



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
& ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
181  
11-7-07

ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ



## ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Αξιολόγηση ποικιλιών τομάτας με μοριακή γενετική ανάλυση  
και μελέτη των φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους

Αθανασούλη Βασιλική

Βόλος 2007



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

Αριθ. Εισ.: 5945/1

Ημερ. Εισ.: 12-10-2007

Δωρεά: Συγγραφέα

Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ - ΦΠΑΠ

2007

ΑΘΑ

*« Αξιολόγηση ποικιλιών τομάτας με μοριακή γενετική ανάλυση και μελέτη των φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους»*

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

**Μαυρομάτης Αθανάσιος**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**1. Μαυρομάτης Αθανάσιος** *Λέκτορας*

*Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών  
Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος*

**2. Βέλλιος Ευάγγελος** *Λέκτορας*

*Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας  
Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος*

**3. Χα Ιμπραχίμ – Αβραάμ** *Επίκουρος καθηγητής*

*Εργαστήριο Κηπευτικών Καλλιεργειών  
Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος*

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον επιβλέποντα της πτυχιακής διατριβής μου κ. Αθανάσιο Μαυρομάτη, Λέκτορα Γενετικής Βελτίωσης Φυτών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την υπόδειξη του θέματος, καθώς και για την καθοδήγηση, την υποστήριξη και την εμπιστοσύνη του από την αρχή αυτής της συνεργασίας.

Την εκτίμηση μου και τις ευχαριστίες μου θα ήθελα να εκφράσω στον κ. Ευάγγελο Βέλλιο, Λέκτορα Φυτοπαθολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την καθοδήγηση, τις διορθώσεις και παρατηρήσεις του επί της εργασίας μου και για τις χρήσιμες υποδείξεις του.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Ι.Α. Χα, Επίκουρο Καθηγητή Κηπευτικών Καλλιεργειών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τη συμμετοχή του στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή και τη διόρθωση αυτής της πτυχιακής διατριβής.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον Διδακτορικό Γεωπόνο κ. Α. Κορκόβελο για τις πολύτιμες οδηγίες και για την βοήθεια του χωρίς την οποία δε θα ολοκληρωνόταν η συγκεκριμένη πτυχιακή διατριβή καθώς και την ψυχολογική υποστήριξη του .

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω επίσης στη οικογένεια μου για την πολύτιμη ηθική υποστήριξη και όχι μόνο που μου προσέφεραν σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου έτσι ώστε να περαιωθούν με τον καλύτερο δυνατό τρόπο.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους φίλους μου και συγκεκριμένα τις φίλες μου Αλεξάνδρα, Αλίνα, Βάσω, Μαρία, Σταυρούλα, για τη συμπαράστασή τους και τις ατελείωτες ώρες που με ανέχτηκαν κατά τη διάρκεια διεξαγωγής αυτής της ερευνητικής εργασίας.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>8</b>
1.1 Καλλιέργεια τομάτας .....	9
1.1.1 Γενικά .....	9
1.1.2 Καταγωγή – Ιστορικό .....	10
1.1.3 Βοτανική ταξινόμηση ( <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.) .....	12
1.1.4 Βοτανικά χαρακτηριστικά και περιγραφή του φυτού .....	12
1.2 Γενετική βελτίωση τομάτας.....	17
1.2.1 Το γονιδίωμα της τομάτας .....	17
1.2.2 Πηγές γενετικής παραλλακτικότητας.....	18
1.2.3 Υβρίδια τομάτας .....	19
1.2.3 Ανθεκτικότητα .....	20
1.3 Μοριακή γενετική ανάλυση στη τομάτα.....	24
1.3.1 Γενικά .....	24
1.3.2 Επιλογή με βοήθεια Μοριακών Δεικτών (Marker Assisted Selection, MAS).....	25
1.3.3 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης PCR (Polymerase Chain Reaction) .....	28
1.3.5 RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA).....	35
1.3.5.1 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της τεχνικής RAPDs .....	38
1.4 Ποιοτικά και Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της τομάτας.....	40
1.4.1 Ποιοτικά χαρακτηριστικά .....	40
1.4.1.1 Γεύση και άρωμα .....	40
1.4.1.2 Θρεπτική αξία .....	41
1.4.1.3 Χρώμα .....	43
1.4.1.4 Βιταμίνη C.....	44
1.4.1.5 Υφή - Σκληρότητα – Συνεκτικότητα της σάρκας .....	45
1.4.1.6 PH – Οξύτητα .....	46
1.4.3 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά .....	47
1.5 Εχθροί και ασθένειες.....	50
1.6 Το ωίδιο της τομάτας ( <i>Leveillula taurica</i> ) .....	51
1.6.1 Εισαγωγή.....	51
1.6.2 Ονοματολογία και ταξινόμηση.....	52
1.6.3 Καταγωγή .....	53
1.6.4 Συμπτώματα.....	53
1.6.5 Προσδιορισμός της ασθένειας.....	55

1.6.6 Ο κύκλος της ασθένειας .....	56
1.6.7 Ανθεκτικότητα στο μύκητα .....	57
1.6.7 Έλεγχος της ασθένειας .....	58
1.7 Σκοπός της εργασίας .....	<b>60</b>
<b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>61</b>
2.1 Φυτικό υλικό.....	<b>62</b>
2.2 Καλλιέργεια φυτών τομάτας.....	<b>63</b>
2.2.1 Πειραματικό σχέδιο .....	63
2.2.2 Προετοιμασία και καλλιεργητικές φροντίδες πειραματικού τεμαχίου.	64
2.3 Συγκομιδή .....	<b>65</b>
2.4 Αύξηση – ανάπτυξη φυτών.....	<b>66</b>
2.5 Καταγραφή μορφολογικών γνωρισμάτων με βάση την κατάταξη κατά UPOV .....	<b>66</b>
2.5.1 Μέγεθος φύλλων (10) .....	67
2.5.2 Αριθμός και τύπος ταξιανθίας, χρώμα άνθους και ζώνη αποκοπής (3,16,19,20) .....	67
2.5.4 Μορφολογικά χαρακτηριστικά καρπών .....	67
2.5.4.1 Μέγεθος καρπών(22) .....	67
2.5.4.2 Η αναλογία μήκος καρπού / διάμετρο καρπού (23).....	68
2.5.4.3 Το σχήμα καρπού(24).....	68
2.5.4.4 Μέγεθος του πυρήνα – πάχος περικάρπιου(31,32).....	69
2.5.4.5 Αριθμός κωρών της ωθήκης.....	69
2.5.4.6 Παρουσία ή μη και ένταση του ‘πράσινου ώμου’(34,35) .....	69
2.5.4.7 Χρώμα καρπού και σάρκας (38,39).....	69
2.6 Οργανοληπτική εξέταση.....	<b>70</b>
2.7 Ποιοτικά χαρακτηριστικά.....	<b>72</b>
2.7.1 Προσδιορισμός της βιταμίνης C.....	72
2.7.2 ΡΗ - Οξύτητα.....	74
2.7.3 Μέτρηση σκληρότητας – συνεκτικότητας καρπού.....	75
2.7.4 Διαλυτά στερεά συστατικά καρπών.....	76
2.8 Μοριακή ανάλυση γενότυπων τομάτας με χρήση δεικτών τύπου RAPDs77	
2.8.1 Προετοιμασία δειγμάτων - Τεχνική απομόνωσης DNA.....	77
2.8.2 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός του DNA.....	78
2.8.3 Ανάλυση με χρήση εκκινητών τύπου RAPD’s.....	78
2.9 Μέτρηση έντασης προσβολής από το ωίδιο της τομάτας.....	<b>80</b>

2.10 Στατιστική ανάλυση.....	81
<b>3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>83</b>
3.1 Απόδοση.....	84
3.2 Ύψος φυτών .....	89
3.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά κατά UPOV.....	90
3.3.1 Τύπος ταξιανθίας, χρώμα άνθους και ζώνη αποκοπής .....	90
3.3.2 Σχήμα καρπών .....	91
3.3.3 Αναλογία και έκταση 'Πρασίνου Ώμου'.....	92
3.3.4 Χρώμα ώριμων καρπών και σάρκας.....	92
3.3.5 Αριθμός κοιλοτήτων .....	93
3.3.6 Διάμετρος πυρήνα και πάχος περικαρπίου .....	94
3.3.7 Μήκος και πλάτος καρπών.....	95
3.4 Ποιοτικά χαρακτηριστικά καρπών.....	97
3.4.1 PH .....	97
3.4.2 Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) .....	98
3.4.3 Διαλυτά στερεά(%).....	99
3.4.4 Αντίσταση της σάρκας στην πίεση - σκληρότητα .....	99
3.4.5 Οξύτητα.....	100
3.4.6 Συντήρηση καρπών εντός και εκτός ψυγείου .....	101
3.5 Οργανοληπτικοί παράμετροι .....	103
3.5.1 Αποτελέσματα οργανοληπτικής δοκιμής .....	103
3.5.2 Cluster Analysis.....	105
3.5.3. Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (Principal Components Analysis- PCA) .....	109
3.6 Μοριακή ανάλυση ποικιλιών τομάτας με τη χρήση δεικτών τύπου RAPD's. .....	114
3.6.1 Ποσοτικός προσδιορισμός DNA .....	114
3.6.2 Ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου RAPD's .....	114
3.7 Ανθεκτικότητα ποικιλιών στο μύκητα <i>Leveillula taurica</i> .....	120
<b>4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>124</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</b>	<b>126</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>132</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αξιοποίηση των παραδοσιακών ποικιλιών αυτούσια ή και ως δότες γονιδίων αποκτά ιδιαίτερη αξία με δεδομένες τις αλλαγές τόσο στην καλλιέργεια της τομάτας όσο και στις απαιτήσεις των καταναλωτών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν επτά γενότυποι επιτραπέζιας τομάτας, μεταξύ των οποίων τέσσερις παραδοσιακές (Λωτός, Πήλιο, Ομηρικό, Παναγίτσα) και τρεις εμπορικές ποικιλίες (ACE, Μακεδονία και Belladona). Η μελέτη αφορούσε την καταγραφή των μορφολογικών γνωρισμάτων των ποικιλιών, τη γενετική ταυτοποίησή τους με την ανάπτυξη του DNA profile και τον έλεγχο των οργανοληπτικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των παραδοσιακών σε σχέση τις εμπορικές ποικιλίες, καθώς και την ανθεκτικότητά τους στην ασθένεια ωίδιο που προκαλείται από το μύκητα *Leveillula taurica*.

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε υπαίθρια καλλιέργεια στο Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, κατά την καλλιεργητική περίοδο 2005-06. Η σπορά έγινε σε γλαστράκια που περιείχαν εδαφικό υπόστρωμα Primo-Subsaat, ενώ η μεταφύτευση των φυτών στο χωράφι γινόταν κατά το στάδιο των έξι ψύλλων. Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν πλήρεις τυχαιοποιημένες ομάδες (RCBD) με τρεις επαναλήψεις και δέκα φυτά ανά επανάληψη. Οι μετρήσεις που έγιναν, αφορούσαν τα συστατικά της απόδοσης και της ποιότητας των καρπών. Συνολικά καταγράφηκαν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φυτών με βάση τη κατάταξη κατά UPOV από το στάδιο του φυταρίου μέχρι το στάδιο της ωρίμανσης των φυτών (τύπος ανάπτυξης, τύπος της ταξιανθίας, αριθμός και χαρακτηριστικά των ανθέων, τύπος του φύλλου και ύψος φυτών), τα χαρακτηριστικά των καρπών (μέγεθος, αναλογία μήκους/διαμέτρου, σχήμα, μέγεθος του πυρήνα, πάχος περικαρπίου, αριθμός χώρων ωοθήκης, περιοχή πράσινου ώμου, χρώμα καρπού, χρώμα σάρκας, συνεκτικότητα) και η απόδοση. Συγκεκριμένα, η απόδοση εξετάστηκε σε σχέση με την πρωιμότητα και την ομοιομορφία της παραγωγής. Γι' αυτό τον λόγο, έγιναν επτά συγκομιδές και καταγράφηκε η απόδοση ανά φυτό και φάση συγκομιδής. Εκτιμήθηκε η συνολική απόδοση ανά φυτό και γενότυπο ενώ παράλληλα



χαρακτηρίστηκε η ποιότητα των καρπών με βάση τα οργανοληπτικά τους και τα φυσικοχημικά (περιεκτικότητα σε βιταμίνη C, οξύτητα, pH χυμού, διαλυτά στερεά) χαρακτηριστικά. Η αποτύπωση των γενοτύπων και η ανάπτυξη του μοριακού τους DNA προτύπου, έγινε με τη χρήση 10 δεκαμερών εκκινητών τύπου RAPD'S οι οποίοι αποδείχθηκαν ικανοί να διαχωρίσουν τις εξεταζόμενες ποικιλίες με σημαντική ακρίβεια αλλά χαμηλή επαναληψιμότητα και μικρό πολυμορφισμό. Επίσης, εκτιμήθηκε η ένταση της ασθένειας, ωίδιο της τομάτας, ως ποσοστό της επιφάνειας των φύλλων που φέρουν εμφανή συμπτώματα της ασθένειας και έγινε διαχωρισμός τους όσον αφορά το ποσοστό προσβολής. Μετά από στατιστική επεξεργασία των δεδομένων, βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε αρκετά από τα χαρακτηριστικά που εξετάστηκαν καθώς και διαφοροποιήσεις στην απόδοση τόσο μεταξύ των ποικιλιών όσο και μεταξύ των σταδίων συγκομιδής. Επιπλέον βρέθηκαν ενδιαφέροντα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στις παραδοσιακές ποικιλίες τομάτας που εξετάστηκαν και υψηλή αποδοχή (π.χ. γενότυπος 'Όμηρικό') ενώ εντοπίστηκαν γενετικά γνωρίσματα που μπορούν άμεσα να αξιοποιηθούν στη βελτίωση των ποικιλιών.

## **1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

## 1.1 Καλλιέργεια τομάτας

### 1.1.1 Γενικά

Η τομάτα είναι κατά κανόνα ετήσιο λαχανικό, αρκετά διαδεδομένο και πολύ δημοφιλές. Καλλιεργείται σχεδόν σε όλα τα μήκη και πλάτη του κόσμου. Σύμφωνα με τις στατιστικές της F.A.O. η παγκόσμια κατ'ηπίρους έκταση καλλιέργειας και παραγωγή δίνεται στον πίνακα 1. Στην Ευρώπη, την Ασία και την Αμερική καλλιεργείται το μεγαλύτερο ποσοστό.

Εξάπλωση και παραγωγή τομάτας κατά ηπίρους, σε παγκόσμια κλίμακα, στην Ε.Ε. και στην Ελλάδα.

Ήπειρος	Έκταση <sup>(1)</sup> (X 1.000 στρ.)	Παραγωγή <sup>(1)</sup> (X 1.000 τον.)	Ποσοστό % συνόλου παραγωγής
Αφρική	3.820	5.380	9,98
B.&K.Αμερική	3.320	10.502	19,48
N. Αμερική	1.330	3.179	5,90
Ασία	7.480	12.966	24,13
Ευρώπη	4.630	14.269	26,47
Ωκεανία	110	266	0,50
Ε.Σ.Σ.Δ.	4.100	7.300	13,54
<b>Παγκόσμια</b>	<b>24.790</b>	<b>53.862</b>	<b>100.0</b>

Χώρες Ε.Ε.	2.671	8.233	15,27
Ελλάδα	440	1.918	3,55

(1) Περιλαμβάνει την έκταση και παραγωγή τόσο της υπαίθριας καλλιέργειας (νωπή και βιομηχανική) όσο και την καλλιέργεια υπό κάλυψη.

Στατιστικά στοιχεία που αναφέρονται στην έκταση και παραγωγή καλλιέργειας της τομάτας στην Ελλάδα, παρουσιάζονται στον πίνακα 2. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συνολική έκταση που καλλιεργείται με τομάτες έρχεται δεύτερη μετά την πατάτα, ότι ένα μεγάλο μέρος της έκτασης (62,5%) καλλιεργείται με τομάτες που προορίζονται για μεταποίηση, ότι το 34,3% είναι υπαίθρια καλλιέργεια για νωπή κατανάλωση και ότι το 3,2% της έκτασης είναι καλλιέργεια σε θερμοκήπια και σκέπαστρα.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των θερμοκηπίων που καλλιεργούνται με τομάτα βρίσκεται στην Κρήτη (43,3%), δεύτερη έρχεται η Πελοπόννησος και Δ. Στερεά (23,3%) και τρίτη η Κ. & Δ. Μακεδονία (15,85%).

Τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει και στη χώρα μας, σε μικρή έκταση, η καλλιέργεια της τομάτας σε αδρανή υποστρώματα ή NFT.



**Εικόνα 1.** Καλλιέργεια τομάτας σε θερμοκήπιο

**Πίνακας 2.** Στοιχεία έκτασης και μέσης απόδοσης κατά στρέμμα καλλιέργειας τομάτας θερμοκηπίου κατά γεωγραφικό διαμέρισμα.

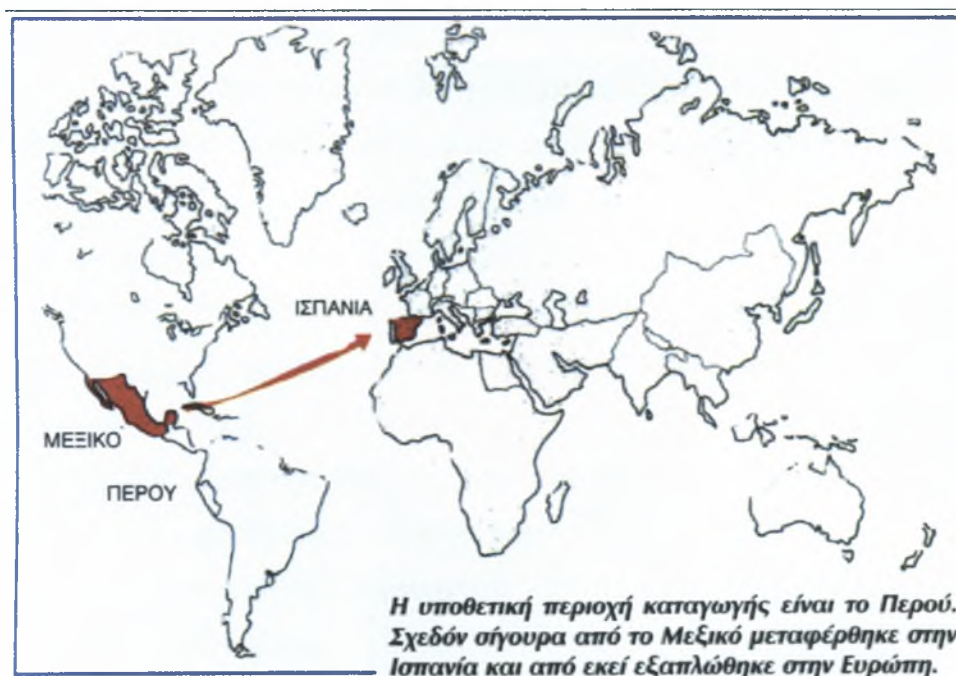
Γεωγραφικό διαμέρισμα	Καλλιεργ. Έκταση %	Παραγωγή (τόνοι)	Αποδόσεις (κιλά / στρ.)
Αν.Μακεδονία-Θράκη	3,52	3.454	7,0
Δ. – Κ. Μακεδονία	15,85	18.395	8,3
Ήπειρος	8,7	10.516	8,7
Θεσσαλία	2,36	2.431	7,4
Πελοπόννησος-Δ.Στερεά	23,23	33.443	10,4
Αττική – Νήσοι	3,00	3.354	8,0
Κρήτη	43,30	53.100	8,8
<b>Σύνολο χώρας</b>	<b>100,0</b>	<b>124.693</b>	<b>9,0</b>

Σχεδόν ολόκληρη η ποσότητα τομάτας που παράγεται στα θερμοκήπια καταναλίσκεται στην εσωτερική αγορά και μόνο πολύ μικρή ποσότητα, λιγότερο από 1%, εξάγεται στο εξωτερικό.

### 1.1.2 Καταγωγή – Ιστορικό

Ως κέντρο προέλευσης της τομάτας θεωρείται η Νότια Αμερική, συγκεκριμένα τα υψίπεδα των Άνδεων δηλαδή οι χώρες της Χιλής,

Κολομβίας, Περού και Εκουαδόρ, όπου σύμφωνα με τον N. I. Vavilov (1926) οκτώ άγρια είδη του γένους της τομάτας συνεχίζουν ακόμη να φύονται εκεί. Επιπλέον, κάποια άγρια συγγενικά είδη της καλλιεργούμενης τομάτας αποτελούν μέρος της κλωρίδας των νησιών Γκαλαπάγκος. (Taylor, 1986). Παρ' όλα αυτά, με τις πληροφορίες που έδωσε ο Jenkins (1948), γίνεται δεκτό ότι καταγωγή της καλλιεργούμενης τομάτας είναι το Μεξικό και μάλιστα η περιοχή Vera Cruz – Puebla (Ολύμπιος, 2001). Αυτό ακριβώς υποστηρίζει και ο Sauer J.D. (1993) συμφωνά με τον οποίο, όταν καθιερώθηκαν τα γεωργικά τεμάχια στο Μεξικό, σπόροι άγριων ειδών τομάτας μεταφέρθηκαν μέσω του ανέμου ή των πτηνών και διασκορπίστηκαν σε αυτά. Έτσι από τα άγρια αυτά είδη τομάτας οι Μεξικανοί παρήγαγαν τις εξημερωμένες ποικιλίες που καλλιεργούνται σήμερα.



**Εικόνα 2.** Κέντρο καταγωγής του είδους *Lycopersicon esculentum*

Από το Μεξικό μεταφέρθηκε στην Ισπανία τον 16ο αιώνα μέσω των Ισπανών εξερευνητών και από εκεί σ' όλη τη ζώνη της Μεσογείου και σ' όλες τις χώρες της Ευρώπης, όπου το περιβάλλον επέτρεπε την καλλιέργεια της. Πολλοί πίστευαν ότι ήταν κάποια ποικιλία της μελιτζάνας και την καλλιεργούσαν περισσότερο από περιέργεια ή σαν

καλλωπιστικό φυτό αφού οι καρποί της θεωρούνταν τοξικοί (Ανώνυμος, 2000).

Στην Ελλάδα αυτό ξεπεράστηκε γρήγορα, αλλά χρειάστηκε να περάσει αρκετός χρόνος έως ότου το προϊόν προσλάβει καλλιεργητική και οικονομική σημασία. Σύμφωνα με τον Ολύμπιο (2001), η εισαγωγή της τομάτας έγινε αρχικά στην Αθήνα περίπου το 1818. Αργότερα, το προϊόν πέρασε από τη νωπή κατανάλωση στη διατήρηση (μπελτέδες) και πολύ πιο αργά, μόλις τον περασμένο αιώνα, ξεκίνησε η μεταποίηση και η κονσερβοποίηση του, η οποία έμελλε να καθιερώσει το προϊόν ως απαραίτητο συμπλήρωμα σχεδόν όλων των γευμάτων (Ανώνυμος, 2000).

### **1.1.3 Βοτανική ταξινόμηση (*Lycopersicum esculentum* Mill.)**

Η τομάτα (*Lycopersicum esculentum* Mill.) ανήκει στην οικογένεια Solanaceae, στην οποία περιλαμβάνονται φυτά ετήσια, διετή ή πολυετή, θαμνώδη ή δενδρώδη, ορθόκλαδα ή αναρριχώμενα (Βαρδαβάκης, 1993). Σύμφωνα με τον D' Arcy (1979) στην οικογένεια αυτή ανήκουν περίπου 90 γένη και 2000 είδη, κάποια από αυτά παρουσιάζουν αγρονομικό ενδιαφέρον (πατάτα, καπνός, πιπεριά, μελιτζάνα), καθώς και διάφορα είδη που χρησιμοποιούνται ως διακοσμητικά (*Capsicum*) ή για τις φαρμακευτικές τους ικανότητες (*Atropa belladonna* L., *Datura stramonium* L., *Hyoscyamus niger* L.)

**Άθροισμα:** Magnoliophyta (Angiospermae) Αγγειόσπερμα

**Κλάση:** Magnoliopsida (Δικότυλα)

**Τάξη:** Solanales ( Σωληνανθή)

**Οικογένεια:** Solanaceae

**Είδος:** *Lycopersicon esculentum* Mill. ή *Lycopersicon lycopersicum* L.

### **1.1.4 Βοτανικά χαρακτηριστικά και περιγραφή του φυτού**

Η τομάτα είναι πολυετές φυτό, όταν αναπτύσσεται σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές, όπου η θερμοκρασία του αέρα δεν μειώνεται κάτω από τους 5 – 6 °C. Σε όλες όμως τις περιοχές της γης, η τομάτα

καλλιεργείται ως ετήσιο φυτό, γιατί στις μεν εύκρατες περιοχές το φυτό δεν αντέχει στις χαμηλές θερμοκρασίες των ψυχρών εποχών, ενώ στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές η παραγωγικότητα των πολυετών καλλιεργειών τομάτας είναι ασύμφορη για εμπορική εκμετάλλευση λόγω εκτεταμένων προσβολών από ασθένειες (Ντόγρας, 2001).

Είναι ποώδες, έχει στέλεχος διακλαδιζόμενο και το ύψος του κυμαίνεται από 0,50 μ. στους νάνους ή αυτοκλάδευτους τύπους ως 1,50 μ. και πλέον αναλόγως της ποικιλίας (Δημητράκης, 1998).

### **Ριζικό σύστημα**

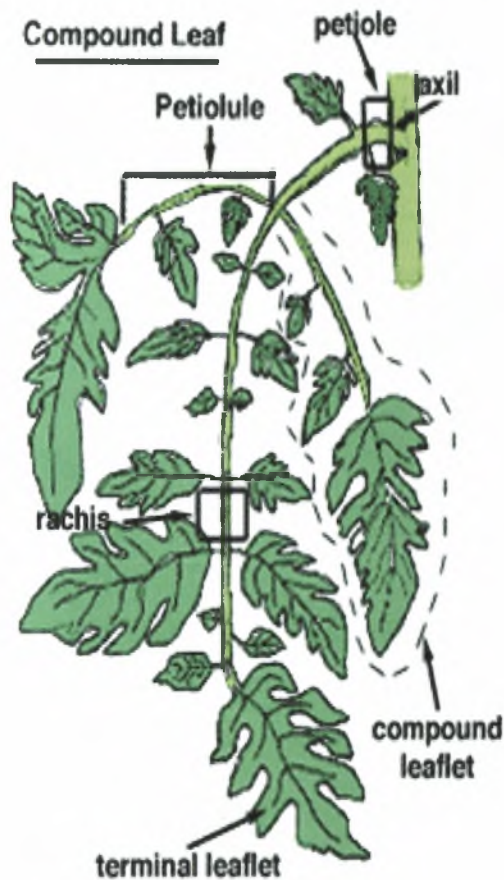
Το φυτό της τομάτας αναπτύσσει ευδιάκριτη κεντρική ρίζα, αρκετές δευτερεύουσες και ριζικά τριχίδια όταν ο σπόρος φυτεύεται απ' ευθείας στη μόνιμη θέση. Επειδή όμως, κατά κανόνα τουλάχιστο, στην καλλιέργεια στο θερμοκήπιο η τομάτα μεταφυτεύεται μία ή περισσότερες φορές, η κεντρική ρίζα κόβεται, καταστρέφεται και το φυτό αρχίζει να παράγει με ευκολία πολλές δευτερεύουσες πλευρικές ρίζες ακόμη και από το λαιμό του φυτού, γεγονός που θεωρείται πλεονέκτημα, γιατί διευκολύνει τη μεταφύτευση του φυτού ακόμη και με γυμνή ρίζα (Ολύμπιος, 2001). Η ρίζα μπορεί να φτάσει γρήγορα το βάθος των 60εκ. επιμηκυνόμενη κατά 2-3 εκ. ημερησίως. Των μεταφυτευμένων φυτών η ρίζα αναπτύσσεται περισσότερο πλαγίως και λιγότερο κατακορύφως (Δημητράκης, 1998).

### **Βλαστός**

Ο κεντρικός βλαστός φέρει τα πραγματικά φύλλα, στις μασχάλες των οποίων υπάρχουν οφθαλμοί που δίνουν πλευρικούς βλαστούς. Πολλές φορές, οι πλευρικοί βλαστοί που βρίσκονται κοντά στην κορυφή του φυτού είναι τόσο ζωηροί, που με δυσκολία μπορεί κανείς να ξεχωρίσει ποιος είναι ο κεντρικός βλαστός και ποιος είναι ο πλευρικός. Είναι σημαντικό κατά το κλάδεμα να μπορεί να ξεχωρίσει ο κλαδευτής τον κεντρικό από τον πλευρικό βλαστό. Το σχήμα του βλαστού είναι κυλινδρικό και εσωτερικά είναι πλήρης. Ο βλαστός στο πρώτο στάδιο της ανάπτυξης του είναι τρυφερός, εύθραυστος, χυμώδης και μαλακός,

αργότερα όμως γίνεται σταδιακά πιο σκληρός, αποκτά μηχανική αντοχή χωρίς να ξυλοποιείται, και είναι σχετικά εύθραυστος. Η ανάπτυξη του βλαστού όσον αφορά το μήκος, καθορίζεται από γενετικούς παράγοντες και έτσι διακρίνονται ποικιλίες με συνεχή ανάπτυξη βλαστών (indeterminate) ή με καθορισμένο μήκος (determinate) (Ολύμπιος, 2001).

### Φύλλα



Τα πραγματικά φύλλα της τομάτας είναι σύνθετα και εμφανίζονται πάνω στο βλαστό σε ελικοειδή διάταξη. Κάθε φύλλο αποτελείται από ζεύγη φυλλαρίων και παράφυλλων, με ένα μονό φυλλάριο στην άκρη. Ο αριθμός των ζευγών φυλλαρίων σε κάθε φύλλο ποικίλλει με την ποικιλία και από τη θέση του φύλλου επί του βλαστού. Είναι δυνατόν να συναντηθούν ποικιλίες με 3, 4 ή 5 ζεύγη φυλλαρίων. Η επάνω επιφάνεια των φύλλων έχει χρώμα λαμπερό βαθύ πράσινο και η κάτω ελαιώδες ανοικτό πράσινο (Ολύμπιος, 2001).

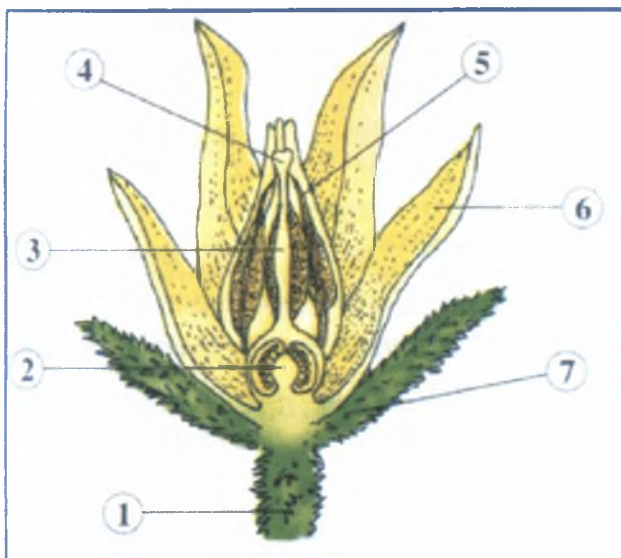
**Εικόνα 3.** Το φύλλο της τομάτας

Στην επιφάνεια τους όπως και στους βλαστούς υπάρχουν αδενώδεις τρίχες, οι οποίες όταν θραυτούν αναδίδουν τη χαρακτηριστική οσμή του φυτού. Το μέγεθος των φύλλων συνήθως καθορίζει τις αποστάσεις φύτευσης των φυτών στο θερμοκήπιο (Ντόγρας, 2001).



## Άνθη – Ταξιανθίες

Τα άνθη, είναι κίτρινου χρώματος, σχηματίζουν στεφάνη από 5 πέταλα συνήθως (που μπορεί να φθάσουν και τα 6 ή περισσότερα) τα οποία ενώνονται στη βάση. Στο εσωτερικό της στεφάνης βρίσκεται το αρσενικό τμήμα του άνθους, που αποτελείται από τους ανθήρες, οι οποίοι σχηματίζουν ένα κωνικό άξονα. Στο κέντρο του άξονα βρίσκεται το θηλυκό τμήμα (ωοθήκη, στύλος, στίγμα).



Άνθος τομάτας σε τομή.

1. Ποδίσκος.
2. Ωοθήκη.
3. Στύλος
4. Στίγμα.
5. Ανθήρας.
6. Πέταλα (Στεφάνη).
7. Σέπαλα (Κάλυκας).

**Εικόνα 4.** Ανατομία του άνθους της τομάτας

Τα άνθη δεν είναι μονήρη, αλλά διατεταγμένα σε ομάδες, δηλαδή σε ταξιανθίες. Αυτά εκφύονται από τα μεσογονάτια διαστήματα του κορμού και σχηματίζονται σταδιακά, παράλληλα με την ανάπτυξη του φυτού. Ο αριθμός των ανθέων που συνιστούν κάθε ταξιανθία ποικίλλει αρκετά και κυμαίνεται από 6-7 (στις μεγαλόκαρπες) μέχρι 12 (τοματάκι – κερασόμορφες). Η άνθηση πολλές φορές δεν εκδηλώνεται ταυτόχρονα ούτε στα πλαίσια της ίδιας ταξιανθίας, αλλά επιτελείται σταδιακά. Η επικονίαση πραγματοποιείται με την επαφή της γύρης και του στίγματος του ίδιου άνθους (αυτογονιμοποιούμενο φυτό).

## Καρπός

Ο καρπός έχει σχήμα και μέγεθος, διαφορετικό, ανάλογα με την ποικιλία και το υβρίδιο. Ο καρπός είναι ράγα (πολύχωρη) και είναι σχεδόν πάντα κόκκινος όταν ολοκληρώσει την ωρίμανση. Υπάρχουν

ωστόσο ποικιλίες με πορτοκαλί ή κίτρινο χρώμα, ακόμα και λευκές. Οι χρωστικές που χαρακτηρίζουν την τομάτα είναι οι λυκοπίνες για τους κόκκινους καρπούς και οι β-καροτίνες για τους κίτρινους (Ντόγρας, 2001). Ο καρπός περιβάλλεται από το φλοιό (περικάρπιο), στο εσωτερικό της φλούδας βρίσκεται η σάρκα (μεσοκάρπιο), η οποία αντιπροσωπεύει και το μεγαλύτερο τμήμα του καρπού και είναι χυμώδης. Μέσα στη σάρκα υπάρχουν κοιλότητες (χώροι) όπου βρίσκονται οι σπόροι οι οποίοι είναι πολλοί μικροί (3-5 mm), ωοειδείς, κιτρινωπή με μεταξώδη επιφάνεια λόγω τριχοειδών αποφύσεων.

Ο καρπός της τομάτας είναι κλιμακτηρικός, έτσι η ωρίμανση πραγματοποιείται με την αύξηση τόσο της αναπνοής όσο και της παραγωγής αιθυλενίου. Το αιθυλένιο παίζει ένα σημαντικό ρολό τόσο στην έναρξη πρώιμων βιοχημικών γεγονότων της ωρίμανσης όσο και στην ολοκλήρωση των επόμενων αλλαγών (Madhavi and Salunkhe, 1998).

## 1.2 Γενετική βελτίωση τομάτας

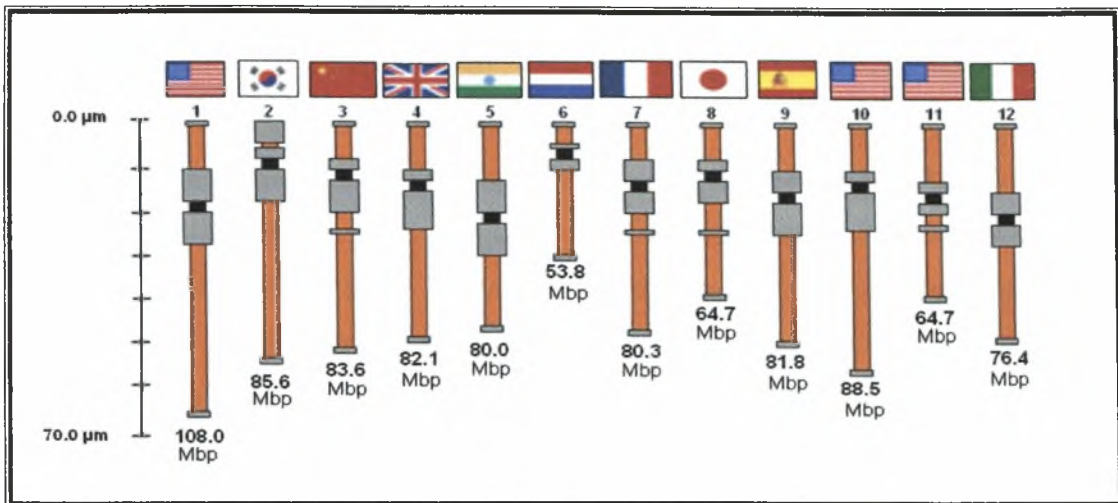
Η γενετική της βελτίωση έχει φτάσει σήμερα σε πολύ προχωρημένο στάδιο και σύμφωνα με τον Scott (1999) άρχισε πολύ παλιά (στο πανεπιστήμιο της Φλόριντα ξεκίνησε το 1922) ενώ ο αριθμός των ποικιλιών και των υβριδίων που κυκλοφορούν στο εμπόριο συνεχώς αυξάνεται. Τα τελευταία 50 χρόνια η γενετική βελτίωση έχει αλλάξει ουσιαστικά τα χαρακτηριστικά τόσο του καρπού όσο και του φυτού. Οι ποικιλίες που καλλιεργούνται σήμερα έχουν ένα μεγάλο εύρος χαρακτηριστικών: είναι ανθεκτικές σε πολλές από τις ασθένειες που προσβάλλουν την τομάτα, είναι ειδικά προσαρμοσμένες σε διαφορετικά περιβάλλοντα ανάπτυξης όπως σε υψηλές θερμοκρασίες κ.ά. Ακόμα έχει χρησιμοποιηθεί η γενετική μηχανική ώστε να δημιουργηθούν καρποί με μεγάλη διάρκεια ζωής στο ράφι.

### 1.2.1 Το γονιδίωμα της τομάτας

Όλα τα είδη του γένους *Lycopersicon* έχουν τον ίδιο αριθμό χρωμοσωμάτων ( $2n = 2x = 24$ ) ενώ πολύ σπάνια έχουν αναφερθεί περιπτώσεις αυτοπολυπλοειδίας. Το είδος *Lycopersicon esculentum* και οι στενοί συγγενείς του, είναι γενικά αυτογονιμοποιούμενα είδη. Όπως αναφέρει ο Rick (1950), σταυρογονιμοποιούνται στις περιοχές που αυτοφύονται και σε μερικές άλλες υποτροπικές περιοχές, αλλά σε άλλα μέρη αυτογονιμοποιούνται πλήρως (Ολύμπιος, 2001).

Το γονιδίωμα της τομάτας (950 Mb, ~250 Mb περιοχές ευχρωματινής) είναι ένα από τα μικρότερα διπλοειδή γονιδιώματα μεταξύ των ειδών της οικογένειας Solanaceae, για τα οποία οι ομοζύγωτες καθαρές σειρές είναι διαθέσιμες. Η λεπτομερή μοριακή γνώση θα επιτρέψει την σύγκριση των γονιωμάτων μεταξύ των ειδών Solanaceae και την βελτίωση των επιθυμητών γνωρισμάτων με τη βοήθεια των μοριακών στρατηγικών αναπαραγωγής. Εξαιτίας της υψηλής συντήρησης του γενετικού υλικού (DNA) της τομάτας στο χρόνο, το γένωμα της μπορεί να αποτελέσει πρότυπο και στα υπόλοιπα καλλιεργούμενα είδη που ανήκουν στην οικογένεια Solanaceae. Οι περισσότερες γονιδιακές

θέσεις που βρίσκονται σε περιοχές ευχρωματίνης έχουν αλληλουχηθεί.  
(http:1)



The karyotype of tomato chromosomes at pachytene. The blocks of grey represent condensed heterochromatin, the orange blocks represent euchromatin and the black blocks represent centromere.

Το γονιδίωμα της τομάτας στο επίπεδο DNA αποτελείται από περίπου 78% ενιαίες ακολουθίες αντιγραφής, όπως αξιολογείται κάτω από τους υψηλούς όρους υβριδοποίησης (Zamir and Tanksley, 1988). Σε άλλα είδη φυτών με μεγάλο μέγεθος γονιδιώματος, όπως ο σίτος ή το μπιζέλι, το ενιαίο μέρος αντιγραφής είναι λιγότερο από 20%, και στο κριθάρι και τη σίκαλη, είναι λιγότερο από 50%. Το υπόλοιπο μέρος των ακολουθιών είναι επαναλαμβανόμενο DNA του οποίου τέσσερις σημαντικές κατηγορίες έχουν χαρακτηριστεί. Το ριβοσωματικό DNA αντιπροσωπεύει την αφθονότερη επαναλαμβανόμενη οικογένεια DNA και περιλαμβάνει περίπου 3% του γονιδιώματος της τομάτας (Vallejos et al., 1986; Lapitan et al., 1991).

