

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ &  
ΖΩΪΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Α. Γ. Αγοραστός

ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΔΕΙΚΤΕΣ RAPD ΚΑΙ  
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΡΩΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ  
ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΓΕΝΟΤΥΠΩΝ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ ΜΕ  
ΑΝΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΧΑΜΗΛΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ

2000

53 072



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 1651/1

Ημερ. Εισ.: 01-07-2003

Δωρεά:

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

633.153 072

ΑΓΟ

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ &  
ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

**Α. Γ. Αγοραστός**

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΔΕΙΚΤΕΣ RAPD ΚΑΙ  
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΡΩΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ  
ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΓΕΝΟΤΥΠΩΝ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ ΜΕ  
ΑΝΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΧΑΜΗΛΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ**

**-2000-**

**Μοριακή Γενετική Ανάλυση με δείκτες RAPDs και Αξιολόγηση παραμέτρων πρώτης  
ανάπτυξης σε συνθήκες ελεγχόμενου περιβάλλοντος γενοτύπων καλαμποκιού με  
ανεκτικότητα σε χαμηλές θερμοκρασίες**

## Τα μέλη της επιτροπής

**Χρήστος Γούλας**  
**Καθηγητής Π.Θ.**

**Γενετική Βελτίωση**  
**Φυτών**

**Πέτρος Λόλας**  
**Καθηγητής Π.Θ.**

**Φυσιολογία- Ζιζανολογία**  
**Φυτών**

**Δημήτριος Κουρέτας**  
**Επίκουρος**  
**Καθηγητής Π.Θ.**

**Φυσιολογία Ζωικών**  
**Οργανισμών**

**Άγγελος Γ. Αγοραστός**

**Μοριακή Γενετική Ανάλυση με δείκτες RAPDs και Αξιολόγηση  
παραμέτρων πρώτης ανάπτυξης σε συνθήκες ελεγχόμενου  
περιβάλλοντος γενοτύπων καλαμποκιού με ανεκτικότητα σε χαμηλές  
θερμοκρασίες**

## Ευχαριστίες

Ευχαριστίες εκφράζονται σε όλους όσους με οποιονδήποτε τρόπο βοήθησαν και κατέστησαν δυνατή την πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας.

Ειδικές ευχαριστίες οφείλονται στον επιβλέποντα Καθηγητή κύριο Χρήστο Γούλα, για την υπόδειξη του θέματος, για την καθοδήγηση και τις χρήσιμες συμβουλές στην πραγματοποίηση της εργασίας, για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και την προετοιμασία της διατριβής.

Ευχαριστίες εκφράζονται επίσης στα μέλη της επιτροπής, τους Καθηγητές κ.κ. Π. Λόλα και Δ. Κουρέτα για την κριτική ανάγνωση της διατριβής και τις χρήσιμες υποδείξεις τους για την βελτίωση της παρουσίας της.

Ευχαριστώ θερμά τον Δρ. Α. Πολύδωρα για την πολύτιμη βοήθειά του και τις χρήσιμες συμβουλές του σχετικά με τη μεθοδολογία της μοριακής ανάλυσης με RAPDs.

Τέλος ευχαριστώ τους γονείς μου για την υποστήριξη που μου παρείχαν ώστε να καταστεί εφικτή η πραγματοποίηση της παρούσας διατριβής.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	1
<b>2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	3
<b>3. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ</b>	5
3.1. Γενικά για την καλλιέργεια	5
3.2. Απαιτήσεις σε θερμοκρασία	6
3.3. Μοριακή Γενετική Ανάλυση	13
<b>4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>	18
4.1. Γενετικό Υλικό	18
4.2. Αξιολόγηση σε ελεγχόμενες συνθήκες ανάπτυξης	19
4.2.1. Έλεγχος βλαστικής ικανότητας	19
4.2.2. Βλαστική ανάπτυξη σε ελεγχόμενες συνθήκες	19
4.2.3. Στατιστική ανάλυση	20
4.3. Μοριακή γενετική ανάλυση	21
<b>5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	24
5.1. Φυσιολογικά χαρακτηριστικά	24
5.2. Μοριακή γενετική ανάλυση	47
<b>6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΓΕΝΙΚΗ ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	54
<b>7. SUMMARY</b>	57
<b>8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	59
<b>9. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ</b>	67
9.1. Αξιολόγηση σε ελεγχόμενες συνθήκες ανάπτυξης	68
9.2. Μοριακή γενετική ανάλυση	100



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η θερμοκρασία είναι ένας σημαντικός περιοριστικός παράγων για τις αποδόσεις των καλλιεργούμενων φυτών. Ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες ορίζεται ως η ικανότητα του καλαμποκιού να φυτρώνει και να αναπτύσσεται κανονικά σε κρύο και υγρό χωράφι εξασφαλίζοντας κανονικό αριθμό φυτών ανά μονάδα επιφανείας φυσιολογική εγκατάσταση και φωτοσυνθετική ικανότητα. Γενετικό υλικό με τις προηγούμενες ιδιότητες είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν μία προκαταρκτική διερεύνηση εργαστηριακής βελτιωτικής μεθοδολογίας που συνδυάζει την μοριακή γενετική ανάλυση με φαινολογικά χαρακτηριστικά σε ελεγχόμενες συνθήκες ανάπτυξης προκειμένου να επιλεγεί γενετικό υλικό καλαμποκιού για την ανεκτικότητα στην καταπόνηση χαμηλών θερμοκρασιών στο φύτεμα και την πρώτη βλαστική ανάπτυξη.

Χρησιμοποιήθηκαν 30 S1 οικογένειες. Οι 20 από αυτές είχαν χαρακτηριστεί ως ανεκτικές στις χαμηλές θερμοκρασίες ενώ οι υπόλοιπες 10 S1 οικογένειες ως ευαίσθητες ύστερα από συνδυασμένη αξιολόγηση αγρού και εργαστηρίου. Χρησιμοποιήθηκαν ακόμη ως μάρτυρες δύο καθαρές σειρές εκ των οποίων η μία ανεκτική και η άλλη ευαίσθητη στις χαμηλές θερμοκρασίες καθώς και ο αρχικός πληθυσμός C0 και ο πληθυσμός C1 των επιλεγμένων ανεκτικών οικογενειών. Οι οικογένειες αξιολογήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης (16/8 ώρες ημέρα/νύκτα). Η πρώτη περίοδος ανάπτυξης ήταν 49 ημέρες σε θερμοκρασία 18°C, η δεύτερη 57 ημέρες (49, 18°C και 8 στους 10°C) και η τρίτη στους 25°C για έναν επιπλέον μήνα. Μετρήθηκαν οι μεταβλητές : Ρώμη-Ανάπτυξη (ΡΑ), ο αριθμός φυτών που φύτεψαν και επέζησαν μετά την καταπόνηση, ύψος του δεύτερου κολεού (ΥΚΦ), χλωρό βάρος (ΧΛΒ), η περιεκτικότητα χλωροφύλλης των φύλλων ενώ έγινε και έλεγχος της βλαστικής ικανότητας (Pionner cold test). Για τη μοριακή ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η τεχνική PCR με 20 τυχαίους RAPD εκκινητές.

Τα δεδομένα στην οριακή θερμοκρασία ανάπτυξης έδειξαν διαφοροποίηση των ανεκτικών οικογενειών από τις ευαίσθητες. Γενικά οι

ανεκτικές οικογένειες ήταν πιο εύρωστες, υψηλότερες, με μεγαλύτερο χλωρό βάρος και υψηλότερη τιμή SPAD. Η διαφοροποίηση ήταν πιο έντονη στο περιβάλλον καταπόνησης ( $\Theta=10^{\circ}\text{C}$ ) για όλα τα χαρακτηριστικά (ΡΑ, ΥΚΦ, ΧΛΒ) με ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τον αριθμό των φυτών που επέζησαν μετά την καταπόνηση των χαμηλών θερμοκρασιών (οι ευαίσθητες είχαν διπλάσιες απώλειες από τις ανεκτικές). Η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη (SPAD) έδειξε την αναμενόμενη δυσμενή επίδραση των χαμηλών θερμοκρασιών στη φωτοσυνθετική ικανότητα αλλά η διαφορά ανάμεσα στις ανεκτικές και ευαίσθητες οικογένειες δεν ήταν ιδιαίτερα εμφανής. Τα προϊόντα της ανάλυσης PCR έδειξαν ότι οι εκκινήτες OPB-11 και OPB-18 φάνηκαν να διαφοροποιούν τους ανεκτικούς από τους ευαίσθητους γενοτύπους. Γενικά τα δεδομένα ήταν μία ένδειξη για την κατ' αρχήν δυνατότητα διαφοροποίησης με χρήση μοριακών δεικτών.

Συμπερασματικά τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η προτεινόμενη μεθοδολογία μπορεί να είναι χρήσιμη για την επιλογή επιθυμητών γενοτύπων καλαμποκιού με ανεκτικότητα στην καταπόνηση χαμηλών θερμοκρασιών στα στάδια του φυτρώματος και πρώτης βλαστικής ανάπτυξης.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η θερμοκρασία είναι ένας σημαντικός περιοριστικός παράγων για τις αποδόσεις των καλλιεργουμένων φυτών. Για το καλαμπόκι το θερμοκρασιακό εύρος ανάπτυξης είναι γενικά 8°-40° C ενώ το άριστο κυμαίνεται γύρω στους 25°C (Shaw, 1988). Η περιοχή θερμοκρασιών κάτω του άριστου (15°-25°C) και η αντίστοιχη άνω του άριστου χαρακτηρίζονται ως υπο-άριστες (sub-optimal) ή υπερευνοϊκές (super optimal). Από τα τρία κύρια στάδια αναπτύξεως του καλαμποκιού (Βλαστικό, Αναπαραγωγικό, Ωριμάνσεως) οι πρώτες φάσεις του βλαστικού σταδίου όπως το φύτευμα και η πρώτη ανάπτυξη έχουν ιδιαίτερη σημασία επειδή συνήθως οι θερμοκρασίες κυμαίνονται στην περιοχή των λιγότερο ευνοϊκών ή είναι οριακές. Αντιθέτως στο αναπαραγωγικό στάδιο και εκείνο της ωρίμανσης (ιδιαίτερος στο σχηματισμό και το γέμισμα του κόκκου) η θερμοκρασία συνήθως είναι στην περιοχή των υπερευνοϊκών αλλά ακόμη και υψηλότερες που συνιστούν θερμική καταπόνηση. Ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες (cold tolerance) ορίζεται ως η ικανότητα του καλαμποκιού να φυτρώνει και να αναπτύσσεται κανονικά σε κρύο και υγρό χωράφι εξασφαλίζοντας κανονικό αριθμό φυτών ανά μονάδα επιφάνειας, φυσιολογική εγκατάσταση και κανονική φωτοσυνθετική ικανότητα (Mock and McNeill, 1978).

