and C.E. Vallejos, 1998. Detection of genes for resistance to common bacterial blight of beans. *Crop Sci.*, 38:1290-1296.

Zaumeyer, W.J. 1972. Dry beans and snap beans. p. 224–244. *In* Genetic vulnerability of major crops. Nat. Acad. of Sci., Washington, DC.

Zeven A.C., Mohamed H.H., J. Waning and Veurick, 1993. Phenotypic variation within a Hungarian landrace of runner bean. *Euphytica*, 68: 155-166.

Http: // [www. hort.purdue.edu](http://www.hort.purdue.edu).

Http: // [www. floridata.com](http://www.floridata.com).

Http: // [www. ibiblio.com](http://www.ibiblio.com).

8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 12. Ανάλυση διακύμανσης φυτρωτικής ικανότητας

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	Τιμή-P	Κριτήριο F
Γραμμές (πληθυσμοί)	0,94	5	0,18	0,58	0,71	3,33
Στήλες (εποχές σποράς)	1,44	2	0,72	2,24	0,15	4,10
Σφάλμα	3,22	10	0,32			
Σύνολο	5,61	17				

Πίνακας 13. Ανάλυση διακύμανσης της έναρξης άνθισης

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P	Κριτήριο F
Γραμμές (πληθυσμοί)	26,4	5	6,6	6	0,015	*
Στήλες (εποχές σποράς)	6,53	2	3,26	2,96	0,108	4,46
Σφάλμα	8,8	10	1,1			
Σύνολο	41,73	14				

$$\text{LSD} = t_{0,05} (2 \text{ MS}/0)^{1/2} = 1,9$$

Πίνακας 14. Ανάλυση διακύμανσης του 50% της άνθισης

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P	Κριτήριο F
Γραμμές (πληθυσμοί)	24,67	5	6,17	4,86	0,03	*
Στήλες (εποχές σποράς)	6,53	2	3,27	2,57	0,14	4,45
Σφάλμα	10,13	10	1,27			
Σύνολο	41,33	14				

$$\text{LSD} = t_{0,05} (2 \text{ MS}/0)^{1/2} = 2,1$$

Πίνακας 15. Ανάλυση διακύμανσης ποσοστού *ωνθόρροιας* για τον Ιούνιο

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P	Κριτήριο F
Γραμμές (πληθυσμοί)	444,44	5	88,89	2,26	0,13	3,32
Στήλες (σπορές)	2273,77	2	1136,89	28,93	6,94E-05	* 4,11
Σφάλμα	392,88	10	39,29			
Σύνολο	3111,11	17				

$$\text{LSD} = t_{0,05} (2 \text{ MS}/0)^{1/2} = 11,38$$

Πίνακας 16. Ανάλυση διακύμανσης ποσοστού *ανθόρροιας* για τον Ιούλιο

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P	Κριτήριο F
Γραμμές (πληθυσμοί)	96	5	19,2	0,55	0,73	3,32
Στήλες (σπορές)	709,33	2	354,67	10,23	0,004	*
Σφάλμα	346,67	10	34,67			
Σύνολο	1152	17				

$$LSD=t_{0,05} (2 MS/0)^{1/2} = 10,7$$

Πίνακας 17. Ανάλυση διακύμανσης ποσοστού *ανθόρροιας* για τον Αύγουστο

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P	Κριτήριο F
Γραμμές (πληθυσμοί)	857,78	5	171,56	1,24	0,35	3,32
Στήλες (σπορές)	369,78	2	184,89	1,34	0,31	4,11
Σφάλμα	1379,56	10	137,96			
Σύνολο	2607,11	17				