### 1.2.2 Πηγές γενετικής παραλλακτικότητας

Το γένος *Lycopersicon*, όπως αναφέρθηκε, περιλαμβάνει την καλλιεργούμενη τομάτα (*L. esculentum* Mill.) μαζί με τους άγριους συγγενείς της. Τα άγρια συγγενή είδη αποτελούν έναν πλούτο γενετικής παραλλακτικότητας για πολλά επιθυμητά χαρακτηριστικά, όπως ανθεκτικότητα, σε ασθένειες, σε ξηρασία και τέλος ανθεκτικότητα σε

άλατα (Chen et al., 1999). Λιγότερο από το 10% της συνολικής γενετικής ποικιλομορφίας του γένους *Lycopersicon* βρίσκεται στο *L. esculentum* (Miller and Tanksley, 1990). Το κέντρο της γενετικής ποικιλομορφίας για την τομάτα βρίσκεται στη δυτική Νότια Αμερική, και το *L. esculentum var. cerasiforme* θεωρείται ως πλέον πιθανός πρόγονος των καλλιεργημένων τοματών. Οι καρυότυποι των ειδών *Lycopersicon* είναι πολύ παρόμοιοι με ελάχιστη ή καμία δομική διαφορά μεταξύ των ειδών (Barton, 1950). Το είδος *L. pimpinellifolium* έχει δώσει πολλά και ενδιαφέροντα γονίδια ανθεκτικότητας στην τομάτα. Το ίδιο έχει συμβεί και με άλλα συγγενή είδη, όπως τα *L. peruvianum*, *L. glandulosum*, *L. chilense*, *L. hirsutum*, *L. esculentum var. cerasiforme* και *L. pennelli*.

Η κλασική γενετική έχει δημιουργήσει ένα από τα μεγαλύτερα αποθέματα των μορφολογικών μεταλλαγών που προκαλούνται από την ακτινοβολία (ακτίνες X, UV- light, νετρόνια) και της χημικής μεταλλαξογένεσης. Ένας σημαντικός συνεισφέρων στο πεδίο της μεταλλαξογένεσης ήταν ο Hans Stubbe που προκάλεσε πάνω από 300 μεταλλάξεις στο *L.esculentum* και 200 στο *L.pimpinellifolium*. Ένα ιδιαίτερα ενδιαφέρον παράδειγμα της προκληθείσας μεταλλαξογένεσης ήταν ο κατευθυνόμενος χειρισμός του μεγέθους των καρπών του *L.esculentum* και του *L.pimpinellifolium*. (Stubbe, 1971). Ένα ιδιαίτερο ποσοστό αυτών των μεταλλαγών έχει χαρτογραφηθεί επάνω στον κλασικό γενετικό χάρτη.

### **1.2.3 Υβρίδια τομάτας**

Τα τελευταία χρόνια έχουν δημιουργηθεί και καλλιεργούνται πολυάριθμα υβρίδια τομάτας, τα οποία τείνουν να καταργήσουν τις ποικιλίες που μόλις πριν λίγα χρόνια είχαν θεωρηθεί και ήταν εξαιρετικές. Γιατί πράγματι, αυτά είναι πολύ πιο ενδιαφέροντα συγκρινόμενα με τις ποικιλίες εκείνες. Τα υβρίδια τα οποία αναφέρθηκαν λίγο πιο πάνω χαρακτηρίζονται σχεδόν όλα από την αντοχή τους στις πιο σοβαρές ασθένειες της τομάτας (ιώσεις, αδρομυκώσεις) και δίνουν καρπό εξαιρετικής ποιότητας, που αντέχει στη διατήρηση μετά τη συγκομιδή πολύ καλύτερα από ότι οι γνωστές

ποικιλίες, είναι δε επίσης πολύ πιο παραγωγικά(Συμιλλίδης, 1998)..

Η δημιουργία ενός υβριδίου (F<sub>1</sub>) επιτυγχάνεται με τη διασταύρωση καθαρών ποικιλιών, οι επιθυμητοί χαρακτήρες των οποίων επιδιώκεται να συγκεντρωθούν μ' αυτόν τον τρόπο στο προϊόν του υβριδισμού. Πηγές για την απόκτηση χαρακτήρων (γονιδίων) αντοχής κυρίως σε μερικές ασθένειες είναι κάποια είδη του γένους *Lycopersicum* (*peruvianum*, *hirsutum*, *pimpinellifolium*) (Συμιλλίδης, 1998).

Ως προς την τεχνική της διασταύρωσης, αυτή συνίσταται στην αφαίρεση των στημόνων του μητρικού άνθους με κατάλληλη λαβίδα πριν από το άνοιγμα της σεφάνης (δηλαδή προτού να γίνει αυτεπικονίαση) και στην τεχνητή επικονίαση με την τοποθέτηση γύρης ανθέων του επιθυμητού φυτού-πατέρα επί του στίγματος του ευνουχισμένου άνθους. Για την αποφυγή μεταφοράς επί του άνθους άλλης γύρης, αυτό καλύπτεται με χάρτινο σακίδιο, το οποίο αφαιρείται μόνο μετά το σχηματισμό του καρπού.

Οι σπόροι που λαμβάνονται ύστερα από τέτοιες διασταυρώσεις, σπέρνονται και τα παραγόμενα φυτά αξιολογούνται δοκιμαζόμενα τα επόμενα έτη σε σύγκριση με γνωστές ποικιλίες ή υβρίδια (Δημητράκης, 1998).

Μερικά από τα υβρίδια που έχουν εισαχθεί και καλλιεργούνται στην Ελλάδα είναι τα ακόλουθα: ANGELA F1, DOMBITO F1, CARMELO F1 (GC 204), DOMBO F1, JOLLY F1, CARUSO F1, CONCRETO F1, FANTASTIC F1, VISION F1 (Ολύμπιος, 2001).

### **1.2.3 Ανθεκτικότητα**

Η παραγωγή ανθεκτικών ποικιλιών αποτελεί τον πιο σημαντικό στόχο των Βελτιωτών. Γονίδια ανθεκτικότητας μπορεί να βρίσκονται σε καλλιεργούμενες ποικιλίες, καθарές σειρές ή υβρίδια, καθώς και σε άλλα είδη του γένους *Lycopersicon* ή του γένους *Solanum*. Για την αντιμετώπιση των παρασίτων υπάρχουν γονίδια ανεκτικότητας ή μη-προτίμησης, που συμβάλουν σημαντικά στην λύση του προβλήματος.

Η Βελτίωση για ανθεκτικότητα στα διάφορα παθογόνα γίνεται συνήθως με διειδικό υβριδισμό και μεταφορά γονιδίων ανθεκτικότητας

από άλλα αυτοφυή είδη του γένους *Lycopersicon*. Οι διειδικές διασταυρώσεις, όπως έχει αναφερθεί, δεν είναι εύκολη διαδικασία. Η διασταύρωση π.χ. *L. esculentum* x *L. hirsutum*, είναι δυνατό να γίνει με επιτυχία αν επικονιαστούν μη ευνουχισμένα άνθη δύο μέρες πριν την άνθηση. Είναι δυνατό να βοηθηθεί επίσης η διασταύρωση με εφαρμογή κάποιας αυξητικής ορμόνης (π.χ. ινδολοβουτυρικό οξύ) .

**Πίνακας 1.** Γονίδια ανθεκτικότητας σε ασθένειες, αναγνώριση και χαρτογράφηση με μοριακούς δείκτες

Ξενιστής	Παθογόνο	Γονίδιο	Τύπος μοριακού δείκτη <sup>a</sup>	Απόσταση γονιδίου - δείκτη <sup>b</sup>
τομάτα	<i>Meloidogyne incognita</i>	Mi	RAPD	0
	" "	Mi3	RAPD, RFLP	0
	<i>Leveiula taurica</i>	Iv	RFLP, RAPD	5.5
	<i>Oidium lycopersicon</i>	O11	RAPD, RFLP	-
	<i>Verticilium dahliae</i>	Ve	RAPD	0
	Yellow leaf curl virus	Ty1	RFLP	4
πατάτα	<i>Globotera rostochiensis</i>	HI	RFLP	0
	<i>Phytophthora infestans</i>	R1 @ R3	RFLP	4@2
μαρούλι	<i>Bremia laetucae</i>	Dm 17 @ 18	RAPD, SCAR	4@6@0,6@3
	<i>Plasmopara laetucae-radicis</i>	plr	RAPD, RFLP	2,3
	TuΓnip mosaic virus	Tu	RAPD, RFLP	0,4@0,7
σόγια	Soybean mosaic virus	Rsv	RFLP	0,5@35,9
φασόλι	<i>Uromyces appendiculatus</i>	Up2	RAPD	0
	Common bean mosaic virus	I	RAPD	1 έως 5
αρακάς	Pea seed-borne mosaic virus	sbm-1	RFLD, RAPD	8
	Pea common mosaic virus	mo	RFLP	15
	<i>Erysiphe polygoni</i>	er	RAPD	11
	<i>Fusarium oxysporum</i>	Fw	RAPD	6
καλαμπόκι	<i>Bipolaris maydis</i>	rhm	RFLP	0,5@1
κριθάρι	<i>Rhynchosporium secalis</i>	Rh	RAPD	7
	<i>Erysiphe graminis</i> f. sp. hordei MI(La)		RFLP	1,8
	Barley yellow mosaic virus	ym4	RFLP	1@1
βρώμη	<i>Puccinia graminis</i>	Pg3	RAPD	0
	<i>Puccinia coronata</i>	Pc68	RAPD	5
σιτάρι	<i>Heteroderta avenae</i>	Cre	RFLP	6@8
	<i>Puccinia recondita</i>	Ir9	RAPD	0

α: RFLP = Restriction Fragment Length Polymorphism, RAPD = Random Amplified Polymorphic DNA, SCAR = Sequence Characterized Amplified Region.

β. Αποστάσεις σε centimorgan του γονιδίου από τον πλησιέστερο δείκτη.

Σήμερα, κάθε πρόγραμμα βελτίωσης περιλαμβάνει στους στόχους του τη δημιουργία φυτών τα οποία είναι ανθεκτικά ή τουλάχιστον όχι πολύ ευπαθή στις πιο σημαντικές ασθένειες. Συχνά ο βελτιωτής επιδιώκει να

ενσωματώσει στις ποικιλίες ανθεκτικότητα υψηλού βαθμού τέτοια που να αγγίζει τα όρια της ανοσίας, αυτό όμως απαιτεί την εφαρμογή ειδικών προγραμμάτων βελτίωσης.

Ανεξάρτητα πάντως από τον επιδιωκόμενο βαθμό ανθεκτικότητας, ολοένα και περισσότερες ποικιλίες και υβρίδια δημιουργούνται με γενετική ανθεκτικότητα σε σημαντικές ασθένειες, που είναι η πιο φτηνή και πιο αποτελεσματική μέθοδος φυτοπροστασίας. Σήμερα για παράδειγμα υπολογίζεται ότι στις ΗΠΑ περισσότερο από το 80% της συνολικής γεωργικής έκτασης καλλιεργείται με ποικιλίες ή υβρίδια που έχουν ανθεκτικότητα σε μία ή περισσότερες ασθένειες.

Βασικοί λόγοι που επιβάλλουν σήμερα περισσότερο από ποτέ την καλλιέργεια ανθεκτικών ποικιλιών και υβριδίων είναι οι εξής:

- α. **Η μείωση του κόστους φυτοπροστασίας** με χημικά μέσα (δαπάνες για φυτοφάρμακα, ψεκαστικά μηχανήματα, εργατικά κ.λπ.).
  - β. **Η μείωση των κινδύνων** για όσους έρχονται σε επαφή με τα φυτοφάρμακα στην εφαρμογή της καταπολέμησης.
  - γ. **Η αποφυγή υπολλειμμάτων φυτοφαρμάκων** στα γεωργικά και κτηνοτροφικά προϊόντα.
  - δ. **Οικολογικοί λόγοι** (ρύπανση περιβάλλοντος κ.λπ.).
- (Φανουράκης, 1999)

Βασική προϋπόθεση σε όλα τα προγράμματα ανθεκτικότητας είναι να υπάρχει διαθέσιμη πηγή γενετικής ανθεκτικότητας. Αυτό αποτελεί και τον πρώτο στόχο του Βελτιωτή, να αναζητήσει δηλαδή ανθεκτικότητα από διάφορες πηγές για τη συγκεκριμένη ασθένεια.

Τέτοιες πηγές ανθεκτικότητας είναι κατά σειρά σπουδαιότητας οι εξής:

1. Γενετικό υλικό από **Προγράμματα άλλων ερευνητών**. Είναι η καλύτερη πηγή. Το γενετικό υλικό έχει συνήθως μελετηθεί, έχει προσδιορισμένα χαρακτηριστικά και υπάρχουν ήδη αρκετές πληροφορίες ως προς το επίπεδο της ανθεκτικότητας και τον τρόπο κληρονομικότητάς της.



2. **Καλλιεργούμενες ποικιλίες**, υβρίδια κ.λπ. του είδους. Επίσης καλή πηγή ανθεκτικότητας. Υπάρχουν άφθονες ποικιλίες, υβρίδια ή πληθυσμοί φυτών στην αγορά για κάθε καλλιέργεια και είναι πολύ πιθανόν να έχει κάποια από αυτές τη ζητούμενη ανθεκτικότητα. Η πηγή αυτή έχει ακόμη και τα εξής δύο βασικά πλεονεκτήματα.
  - Δεν έχει προβλήματα από ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά.
  - Δεν έχει προβλήματα γονιμότητας κατά τις διασταυρώσεις.
3. **Άγρια φυτά του ίδιου είδους**. Η πηγή αυτή είναι αρκετά σημαντική όταν δεν μπορεί κανείς να βρει γονίδια ανθεκτικότητας στις δύο προηγούμενες πηγές, παρουσιάζει όμως πολλά προβλήματα. Στην προσπάθεια να μεταφερθούν γονίδια ανθεκτικότητας από τα άγρια φυτά στις καλλιεργούμενες ποικιλίες μεταφέρονται συχνά και μερικά ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά που είναι συνδεδεμένα με την ανθεκτικότητα.
4. **Στενά συγγενικά είδη ή γένη**. Χρησιμοποιούνται σε μερικές περιπτώσεις με καλά αποτελέσματα για ανθεκτικότητα που κληρονομείται με απλό τρόπο (με 1 ή ελάχιστα γονίδια). Συχνά όμως παρουσιάζονται προβλήματα επειδή δεν πετυχαίνουν οι διασταυρώσεις ή επειδή τα φυτά που παράγονται από τη διασταύρωση είναι στείρα.
5. **Τεχνητές μεταλλαγές**. Η τελευταία πηγή στην οποία καταφεύγει ο Βελτιωτής αν δεν έχει άλλη δυνατότητα, διότι το κόστος της μεθόδους είναι μεγάλο σε σχέση με την αποτελεσματικότητά της που συχνά είναι αβέβαιη(Φανουράκης, 1999).

## 1.3 Μοριακή γενετική ανάλυση στη τομάτα

### 1.3.1 Γενικά

Στις διάφορες ποικιλίες φυτών μπορεί κανείς να διακρίνει διαφορές μεταξύ άλλων και σε μορφολογικά χαρακτηριστικά, η εκδήλωση των οποίων δεν επηρεάζεται από το περιβάλλον (ποιοτικά χαρακτηριστικά). Η μελέτη των χαρακτηριστικών αυτών γίνεται με μοριακή ανάλυση του γονιδιώματος (DNA) των φυτών που εμφανίζουν τα χαρακτηριστικά αυτά. Το βιοτεχνολογικό εργαλείο που συνδέεται με την ανάλυση του DNA καλείται μοριακή ανάλυση δεικτών.

Μια από τις εφαρμογές της ανάλυσης του DNA είναι η διάκριση διαφορών μεταξύ συγγενικών φυτών. Οι μοριακοί δείκτες είναι τμήματα DNA χωρίς άμεση επίδραση στο φαινότυπο, που παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ των προς μελέτη ατόμων, η ανάδειξη των οποίων χρησιμοποιείται για την μελέτη της κληρονομικότητας χαρακτηριστικών και της ποικιλομορφίας μεταξύ των ατόμων πληθυσμών (Fanourakis et al., 2004). Επιπρόσθετα, δεν επηρεάζονται από το περιβάλλον αλλά ούτε από το αναπτυξιακό στάδιο που βρίσκονται τα άτομα που μελετώνται. Θεωρητικά, για τη μελέτη της κληρονομικότητας, του πολυμορφισμού μεταξύ των ατόμων και την κατασκευή γενετικών χαρτών ενός πληθυσμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν μοριακοί δείκτες νουκλεϊνικής φύσεως που να καλύπτουν ολόκληρο το γονιδίωμα σε προβλεπόμενες ή μη γενετικές αποστάσεις (Χαιζόπουλος, 2002).

Πρόσφατα, οι μοριακοί δείκτες έχουν επιτρέψει στους γενετιστές και τους βελτιωτές να επινοήσουν στρατηγικές για την ταχύτερη χαρτογράφηση των γονιδιωμάτων των φυτών (Staub et al., 1996, Stam et. al., 1993). Εντούτοις, η αποτύπωση του DNA είναι ένα ιδανικό εργαλείο, για τη βελτίωση φυτών όπως της οικογένειας Solanaceae, για τον καθορισμό των γενοτυπικών αποστάσεων καθώς και της ταυτοποίησης ποικιλιών γιατί ποσοτικοποιεί τις γενετικές διαφορές (πολυμορφισμοί) μεταξύ γενοτύπων απλά, χωρίς τα πολύπλοκα γενεολογικά αρχεία, χωρίς να επηρεάζεται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος ή από επίσταση και πλειοτροπισμούς.

Οι πρώτοι μοριακοί δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms) (Botstein et al., 1980), οι οποίοι αποτέλεσαν την απαρχή για την μετέπειτα εξέλιξη της μοριακής βελτίωσης φυτών. Μετά την εισαγωγή της PCR ως πολύτιμο εργαλείο στην έρευνα που χρησιμοποιήθηκε στην ανάπτυξη μεθόδων μοριακής βελτίωσης, αναπτύχθηκαν άλλοι τύποι δεικτών όπως οι RAPDs (Randomly Amplified Polymorphic DNA) (Williams et al., 1990). Τη δεκαετία του 1990 αναπτύχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν οι δεύτερης γενιάς μοριακοί δείκτες, που συμπεριλαμβάνουν τους SSRs (Simple Sequence Repeats) (Hearne et al., 1992), AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms) (Vos et al., 1995) και μία ποικιλία τροποποιημένων τύπων τους. Στα τέλη της δεκαετίας του 1990 αναπτύχθηκαν και η τρίτης γενιάς μοριακοί δείκτες IFLPs (Intron Fragment Length Polymorphisms) και οι SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) (Landegren et al., 1988). Τις δύο τελευταίες δεκαετίες μία πολύ μεγάλη γκάμα μοριακών δεικτών έχει γίνει διαθέσιμη.

### **1.3.2 Επιλογή με βοήθεια Μοριακών Δεικτών (Marker Assisted Selection, MAS)**

Υπάρχει μεγάλο εύρος μεθόδων και προσεγγίσεων για τον καθορισμό και την αποκρυπτογράφηση των αλληλουχιών του DNA. Ο βαθμός επιτυχίας της κάθε μεθόδου βασίζεται στο επίπεδο της τεχνολογίας που χρησιμοποιείται για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων και σε αυτό ακριβώς βασίζεται η αξιοπιστία της από τον ερευνητή που τη χρησιμοποιεί.

Όλες οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται βασίζονται στην εύρεση και αναγνώριση **πολυμορφικών τόπων**. Οι πολυμορφικοί τόποι είναι περιοχές ή σημεία στη γενετική δομή που μπορεί να διαφέρουν από άτομο σε άτομο. Αυτή η παραλλακτικότητα οφείλεται κυρίως σε διαφορές που υπάρχουν στον αριθμό των επαναλήψεων των νουκλεοτιδίων, μέσα στην ίδια τοποθεσία. Ωστόσο, ενώ ο πολυμορφισμός μπορεί να σχετίζεται με αυτό, ο τόπος ή το γονίδιο μπορεί να μεταβάλλονται μεταξύ φυλών ή μεταξύ ατόμων (π.χ ετεροζύγωτα και ομοζύγωτα). Για την αναγνώριση

τέτοιων τόπων χρησιμοποιούνται κυρίως μέθοδοι που περιλαμβάνουν τη χρήση μοριακών δεικτών. Οι μοριακοί δείκτες, όπως όλοι οι γενετικοί δείκτες, στην ουσία αποτελούν μέρος της διακριτικής ικανότητας, σε επίπεδο DNA, του γενετικού υλικού δυο ή περισσότερων ατόμων του ίδιου πληθυσμού. Άλλοι γενετικοί δείκτες είναι οι φαινοτυπικοί ή βιοχημικοί. Οι πρώτοι αναφέρονται στα μορφολογικά χαρακτηριστικά και μπορούν να εκτιμηθούν οπτικά, αλλά όμως επηρεάζονται από το περιβάλλον. Οι βιοχημικοί δείκτες βασίζονται στους πολυμορφισμούς των ισοενζύμων (Χαιζόπουλος 2001).

Οι μοριακοί δείκτες που είναι γενετικά χαρτογραφημένοι είναι χρήσιμοι για τη μελέτη της κληρονομικότητας γενετικών χαρακτηριστικών και της ποικιλομορφίας μεταξύ των ατόμων πληθυσμών και ως σύγχρονα εργαλεία χρησιμοποιούνται και στο χρωμοσωμικό βάδισμα για απομόνωση γονιδίων. Οι γενετικοί χάρτες είναι μια συλλογή στατιστικών εκτιμήσεων πολλών δεδομένων από την κατανομή των δεικτών σε πολλούς γονιδιακούς τόπους. Οι γενετικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται είναι λειτουργικά γονίδια, τα οποία επηρεάζουν το φαινότυπο ενώ οι μοριακοί δείκτες είναι τυχαία επιλεγμένα τμήματα του DNA χωρίς άμεση επίδραση στο φαινότυπο και δεν επηρεάζονται από το περιβάλλον μια και αξιοποιούν τον πολυμορφισμό που παρουσιάζεται στην αλληλουχία των βάσεων του DNA, χωρίς αναγκαία επίπτωση στα προϊόντα που τυχόν κωδικοποιούν. Επιπλέον, δεν εξαρτώνται από το αναπτυξιακό στάδιο του οργανισμού και δύνανται να καλύψουν ολόκληρο το γονιδίωμα σε προβλεπόμενες γενετικές αποστάσεις (Χαιζόπουλος 2001).

Αν θεωρηθεί ότι κάθε ένας μοριακός δείκτης αντιπροσωπεύει ένα σημείο από το γενετικό υπόβαθρο κάθε ατόμου, τότε η εκτίμηση όλων των αποτελεσμάτων που προέρχονται από την ανάλυση 2 σημείων, 3 σημείων ή  $n$  σημείων διαμορφώνει μια σύνδεση των σημείων. Αλληλόμορφα των μοριακών δεικτών του ίδιου χρωμοσώματος τείνουν να κληρονομούνται μαζί επιτρέποντας την ομαδοποίησή τους σε ομάδες σύνδεσης. Η σειρά των μοριακών δεικτών πάνω στο χρωμόσωμα και η γενετική απόστασή τους, που βασίζεται στο ποσοστό ανασυνδυασμού

μεταξύ τους, εξαρτάται από το μέγεθος και τον τύπο του πληθυσμού που χρησιμοποιείται καθώς και από το γενετικό υπόβαθρο του οργανισμού. Η προσθήκη νέων δεικτών μπορεί να αλλάξει κάποιο προϋπάρχοντα γενετικό χάρτη. Οι μοριακοί δείκτες χρησιμοποιούνται επίσης για τη δημιουργία δένδρων συγγένειας ή εξέλιξης διαφόρων ποικιλιών ή οικοτύπων (Χατζόπουλος 2001).

Οι μοριακοί δείκτες πρέπει να συγκεντρώνουν τα περισσότερα από τα παρακάτω γνωρίσματα (Hu et al., 1995, Χατζόπουλος, 2001), ώστε να παρουσιάζουν τη μέγιστη χρησιμότητα:

- ♥ Παρουσία πολυμορφισμού ή ύπαρξη πολλών αλληλόμορφων για κάθε γενετικό τόπο.
- ♥ Απλή κληρονομικότητα (Μεντελιανή).
- ♥ Να μπορούν να διακρίνουν την ομόζυγη από την ετερόζυγη κατάσταση.
- ♥ Υψηλός συντελεστής κληρονομικότητας.
- ♥ Διασπορά και στην ιδανική περίπτωση ισοκατανομή σε ολόκληρο το γονιδίωμα.
- ♥ Η μεθοδολογία να μην κοστίζει πολύ, να μην έχει αρνητικές συνέπειες στο φυτό, να είναι εύκολη, να εφαρμόζεται κατά τα νεαρά στάδια της ανάπτυξης των φυτών και συγκεκριμένα όταν τα φυτά έχουν αναπτυχθεί τόσο ώστε να μπορεί να απομονωθεί ικανοποιητική ποσότητα DNA

Η φύση των μοριακών δεικτών εξαρτάται άμεσα από τη μεθοδολογία που χρησιμοποιείται για την αξιοποίησή τους. Οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιούνται εξελίσσονται συνεχώς και η χρήση της μιας ή της άλλης εξαρτάται από το ποσοστό επιθυμίας σάρωσης των χρωμοσωμάτων με τους μοριακούς δείκτες, από το χρόνο, από το κόστος, αλλά επίσης και από το βαθμό ετεροζυγωτίας.

Οι μοριακοί δείκτες πλεονεκτούν συγκρινόμενοι με τους φαινοτυπικούς δείκτες γιατί αφενός δεν επηρεάζονται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος και αφετέρου είναι ανιχνεύσιμοι σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του φυτού. Βέβαια απαραίτητη προϋπόθεση είναι η στενή σύνδεση των μοριακών δεικτών με το επιθυμητό γνώρισμα. Τεχνικές που

χρησιμοποιήθηκαν στη MAS είναι RAPD's, RFLP's, SCAR's, ST'S, ISA, AFLP's και ALP's με χρήση F2 γενιάς και επαναδιασταυρώσεις, ισογονιδιακές σειρές, διπλασιασμό απλοειδών και ανασυνδυασμό καθαρών σειρών (Mohan et al., 1997).

### **1.3.3 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης PCR (Polymerase Chain Reaction)**

Η μέθοδος της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction) στηρίζεται στην κινητική επανασύνδεση θερμικά αποδιαταγμένου δίκλωνου DNA, ιδιαίτερα δε στην αρχή, που ο χρόνος επανασύνδεσης εξαρτάται από τη συγκέντρωση και την πολυπλοκότητα των συμβαλλομένων συμπληρωματικών αλυσίδων. Με την μέθοδο PCR επιτυγχάνεται ο ενζυμικός πολλαπλασιασμός *in vitro* τμήματος DNA που ονομάζεται και DNA στόχος, από ελάχιστες αρχικές ποσότητες δείγματος εντός ολίγων ωρών. Η μέθοδος πραγματοποιείται σε κύκλους, όπου ο κάθε κύκλος αποφέρει εκθετικό πολλαπλασιασμό του DNA στόχου. Με τον τρόπο αυτό από αρχική ποσότητα δείγματος DNA μη ανιχνεύσιμου με κλασσικές τεχνικές υβριδισμού (Southern and Northern blotting), ο DNA στόχος ενισχύεται με την PCR σε σημείο που γίνεται ευρέως ανιχνεύσιμος (Williams et al., 1991).

Συνεπώς η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) είναι μια μοριακή τεχνική που χρησιμοποιείται για την *in vitro* ενίσχυση (δημιουργία πολλών αντιγράφων) ενός τμήματος DNA. Η PCR επιτρέπει σε μια μικρή ποσότητα DNA να αντιγραφεί πολλές φορές ώστε να είναι αρκετή και να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ανάλυση. Η τεχνική αυτή είναι πολύ διαδεδομένη στις βιολογικές επιστήμες και χρησιμοποιείται σε πολλές και διαφορετικές περιπτώσεις όπως: ανίχνευση κληρονομήσιμων ασθενειών, διάγνωση μολυσματικών ασθενειών, κλωνοποίηση γονιδίων, test πατρότητας κ.α. (Sambrook & Russell 2001, McPherson & Moller 2000, Higuchi et al. 1992, Higuchi et al. 1993, Wong 2005)

Η PCR ανακαλύφθηκε το Δεκέμβριο του 1983 από τον Δρ. **Kary Mullis** (Mullis 1983). Για αυτό το επίτευγμα βραβεύθηκε το 1993,

μόλις 7 χρόνια αφού δημοσίευσε τις ιδέες του, με το βραβείο Nobel Χημείας. Αυτό το οποίο σκέφτηκε να κάνει ο Mullis ήταν να δημιουργήσει μια τεχνική με την οποία το DNA θα μπορούσε να πολλαπλασιάζεται μέσω επαναλαμβανόμενων κύκλων διπλασιασμού, στους οποίους κύριο ρόλο θα είχε ένα ένζυμο και συγκεκριμένα η DNA πολυμεράση (Sambrook & Russell 2001, McPherson & Moller 2000, Higuchi et al. 1992, Higuchi et al. 1993, Wong 2005).

Η αρχή της λειτουργίας της μεθόδου (Mullis *et al.*, 1987) στηρίζεται στη χρήση:

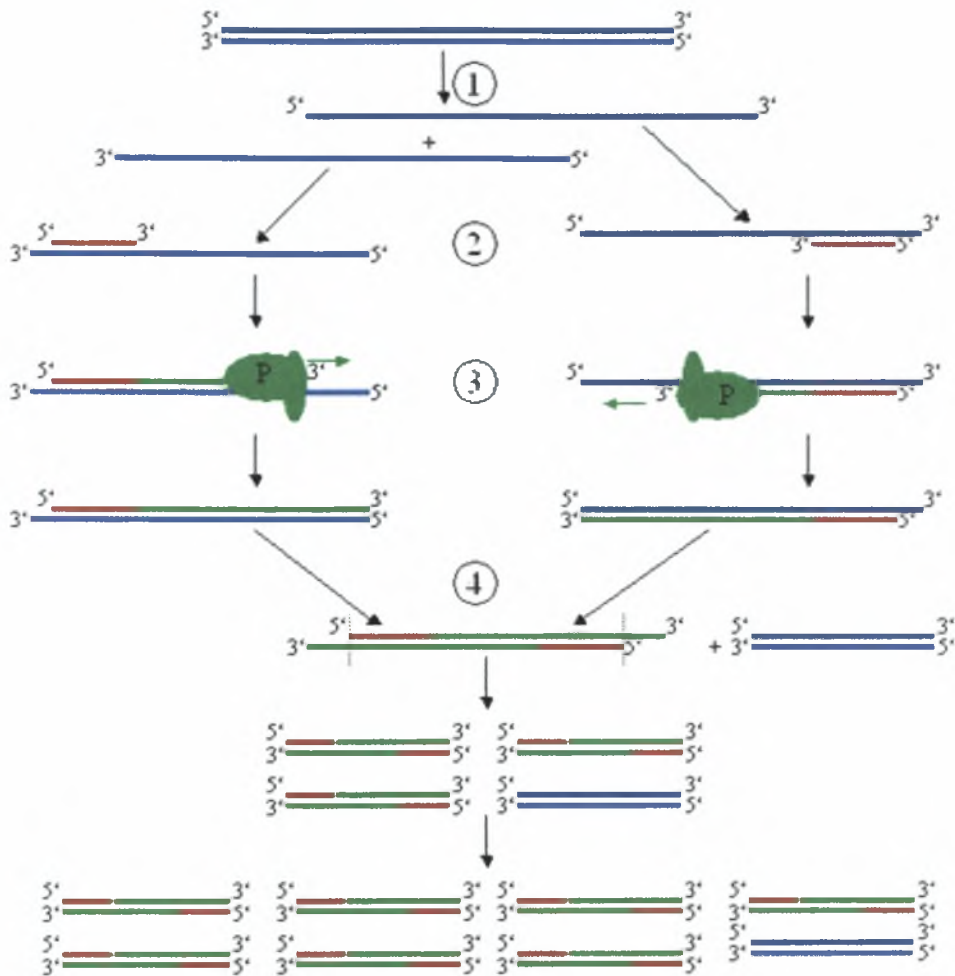
- Ειδικής DNA πολυμεράσης (Taq DNA Polymerase) που έχει απομονωθεί από το θερμοφίλο βακτήριο, *Thermus aquaticus* (Taq), και είναι θερμοσταθερή, διατηρώντας τη δρασικότητά της σε θερμοκρασίες 95° C για 40 τουλάχιστον λεπτά.
- Ενός ζεύγους συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων (συνήθως 15-30 βάσεων) τα οποία ονομάζονται εκκινητικά μόρια ή primers. Οι εκκινητές υποβοηθούν την εκκίνηση της αντιγραφής του DNA σε κάθε κλώνο του αρχικού δίκλωνου DNA.
- Κατάλληλου διαλύματος ελεύθερων 5' τριφωσφορικών δεοξυριβοζονουκλεοτιδίων (dNTPs).
- Κατάλληλης συγκέντρωσης διαλύματος MgCl<sub>2</sub>.
- Κατάλληλου ρυθμιστικού διαλύματος απαραίτητου για τη δράση της Taq πολυμεράσης.
- Μικρή ποσότητα DNA, που παίζει το ρόλο μορίου μήτρας.

Η DNA πολυμεράση βρίσκεται στη φύση σε ζωντανούς οργανισμούς και η λειτουργία της είναι ο διπλασιασμός του DNA στη φάση του διαχωρισμού των κυττάρων κατά τη διάρκεια της μίτωσης και της μείωσης. Στο εργαστήριο, με την τεχνική PCR το ένζυμο καθοδηγείται στην αλληλουχία που επιδιώκεται να αντιγραφεί από βραχέα ολιγονουκλεοτιδία που δρουν ως εκκινητές (primers), τα οποία υβριδίζονται με την αρχή και το τέλος του εκμαγείου της επιθυμητής αλληλουχίας του DNA. Οι εκκινητές σχεδιάζονται έτσι ώστε να υποβοηθούν την εκκίνηση της αντιγραφής του DNA σε κάθε κλώνο του αρχικού δίκλωνου DNA. Οι εκκινητές παρασκευάζονται με χημική

σύνθεση και για αυτό η τεχνική PCR χρησιμοποιείται μόνο για την κλωνοποίηση κλασμάτων DNA με γνωστή αλληλουχία των δυο άκρων τους. Υπό την καθοδήγηση των εκκινητών η DNA πολυμεράση παράγει πολλά αντίγραφα της επιλεγμένης αλληλουχίας. Η τεχνική PCR είναι εξαιρετικά ευαίσθητη: μπορεί να ανιχνεύσει, έστω και ένα αντίγραφο μιας αλληλουχίας DNA σε ένα δείγμα, επαυξάνοντάς το τόσο πολύ, ώστε να μπορεί να ανιχνευθεί με κατάλληλη χρώση μετά από διαχωρισμό με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή (Alberts et al. 1998).

Γενικά κάθε κύκλος της PCR αποτελείται από τρία στάδια. Το πρώτο στάδιο της PCR είναι η θερμική αποδιάταξη του DNA στόχου, κατά την οποία το δίκλωνο DNA μετατρέπεται σε μονόκλωνο. Ακολουθεί θερμική επαναδιάταξη του DNA, κατά την οποία τα δύο συνθετικά νουκλεοτίδια (primers), συνδέονται με τις δύο συμπληρωματικές αλληλουχίες του DNA στόχου, δηλαδή τις απλές αλυσίδες DNA (2<sup>ο</sup> στάδιο). Κατά το τρίτο στάδιο λαμβάνει χώρα η σύνθεση DNA (πολυμερισμός), με το διπλασιασμό του DNA-στόχου, παρουσία της θερμοσταθερής DNA πολυμεράσης και τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοτιδίων, οπότε οι συμπληρωματικές βάσεις προστίθενται στα 3' άκρα των εκκινητικών μορίων και οι πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες επεκτείνονται. Η σύνθεση DNA γίνεται πάντα προς την κατεύθυνση 5'→3'. Το σύνολο των τριών φάσεων α)μετουσίωσης-αποδιάταξης (denaturation), β)υβριδισμού-πρόδεσης των εκκινητών επί των συμπληρωματικών τους αλληλουχιών στις μονόκλωνες αλυσίδες του DNA-στόχου (annealing) και γ) επέκτασης-πολυμερισμού των προσδεδεμένων εκκινητών (extension), αποτελεί ένα κύκλο της αντίδρασης PCR (Σχήμα 2).

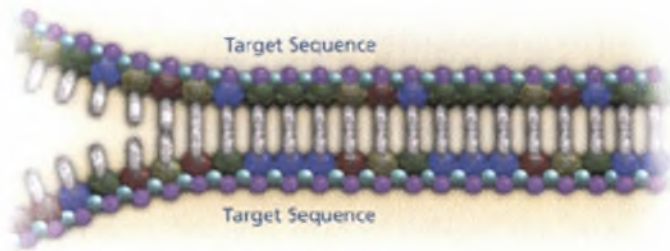




**Εικόνα 5.** Τα στάδια της PCR: (1) Αποδιάταξη, (2) Συγκόλληση, (3) Επέκταση, P = πολυμεράση, (4) Τέλος πρώτου κύκλου (<http://www.ja.wikipedia.org>).

Πιο συγκεκριμένα, η διαδικασία της PCR αποτελείται από είκοσι μέχρι τριάντα κύκλους και κάθε κύκλος περιλαμβάνει τα ακόλουθα τρία στάδια που το καθένα αναλυτικά είναι:

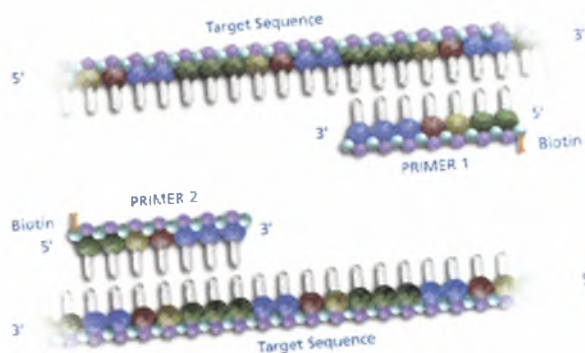
**(1)** Το δίκλωνο μόριο του DNA πρέπει να θερμανθεί στους 94-96°C έτσι ώστε να χωριστεί σε δυο μονόκλωνες αλυσίδες. Η υψηλή θερμοκρασία σπάει τους δεσμούς υδρογόνου που συνδέουν τις δυο αλυσίδες μεταξύ τους και έτσι διαχωρίζονται. Αυτό το στάδιο ονομάζεται **αποδιάταξη** και ο χρόνος που συνήθως διαρκεί είναι 1-2 λεπτά



**ΣΤΑΔΙΟ 1°:** Αποδιάταξη, διαχωρισμός της δίκλωνης αλυσίδας DNA.

1minute 94°C. (<http://www.ja.wikipedia.org>).

(2) Αφού γίνει ο διαχωρισμός των δυο αλυσίδων του DNA, η θερμοκρασία χαμηλώνει ώστε οι εκκινητές να μπορούν να προσκολληθούν σε κάθε μια από τις μονές αλυσίδες. Αυτό το στάδιο ονομάζεται **συγκόλληση**. Η θερμοκρασία αυτού του σταδίου εξαρτάται από τους εκκινητές και είναι συνήθως 5°C χαμηλότερα από τη θερμοκρασία τήξης των εκκινητών ( $T_m$ ). Συνήθως η θερμοκρασία αυτή κυμαίνεται από 45 μέχρι 60°C και έχει μεγάλη σημασία γιατί αν δεν είναι η ιδανική για τον εκάστοτε εκκινητή που χρησιμοποιείται, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τη μη συγκόλληση του εκκινητή στη μονόκλωνη αλυσίδα του DNA ή την συγκόλλησή του σε τυχαία θέση. Η διάρκεια του σταδίου της συγκόλλησης κυμαίνεται από 1 έως 2 λεπτά.

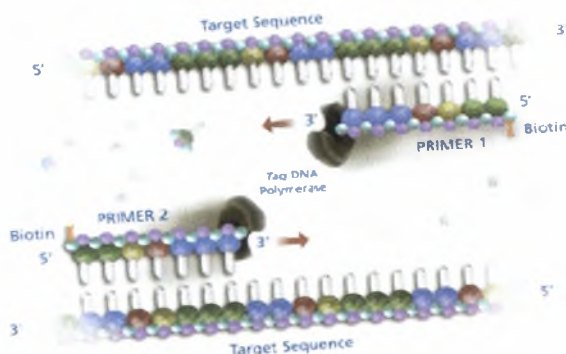


**ΣΤΑΔΙΟ 2°:** Υβριδισμός συγκόλληση των εκκινητών σε κάθε μια από τις μονές αλυσίδες DNA. 45 seconds 54°C. (<http://www.ja.wikipedia.org>).

(3) Τέλος, η DNA-πολυμεράση πρέπει να συμπληρώσει τις αντίστοιχες αλληλουχίες στη κάθε αλυσίδα που συγκολλήθηκαν οι εκκινητές.

Ξεκινάει από τον εκκινητή και συνεχίζει κατά μήκος της αλυσίδας. Αυτό το στάδιο ονομάζεται **επέκταση** και η θερμοκρασία εξαρτάται από τη DNA-πολυμεράση.