Πρώιμες ή υπερπρώιμες σπορές γίνονται συνήθως σε θερμοκρασία εδάφους 12-14° C ενώ η συνήθης κανονική σπορά γίνεται στους 16°C. Όταν η μέση θερμοκρασία είναι 16-18°C το καλαμπόκι φυτρώνει σε 8-10 ημέρες ενώ όταν είναι 10-13°C χρειάζεται 18-20 ημέρες. Ο ρυθμός αύξησης (growth rate) είναι 8 cm στην θερμοκρασία των 18-19°C και μεγαλύτερη των 17 εκ. σε θερμοκρασία 25-26°C (Shaw, 1988). Συνθήκες σποράς και βλαστικής ανάπτυξης που αποκλίνουν από τις προηγούμενες συνιστούν τις συνθήκες καταπόνησης.

Καθαρές σειρές καλαμποκιού με ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες και υψηλές αποδόσεις *per se* θα έδιναν τη δυνατότητα αξιοποίησεως νέων περιοχών (οριακών με τις σημερινές συνθήκες) για παραγωγή πιστοποιημένου σπόρου υβριδίων καλαμποκιού. Επί πλέον αντίστοιχα υβρίδια μεγάλου βιολογικού κύκλου και υψηλών αποδόσεων θα αξιοποιούσαν νέες περιοχές που με τα σημερινά δεδομένα

είναι οριακές ή απαγορευτικές για την καλλιέργειά τους. Το ίδιο φυσικά ισχύει και για την ανεκτικότητα στην καταπόνηση των υψηλών θερμοκρασιών στο αναπαραγωγικό στάδιο. Στην περίπτωση αυτή θα ήταν δυνατή η καλλίτερη αξιοποίηση οριακών περιοχών όπως π.χ. εκείνων της ζώνης βαμβακιού που με την καλλιέργεια τέτοιων υβριδίων η παραγωγή πιστοποιημένου σπόρου θα διευκόλυναν και τα προγράμματα αμειψισποράς.

Η βλαστική ικανότητα σε ελεγχόμενες συνθήκες εργαστηρίου, η εμφάνιση-εγκατάσταση του φυτού στον αγρό και η παραγωγή χλωράς φυτομάζας στα πρώτα στάδια μαζί με κριτήρια έμμεσης επιλογής που στηρίζονται στη φυσιολογία του φυτού όπως η εκτίμηση της φωτοσυνθετικής ικανότητας και ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας της χλωροφύλλης στα φύλλα έχουν χρησιμοποιηθεί στην προσπάθεια της δημιουργίας γενετικού υλικού με ανεκτικότητα στην καταπόνηση χαμηλών θερμοκρασιών. Η μοριακή γενετική ανάλυση και η δυνατότητα αξιοποίησης μοριακών δεικτών αναμένεται να βοηθήσουν στην αποτελεσματικότερη επιλογή των επιθυμητών γενοτύπων.

## ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

### Γενικά για την καλλιέργεια.

Το καλαμπόκι εξημερώθηκε και καλλιεργήθηκε για πρώτη φορά από τους Ινδιάνους της Αμερικής. Τόπος καταγωγής του θεωρείται η Κεντρική Αμερική και το Μεξικό, όπου απαντάται σε μεγάλη ποικιλία τύπων μαζί με άλλα συγγενή είδη (*Euchaena* & *Tripsacum*). Σε ανασκαφές που έγιναν στο Μεξικό βρέθηκαν σε βάθος 60 περίπου μέτρων γυρεόκοκκοι που μοιάζουν με αυτούς που παράγουν τα σημερινά φυτά. Η ηλικία των γυρεοκόκκων υπολογίζεται στα 80.000 έτη. Παλαιά ευρήματα καλλιέργειας του αραβόσιτου ανακαλύφθηκαν επίσης στην περιοχή των Άνδεων της Ν. Αμερικής, όπου αναπτύχθηκαν οι προκολομβιανοί πληθυσμοί των Ινδιάνων (Galinat, 1954).

Το καλαμπόκι, αν και τροπικής καταγωγής, χαρακτηρίζεται από μεγάλη προσαρμοστικότητα σε ποικιλία περιβαλλόντων και έτσι καλλιεργείται από 58° ΒΠ ως 40° ΝΠ και από την επιφάνεια της θάλασσας ως ύψος 3.800 m (Άνδεις Περού). Καλλιεργείται ακόμα και στην Αγγλία ως χλωρά νομή και για ενσίρωση. Επίσης έχουν δημιουργηθεί ποικιλίες και υβρίδια με βιολογικό κύκλο από δύο έως και ένδεκα μηνών. Γι' αυτό επικράτησε να θεωρείται το καλαμπόκι ως φυτό με μεγάλη προσαρμοστικότητα (Σφήκας, 1992).

Η παγκόσμια καλλιεργούμενη έκταση είναι 115εκ. στρέμματα περίπου και αποτελεί το 15 % της παγκόσμιας καλλιεργούμενης έκτασης με σιτηρά. Κυρίως καλλιεργείται στις Η.Π.Α. (έκταση περίπου το 1/7 της παγκόσμιας και παραγωγή πάνω από το 50%). Η μέση παγκόσμια απόδοση πλησιάζει τα 300 kg/στρ. Σε πολλές περιπτώσεις μπορεί να ξεπεράσει τα 1200 kg και έχουν επιτευχθεί αποδόσεις πάνω από 2000 kg/στρ. Άλλες χώρες που καλλιεργούν καλαμπόκι είναι η ΕΣΣΔ, χώρες της Κ. και Ν. Αμερικής, Ευρωπαϊκές χώρες (Ιταλία, Γιουγκοσλαβία, Ουγγαρία) και Ασιατικές χώρες (Κίνα, Ινδία), (Aldrich et al., 1975).

Η καλλιέργεια του καλαμποκιού στην Ελλάδα κατέχει ετησίως περί τα 1,5 εκατ. στρέμματα (700.000 στη Μακεδονία, 200.000 στη Στερεά Ελλάδα και 300.000 στη Θράκη) με παραγωγή πάνω από 600.000 χιλιάδες τόνους. Οι οικολογικές συνθήκες

στην Ελλάδα δεν είναι ιδιαίτερα ευνοϊκές για την ανάπτυξή του. Ιδίως λείπει η βροχόπτωση, γι' αυτό απαιτείται άρδευση κατά τους καλοκαιρινούς μήνες (Μπουντώνας και Καραλάζος, 1968).

Προ Κολόμβου ο καρπός του καλαμποκιού αποτελούσε τη βασική τροφή του ανθρώπου στην Αμερική. Σήμερα χρησιμοποιείται κυρίως ως ζωτροφή και λιγότερο στη διατροφή του ανθρώπου. Μικρή αναλογία της παραγωγής καρπού και ορισμένα βιομηχανικά προϊόντα του διακινούνται στο διεθνές εμπόριο.

Το καλαμπόκι είναι το κυριότερο εαρινό σιτηρό για την Ελλάδα και καλλιεργείται κυρίως για ζωτροφή. Σπέρνεται και ως δεύτερη καλλιέργεια (επίσπορος) μέσα στο ίδιο έτος αμέσως μετά από χειμερινά ψυχανθή ή σιτηρά, εξασφαλίζοντας συμπληρωματικό εισόδημα στον παραγωγό. Θα πρέπει γι' αυτό να χρησιμοποιούνται κατάλληλα υβρίδια (μικρού βιολογικού κύκλου), ισχυρή λίπανση και άρδευση (Σφήκας, 1992).

### **Απαιτήσεις σε θερμοκρασία.**

Η θερμοκρασία αποτελεί τον σπουδαιότερο κλιματικό παράγοντα, ο οποίος καθορίζει τις ζώνες καλλιέργειας των φυτών. Έτσι ενώ στη Β. Ευρώπη τα χειμερινά σιτηρά σπέρνονται μόνον την Άνοιξη, στις νοτιότερες περιοχές αποτελούν χειμερινή καλλιέργεια. Το καλαμπόκι καλλιεργείται σαν εαρινό σιτηρό στην Ελλάδα και τις άλλες νοτιότερες περιοχές της Ευρώπης. Η ετήσια διακύμανση της θερμοκρασίας, εξαρτάται κυρίως από το γεωγραφικό πλάτος και κατά δεύτερο λόγο από το υψόμετρο και είναι ο παράγοντας που καθορίζει το μήκος της βλαστικής περιόδου για τα διάφορα φυτά. Σαν βλαστική περίοδο ορίζεται η εντός του έτους χρονική διάρκεια με ευνοϊκές για την ανάπτυξη του είδους θερμοκρασίες. Αυτή ποικίλει για τις διάφορες καλλιέργειες. Για κάθε φυτό υπάρχει ένα ελάχιστο, ένα μέγιστο και ένα άριστο θερμοκρασίας, τα οποία εξαρτώνται από το στάδιο ανάπτυξης. Η βλαστική περίοδος προσδιορίζεται συνήθως από τις ελάχιστες και πολύ σπάνια από τις μέγιστες θερμοκρασίες. Τα όρια όμως αυτά δεν είναι ανεξάρτητα άλλων παραγόντων όπως είναι η σκληραγώγηση ή όχι των φυτών, η διάρκεια της επίδρασης των χαμηλών θερμοκρασιών, η υγρασία και άλλοι παράγοντες (Σφήκας, 1992).