Πίνακας 18. Ανάλυση διακύμανσης ποσοστού *ανθόρροιας* για την 1^η σπορά

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P	Κριτήριο F
Γραμμές (πληθυσμοί)	373,33	5	74,67	1,07	0,43	3,33
Στήλες (μήνες)	18928	2	9464	135,46	5,71E-08	4,11*
Σφάλμα	698,67	10	69,87			
Σύνολο	20000	17				

$$LSD=t_{0,05} (2 MS/0)^{1/2} = 15,2$$

Πίνακας 19. Ανάλυση διακύμανσης ποσοστού *ανθόρροιας* για την 2^η σπορά

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P	Κριτήριο F
Γραμμές (πληθυσμοί)	412,44	5	82,48	1,58	0,25	3,33
Στήλες (μήνες)	19575,11	2	9787,56	187,90	1,16E-08	4,10*
Σφάλμα	520,89	10	52,08			
Σύνολο	20508,44	17				

$$LSD=t_{0,05} (2 MS/0)^{1/2} = 13,3$$

Πίνακας 20. Ανάλυση διακύμανσης ποσοστού *ανθόρροιας* για την 3^η σπορά

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P	Κριτήριο F
Γραμμές (πληθυσμοί)	751,11	5	150,22	1,97	0,17	3,33
Στήλες (μήνες)	15388,44	2	7694,22	101,12	2,32E-07	4,11
Σφάλμα	760,89	10	76,08			
Σύνολο	16900,44	17				

LSD= $t_{0,05} (2 MS/0)^{1/2} = 15,87$ **Πίνακας 21.** Ανάλυση διακύμανσης χρώματος φύλλων

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P
Πληθυσμοί	189,92	5	47,48	11,3	,000
Εποχές	1269,87	2	634,94	151,16	,000
Πληθυσμοί *	186,17	10	23,27	5,54	,000
Εποχές	882,10	252	4,2		
Σφάλμα	882,10	252	4,2		
Σύνολο	365871,79	270			

LSD= 8,77

Πίνακας 22. Ανάλυση διακύμανσης μικτής απόδοσης

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P
Πληθυσμοί	392855,24	5	98213,81	6,54	,000
Εποχές	114426,65	2	57213,33	3,81	,024
Πληθυσμοί *	357723,6	10	44715,45	2,98	,004
Εποχές	3155958,84	252	15028,38		
Σφάλμα	3155958,84	252	15028,38		
Σύνολο	9157770,88	270			

LSD= 384,6

Πίνακας 23. Ανάλυση διακύμανσης καθαρής απόδοσης

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P
Πληθυσμοί	232411,77	5	58102,94	6,97	,000
Εποχές	67568,18	2	33784,09	4,05	,019
Πληθυσμοί *	179650,92	10	22456,36	2,69	,008
Εποχές	1750777,44	252	8337,04		
Σφάλμα	1750777,44	252	8337,04		
Σύνολο	4781364,08	270			

LSD= 272.6

Πίνακας 24. Ανάλυση διακύμανσης λοβών ανά φυτό

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P
Πληθυσμοί	970,160	5	485,080	4,211	,019
Εποχές	1147,120	2	286,780	2,489	,053
Πληθυσμοί *	3401,040	10	425,130	3,690	,001
Εποχές					
Σφάλμα	6912,000	60	115,200		
Σύνολο	65817,000	75			

LSD= 37.5

Πίνακας 25. Ανάλυση διακύμανσης σπόρων ανά λοβό

Πηγή διακύμανσης	ΑΤ	Βαθμοί ελευθερίας	ΜΤ	F	τιμή-P
Πληθυσμοί	,443	5	,222	,633	,534
Εποχές	5,157	2	1,289	3,680	,010
Πληθυσμοί *	13,162	10	1,645	4,697	,000
Εποχές					
Σφάλμα	21,016	60	,350		
Σύνολο	299,620	75			