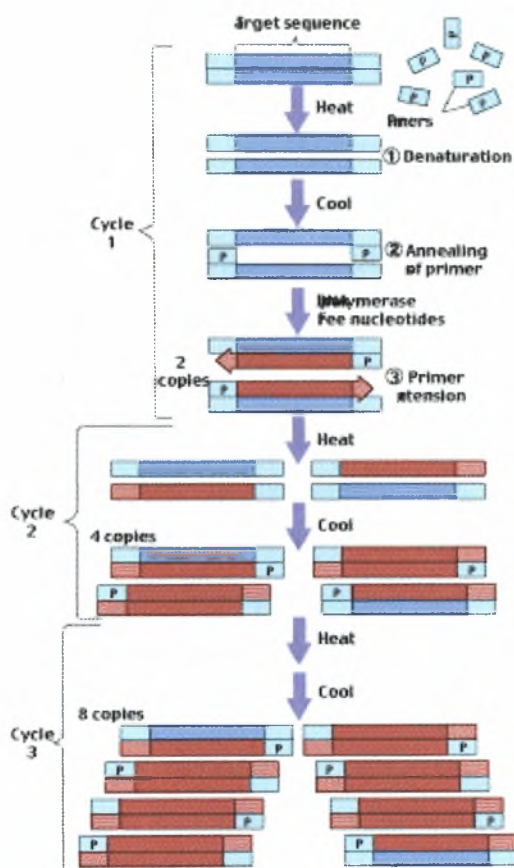
Ο χρόνος που διαρκεί το τελευταίο στάδιο της PCR εξαρτάται τόσο από την DNA-πολυμεράση όσο και από το μήκος του τμήματος του DNA που πρέπει να ενισχυθεί. Κάτι που ισχύει και πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στο τελευταίο στάδιο της συγκόλλησης είναι ότι το ένζυμο DNA-πολυμεράση προσθέτει στη θυγατρική αλυσίδα DNA περίπου 150 νουκλεοτίδια το δευτερόλεπτο.



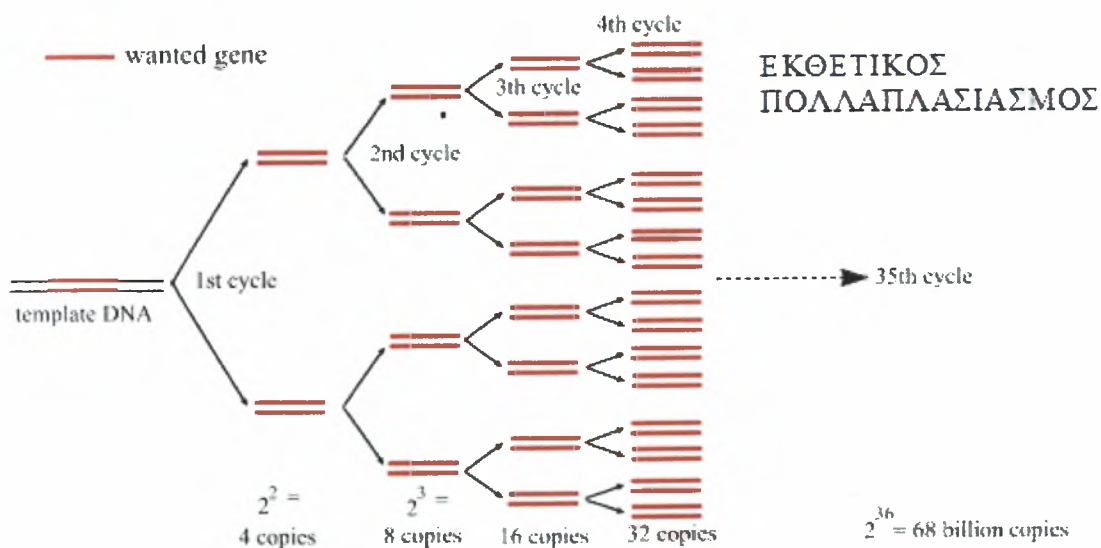
**ΣΤΑΔΙΟ 3<sup>ο</sup>:** Συγκόλληση των εκκινητών και δημιουργία δυο δίκλωνων μορίων DNA. 2minutes 72°C. DNTP`s. (<http://www.ja.wikipedia.org>).

Στο τέλος της διαδικασίας, από μια δίκλωνη γονική έλικα DNA δημιουργούνται δύο θυγατρικές δίκλωνες έλικες DNA, στον αμέσως επόμενο κύκλο οι δίκλωνες έλικες DNA γίνονται 4 (δυο του αρχικού υποστρώματος και δυο αντιγραφα) που αποτελούν πρότυπα-καλούπια για την σύνθεση νέων κλώνων DNA-στόχου στον επόμενο κύκλο (Εικόνα 1). Σε κάθε νέο κύκλο οι κλώνοι θα αυξάνονται με εκθετική πορεία κατά  $2^n$  όπου  $n$  ο αριθμός των κύκλων αντίδρασης. Ο πολλαπλασιασμός συνεχίζεται για 25-40 κύκλους. Το τελικό αποτέλεσμα είναι ο πολλαπλασιασμός του τμήματος DNA-στόχου εκατομμύρια φορές μέσα σε λίγες ώρες. Μάλιστα, αν υποθέσουμε ότι η απόδοση του συστήματος είναι 100% για κάθε κύκλο, τότε μετά από 25 κύκλους έχουμε την παραγωγή  $2^{25}$  (33.554.432) αντιγράφων, ενώ μετά από 40 κύκλους

έχουμε την παραγωγή  $2^{40}$  (1.099.511.627.776) μονόκλωνων συμπληρωματικών αντιγράφων DNA-στόχου (Εικόνα 2).



**ΕΙΚΟΝΑ 1:** Οι τρεις πρώτοι κύκλοι της PCR.



**ΕΙΚΟΝΑ 2:** Εκθετικός πολλαπλασιασμός του DNA-στόχου.

### **1.3.4 Πλεονεκτήματα και σημασία της τεχνικής PCR**

Η τεχνική της PCR είναι γρήγορη και απλή μέθοδος, σχετικά φθηνή, δεν απαιτεί τη χρήση ραδιενέργειας ούτε πληροφορία για την ακολουθία του DNA και μπορεί να εκτελεστεί χρησιμοποιώντας ελάχιστες ποσότητες ιστού χωρίς τη θανάτωση του δείγματος. Επιπλέον μπορεί να εφαρμοστεί σε DNA το οποίο προέρχεται από απολιθώματα καθιστώντας έτσι τον προσδιορισμό γενετικών δομών από πληθυσμούς του παρελθόντος.

Η PCR εντάσσεται μαζί με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA και τη διαγονιδιακή τεχνολογία, στις βιοτεχνολογικές μεθόδους συνθετικής προσέγγισης του φαινομένου της ζωής. Η σύγχρονη συνθετική μεθοδολογία στηρίζεται στην κατανόηση και αξιοποίηση των γνώσεων της αναλυτικής μεθοδολογίας, από την οποία προέρχεται και της οποίας αποτελεί λογική συνέχεια και ολοκλήρωση. Την τεράστια σημασία της PCR υποδηλώνει το ευρύ φάσμα εφαρμογών (Βιοτεχνολογία, Βιοϊατρική, Βιολογικός έλεγχος περιβάλλοντος κ.α.), καθώς και οι απεριόριστες δυνατότητες εξελικτικών προσαρμογών της μεθόδου. Η ταχύτατη διεθνοποίηση του όρου PCR σε σχεδόν ισότιμο των όρων DNA και RNA είναι επίσης ενδεικτικής σημασίας της μεθόδου.

### **1.3.5 RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA)**

Είναι μια τεχνική που στηρίζεται στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) για την ανίχνευση γενετικής ποικιλομορφίας και όχι στη χρήση ραδιοσημασμένων ανιχνευτών, όπως γίνεται στη χρήση των δεικτών RFLPs.

Η PCR είναι μια νέα τεχνική που επιτυγχάνει τον εκλεκτικό πολλαπλασιασμό σε εκατομμύρια αντίγραφα αλληλουχιών DNA από ένα σύνθετο μείγμα μορίων DNA. Η μέθοδος χρησιμοποιεί το ένζυμο DNA-πολυμεράση (polymerase) και ειδικούς εκκινητές (primers), οι οποίοι κατασκευάζονται με βάση την αλληλουχία των άκρων του επιθυμητού τμήματος DNA. Η DNA-πολυμεράση αντιγράφει μονόκλωνες

αλληλουχίες DNA όταν στο 3' άκρο τους υπάρχει μια μικρή δίκλωνη περιοχή. Οι δίκλωνες αυτές περιοχές μπορούν να δημιουργηθούν με τη χρήση εκκινητών που είναι μικρά συνθετικά τμήματα μονόκλωνου DNA μεγέθους 10-20 νουκλεοτιδίων και έχουν αλληλουχία συμπληρωματική με το 3' άκρο της αλυσίδας που θέλουμε να πολλαπλασιάσουμε. Για τον πολλαπλασιασμό μιας δίκλωνης περιοχής DNA απαιτούνται δυο εκκινητές, ένας για το 3' άκρο της κάθε αλυσίδας.

Η διαδικασία PCR γίνεται σε επαναλαμβανόμενους κύκλους, όπου ο κάθε κύκλος περιλαμβάνει:

- α) Την αποδιάταξη των δυο κλώνων του DNA με θέρμανση στους 90-95 °C, β) τη σύνδεση (υβριδισμός) των εκκινητών στις συμπληρωματικές περιοχές των δύο αλυσίδων, η οποία επιτυγχάνεται με μείωση της θερμοκρασίας στους 35 έως 55 °C, και
- γ) τη σύνθεση των συμπληρωματικών αλυσίδων με τη δράση της ειδικής θερμοάντοχης DNA-πολυμεράσης στους 72 °C (Εικ.). τυχαίων αυτών εκκινητών με τις συμπληρωματικές περιοχές του υπό εξέταση DNA.

Το τελικό αποτελέσμα της PCR θα είναι στο τέλος των 20 κύκλων να έχουν δημιουργηθεί 220 ενισχυμένα τμήματα για κάθε αρχικό μόριο DNA που χρησιμοποιείται σαν υπόστρωμα (Λουλακάκης, 2002).

Σύμφωνα με την τεχνική των RAPDs, ενισχύονται τμήματα DNA κάνοντας χρήση εκκινητών με τυχαία ακολουθία νουκλεοτιδίων (Williams et al., 1990; Welsh and McClelland, 1990). Κάθε προϊόν ενίσχυσης προκύπτει από τον υβριδισμό των τυχαίων αυτών εκκινητών με τις συμπληρωματικές περιοχές του υπό εξέταση DNA.

Ένα δίκλωνο μόριο DNA για να σχηματιστεί είναι απαραίτητη η ύπαρξη 2 εκκινητών, ένας για το 3' άκρο της κάθε αλυσίδας (Williams et al., 1990). Οι ζώνες πολυμορφισμού θα μπορούσαν να προκληθούν από τις διαφορές στις ακολουθίες της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας στα μέρη της υβριδοποίησης (όπως οι μεταλλαγές σημείου), ή από τις τοπικές διαμορφώσεις της χρωμοσωμικής αλυσίδας μέσα στην ενισχυμένη ακολουθία (π.χ. ελλείψεις, μετατοπίσεις, αναστροφές) (Welsh and McClelland, 1990).

Οι εκκινητές αυτοί που χρησιμοποιούνται στην τεχνική RAPDs δεν

είναι γνωστοί ή συγκεκριμένοι αλλά η επιλογή τους γίνεται τυχαία. Το παραπάνω εξασφαλίζει την επιλογή τυχαίων αλληλουχιών στο γονιδιωματικό μόριο DNA, οπότε κάθε εκκινητής να μπορεί να υβριδοποιήσει μια, πολλές ή ακόμα και σε καμία θέση του γονιδιωματικού DNA. Το αποτέλεσμα είναι ότι πολλαπλασιάζονται ανισομεγέθη τμήματα για το DNA κάθε ατόμου, τα οποία όμως είναι συγκεκριμένα για το κάθε DNA, επομένως και για το κάθε άτομο. Διαφορετικά φυτά δίδουν με αυτή τη μέθοδο τμήματα DNA που διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μέγεθος, τον αριθμό, ή και τα δυο (Φανουράκης, 2002).

Η παρατήρηση και ταυτοποίηση των προϊόντων της PCR γίνεται εύκολα με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης. Οποιοδήποτε τμήμα του DNA μπορεί να αναγνωριστεί μέσω αυτής της τεχνικής και χρησιμοποιείται ευρύτατα για ποιοτική και ποσοτική ανάλυση τόσο του DNA όσο και του RNA. Ένα πήκτωμα αγαρόζης είναι ένα πολύπλοκο δίκτυο πολυμερών σακχάρων, του οποίου το μέγεθος των πόρων εξαρτάται από τη σύσταση του ρυθμιστικού διαλύματος και τη συγκέντρωση (%) της αγαρόζης. Οι πόροι αυτοί παίζουν καταλυτικό ρόλο στην ηλεκτροφορητική κινητικότητα του DNA ανάλογα με το μέγεθος των μορίων αυτών. Κατά την ηλεκτροφορητική κινητικότητα, τα μόρια του DNA εμφανίζουν μια πλαστική συμπεριφορά όπου αυτή μεταβαίνει από την κατάσταση της πλήρους αναδίπλωσης σε κατάσταση μιας πυκνής σφαίρας. Σε μια συγκεκριμένη συγκέντρωση αγαρόζης που έχει διαλυθεί σε ένα συγκεκριμένο ρυθμιστικό διάλυμα, ένα εύρος μεγεθών μορίων DNA μπορεί να διαχωριστεί ανάλογα με το μοριακό τους βάρος. Η κινητικότητα των μορίων του DNA είναι αντιστρόφως ανάλογη του λογάριθμου του μεγέθους ή του μοριακού βάρους. Τα διακριτά τμήματα των νουκλεϊκών μπορούν να εντοπιστούν εύκολα, με υπεριώδη ακτινοβολία, σαν ζώνες που βάφονται με Βρωμιούχο Αιθίδιο (EtBr) (Χατζόπουλος, 2001).

Τα ενισχυμένα τμήματα του DNA ή τα αντιγραφόμενα τμήματα δημιουργούνται μόνο στις περιοχές του γονιδιώματος που υβριδίζει ο εκκινητής με κατάλληλο προσανατολισμό σε μια απόσταση 200 έως

3.000 βάσεων περίπου. Ένας εκκινητής έχει μια καθορισμένη αλληλουχία, αλλά η αλληλουχία αυτή είναι τυχαία. Έτσι, υπάρχει δυνητικά ένας απεριόριστος

αριθμός εκκινητών RAPDs με συγκεκριμένες αλληλουχίες (Deragon and Landry, 1992). Ο εκκινητής μπορεί να υβριδιστεί σε εκατοντάδες θέσεις μέσα στο γονιδίωμα, όμως μόνο εκείνοι που υβριδίζουν σε δυο θέσεις στις αντίθετες αλυσίδες του DNA μέσα σε 200 έως 3.000 βάσεις έχουν σαν αποτέλεσμα την παραγωγή και εμφάνιση ζωνών μετά από την PCR. Ο κύκλος υβριδισμού, αποδιάταξης και πολυμερισμού επαναλαμβάνεται με αποτέλεσμα τη λογαριθμική αύξηση της συγκέντρωσης του μέρους αυτού του γονιδιώματος.

Η χρήση της μεθόδου RAPDs μεταξύ διαφορετικών φυτών μπορεί να

συμβάλλει στην αποκάλυψη δεικτών (μορίων DNA) που καταδεικνύουν ότι τα φυτά αυτά διαφέρουν. Η χρησιμότητα των δεικτών αυτών (Ghanay and Zaki, 2003) έγκειται στα εξής:

- ♥ Αξιολόγηση της γενετικής παραλλακτικότητας μεταξύ πληθυσμών αλλά και ειδών (π.χ. μαζική ανάλυση διαχωρισμού).
- ♥ Για να μελετηθούν οι φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ ειδών και υποειδών (π.χ. family genome mapping).
- ♥ Για να κατασκευαστούν και να μελετηθούν οι γενετικοί χάρτες συνδέσμων, η επικόλληση γονιδίων και ο προσδιορισμός των ποικιλιών.

#### **1.3.5.1 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της τεχνικής RAPDs**

Σύμφωνα με τους Benter et al. (1995), η τεχνική RAPDs παρουσιάζει μια πλειάδα πλεονεκτημάτων αλλά και μειονεκτημάτων, τα οποία παρουσιάζονται παρακάτω.

#### **Πλεονεκτήματα της τεχνολογίας RAPD**

- ♥ Περισσότερος πολυμορφισμός σε σχέση με τα RFLPs.
- ♥ Απλή και γρήγορη μέθοδος.
- ♥ Δεν χρησιμοποιούνται ραδιοϊσότοπα.



- ♥ Λόγω της χρήσης τυχαίων εκκινητών, εξασφαλίζεται η αντικειμενικότητα των αποτελεσμάτων.
- ♥ Διαφοροποιείται στην ενίσχυση τμημάτων DNA έπειτα από μεταλλάξεις.
- ♥ Η μέθοδος εφαρμόζεται και σε δείγματα χαμηλής καθαρότητας DNA.
- ♥ Μεγάλος αριθμός ζωνών παράγεται ανά εκκινητή.
- ♥ Οι εκκινητές μπορούν να συντεθούν εύκολα.

### ***Μειονεκτήματα της χρησιμοποίησης της τεχνολογίας RAPD***

- ♥ Η ανίχνευση του πολυμορφισμού είναι ακόμα περιορισμένη (παρόμοια με RFLPs).
- ♥ Η δυνατότητα επανάληψης των αποτελεσμάτων είναι ανακόλουθη.
- ♥ Το gel αγαρόζης μπορεί να δημιουργήσει φτωχά πρότυπα ανάλυσης, λόγω της περιορισμένης ικανότητας της αγαρόζης να διαχωρίζει διαφορετικού μεγέθους τμήματα DNA και κατά συνέπεια της εμφάνισης λιγότερων ζωνών.
- ♥ Ανιχνεύει μόνο τους κυρίαρχους δείκτες.

## **1.4 Ποιοτικά και Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της τομάτας**

### **1.4.1 Ποιοτικά χαρακτηριστικά**

Ως ποιότητα ορίζεται ο συνδυασμός των χαρακτηριστικών ενός προϊόντος και η καταλληλότητα του για μια συγκεκριμένη χρήση. Είναι μια ανθρώπινη επινόηση, η οποία περιλαμβάνει οργανοληπτικές ιδιότητες όπως εμφάνιση, υφή, γεύση και άρωμα, θρεπτική αξία, χημικά συστατικά, καθώς και φυσιολογικές και μηχανικές ιδιότητες (Χριστάκου, 2003).

#### **1.4.1.1 Γεύση και άρωμα**

Συχνά οι καταναλωτές είναι δυσαρεστημένοι από το άρωμα και τη γεύση που έχουν οι νωπές τομάτες. Στα βελτιωτικά προγράμματα της τομάτας υπάρχουν άλλες πιο σημαντικές προτεραιότητες από τη γεύση, όπως η υψηλή απόδοση, η ανθεκτικότητα σε ασθένειες και επιπρόσθετα η βελτίωση της γεύσης είναι επίπονη διαδικασία. Η “γεύση” ως ευρύτερη έννοια είναι ένα σύνθετο χαρακτηριστικό που απαρτίζεται από δύο συνιστώσες: την αίσθηση της γεύσης (γλυκό, ξινό, στυφό) και το άρωμα. Καταρχήν η αίσθηση της γεύσης καθορίζεται από τα σάκχαρα και τα οξέα. Τα σάκχαρα στο καρπό του *Lycopersicon esculentum* Mill. περιλαμβάνουν κυρίως γλυκόζη και φρουκτόζη καθώς και ίχνη σουκρόζης, τα οποία αποδίδουν την γλυκιά γεύση στη τομάτα. Η φρουκτόζη και η γλυκόζη έχουν σχεδόν ισότιμες συγκεντρώσεις, με την φρουκτόζη να υπερσχύει ορισμένες φορές σε μικρό ποσοστό ενώ η συγκέντρωση της σουκρόζης δεν ξεπερνάει το 0,1% των ολικών σακχάρων. Τα κύρια οξέα στο καρπό της τομάτας είναι το κιτρικό και το μαλικό οξύ, με το κιτρικό να επικρατεί και να καθορίζει την οξύτητα (ξινό, στυφό) (Georgelis, 2004). Η συγκέντρωση κύριων σακχάρων και ορισμένων οξέων είναι ολιγογονιδιακό γνώρισμα, στη βιβλιογραφία αναφέρονται η σουκρόζη καθώς και το κιτρικό και μαλικό οξύ. Έτσι τα βελτιωτικά προγράμματα μπορούν να διαχειρισθούν εύκολα αυτά τα γονίδια (Fernandez- Ruiz, 2004).

Η άλλη συνιστώσα της γεύσης, το άρωμα προκαλείται από πτητικές ουσίες. Το άρωμα της τομάτας διεγείρει την όρεξη, αυξάνει την

παραγωγή σιέλου και καθιστά πιο ευάρεστα, άλλα τρόφιμα στη διατροφή του ανθρώπου (Georgelis, 2004). Στη τομάτα έχουν αναφερθεί πάνω από 400 πτητικές ουσίες, οι οποίες αντιπροσωπεύουν το 0,1% της ξηρής ουσίας στους ώριμους καρπούς (Fernandez- Ruiz, 2004). Από αυτές λιγότερες από 30 είναι πάνω από το κατώτερο όριο που μπορούμε να αντιληφθούμε (Georgelis, 2004). Το σύννηθες άρωμα της τομάτας είναι το αποτέλεσμα ενός άγνωστου συνδυασμού όλων των πτητικών συστατικών της (Fernandez- Ruiz, 2004).

#### **1.4.1.2 Θρεπτική αξία**

Οι καρποί των οπωρόκηπευτικών είναι πολύ σημαντικοί ως τροφή για τον άνθρωπο διότι προσφέρουν ποικιλία, φρεσκάδα, άρωμα - γεύση και θρεπτικότητα. Η κύρια θρεπτική τους αξία βρίσκεται στο γεγονός ότι, μαζί με τα λαχανικά, είναι, με εξαίρεση το γάλα και μερικά ζωικά όργανα τα οποία χρησιμοποιούνται ως τρόφιμα, είναι η μόνη πηγή βιταμίνης C στην ανθρώπινη διαίτα. Εξαιτίας αυτού και επειδή αναπτύχθηκαν απλές, ταχύτατες και αξιόπιστες χημικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό των βιταμινών υπάρχει μεγάλος αριθμός πληροφοριών, όσον αφορά την εμφάνιση και κατανομή του ασκορβικού οξέος σε διαφορετικούς καρπούς και τις μεταβολές του κατά τη διάρκεια του σχηματισμού τους, της ανάπτυξης, της ωριμότητας και της ωρίμανσης σε κάθε ποικιλία. Δεν είναι γνωστοί οι βιοχημικοί μηχανισμοί, οι οποίοι προκαλούν αυτές τις διαφορές και μεταβολές, ούτε και οι εποχιακές μεταβολές οι οποίες έχουν παρατηρηθεί στις συγκεντρώσεις του ασκορβικού οξέος Π.χ. στις μαύρες σταφίδες κ.λπ. (Καραουλάνης, 2003).

Υπάρχει μια αυξανόμενη τάση οι καταναλωτές να περιλαμβάνουν στο διαιτολόγιο τους τροφές που έχουν ευνοϊκή επίδραση στην υγεία τους, τουτέστιν να περιέχουν σημαντικές ποσότητες βιταμινών, ιχνοστοιχείων και αντιοξειδωτικών ουσιών. Η τομάτα έχει εκτιμηθεί πολύ από τότε που ανακαλύφθηκε ότι η κόκκινη χρωστική ουσία που περιέχει, το λυκοπίνιο, έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Το λυκοπίνιο έχει αποδειχθεί ότι έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και παρουσιάζει τη

μεγαλύτερη τέτοιου είδους δράση από όλα τα αντιοξειδωτικά των τροφών μας (Kushad et al., 2003).

Επίσης αποτελεί αποθήκη αντιοξειδωτικών ουσιών όπως το ασκορβικό οξύ, η βιταμίνη Ε, τα καροτενοειδή, φλαβοειδή και τα φαινολικά οξέα (Di Mascio et al., 1989).

Τα κύρια φυτοχημικά στην τομάτα είναι τα καροτενοειδή, που αποτελούνται από 60-64% λυκοπίνιο και 10-15% καροτίνη (Clinton, 1998). Οι κερασόμορφες τομάτες περιέχουν περισσότερες ποσότητες καροτενοειδών από τις κανονικές (Leonardi et al., 2000). Οι επεξεργασμένες τομάτες (σάλτσα, πάστα, χυμός και ketchup) περιέχουν 2 -40 φορές υψηλότερο λυκοπίνιο από ότι οι νωπές τομάτες (Gerster, 1997; Clinton, 1998).

Η τομάτα περιέχει σημαντική ποσότητα α-, β-, γ- και δ -καροτίνιου από 0,6-2,0 *mg / kg*, συνεισφέροντας προβιταμίνη Α και βιταμίνη Α στην διατροφή του ανθρώπου. Οι καρποί τομάτας είναι μια εξαιρετική πηγή ασκορβικού οξέος ή βιταμίνης C, φτάνοντας το επίπεδο των 200 *mg / kg* (Tonucci et al., 1995; Abushita et al., 2000; Leonardi et al., 2000).

Η ποιότητα του καρπού και κατ' επέκταση η θρεπτική του αξία εξαρτάται από το στάδιο ωρίμανσης που βρίσκεται αυτός κατά την συγκομιδή, δεδομένου ότι όσο ο καρπός βρίσκεται πάνω στο φυτό - συσσωρεύει» σάκχαρα, οξέα, βιταμίνη C και λοιπές θρεπτικές ουσίες, γι' αυτό και ο καρπός που φτάνει στο τελικό στάδιο ωρίμανσης επί του φυτού υπερτερεί σε ποιότητα από τους καρπούς που συγκομίζονται νωρίτερα και ωριμάζουν μακριά από το φυτό (Ντόγρας, 2001).

Τέλος, από έναν μεγάλο αριθμό ερευνών έχει βρεθεί ότι η λήψη της τομάτας και των προϊόντων της ως τροφή συνδέεται με μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης διάφορων μορφών καρκίνου (Kushad et al., 2003).

### 1.4.1.3 Χρώμα

Το χρώμα είναι ένα εξαιρετικά σημαντικό χαρακτηριστικό ποιότητας για την τομάτα. Για τον καταναλωτή το χρώμα είναι ένας σημαντικός δείκτης για την επιλογή ως προς την καταλληλότητα για βρώση. Το χρώμα της κόκκινης τομάτας καθορίζεται κυρίως από την περιεκτικότητά της σε λυκοπένιο. Η β-καροτίνη είναι το άλλο κύριο καροτενοειδές της κόκκινης τομάτας και μπορεί να καταστεί σημαντικός παράγοντας στο χρώμα της τομάτας υπό κατάλληλες συνθήκες (Atherton and Rudich, 1986).

Το χρώμα είναι ένας δείκτης ωρίμανσης της τομάτας γι' αυτό και χρωματικοί χάρτες για την ταξινόμηση των σταδίων ωριμότητας. Αντικειμενικές μέθοδοι για την εκτίμηση του χρώματος των ταμάτων περιλαμβάνουν μέτρηση του συντελεστή ανάκλασης του φωτός και τεχνικές μετάδοσης φωτός (Σφακιωτάκης, 1995).

Η συγκέντρωση του λυκοπενίου στον καρπό της τάματος μπορεί να εξαρτάται από την γενετική σύσταση αλλά και οι παράγοντες του περιβάλλοντος και οι καλλιεργητικές τεχνικές έχουν μια επίδραση πάνω στην περιεκτικότητα λυκοπενίου των καρπών. Από επιστημονικές αναφορές των τελευταίων 50 ετών φαίνεται ότι οι θερμοκρασίες κάτω από 12 °C μειώνουν πολύ την βιοσύνθεση του λυκοπενίου και θερμοκρασίες πάνω από 32 °C την σταματούν (Dumas et al., 2002). Έχει βρεθεί ότι το άριστο επίπεδο θερμοκρασίας για μέγιστη σύνθεση χρώματος κυμαίνεται γύρω στους 21-22°C (Ολύμπιος, 2001).

Όσον αφορά στις συνθήκες φωτός, το λυκοπένιο σχηματίζεται και με την επίδραση του διάχυτου φωτός υπό σκιά. Η καροτίνη για να συντεθεί χρειάζεται απαραίτητα την άμεση ακτινοβολία (Ολύμπιος, 2001). Η περιεκτικότητα λυκοπενίου αυξάνεται απότομα κατά την περίοδο ωρίμανσης και μπορεί να επηρεάζεται από τους φυσικούς ρυθμιστές ανάπτυξης (Dumas et al., 2002).

#### 1.4.1.4 Βιταμίνη C

Η σπουδαιότητα των καρπών τάματος έγκειται στο ότι αυτοί είναι μια από τις κυριότερες πηγές βιταμίνης C (ασκορβικού οξέος), η οποία αποτελεί μια από τις κυριότερες βιταμίνες για την υγεία του ανθρώπου. Το ασκορβικό οξύ χαρακτηρίζεται για την αντιοξειδωτική δράση του και τη συμμετοχή του στη μεταβολική λειτουργία. Σύμφωνα με τις ημερήσιες ανάγκες ενός ενήλικα (RDAR), όπως έχει θεσπιστεί από τον οργανισμό τροφίμων και φαρμάκων (FDA), η ημερήσια κατανάλωση μιας μέτριου μεγέθους τομάτας βάρους 226 g παρέχει στον οργανισμό το 47% της ημερήσιας ανάγκης σε βιταμίνη C και το 22% της ημερήσιας ανάγκης σε βιταμίνη A.

Η τιμή της βιταμίνης C μεταβάλλεται τόσο μεταξύ διαφορετικών λαχανικών, όσο και εντός συγκεκριμένου λαχανικού. Έχουν καταγράψει διαφορετικές τιμές ασκορβικού οξέος σε φύλλα και ρίζες του ίδιου φυτού. Γι' αυτό η συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος δεν είναι δείκτης ποιότητας, αλλά ένας τρόπος έλεγχου των ποιοτικών αλλαγών στο προϊόν, κατά την μεταφορά, επεξεργασία και αποθήκευση (Clegg 1974, Morrison 1974).

Ο μέσος όρος του περιεχόμενου ασκορβικού οξέος στον καρπό της τομάτας είναι περίπου 25 mg/100 g νωπού βάρους. Για τις Αγγλικές ποικιλίες είναι από 15 έως 25 mg/100 g νωπού βάρους, για τις Καναδικές από 18 έως 36 mg, ενώ για αυτές των ΗΠΑ από 5 έως 60 mg. Στην Ελλάδα κυμαίνεται από 30 έως 40 mg/100 g νωπού βάρους. Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα βιταμίνης C βρέθηκε στο είδος *L. peruvianum*. Προσπάθειες γίνονται για την ανάπτυξη ποικιλιών με υψηλή περιεκτικότητα της βιταμίνης C με τη βοήθεια της γενετικής.

Οι διακυμάνσεις αυτές στο περιεχόμενο ασκορβικό οξύ είναι πιθανόν να αποδοθούν στις διαφορετικές εντάσεις του φωτισμού κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του καρπού. Έτσι έχει βρεθεί ότι τομάτες, οι οποίες καλλιεργούνται στο χωράφι, περιέχουν περισσότερο ασκορβικό οξύ από αυτές που καλλιεργούνται στα θερμοκήπια, καθώς και αυτές που βρίσκονται στον ήλιο σε σχέση με αυτές που βρίσκονται σε σκιά.

Επίσης παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος μειώνεται καθώς μεγαλώνει η απόσταση από την επιδερμίδα και ότι η μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι στο ζελέ, ο οποίος περιβάλλει τα σπέρματα. Τέλος βρέθηκε, ότι αυξάνει με την ωρίμανση και είτε συνεχίζει να αυξάνει είτε ελαφρώς ελαττώνεται στα τελευταία στάδια της. Μεγαλύτερη συγκέντρωση παρατηρείται στις ποικιλίες, οι οποίες ωριμάζουν γρήγορα, και μικρότερη σε αυτές που καθυστερούν να ωριμάσουν (Καραουλάνης, 2003).

#### **1.4.1.5 Υφή - Σκληρότητα – Συνεκτικότητα της σάρκας**

Η σκληρότητα τις περισσότερες φορές είναι το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό για την ποιότητα των τροφίμων. Τα τρόφιμα διαφέρουν μεταξύ τους όσον αφορά τη δομή και διάφορα φυσικά χαρακτηριστικά. Οι διαφορές αυτές οφείλονται:

- ♥ Σε έμφυτες διαφορές εντός των ειδών
- ♥ Στο διαφορετικό βαθμό ωρίμανσης του προϊόντος
- ♥ Σε διαφορές στη συγκομιδή ή στους μετασυλλεκτικούς χειρισμούς
- ♥ Στις μεθόδους επεξεργασίας των προϊόντων

Η σκληρότητα συσχετίζεται στενά με το στάδιο ωριμότητας του καρπού. Έχει ιδιαίτερη σημασία όταν οι τομάτες προορίζονται για νωπή κατανάλωση στην αγορά, όπου σ' αυτήν την περίπτωση μετακινούνται σε μεγάλες αποστάσεις. Οι περισσότεροι καταναλωτές προτιμούν σκληρές τομάτες οι οποίες δε χάνουν τόσο πολύ χυμό όταν κόβονται σε φέτες, και οι οποίες δεν έχουν σκληρή επιδερμίδα. Η ποιότητα της υφής της τομάτας επηρεάζεται από την ανθεκτικότητα της επιδερμίδας, τη σταθερότητα της σάρκας και την εσωτερική δομή του καρπού.

Η παραγωγή της πολυγαλακτορουνάσης (polygalacturonase) παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην αλλαγή της υφής κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Αυτό το ένζυμο μπορεί να εξαχθεί σε τρία ισοένζυμα δομές από τις τομάτες, PG1, PG2a, PG2b. Καθ' όλη τη διάρκεια της ωρίμανσης υπάρχει μια συνεχής σύνθεση των ενζύμων αυτών. Παρόλο που

διαφορετικές μορφές της PG πιθανόν επίσης να βρεθούν στη γύρη και στη ζώνη κοπής του ποδίσκου, οι PG1, PG2a και PG2b συνθέτονται αποκλειστικά κατά την ωρίμανση και σε κανένα άλλο στάδιο του βιολογικού κύκλου. Σημαντικό ρόλο στη σκληρότητα του καρπού παίζουν και οι πρωτοπεκτίνες, ένζυμα με αργή δράση που διαλύουν τα κυτταρικά τοιχώματα. Ερευνητές βρήκαν ότι καρποί με υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτοπεκτίνες είναι σκληρότεροι από καρπούς με υψηλότερη περιεκτικότητα σε διαλυτές πεκτίνες (Madhavi and Salunkhe, 1998).

Ο βαθμός σκληρότητας ή το μαλάκωμα της σάρκας του καρπού μετράται με ειδικά όργανα, τα πιεσόμετρα. Ένας εύχρηστος τύπος πιεσόμετρου είναι το Effegi, το οποίο αποτελείται από ένα περιστροφικό δυναμόμετρο μικρών διαστάσεων και η πίεση μετριέται σε Kg (Σφακιωτάκης, 1995).

#### **1.4.1.6 PH – Οξύτητα**

Το pH στον καρπό της τομάτας κυμαίνεται μεταξύ 4 - 4,7. Όσο χαμηλότερο είναι το PH τόσο πιο πολύ αυξάνεται η λεγόμενη "ξινίλα", παράγοντας που από μερικούς καταναλωτές κρίνει την ποιότητα των καρπών. Το ποσοστό του κιτρικού οξέος που είναι το επικρατέστερο οξύ στην τομάτα, επηρεάζει την οξύτητά της και συνδέεται άμεσα με το βαθμό ωριμότητας του καρπού. Εκτός από το κιτρικό οξύ οι τομάτες περιέχουν και άλλα οξέα σε μικρότερη συγκέντρωση όπως το μαλικό, το λακτικό, το ασκορβικό (βιταμίνη C), το ακετικό και το πολυκαρβοξυλικό. Το σύνολο των οξέων δημιουργούν την οξύτητα στην τομάτα. Η συγκέντρωση των οξέων επίσης διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία, την καλλιεργητική τεχνική και τις περιβαλλοντικές συνθήκες κατά την διάρκεια της καλλιέργειας (Madhavi and Salunkhe, 1998).

Έχει παρατηρηθεί, ότι την μεγαλύτερη οξύτητα την έχουν οι τομάτες, όταν εμφανιστεί το ροζ χρώμα. Κατά Τη διάρκεια της ωρίμανσης των καρπών και καθώς αλλάζει Το χρώμα από πράσινο σε κόκκινο, η οξύτητα μεγαλώνει και φθάνει σε ένα μέγιστο σημείο, συνήθως αλλά όχι πάντα συγχρόνως με Την εμφάνιση του κίτρινου χρώματος και μετά



ακολουθεί η ελάττωσή της. Παρατηρήθηκε ακόμη, ότι η οξύτητα που έχουν τα εξωτερικά τμήματα του καρπού είναι μικρότερη συγκρινόμενη με αυτή των εσωτερικών τμημάτων. Η μεταβολή στην ογκομετρούμενη οξύτητα οφείλεται είτε μόνο στη μεταβολή του κιτρικού οξέος είτε σε μεταβολές τόσο στο κιτρικό όσο και στο μηλικό οξύ. Επίσης Βρέθηκε, ότι Το μηλικό οξύ ελαττώνεται με την ωρίμανση, ενώ το κιτρικό αυξάνει και πέραν του πρασινοκίτρινου σταδίου και κατόπιν είτε ελαττώνεται είτε παρουσιάζει πολύ μικρές αλλαγές.

#### **1.4.1.7 Διαλυτά στερεά**

Με την ωρίμανση του καρπού γίνεται υδρόλυση του αμύλου και αυξάνεται η περιεκτικότητα των σακχάρων. Η μέτρηση των σακχάρων είναι δυνατόν να γίνει με χημική μέθοδο. Τα σάκκαρα όμως προσδιορίζονται πιο εύκολα με διαθλασίμετρο στο χυμό του καρπού. Η μέτρηση παίρνεται τοποθετώντας μια σταγόνα χυμού στη γυάλινη πλάκα του οργάνου (Σφακιωτάκης, 1995).

#### **1.4.3 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά**

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά είναι δύσκολο να προσδιοριστούν με ακρίβεια. Έτσι, αν και η πλειονότητα των χημικών ενώσεων που σχετίζονται με την οξύτητα ή τη γλυκύτητα μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά, η πλέον ευαίσθητες φυσικές πλευρές του αρώματος και της γεύσης μπορούν συνήθως να προσδιοριστούν με τη μύτη και τον ουρανίσκο. Τα αποτελέσματα αυτής της αισθητικής μεθόδου προσδιορίζονται

##### **1.4.3.1 Οργανοληπτική εξέταση**

Η οργανοληπτική εξέταση είναι ένας τρόπος προσδιορισμού της ποιότητας των τροφίμων. Για να μπορούν να εξαχθούν αντικειμενικά αποτελέσματα από αυτή πρέπει να ελεγχθούν ορισμένες μεταβλητές. Οι μεταβλητές αυτές χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες, οι οποίες είναι ο έλεγχος της δοκιμής (εξέταση), ο έλεγχος του προϊόντος και ο έλεγχος

των ατόμων που πραγματοποιούν την εξέταση.

### Έλεγχος της δοκιμής

Ο έλεγχος της δοκιμής αφορά το περιβάλλον, το χώρο στον οποίο θα πραγματοποιηθεί η οργανοληπτική εξέταση, τη χρήση θαλάμου ή τραπέζιου, την ατμόσφαιρα και προετοιμασία του χώρου και την είσοδο και έξοδο της περιοχής.

Ο χώρος στον οποίο θα πραγματοποιηθεί η οργανοληπτική εξέταση είναι, συνήθως, ένα τραπέζι το οποίο είναι χωρισμένο σε θέσεις. Η κάθε θέση αντιστοιχεί σε ένα άτομο για την υλοποίηση της δοκιμής. Ο χωρισμός του τραπέζιου αποσκοπεί στο να μην υπάρξει επηρεασμός των ατόμων που επιλέχθηκαν για την εξέταση.

Επίσης καθοριστικός παράγοντας στην οργανοληπτική εξέταση είναι η ατμόσφαιρα του χώρου. Έτσι ο φωτισμός και χρωματισμός του χώρου έχουν καθορισθεί πριν τη δοκιμή, ώστε να μην επηρεάσουν θετικά ή αρνητικά την επιλογή, του χαρακτηρισμού του προς εξέταση δείγματος, των ατόμων. Έτσι ο τοίχος γύρω από κάθε θέση δοκιμής είναι λευκός, ώστε η έλλειψη απόχρωσης οποιουδήποτε χρωματισμού να αποτρέψει τυχόν λανθασμένη εκτίμηση του δοκιμαστή. Επίσης για το σωστό φωτισμό κάθε θέσης έχουν τοποθετηθεί λάμπες φθορισμού 70 έως 80 κεριών. Ακόμα στο χώρο αυτό η θερμοκρασία πρέπει να είναι 22-24°C, ενώ η σχετική υγρασία 45-55%.

### Έλεγχος του προϊόντος

Ο έλεγχος του προϊόντος αφορά τον τρόπο εξέτασης του δείγματος, τα μέσα τα οποία είναι απαραίτητα για την εξέταση και την προετοιμασία των δειγμάτων. Κατά το στάδιο αυτό της εξέτασης, στα επιλεγμένα άτομα δίνονται τα προς εξέταση δείγματα, τα οποία είναι τοποθετημένα σε γυάλινα σκεύη. Τα δείγματα πριν την εξέταση έχουν αριθμηθεί.