Το καλαμπόκι έχει σχετικά μεγάλες απαιτήσεις σε θερμοκρασία, λόγω της τροπικής καταγωγής του. Για το φύτεμα του σπόρου χρειάζεται θερμοκρασία άνω

των 10° C. Με θερμοκρασία 21° C και επαρκή υγρασία ο σπόρος φυτρώνει σε 5 – 6 ημέρες. Σε θερμοκρασία 15 – 18° C το φύτερωμα διαρκεί 8 – 10 ημέρες. Η αντοχή του στο ψύχος είναι μεγαλύτερη σε μικρή ηλικία (ως ύψος 15 cm περίπου) και λιγοστεύει με την πάροδο του χρόνου. Νεαρά φυτά μπορούν να υποστούν ελαφρούς παγετούς, ενώ τα αναπτυγμένα αναστέλλουν την αύξησή τους κάτω από 13° C και παθαίνουν σοβαρές ζημιές αν η θερμοκρασία παραμένει για αρκετές μέρες κάτω από 10° C. Ζημιές μπορεί να υποστεί η παραγωγή και από πρώιμους φθινοπωρινούς παγετούς όταν η συγκομιδή είναι όψιμη. Υπάρχουν επίσης διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ή υβριδίων. Γενικά ο σκληρός αραβόσιτος αντέχει πιο πολύ στις αντίξοες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας συγκριτικά προς τον οδοντόμορφο (Shaw, 1965).

Και οι πολύ υψηλές θερμοκρασίες όμως, ιδίως με έλλειψη υγρασίας, μπορούν να ζημιώσουν το καλαμπόκι. Έτσι σε περίοδο ξηρασίας θερμοκρασία υψηλότερη των 27° C συντελεί σε καθυστέρηση της ανάπτυξης του φυτού. Θερμοκρασίες 30 – 35° μπορεί να προκαλέσουν ανωμαλίες στο μεταβολισμό του αζώτου. Σε πιο ψηλές θερμοκρασίες προκαλούνται δυσχέρειες και στη γονιμοποίηση των φυτών λόγω ξήρανσης του στίγματος.

Η σπορά του καλαμπόκιού γίνεται την άνοιξη ακόμα και στις θερμές περιοχές. Για την εκλογή της εποχής σποράς λαμβάνεται υπόψη η θερμοκρασία του εδάφους, η οποία πρέπει να ξεπεράσει τους 10° C. Συνήθως το καλαμπόκι σπέρνεται 10–15 ημέρες μετά την παρέλευση του κινδύνου των εαρινών παγετών. Στην Ελλάδα η σπορά γίνεται το Μάρτιο Νότια και τον Απρίλιο στην Β. Ελλάδα. Ως δεύτερη καλλιέργεια (επίσπορος αραβόσιτος) η σπορά γίνεται Ιούνιο – Ιούλιο (Σφήκας, 1992).

Η πρώιμη σπορά πρέπει να προτιμάται γιατί εξασφαλίζει μεγάλες αποδόσεις επειδή τα φυτά εκμεταλλεύονται το δροσερό και υγρό καιρό στην περίοδο της βλαστικής αύξησεως και τις μετέπειτα προσφορότερες συνθήκες επικοινωνίας ενώ αργότερα αποφεύγουν την καταπόνηση λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που επικρατούν κατά το αναπαραγωγικό στάδιο και εκείνο της συγκομιδής. Στις ψυχρότερες περιοχές η πρώιμη σπορά εξασφαλίζει πρώιμη ωρίμανση και λιγότερους κινδύνους κατά την συγκομιδή. Η πρώιμη σπορά ανέχεται πυκνότερη φυτεία, γιατί τα φυτά συγκριτικά με όψιμη φυτεία μένουν βραχύτερα και δεν πλάγιαζουν εύκολα. Ακόμη η πρώιμη σπορά επιτυγχάνει ταχεία εδαφοκάλυψη και μείωση της απώλειας του εδαφικού νερού με εξάτμιση (Pendleton, 1965). Ο κυριότερος ανασταλτικός παράγων που δεν επιτρέπει την πρώιμη σπορά του καλαμπόκιού είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες που επικρατούν κατά το φύτερωμα και την πρώτη βλαστική ανάπτυξη.

Γενετικό υλικό καλαμποκιού με ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες στα παραπάνω στάδια θα ήταν ιδιαίτερα πολύτιμο γιατί θα επέτρεπε την κατά 10-15 ημέρες πρωιμότερη σπορά, την χρησιμοποίηση υβριδίων μεγαλύτερου βιολογικού κύκλου για αύξηση του μήκους της βλαστικής περιόδου με αποτέλεσμα την αύξηση των αποδόσεων και την επέκταση της ζώνης καλλιέργειας σε νέες οριακές περιοχές (Goulas et al., 1997).

Η αντοχή των διαφόρων φυτών στις χαμηλές θερμοκρασίες σχετίζεται με τον τόπο καταγωγής των. Φυτά τροπικής προέλευσης είναι ευπαθή στις χαμηλές θερμοκρασίες. Η μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα του καλαμποκιού σχετικά με τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου επέτρεψε τη δημιουργία υβριδίων με δυνατότητα καλλιέργειας σε περιοχές με βλαστική περίοδο από 2-11 μήνες (Σφήκας, 1992).

Η γενετική του καλαμποκιού μελετήθηκε εκτεταμένα και η βελτίωσή του σημείωσε τεράστια πρόοδο. Αποτέλεσε φυτό πρότυπο για τη μελέτη και ανάπτυξη της ποσοτικής γενετικής και της μεθοδολογίας Βελτιώσεως που με τη δημιουργία και αξιοποίηση των υβριδίων επέτυχε τις υψηλές αποδόσεις εκμεταλλευόμενο το φαινόμενο της ετερώσεως. Εκτός από το μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον το καλαμπόκι προσφέρεται εύκολα για μελέτη και γενετική βελτίωση. Είναι φυτό μόνοικο και δικλινές παρέχοντας στο βελτιωτή μεγάλη ευχέρεια βελτιωτικών χειρισμών όπως κατευθυνόμενων σταυρογονιμοποιήσεων για δημιουργία υβριδίων αλλά και αυτογονιμοποιήσεων για δημιουργία καθαρών σειρών καθώς και μεγάλη παραλλακτικότητα με συνέπεια την ευρεία του προσαρμοστικότητα σε εύρος συνθηκών. Έχει μεγάλο αριθμό υποτελών χαρακτηριστικών και παρουσιάζει έντονα φαινόμενα ετερώσεως. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά το καθιστούν πρότυπο ως γενετικό υλικό (Γούλας, 1994).

Η βελτίωση του καλαμποκιού άρχισε από πολύ παλιά. Οι ιθαγενείς της Αμερικής που ήταν και οι πρώτοι καλλιεργητές του αραβόσιτου, παρέδωσαν στους παλαιούς και σύγχρονους βελτιωτές μια τεράστια ποικιλία τύπων αραβόσιτου. Η περαιτέρω βελτίωση προωθήθηκε με την πρόοδο της εφαρμογής των γενετικών γνώσεων στη δημιουργία πιο αποδοτικών ποικιλιών και στη συνέχεια των πολύ παραγωγικών υβριδίων. Σταθμοί στη βελτίωση του καλαμποκιού αποτέλεσαν τα πειραματικά δεδομένα για την ετέρωση σε διασταυρώσεις μεταξύ πληθυσμών (1877), η μέθοδος σπάδικας στη γραμμή (1896), και η πρόταση δημιουργίας υβριδίων με τη χρησιμοποίηση καθαρών σειρών (1909). Στη δεκαετία του '40 εμφανίστηκαν τα κυκλικά σχήματα επιλογής (επιλογή για γενική και ειδική συνδυαστική ικανότητα και



αμοιβαία επανεπιλογή). Από το 1950 και μετά η βελτίωση του καλαμποκιού συνεχίστηκε με την αξιοποίηση της ετέρωσης και την δημιουργία των υψηλοαποδοτικών υβριδίων που καλλιεργούνται σήμερα (Γούλας, 1994).

Η μεγάλη πρόοδος που συνετελέσθη στη βελτίωση του καλαμποκιού οφείλεται και στην ύπαρξη φυσικών πληθυσμών με ευρεία γενετική βάση. Για τη δημιουργία γενετικής παραλλακτικότητας σημαντική ήταν η συμβολή των βελτιωτικών σχημάτων μεταξύ πληθυσμών και τη βελτίωση της συνδυαστικής ικανότητας των δύο πληθυσμών με σκοπό την παραγωγή υβριδίων. Η αξιοποίηση της γενετικής παραλλακτικότητας προϋποθέτει την δημιουργία των κατάλληλων συνθηκών αξιολόγησης. Η αξιολόγηση για να είναι επιτυχής πρέπει να γίνεται τόσο σε ευνοϊκές όσο και σε συνθήκες καταπόνησης με τη χρήση των κατάλληλων κριτηρίων για την επιλογή των επιθυμητών γενοτύπων. Η αξιολόγηση στο εργαστήριο πρέπει να συνδυάζεται από αξιολόγηση στον αγρό για να είναι πιο αποτελεσματική (Γούλας κ.α., 1997).

Η ανεκτικότητα στην καταπόνηση των χαμηλών θερμοκρασιών είναι κληρονομικό χαρακτηριστικό και υπόκειται σε βελτιωτικούς χειρισμούς με σχήματα κυκλικής επιλογής (Mock and Mc Neil, 1979 και εν αυτώ αναφορές). Η ευπάθεια του καλαμποκιού στις χαμηλές θερμοκρασίες εκφράζεται με διάφορους τρόπους αλλά το σύνηθες κριτήριο είναι η μειωμένη βλαστική ικανότητα στον αγρό και η εμφάνιση-εγκατάσταση του φυτού (germination-emergence) καθώς και η μεταξύ τους χρονική διάρκεια. Έτσι για την επιλογή των γενοτύπων (φυτών) με ανεκτικότητα στην υπ'όψιν καταπόνηση ένα απλό κριτήριο επιλογής θα μπορούσε να είναι η εκτίμηση της βλαστικής ικανότητας σε ελεγχόμενες συνθήκες εργαστηρίου ή της φυτρωτικής δύναμης και εγκατάστασης του φυτού στο χωράφι σε αντίστοιχες συνθήκες καταπόνησης (π.χ. υπερπρώιμη ή πρώιμη σπορά). Δεδομένα αξιολόγησης ετεροθαλικών (HS) οικογενειών καλαμποκιού σε συνθήκες καταπόνησης (υπερπρώιμη σπορά) έδειξαν ότι υπάρχει η δυνατότητα επιλογής για δημιουργία γενετικού υλικού με ανεκτικότητα στην καταπόνηση λόγω χαμηλών θερμοκρασιών στο φύτεμα και την πρώτη ανάπτυξη. Ο προσδιορισμός της φυτρωτικής δύναμης στον αγρό φάνηκε αξιόπιστο κριτήριο για αποτελεσματική επιλογή. Η συνδυασμένη αξιολόγηση HS οικογενειών στον αγρό και S1 στο εργαστήριο για φυτρωτική ικανότητα και ανάπτυξη σε ελεγχόμενες συνθήκες έδειξε ότι είναι μία υποσχόμενη μεθοδολογία (Γούλας κ.α., 1997).