LSD= 2.33

Πίνακας 26. Ποσοστό ταχύτητας ανάπτυξης φυτών 1^{ης} σποράς

	Μικρή ανάπτυξης	ταχύτητα	Μεσαία ανάπτυξης	ταχύτητα	Μεγάλη ταχύτητα ανάπτυξης
ΓΡΕΒΕΝΑ 4		60 %		40 %	0 %
ΠΡΕΣΠΩΝ		40 %		53,33 %	6,67 %
ΠΟΛΩΝΙΑ		20 %		53,33 %	26,67 %
ΒΥΖΙΤΣΑ		40 %		40 %	20 %
ΖΑΓΟΡΑ		46,67 %		40 %	6,67 %
ΓΡΕΒΕΝΑ		60 %		26,67 %	13,33 %

Πίνακας 27. Ποσοστό ταχύτητας ανάπτυξης φυτών 2^{ης} σποράς

	Μικρή ταχύτητα ανάπτυξης	Μεσαία ταχύτητα ανάπτυξης	Μεγάλη ταχύτητα ανάπτυξης
ΓΡΕΒΕΝΑ 4	40 %	46,67 %	13,33 %
ΠΡΕΣΠΩΝ	13,33 %	73,33 %	13,33 %
ΠΟΛΩΝΙΑ	33,33 %	46,67 %	20 %
ΒΥΖΙΤΣΑ	20 %	60 %	20 %
ΖΑΓΟΡΑ	26,67 %	53,33 %	21,33 %
ΓΡΕΒΕΝΑ	40 %	46,67 %	13,33 %

Πίνακας 28. Ποσοστό ταχύτητας ανάπτυξης φυτών 3^{ης} σποράς

	Μικρή ανάπτυξης	ταχύτητα	Μεσαία ανάπτυξης	ταχύτητα	Μεγάλη ταχύτητα ανάπτυξης
ΓΡΕΒΕΝΑ 4		6,67 %		60 %	20 %
ΠΡΕΣΠΩΝ		26,67 %		46,67 %	20 %
ΠΟΛΩΝΙΑ		13,33 %		46,67 %	33,33 %
ΒΥΖΙΤΣΑ		13,33 %		60 %	26,67 %
ΖΑΓΟΡΑ		33,33 %		66,67 %	0 %
ΓΡΕΒΕΝΑ		46,67 %		33,33 %	20 %

Πίνακας 29. Ποσοστό φυτών κάθε πληθυσμού με λευκά και κόκκινα άνθη

	Ποσοστό φυτών με λευκά άνθη	Ποσοστό φυτών με κόκκινα άνθη
ΓΡΕΒΕΝΑ 4	100 %	0 %
ΠΡΕΣΠΩΝ	86,67 %	13,33 %
ΠΟΛΩΝΙΑ	100 %	0 %
ΒΥΖΙΤΣΑ	86,67 %	13,33 %
ΖΑΓΟΡΑ	93,33 %	6,66 %
ΓΡΕΒΕΝΑ	100 %	0 %

Πίνακας 30. Ημέρες από κάθε σπορά που παρατηρήθηκε η έναρξη της άνθισης

	1η σπορά (26/4)	2η σπορά (10/5)	3η σπορά (23/5)
ΓΡΕΒΕΝΑ 4	36	34	35
ΠΡΕΣΠΩΝ	37	34	34
ΠΟΛΩΝΙΑ	36	36	33
ΒΥΖΙΤΣΑ	35	35	36
ΖΑΓΟΡΑ	38	37	36
ΓΡΕΒΕΝΑ	39	38	38

Πίνακας 31. Ημέρες από κάθε σπορά που παρατηρήθηκε το 50% της άνθισης

	1η σπορά (26/4)	2η σπορά (10/5)	3η σπορά (23/5)
ΓΡΕΒΕΝΑ 4	44	41	43
ΠΡΕΣΠΩΝ	45	42	41
ΠΟΛΩΝΙΑ	43	43	40
ΒΥΖΙΤΣΑ	42	42	43
ΖΑΓΟΡΑ	45	44	44
ΓΡΕΒΕΝΑ	46	45	45



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000085721