### Έλεγχος των ατόμων που πραγματοποιούν τη δοκιμή

Στο στάδιο αυτό της οργανοληπτικής εξέτασης, στόχος είναι να περιορισθούν οι διάφορες εξωτερικές αλληλεπιδράσεις, έτσι ώστε να περιορισθούν οι λανθασμένες εκτιμήσεις από τα άτομα που

πραγματοποιούν την εξέταση.

Κατά τη διαδικασία της δοκιμής κάθε δείγμα πρέπει να δοκιμάζεται την ίδια στιγμή από όλα τα άτομα, ενώ η χρονική διάρκεια της δοκιμής πρέπει να είναι προαποφασισμένη και να τηρείται από όλους. Μετά από κάθε δοκιμή τα άτομα εκτιμούν το δείγμα και καταγράφουν την εκτίμησή τους σε κάποιο έντυπο που τους έχει δοθεί. Στο έντυπο αυτό υπάρχουν βαθμονομημένοι χαρακτήρες για τα προς εξέταση χαρακτηριστικά κάθε δείγματος, και υποχρεούνται να απαντήσουν οι δοκιμαστές.

## 1.5 Εχθροί και ασθένειες

Οι ασθένειες και οι εχθροί που συνήθως προσβάλλουν τη τμάτα αναφέρονται παρακάτω (Ολύμπιος, 2001) .

### **Εχθροί**

- ♥ Νηματώδεις (*Meloidogyne spp.*)
- ♥ Σιδηροσκώληκες (*Agriotes obscurus*)
- ♥ Αφίδες (διάφορα είδη)
- ♥ Θρίπες (*Thripstabaci*, *Frankliniella occidentalis*, *Heliothrips haemorrhoidalis*)
- ♥ Φυλλορύκτες της τομάτας (*Lyriomyza trifolii*, *Lyriomyza bryoniae*)
- ♥ Αλευρώδης (*Trialeurodes vaporariorum*)
- ♥ Τετράνυχος (*Tetranychus urticae*, *Aculops lycopersici*)

### **Μυκητολογικές ασθένειες**

- ♥ Περονόσπορος (*Phytophthora infestans*)
- ♥ Αδρομυκώσεις (*Verticillium dahliae*, *Verticillium albo-atrum*, *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*)
- ♥ Καστανή σήψη των ριζών ή Φελλώδης σηψιρρηξία (Brown root ή Corky root) (*Pyrenochaeta lycopersici*)
- ♥ Ντιντιμέλλα (*Didymella lycopersici*)
- ♥ Φαιά σήψη (*Botrytis cinerea*)
- ♥ Αλτερνάρια (*Alternaria solani*)
- ♥ Κλαδοσπορίαση (*Cladosporium fulvum*, *Fulvia fulva*)
- ♥ Ωίδιο (*Leveillula taurica*)
- ♥ Σκλεροτίνια (*Sclerotinia sclerotiorum*)
- ♥ Σεπτόρια (*Septoria lycopersici*)

### **Βακτηριώσεις**

- ♥ Βακτηριακός έλκος (*Corynebacterium michiganense*)
- ♥ Βακτηριακή κηλιδωση (*Xanthomonas vesicatoria*)
- ♥ Βακτηριακή σιγμάτωση (*Pseudomonas tomato*)

## **Ιώσεις**

- Μωσαϊκή του καπνού TMV
- Μωσαϊκή του αγγουριού CMV
- Κίτρινο καρούλιασμα των φύλλων TYLCV

### **1.6 Το ωίδιο της τομάτας (*Leveillula taurica*)**

#### **1.6.1 Εισαγωγή**

Το ωίδιο της τομάτας , μια πολύ κοινή ασθένεια, προκαλείται από το μύκητα, *Leveillula taurica* (Ασκομύκητες, Pyrenomycetes, Erysiphales) με ατελή μορφή τον *Oidiopsis sicula*, συν. *Oidiopsis taurica*. Η ασθένεια μπορεί να έχει επιπτώσεις στις υπαίθριες ντομάτες, ειδικά εκείνες που αναπτύσσονται σε σκιερές περιοχές και με φτωχή κυκλοφορία αέρα, αλλά και στο θερμοκήπιο. Επίσης η ασθένεια μπορεί να είναι πολύ καταστρεπτική σε εμπορικές τομάτες όπου οι απώλειες παραγωγής μπορούν να υπερβούν 50% στους βαριά μολυσμένους τομείς. Η έκταση της απώλειας εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες, την ημερομηνία έναρξης της ασθένειας , και την αποτελεσματικότητα του μυκητοκτόνου (Guzman-Plazolaa R.A.,et al).

Αυτή η ασθένεια ευνοείται σε συνθήκες χαμηλής σχετικής υγρασίας (περίπου 52-75%)και θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 15-25°C. Η αρίστη θερμοκρασία για την μόλυνση της τομάτας είναι 25°C. Τα γονίδια είναι δυνατό να βλαστήσουν σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 10-30°C και σε πολύ χαμηλή σχετική υγρασία 20-30% (Παναγόπουλος,1995).

Η βροχή έχει μάλλον δυσμενή επίδραση στην εξέλιξη της ασθένειας, γιατί τα ευκόλως αποσπώμενα από τους κονιδιοφόρους κονίδια, παρασύρονται από το νερό της βροχής και μεταφέρονται στο έδαφος. Το ίδιο συμβαίνει και με τα γονίδια που μεταφέρονται στην ατμόσφαιρα, έτσι μειώνεται η ποσότητα του μολύσματος για τις επιμολύνσεις (Spencer D.M., 1978)

Ολλανδική έρευνα έχει παρουσιάσει άμεση σχέση μεταξύ της μόλυνσης ωιδίου των φύλλων και της απώλειας παραγωγής. Ένα τοις

εκατό μόλυνσης από ωίδιο στα φύλλα έχει σαν αποτέλεσμα ένα τοις εκατό απώλειας παραγωγής. Οι μελέτες δείχνουν ότι όσο υψηλότερο το επίπεδο της μόλυνσης τόσο υψηλότερη η απώλεια της παραγωγής. Μια πρόωρη, βαριά μόλυνση με ωίδιο είχε απώλεια περίπου 30% της παραγωγής σε σύγκριση με μια αργότερα, ελαφρύτερη μόλυνση. Οι καλλιεργητές πρέπει να ακολουθήσουν για μια εντατική ασθένεια σχέδιο πρόληψης επειδή είναι πολύ σημαντικό η ασθένεια να μην ξεφεύγει ποτέ από τον έλεγχο. Όταν τα φύλλα μολυνθούν με το ωίδιο είναι δύσκολο να τεθούν υπό έλεγχο και η συγκομιδή μπορεί να καταστραφεί εξ ολοκλήρου (Curtis J., et al)

### 1.6.2 Ονοματολογία και ταξινόμηση

kingdom: **Fungi**

phylum: **Ascomycota**

class: **Ascomycetes**

subclass: **Erysiphomycetidae**

order: **Erysiphales**

family: **Erysiphaceae**

genus: **Leveillula**

**species:** *Leveillula taurica* (Lév.) G. Arnaud,

*Annales des Épiphyties et de Phytogénétique* 7:94 (1921)

(Dictionary of the Fungi, 9th ed.)

#### **Συνώνυμα:**

*Oidiopsis taurica* (Lév.) E.S. Salmon 1906 (synonym)

*Erysiphe taurica* Lév. 1851 (synonym)

*Oidium cynarae* Ferraris & Massa (synonym)

*Oidiopsis cynarae* (Ferraris & Massa) Jacz. 1926 (synonym)

*Leveillula cistacearum* Golovin 1956 (synonym)

*Leveillula compositarum* Golovin 1956 (synonym)

*Leveillula malvacearum* Golovin 1956 (synonym)

*Leveillula solanacearum* Golovin 1956 (synonym)

*Ovulariopsis cynarae* (Ferraris & Massa) Ciccar. 1952 (synonym)

([CABI Species Fungorum](#), 10/04)

### 1.6.3 Καταγωγή

Είναι γενικά αποδεκτό ότι ο *L. Taurica* κατάγεται από ένα από τα κέντρα στα οποία συγκεντρώνεται ο μεγαλύτερος αριθμός ξενιστών του, όπως οι θερμές και ξηρές περιοχές της Κεντρικής και Δυτικής Ασίας και της Μεσογείου.

Ο Hirata (1968) υποστηρίζει τη θεωρία ότι το γένος *Leveillula* ίσως αναπτύχθηκε από το γένος *Erisiphe* (για αυτό αναρίθμητα είδη φυτών προσβάλλονται από ωίδια και των 2 ειδών συγχρόνως). Αυτό έλαβε χώρα στη Μεσόγειο, η οποία συνορεύει με τη ζώνη θερμοκρασίας όπου αναπτύσσεται καλά το γένος *Erisiphe*.

Ο *L. Taurica* από τις θερμές και ξηρές περιοχές από όπου κατάγεται, σταδιακά προσαρμόστηκε στις περισσότερο υγρές περιοχές, συμπεριλαμβανομένων και αυτών που έχουν αρκετές βροχοπτώσεις. Ο ενδοφυτισμός σε ορισμένα είδη φυτών ίσως βοήθησε σε αυτή την προσαρμογή. Σε αντίθεση με το μεγάλο εύρος σχετικής υγρασίας στη οποία έχει προσαρμοστεί, όσον αφορά τη θερμοκρασία δεν μπόρεσε να προσαρμοστεί σε περιοχές όπου αυτή είναι χαμηλότερη από τις περιοχές από τις οποίες κατάγεται (J. Palti, 1971).

Ο μύκητας *Leveillula taurica*, είναι ένας τροπικός έως υποτροπικός μύκητας που πρώτα εμφανίστηκε στη Βόρεια Αμερική στη Φλόριδα το 1971. Από τις αρχές της δεκαετίας του '90 είναι ένα επαναλαμβανόμενο πρόβλημα στην Καλιφόρνια σε πολλές καλλιέργειες όπως πιπεριάς, ντομάτας, μελιτζάνας, βαμβακιού, αγκινάρας, κρεμμυδιού, μπορεί επίσης να μολύνει την ελιά, διάφορα καλλωπιστικά φυτά και είδη ζιζανίων. Μετά τα μέσα της δεκαετίας του '90 εξαπλώθηκε στην Αριζόνα, Idaho, Νέα Υόρκη, Οκλαχόμα, Utah, Μεξικό, Οντάριο στις Μεσογειακές χώρες, την Εγγύς Ανατολή και σε όλο το κόσμο (Curtis J., et al).

### 1.6.4 Συμπτώματα

Το ωίδιο χρειάζεται φυτά ξενιστές για να αυξηθεί και να επιζήσει πάνω στους ιστούς τους. Ο μύκητας μολύνει μόνο τα φύλλα και όχι τα φρούτα ή τους μίσχους της τομάτας.



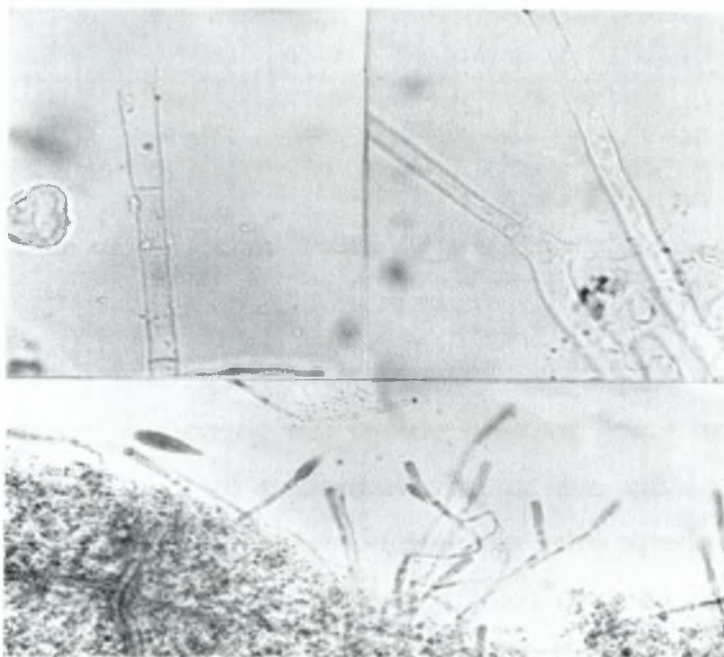
**Εικόνα 6.** Συμπτώματα προσβολής από το μύκητα *Leveillula taurica* στην πάνω και κάτω επιφάνεια φύλλων τομάτας

Τα πρώτα συμπτώματα εμφανίζονται κυρίως στα παλαιότερα φύλλα. Στη πάνω επιφάνεια σχηματίζονται κιτρινοπράσινες ή κιτρινες, ακανόνιστες ή γωνιώδης κηλίδες διαμέτρου περίπου 10-15 mm οι οποίες διευρύνονται και τελικά γίνονται καφετί χρώματος. Στην κάτω επιφάνεια του ελάσματος εμφανίζεται λεπτή λευκή μέχρι ανοιχτή καστανή εξάνθηση. Σε σπάνιες περιπτώσεις ανάμεσα στην εξάνθηση εμφανίζονται τα μικροσκοπικά μαύρα κλειστοθήκια του παθογόνου τα οποία έχουν διάμετρο 135-250  $\mu\text{m}$  και περιέχουν 20-35 ασκούς διαστάσεων 70-110  $\times$  25-40  $\mu\text{m}$ . Ο κάθε ασκός περιέχει 2 υαλώδη κυλινδρικά ή απιοειδή ασκοσπόρια διαστάσεων 25-40  $\times$  12-22  $\mu\text{m}$ . Επειδή όμως όπως αναφέρθηκε τα κλειστοθήκια σχηματίζονται σπάνια, η επιβίωση του μύκητα γίνεται κυρίως με μυκήλιο και τα κονίδια στους διαφόρους καλλιεργούμενους και αυτοφυείς ξενιστές – φυτά (Παναγόπουλος, 1995). Σε έντονες προσβολές οι κηλίδες αυξάνουν σε μέγεθος, συνενώνονται μεταξύ τους και καθίστανται νεκρωτικές. Στις περιπτώσεις αυτές το έλασμα των εντόνως προσβεβλημένων φύλλων μαραίνεται και αποξηραίνεται αλλά παραμένει συνδεδεμένο με το μίσχο. Εντούτοις, με την εκτεταμένη απώλεια φυλλώματος, τα εκτεθειμένα φρούτα μαυρίζουν από τον ήλιο (Whipps J.M., et al).



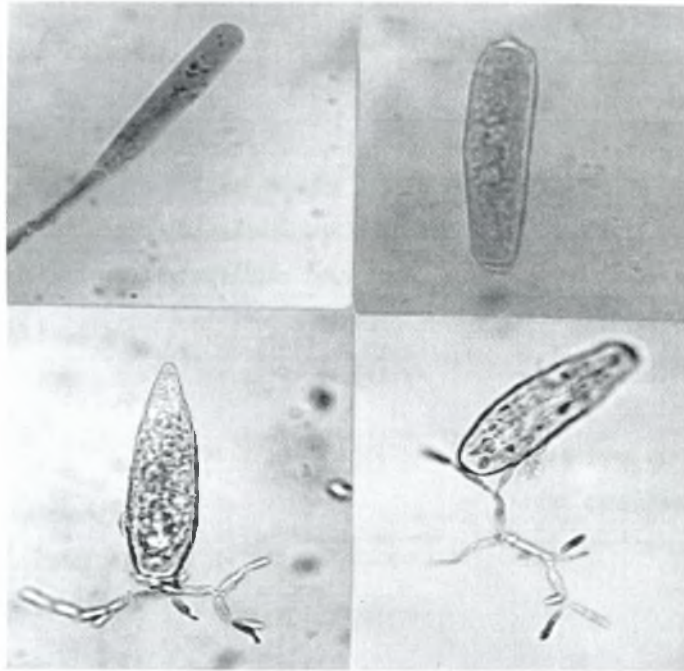
### 1.6.5 Προσδιορισμός της ασθένειας

Παρατηρείται μακροσκοπικά κίτρινες κηλίδες με χαρακτηριστική άσπρη κωνιώδης αύξηση σε καθεμία επιφάνεια από τα μολυσμένα φύλλα. Στη συνέχεια με μικροσκοπική ανάλυση και με βάση την παρουσία ενδοφυτικού μυκηλίου, τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των κονidioφόρων, και τα διμορφικά κονίδια(απιοειδή και κυλινδρικά) ο μύκητας προσδιορίζεται ως *Leveillula taurica* (Celio G.J.et al.).



**Εικόνα 7.** Κονidioφόροι και κονίδια του *Leveillula taurica* όπως φαίνονται στο μικροσκόπιο.

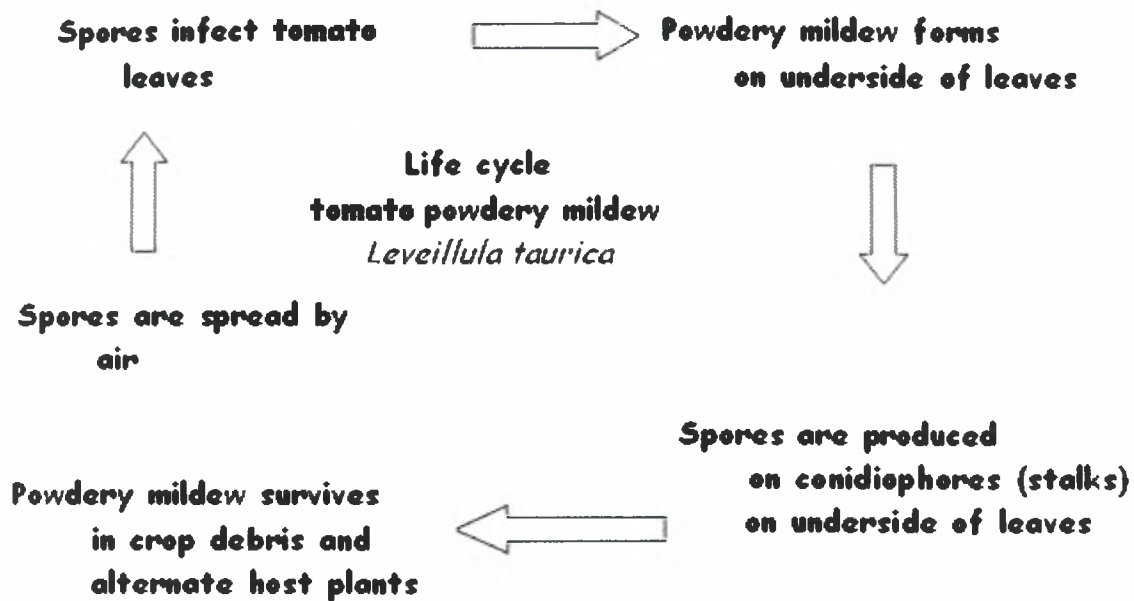
Αναλυτικά, ο μύκητας είναι υποχρεωτικό παράσιτο, εισέρχεται στο φυτό από τα στόματα και το μυκήλιο του εγκαθίσταται μέσα στους ιστούς του φύλλου(ενδοφυτικός παρασιτισμός). Οι κονidioφόροι είναι βραχείς, λεπτοί, διακλαδιζόμενοι και βγαίνουν από τα στόματα του φύλλου στην κάτω επιφάνεια του ελάσματος σε δέσμες μέχρι 4 από κάθε στόμα. Στην κορυφή του κάθε βραχίονα σχηματίζεται ένα μόνο κονίδιο. Οι μέσες διαστάσεις των κονιδίων είναι  $49.7-71.4 \times 16.6-24.1 \mu\text{m}$  και  $44.6-65.2 \times 16.2-22.7 \mu\text{m}$  για τα απιοειδή και τα κυλινδρικά, αντίστοιχα (Compendium of tomato diseases,1991).



**Εικόνα 8.** Κονίδια του *Leveillula taurica* όπως φαίνονται στο μικροσκόπιο.

#### 1.6.6 Ο κύκλος της ασθένειας

Ο κύκλος της ασθένειας του ωιδίου (κύκλος ζωής) αρχίζει όταν τα σπόρια (γνωστά ως κονίδια) προσγειώνονται σε ένα φύλλο τομάτας. Τα σπόρια βλασταίνουν. Ο μύκητας παρασιτεί στο φυτό χρησιμοποιώντας το ως πηγή τροφής. Ο μύκητας αυξάνεται αρχικά απαρατήρητος μέσα στο φύλλο για μια περίοδο λανθάνουσας κατάστασης 18-21 ημερών. Κατόπιν ο μύκητας αυξάνεται από τους πόρους αναπνοής (stomates) στην κάτω επιφάνεια του φύλλου, παράγοντας σπόρια μεμονωμένα και πολυάριθμα, με λεπτά στελέχη (conidiophores). Αυτά τα μυκητιακά στελέχη γίνονται ορατά ως άσπρα μπαλώματα ή αποικίες ωιδίου στην κάτω πλευρά του φύλλου. Τα σπόρια αυτά (κονίδια) μεταφέρονται μέσω των ρευμάτων αέρα ή τον άνεμο, με τα διακοσμητικά φυτά, τα ζιζάνια καθώς και με τα ρούχα των εργατών για να μολύνουν το επόμενο ξενιστή – φυτό (Curtis J., et al.).



**Εικόνα 9.** Ο κύκλος της ασθένειας του ωιδίου.

### 1.6.7 Ανθεκτικότητα στο μύκητα

Στην τομάτα το γονίδιο ανθεκτικότητας (*Lv*) στο ωίδιο (*Leveillula taurica* (Idv.) Amaud.) στοχεύτηκε χρησιμοποιώντας δείκτες RAPD's και RFLP's και έχει βρεθεί ότι βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12, μεταξύ των RFLP δεικτών CT211 και CT219, σε απόσταση 5,2 cM. Χρησιμοποιώντας τους δείκτες RFLP που βρέθηκαν στο χρωμόσωμα 12, αποδείχθηκε ότι περίπου ένα δεύτερο του χρωμοσώματος 12, περίπου 42 cM, στην ανθεκτική ποικιλία αποτελείται από ξένο DNA, πιθανώς με το γονίδιο αντίστασης από τα άγρια είδη *L.chilense*. Έχουν εξεταστεί περισσότεροι από 2000 απογόνους F2 γενιάς (> 4000 γαμέτες) από έναν σταυρό μεταξύ μιας ανθεκτικής σειράς (*Laurica*) και μιας ευαίσθητης σειράς (UC82L), χρησιμοποιώντας δείκτες RFLP για να πλαισιώσουν το γονίδιο *Lv* στο χρωμόσωμα 12. Περισσότερα από 80 φυτά έχουν προσδιοριστεί να είναι ανασυνδυασμένα σε αυτήν την περιοχή. Οι ανασυνδιασμοί ελέγχθηκαν για να διαπιστωθούν οι ανθεκτικοί φαινότυποι στην ασθένεια. Η γενετική απόσταση σε αυτήν την περιοχή για τον πληθυσμό F2 είναι 2,6 cM σε σύγκριση με 5,5 cM από το *L. esculentum*

X L πληθυσμός καρτογράφησης *pennellii* F2. Με τη διαλογή ενός μεγάλου διαχωρίζοντας πληθυσμού με τους άμεσα συνδεδεμένους μοριακούς δείκτες, η δυνατότητα υπάρχει για να επιλέξει τις σπάνιες ευεργετικές διασταυρώσεις και να μειώσει γρήγορα την έλξη συνδέσμων (Chunwongse,J., et al.).

### 1.6.7 Έλεγχος της ασθένειας

Η καλή κυκλοφορία του αέρα είναι ο καλύτερος τρόπος για να αποτραπεί αυτή η ασθένεια. Πρέπει να αποφεύγεται το υπερβολικό λίπασμα αζώτου. Η χρήση των υγιών, τοπικών φυτών μπορεί εξαλείψει την ανάγκη για εφαρμογή ενός μυκητοκτόνου αργότερα στο έτος. Οι εφαρμογές του Rally ή του Quadris πρέπει να αρχίζουν στο πρώτο σημάδι της ασθένειας και να επαναλαμβάνονται περίπου κάθε 2 εβδομάδες ή ανάλογα με τις ανάγκες. Θειούχα σκευάσματα είναι αποτελεσματικά εάν πλήρεις εφαρμογές κάλυψης αρχίζουν νωρίς και επαναλαμβάνονται κάθε επτά έως δέκα ημέρες.

Αφήνοντας χώρο ανάμεσα στις γραμμές φύτευσης για τις διαδρομές των μηχανημάτων μπορεί μειώσει τη ζημιά των φυτών από τα εξαρτήματα τους. Το flowable θείο παρέχει καλύτερη προστασία από το wettable θείο, ιδιαίτερα λόγω της συγκολλητικής του ιδιότητας και επειδή μένει σε μεγαλύτερη αναστολή, αποτρέποντας κατά συνέπεια την παρεμπόδιση του από τα ακροφύσια ψεκασμού. Όταν χρησιμοποιούνται μεταμοσχεύσεις από περιοχές όπου ο μύκητας ξεχειμωνιάζει, οι εφαρμογές ενός μυκητοκτόνου πρέπει να αρχίζουν πριν εμφανιστούν οποιαδήποτε συμπτώματα, συνήθως στις πρώτες 10 ημέρες του Ιουλίου. Η οπτική επιθεώρηση των καμηλότερων φύλλων πρέπει να γίνεται σε εβδομαδιαία βάση στα τέλη Ιουνίου. Όταν τα συμπτώματα εμφανίζονται, το μυκητοκτόνο πρόγραμμα πρέπει να ακολουθηθεί στενά. Η ολοκληρωμένη κάλυψη είναι κρίσιμη για τον αποτελεσματικό έλεγχο της ασθένειας και οι επαναλαμβανόμενες εφαρμογές είναι απαραίτητες. Τα μυκητοκτόνα δεν είναι συνήθως απαραίτητα όταν χρησιμοποιούνται για μεταμόσχευση υγιή φυτά .

Το θείο μπορεί να προκαλέσει φυτοτοξικότητα (κάψιμο) εάν εφαρμοστεί όταν οι θερμοκρασίες υπερβαίνουν τους 95 F. Για αυτό πρέπει να εφαρμόζεται κατά τη διάρκεια δροσερού καιρού και αργά τα απογεύματα όταν θα έχει πέσει ο ήλιος. Μερικές ετικέτες θείου τονίζουν ότι οι εφαρμογές πρέπει να γίνουν 40 ημέρες πριν τη συγκομιδή εάν οι ντομάτες προορίζονται για κονσερβοποιημένες σε μεταλλικά δοχεία.

## 1.7 Σκοπός της εργασίας

Η επιτραπέζια τομάτα καλλιεργείται σήμερα ως υπαίθρια καλλιέργεια ή σε θερμοκήπια και είναι λαχανικό για όλες τις εποχές του έτους. Οι παλαιές ποικιλίες τομάτας που καλλιεργούνταν στη χώρα μας, σταδιακά αντικαθίστανται με νέες εισαγόμενες ποικιλίες-υβρίδια, οι οποίες υπερέχουν σε ποιοτικά χαρακτηριστικά, σε απόδοση και αντοχή σε ασθένειες (Tigchelaar 1986). Η παραγωγή υβριδίων αποτελεί μια από τις πιο επιτυχημένες τεχνικές στη βελτίωση λόγω της ετέρωσης, που προάγει την ομοιογένεια και παρέχει τη δυνατότητα στον βελτιωτή να ελέγχει τα προϊόντα του (Καλύβας, 2001).

Το αντικείμενο της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η περιγραφή και η αξιολόγηση τεσσάρων παραδοσιακών και τριών εμπορικών ποικιλιών, με σκοπό να διαπιστωθεί αν οι παραδοσιακές ποικιλίες μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο αφενός στα βελτιωτικά προγράμματα, είτε ως γονείς για παραγωγή υβριδίων, είτε ως μακροπρόθεσμη προοπτική και αφετέρου ως εμπορικές ποικιλίες που θα είναι εξίσου ανταγωνιστικές σε σχέση με τα υβρίδια.

Τα χαρακτηριστικά που ελέχθησαν ήταν η καταγραφή των 18 μορφολογικών γνωρισμάτων των 4 παραδοσιακών ποικιλιών και των 3 εμπορικών ποικιλιών με βάση την κατάταξη κατά UPOV. Επίσης ήταν η μοριακή ανάλυση με βάση εκκινητών τύπου RAPD's για την ανάπτυξη του DNA προφίλ των εξεταζόμενων γενοτύπων με σκοπό την προστασία και την κατοχύρωση του συγκεκριμένου γενετικού υλικού.

Τέλος έγινε και μελέτη των οργανοληπτικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών τους σε σχέση με τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά των εμπορικών ποικιλιών (μάρτυρες), καθώς και μελέτη για την εμφάνιση ανθεκτικότητας στο ωίδιο της τομάτας που προκαλείται από το μύκητα *Leveillula taurica* για εντοπισμό γενοτύπων με ισότιμα ή υπέριερα επιθυμητά φυσικοχημικά γνωρίσματα σε σχέση με τις εμπορικές ποικιλίες.

## **2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στις εγκαταστάσεις του αγροκτήματος της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Βελεστίνο, κατά την καλλιεργητική περίοδο 2005. Επιπλέον, οι εργαστηριακές αναλύσεις που αφορούσαν τη μελέτη μορφολογικών, ποιοτικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών καθώς και η μοριακή ανάλυση, πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών. Τα πειράματα που αφορούσαν τη μελέτη της ανθεκτικότητας στο ωίδιο (*Leveillula taurica*), έγιναν κυρίως στο εργαστήριο Φυτοπαθολογίας.

## 2.1 Φυτικό υλικό

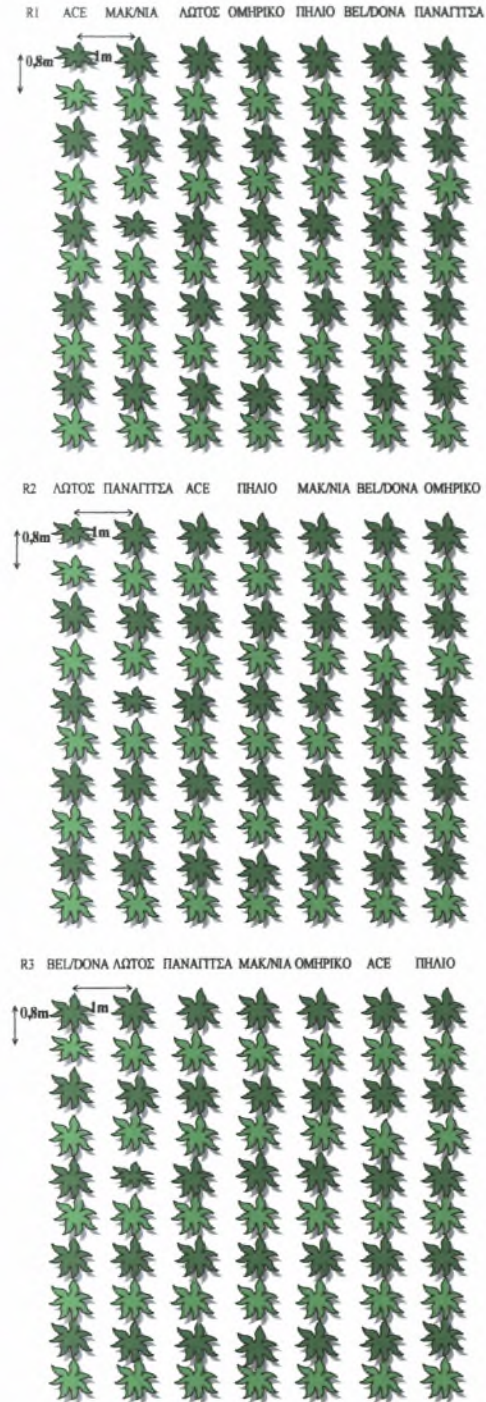
Το φυτικό υλικό αποτέλεσαν επτά γενότυποι επιτραπέζιας τομάτας. Μεταξύ αυτών τέσσερις παραδοσιακές ποικιλίες: **Ομηρικό, Παναγίτσα, Λωτός, Πήλιο** και τρεις εμπορικές ποικιλίες: **Belladona, Ace, Μακεδονία**.

Η σπορά έγινε στις 26/3/2004 σε πλαστικούς δίσκους σποράς, που περιείχαν εδαφικό υπόστρωμα Primo-Subsaat και οι οποίοι τοποθετήθηκαν σε μη-θερμαινόμενο θερμοκήπιο. Οι σπόροι τοποθετήθηκαν δυο με τρεις ανά ατομικό γλαστράκι και σε βάθος ενός εκατοστού. Περίπου ένα μήνα αργότερα στις 28/4/2004 έγινε μεταφύτευση τους σε γλαστράκια μεγαλύτερης διαμέτρου αφενός για να σχηματισθεί ζωηρότερο ριζικό σύστημα αφετέρου γιατί οι καιρικές συνθήκες δεν επέτρεπαν την μεταφύτευση τους στον αγρό. Κατά την παραμονή των ποικιλιών στο σπορείο η παρακολούθηση ήταν συνεχής, για την αποφυγή προβλημάτων από εχθρούς και ασθένειες. Εφαρμόζονταν άρδευση καθημερινά ώστε να υπάρχει επαρκής υγρασία για την βλάστηση των σπορών, αλλά και για την μετέπειτα σωστή αύξηση και ανάπτυξη των φυτών. Όταν τα φυτά ήταν στο στάδιο των οκτώ πραγματικών φύλλων, μεταφυτεύτηκαν στις τελικές τους θέσεις στον πειραματικό αγρό (20/5/2005).



## 2.2 Καλλιέργεια φυτών τομάτας

### 2.2.1 Πειραματικό σχέδιο



Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε για την υπαίθρια καλλιέργεια ήταν αυτό των «Τυχαιοποιημένων πλήρων ομάδων» (Randomize complete blocks ή RCBD) με τρεις επαναλήψεις, όπου η κάθε επανάληψη περιείχε επτά διαφορετικές ποικιλίες και η κάθε ποικιλία περιελάμβανε 10 φυτά.

Οι περισσότερες μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε πέντε φυτά από κάθε σειρά, ώστε να μειωθεί το πειραματικό σφάλμα, αν και σε όλα τα φυτά εφαρμόστηκαν οι ίδιοι χειρισμοί ώστε να αναπτυχθούν ομοιόμορφα. Αυτό πραγματοποιήθηκε ώστε να αποφευχθούν οι επιδράσεις από τις γειτονικές ομάδες. Κάθε φυτό στη γραμμή απέχει 0.8 m από το άλλο ενώ οι αποστάσεις μεταξύ των γραμμών ήταν 1.0 m. Η πειραματική διάταξη που εφαρμόστηκε παρουσιάζεται στην Εικόνα 9. Τα φυτά με ανοικτό πράσινο χρώμα χρησιμοποιήθηκαν για τις παρατηρήσεις.

**Εικόνα 10.** Σχηματική παράσταση της πειραματικής διάταξης των φυτών.

### 2.2.2 Προετοιμασία και καλλιεργητικές φροντίδες πειραματικού τεμαχίου

Πριν πραγματοποιηθεί η μεταφύτευση των φυτών στις τελικές τους θέσεις, το τεμάχιο προετοιμάστηκε με άροση και φρεζάρισμα, ώστε να είναι ψιλοχωματισμένα. Στη συνέχεια χαράχθηκε ο πειραματικός αγρός και τοποθετήθηκε το σύστημα άρδευσης ενώ ανοίχτηκαν οι θέσεις για την μεταφύτευση των φυτών. Για την μεταφύτευση επιλέχθηκαν τα πιο κατάλληλα φυτά φαινοτυπικά με σκοπό να ελαχιστοποιηθεί η μετέπειτα κακή εξέλιξη των φυτών.

Η άρδευση γινόταν με τη μέθοδο της στάγδην άρδευσης. Οι αποστάσεις μεταξύ των σταλακτιών ήταν στα 0.8 m, η ίδια απόσταση που αντιπροσώπευε και εκείνη μεταξύ των φυτών επί της ίδιας γραμμής. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν πλαστικοί σωλήνες διαμέτρου 32mm (Φ32) για τον κεντρικό αγωγό και 20mm (Φ20) για τους επιμέρους αγωγούς. Οι επιμέρους αγωγοί τοποθετήθηκαν παράλληλα σε κάθε σειρά ενώ σε κάθε ρίζα βρισκόταν ένας σταλάκτης παροχής 4L νερού/ ώρα για κάθε φυτό. Η άρδευση πραγματοποιούνταν κάθε 2-3 ημέρες και όταν η ηλιακή ακτινοβολία ήταν έντονη σχεδόν κάθε μέρα.

Στην καλλιέργεια κατά την μεταφύτευση εφαρμόστηκε βασική λίπανση N-P-K (15-15-15) και μέσα Αυγούστου λίπανση με Complezal.

Περίπου 10 μέρες μετά τη μεταφύτευση στο χωράφι, έγινε προληπτικό ριζοπότισμα με Prenicur (μυκητοκτόνο, θεραπευτικό και προστατευτικό, εφαρμογή στη συνιστώμενη δόση 100ml / 100lt) και με Vidate Oxamyl (εντομοκτόνο, νηματοδοκτόνο, δόση 120ml / 100lt). Στην καλλιέργεια παρατηρήθηκε μικρή προσβολή από έντομα καθώς και ήπιες εκδηλώσεις των ασθενειών Stolbur και γιγαντοφθαλμία (Big bud) της τομάτας, κατά τον Ιούλιο, ενώ τον Σεπτέμβριο παρατηρήθηκε προσβολή από φυτόφθορα (*Phytophthora parasitica*) και από το ωίδιο (*Leveillula taurica*) γεγονός που είχε ως αποτέλεσμα τη μερική μείωση της απόδοσης της καλλιέργειας. Για τις εντομολογικές προσβολές εφαρμόστηκε ψεκάσμος με εντομοκτόνο-ακαρεοκτόνο ενώ για τις μυκητολογικές προσβολές δεν χρησιμοποιήθηκε κάποιο σκεύασμα για την αντιμετώπιση τους και αυτό γιατί θέλαμε να μελετήσουμε την

ανάπτυξη του ωιδίου της τομάτας που οφείλεται στο μύκητα *Leveillula taurica*.

Η ζιζανιοκτονία γινόταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα με το χέρι, χωρίς την εφαρμογή χημικών σκευασμάτων, αφού δεν παρατηρηθήκαν σοβαρά προβλήματα που να απαιτούσαν επέμβαση με ζιζανιοκτόνα.

Η υποσύλωση των φυτών, αποδείχτηκε μια από τις αναγκαίες καλλιεργητικές εργασίες για την τομάτας πραγματοποιήθηκε στις 4/7/2005 με καλάμια μήκους περίπου 2 m, τα οποία στερεώθηκαν στο έδαφος. Πάνω στο καλάμι δέθηκε με σπάγκο ο κεντρικός βλαστός και χαλαρά οι πλάγιοι βλαστοί. Το δέσιμο των φυτών συνεχίστηκε μέχρι την πλήρη ανάπτυξη τους. Το κλάδεμα πραγματοποιήθηκε την ίδια ημερομηνία κατά το διστέλεχο σύστημα διαμόρφωσης.

### **2.3 Συγκομιδή**

Ο συνολικός αριθμός των συγκομιδών που πραγματοποιήθηκαν ήταν επτά και αφορούσε το σύνολο των φυτών για κάθε γενότυπο τομάτας. Καταγράφηκε η απόδοση και ο αριθμός καρπών ανά φυτό, γενότυπο και φάση συγκομιδής. Συγκεκριμένα, η πρώτη συγκομιδή έγινε στις 2/8/2005, η δεύτερη στις 12/8/2005, η τρίτη στις 18/8/2005, η τέταρτη στις 28/8/2005, η πέμπτη στις 14/9/2005, η έκτη στις 27/9/2005 και η τελευταία συγκομιδή έγινε στις 4/10/2005, δηλαδή στις 74, 84, 90, 100, 117, 130, 137 ημέρες μετά τη συγκομιδή(DAT).

Το κριτήριο για την συγκομιδή ήταν το χρώμα του καρπού, ο οποίος έπρεπε να βρισκόταν στο στάδιο του ροζ χρώματος προς το κόκκινο. Η συγκομιδή πραγματοποιούνταν με το χέρι ανά ταξιανθία και οι καρποί αποχωρίζονταν από το φυτό με τον κάλυκα τους και μέρος του ποδίσκου ενώ στη συνέχεια τοποθετούνταν σε πλαστικές σακούλες.

Μετά από κάθε συγκομιδή οι καρποί καταμετρούνταν και ζυγίζονταν ξεχωριστά με ζυγαριά ακριβείας 1/10 του γραμμάριου, τύπου GA200D, Germany, η οποία βρίσκεται στο εργαστήριο του αγροκτήματος.

## 2.4 Αύξηση – ανάπτυξη φυτών

Η αύξηση των φυτών καταγράφηκε ως ποσοτικό γνώρισμα με την καταγραφή του ύψους των φυτών, μετρώντας την απόσταση του υψηλότερου σημείου του φυτού από την επιφάνεια του εδάφους του κεντρικού βλαστού. Οι μετρήσεις αφορούσαν πέντε φυτά από κάθε ποικιλία από τα οποία πάρθηκαν και οι υπόλοιπες μετρήσεις. Το ύψος μετρήθηκε σε 2 στάδια (στις 24/7 και στις 20/9).