Οι Hodges et al (1997α) στην εκτενή τους ανασκόπηση σημειώνουν ότι η βελτιωτική προσπάθεια για δημιουργία γενετικού υλικού με ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες έγινε με κριτήρια είτε αποκλειστικά την αξιολόγηση σε συνθήκες εργαστηρίου είτε τις αντίστοιχες στο χωράφι αλλά σπανίως έγινε συνδυασμός των δύο μεθόδων που φαίνεται ότι δεν έχουν και καλή μεταξύ τους συσχέτιση. Σύμφωνα με τους Γούλα κ.α., (1997) από τις τιμές φαινοτυπικής παραλλακτικότητας το χλωρό βάρος φυτού φάνηκε να διαφοροποιεί τους γενότυπους στη χαμηλή (υπό-αρίστη, suboptimal) θερμοκρασία ανάπτυξης όπως και το ύψος φυτού (CV=47.4 και 32.1% αντιστοίχως), ενώ δεν παρατηρήθηκε παραλλακτικότητα για την χλωροφύλλη των φύλλων (τιμές SPAD). Τα δεδομένα ήταν μια πρώτη ένδειξη ότι η αξιολόγηση σε ελεγχόμενες συνθήκες πρέπει να συνδυάζεται με δεδομένα αγρού προκειμένου να είναι αξιόπιστη σύμφωνα και με τα δεδομένα των Hodges et al (1997α ) και όσα αναφέρονται από τους ίδιους στην ανασκόπησή τους.

Πρόσφατη μεθοδολογία που στηρίζεται σε υδροπονική ανάπτυξη καλαμποκιού μέχρι το στάδιο των τεσσάρων φύλλων σε θερμοκρασία 11°C επί 28 ημέρες και κριτήριο την παραγωγή ξηράς φυτομάζας ήταν αποτελεσματική για την επιλογή καθαρών σειρών καλαμποκιού με ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες (Hodges et al, 1995). Σύμφωνα με τα δεδομένα αυτά για επτά από τις οκτώ καθαρές σειρές που αξιολογήθηκαν η παραχθείσα ξηρά φυτομάζα στο στάδιο των τεσσάρων φύλλων είχε υψηλή συσχέτιση με την αντίστοιχη που είχε παραχθεί σε συνθήκες αγρού ( $r = 0.78^*$ ). Νεότερα δεδομένα της συγκεκριμένης μεθοδολογίας έδειξαν ότι η ανεκτικότητα των καθαρών σειρών που εκτιμήθηκε στα πρώτα στάδια της ανάπτυξης στο εργαστήριο φάνηκε να μεταβάλλεται σε επόμενα στάδια τουλάχιστον για ορισμένες καθαρές σειρές. Επί πλέον δε η πρόβλεψη της συμπεριφοράς των υβριδίων με βάση την αντίστοιχη των καθαρών σειρών γονέων τους δεν ήταν αξιόπιστη (Hodges et al., 1997α). Σύμφωνα με τα δεδομένα αυτά η ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες στο φύτευμα και τα πρώτα στάδια ανάπτυξης πιθανόν να ελέγχονται από διαφορετικούς γενετικούς μηχανισμούς. Η ενδοπολυπλοειδία στους ιστούς του μεσοκοτυλίου φυταρίων καλαμποκιού φάνηκε να επηρεάζεται από την καταπόνηση της χαμηλής θερμοκρασίας και ενδεχομένως να σχετίζεται με την ανεκτικότητα. Έτσι παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ δύο πληθυσμών ως προς τον βαθμό ενδοπολυπλοειδίας γεγονός που υπονοεί ότι το χαρακτηριστικό αυτό θα μπορούσε να αξιοποιηθεί ως κριτήριο επιλογής (Elwilhelm et al, 1995).

Αξιολόγηση 34 καθαρών σειρών καλαμποκιού για ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες έχει αναφερθεί από τους Mock and Mc Neil (1979). Η αξιολόγηση που έγινε σε συνθήκες αγρού με πρώιμη σπορά περιέλαβε ως κριτήρια: φυτρωτική δύναμη που μετρήθηκε 30 ημέρες μετά τη σπορά, παραγωγή ξηρής βιομάζας 42 ημέρες μετά τη σπορά, και δείκτη εμφάνισης-εγκατάστασης του φυτού. Επίσης εκτιμήθηκε και η τελική απόδοση.

Σύμφωνα με τα δεδομένα, η φυτρωτική δύναμη στο μέσο όρο ήταν 27.5-82.9% με συντελεστή κληρονομικής ικανότητας ( $h^2 = 0.85+0.06$ ), ενώ παρατηρήθηκε και η αναμενόμενη αλληλεπίδραση γενοτύπων με το περιβάλλον. Η κληρονομήση της ανεκτικότητας στις χαμηλές θερμοκρασίες υπόκειται σε μητρικές επιδράσεις που σχετίζονται κυρίως με τη βλαστική δύναμη και την πρώτη βλαστική ανάπτυξη (Maryan and Jones, 1983) που φαίνεται να επιβεβαιώνεται και από τις προηγούμενες ενδείξεις των Hodges et al (1995).

Εκτός από την εκτίμηση της φυτρωτικής δύναμης και της πρώτης βλαστικής ανάπτυξης σε ελεγχόμενες συνθήκες ή αντίστοιχες αγρού έχουν προταθεί και διάφορα άλλα κριτήρια έμμεσης επιλογής που στηρίζονται στη φυσιολογία του φυτού. Έτσι η φωτοσυνθετική ικανότητα στο καλαμπόκι παρ'όλο που είναι χαρακτηριστικό με γενετική παραλλακτικότητα και τιμές  $h^2$  που δικαιολογούν πρόοδο κατόπιν επιλογής δεν βρέθηκε να σχετίζεται με την τελική απόδοση σε κανονικές συνθήκες. Αντιθέτως το χαρακτηριστικό της φωτοσυνθετικής ικανότητας έχει σημασία σε συνθήκες καταπόνησης όπου μπορεί να θεωρηθεί ένδειξη υψηλών και σταθερών αποδόσεων (Tollenaar et al, 1994). Επομένως αυτό σημαίνει ότι η εκτίμηση της φωτοσυνθετικής ικανότητας είτε άμεσα είτε έμμεσα, πέρα από τις πρακτικές δυσκολίες, θα μπορούσε να είναι ένα έμμεσο κριτήριο επιλογής. Με αυτή την έννοια μετρήσεις του φθορισμού της χλωροφύλλης *in vivo* έχουν προταθεί ως κριτήριο επιλογής γενοτύπων ανθεκτικών στις καταπονήσεις (Behl et al, 1993).

Ο φθορισμός της χλωροφύλλης βρέθηκε ότι είναι χρήσιμο κριτήριο έμμεσης επιλογής για ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες σε διάφορα καλλιεργούμενα φυτά μεταξύ των οποίων το καλαμπόκι και το ρύζι (Bertin et al, 1997 και εν αυτώ αναφορές). Επίσης τα αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως CAT, MDHAR και ASPX καθώς και η συγκέντρωση υδατανθράκων έχουν προταθεί ως ενδεχόμενα κριτήρια έμμεσης επιλογής (Hodges et al, 1997.b).

Συνδυασμένη ανεκτικότητα σε χαμηλές θερμοκρασίες στο φύτεμα και πρώτη ανάπτυξη και υψηλές στο αναπαραγωγικό στάδιο θα ήταν ιδιαίτερα επιθυμητή. Οι

Aziza et al (1997) ανέφεραν ότι στα αραποφάσουλα (*Vigna unguiculata*) οι δύο μηχανισμοί ανεκτικότητας φάνηκε να ελέγχονται από διαφορετικά γονίδια χωρίς αυτό να αποκλείει δημιουργία γενετικού υλικού με τα δύο επιθυμητά χαρακτηριστικά. Γενικά οι διαφορές στις φυσιολογικές λειτουργίες του καλαμποκιού είναι αρνητικά συσχετισμένες με την ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες και χρειάζεται περαιτέρω έρευνα του βιοχημικού μηχανισμού που θα επιτρέψουν την κατανόησή τους και ενδεχόμενη αξιοποίησή τους στη βελτίωση (Lupotto et al. 1997).

Προσδιορισμός της περιεκτικότητας της χλωροφύλλης στα φύλλα θα μπορούσε να είναι ένα άλλο έμμεσο κριτήριο επιλογής. Δεδομένα των Bertin et al (1997) έδειξαν ότι γενότυποι ρυζιού ευαίσθητοι στις χαμηλές θερμοκρασίες είχαν μειωμένη χλωροφύλλη. Με βάση αυτά τα δεδομένα φαίνεται ότι η έμμεση εκτίμηση της χλωροφύλλης σε τιμές SPAD μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο κριτήριο στην προσπάθεια αναγνώρισης ανεκτικών γενοτύπων, και αξίζει να διερευνηθεί περαιτέρω.

Διαφορές μεταξύ καθαρών σειρών καλαμποκιού για περιεκτικότητα χλωροφύλλης έχουν αναφερθεί (Fleming and Palmer, 1975). Η περιεκτικότητα χλωροφύλλης των καθαρών σειρών δεν βρέθηκε συσχετισμένη με την τελική απόδοση ενώ το αντίθετο παρατηρήθηκε στα υβρίδια που είχε υψηλή συσχέτιση ( $r = 0.93^*$ ). Έμμεσος προσδιορισμός της περιεκτικότητας της χλωροφύλλης με το χλωροφυλλόμετρο SPAD της Minolta έχει προταθεί ως χρήσιμη εύκολη μέθοδος που επιτρέπει την άμεση εκτίμηση σε συνθήκες αγρού (Dewer et al, 1991). Το χλωροφυλλόμετρο SPAD - 502 της Minolta Camera Co., Ltd, Japan, μετράει την περιεκτικότητα της χλωροφύλλης του φύλλου, η οποία σχετίζεται με την ένταση του πράσινου χρώματος του φύλλου διοχετεύοντας το φως διαμέσου του φύλλου σε δύο διαφορετικά μήκη κύματος (650 και 940 nm). Έκτοτε έχει χρησιμοποιηθεί σε προγράμματα προσδιορισμού των αναγκών άρδευσης και λίπανσης (Blackmer et al, 1994· Blackmer and Schepers, 1995). Επιπλέον ο έμμεσος αυτός προσδιορισμός σε μονάδες SPAD αναφέρθηκε ότι συσχετίζεται πολύ καλά ( $r^2 = 0.98$ ) με την ικανότητα των φύλλων του καλαμποκιού να προσροφούν την φωτοσυνθετική ενεργό ακτινοβολία (Earl and Tollenaar, 1997). Τα προηγούμενα δεδομένα σε συνδυασμό με το γεγονός ότι ο προσδιορισμός σε τιμές SPAD συμπεριφέρθηκε ως ποσοτικό κληρονομικό χαρακτηριστικό σε πληθυσμό καλαμποκιού (Γούλας κ.α., 1997) συνηγορούν ότι θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ένα ακόμη έμμεσο κριτήριο

επιλογής γενοτύπων καλαμποκιού με ανεκτικότητα στις χαμηλές ή / και υψηλές θερμοκρασίες.

Στην προσπάθεια για εύκολη και αποτελεσματική αξιολόγηση της βλαστικής ικανότητας γενοτύπων σε συνθήκες καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών έχουν προταθεί και πολλοί εργαστηριακοί έλεγχοι όπως το Pioneer cold test και το soak test (Martin et al., 1988). Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη βλάστηση του σπόρου σε κρύα εδάφη είναι ο γενότυπος, η προέλευση του σπόρου ή το περιβάλλον παραγωγής και η αρχική υγρασία του. Με τους διάφορους εργαστηριακούς ελέγχους δίνεται η δυνατότητα να αξιολογήσουμε γρήγορα και εύκολα μεγάλο αριθμό γενοτύπων. Ένα μέτρο της αξιοπιστίας ενός εργαστηριακού ελέγχου θα μπορούσε να είναι η συσχέτιση που παρουσιάζει με τα δεδομένα αξιολόγησης στον αγρό.

Το Pioneer cold test αναπτύχθηκε την περίοδο 1935-38 με σκοπό την αποτελεσματική επιλογή γενοτύπων με καλή βλαστική ικανότητα σε κρύο και υγρό έδαφος και έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία τα τελευταία 50 χρόνια σε μεγάλο αριθμό γενοτύπων και περιβαλλόντων. Σύμφωνα με τους Martin et al. (1988) ο συντελεστής συσχέτισης του Pioneer cold test με δεδομένα αγρού ήταν υψηλός ( $r = 0,74$ ) γεγονός που δείχνει την χρησιμότητα του σαν ένα εύχρηστο μέσο για επιλογή των επιθυμητών γενοτύπων.

Άλλες μεθοδολογίες όπως επιλογή στην απλοειδή γενεά έχουν χρησιμοποιηθεί στην προσπάθεια της δημιουργίας γενετικού υλικού με ανεκτικότητα στην καταπόνηση χαμηλών θερμοκρασιών. Επιλογή στο στάδιο του γυρεόκοκκου και της ανάπτυξης του γυρεοσωλήνα έχει αναφερθεί ως ικανοποιητικά αποτελεσματική (Lyakh and Soroka, 1993) ενώ οι νέες μέθοδοι μοριακής ανάλυσης αναμένεται να βοηθήσουν στην κατανόηση του βιοχημικού μηχανισμού που ελέγχουν τις φυσιολογικές λειτουργίες στις συνθήκες θερμικής καταπόνησης και να υποδείξουν νέα αποτελεσματικά κριτήρια επιλογής των επιθυμητών γενοτύπων (Lupotto et al. 1997).

### **Μοριακή γενετική ανάλυση.**

Σύγχρονες τεχνικές όπως η αποτύπωση των γενοτύπων με χρήση των RFLPs (Restricted fragment length polymorphisms), AFLPs (amplified fragment length polymorphisms), και των ισοενζύμων έχουν συχνά χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της

γενετικής σχέσης μεταξύ και εντός διαφόρων ειδών (Moeller et Scaal, 1993). Πιο πρόσφατα, τεχνικές που στηρίζονται στην αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR), όπως τα RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNAs), αποδείχτηκαν αποτελεσματικές στην ανίχνευση γενετικής παραλλακτικότητας. (Welsh and McClelland, 1990; Williams et al., 1990).

Οι δείκτες RAPDs αναπαριστούν προϊόντα πολ/σμού από την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) με την χρήση τυχαίων εκκινητών και γενομικού DNA (Williams et al., 1990). Η σημαντικότερη πηγή παραλλακτικότητας για τα RAPDs πιθανότατα προέρχεται από τις αντικαταστάσεις ζευγών βάσεων (εισαγωγές ή διαγραφές) που τροποποιεί η θέση του εκκινητή ή από εισαγωγή στην γενωμική ακολουθία που διαχωρίζουν οι θέσεις των εκκινητών σε απόσταση που δεν επιτρέπει την παραγωγή προϊόντων πολ/σμού (Williams et al., 1990).

Το ενδιαφέρον των ερευνητών για τα RAPDs οφείλεται στην ικανότητά τους να ανιχνεύουν περιοχές του DNA που εξελίσσονται πιο γρήγορα από τα ισοένζυμα (Brauner et al., 1992; Baruffi et al., 1995) καθώς επίσης και για την γρήγορη συλλογή πολλών πληροφοριών με ελάχιστο κόστος. Άλλα πλεονεκτήματα των RAPDs είναι, ότι δεν χρησιμοποιούν ραδιενέργεια και η μικρή ποσότητα γενομικού DNA που απαιτείται (Williams et al., 1990).

Τα RAPDs έχουν δεχτεί κριτική επειδή δεν εξηγούν την προέλευση του πολυμορφισμού και τα πρότυπα που δίνουν δεν είναι πάντα αξιόπιστα και επαναλήψιμα (Jones et al., 1997; Perez et al., 1998). Οι Fahima et al (1999), αναφέρουν ότι σε πολλά είδη φυτών που έχουν χρησιμοποιηθεί τα RAPDs οι ζώνες που παράγονται δεν είναι πάντοτε αποδεκτές και χρήσιμες ως γενετικοί δείκτες. Το πρόβλημα αυτό οφείλεται εν μέρει στην σχετικά χαμηλή διακριτική ικανότητα των πηκτών που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση των προϊόντων RAPDs (Penner, 1996). Οι He et al (1992) παρατήρησαν υψηλότερο ποσοστό χρήσιμων και επαναλήψιμων προϊόντων πολυμορφισμού στο σιτάρι όταν τα δείγματα της PCR υπόκειταν σε αποδιαταγμένες πηκτές ηλεκτροφόρησης σε σύγκριση με τις πηκτές αγαρόζης.

Παρ' όλη την προηγούμενη κριτική, πολλοί ερευνητές χρησιμοποίησαν τα RAPDs με επιτυχία στην συγκέντρωση πληροφοριών που ήταν συμβατές με τις άλλες τεχνικές (Lerceteau et al., 1997; Clerc et al., 1998). Οι J. Pejic et al συγκρίνοντας τα αποτελέσματα από RFLPs, RAPDs, SSRs & AFLPs σε καθарές σειρές καλαμποκιού βρήκαν ότι το μεγαλύτερο πολυμορφισμό παρουσίαζαν τα SSRs

ενώ το μικρότερο τα AFLPs. Το κυριότερο μειονέκτημα των RAPDs σύμφωνα με τους παραπάνω ερευνητές ήταν η έλλειψη επαναληψιμότητας λόγω μη επιτυχούς σύζευξης στο στάδιο του υβριδισμού του γενώματος από τον εκκινητή. Με την παραπάνω αναφορά συμφωνούν και οι Neale and Harry 1994.

Σημαντικές προσπάθειες έγιναν για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των διαφόρων μοριακών τεχνικών και των πληροφοριών που μπορούν να δώσουν συσχετίζοντας τα αποτελέσματα προσδιορισμού της γενετικής συγγένειας που έδωσε καθένα από αυτά. (Messmer et al. 1991; Ragot and Hoisington 1993; Hahn et al. 1995). Χρειάζεται όμως μεγάλη προσοχή στην σύγκριση των διαφορετικών μοριακών τεχνικών λόγω της διαφορετικής φύσης των παρεχόμενων πληροφοριών (Lanza et al., 1997).

Τα RAPDs συγκρινόμενα με τα ισοένζυμα έχουν το πλεονέκτημα της δημιουργίας σχεδόν απεριόριστου αριθμού δεικτών που είναι ανεξάρτητοι από το περιβάλλον ή τα στάδια ανάπτυξης του φυτού. Η ανάλυση με τα RAPDs γενικά εμφανίζει παρόμοιο ή και μεγαλύτερο επίπεδο πολυμορφισμού από τους άλλους δείκτες όπως τα ισοένζυμα (Liu and Furnier, 1993; Kremer et al., 1994). Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από την πιο τυχαία και αποτελεσματική δειγματοληψία του γενώματος σε αντίθεση με τα ισοένζυμα τα οποία περιορίζονται σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Έτσι τα RAPDs μπορεί να είναι πιο χρήσιμα από τα ισοένζυμα στην ανίχνευση διαφορών εντός πληθυσμού και μεγαλύτερης αξίας σε ταξινομικές μελέτες των σχέσεων των ειδών (Demeke et al., 1992), συγγενικών ειδών (Kump and Jarosnik, 1996; Kremer et al., 1994) και για σύγκριση μεταξύ γενότυπων. Είναι ακόμη πολύ χρήσιμα στην ανίχνευση χρωμοσωμικών μεταλλάξεων όπως αναστροφών και μετατοπίσεων και γενικά μεταλλάξεων σε κλώνους *in vitro* καλλιεργειών. (Brown et al., 1993; Yang and Schmidt, 1994; Rani et al., 1995).