## 2.5 Καταγραφή μορφολογικών γνωρισμάτων με βάση την κατάταξη κατά UPOV

Ο Διεθνής Οργανισμός για την Προστασία Νέων Ποικιλιών των Φυτών, γνωστός ως UPOV, είναι ένας ενδοκυβερνητικός οργανισμός με έδρα την Γενεύη. Το ακρωνύμιο UPOV προήλθε από το γαλλικό όνομα του οργανισμού: *Union internationale pour la protection des obtention vegetales*. Ιδρύθηκε από το Διεθνή Συνέδριο για την Προστασία των Ποικιλιών των Φυτών στο Παρίσι το 1996. Ο σκοπός του οργανισμού (UPOV) ήταν η ενημέρωση των μελών του για τις νέες εξελίξεις στη Βελτίωση νέων ποικιλιών φυτών καθώς και η κατοχύρωση των νομικών δικαιωμάτων του βελτιωτή που απελευθερώνει νέες ποικιλίες φυτών. Οι ποικιλίες που έχουν το δικαίωμα εγγραφής στον κατάλογο UPOV θα πρέπει να τηρούν τις ακόλουθες προϋποθέσεις:

- ♥ να διαφοροποιούνται με σαφήνεια από τις ήδη υπάρχουσες ποικιλίες
- ♥ να είναι ομοιόμορφες
- ♥ να είναι σταθερές και
- ♥ να μην υπάρχουν στο εμπόριο πριν την εγγραφή τους στον κατάλογο.

Η προστασία των νέων ποικιλιών των φυτών παρέχει ταυτόχρονα ένα κίνητρο για περαιτέρω βελτίωση των αγροτικών και δασικών ειδών καθώς και μια εγγύηση για τα δικαιώματα των βελτιωτών.

Οι μετρήσεις των μορφολογικών γνωρισμάτων έγιναν όπως φαίνεται και στην εικόνα.... σε πέντε φυτά για κάθε γενότυπο τομάτας

και για κάθε επανάληψη. Παρακάτω αναπτύσσονται ποια είναι και πως καταγράφηκαν τα υπό μελέτη χαρακτηριστικά. Μέσα σε παρένθεση αναγράφεται η αντίστοιχη αρίθμηση κατά UPOV.

### **2.5.1 Μέγεθος φύλλων (10)**

Οι μετρήσεις έγιναν στον 8<sup>ο</sup> κόμβο για δέκα αντιπροσωπευτικά δείγματα κάθε ποικιλίας και αφορούσε το πλάτος και μήκος των σύνθετων φύλλων. Το πλάτος καταγράφηκε ως μέγεθος των μεσαίων φυλλαρίων (leaflets) ενώ το μήκος αφορούσε το διάστημα από το σημείο επαφής του μίσχου με το στέλεχος έως και το τελευταίο φυλλάριο.

### **2.5.2 Αριθμός και τύπος ταξιανθίας, χρώμα άνθους και ζώνη αποκοπής (3,16,19,20)**

Από τα επιλεγμένα φυτά κάθε επανάληψης καταγράφηκε ο αριθμός των ταξιανθιών, έγινε οπτική καταγραφή του χρώματος των ανθέων καθώς και χαρακτηρισμός της ταξιανθίας ως διακλαδιζόμενη ή μη. Επίσης καταγράφηκε η παρουσία ή η απουσία της ζώνης αποκοπής στο βλαστικό στέλεχος που συνδέει τον καρπό με τον κύριο βλαστό του φυτού.

### **2.5.4 Μορφολογικά χαρακτηριστικά καρπών**

Οι μετρήσεις που αφορούσαν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά έγιναν σε δείγματα πέντε αντιπροσωπευτικών καρπών ανά φυτό και ποικιλία για κάθε επανάληψη. Τα δεδομένα παρουσιάζονται με την περιγραφική αριθμητική κλίμακα κατά UPOV.

#### **2.5.4.1 Μέγεθος καρπών(22)**

Η καταγραφή του μεγέθους των καρπών έγινε με κατάλληλο κανόνα και έγινε μέτρηση του μήκους και του πλάτους πέντε αντιπροσωπευτικών καρπών από κάθε ποικιλία.

### 2.5.4.2 Η αναλογία μήκος καρπού / διάμετρο καρπού (23)

Έγινε μέτρηση του μήκους (cm) και της διαμέτρου (cm) πέντε αντιπροσωπευτικών καρπών από κάθε ποικιλία με κατάλληλο κανόνα αφού πρώτα οι καρποί τεμαχίστηκαν οριζόντια.

### 2.5.4.3 Το σχήμα καρπού(24)

Η περιγραφή έγινε με βάση τον οδηγό για τα σχήματα του καρπού της τομάτας, που περιλαμβάνεται στη κατάταξη UPOV, στον οποίο χαρακτηρίζονται ως εξής (Εικόνα.10) 1:πεπλατυσμένος, 2:ελαφρά πεπλατυσμένος, 3:κυκλικός, 4:ορθογώνιος, 5:κυλινδρικός, 6:ελλειπτικός, 7:καρδιοειδής, 8:ωοειδής με πεπλατυσμένη βάση, 9:ωοειδής και 10:αχλαδόσχημος



1  
ΠΕΠΛΑΤΥΣΜΕΝΟ



2  
ΕΛΑΦΡΑ ΠΕΠΛΑΤΥΣΜΕΝΟ



3  
ΚΥΚΛΙΚΟ



4  
ΤΕΤΡΑΓΩΝΙΚΟ



5  
ΚΥΛΙΝΔΡΙΚΟ



6  
ΕΛΛΕΙΠΤΙΚΟ



7  
ΚΑΡΔΙΟΣΧΗΜΟ



8  
ΟΒΟΥΑΤΕ



9  
ΩΟΕΙΔΗ



10  
ΑΧΛΑΔΟΣΧΗΜΟ

Εικόνα 11. Σχήμα καρπών κατά UPOV

#### **2.5.4.4 Μέγεθος του πυρήνα – πάχος περικάρπιου(31,32)**

Το μέγεθος του πυρήνα (mm) και το πάχος περικαρπίου (mm) καταγράφηκε με παχύμετρο ακριβείας τρίτου δεκαδικού ψηφίου.

#### **2.5.4.5 Αριθμός χωρών της ωοθήκης**

Οι καρποί τεμαχιστήκαν στη μέση με οριζόντια τομή και μετρήθηκε ο αριθμός χωρών της ωοθήκης.

#### **2.5.4.6 Παρουσία ή μη και ένταση του ‘πράσινου ώμου’(34,35)**

Στην περίπτωση αυτή έγινε οπτική καταγραφή της παρουσίας ή μη του πράσινου ώμου, καθώς και της έντασης του χρώματος με την ακόλουθη κλίμακα: 1:κόκκινο με πράσινες γραμμές, 2:πορτοκαλί προς κόκκινο, 3:κίτρινο προς πορτοκαλί, 4:άσπρο και πράσινο, 5:ανοικτό πράσινο, 6:σκούρο πράσινο, 7:έντονο πράσινο και 8:σκούρο εκτεταμένο πράσινο.

#### **2.5.4.7 Χρώμα καρπού και σάρκας (38,39)**

Έγινε περιγραφή του εξωτερικού χρώματος του καρπού και της σάρκας του με την εξής κλίμακα: 1:κρέμ –άσπρο, 2:κίτρινο, 3:πορτοκαλί, 4:ροζ και 5:κόκκινο.

## 2.6 Οργανοληπτική εξέταση

Για τη διαπίστωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών κάθε ποικιλίας έγινε οργανοληπτική εξέταση, η οποία πραγματοποιήθηκε στις 5/10/2005. Για την εξέταση έγινε προσπάθεια ώστε οι τομάτες να είναι στο ίδιο στάδιο ωριμότητας ενώ παράλληλα χρησιμοποιήθηκαν δείγματα καρπών από κάθε επανάληψη για όλες τις ποικιλίες τομάτας. Τα δείγματα μεταφέρθηκαν από το αγρόκτημα στο εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η μέθοδος της οργανοληπτικής εξέτασης που εφαρμόστηκε ήταν η εξής:

Οι τομάτες από κάθε ποικιλία και επανάληψη πλύθηκαν και τεμαχίστηκαν σε χοντρές φέτες μέσα σε πλαστικά πιάτα τα οποία ήταν τοποθετημένα στον πάγκο. Την ομάδα εξέτασης (panel) αποτελούσαν 10 άτομα τα οποία έκαναν τη δοκιμή. Πριν τη δοκιμή κάθε δείγματος, τα άτομα έπιναν νερό και μασούσαν ψωμί, έτσι ώστε να μην επηρεαστεί η γεύση του επόμενου δείγματος από το προηγούμενο. Μετά τη δοκιμή κάθε δείγματος συμπλήρωναν ένα βαθμονομημένο έντυπο, με τα προς εξέταση γνωρίσματα (Πίν.).

Οι ενότητες των χαρακτηριστικών που εξετάστηκαν ήταν οι εξής:

- A. Εξωτερική εμφάνιση
- B. Γεύση
- Γ. Οσμή
- Δ. Αφή
- Ε. Συνολική εντύπωση



**Πίνακας 2.** Τα χαρακτηριστικά που εξετάστηκαν στο έντυπο της οργανοληπτικής εξέτασης

<b>A. ΕΞΩΤΕΡΙΚΗ ΕΜΦΑΝΙΣΗ</b>					
	Πολύ Έντονο	Έντονο	Μέτριο	Λίγο Έντονο	Καθόλου Έντονο
Χρώμα	5	4	3	2	1
Φωτεινότητα	5	4	3	2	1
<b>B. ΓΕΥΣΗ</b>					
	Πολύ Έντονο	Έντονο	Μέτριο	Λίγο Έντονο	Καθόλου Έντονο
Αλμυρότητα	1	2	3	4	5
Πικρή	1	2	3	4	5
Στυφή	1	2	3	4	5
Γλυκιά	5	4	3	2	1
Χορτώδης	1	2	3	4	5
Μεταλλική	1	2	3	4	5
Μουχλιασμένη	1	2	3	4	5
Όξινη	1	2	3	4	5
Παραμένουσα γεύση	1	2	3	4	5
Συνεκτικότητα	1	2	3	4	5
Προσκόλληση στα δόντια	1	2	3	4	5
Χυμώδη	5	4	3	2	1
<b>Γ. ΟΣΜΗ</b>					
	Πολύ Έντονο	Έντονο	Μέτριο	Λίγο Έντονο	Καθόλου Έντονο
	5	4	3	2	1
<b>Δ. ΑΦΗ</b>					
	Πολύ Έντονο	Έντονο	Μέτριο	Λίγο Έντονο	Καθόλου Έντονο
Τρυφερότητα	5	4	3	2	1
<b>Ε. ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΕΝΤΥΠΩΣΗ</b>					
	Πολύ καλό	Καλό	Μέτριο	Κακό	Πολύ Κακό
	5	4	3	2	1

## 2.7 Ποιοτικά χαρακτηριστικά

### 2.7.1 Προσδιορισμός της βιταμίνης C

Για τον προσδιορισμό της βιταμίνης C χρησιμοποιήθηκε η συσκευή: MERCK RQ flex2 GERMANY, Ascorbic Acid Test 25-450 mg/l. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε η αναλυτική μέθοδος κατά την οποία το ασκορβικό οξύ ανάγει το κίτρινο μολυβδοφωσφορικό οξύ μετατρέποντας το σε κυανούν φωσφορομολυβδαίνιο, η συγκέντρωση του οποίου καθορίζεται με τη βοήθεια του διαθλασίμετρου.



**Εικόνα 12.** Συσκευή προσδιορισμού της βιταμίνης C

Αρχικά οι τομάτες πλύθηκαν και κόπηκαν σε μικρά τεμάχια τα οποία τοποθετήθηκαν στο μπλέντερ για τη δημιουργία πολτού. Ο πολτός στη συνέχεια διυλίστηκε με κόσκινο για την παραγωγή χυμού. Δείγμα 10 gr από τον παραπάνω χυμό ζυγίστηκε με ζυγαριά ακριβείας και προστέθηκε σε απεσταγμένο νερό 10 gr ενώ ακολούθησε ανάδευση του διαλύματος για ομογενοποίηση. Στη συνέχεια στο διάλυμα εισήχθη ειδική ταινία MERCK για περίπου δύο δευτερόλεπτα ενεργοποιώντας ταυτόχρονα το διαθλασίμετρο (START). Μετά την πάροδο δέκα δευτερολέπτων η ειδική ταινία εισήχθη στον υποδοχέα της συσκευής για τα τελευταία πέντε δευτερόλεπτα. Ακολούθησε μετατροπή της ένδειξης της συσκευής ώστε να γίνεται αναφορά σε βάρος δείγματος 100 g και κατόπιν δημιουργήθηκε η πρότυπη καμπύλη με βάση τα πρότυπα διαλύματα ασκεριού οξέος τα οποία κατασκευάστηκαν διαλύοντας συγκεκριμένες ποσότητες ασκορβικού οξέος με 100 g αποσταγμένου νερού όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

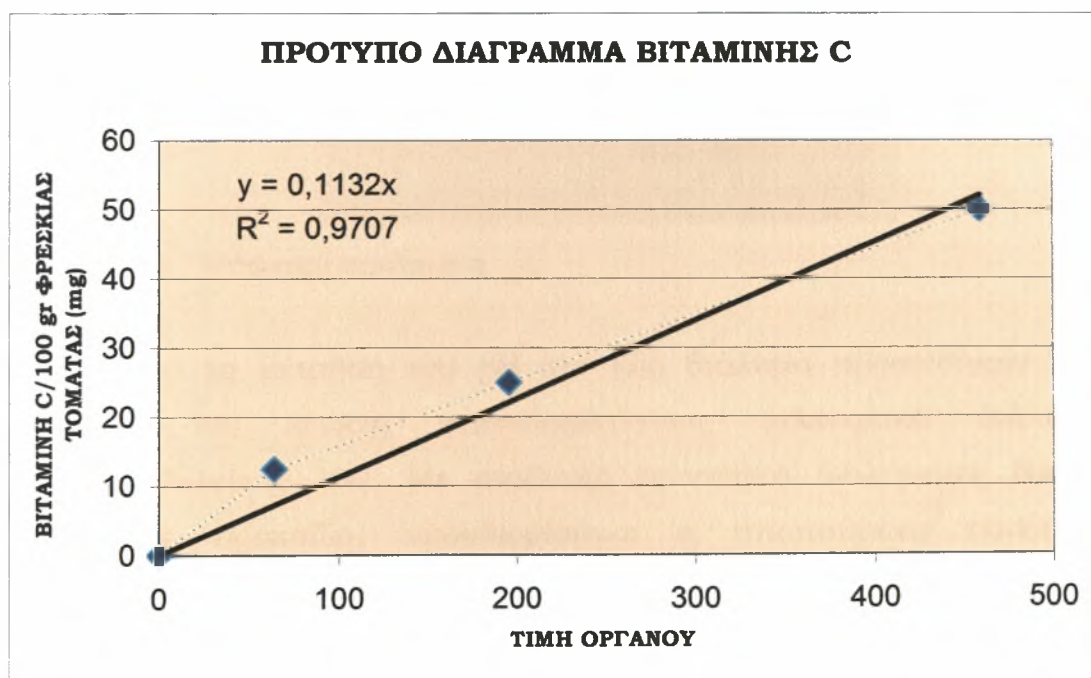
**Πίνακας 3.** Αντιστοιχία της ένδειξης του διαθλασίμετρου και της περιεκτικότητας της βιταμίνης C σε 100 g νωπού βάρους τομάτας

Ένδειξη οργάνου	mg βιταμίνης C / 100 g νωπού βάρους
459	50
195	25
64	12.5
0	0

Η ένδειξη της συσκευής χρησιμοποιήθηκε στην εξίσωση:

$$\Psi = 0,1644X$$

Η εξίσωση παριστάνει ευθεία που περνά από την αρχή των αξόνων και παριστάνεται στο διάγραμμα 1.



**Διάγραμμα 1.** Πρότυπο διάγραμμα βιταμίνης C

Όπου X η τιμή της βιταμίνης C (mg) η οποία προέκυψε από τη μετατροπή της ένδειξης της συσκευής ώστε να γίνεται αναφορά σε βάρος δείγματος τομάτας 100 g και Y η περιεκτικότητα των καρπών σε βιταμίνης C (mg/100g φρέσκου βάρους τομάτας).

### 2.7.2 PH - Οξύτητα

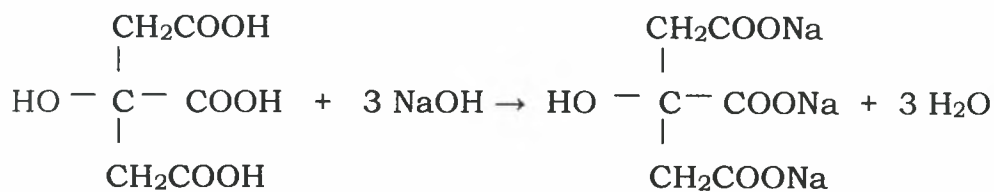
Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στις 16/9/2005 (119 DAT). Για τη μέτρηση του PH οι κόπηκαν σε 4 τεταρτημόρια και επιλέχθηκαν τα 2 διαγώνια από κάθε καρπό. Έτσι για κάθε δείγμα τα 6 τμήματα καρπών ομογενοποιήθηκαν σε αναμείκτη. Στη συνέχεια το διάλυμα διηθήθηκε με τη βοήθεια ενός κομματιού γάζας και 10 ml του διηθήματος σε ογκομετρικό σωλήνα χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση του pH με ψηφιακό πεχάμετρο, αφού πρώτα αυτό έχει στανταριστεί με buffers με pH 4 και 7.



**Εικόνα 13.** Ψηφιακό πεχάμετρο

Μετά τη μέτρηση του pH στο ίδιο διάλυμα προστέθηκαν 2-3 σταγόνες του δείκτη φαινυλοφθαλείνης (αλκοολικό διάλυμα φαινυλοφθαλείνης 1%). Με σταδιακή προσθήκη διαλύματος NaOH 0,1N, με προχοΐδα, προσδιορίστηκε η απαιτούμενη ποσότητα διαλύματος NaOH, ώστε να εξουδετερωθεί το διάλυμα του χυμού, μέχρις ότου δηλαδή το χρώμα του διαλύματος να γίνει μοβ-κόκκινο. Πολλαπλασιάζοντας τον όγκο του διαλύματος του NaOH με τον συντελεστή 0,064 υπολογίστηκε η περιεκτικότητα του χυμού σε % κιτρικό οξύ. Ο συντελεστής αυτός υπολογίστηκε με βάση τα ml του χυμού που χρησιμοποιήθηκαν, την κανονικότητα του διαλύματος του NaOH και το γραμμοίσοδύναμο του οξέος.

Παρακάτω αναφέρεται λεπτομερώς η αντίδραση της εξουδετέρωσης και ο υπολογισμός της οξύτητας στον τοματοχυμό.



M.B. 192

M.B. 40

κιτρικό νάτριο

δηλαδή, 192 g κιτρικού οξέος εξουδετερώνονται από 3 x 40 g NaOH

ή 64 g κιτρικού οξέος εξουδετερώνονται από 40 g NaOH

ή 6,4 g κιτρικού οξέος εξουδετερώνονται από 4 g NaOH

Τα 1000 ml 0,1N NaOH περιέχουν 4 g NaOH και αφού από την αντίδραση προκύπτει ότι 4 g NaOH εξουδετερώνουν 6,4 g κιτρικού οξέος θα έχουμε:

**1000 ml 0,1N NaOH εξουδετερώνουν 6,4 g κιτρικού οξέος**

**K X;**

$$\mathbf{X = K * 0,064}$$

Όπου K = ml NaOH που καταναλώθηκαν για κάθε εξεταζόμενη ποικιλία.

### 2.7.3 Μέτρηση σκληρότητας – συνεκτικότητας καρπού

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε στις 16/9/2005 (119 DAT). Συγκομίστηκαν πέντε αντιπροσωπευτικοί καρποί από κάθε ποικιλία και διατηρήθηκαν στο ψυγείο μέχρι να πραγματοποιηθούν οι μετρήσεις. Ιδιαίτερη προσπάθεια δόθηκε ώστε οι καρποί να είναι στο ίδιο στάδιο ωρίμανσης, δηλαδή στο στάδιο όπου οι καρποί είναι κόκκινοι και χωρίς τραυματισμούς. Για τη μέτρηση της σκληρότητας χρησιμοποιήθηκε το πενετόμετρο μοντέλο FT 011 Italy Bishop, και εφαρμόστηκε σε δυο πλευρές κάθε καρπού αντιδιαμετρικά. Το όργανο τοποθετούνταν στην επιφάνεια του καρπού και πιέζοντας το, υπολογίζονταν η αντίσταση του σε Kg/cm<sup>2</sup>. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε εφαρμόζοντας ελαφρά και

σταθερά πίεση έως ότου το έμβολο (8mm) βυθίστηκε μέχρι το βάθος της ενδεικτικής γραμμής.

#### **2.7.4 Διαλυτά στερεά συστατικά καρπών**

Οι καρποί, που χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση της σκληρότητας - συνεκτικότητας, κόπηκαν σε 4 τεταρτημόρια και επιλέχθηκαν τα 2 διαγώνια από κάθε καρπό. Έτσι για κάθε δείγμα τα 6 τμήματα καρπών ομογενοποιήθηκαν σε αναμείκτη. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στις 16/9/2005 (119 DAT).

Συγκεκριμένα, λαμβάνονταν 10gr περίπου πολτού και διηθούνταν με τη βοήθεια ενός κομματιού χαρτιού. Το διήθημα αυτό τοποθετούνταν στη γυάλινη πλάκα ενός διαθλασίμετρου για τη μέτρηση των διαλυτών στερεών συστατικών. Το διαθλασίμετρο που χρησιμοποιήθηκε γι' αυτό το σκοπό ήταν φορητό με διαβαθμίσεις 0,2 της κλίμακας.

## **2.8 Μοριακή ανάλυση γενότυπων τομάτας με χρήση δεικτών τύπου RAPDs**

### **2.8.1 Προετοιμασία δειγμάτων - Τεχνική απομόνωσης DNA**

Το γενωμικό DNA απομονώθηκε στις 26-27/6/2005 από ιστό νεαρών, υγιών φύλλων τομάτας βάρους 0,3 γρ. για κάθε δείγμα, με την απλή τροποποιημένη CTAB μέθοδο (Böhm et al., 1993). Συγκεκριμένα ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία:

1. Αρχικά τα φύλλα από κάθε ποικιλία κόβονται σε μικρά κομματάκια.
2. Τοποθετούνται σε πορσελάνινα γουδιά όπου ομογενοποιούνται με υγρό άζωτο.
3. Προσθήκη 800 μl CTAB buffer, 10 μl B – mercaptoethanol και 2 μl RNase.
4. Τοποθέτηση στο υδατόλουτρο για 20 λεπτά στους 60° C.
5. Προσθήκη 700-800 μl ισοαμυλική.
6. Φυγοκέντρηση για 25 λεπτά στις 10000rpm.
7. Απομάκρυνση του υπερκείμενου με τη βοήθεια πιπέτας και τοποθέτηση σε άλλο Tube.
8. Προσθήκη 540μl Ισοπροπανόλης (ή τα 2/3 του αρχικού όγκου) και 40μl οξικού αμμωνίου (ή το 1/10 του αρχικού όγκου).
9. Τοποθέτηση στην κατάψυξη για 30 λεπτά.
10. Φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 14000rpm.
11. Απομάκρυνση του υπερκείμενου.
12. Πλύσιμο 2 φορές 900μl EtOH (70 %) και 100μl CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>.
13. Φυγοκέντρηση για 8 λεπτά στις 14000rpm.
14. Απομάκρυνση του υπερκείμενου.
15. Πλύσιμο με απόλυτη αιθανόλη (abs) EtOH και ποσότητα 900μl.
16. Φυγοκέντρηση για 8 min στις 14000rpm.
17. Απομάκρυνση του υπερκείμενου διαλύματος.
18. Στέγνωμα στους 60° C στον συγκεντρωτή για 20 λεπτά με ανοικτά Tube.
19. Διάλυση με 200μl TE buffer.

20. Τοποθέτηση στο ψυγείο.

### 2.8.2 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός του DNA

Η συγκέντρωση του DNA προσδιορίστηκε σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους/ορατού με απορρόφηση των δειγμάτων στα 260 nm. Η φασματοφωτομέτρηση έγινε πριν και μετά την προσθήκη RNAσης. Ο ποιοτικός προσδιορισμός των δειγμάτων έγινε με απορρόφηση στα 280 nm για να εκτιμηθεί το επίπεδο παρουσίας πρωτεϊνών στο δείγμα από το λόγο 260/280nm. Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του DNA των δειγμάτων, υπολογίστηκε στα 182,8 ng/μl. Οι παραπάνω εκτιμήσεις, επιβεβαιώθηκαν και με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης (1%) με πρότυπο δείγμα DNA ως μάρτυρα. Με βάση τα τελικά αποτελέσματα του φασματοφωτόμετρου, έγιναν αραιώσεις στα δείγματα μέχρι τελικού όγκου 10 ngr/μl.

### 2.8.3 Ανάλυση με χρήση εκκινητών τύπου RAPD's

Στα πλαίσια της μοριακής ανάλυσης χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 10 εκκινητές (primers) με τυχαία νουκλεοτιδική ακολουθία, της σειράς, OPC της εταιρείας OPERON.

**Πίνακας 4.** Τύπος και αλληλουχία των RAPD εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν

RAPD εκκινητής	Αλληλουχία
OPC3	5'-GGGGGTCTTT-3'
OPC4	5'-CCGCATCTAC-3'
OPC5	5'-GATGACCGCC-3'
OPC6	5'-GAACGGACTC-3'
OPC8	5'-TGGACCGGTG-3'
OPC9	5'-TGGACCGGTG-3'
OPC10	5'-TGTCTGGGTG-3'
OPC11	5'-GTAGACCCGT-3'
OPC16	5'-CACACTCCAG-3'
OPC19	5'-GTTGCCAGCC-3'



Σε κάθε Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR), χρησιμοποιήθηκαν :

- \* 20 ng (2μl) γενωμικού DNA σαν μήτρα
- \* 2.5 μl από 10x PCR buffer (Minotech)
- \* 4 μl από 10-νουκλεοτιδικό RAPD εκκινητή (Operon Tech.)
- \* 2,5μl από 25 mM MgCl<sub>2</sub>
- \* 2 μl από 2,5 μM dNTPs
- \* 0,2 μl από Taq DNA πολυμεράσης (Minotech)
- \* απεσταγμένο νερό (11,8μl από ddH<sub>2</sub>O)
- \* Η αντίδραση ρυθμίστηκε σε 25 μl τελικό όγκο

**Πίνακας 5.** Οι συνθήκες της αντίδρασης PCR

	Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (min)	Κύκλοι
Προ-αποδιάταξη	94	6	35
Αποδιάταξη	94	1	
Υβριδισμός	36	1	
Σύνθεση	72	1,3	
Τελική Σύνθεση	72	7	

Από κάθε γενότυπο χρησιμοποιήθηκαν 18 μl από τα προϊόντα της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης τα οποία αναμειχθηκαν με 3μl διαλύματος φόρτωσης. Ο τελικός όγκος σε κάθε πηγαδάκι της πηκτικής αγαρόζης (1%) ήταν 16-17 μl ενώ η τάση που εφαρμόστηκε ήταν 80Volt με διάρκεια 1ώρα. Με την προσθήκη βρωμιούχου αιθιδίου και μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης, η πηκτική εκτέθηκε σε υπεριώδη ακτινοβολία και έγινε η καταγραφή των πολυμορφισμών στα δείγματα.

## 2.9 Μέτρηση έντασης προσβολής από το ωίδιο της τομάτας

Για την μέτρηση της έντασης της ασθένειας επιλέχτηκαν τυχαία επιτά φυτά από κάθε ποικιλία. Στα φυτά αυτά η ένταση της ασθένειας μετρήθηκε ως ποσοστό της επιφάνειας των φύλλων που φέρουν εμφανή συμπτώματα της ασθένειας (κηλίδες κιτρινοπράσινες, κίτρινες ή αποξηραμένες). Η κλίμακα που χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση της έντασης της ασθένειας πάνω στα φύλλα παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα και έγινε προσαρμογή από τον Α.Χ.Παππά το 1982.

**Πίνακας 6.** Κλίμακα μέτρησης της έντασης της ασθένειας

Ένταση της ασθένειας	Επιφάνεια φύλλου που φέρει κηλίδες %	Μέση προσβολή
0	0	0
1	1-33	16,5
2	33-66	49,5
3	66-100	83

Για την μέτρηση αυτή χρησιμοποιήθηκαν τα φυλλάρια από κάθε φύλλο που συλλέχτηκε. Από το κάθε φυτό συλλέχτηκαν δέκα φύλλα από το μέσο του φυτού. Συνολικά μελετήθηκαν 7 φυτά από κάθε ποικιλία. Στη συνέχεια προσκομίστηκαν στο εργαστήριο όπου έγινε η εκτίμηση τους, βάσει της παραπάνω κλίμακας. Για κάθε φυτό υπολογίστηκε το ποσοστό της προσβεβλημένης φυλλικής επιφάνειας βάσει της εξής αναλογίας:

$$\text{Προσβεβλημένη φυλλική επιφάνεια \%} = (16,5V_1 + 49,5V_2 + 83V_3)/N$$

Όπου,  $V_1, V_2, V_3$  = ο αριθμός προσβεβλημένων φυλλαρίων για κάθε βαθμό αντίστοιχα

$N$  = ο συνολικός αριθμός των φυλλαρίων που αξιολογήθηκαν

Η πρώτη μέτρηση της έντασης της ασθένειας στο πειραματικό τεμάχιο έγινε στις 9 Οκτωβρίου και η δεύτερη στις 30 Οκτωβρίου, ενώ τα πρώτα συμπτώματα της ασθένειας εμφανίστηκαν στις 19 Σεπτεμβρίου.

Μυκητοκτόνα δεν χρησιμοποιήθηκαν για να διαπιστωθεί αντικειμενικά η ανθεκτικότητα των ποικιλιών που μελετήθηκαν στο ωίδιο, που προκαλείται από το μύκητα *Leveillula taurica*.

## **2.10 Στατιστική ανάλυση**

### **2.10.1 Στατιστική ανάλυση μοριακών δεδομένων**

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 φυλογενετικών σχέσεων με την μέθοδο Neighbourjoining και με την μέθοδο UPGMA (Unrooted Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean). Τελικά επιλέχθηκε η μέθοδος UPGMA ως η καταλληλότερη και περισσότερο αντιπροσωπευτική για τα δεδομένα.

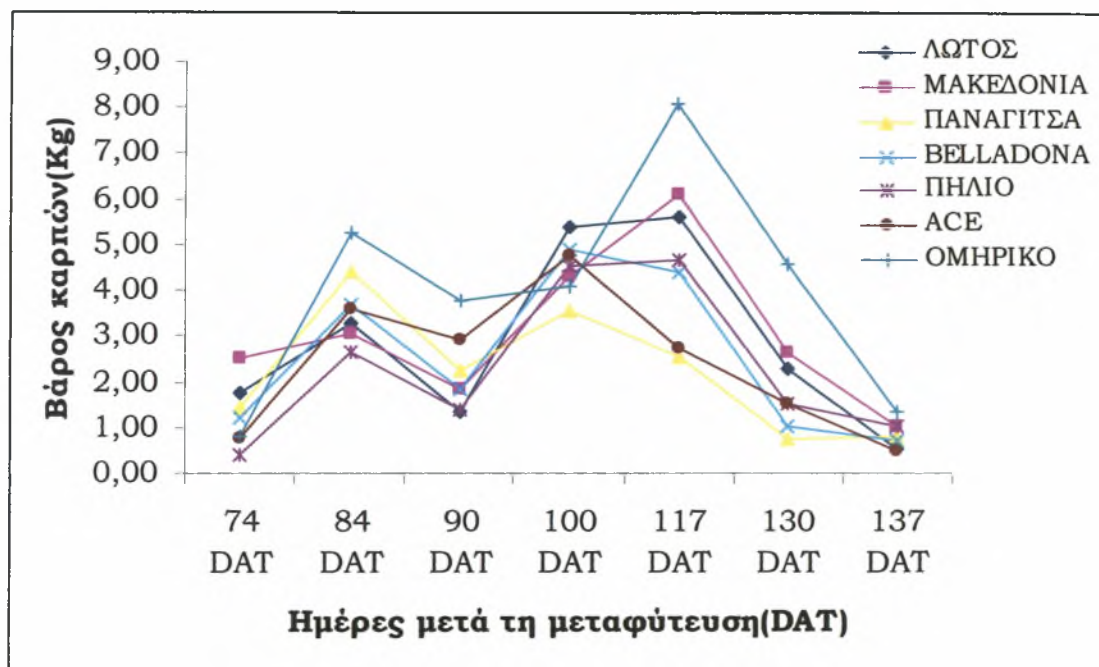
### **2.10.2 Στατιστική ανάλυση μορφολογικών, φυσικοχημικών και οργανοληπτικών δεδομένων**

Στα δεδομένα των μορφολογικών, φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών έγινε ανάλυση παραλλακτικότητας (Factorial ANOVA-Two Factor Randomized Complete Block Design) με τη βοήθεια του προγράμματος SPSS 12.0. Επιπλέον έγινε ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA-2) με τη βοήθεια του ίδιου προγράμματος και ανάλυση με διαγράμματα με τη βοήθεια του Excell. Τέλος, στα δεδομένα των φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών έγινε Ανάλυση ομαδοποίησης (Cluster analysis) και Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (Principal Components Analysis- PCA) με τη βοήθεια του προγράμματος JMP 5.0.1.

### **3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

### 3.1 Απόδοση

Το βάρος των καρπών μετρήθηκε συνολικά σε 7 συγκομιδές. Υπολογίστηκε η απόδοση κάθε συγκομιδής για κάθε ποικιλία, η συνολική απόδοση κάθε ποικιλίας και το βάρος των καρπών ανά φυτό (Πίνακας 7). Επίσης υπολογίστηκε ο αριθμός των καρπών ανά συγκομιδή, ο συνολικός αριθμός καρπών κάθε ποικιλίας και ο αριθμός των καρπών ανά φυτό (Πίνακας 8).

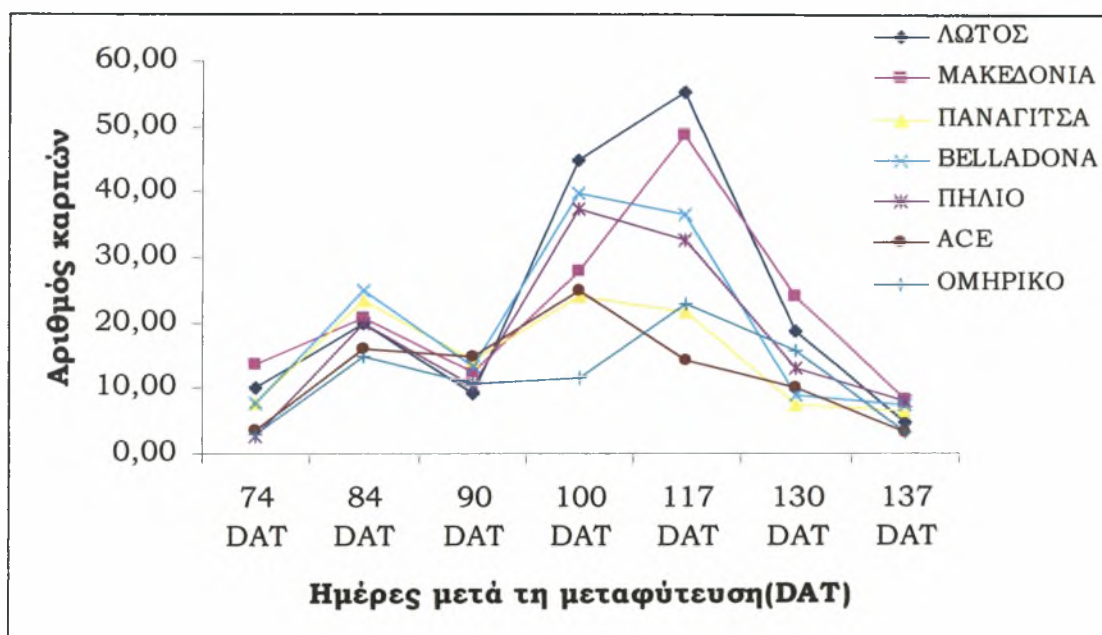


**Διάγραμμα 2.** Βάρος καρπών ανά ποικιλία σε επτά συγκομιδές

Από τη στατιστική ανάλυση των μετρήσεων όσον αφορά το βάρος των καρπών, πρόεκυψε ότι υπάρχει στατιστική σημαντική διάφορα μεταξύ των επτά ποικιλιών στην 1<sup>η</sup> και στην 3<sup>η</sup> συγκομιδή ενώ στις υπόλοιπες συγκομιδές καθώς και στη συνολική και στο βάρος των καρπών ανά φυτό δεν παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών.

Συγκεκριμένα στην 1<sup>η</sup> συγκομιδή, η οποία πραγματοποιήθηκε στις 74 ημέρες μετά τη συγκομιδή (DAT), η εμπορική ποικιλία Μακεδονία έχει την μεγαλύτερη απόδοση (2,54 Kg), γεγονός που την καθιστά πρωιμότερη. Στη συνέχεια ακολουθούν σε πρωιμότητα, Λωτός (1,78 Kg) Παναγίτσα (1,44 Kg), Belladonna (1,20 Kg), Ομηρικό (0,81 Kg), Ace (0,78

Kg) και τέλος Πήλιο (0,39 Kg). Όσον αφορά την 3<sup>η</sup> συγκομιδή(90 DAT) την μεγαλύτερη απόδοση έχει η ποικιλία Ομηρικό (3,78 Kg) ενώ την μικρότερη η ποικιλία Λωτός (1,36 Kg). Η παραγωγικότερη περίοδος για την καλλιέργεια της τομάτας, όπως διακρίνουμε στο διάγραμμα 1, είναι από τις 84 DAT έως τις 117 DAT. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου η παραδοσιακή ποικιλία Ομηρικό φαίνεται να είναι η υψηλοαποδοτικότερη όσον αφορά το βάρος των καρπών (27,94 Kg) , με την υψηλότερη απόδοση στις 117 DAT, ενώ την μικρότερη απόδοση φαίνεται να έχει η παραδοσιακή ποικιλία Παναγίτσα (15,77 Kg). Γενικά, την μεγαλύτερη παραγωγή είχαμε στις 117 DAT.



**Διάγραμμα 3.** Αριθμός καρπών ανά ποικιλία σε επτά συγκομιδές

Από τη στατιστική ανάλυση των μετρήσεων όσον αφορά τον αριθμό των καρπών, προέκυψε ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των επτά ποικιλιών στην 1<sup>η</sup>, στην 5<sup>η</sup> συγκομιδή, στη συνολική απόδοση, καθώς και στον αριθμό των καρπών ανά φυτό ενώ στις υπόλοιπες συγκομιδές δεν παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών.

Συγκεκριμένα στην 1<sup>η</sup> συγκομιδή (74 DAT) η εμπορική ποικιλία Μακεδονία έχει τη μεγαλύτερη παραγωγή καρπών (13,67) και θεωρείται πρωιμότερη σε σχέση με τις υπόλοιπες, ενώ την μικρότερη παραγωγή

καρπών έχει η παραδοσιακή ποικιλία Πήλιο (2,67). Στην 5<sup>η</sup> συγκομιδή (117 DAT), όπου είχαμε και την μεγαλύτερη παραγωγή καρπών, η παραδοσιακή ποικιλία Λωτός έχει τον μεγαλύτερο αριθμό καρπών (55,33), ενώ το μικρότερο η εμπορική ποικιλία Ace (14,33). Όσον αφορά τη συνολική παραγωγή καρπών μεγαλύτερη παραγωγή έχει η παραδοσιακή ποικιλία Λωτός (163) και ακολουθεί η εμπορική ποικιλία Μακεδονία (155,67), έως την χαμηλότερη παραγωγή έχει η παραδοσιακή ποικιλία Ομηρικό (82,33). Τέλος, οι παραδοσιακές ποικιλίες Πήλιο και Λωτός και η εμπορική ποικιλία Μακεδονία παρουσιάζουν το μεγαλύτερο αριθμό καρπών ανά φυτό, ενώ το μικρότερο αριθμό καρπών ανά φυτό φαίνεται να έχουν η παραδοσιακή ποικιλία Ομηρικό και η εμπορική Ace.





**Πίνακας 7.** Μέσοι όροι της απόδοσης για τις επτά συγκομιδές, μέση συνολική απόδοση και εκτίμηση του μέσου βάρους καρπών ανά φυτό.