Τα RAPDs έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι σήμερα με επιτυχία στο καλαμπόκι για τον προσδιορισμό της γενετικής απόστασης μεταξύ καθαρών σειρών, την πρόβλεψη της απόδοσης υβριδίων (Lanza et al., 1997), καθώς επίσης και τον διαχωρισμό καθαρών σειρών καλαμποκιού σε ανεκτικές ή ευαίσθητες σε καταπόνηση λόγω υψηλής αλατότητας (Zacchini et al., 1997).

Ακόμη έχουν χρησιμοποιηθεί πάρα πολύ σε αρκετά φυτικά είδη για την κατασκευή γενετικών χαρτών (Devos and Gale, 1992; Marsan et al., 1993), τη σήμανση διαφόρων γονιδίων (Martin et al., 1991; Michelmore et al., 1991; Oh et al., 1994; Lorenz, 1994), την χαρτογράφηση θέσεων ποσοτικών χαρακτηριστικών (Pe et

al., 1993), την αξιολόγηση και διατήρηση των φυτογενετικών πόρων (Waugh and Powel, 1992) και την μελέτη φυλλογενετικών σχέσεων (He et al., 1992; Assigbetse et al., 1994; Van – Buren et al., 1994).

Οι E. Garcia et al (1998) χρησιμοποιώντας τα RAPDs σε καθαρές σειρές καρπουζιού προσδιόρισαν την γενετική συγγένεια μεταξύ τους. Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν ότι τα RAPDs φαίνεται να είναι πολύ χρήσιμα στην πρόβλεψη της απόδοσης και της ετέρωσης των υβριδίων των παραπάνω καθαρών σειρών.

Σύμφωνα με άλλους ερευνητές (Arnholdt – Schmitt, 1995; Arnholdt – Schmitt et al., 1998, 1999) για την ανάλυση με τα RAPDs θα πρέπει να χρησιμοποιούνται συγκρίσιμα τμήματα ιστών του ίδιου σταδίου ανάπτυξης διότι τα διαφορετικά όργανα, οι ιστοί και η ηλικία των φυτών μπορεί να δείξουν παραλλακτικότητα που να σχετίζεται με φυσιολογικά χαρακτηριστικά του φυτού και να επηρεάσουν με αυτόν τον τρόπο τα προϊόντα πολυμορφισμού.

Οι Hodges et al (1997α) αναφέρουν ότι η βελτιωτική προσπάθεια για δημιουργία γενετικού υλικού με ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες έγινε με κριτήρια είτε αποκλειστικά την αξιολόγηση σε συνθήκες εργαστηρίου είτε τις αντίστοιχες στο χωράφι αλλά σπανίως έγινε συνδυασμός των δύο μεθόδων που φαίνεται ότι δεν έχουν καλή συσχέτιση μεταξύ τους.

Αξιολόγηση 100 γενοτύπων καλαμποκιού για ανεκτικότητα σε καταπονήσεις χαμηλών / υψηλών θερμοκρασιών αναφέρεται από τους Γούλα κ.α., (1997). Για την αξιολόγηση χρησιμοποιήθηκαν S1, HS και TC οικογένειες και περιελάμβανε αξιολόγηση σε συνθήκες αγρού σε υπερπρώιμη και κανονική σπορά καθώς και σε συνθήκες εργαστηρίου. Κριτήρια αξιολόγησης ήταν η φυτρωτική δύναμη στον αγρό, η τελική απόδοση, η φυτρωτική δύναμη και η βλαστική ανάπτυξη σε ελεγχόμενες συνθήκες ενώ πραγματοποιήθηκε και μοριακή ανάλυση με δείκτες RAPDs.

Σύμφωνα με τους παραπάνω ερευνητές και με βάση την αξιολόγηση σε ελεγχόμενες συνθήκες εργαστηρίου, από τις τιμές φαινοτυπικής παραλλακτικότητας (CV) το χλωρό βάρος φυτού φάνηκε να διαφοροποιεί τους γενότυπους στη χαμηλή (υπό-αρίστη, suboptimal) θερμοκρασία ανάπτυξης όπως και το ύψος φυτού (CV=47.4 και 32.1% αντιστοίχως), ενώ δεν παρατηρήθηκε παραλλακτικότητα για την περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη (SPAD). Οι γενετικές παράμετροι ( $h^2$  και GCV) έδειξαν ότι υπάρχει γενετική παραλλακτικότητα για την ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για αποτελεσματική



επιλογή, ενώ και για την μοριακή ανάλυση τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά. Με βάση τα δεδομένα αξιολόγησης αγρού, και κυρίως την συγκριτική (υπερπρώιμη – κανονική) σπορά, από τις 100 οικογένειες επιλέχθησαν 20 για την ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ 10 οικογένειες χαρακτηρίστηκαν ως ευαίσθητες (Γούλας κ.α., 1997). Τα δεδομένα ήταν μια πρώτη ένδειξη ότι η αξιολόγηση σε ελεγχόμενες συνθήκες πρέπει να συνδυάζεται με δεδομένα αγρού προκειμένου να είναι αξιόπιστη και συμφωνεί με τα δεδομένα των Hodges et al (1997a ) και όσα αναφέρονται από τους ίδιους στην ανασκόπησή τους.

Τα παραπάνω δεδομένα ήταν ενθαρρυντικά και τονίζουν την επιτακτική ανάγκη περαιτέρω μελέτης για την ανάπτυξη αποτελεσματικότερης μεθοδολογίας. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη βελτιωτικής μεθοδολογίας που συνδυάζει μοριακή γενετική ανάλυση με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά σε ελεγχόμενες συνθήκες ανάπτυξης προκειμένου να επιλεγεί γενετικό υλικό καλαμποκιού με ανεκτικότητα στην καταπόνηση χαμηλών θερμοκρασιών.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### Γενετικό υλικό.

Ο αρχικός πληθυσμός (C0) προέρχεται από το Ινστιτούτο Σιτηρών (GR-OP-332). 100 φυτά (S0 γενότυποι) από τον παραπάνω πληθυσμό αξιολογήθηκαν από τους Γούλα κ.α., (1997) για ανεκτικότητα σε καταπονήσεις χαμηλών / υψηλών θερμοκρασιών. Για την αξιολόγηση χρησιμοποιήθηκαν οι S1, HS και TC οικογένειες, σε συνθήκες αγρού σε υπερπρώιμη και κανονική σπορά καθώς και σε συνθήκες εργαστηρίου. Κριτήρια αξιολόγησης ήταν η φυτρωτική δύναμη στον αγρό, η τελική απόδοση, η φυτρωτική δύναμη και η βλαστική ανάπτυξη σε ελεγχόμενες συνθήκες ενώ πραγματοποιήθηκε και μοριακή ανάλυση με δείκτες RAPDs. Από τους 100 γενοτύπους επιλέχθηκαν 20 για την ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ 10 χαρακτηρίστηκαν ως ευαίσθητοι με βάση την συνδυασμένη αξιολόγηση αγρού και εργαστηρίου. 20 ανεκτικοί γενότυποι χρησιμοποιήθηκαν για την σύνθεση του πληθυσμού C1. Μαζί με τις HS οικογένειες αξιολογήθηκαν για την ανεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες και 34 καθαρές σειρές που χαρακτηρίστηκαν ως ανεκτικές, ουδέτερες ή ευαίσθητες (Γούλας κ.α. 1997).

Οι παραπάνω επιλεγμένοι γενότυποι αποτέλεσαν το γενετικό υλικό της παρούσας εργασίας. Χρησιμοποιήθηκαν 30 S1 οικογένειες. Οι 20 από αυτές είχαν χαρακτηριστεί ως ανεκτικές στις χαμηλές θερμοκρασίες ενώ οι υπόλοιπες 10 ως ευαίσθητες. Χρησιμοποιήθηκαν ακόμη ως μάρτυρες δύο καθαρές σειρές εκ των οποίων η μία (Γ – 236) είχε χαρακτηριστεί ως ανεκτική και η άλλη (L – 2) ως ευαίσθητη, ο αρχικός πληθυσμός C0 και ο αντίστοιχος πληθυσμός C1 που είχε συντεθεί από τον ανασυνδυασμό των ανεκτικών γενοτύπων. Το προηγούμενο γενετικό υλικό υποβλήθηκε σε αξιολόγηση σε ελεγχόμενες συνθήκες ανάπτυξης και σε μοριακή γενετική ανάλυση.

## A. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΕ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

### 1. Έλεγχος της βλαστικής ικανότητας.

Οι γενότυποι αξιολογήθηκαν για την βλαστική τους ικανότητα σε θάλαμο ανάπτυξης (growth chamber). Δείγμα 20 σπόρων ανά γενότυπο σε 2 επαναλήψεις (10 σπόροι ανά επανάληψη) υποβλήθηκε σε έλεγχο βλαστικής ικανότητας σύμφωνα με το Pioneer cold test (Martin et al., 1988). Οι σπόροι τοποθετήθηκαν με το έμβρυο προς τα κάτω σε λεπτό στρώμα εδάφους το οποίο είχε κατανεμηθεί ομοιόμορφα πάνω σε βρεγμένο χαρτί βλαστήσεως (germination paper) και κρατηθεί στους 10°C για 24 ώρες. Το χώμα σε κάθε κουτί είχε ψεκαστεί ομοιόμορφα με την ίδια ποσότητα νερού. Οι σπόροι διατηρήθηκαν στους 10°C για 7 ημέρες και στη συνέχεια η θερμοκρασία ανέβηκε στους 27°C με σχετική υγρασία 85% όπου και παρέμειναν για 3 ημέρες. Μετρήθηκαν οι σπόροι που βλάστησαν για κάθε γενότυπο (S1, καθαρή σειρά, CO και C1).

### 2. Βλαστική ανάπτυξη σε ελεγχόμενες συνθήκες.

Οι γενότυποι αξιολογήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών ανάπτυξης (growth room) με φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα και ένταση φωτισμού σε ύψος 1 μέτρου 10 κlux. Η πειραματική διάταξη περιελάμβανε μία (1) γλάστρα ανά γενότυπο (πέντε φυτά) για κάθε μία από τις τρεις περιόδους ανάπτυξης. Η διάρκεια της βλαστικής περιόδου για κάθε περίοδο ανάπτυξης ήταν:

Περίοδος I : 49 ημέρες σε θερμοκρασία 18°C.

Περίοδος II : 57 ημέρες (49 στους 18°C και 8 στους 10°C).