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	ΒΑΡΟΣ ΚΑΡΠΩΝ ΑΝΑ ΦΥΤΟ								
	1η ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (74 DAT)	2η ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (84 DAT)	3η ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (90 DAT)	4η ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (100 DAT)	5η ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (117 DAT)	6η ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (130 DAT)	7η ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (137 DAT)		
<b>ΛΩΤΟΣ</b>	1.78bc	3.29a	1.36a	5.42a	5.61ab	2.31ab	0.54a	20.31ab	1.89ab
<b>ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ</b>	2.54c	3.06a	1.85ab	4.30a	6.11ab	2.67ab	1.02a	21.55ab	2.01ab
<b>ΠΑΝΑΓΥΤΣΑ</b>	1.44abc	4.42a	2.26ab	3.54a	2.57a	0.74a	0.81a	15.77a	1.64a
<b>BELLADONA</b>	1.20ab	3.70a	1.85ab	4.89a	4.43ab	1.05a	0.73a	17.84a	1.67a
<b>ΠΗΛΙΟ</b>	0.39a	2.68a	1.37a	4.52a	4.68ab	1.53a	1.05a	16.22a	1.98ab
<b>ACE</b>	0.78ab	3.61a	2.94bc	4.78a	2.72a	1.52a	0.50a	16.86a	1.54a
<b>ΟΜΗΡΙΚΟ</b>	0.81ab	5.26a	3.78c	4.10a	8.08b	4.57b	1.34a	27.94b	2.51b
<b>G.M.O.</b>	1.28	3.72	2.20	4.51	4.89	2.06	0.85	19.50	1.89
<b>Sx</b>	0.39	0.96	0.47	1.24	1.34	0.89	0.29	2.89	0.24
<b>LSD 0,5</b>	1.17	2.93	1.42	3.78	4.06	2.71	0.89	8.77	0.74
<b>CV%</b>	35.27	75.13	30.00	103.13	109.97	116.19	30.42	128.51	9.25
<b>Fx</b>	**	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Οι αριθμοί που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Duncan (επίπεδο σημαντικότητας P = 0,05)

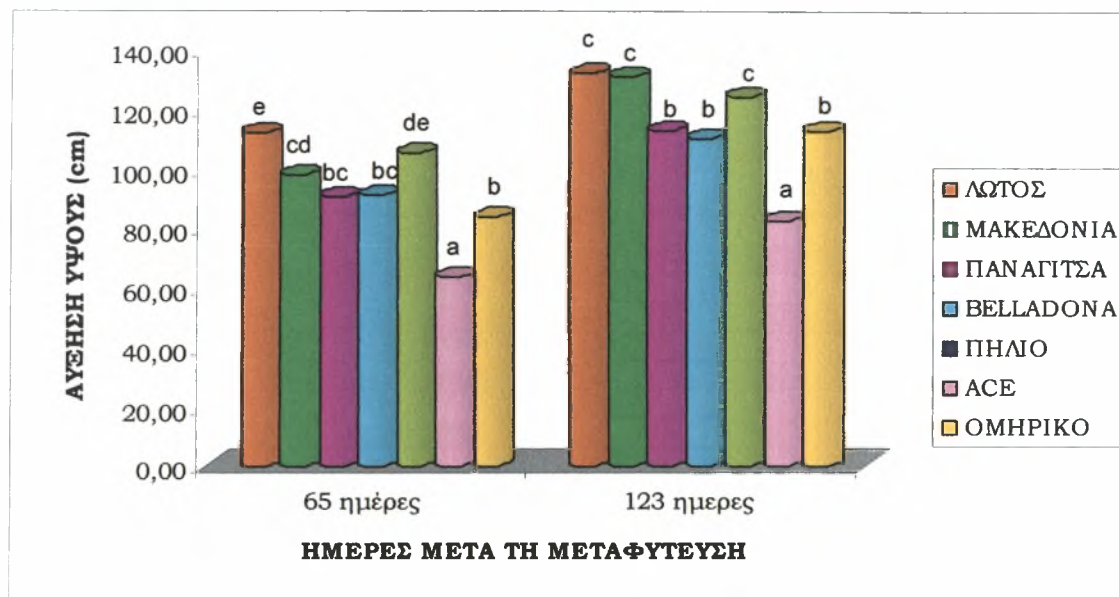
**Πίνακας 8.** Μέσοι όροι παραγωγής καρπών για τις επτά συγκομιδές, μέση συνολική παραγωγή και εκτίμηση του μέσου αριθμού καρπών ανά φυτό.

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	1η	2η	3η	4η	5η	6η	7η	ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ
	ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (74 DAT)	ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (84 DAT)	ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (90 DAT)	ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (100 DAT)	ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (117 DAT)	ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (130 DAT)	ΣΥΓΚΟΜΙΔΗ (137 DAT)	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΡΠΩΝ	ΑΝΑ ΦΥΤΟ
<b>ΛΩΤΟΣ</b>	10,00bc	20,00a	9,33a	45,00b	55,33c	18,67ab	4,67a	163,00c	14,27c
<b>ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ</b>	13,67c	20,67a	12,33a	28,00ab	48,67bc	24,00b	8,33a	155,67bc	14,30c
<b>ΠΑΝΑΓΙΤΣΑ</b>	7,67abc	23,33a	14,33a	24,00ab	21,67a	7,33a	6,67a	105,00ab	9,77ab
<b>BELLADONA</b>	7,67abc	25,00a	13,33a	39,67b	36,67abc	9,00a	7,33a	138,67abc	12,52bc
<b>ΠΗΛΙΟ</b>	2,67a	20,00a	10,33a	37,33ab	32,67ab	13,00ab	8,00a	124,00abc	14,42c
<b>ACE</b>	3,67ab	16,00a	15,00a	25,00ab	14,33a	10,00a	3,33a	87,33a	8,12a
<b>ΟΜΗΡΙΚΟ</b>	3,00a	15,00a	10,67a	11,67a	23,00a	15,67ab	3,33a	82,33a	7,42a
<b>Γ.Μ.Ο.</b>	6,90	20,00	12,19	30,10	33,19	13,95	5,95	122,29	11,55
<b>Sx</b>	2,08	4,48	2,14	2,14	7,96	6,73	4,13	2,43	1,10
<b>LSD 0,5</b>	6,30	13,58	6,49	24,13	20,41	12,52	7,37	51,42	3,40
<b>CV%</b>	187,58	300,48	112,50	630,85	409,33	366,55	297,60	704,95	31,60
<b>Fx</b>	*	ns	ns	ns	**	ns	ns	*	***

Οι αριθμοί που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Duncan (επίπεδο σημαντικότητας P = 0,05)

### 3.2 Ύψος φυτών

Το ύψος των φυτών μετρήθηκε σε 2 χρονικά διαστήματα και συγκεκριμένα στις 65 και 123 ημέρες μετά τη μεταφύτευση (DAT). Οι μέσοι όροι του ύψους ανά ποικιλία παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 4 και στον Πίνακα 9.



**Διάγραμμα 4.** Μέσο ύψος φυτών σε 2 χρονικά διαστήματα για τις εξεταζόμενες ποικιλίες

Έπειτα από στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων των επτά μεταχειρίσεων (ποικιλίες) ως προς το ύψος των φυτών, βρεθήκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές με επίπεδο σημαντικότητας 5%. Έτσι τα ψηλότερα φυτά ήταν αυτά των παραδοσιακών ποικιλιών Λωτός και Πήλιο και της εμπορικής ποικιλίας Μακεδονία ενώ τα πιο κοντά ήταν της εμπορικής ποικιλίας Ace, όπως προκύπτει και από τις δυο μετρήσεις.

**Πίνακας 9.** Στατιστική ανάλυση και μέσο ύψος φυτών τομάτας των εξεταζόμενων ποικιλιών

Ποικιλίες	1 <sup>η</sup> μέτρηση (65 DAT)	2 <sup>η</sup> μέτρηση(123 DAT)
	$x \pm Sx$	$x \pm Sx$
<b>ΛΩΤΟΣ</b>	112,26±9,41e	132±9,6c
<b>ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ</b>	98±10,10cod	130,93±14,12c
<b>ΠΑΝΑΓΙΤΣΑ</b>	90,67±18,62bc	112,93±14,24b
<b>BELLADONA</b>	91±6,81bc	110±9,54b
<b>ΠΗΛΙΟ</b>	105,03±10,64de	124,17±12,68c
<b>ACE</b>	63,33±6,41a	82,73±8,8a
<b>ΟΜΗΡΙΚΟ</b>	83,66±9,71b	112,8±11,74b
<b>Γ.Μ.Ο.</b>	92,00	115,08
<b>Sx</b>	2,9	2,98
<b>LSD 0,5</b>	8,29	8,53
<b>CV%</b>	27,44	23,21
<b>Fx</b>	**	**

☛ Οι αριθμοί που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Duncan (επίπεδο σημαντικότητας P = 0,05)

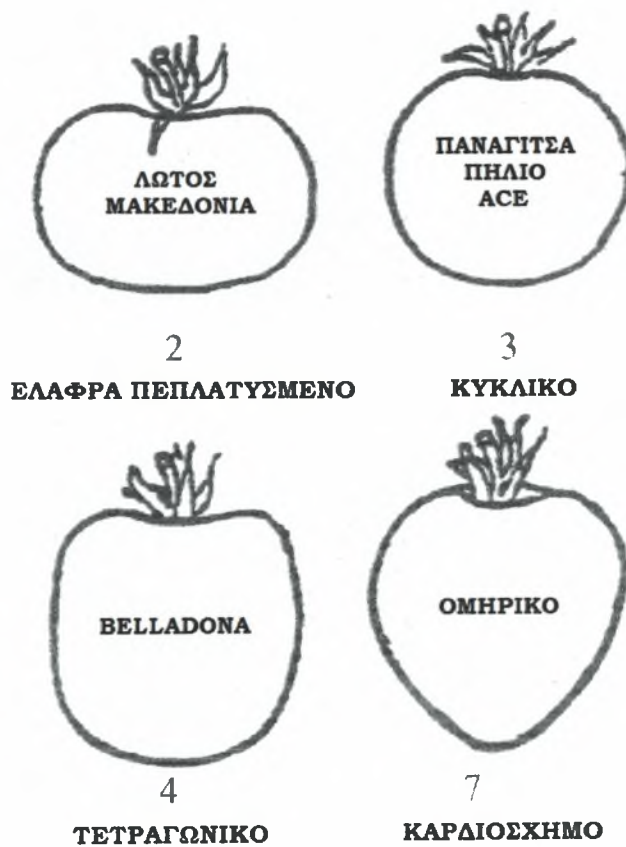
### 3.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά κατά UPOV

#### 3.3.1 Τύπος ταξιανθίας, χρώμα άνθους και ζώνη αποκοπής

Σύμφωνα με τον οδηγό για τον τύπο ταξιανθίας που περιλαμβάνεται στην κατάταξη UPOV, οι εμπορικές ποικιλίες Belladonna, Ace και η παραδοσιακή Ομηρικό ανήκουν στην 1<sup>η</sup> κατηγορία που είναι ο mainly uniparous τύπος, ενώ η εμπορική ποικιλία Μακεδονία και οι παραδοσιακές Παναγίτσα, Πήλιο και Λωτός ανήκουν στον ενδιάμεσο τύπο. Όσον αφορά το χρώμα των ανθέων σε όλες τις εξεταζόμενες ποικιλίες είναι κίτρινο. Επίσης, σε όλες τις ποικιλίες καταγράφηκε η παρουσία της ζώνης αποκοπής στο βλαστικό στέλεχος που συνδέει τον καρπό με τον κύριο βλαστό του φυτού.

### 3.3.2 Σχήμα καρπών

Σύμφωνα με τον οδηγό για τα σχήματα που περιλαμβάνεται στην κατάταξη ΥΡΟΝ, στους περισσότερους γενότυπους το σχήμα των καρπών κυμαίνεται από 2 έως 3 δηλαδή από ελαφρά πεπλατυσμένο έως κυκλικό εκτός από τις ποικιλίες Belladonna και Ομηρικό, όπως φαίνεται στην εικόνα 14. Η ποικιλία Belladonna είχε ορθογώνιο σχήμα (5) καρπών, ενώ η ποικιλία Ομηρικό καρδιάσχημο(7).



**Εικόνα 14.** Σχήμα καρπού των εξεταζόμενων ποικιλιών

### 3.3.3 Αναλογία και έκταση 'Πράσινου Ώμου'

Η χαμηλή τιμή στην ένταση καθώς και στην έκταση του 'Πράσινου Ώμου' είναι χαρακτηριστικά επιθυμητά γιατί εκφράζουν την ομοιόμορφη ωρίμανση και χρωματισμό του καρπού. Μετά από εξέταση των καρπών για την αναλογία και έκταση του πράσινου ωμού συμφωνά με την κατάταξη UPOV, είδαμε πως όλες οι ποικιλίες εμφάνισαν 'πράσινο ωμό'. Οι ποικιλίες Μακεδονία, Παναγίτσα και Belladona παρουσίασαν χαμηλή ένταση (small), οι Λωτός και Ace μεσαία ένταση (medium) και η Ομηρικό εμφάνισε υψηλή ένταση όσο και έκταση (large).

### 3.3.4 Χρώμα ώριμων καρπών και σάρκας

Σύμφωνα με τον οδηγό για το χρώμα που περικλείεται στην κατάταξη UPOV μπορούμε να κατατάξουμε τις ποικιλίες στις εξής κατηγορίες (Εικόνα 15):

Πορτοκαλί - κόκκινο → Belladona, Ace, Λωτός

Κόκκινο → Ομηρικό, Μακεδονία, Παναγίτσα, Πήλιο



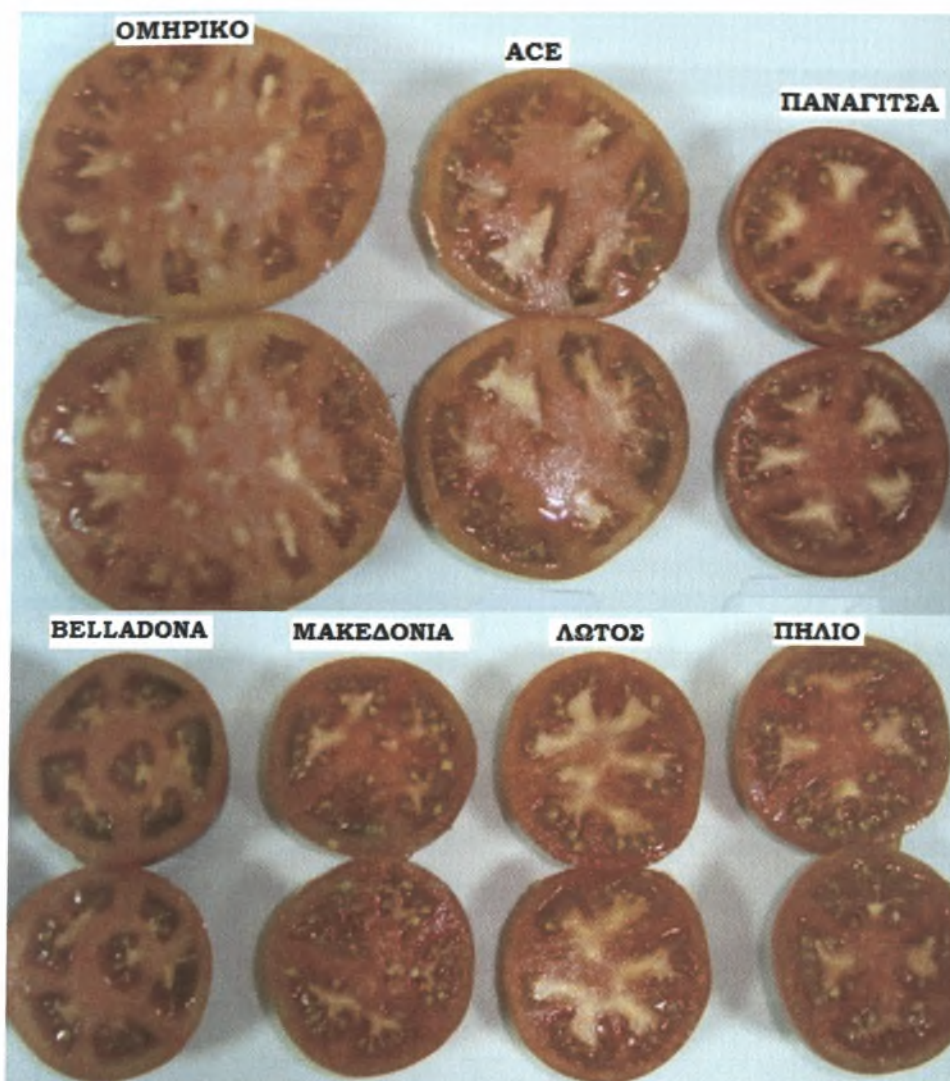
**Εικόνα 15.** Εξωτερική μορφολογία καρπών εξεταζόμενων ποικιλιών

Όσον αφορά το χρώμα της σάρκας συμφωνά με την κατάταξη UPOV μπορούμε να κατατάξουμε τις ποικιλίες στις εξής κατηγορίες (Εικόνα 16):

Ροζ → Ομηρικό, Ace

Πορτοκαλί - κόκκινο → Μακεδονία, Λωτός, Πήλιο

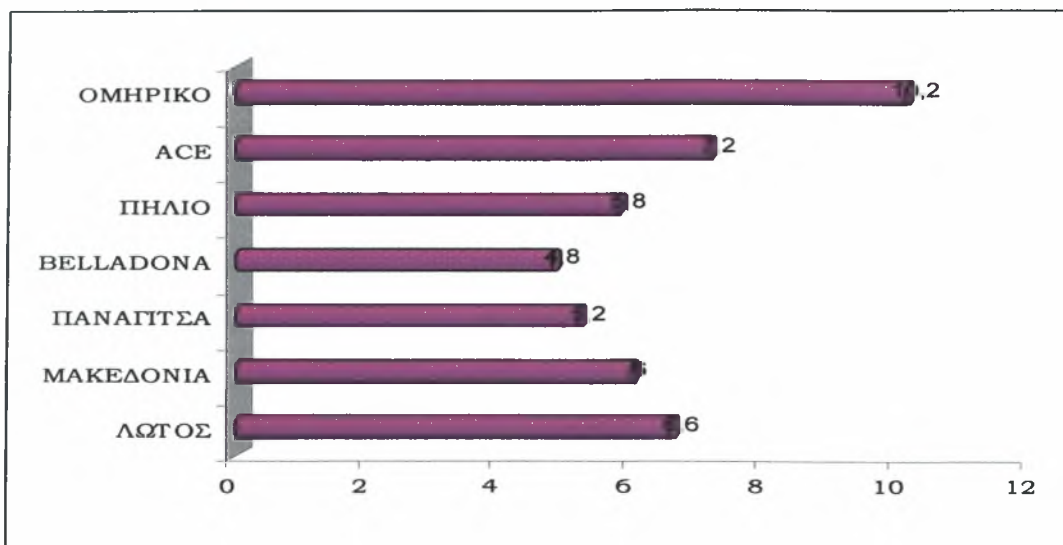
Κόκκινο → Παναγίτσα, Belladona



**Εικόνα 16.** Καρποί εξεταζόμενων ποικιλιών σε τομή

### 3.3.5 Αριθμός κοιλοτήτων

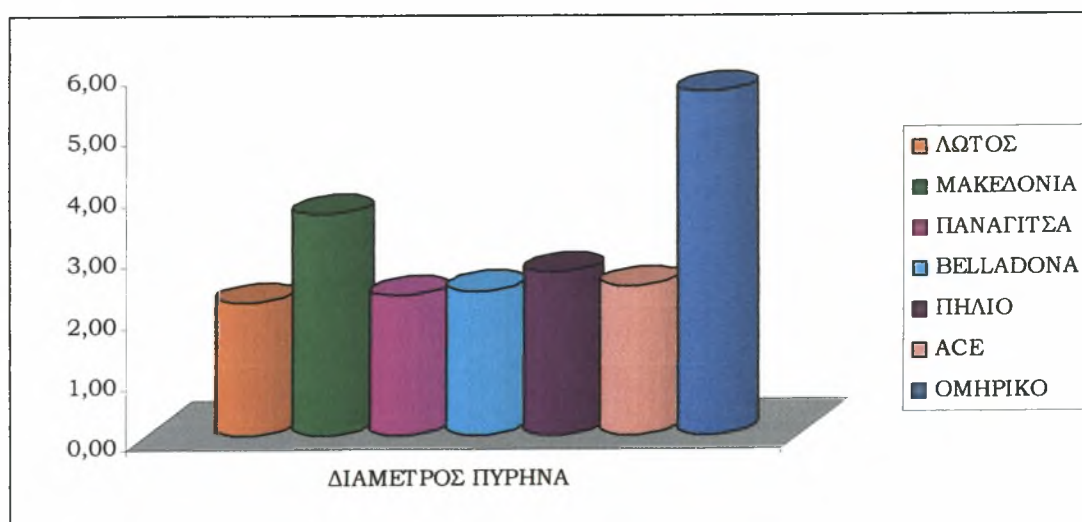
Οι ποικιλίες Ομηρικό και Ace όπως φαίνεται στην Εικόνα 16 καθώς και στο Διάγραμμα 5 έχουν μεγάλο μέγεθος καρπών και πολύχωρες ωθήκες με μέσο ορό αριθμού κοιλοτήτων 10,2 και 7,2 αντίστοιχα. Μετά από ανάλυση παραλλακτικότητας (Πίνακας 10) προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στον αριθμό των κοιλοτήτων με την ποικιλία Belladonna να φέρει τις λιγότερες (4,8) και την ποικιλία Ομηρικό τις περισσότερες (10,2).



**Διάγραμμα 5.** Αριθμός κοιλιοτήτων σε οριζόντια τομή του καρπού

### 3.3.6 Διάμετρος πυρήνα και πάχος περικαρπίου

Η διάμετρος του πυρήνα καθώς και το πάχος του περικαρπίου εκφράζει την συνεκτικότητα του καρπού. Όπως φαίνεται από το Διάγραμμα 6, οι ποικιλίες Μακεδονία και Ομηρικό που είχαν τη μεγαλύτερη διάμετρο πυρήνα είχαν και τους συνεκτικότερους καρπούς.

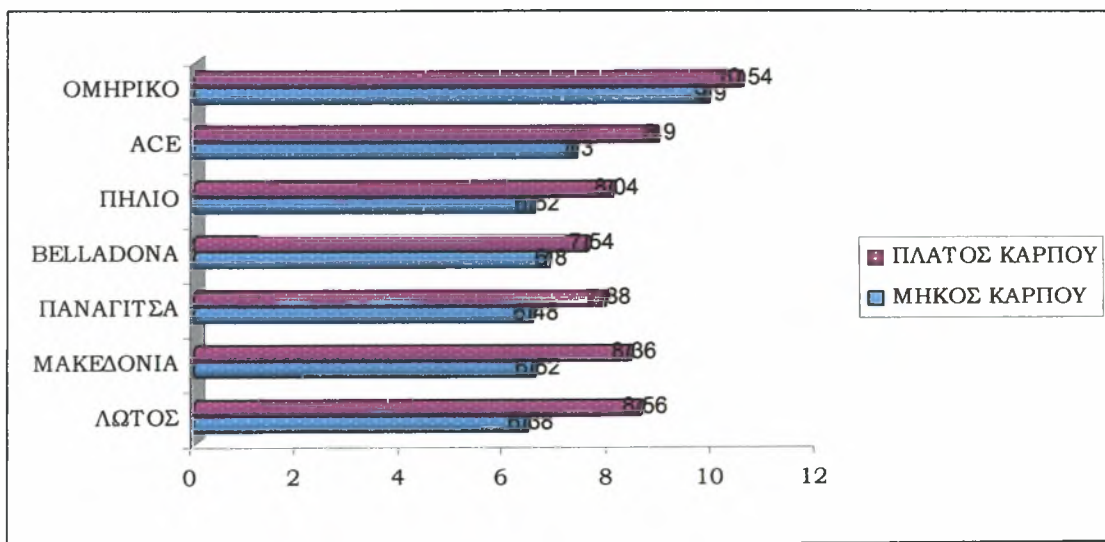


**Διάγραμμα 6.** Διάμετρος πυρήνα



### 3.3.7 Μήκος και πλάτος καρπών

Μετά από ανάλυση παραλλακτικότητας του μήκους και του πλάτους των καρπών (Πίνακας 10) προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Συμφωνά με το κριτήριο Duncan οι ποικιλίες Λωτός, Παναγίτσα και Πήλιο στα ίδια επίπεδα με τις εμπορικές ποικιλίες Μακεδονία και Belladonna, ενώ την υψηλότερη τιμή παρουσιάζει η ποικιλία Ομηρικό. Το μεγάλο μέγεθος καρπών δεν είναι επιθυμητό χαρακτηριστικό γιατί δεν το προτιμούν οι καταναλωτές, οπότε όλοι οι καρποί που μελετηθήκαν έχουν ικανοποιητικό μέγεθος εκτός από το Ομηρικό.



Διάγραμμα 7. Μήκος – πλάτος καρπών

**Πίνακας 10.** Μέσοι όροι και στατιστικά σημαντικές διαφορές για τα χαρακτηριστικά που καταγράφηκαν κατά ΥΡΟΝ.

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	ΜΗΚΟΣ ΚΑΡΠΟΥ	ΠΛΑΤΟΣ ΚΑΡΠΟΥ	ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ ΠΥΡΗΝΑ	ΠΑΧΟΣ ΠΕΡΙΚΑΡΠΙΟΥ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΟΙΛΟΤΗΤΩΝ	ΜΗΚΟΣ ΦΥΛΛΩΝ (cm)	ΠΛΑΤΟΣ ΦΥΛΛΩΝ (cm)
<b>ΛΩΤΟΣ</b>	6,38a	8,56b	2,18a	0,42a	6,60ab	31,69	25,5
<b>ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ</b>	6,52a	8,36a	3,62b	0,52b	6,00ab	33,38	26,44
<b>ΠΑΝΑΓΙΤΣΑ</b>	6,48a	7,88a	2,28a	0,42a	5,20ab	33,46	25,24
<b>BELLADONA</b>	6,8ab	7,54a	2,36a	0,54b	4,80a	30,83	27,81
<b>ΠΗΛΙΟ</b>	6,52a	8,04a	2,66a	0,48a	5,80ab	33,4	27,63
<b>ACE</b>	7,3b	8,9c	2,44a	0,46a	7,20b	31,89	27,25
<b>ΟΜΗΡΙΚΟ</b>	9,9c	10,54d	5,62c	0,48a	10,20c	33,93	26,53
<b>Γ.Μ.Ο.</b>	7,13	8,55	3,02	0,47	6,54	32,65	26,63
<b>Sx</b>	0,23	0,31	0,3	0,03	0,65	0,82	1,06
<b>LSD 0,5</b>	0,67	0,88	0,85	0,08	1,86	2,34	3,04
<b>CV%</b>	3,86	5,56	14,62	0,84	32,31	20,59	42,39
<b>Fx</b>	***	***	***	*	***	ns	ns

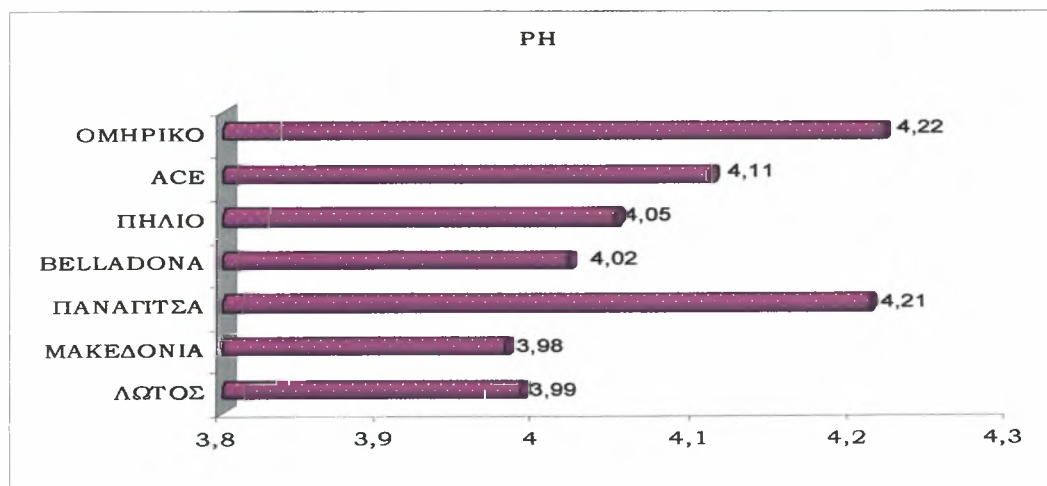
Οι αριθμοί που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Duncan (επίπεδο σημαντικότητας P = 0,05)

### 3.4 Ποιοτικά χαρακτηριστικά καρπών

Οι καρποί των διαφορών μεταχειρίσεων εξεταστήκαν για τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά, δηλαδή πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για τα ΡΗ, οξύτητα (% κιτρικό οξύ), περιεκτικότητα σε σερβικό οξύ(βιταμίνη c), διαλυτά στερεά(%) και αντίσταση της σάρκας στην πίεση. Οι μετρήσεις έγιναν 119 ημέρες μετά τη μεταφύτευση (DAT), αμέσως μετά τη συγκομιδή. Επίσης έγιναν μετρήσεις για συντήρηση των καρπών εντός και εκτός ψυγείου.

#### 3.4.1 ΡΗ

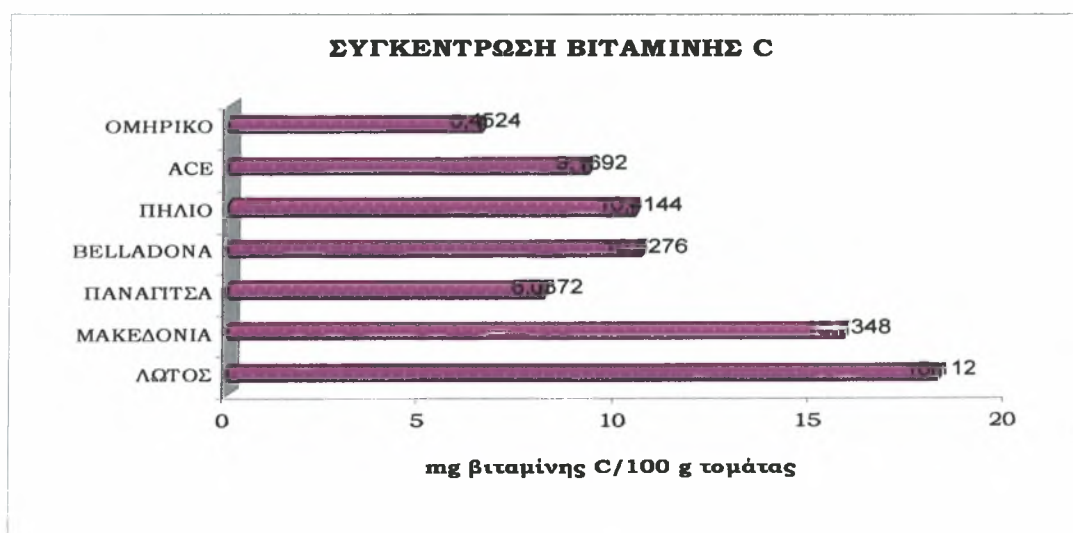
Οι τιμές του ΡΗ παρουσιάζονται φυσιολογικές σε όλες σχεδόν τις ποικιλίες εφόσον βρίσκονται μέσα στα φυσιολογικά επίπεδα που είναι μεταξύ 4,00 – 5,00. Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 8 το μεγαλύτερο ΡΗ έχουν οι ποικιλίες Ομηρικό και Παναγίτσα ενώ λίγο κάτω από τα επιθυμητά όρια βρίσκονται οι ποικιλίες Μακεδονία και Λωτός.



Διάγραμμα 8. Συγκέντρωση ΡΗ

### 3.4.2 Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C)

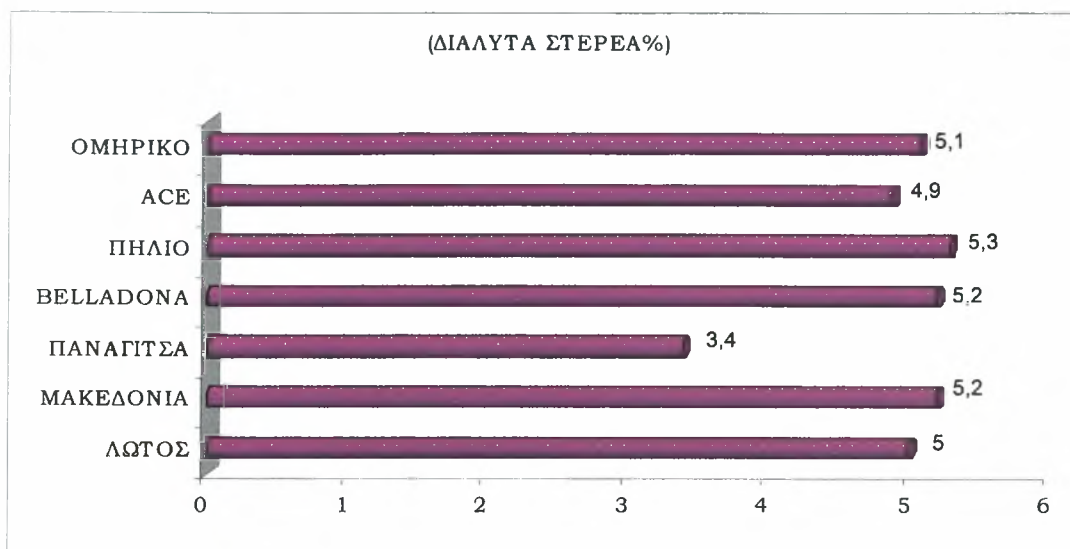
Η περιεκτικότητα των καρπών σε Βιταμίνη C, για όλους τους γενότυπους, κυμάνθηκε σε επίπεδα χαμηλότερα από τη μέση περιεκτικότητα της τομάτας που είναι 25mg Βιταμίνης C /100 g τομάτας, αν και οι τιμές μπορούν να θεωρηθούν ικανοποιητικές αφού σύμφωνα με τους Atherton και Rudich (1986) η τιμή της βιταμίνης C μπορεί να κυμανθεί από 119mg/100g . Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 6, η παραδοσιακή ποικιλία Ομηρικό έχει την μικρότερη περιεκτικότητα σε Βιταμίνη C (6,4524 mg Βιταμίνης C / 100 g τομάτας) ενώ την υψηλότερη τιμή η επίσης παραδοσιακή ποικιλία Λωτός (18,112 mg Βιταμίνης C / 100 g τομάτας).



Διάγραμμα 9. Περιεκτικότητα βιταμίνης C

### 3.4.3 Διαλυτά στερεά(%)

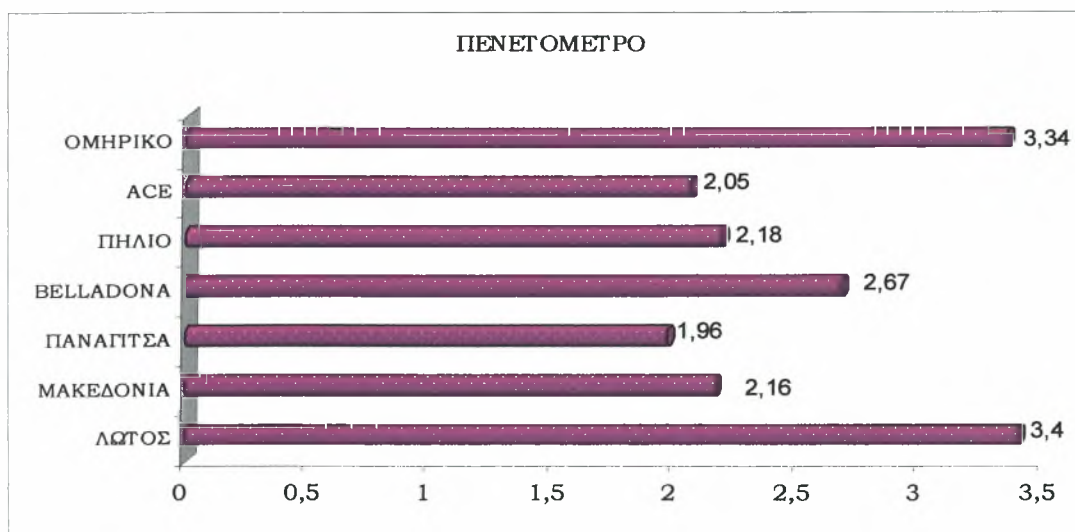
Όσον αφορά τα διαλυτά στερεά στο Διάγραμμα 10 παρατηρούμε ότι η ποικιλία Παναγίτσα περιέχει το μικρότερο ποσοστό, ενώ οι υπόλοιπες ποικιλίες κυμαίνονται περίπου στα ίδια επίπεδα.



**Διάγραμμα 10.** Περιεκτικότητα σε διαλυτά στερεά

### 3.4.4 Αντίσταση της σάρκας στην πίεση - σκληρότητα

Η σκληρότητα είναι χαρακτηριστικό που διαφέρει από ποικιλία σε ποικιλία, καθώς επηρεάζεται και από τις συνθήκες παραγωγής. Στο Διάγραμμα 11 παρατηρείται ότι ο βαθμός σκληρότητας ήταν έντονος στις ποικιλίες Ομηρικό και Λωτός, ενώ στις υπόλοιπες ποικιλίες κυμαίνεται σε μέτρια επίπεδα.



**Διάγραμμα 11.** Σκληρότητα σάρκας

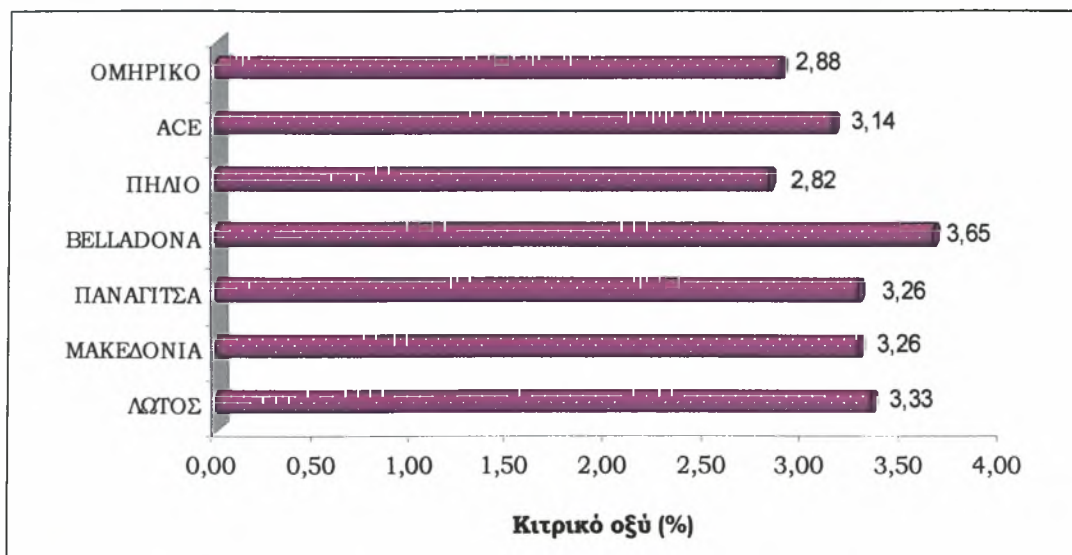
### 3.4.5 Οξύτητα

Το επικρατέστερο οξύ στην τομάτα είναι το κιτρικό οξύ το οποίο καθορίζει και την οξύτητά της. Το κιτρικό οξύ υπολογίστηκε από την κατανάλωση σε ml NaOH 0,1 N κατά την ογκομέτρηση. Στον Πίνακα 11 καταγράφονται οι μέσοι όροι από την κατανάλωση σε ml NaOH από κάθε ποικιλία κατά την ογκομέτρηση, καθώς και η περιεκτικότητα σε κιτρικό οξύ που υπολογίστηκε με τη μέθοδο που αναλύθηκε στο εδάφιο 2.7.2.

**Πίνακας 11.** Μέσοι όροι κάθε ποικιλίας της κατανάλωσης NaOH για υπολογισμό οξύτητας των καρπών και ποσοστό οξύτητας μετά από συγκομιδή της ίδιας ημέρας

Ποικιλίες	κατανάλωση ml NaOH	gr κιτρικού οξέος	Οξύτητα %
ΛΩΤΟΣ	5,2	0,33	3,33
ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ	5,1	0,33	3,26
ΠΑΝΑΓΙΤΣΑ	5,1	0,33	3,26
BELLADONA	5,7	0,36	3,65
ΠΗΛΙΟ	4,4	0,28	2,82
ACE	4,9	0,31	3,14
ΟΜΗΡΙΚΟ	4,5	0,29	2,88

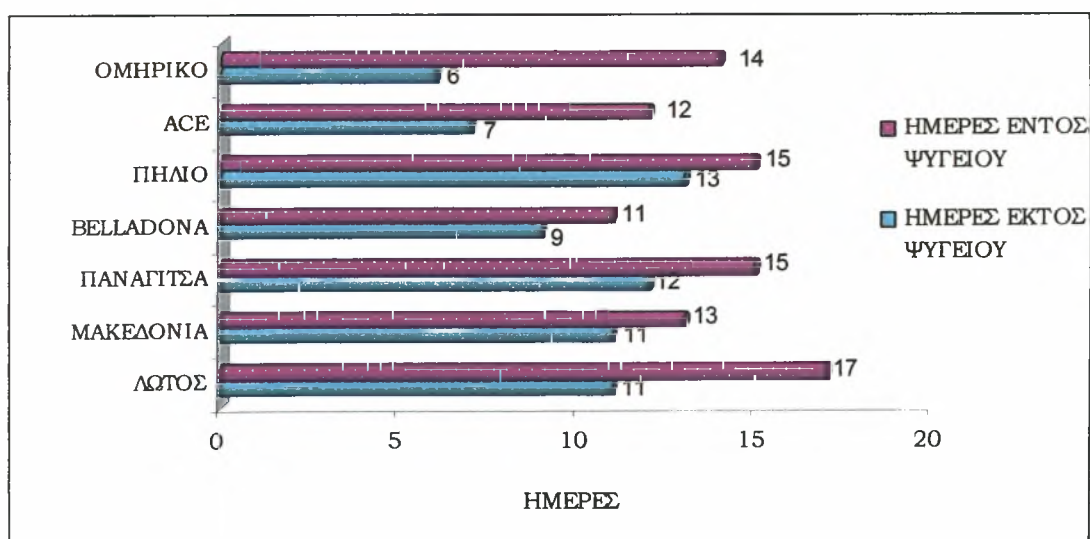
Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 12 η περιεκτικότητα σε κιτρικό οξύ κυμάνθηκε περίπου στα ίδια επίπεδα για όλες τις εξεταζόμενες ποικιλίες, με την εμπορική ποικιλία Belladonna να έχει το μεγαλύτερο ποσοστό οξύτητας (3,65 %) και την παραδοσιακή ποικιλία Πήλιο το μικρότερο ποσοστό (2,82 %).