Περίοδος III : 87 ημέρες (49 στους 18°C, 8 στους 10°C και 30 στους 25°C).

Η Περίοδος I αντιπροσωπεύει τις ιδανικές συνθήκες φυτρώματος και πρώτης βλαστικής ανάπτυξης της καλλιέργειας, η Περίοδος II το περιβάλλον καταπόνησης λόγω χαμηλών θερμοκρασιών και η Περίοδος III το περιβάλλον καταπόνησης λόγω της απότομης μεταβολής της θερμοκρασίας από τους 10°C στους 25°C.

Για κάθε περίοδο ανάπτυξης μετρήθηκαν οι ακόλουθες μεταβλητές:

1. Ρώμη-Ανάπτυξη (RA): σε κλίμακα 1-10 (10 η άριστη ανάπτυξη).

Η εκτίμηση έγινε με οπτική παρατήρηση των φυτών (χλωρωτικά φύλλα, ξηράνσεις, γενικότερη εμφάνιση).

2. Ο αριθμός φυτών που φύτρωσαν και επέζησαν μετά την καταπόνηση των

χαμηλών θερμοκρασιών (Περίοδος II).

3. Το ύψος του τελευταίου κολεού του φύλλου (ΥΚΦ) από το επίπεδο του εδάφους σε εκατοστά.
4. Το χλωρό βάρος (ΧΛΒ) του υπέργειου τμήματος του φυτού σε γραμμάρια.
5. Η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη των φύλλων σε μονάδες SPAD. Η μέτρηση έγινε με το χλωροφυλλόμετρο SPAD -502 της Minolta (Blackmer et al, 1994· Blackmer and Scheper, 1995).

### 3. Στατιστική ανάλυση.

Οι μετρήσεις για κάθε χαρακτηριστικό έγιναν ανά φυτό και υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι ανά γενότυπο. Η εντός των καθαρών σειρών διακύμανση ήταν μία εκτίμηση του πειραματικού σφάλματος (pure error). Το πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για την στατιστική ανάλυση ήταν το SPSS για windows. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με βάση την ανάλυση διακύμανσης 'one way classification'. Με βάση τις αναμενόμενες τιμές εκτιμήθηκε η μεταξύ και εντός των οικογενειών διακύμανση γεγονός που επέτρεψε τον υπολογισμό των γενετικών παραμέτρων (Becker, 1992).

Η ανάλυση παραλλακτικότητας για την εκτίμηση της γενετικής διακύμανσης μεταξύ οικογενειών έγινε σύμφωνα με το ακόλουθο πρότυπο:

Πηγή Παραλλακτικότητας	ΒΕ	Μέσα Τετράγωνα	Αναμενόμενα Μέσα Τετράγωνα
Μεταξύ οικογενειών	29	$M_1$	$\sigma_e^2 + r\sigma_g^2$
Εντός οικογενειών	83	$M_2$	$\sigma_e^2$

Με βάση το προηγούμενο πρότυπο έγινε εκτίμηση της γενετικής διακύμανσης μεταξύ των οικογενειών και της αντίστοιχης φαινοτυπικής που επέτρεψε την εκτίμηση της επαναληψιμότητας ( $R = \sigma_g^2 / \sigma_e^2 + r\sigma_g^2$ ) και του γενετικού συντελεστή παραλλακτικότητας (GCV) (Hakizimana et al., 2000).

## B. ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για τη μοριακή ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν 2 γενότυποι από κάθε οικογένεια (30×2), καθαρή σειρά (2×2) και πληθυσμό (2×2). Συνολικά έγινε εξαγωγή DNA από 68 γενοτύπους. Χρησιμοποιήθηκαν 0.1gr φυτικού ιστού για κάθε γενότυπο. Ο φυτικός ιστός μετά τον τεμαχισμό του με τη χρήση υγρού αζώτου τοποθετήθηκε σε μικροφυγοκεντρικό σωλήνα μαζί με διάλυμα AP1(400 μL) και Rnase A (4 μL) και τοποθετήθηκε στο υδατόλουτρο στους 65°C για 10 min. Προστέθηκε διάλυμα AP2 (130 μL) και τοποθετήθηκε στον πάγο για 5 min. Στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκε για 5 min στη μέγιστη ταχύτητα και το υπερκείμενο τοποθετήθηκε στη στήλη QIA shredder της εταιρείας QIAGEN. Ακολούθησε νέα φυγοκέντρηση για 2 min στη μέγιστη ταχύτητα και το διάλυμα που πέρασε κάτω από τη στήλη τοποθετήθηκε σε νέο σωλήνα μαζί με 0,5 όγκο διαλύματος AP3 και 1 όγκο αιθανόλης (96-100%). Το διάλυμα αυτό τοποθετήθηκε στη στήλη Dneasy mini spin και φυγοκεντρήθηκε για 1 min στα 6.000g. Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε 2 φορές. Ακολούθησαν 2 πλύσεις της στήλης με washing buffer AW (500 μL) και φυγοκέντρηση για 2 min στη μέγιστη ταχύτητα. Στη συνέχεια η στήλη μεταφέρθηκε σε μικροφυγοκεντρικό σωλήνα και προστέθηκαν 100 μL διαλύματος AE το οποίο είχε πριν θερμανθεί στο υδατόλουτρο στους 65°C. Η στήλη παρέμεινε σε θερμοκρασία δωματίου για 5 min και κατόπιν ακολούθησε φυγοκέντρηση για 1 min στα 6.000g. Το διάλυμα που πέρασε κάτω από τη στήλη είναι πυκνό διάλυμα DNA. Η φυγοκέντρηση επαναλήφθηκε ακόμα μία φορά αφού προηγουμένως προστέθηκαν άλλα 100 μL διαλύματος AE στη στήλη. Το διάλυμα που προέκυψε είναι το αραιό διάλυμα DNA. Τα δύο διαλύματα αναμείχθηκαν και η συγκέντρωση του DNA στο νέο διάλυμα μετρήθηκε σε φωτόμετρο. Το τελικό διάλυμα περιείχε 15-20 μg καθαρού DNA σε 150-200 μL διαλύματος και αποθηκεύτηκε στους -20°C. (Η παραπάνω διαδικασία περιγράφεται λεπτομερώς στο "Protocol for Isolation of DNA from Plant Tissue with the Dneasy Plant Mini Kit" της εταιρείας QIAGEN).

Για την τεχνική της PCR χρησιμοποιήθηκαν 20 εκκινητές της σειράς OPB της εταιρείας Operon Technologies, Inc. Κάθε εκκινητής αποτελείται από 10 βάσεις με τυχαία αλληλουχία και με μοναδικές προυποθέσεις να μην έχει συμπληρωματικά

άκρα και το άθροισμα των βάσεων της γουανίνης και της κυτοσίνης (G+C) να περιέχεται σε ποσοστό 60-70%.

Οι αντιδράσεις PCR που φτιάχτηκαν είχαν τελικό όγκο 30μL και χρησιμοποιήθηκαν τα εξής συστατικά ανά αντίδραση :

-100 ng περίπου DNA

-2 μL διαλύματος dNTPs (τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια dATP, dGTP, dCTP, dTTP) με τελική συγκέντρωση 2,5 mM

-1 unit Taq Polymerase

-25 pmoles primer OPB

-2,4 μL διαλύματος MgCl με συγκέντρωση 25 mM

-4 μL διαλύματος PCR buffer 10 ×

-αποστειρωμένο νερό

Το μείγμα τοποθετήθηκε στη συσκευή PCR. Η συσκευή επιτρέπει τον προγραμματισμό του αριθμού των θερμικών κύκλων, της θερμοκρασίας και της διάρκειας κάθε σταδίου στους επαναλαμβανόμενους κύκλους, της τελικής θερμοκρασίας του δείγματος κ.ο.κ.

Αρχικά εφαρμόστηκε ο ακόλουθος θερμικός κύκλος :

1. Θέρμανση του μείγματος στους 94.5°C για 4 min ώστε να διευκολυνθεί το άνοιγμα των αλυσίδων του DNA (στάδιο predenaturation).

2. Επανάληψη για 35 φορές του ακόλουθου θερμικού κύκλου :

A. Θέρμανση του μείγματος στους 94°C για 45 sec. Οι δύο αλυσίδες του DNA ανοίγουν και χωρίζουν η μία από την άλλη (στάδιο denaturation).

B. Γρήγορη κάθοδος της θερμοκρασίας στους 38°C για 1 min. Με αυτό τον τρόπο ο εκκινητής υβριδίζει τις συμπληρωματικές θέσεις του γενώματος (στάδιο annealing).

Γ. Άνοδος της θερμοκρασίας στους 72°C και παραμονή εκεί για 1 min. Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου η Taq Polymerase προσθέτει τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια στο 3' άκρο των εκκινητών χρησιμοποιώντας σαν εκμαγείο τις ανοιγμένες αλυσίδες του DNA (στάδιο extension).

3. Με τη συμπλήρωση των 35 θερμικών κύκλων ακολουθεί η τελική επέκταση των αλυσίδων στους 72°C για 7 min (στάδιο final extension).

Τα δείγματα μετά το τέλος της αντίδρασης διατηρήθηκαν στους 4°C ως τη στιγμή που ηλεκτροφορήθηκαν σε πηκτή αγαρόζης συγκέντρωσης 1%. Τα

αποτελέσματα φωτογραφήθηκαν με ψηφιακή κάμερα SONY κάτω από υπεριώδη ακτινοβολία. Τα προϊόντα ενίσχυσης που εμφανίστηκαν στην πηκτική αгарόζης αποτυπώθηκαν σε πίνακες όπου σημειώθηκαν η παρουσία (+) ή η απουσία ( ) των αντίστοιχων ζωνών (ζεύγη βάσεων) για κάθε εκκινητή και γενότυπο. Υπολογίστηκαν το ποσοστό (%) της παρουσίας της κάθε ζώνης στις δύο κατηγορίες γενοτύπων (ανεκτικοί και ευαίσθητοι) ώστε να καταστεί εφικτή η διαφοροποίηση τους.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### A. Φυσιολογικά χαρακτηριστικά.