**Διάγραμμα 12.** Περιεκτικότητα σε κιτρικό οξύ

### 3.4.6 Συντήρηση καρπών εντός και εκτός ψυγείου

Όσον αφορά τη συντήρηση των καρπών επιλέχθηκε να μελετηθεί ο χρόνος συντήρησης σε τομάτες τελευταίας καρποφορίας. Δεδομένου ότι οι εξεταζόμενες ποικιλίες διατηρούσαν καρπούς σε καλή κατάσταση έως τέλη Οκτωβρίου μπορεί να επιμηκυνθεί η εμπορική τους αξία.



**Διάγραμμα 13.** Ημέρες συντήρησης των καρπών

Όσον αφορά την διάρκεια συντήρησης των καρπών εντός του ψυγείου παρατηρούμε ότι οι παραδοσιακές ποικιλίες Λωτός, Παναγίτσα, Πήλιο και Ομηρικό υπερτερούν έναντι των εμπορικών ποικιλιών Μακεδονία, Belladonna και Ace. Από την άλλη η διάρκεια συντήρησης των καρπών εκτός του ψυγείου φαίνεται να κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα, εκτός από τις ποικιλίες Ομηρικό και Ace που έχουν την μικρότερη διάρκεια συντήρησης, 6 και 7 ημέρες αντίστοιχα.



### 3.5 Οργανοληπτικοί παράμετροι

#### 3.5.1 Αποτελέσματα οργανοληπτικής δοκιμής

Οι οργανοληπτικοί παράμετροι των υπό μελέτη γενοτύπων παρουσιάζονται στον Πίνακα 12, όσον αφορά τα συστατικά της εξωτερικής εμφάνισης (χρώμα και φωτεινότητα), την οσμή, το συστατικό της αφής τραγανότητα και την ολική εκτίμηση. Μετά από την στατιστική ανάλυση των δεδομένων βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στους εξεταζόμενους γενοτύπους ως προς τις οργανοληπτικές παραμέτρους.

Για την κατηγορία της εξωτερικής εμφάνισης και συγκεκριμένα όσον αφορά το χρώμα, η εμπορική ποικιλία Ace είχε το πιο έντονο χρώμα και μεγάλη διαφορά από τις υπόλοιπες ποικιλίες. Οι τιμές των ποικιλιών είχαν εύρος από 4,2 για την ποικιλία Ace έως 2,5 για την ποικιλία Ομηρικό. Ως πιο φωτεινές, αξιολογήθηκαν από τα μέλη του πάνελ οι εμπορικές ποικιλίες Μακεδονία (3,5), Ace (3,4) και η παραδοσιακή ποικιλία Ομηρικό (3,4), ενώ ως λιγότερο φωτεινές αξιολογήθηκαν οι παραδοσιακές ποικιλίες Παναγίτσα (2,6), Λωτός (2,7) και Πήλιο (2,7).

Στις οργανοληπτικές παραμέτρους της οσμής και της αφής ξεχώρισε η παραδοσιακή ποικιλία Ομηρικό, η οποία είχε την πιο έντονη οσμή (3,9) και ήταν η πιο τραγανή (3,8). Για το χαρακτηριστικό της αφής, τρυφερότητα, δεν επισημαίνονται στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών.

Στον Πίνακα 13 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των συστατικών της γεύσης που προέκυψαν από την οργανοληπτική εξέταση. Για το χαρακτηριστικό της γεύσης αλμυρότητα, δεν επισημαίνονται στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών. Όσον αφορά την γλυκύτητα του καρπού η βαθμολογία της παραδοσιακής ποικιλίας Ομηρικό ήταν η υψηλότερη (3,7), ενώ η λιγότερο γλυκιά η εμπορική ποικιλία Ace (1,8). Στις αρνητικές παραμέτρους της γεύσης, πικρή, στυφή, χοριτώδης, μεταλλική, μουχλιασμένη, όξινη και παραμένουσα γεύση, η παραδοσιακή ποικιλία Πήλιο φαίνεται να συγκεντρώνει την χαμηλότερη τιμή (κλίμακα 5:καθόλου έντονο-1:πολύ έντονο) σε αυτά τα

χαρακτηριστικά, γεγονός που την καθιστά μη επιθυμητή, ενώ η ποικιλία που συγκεντρώνει την υψηλότερη τιμή σε αυτά τα χαρακτηριστικά είναι η παραδοσιακή ποικιλία Ομηρικό. Για το χαρακτηριστικό συνεκτικότητα την υψηλότερη τιμή (κλίμακα 5:καθόλου έντονο-1:πολύ έντονο) εμφάνισε η ποικιλία Λωτός (3,8), οπότε και χαρακτηρίζεται ως η λιγότερο συνεκτική, ενώ την χαμηλότερη τιμή φαίνεται να συγκεντρώνει η ποικιλία Belladonna (2) οπότε είναι και η πιο συνεκτική σε σύγκριση με τις υπόλοιπες. Για το χαρακτηριστικό προσκόλληση στα δόντια παρατηρείται ότι οι παραδοσιακές ποικιλίες Λωτός (4,5), Παναγίτσα (4,1) και Ομηρικό (4,3) καθώς και η εμπορική ποικιλία Ace (4,1) έχουν λίγο έως καθόλου έντονο το χαρακτηριστικό αυτό. Τέλος έντονο το χαρακτηριστικό χυμώδης εμφάνισε η ποικιλία Ace (4,2) ενώ λιγότερα έντονο εμφανίστηκε στην ποικιλία Belladonna (2,8).

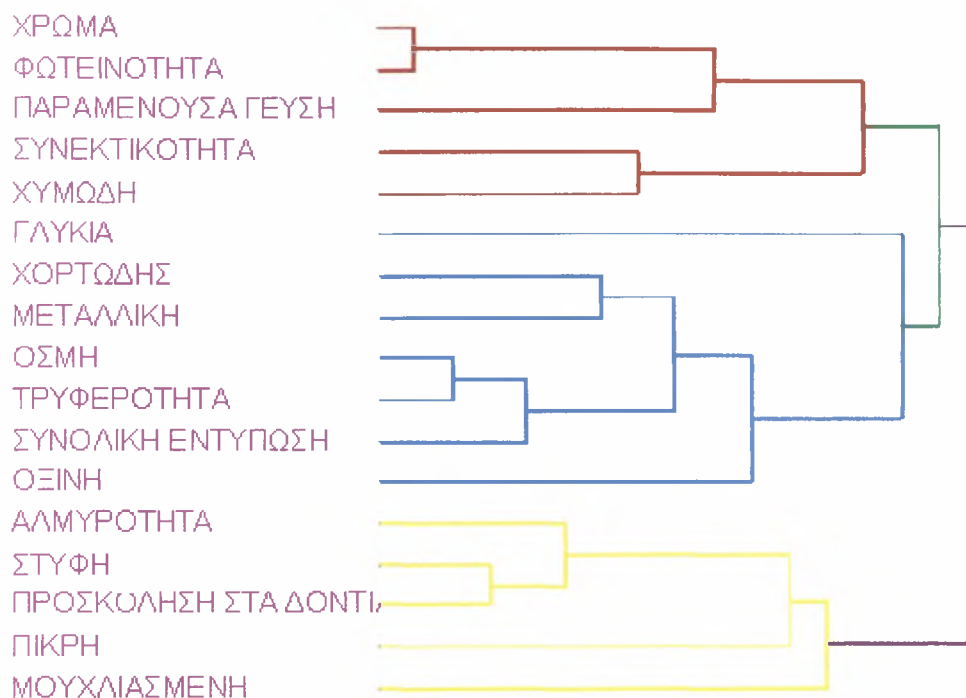
Η συνολική εντύπωση των μελών του πάνελ για τους καρπούς των εξεταζόμενων ποικιλιών, φαίνεται να κυμαίνεται από πολύ κακό (1) έως πολύ καλό (5). Τις καλύτερες εντυπώσεις διαμόρφωσαν τα μέλη του πάνελ για τους καρπούς της παραδοσιακής ποικιλίας Ομηρικό (5), στην συνέχεια ακλουθεί η επίσης παραδοσιακή ποικιλία Λωτός (3,6). Μέτριας αποδοχής φαίνεται να είναι οι εμπορικές ποικιλίες Μακεδονία (3), Belladonna (2,9) και Ace (2,8) καθώς και η παραδοσιακή ποικιλία Παναγίτσα (3,1). Μικρότερη αποδοχή από το πάνελ φαίνεται να έχει η παραδοσιακή ποικιλία Πήλιο.

Οι παράμετροι της οργανοληπτικής εξέτασης ήταν ενδιαφέρουσες αλλά πρέπει να ερμηνεύονται με την ανάλογη προσοχή δεδομένου ότι το σφάλμα εκτίμησης, όπως προκύπτει από τις τιμές CV ήταν υψηλό για κάποια από τα μελετούμενα χαρακτηριστικά.

Πάντως οι παραδοσιακές ποικιλίες, όπως το Ομηρικό έκαναν αρκετά καλή εντύπωση και ξεπέρασαν ήδη καθιερωμένες καλλιεργούμενες ποικιλίες, όπως η Belladonna, γεγονός που δείχνει ότι πιθανή είσοδός τους σε καλλιέργεια εμπορικής κλίμακας, θα μπορούσε να υποσκελίσει ορισμένους γενοτύπους, αν αυτό συνδυαστεί και με άλλους παράγοντες, όπως αξιοποίηση των επιθυμητών της χαρακτηριστικών για τη δημιουργία υβριδίων.

### 3.5.2 Cluster Analysis

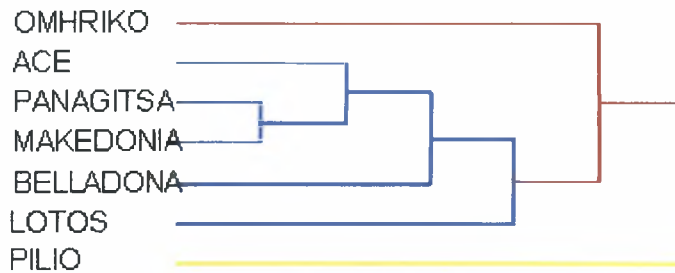
Η ιεραρχική ανάλυση σε ομοειδή σύνολα (Cluster Analysis) των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών είχε ως αποτέλεσμα την κατασκευή ενός δενδρογράμματος για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ποικιλιών (Εικόνα 16) και ενός για την ομαδοποίηση των ποικιλιών με βάση τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους (Εικόνα 17).



**Εικόνα 17.** Ταξινόμηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των ποικιλιών σε ομοειδή σύνολα

Στην Εικόνα 16 φαίνεται η ομαδοποίηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των επτά ποικιλιών τομάτας. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά κατατάσσονται σε τρία σύνολα ομάδων. Στο 1<sup>ο</sup> σύνολο ομαδοποιούνται τα χαρακτηριστικά της εξωτερικής εμφάνισης φωτεινότητα και χρώμα, με τα χαρακτηριστικά της γεύσης, παραμένουσα γεύση, συνεκτικότητα και χυμώδης. Το 2<sup>ο</sup> σύνολο αποτελούν τα χαρακτηριστικά της γεύσης γλυκιά, χορτώδης, μεταλλική που όπως φαίνεται ομαδοποιούνται μαζί με τα χαρακτηριστικά συνολική εντύπωση, οσμή και το χαρακτηριστικό της αφής, τρυφερότητα, καθώς και το χαρακτηριστικό της γεύσης όξινη. Το 3<sup>ο</sup> σύνολο αποτελεί έκφραση της

γεύσης και περιλαμβάνει τα χαρακτηριστικά αλμυρότητα, στυφή, προσκόλληση στα δόντια, πικρή και μουχλιασμένη.



**Εικόνα 18.** Ταξινόμηση των ποικιλιών σε ομοειδή σύνολα

Η Εικόνα 17 δείχνει την ομαδοποίηση των ποικιλιών με βάση τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Οι ποικιλίες κατατάσσονται σε τρία σύνολα ομάδων. Στο 1<sup>ο</sup> σύνολο η ποικιλία Ομηρικό κατατάσσεται μόνη της. Στο 2<sup>ο</sup> σύνολο ομαδοποιούνται σε σχέση με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους οι ποικιλίες Ace, Παναγίτσα και Μακεδονία στις οποίες προστίθενται οι Belladonna και Πήλιο.

**Πίνακας 12.** Τα οργανοληπτικά γνωρίσματα της εξωτερικής εμφάνισης, οσμής, αφής καθώς και συνολικής εντύπωσης όλων των γεννημάτων.

Ποικιλίες	Εξωτερική εμφάνιση				Συνολική Εντύπωση
	Χρώμα	Φωτεινότητα	Οσμή	Αφή	
<b>Ασπός</b>	3,3bc	2,7a	2,9a	3,4abc	3,6c
<b>Μακεδονία</b>	3,7cd	3,5b	3,2ab	3ab	3b
<b>Παναγίτσα</b>	2,9ab	2,6a	3,4ab	3,6bc	3,1bc
<b>Belladona</b>	2,6a	3,1ab	2,9a	3ab	2,9b
<b>Πηγάιο</b>	2,6a	2,7a	2,6a	2,8a	1,6a
<b>Ace</b>	4,2d	3,4b	3a	3,3abc	2,8b
<b>Ομηρικόν</b>	2,5a	3,4b	3,9b	3,8c	5d
<b>Γ.Μ.Ο.</b>	3,11	3,06	3,13	3,27	3,14
<b>Sx</b>	0,23	0,22	0,28	0,25	0,19
<b>LSD 0,5</b>	0,64	0,62	0,79	0,7	0,53
<b>CV%</b>	16,31	16	24,9	18,49	11,2
<b>Fx</b>	***	**	*	ns	***

• Οι αριθμοί που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Duncan (επίπεδο σημαντικότητας  $P = 0,05$ )

**Πίνακας 13.** Τα οργανοληπτικά γνωρίσματα της εξωτερικής εμφάνισης, γεύσης, οσμής, αφής καθώς και συνολικής εντύπωσης όλων των γενοτύπων.

Ποικιλίες	Γεύση											
	Αμυρώτητα	Πικρή	Ζτυφή	Γλυκιά	Χορτώδης	Μεταλλική	Μουχλιασμένη	Όξινη	Παραμένουσα γεύση	Ζυγκτικότητα	Προσκόλληση στα δόντια	Σιρόπης
<b>Λωτός</b>	3,9a	4,2bc	3,9a	2,9abc	3,4bc	3,5a	4,4bc	3,1a	2,7abc	3,8c	4,5b	3,7ab
<b>Μακεδονία</b>	4,4a	3,9ab	3,8a	2,5ab	3,1abc	3a	3,6ab	3,6ab	3bc	2,9bc	3,7ab	3a
<b>Παναγίτσα</b>	4,1a	3,8ab	4,1ab	3,1bc	3,1abc	3,5a	3,6ab	3,7ab	3,1bc	3,2bc	4,1b	3,3a
<b>Belladonna</b>	4,1a	4,1bc	3,4a	2,2ab	2,5ab	3,5a	4,5bc	2,7a	2,7abc	2a	3a	2,8a
<b>Πήλιο</b>	4a	3a	3,2a	1,9ab	2,3a	3,1a	2,9a	2,8a	2a	3,2bc	3,7ab	3,6ab
<b>Ace</b>	4a	3,4ab	4a	1,8a	3,7c	3,4a	4,7bc	2,7a	3,6c	3,1bc	4,1b	4,2b
<b>Ομηρικό</b>	4a	5c	4,9b	3,7c	3,9c	4,7b	5c	4,3b	2,2ab	2,5ab	4,3b	3,6ab
<b>Γ.Μ.Ο.</b>	4,07	3,91	3,90	2,59	3,14	3,53	4,10	3,27	2,76	2,96	3,91	3,46
<b>Sx</b>	0,28	0,35	0,29	0,38	0,30	0,31	0,36	0,36	0,29	0,29	0,26	0,28
<b>LSD 0,5</b>	0,79	0,98	0,81	1,08	0,86	0,88	1,02	1,03	0,82	0,82	0,73	0,80
<b>CV%</b>	19,13	30,58	21,28	56,77	29,18	27,40	32,02	40,41	30,58	28,51	17,27	23,05
<b>Fx</b>	ns	**	**	**	**	**	***	*	**	**	**	*

Οι αριθμοί που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά σύμφωνα με το κριτήριο Duncan (επίπεδο σημαντικότητας P = 0,05)

### **3.5.3. Ανάλυση Κυρίων Συνιστώσων (Principal Components Analysis- PCA)**

Η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (PCA), που αφορά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά καταδεικνύει ότι απαιτούνται δέκα κύριες συνιστώσες ώστε η ερμηνεία της ολικής μεταβολής να ανέλθει στο 84,8 % της συνολικής παραλλακτικότητας. Οι τρεις πρώτες συνιστώσες ερμηνεύουν το 45,6 % της συνολικής παραλλακτικότητας, ποσοστό ικανό για να ομαδοποιηθούν οι οργανοληπτικοί παράμετροι. Όσον αφορά τις ποικιλίες η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες καταδεικνύει ότι απαιτούνται επτά κύριες συνιστώσες προκειμένου να εξηγηθεί το 100 % της συνολικής παραλλακτικότητας. Οι τρεις πρώτες συνιστώσες ερμηνεύουν το 63,7 % της συνολικής παραλλακτικότητας, ποσοστό ικανό για να ομαδοποιηθούν οι ποικιλίες.

Το διάγραμμα PC1 vs. PC2 το οποίο εξηγεί αθροιστικά περίπου το 36,2 % της ολικής παραλλακτικότητας όσον αφορά την οργανοληπτική εξέταση και το 50,1 % της ολικής παραλλακτικότητας όσον αφορά τις ποικιλίες αποτελείται από δυο ομάδες. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει τα θετικά χαρακτηριστικά τρυφερότητα, φωτεινότητα και χυμώδης καθώς και τα αρνητικά χαρακτηριστικά, προσκόλληση στα δόντια, αλμυρότητα, μouxλιασμένα, χοριώδης, μεταλλική και στυφή γεύση, τα οποία ομαδοποιούνται με τις παραδοσιακές ποικιλίες Ομηρικό, Λωτός και με την εμπορική Belladonna. Η δεύτερη ομάδα αποτελείται από τις παραδοσιακές ποικιλίες Παναγίτσα, Πήλιο και τις εμπορικές Μακεδονία, Ace που ομαδοποιούνται με τα θετικά χαρακτηριστικά οσμή, γλυκιά γεύση και συνολική εντύπωση και τα αρνητικά χαρακτηριστικά, όξινη και πικρή γεύση.

Το διάγραμμα PC1 vs. PC3 το οποίο εξηγεί αθροιστικά περίπου το 34,9 % της ολικής παραλλακτικότητας όσον αφορά την οργανοληπτική εξέταση και το 47,7 % της ολικής παραλλακτικότητας όσον αφορά τις ποικιλίες αποτελείται από δυο ομάδες. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει τα

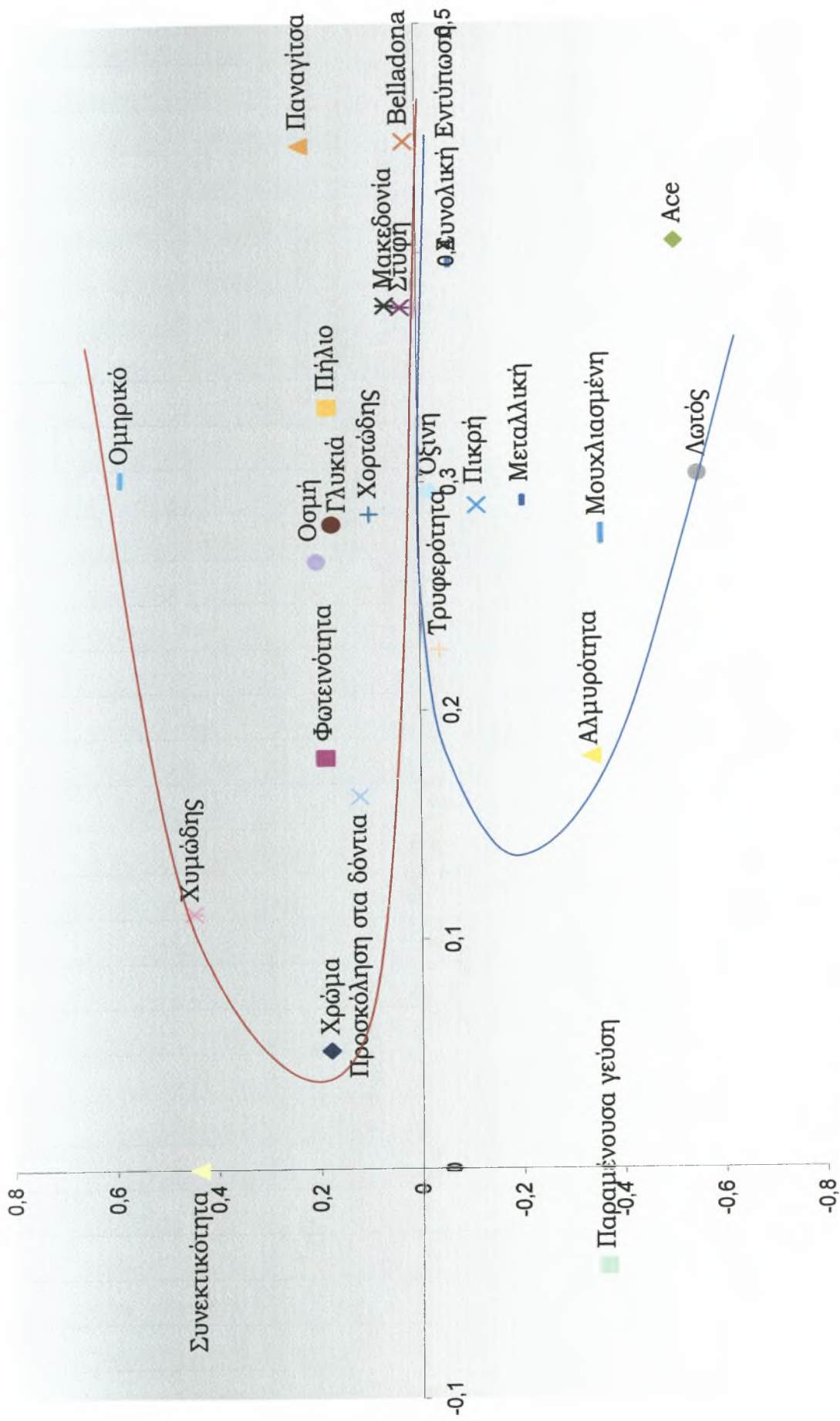
θετικά χαρακτηριστικά χρώμα, φωτεινότητα, χυμώδης, οσμή και γλυκιά γεύση, καθώς και τα αρνητικά χαρακτηριστικά της γεύσης, χορτώδης και στυφή, τα οποία ομαδοποιούνται με τις παραδοσιακές ποικιλίες Ομηρικό, Παναγίτσα, Πήλιο και με τις εμπορικές Belladona και Μακεδονία. Η δεύτερη ομάδα αποτελείται από τις παραδοσιακές ποικιλίες Λωτός και την εμπορική ποικιλία Ace που ομαδοποιούνται με τα θετικά χαρακτηριστικά τρυφερότητα και συνολική εντύπωση και τα αρνητικά χαρακτηριστικά της γεύσης, όξινη, πικρή, μεταλλική, μouxλιασμένη και αλμυρότητα.

Το διάγραμμα PC2 vs. PC3 το οποίο εξηγεί αθροιστικά περίπου το 20,1 % της ολικής παραλλακτικότητας όσον αφορά την οργανοληπτική εξέταση και το 29,9 % της ολικής παραλλακτικότητας όσον αφορά τις ποικιλίες αποτελείται από τέσσερις ομάδες. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει τις ποικιλίες Μακεδονία, Παναγίτσα και Πήλιο, οι οποίες συνδέονται με τα θετικά χαρακτηριστικά οσμή και γλυκιά γεύση. Η δεύτερη ομάδα αποτελείται από την παραδοσιακή ποικιλία Ομηρικό και την εμπορική ποικιλία Belladona που ομαδοποιούνται με τα θετικά χαρακτηριστικά χρώμα, φωτεινότητα, χυμώδης καθώς και τα αρνητικά χαρακτηριστικά, χορτώδης, στυφή, προσκόλληση στα δόντια και συνεκτικότητα. Η τρίτη ομάδα αποτελείται από την εμπορική ποικιλία Ace, η οποία συνδέεται με τα αρνητικά χαρακτηριστικά, όξινη και πικρή γεύση και τη συνολική εντύπωση. Τέλος, η τέταρτη ομάδα ομαδοποιεί την παραδοσιακή ποικιλία Λωτός με τα αρνητικά χαρακτηριστικά της γεύσης, μεταλλική, μouxλιασμένη και αλμυρότητα και τα θετικά χαρακτηριστικά τρυφερότητα και παραμένουσα γεύση.

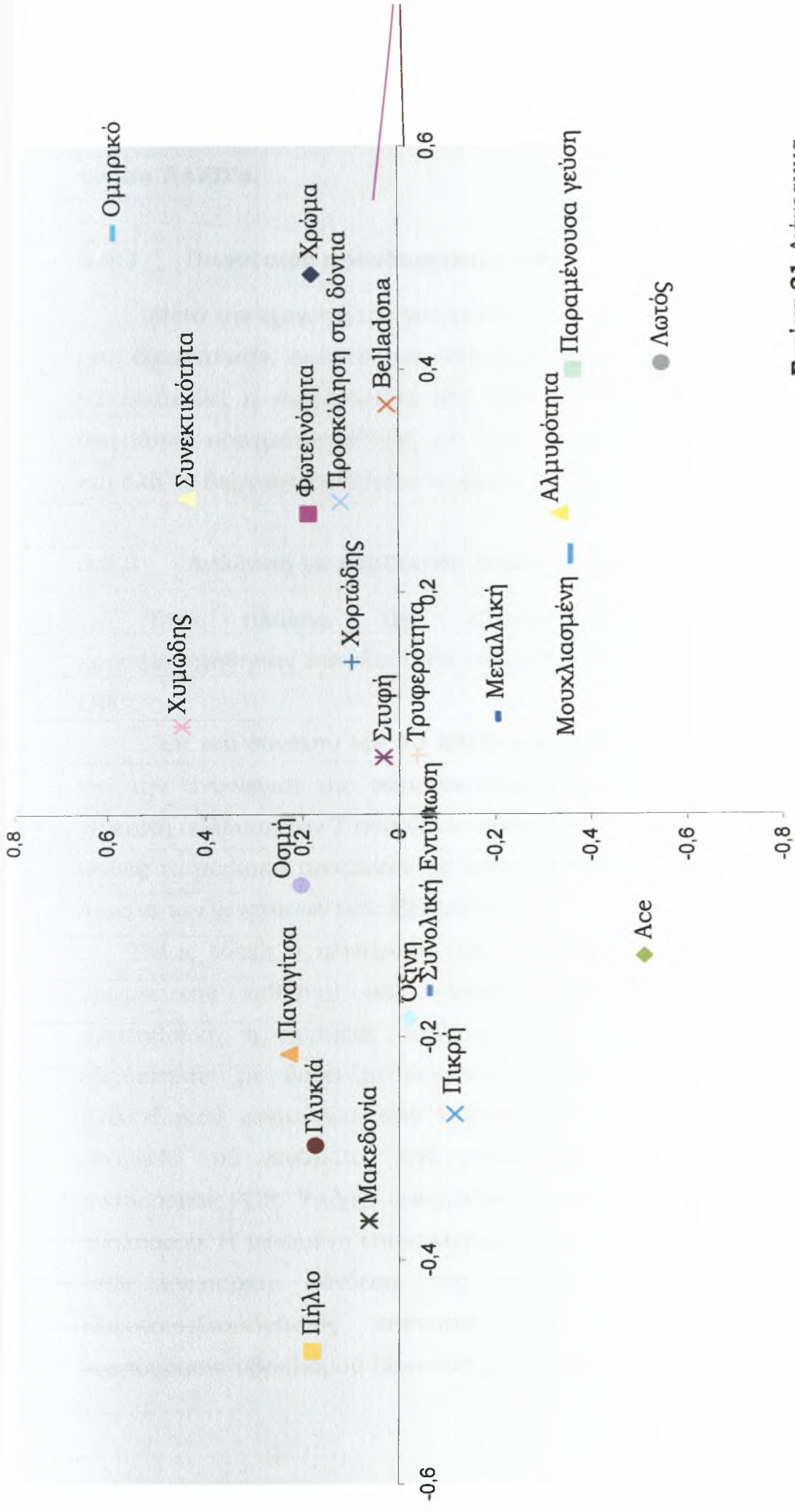




**Εικόνα 19.** Διάγραμμα της PC1 με την PC2



**Εικόνα 20.** Διάγραμμα της PC1 με την PC3



Εικόνα 21. Διάγραμμα

της PC2 με την PC3

### **3.6 Μοριακή ανάλυση ποικιλιών τομάτας με τη χρήση δεικτών τύπου RAPD's.**

#### **3.6.1 Ποσοτικός προσδιορισμός DNA**

Μετά την εξαγωγή του γενωμικού DNA από τις 7 ποικιλίες τομάτας που εξετάστηκαν, ακολούθησε ποσοτικός προσδιορισμός τους με στόχο να εκτιμηθεί η συγκέντρωση του DNA στα δείγματα. Ο έλεγχος των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αγαρόζης και όλα τα δείγματα βρέθηκαν να έχουν 100% συγκέντρωση DNA.

#### **3.6.2 Ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου RAPD's**

Στα πλαίσια της μοριακής γενετικής ανάλυσης, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 10 εκκινητές τύπου RAPD's, της σειράς OPC.

Εκ του συνόλου των 10 RAPD εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση της σωματοκλωνικής παραλλακτικότητας και την γενετική ανάλυση των 7 ποικιλιών τομάτας οι 9 βρέθηκαν πολυμορφικοί, καθώς το μοριακό πρότυπο ενός εκκινητή βρέθηκε μονομορφικό για το σύνολο των γενοτύπων που εξετάστηκαν.

Όπως έδειξε η ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αγαρόζης 1% παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου και κατόπιν εκθέσεως της σε υπεριώδη ακτινοβολία, η μοριακή ανάλυση των 7 γενοτύπων τομάτας που εξετάστηκαν με βάση το μοριακό πρότυπο των 9 εκκινητών που επιλέχθηκαν, αποτελείται από 45 ζώνες που αντιστοιχούν σε ίσο αριθμό περιοχών του γενώματος που πολλαπλασιάστηκαν κατά το σύνολο αντιδράσεων PCR. Υπήρξε όμως κάποια υστέρηση στην επανάληψη των αναλύσεων. Η μειωμένη επαναληψιμότητα των RAPDs οφείλεται αφενός στην ανεπαρκή σύνδεση της ταμπλέτας του DNA με τους ολιγονουκλεοτιδιακούς εκκινητές και αφετέρου στη χαμηλή θερμοκρασία υβριδισμού (annealing) (Mohan et al., 1997).

Το ποσοστό των πολυμορφισμών για τη δεδομένη μοριακή ανάλυση, ανήλθε στο 37,77% καθώς 17 από τις 45 περιοχές του γενώματος που πολλαπλασιάστηκαν βρέθηκαν πολυμορφικές. Ο μέγιστος αριθμός πολυμορφισμών ανά εκκινητή ήταν 3 και ο ελάχιστος 1.

**Πίνακας 14. Σύνοψη μοριακού προτύπου των 10 εκκινητών**

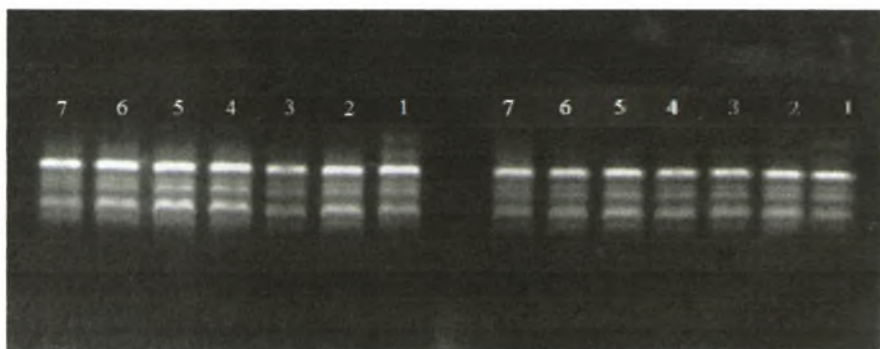
RAPD εκκινητής	Αλληλουχία	Αριθμός	Σύνολο	Ποσοστό πολυμορφισμού
		πολυμορφικών ζωνών	ενισχυόμενων ζωνών	
OPC3	5'-GGGGGTCTTT-3'	3	7	42,86%
OPC4	5'-CCGCATCTAC-3'	1	6	16,66%
OPC5	5'-GATGACCGCC-3'	2	5	40%
OPC6	5'-GAACGGACTC-3'	2	4	50%
OPC8	5'-TGGACCGGTG-3'	3	4	75%
OPC9	5'-TGGACCGGTG-3'	2	5	40%
OPC10	5'-TGTCTGGGTG-3'	1	4	25%
OPC11	5'-GTAGACCCGT-3'	2	3	66,66%
OPC16	5'-CACACTCCAG-3'	1	2	50%
		0		
OPC19	5'-GTTGCCAGCC-3'	(Μονομορφικός)	5	0%
<b>Σύνολο</b>		<b>17</b>	<b>45</b>	<b>37,77%</b>

Το μοριακό πρότυπο κάθε εκκινητή καταγράφηκε και στη συνέχεια κωδικοποιήθηκε για το σύνολο των γενοτύπων. Κατά την κωδικοποίηση, η παρουσία ή απουσία των ζωνών αντιπροσωπεύτηκε από τη μονάδα «1» ή το μηδέν «0» αντίστοιχα, για την ηλεκτρονική επεξεργασία των δεδομένων σύμφωνα με το δυαδικό σύστημα.

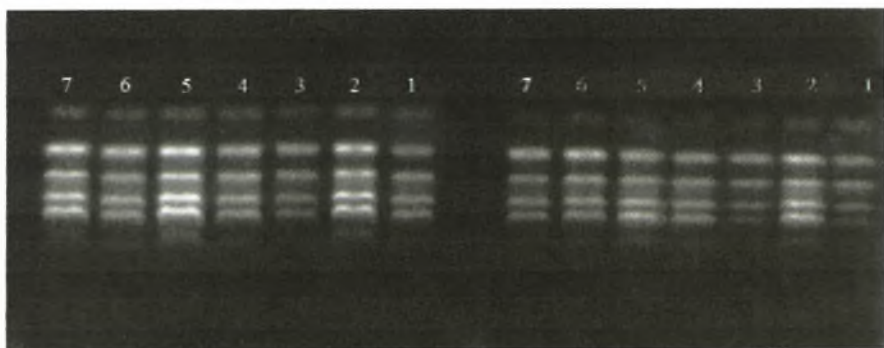
Στις παρακάτω εικόνες οι αριθμοί αντιστοιχούν στους εξεταζόμενους γενοτύπους. Όπου, 1 → Belladonna, 2 → Ομηρικό, 3 → Πήλιο, 4 → Μακεδονία, 5 → Ace, 6 → Λωτός, 7 → Παναγίτσα.



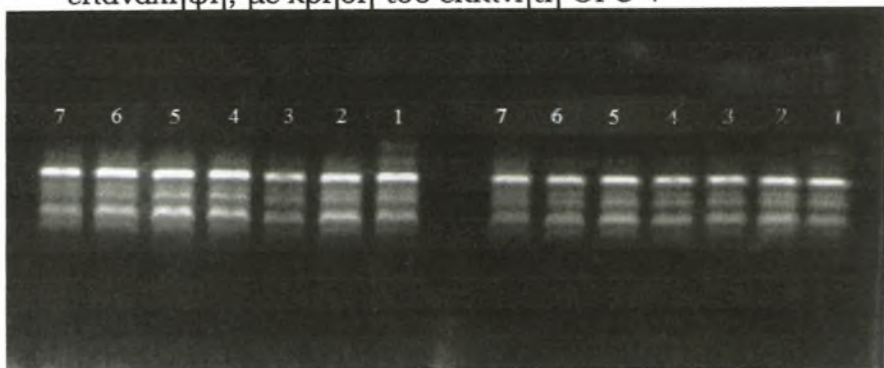
**Εικόνα 22.** Απεικόνιση πολυμορφισμών τύπου RAPD's με χρήση του εκκινητή OPC 16



**Εικόνα 23.** Απεικόνιση πολυμορφισμών τύπου RAPD's με επανάληψη, με χρήση του εκκινητή OPC 3



**Εικόνα 24.** Απεικόνιση πολυμορφισμών τύπου RAPD's με επανάληψη, με χρήση του εκκινητή OPC 4



**Εικόνα 25.** Απεικόνιση πολυμορφισμών τύπου RAPD's με επανάληψη, με χρήση του εκκινητή OPC 5

Για τον υπολογισμό των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των επτά ποικιλιών υπολογίστηκαν οι συντελεστές ομοιότητας κατά JACCARD και DICE και τα δενδρογράμματα έγιναν με τους αλγόριθμους UPGMA και Neighbourjoining. Ακολούθως υπολογίστηκαν οι συντελεστές συσχέτισης του κάθε συνδυασμού αλγορίθμου, ομαδοποίησης και συντελεστή ομοιότητας, οι οποίοι δίνονται στον Πίνακα 15.

**Πίνακας 15.** Συντελεστές συσχέτισης ( $r$ ) για κάθε συνδυασμό

	UPGMA	NJ
JACCARD	0,82	-0,55
DICE	0,81	-0,46

Η παρουσίαση των γενετικών σχέσεων μεταξύ των ποικιλιών έγινε με τον αλγόριθμο JACCARD/UPGMA, ο οποίος παρουσίασε το μεγαλύτερο βαθμό συσχέτισης ( $r=0.82$ ). Η ομαδοποίηση κατά NJ έδωσε μικρότερες τιμές του συντελεστή συσχέτισης και γι'αυτό παρατίθεται απλά στο παράρτημα. Πάντως η ομαδοποίηση κατά NJ χρησιμοποιείται τις περισσότερες φορές σε σχέση με την UPGMA παρά τις μικρότερες τιμές του συντελεστή συσχέτισης, διότι αυτή η μέθοδος είναι λιγότερο ευαίσθητη σε μεταλλάξεις που προκαλούν παραλλακτικότητα (Katsiotis et al., 2003).

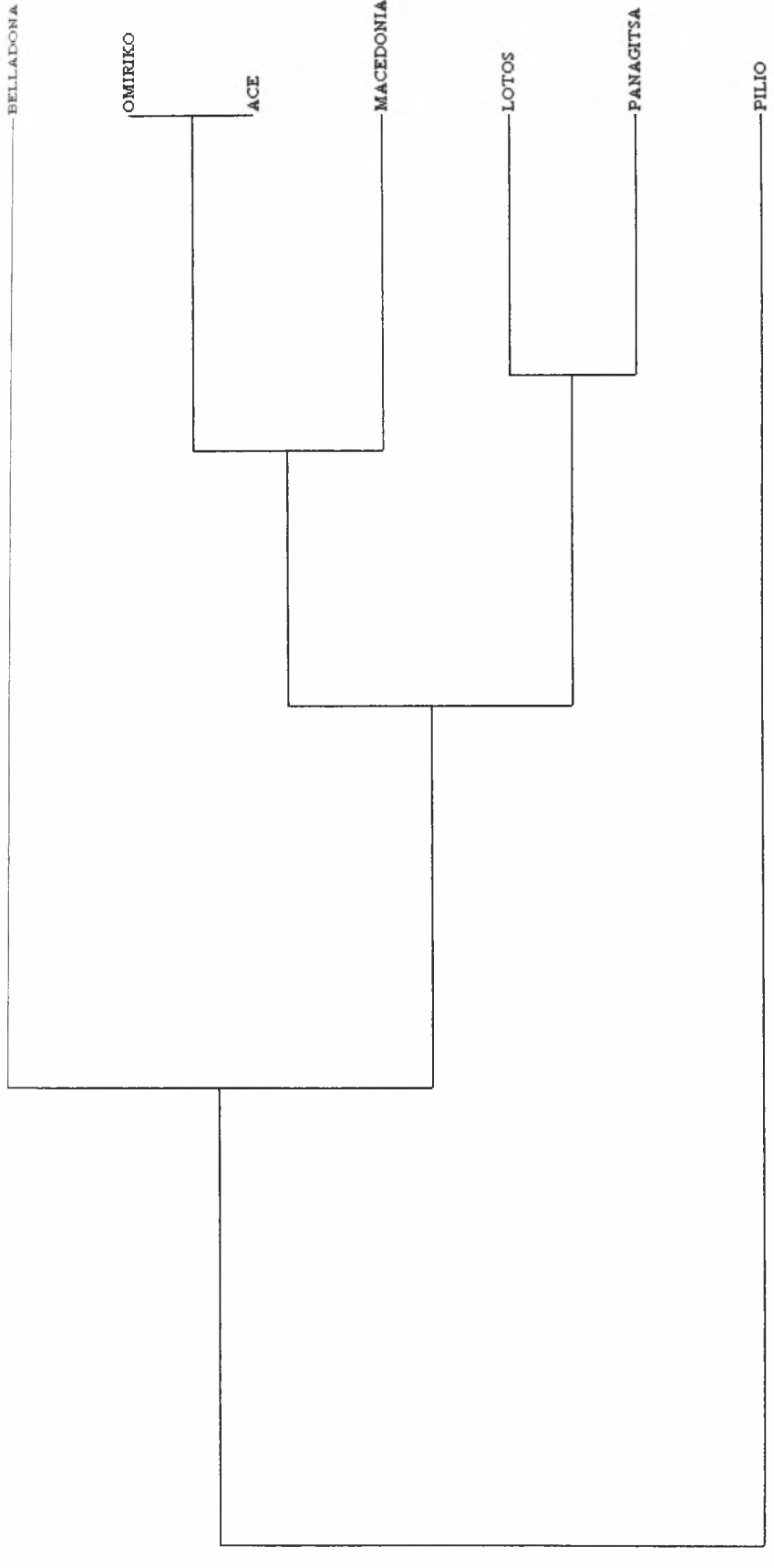
Από την ανάλυση των δεδομένων διαπιστώθηκε γενετική ετερογένεια μεταξύ των γενοτύπων που μελετήθηκαν. Ο βαθμός γενετικής ομοιότητας ήταν υψηλός μεταξύ όλων των γενοτύπων και κυμαινόταν μεταξύ 0,78 έως 0,93. Η στενή γενετική βάση των καλλιεργούμενων ποικιλιών τομάτας είναι το αποτέλεσμα του συνδυασμού της μείωσης της γενετικής παραλλακτικότητας κατά την διάρκεια της εξημέρωσης του είδους σε συνδυασμό με τη υψηλή πίεση επιλογής για συγκεκριμένα επιθυμητά γνωρίσματα (Park et al., 2004).

Όσον αφορά το δενδρογράμμα UPGMA παρατηρείται ότι ο γενότυπος Πήλιο βρίσκεται σε μεγάλη γενετική απόσταση από τους

υπόλοιπους γενοτύπους. Επίσης η εμπορική ποικιλία Belladona διαφοροποιήθηκε από τους υπόλοιπους γενοτύπους. Τα φυτά των γενοτύπων Ομηρικό και Ace ταυτίστηκαν και ομαδοποιήθηκαν μαζί με την ποικιλία Μακεδονία αποτελώντας ένα σύνολο το οποίο ομαδοποιείται και εμφανίζει γενετική συγγένεια με τις παραδοσιακές ποικιλίες Λωτός και Παναγίτσα.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αποτελούν μια πρώτη ένδειξη της ύπαρξης γενετικής ποικιλομορφίας ανάμεσα στις παραδοσιακές ποικιλίες τομάτας που καλλιεργούνται στην ελληνική ύπαιθρο. Θεωρείται αναγκαίο να επαληθευθεί αλλά και να διευκρινιστεί η παρουσία και το μέγεθος του γενετικού πολυμορφισμού, ώστε να δοθεί η δυνατότητα εκμετάλλευσης τους στη βελτίωση και δημιουργία νέων ποικιλιών καθώς και στην ταυτοποίηση και κατοχύρωση των παραδοσιακών ποικιλιών του είδους.





**Εικόνα 26.** Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων κατά Jaccard μεταξύ των εξεταζόμενων γενοτύπων του είδους *Lycopersicon esculentum* και ομαδοποίηση με τη μέθοδο UPGMA ( $r=0.81537$ ).

### 3.7 Ανθεκτικότητα ποικιλιών στο μύκητα *Leveillula taurica*

Η ένταση της ασθένειας που εκφράστηκε ως ποσοστό προσβεβλημένης φυλλικής επιφάνειας (%), με δειγματοληψία από 7 φυτά της κάθε ποικιλίας έγινε σε 2 μετρήσεις. Η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) για την ένταση της ασθένειας καθώς και ο διαχωρισμός των μέσων όρων μεταξύ των ποικιλιών δίνεται στον Πίνακα 16 και 17. Επίσης, τα αποτελέσματα της εκτάσεως προσβολής της πρώτης και δεύτερης μέτρησης παρουσιάζονται και υπό μορφή διαγραμμάτων που δίνονται στη συνέχεια.

**Πίνακας 16.** Ανάλυση διακύμανσης για την ένταση της ασθένειας

	Προέλευση διακύμανσης	SS	βαθμοί ελευθερίας	MS	Κριτήριο F	σημαντικότητα
1 <sup>η</sup> μέτρηση	Μεταξύ ομάδων	1286,409	6	214,401	5,357	0,000
	Μέσα στις ομάδες	1680,951	42	40,023		
	Σύνολο	2967,360	48			
2 <sup>η</sup> μέτρηση	Μεταξύ ομάδων	6113,740	6	1018,957	6,801	0,000
	Μέσα στις ομάδες	6292,366	42	149,818		
	Σύνολο	12406,105	48			

Από την ανάλυση παραλλακτικότητας που έγινε στις δυο δειγματοληψίες προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές οι οποίες φαίνονται στους Πίνακες 16 και 17.

Στην πρώτη μέτρηση, η οποία έγινε 20 ημέρες μετά την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων παρατηρείται ότι η ποικιλία Ομηρικό θεωρείται η πιο ανθεκτική ποικιλία με ποσοστό προσβολής 1,9429%. Οι αμέσως επόμενες ποικιλίες που θεωρούνται ανθεκτικές με ποσοστά προσβολής που δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους είναι η Παναγίτσα με 6,2286%, η Ace με 7,3286% και η Λωτός με 8,8714%. Στην συνέχεια ακολουθούν η Belladonna με 9,8571% και η Πήλιο με 11,8000%. Η

ποικιλία Μακεδονία διέφερε σε σχέση με τις υπόλοιπες και συγχρόνως παρουσίασε το μεγαλύτερο ποσοστό προσβολής που ήταν ίσο με 19,7714.

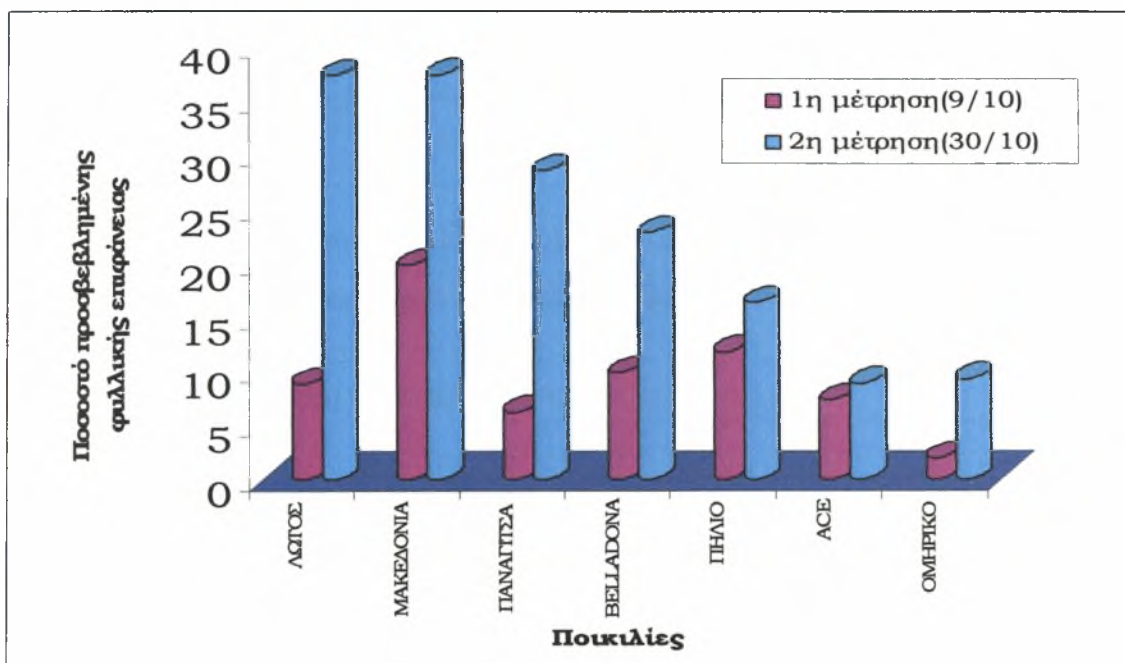
**Πίνακας 17.** Ποσοστό προσβολής σε δυο χρονικές περιόδους.

<b>Ποικιλίες</b>	<b>1<sup>η</sup> μέτρηση (%)</b>	<b>2<sup>η</sup> μέτρηση(%)</b>
Λωτός	8,8714 ab	37,3143 c
Μακεδονία	19,7714 c	37,3429 c
Παναγίτσα	6,2286 ab	28,5286 bc
Belladonna	9,8571 b	22,7857 ab
Πήλιο	11,8000 b	16,3286 ab
Ace	7,3286 ab	8,8714 a
Ομηρικό	1,9429 a	9,2857 a
<b>Γ.Μ.Ο.</b>	9,40	22,92
<b>Sx</b>	2,39	4,63
<b>LSD 0,5</b>	6,84	13,23
<b>CV%</b>	67,30	53,40
<b>Fx</b>	**	**

☛ Οι αριθμοί που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (επίπεδο σημαντικότητας  $P = 0,05$ )

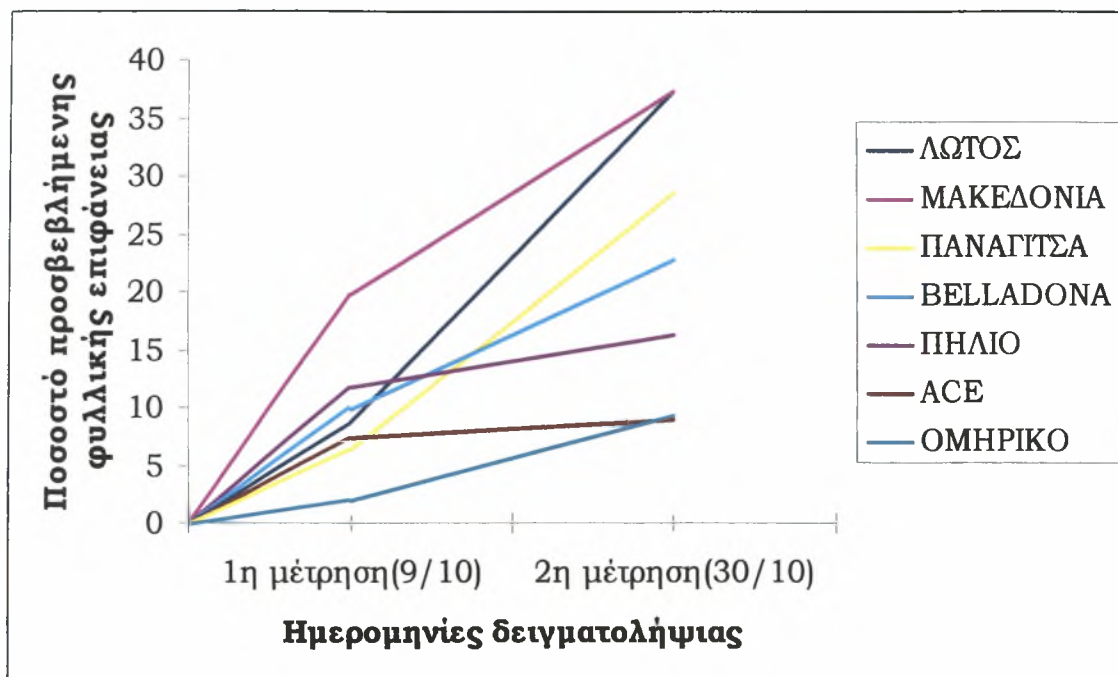
Στην δεύτερη μέτρηση, που έγινε 41 ημέρες μετά την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων παρατηρείται σημαντική αύξηση του ποσοστού προσβολής σε όλες τις ποικιλίες. Οι πιο ανθεκτικές ποικιλίες στην ασθένεια είναι η Ομηρικό και η Ace που διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά με όλες τις άλλες ποικιλίες αλλά όχι μεταξύ τους με ποσοστά προσβολής 9,2857% και 8,8714% αντίστοιχα. Αμέσως επόμενες φέρονται να είναι η Belladonna και η Πήλιο με προσβολή 22,7857% και 16,3286% αντίστοιχα. Η ποικιλία Παναγίτσα ακολουθεί με προσβολή ίση με 28,5286% και τέλος την μεγαλύτερη ευαισθησία στην ασθένεια παρουσίασαν οι ποικιλίες Λωτός και Μακεδονία με ποσοστά προσβολής 37,3143% και 37,3429%.

Συμπερασματικά, από την ανάλυση παραλλακτικότητας που έγινε οι πιο ανθεκτικές ποικιλίες στην ασθένεια του ωιδίου της τομάτας που προκαλείται από το μύκητα *Leveilloula taurica* είναι η Ομηρικό και η Ace που διέφεραν στατιστικώς σημαντικά με όλες τις άλλες ποικιλίες στο σύνολο των δυο μετρήσεων.



**Διάγραμμα 14.** Ένταση προσβολής εκφρασμένη σε ποσοστό φυλλικής επιφάνειας σε δυο διαφορετικές χρονικές περιόδους

Τα αποτελέσματα της εντάσεως της προσβολής της πρώτης και της δεύτερης μέτρησης παρουσιάζονται και υπό μορφή διαγραμμάτων (Διάγραμμα 14, 15).



**Διάγραμμα 15.** Εξέλιξη της ασθένειας ωίδιο της τομάτας

Παρατηρώντας τα διαγράμματα, βλέπουμε ότι στις 9/10 το ποσοστό προσβολής ήταν γενικά χαμηλό σε όλες τις ποικιλίες και μικρότερο του 15% εκτός της ποικιλίας Μακεδονίας όπου ήταν 17,9914%. Στις 30/10 παρατηρούμε σημαντική αύξηση του ποσοστού προσβολής σχεδόν σε όλες τις ποικιλίες. Η ποικιλία Ace και Πήλιο από την άλλη δεν παρουσιάζουν εκθετική αύξηση του ποσοστού προσβολής σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες που παρατηρείται εκθετική αύξηση.

## **4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**



Η αξία των παραδοσιακών ποικιλιών που μελετήθηκαν προκύπτει από επιμέρους χαρακτηριστικά όπως εξωτερικής εμφάνισης, γεύσης, οσμής, μέγεθος καρπού τα οποία θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν άμεσα με τις ποικιλίες Ομηρικό και Λωτός ή έμμεσα με την μεταφορά των προαναφερόμενων χαρακτηριστικών μέσω διασταυρώσεων.

Ο χαρακτηρισμός και η κατοχύρωση αυτών των γενοτύπων μπορεί να γίνει αποτελεσματικά με τους δείκτες UPOV όπως 'πράσινος ώμος', σχήμα καρπού καθώς και χώροι ωθήκης αρκεί να γίνει προσεκτική καταγραφή τους, οι οποίοι δίδουν την δυνατότητα για διάκριση των εξεταζόμενων ποικιλιών.

Ο συνδυασμός χαρακτηριστικών απόδοσης και ποιότητας με βάση τα συστατικά βάρος καρπών και βιταμίνη C, οξύτητα, PH, διαλυτά στερεά και καθώς και την οργανοληπτική εξέταση οδήγησε στη διαπίστωση ότι οι γενότυποι Ομηρικό και Λωτός μπορεί να αξιοποιηθούν σε προγράμματα βελτίωσης ενώ μεταξύ των εμπορικών ποικιλιών η Belladonna και η Μακεδονία είναι ανταγωνιστικές σε σχέση με τις παραδοσιακές ποικιλίες.

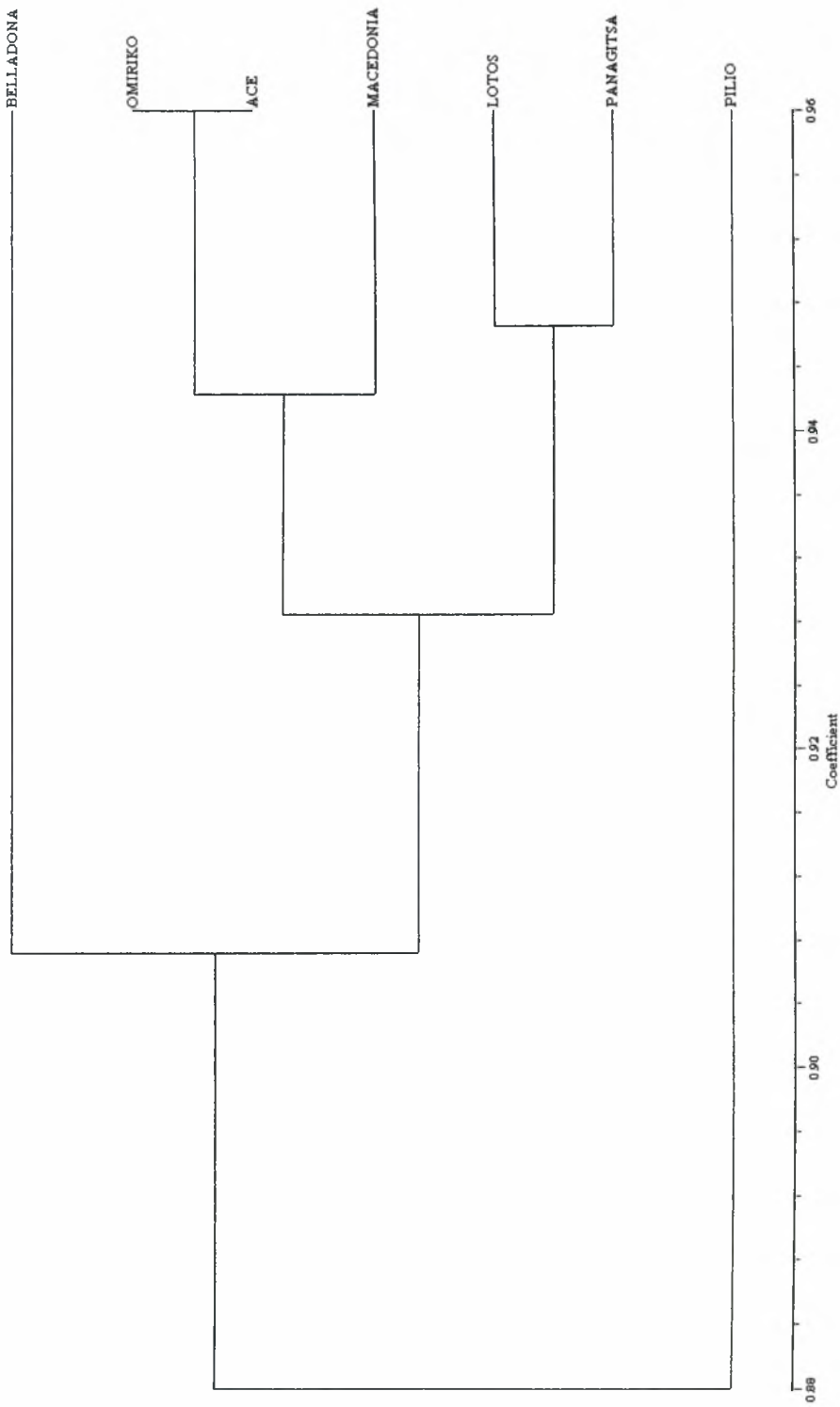
Η μοριακή ταυτοποίηση με ανάλυση DNA των παραδοσιακών ποικιλιών τομάτας και η χρήση μοριακών δεικτών τύπου RAPD's αποδείχθηκε αρκετά επισφαλής εξαιτίας της χαμηλής διακριτότητάς τους και επαναληψιμότητάς τους. Οι εκκινητές OPC11, και OPC8 αποδείχθηκαν οι πιο αποτελεσματικοί στην ταυτοποίηση των ποικιλιών τομάτας που εξετάστηκαν.

Τέλος, όσον αφορά την ανθεκτικότητα των εξεταζόμενων ποικιλιών στον μύκητα *Leveillula taurica* που προκαλεί την ασθένεια του ωιδίου της τομάτας, οι ποικιλίες Ομηρικό και Ace έχουν το μικρότερο ποσοστό προσβολής, οπότε μπορούν να χαρακτηριστούν ως ανθεκτικές.

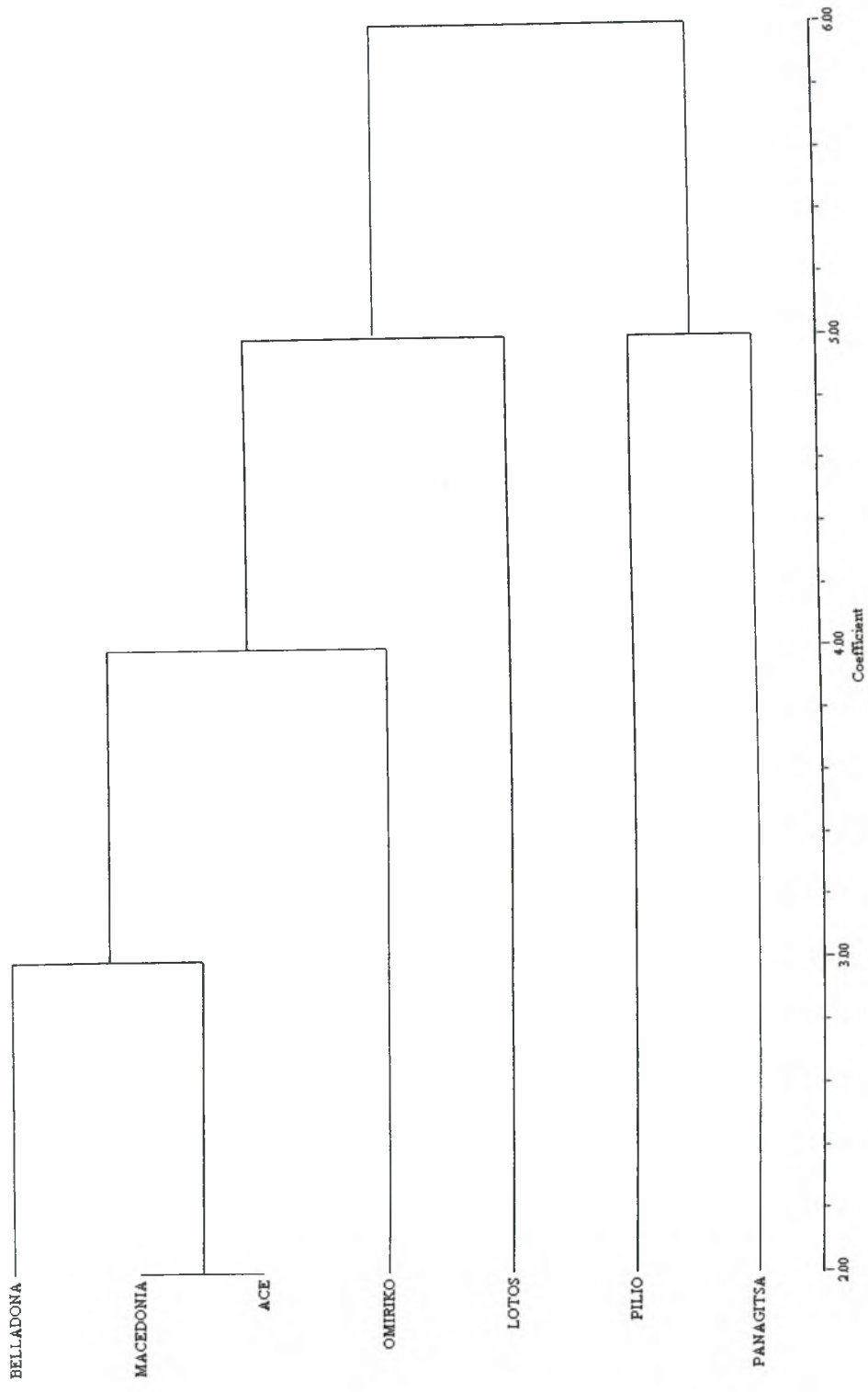
## ***ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ***



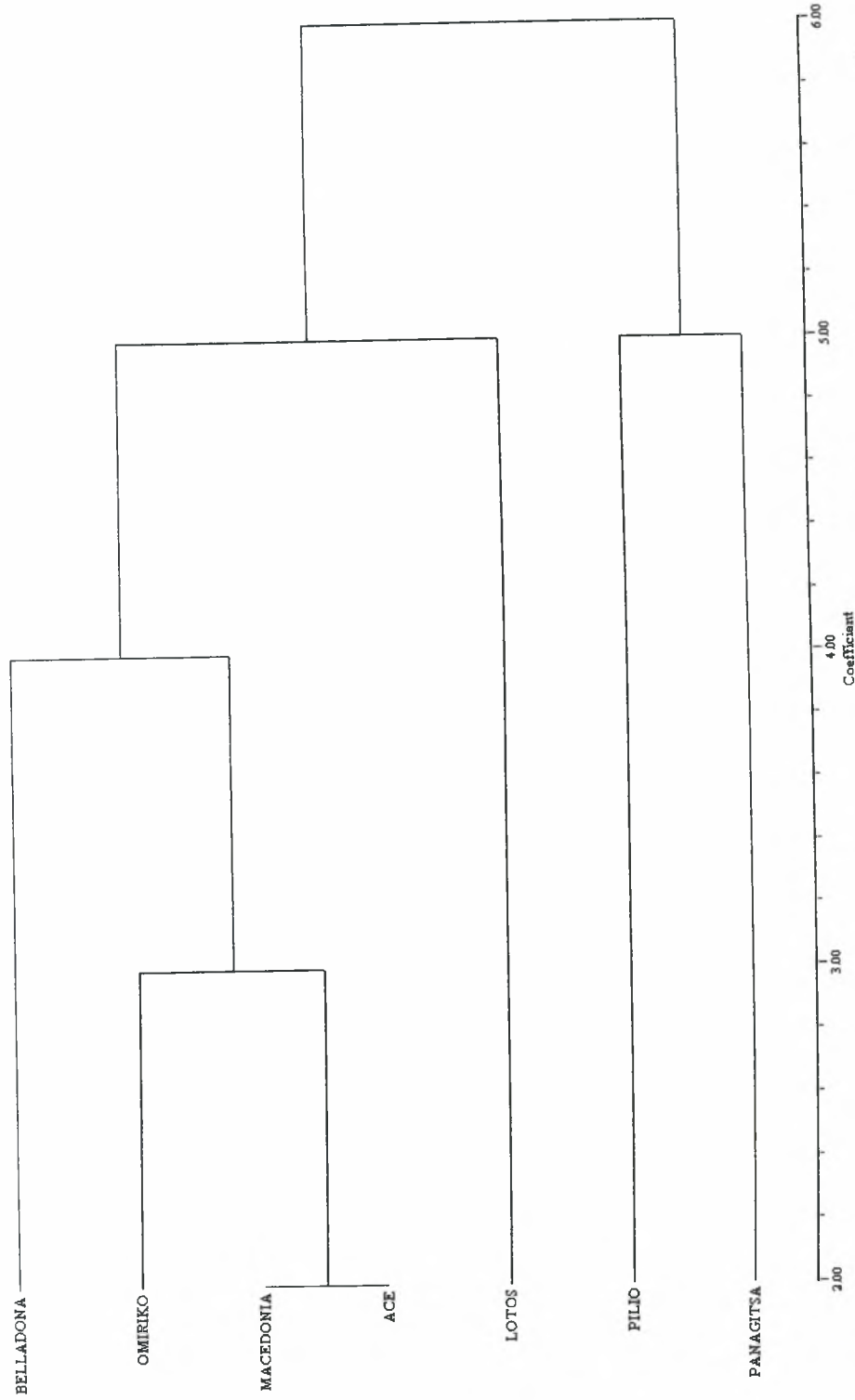




**Εικόνα 27.** Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων κατά Dice μεταξύ των εξεταζόμενων γενοτύπων του είδους *Lycopersicon esculentum* και ομαδοποίηση με τη μέθοδο UPGMA ( $r= 0.81052$ ).



**Εικόνα 28.** Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων κατά Dice μεταξύ των εξεταζόμενων γενοτύπων του είδους *Lycopersicon esculentum* και ομαδοποίηση με τη μέθοδο Neighbourjoining ( $r=0.45726$ ).



**Εικόνα 29.** Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων κατά Jaccard μεταξύ των εξεταζόμενων γενοτύπων του είδους *Lycopersicon esculentum* και ομαδοποίηση με τη μέθοδο Neighbourjoining ( $r=-0.45726$ ).

**Οι εξεταζόμενες ποικιλίες στο αγροτεμάχιο**



**Εικόνα 30.** Ποικιλίες Παναγίτσα (αριστερα) και Belladona (δεξιά).



**Εικόνα 31.** Ποικιλίες Ομηρικό (αριστερα) και Λωτός (δεξιά).



**Εικόνα 32.** Ποικιλία Ace και χαρακτηριστικό ανθος της.

## **BIBΛIOΓPAΦIA**

### **ΕΕΝΗ BIBΛIOΓPAΦIA**

- Abushita A.A., Daood H.G., Biacs P.A., (2000).** Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *J. Agr. Food Chem.*48:2075-2081.
- Alberts A.S., Geneste O., Treisman R., (1998).** Activation of SRFregulated chromosomal templates by Rho-family GTPases requires a signal that also induces H4 hyperacetylation. *Cell* 92:475-487.
- Atherton and Rudich, (1986).** The tomato crop. pp.85-97, pp. 546-579.
- Barton, D.W. (1950).** Pachytene morphology of the tomato chromosome complement. *Amer. J. Bot.* 37:639-643.
- Benter T., Papadopoulos S., Pape M., Manns M. and Poliwoda H., (1995).** Optimization and reproducibility of random amplified polymorphic DNA in human. *Anal Biochem.* 230(1):92-100.
- Botstein D., White R.L., Skolnick M. and Davis R.W., (1980).** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet.*;32(3):314-31
- Celio G.J., Hausbeck M.K., (1998).** Conidial germination, infection structure formation, and early colony development of powdery mildew on poinsettia *Phytopathology.* 88 (2): 105-113.
- Chen F. Q., Foolad M. R., Hyman J., St. Clair D. A. & Beelaman R. B., (1999).** Mapping of QTLs for lycopene and other fruit traits in a *Lycopersicon esculentum* x *L. pimpinellifolium* cross and comparison of QTLs across tomato species. *Molecular Breeding* 5: 283-299.
- Chunwongse,J., Bunn,T, Crossman,C., Jiang,J., and Tanksley S.** High resolution mapping of tomato powdery mildew resistance gene (*lv*) on chromosome 12.
- Clegg J. B and Weatherall D. J. (1974).** Hemoglobin Constant Spring, and unusual alpha-chain variant involved in the etiology of hemoglobin H disease.*Ann NY Acad Sci* 232: 168-178.

- Clinton S., (1998).** Lycopene chemistry, biology and cucurbits. Proc. Ann. Hort. Science. 81:369-370.
- Compendium of tomato diseases (1991).** Σελ.19.
- Curtis J., Carriere H., Hudgins E., Joshi V., Partridge M., (2004).** Management of Powdery Mildew, *Leveillula taurica*, in Greenhouse Peppers Food Safety and Quality Branch BC Ministry of Agriculture, Food & Fisheries.
- Di Mascio P., Kaiser S., and Sies H., (1989).** Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. Arch. Biochem. Biophys. 274: 532-538
- Dumas Y., Dadomo M., Di Lusso G., Grolier P.,(2002).** Review of the influence of major environmental and agronomic factors on the lycopanecontent of tomato fruit. ISHS Acta Horticulturae. 579:11. Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes.(Abstract).
- Fanourakis N., Pavlikaki H. and Navarro C.P., (2004).** Genetic relationships of different Greek landraces of cucumber. Euphytica Plant breeding.136:143-147.
- FAO, 1998.** Production Yearbook, Agricultural Statistics Series. FAO Rome, Vol.52.
- Fernandez Ruiz, V., Sanchez Mata, M. C., Camara M. και Torija M. E., (2004).** Internal quality characterization of fresh tomato fruits. *HortScience* 39:339-345.
- Georgelis N. και Scott J. W., (2004).** Relation of tomato fruit sugar concentration with physical and chemical traits and linkage of RAPD markers. *J. AMER. Soc. Hort.Sci.* 129(6):839-845.
- Gerster H.,(1997).** The potential role of lycopene for human health. *J.Am.Coll.Nutr.* 16:109-126.
- Guzman-Plazola R. A., Davisb R. M., Maroisc J. J., (2003).** Effects of relative humidity and high temperature on spore germination and development of tomato powdery mildew (*Leveillula taurica*). *Crop Protection* 22:1157–1168.

- Guzman-Plazola R.A., (1997).** Development of a spray forecast model for tomato powdery mildew (*Leveillula taurica*) (Lev.) Arn. PhD Thesis, University of California, Davis, California.
- Hearne C.M., Ghosh S. and Todd J.A., (1992).** Microsatellites for linkage analysis of genetic traits. *Trends Genet.* 1992 (8):288-94
- Higuchi, R., Fockler, C., Dollinger, G., & Watson, R. (1993).** Kinetic PCR: Real time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology* 11, 1026–1030.
- Hirata K. (1968).** Notes of host range and geographic distribution of powdery mildew fungi. *Transactions mycological society*, 9:73-78.
- Hu J., van Eysden J. and Quiros C.F., (1995).** Generation of DNA-based markers in specific genome regions by two- primer RAPD reactions. *Cold Spring Harbor*, Vol 4, p:346-351
- Jenkins J.A. (1948).** The origin of the cultivated tomato. *Econ. Bot.* 2:319-392.
- Katsiotis A., Hagidimitriou M., Drossou A., Pontikis C., Loukas M., (2003).** Genetic relationships among species and cultivars of *Pistacia* using RAPDs and AFLPs, *Euphytica* 132: 279-286.
- Kushad M., Masiunas J., Smith M., Kalf W., Eastman K., (2003).** Health promoting phytochemicals in vegetables. *Hort. Reviews*, 28:125-185.
- Landegren U., Kaiser R., Sanders J. and Hood L., (1988).** DNA diagnostics-molecular techniques and automation. *Science.* 242(4876):229-37
- Lapitan N.L.V., Ganal M.W., Tanksley S.D., (1991).** Somatic chromosome karyotype of tomato based on in situ hybridization of the TAG1 satellite repeat. *Genome* 32:992–998.
- Leonardi C., Ambrisimo P., Esposito F., Fogliano V. (2000).** Antioxidant activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes. *F. Agr. Food Chem.* 48:4723-4727.



- Madhavi D. L., Salunkhe D.K., (1998).** Handbook of vegetable science and technology (production, composition, storage and processing) Marcel Dekker, Inc.. pp: 171-201.
- Madhavi D.L. and Salunkhe D.K., (1998).** Production, composition, storage, and processing. In: D.K. Salunkhe and S.S. Kadam, Editors, Tomato, Handbook of Vegetable Science and Technology, Marcel Dekker, New York. pp. 171–201 Ch. 7.
- McPherson, M.J. & Moller, S.G. (2000).** PCR the basics from background to bench. BIOS Scientific Publishers, Oxford.
- Miller J.C., Tanksley S.D., (1990).** RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. Theoretical and Applied Genetics 80:437-448.
- Miller, J.C., and S.D. Tanksley.1990.** RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. Theoretical and Applied Genetics 80:437-448.
- Mohan M., Nair S., Bhagwatt A., Krishna T.G., Yano M., Bhatia C.R. and Sasaki T. (1997).** Genome mapping, molecular markers and marker assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding* 3:87-103.
- Morrison M.R., Brinkley S.A., Gorski J., Lingrel J.B., (1974).** The separation and identification of alpha- and beta-globin messenger ribonucleic acids. J Biol Chem. Aug 25;249(16):5290–5295.
- Mullis, K.B., Falloona, F.A (1987).** Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods in enzymology* 155: 335-350.
- Nei, M. and W.H. Li. (1979).** Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. 76: 5269-5273.
- Palti J. (1971).** Biological characteristics, distribution and control of *Leveillula taurica* (Lev.) Arn. *Phytopathologia, Mediterranea*, 10:139-153.
- Palti J., (1988).** The *Leveillula* mildews. *Botanical Review* 54:423–535.

- Rick C.M. (1978).** The role of natural hybridization in the derivation of cultivated tomatoes of western South America. *Econ. Bot.* 12:346-367.
- Sambrook J. and Russell D. W., (2001).** Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Sauer, J.D. 1993.** Historical geography of crop plants - a select roster. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Scott C., Ockey M.S.** Tomato Powdery Mildew *Leveillula taurica* Associate Sherman V. Thomson. Utah state university.
- Scott J.W. (1999).** University of Florida tomato breeding accomplishments and future directions. *Soil Crop Sci. Soc. Florida Proc.* 58:8-11.
- Sneath P.H.A and Sokal R.R., (1973).** Numerical taxonomy. San Francisco. 573 p.
- Spenser S. V., (1978).** The powdery mildews. Glass house crops research institute. Littlehampton, Sassex, England.
- Stam J.G., Chavalitshewinkoon P., de Vries E., Franssen F.F., Van der Vliet P.C. and Overdulve J.P., (1993).** Purification and characterization of DNA polymerases from *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol.*;61(2):243-53
- Staub J., Serquen F. and Bacher J., (1996).** Genetic map construction and map merging in cucumber. Proceedings of the Vith Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. Spain.
- Stubbe H., (1971).** Weitere evolutionsgenetische Untersuchungen in der Gattung *Lycopersicon*. *Biol. Zentralbl.* 90:545-559.
- Taylor, I. B. 1986.** Biosystematics of the Tomato. In: The Tomato Crop. A Scientific Basis for Improvement, pp. 1-34. Atherton, J. and Rudich, G. (eds.), Chapman and Hall, New York.
- Tigchelaar, E.C. (1986).** Genetic improvement of tomato nutritional quality. Horticulture and human health. Proc. of the first 1<sup>st</sup> Int. symposium on horticulture and human health. Alrington, Va. 12-15 April 1987. P. 185-190.

- Tonucci L. H., Holden J. M., Beecher G.R., Khachik F., Daus C. S., Mulocozi G. (1995).** Carotenoid content of thermally processed tomato - based food products. *J. Agr. Food Chem.* 43:579-586.
- Vallejos C. E., Tanksley S. D., Bernatzky R., (1986).** Localization in the tomato genome of dna restriction fragments containing sequences homologous to the rna (45s), the major chlorophyll a/b binding polypeptide and the ribulose bisphosphate carboxylase genes. *Genetics.* 112 (1): 93.
- Vavilov, N.I. (1926).** Studies on the origin of cultivated plants. *Bull. of Applied Botany and Plant Breeding* 16:139-245.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., (1995).** AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*;23(21):4407-14
- Welsh J., McClelland M.,(1990).** Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18:7213-7218.
- Whipps J.M., Budge S.P., Fenlon J.S., (1998).** Characteristics and host range of tomato powdery mildew. *Plant pathology* 47 (1): 36-48.
- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A. and Tingey S.V., (1990).** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, Vol. 18, No.22 6531
- Wong, M. L. & Medrano, J. F. (2005).** Real-time PCR for mRNA quantitation. *BioTechniques* 39, 75-85.
- Zamir, D. and S.D. Tanksley. 1988.** Tomato genome is comprised largely of fast-evolving low copy-number sequences. *Mol. & Gen. Genet.* **213**: 254-261.

## ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ανώνυμος, 2000.** Τομάτα καταγωγή – εξάπλωση. Zeus – Τομάτα. 14-23.
- Βαρδαβάκης Μ.(1993).** Συστηματική Βοτανική. Τόμος Ι. Θεσσαλονίκη. Σελ:175.
- Δημητρακάκης Κ. Γ., (1998).** Λαχανοκομία. Σελ.224-247.
- Καλύβας Α., Τσαυτάρης Α. και Κούτσικα – Σωτηρίου Μ., (2001).** Ετέρωση στα αυτογονιμοποιούμενα λαχανοκομικά φυτά. 20<sup>ο</sup> Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών 29-1 Νοέμβ. Κύπρος, σελ 374-377.
- Καραουλάνης Δ. Γ., (2003).** Τεχνολογία επεξεργασίας οπωροκηπευτικών. Εκδόσεις Art of Text, Θεσσαλονίκη.
- Λουλακάκης Κ.Α., (2002).** Σημειώσεις Βιοτεχνολογίας Φυτών. ΣΤΕΓ, ΑΤΕΙ Ηρακλείου, Ηράκλειο.
- Ντόγρας, (2001).** Ειδική λαχανοκομία Ι. Α' μέρος. Θεσσαλονίκη. Σελ. 1-39.
- Ολύμπιου Μ. Χρίστου (2001).** Η τεχνική της καλλιέργειας των κηπευτικών στα θερμοκήπια
- Παναγόπουλος Χ. Γ., (1995).** Ασθένειες κηπευτικών καλλιεργειών. Εκδόσεις Α. Σταμούλης. Σελ. 26-31.
- Φανουράκης Ν. (1999).** Γενετική βελτίωση φυτών
- Φανουράκης Ν., (2002).** Γενετική Βελτίωση Φυτών. Εκδόσεις Ιών, Αθήνα.
- Χατζόπουλος, Π. (2001).** Βιοτεχνολογία Φυτών. Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα.
- Χριστάκου Ε., Αρβανιτογιάννης Ι. Σ., Χα Ι. Α., Μπλέτσος Φ., Γούλας Χ., (2003).** Επίδραση εμβολιασμού στις ποιοτικές παραμέτρους του αγγουριού.



1991-1992

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

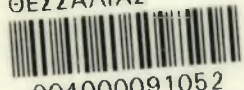
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000091052