Από τα δεδομένα στο θάλαμο ανάπτυξης ελεγχόμενων συνθηκών, η επίδραση της καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών ( $\Theta=10^{\circ}\text{C}$ ) είχε τα αναμενόμενα δυσμενή αποτελέσματα στην παραγωγική συμπεριφορά των γενοτύπων. Στον Πίνακα 1, παρουσιάζεται η επίδραση του περιβάλλοντος καταπόνησης στις καθαρές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Οι απώλειες για όλα τα χαρακτηριστικά ήταν εμφανείς. Η απώλεια για τη ρώμη-ανάπτυξη ήταν 33.3% και 60.0% για την ανεκτική και την ευαίσθητη σειρά αντίστοιχα, για το χλωρό βάρος 13.0% και 71.4% αντίστοιχα, για τη περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη 32.6% και 39.0% αντίστοιχα ενώ μικρότερη ήταν η δυσμενή επίδραση για το χαρακτηριστικό του ύψους κολεού φύλλου όπου η ανεκτική σειρά Γ-236 παρουσίασε μικρή αύξηση (3.3%), ενώ η ευαίσθητη είχε απώλειες 12.5%. Σύμφωνα με τα δεδομένα, φάνηκε ότι το περιβάλλον καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών υλοποιήθηκε. Όσον αφορά την επι μέρους συμπεριφορά των δύο καθαρών σειρών, είναι εμφανές ότι η ανεκτική (Γ-236) καθαρή σειρά επέδειξε σαφώς καλύτερη παραγωγική συμπεριφορά σε σχέση με την ευαίσθητη (Πίν.1).

Στον Πίνακα 2, παρουσιάζεται η επίδραση του περιβάλλοντος της τρίτης περιόδου ανάπτυξης ( $\Theta=25^{\circ}\text{C}$ ) στις καθαρές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Για το χαρακτηριστικό ρώμη-ανάπτυξη η ανεκτική σειρά εμφάνισε μηδενικές απώλειες ενώ η ευαίσθητη έχασε 20.0% σε σχέση με το περιβάλλον της πρώτης περιόδου ανάπτυξης ( $\Theta=18^{\circ}\text{C}$ ). Διαφοροποίηση επιτεύχθηκε και για το χλωρό βάρος (+8.7% έναντι -47.6% αντίστοιχα). Για την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη και οι δύο καθαρές σειρές παρουσίασαν απώλειες, ενώ το αντίθετο συνέβη για το χαρακτηριστικό του ύψους κολεού φύλλου. Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν ότι το περιβάλλον της δεύτερης περιόδου ανάπτυξης είχε πιο έντονη επίδραση πάνω στους γενοτύπους σε σχέση με το αντίστοιχο της τρίτης περιόδου όπου οι γενότυποι υποβλήθηκαν σε καταπόνηση λόγω απότομης μεταβολής της θερμοκρασίας.



Πίνακας 1. Επίδραση της καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών (Περίοδος II, 10°C) στα χαρακτηριστικά χλωρό βάρος (ΧΛΒ), ύψος κολεού φύλλου (ΥΚΦ), Χλωροφύλλη και ρώμη-ανάπτυξη (ΡΑ) των καθαρών σειρών.

Καθαρές σειρές	Περίοδος I (18°C)	Περίοδος II (10°C)	Μεταβολή ____( % )____
	_____ΧΛΒ*, g / φυτό_____		
Γ-236	2.3±0.4	2.0±0.4	-13.0
L-2	2.1±0.2	0.6±0.0	-71.4
	_____ΥΚΦ, εκ._____		
Γ-236	9.0±0.4	9.3±0.3	3.3
L-2	8.0±0.7	7.0±1.0	-12.5
	_____Χλωροφύλλη, SPAD_____		
Γ-236	28.8±1	19.4±2	-32.6
L-2	25.1±3	15.3±2	-39.0
	_____ΡΑ, βαθμ._____		
Γ-236	6	4	-33.3
L-2	5	2	-60.0

\* ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD C1, ο πληθυσμός των ανεκτικών οικογενειών C0 ο αρχικός πληθυσμός Γ-236 η ανεκτική καθαρή σειρά L-2 η ευαίσθητη καθαρή σειρά.

Πίνακας 2. Επίδραση της τρίτης περιόδου ανάπτυξης (25°C) στα χαρακτηριστικά χλωρό βάρος (ΧΛΒ), ύψος κολεού φύλλου (ΥΚΦ), Χλωροφύλλη και ρώμη-ανάπτυξη (ΡΑ) των καθαρών σειρών.

Καθαρές σειρές	Περίοδος I (18°C)	Περίοδος III (25°C)	Μεταβολή ____( % )____
	____ΧΛΒ*, g / φυτό____		
Γ-236	2.3±0.4	2.5±0.7	8.7
L-2	2.1±0.2	1.1±0.2	-47.6
	____ΥΚΦ, εκ.____		
Γ-236	9.0±0.4	14.0±0.8	55.5
L-2	8.0±0.7	9.7±1.5	21.2
	____Χλωροφύλλη, SPAD____		
Γ-236	28.8±1	21.3±2	-25.0
L-2	25.1±3	16.3±1	-35.0
	____ΡΑ, βαθμ.____		
Γ-236	6	6	0.0
L-2	5	4	-20.0

\* ΧΛΒ. χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD C1, ο πληθυσμός των ανεκτικών οικογενειών C0 ο αρχικός πληθυσμός Γ-236 η ανεκτική καθαρή σειρά L-2 η ευαίσθητη καθαρή σειρά.

Τα δεδομένα στην οριακή θερμοκρασία ανάπτυξης (καταπόνηση χαμηλής θερμοκρασίας, περίοδος II) έδειξαν διαφοροποίηση των ανεκτικών οικογενειών από τις ευαίσθητες. Γενικά οι ανεκτικές οικογένειες ήταν πιο εύρωστες, υψηλότερες, με μεγαλύτερο χλωρό βάρος και υψηλότερη τιμή SPAD. Η διαφοροποίηση ήταν πιο έντονη στο περιβάλλον καταπόνησης ( $\Theta=10^{\circ}\text{C}$ ) για όλα τα χαρακτηριστικά (ΡΑ, ΥΚΦ, ΧΛΒ) με ιδιαίτερο ενδιαφέρον τον αριθμό των φυτών που επέζησαν μετά την καταπόνηση των χαμηλών θερμοκρασιών. Για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό οι ευαίσθητες είχαν διπλάσιες απώλειες σε αριθμό φυτών (11%) από τις ανεκτικές (5%).

Στον Πίνακα 3 παρουσιάζεται η παραγωγική συμπεριφορά των οικογενειών στους  $18^{\circ}\text{C}$ . Οι ανεκτικές οικογένειες φαίνεται να υπερτερούν αρχικά για τα χαρακτηριστικά ρώμη-ανάπτυξη, ύψους κολεού φύλλου και χλωρό βάρος ενώ οι ευαίσθητες για την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη. Μετά την επίδραση της καταπόνησης των χαμηλών θερμοκρασιών ( $\Theta=10^{\circ}\text{C}$  για 8 ημέρες) οι ανεκτικές οικογένειες υπερτερούσαν σημαντικά από τις ευαίσθητες για όλα τα χαρακτηριστικά (Πίν. 4). Είναι φανερό ότι η επίδραση της καταπόνησης είχε σαν αποτέλεσμα να αμβλυνθούν οι διαφορές μεταξύ ανεκτικών και ευαίσθητων οικογενειών. Παρόμοια συμπεριφορά παρουσίασαν και οι δύο πληθυσμοί. Ο πληθυσμός C1 των ανεκτικών οικογενειών εμφανίζεται μετά την καταπόνηση να υπερτερεί σημαντικά του αρχικού πληθυσμού C0 για το ύψους κολεού φύλλου ( $14.6\pm 3.6$  έναντι  $10.5\pm 2.2$ ). Κατά την διάρκεια της τρίτης περιόδου ανάπτυξης ( $\Theta=25^{\circ}\text{C}$ , Πίν. 5) τόσο οι ανεκτικοί όσο και οι ευαίσθητοι γενότυποι παρουσίασαν την ίδια συμπεριφορά με αποτέλεσμα οι διαφορές τους για κάθε χαρακτηριστικό να παραμένουν στα ίδια περίπου επίπεδα όπως αυτά διαμορφώθηκαν κατά τη διάρκεια της καταπόνησης των χαμηλών θερμοκρασιών.

Πίνακας 3. Συμπεριφορά επιλεγμένων οικογενειών, καθαρών σειρών και πληθυσμών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 18°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (Περίοδος I).

	ΡΑ*	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	___βαθμ.___	___εκ.___	__g / φυτό__	___SPAD___
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ</b>				
Ανεκτικές	8	14.4±1.9	4.0±0.6	28.3±3
Ευαίσθητες	7	14.1±2.1	3.6±0.9	28.5±4
<b>ΚΑΘΑΡΕΣ ΣΕΙΡΕΣ</b>				
Ανεκτική	6	9.0±0.4	2.3±0.4	28.8±1
Ευαίσθητη	5	8.0±0.7	2.1±0.2	25.1±3
<b>ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ</b>				
C1	9	14.1±1.8	3,6±0.9	27.6±4
CO	9	13.6±3.5	2,8±1.5	27.7±4

\* ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσας προσδιορισμός σε τιμές SPAD C1, ο πληθυσμός των ανεκτικών οικογενειών CO ο αρχικός πληθυσμός.

Πίνακας 4. Μέση συμπεριφορά επιλεγμένων οικογενειών, καθαρών σειρών και πληθυσμών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 10°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (Περίοδος II).

	ΡΑ*	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	___βαθμ.___	___εκ.___	___g / φυτό___	___SPAD___
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ</b>				
Ανεκτικές	7	14.3±1.7	4.1±0.7	22.0±2
Ευαίσθητες	5	10.3±2.0	2.0±0.8	19.4±3
<b>ΚΑΘΑΡΕΣ ΣΕΙΡΕΣ</b>				
Ανεκτική	4	9.3±0.3	2.0±0.4	19.4±2
Ευαίσθητη	2	7.0±1.0	0.6±0.0	15.3±2
<b>ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ</b>				
C1	8	14.6±3.6	3.1±1.1	17.3±3
C0		10.5±2.2		

\* ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδια ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD C1, ο πληθυσμός των ανεκτικών οικογενειών C0 ο αρχικός πληθυσμός.

Πίνακας 5. Συμπεριφορά επιλεγμένων οικογενειών, καθαρών σειρών και πληθυσμών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 25°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (Περίοδος III).

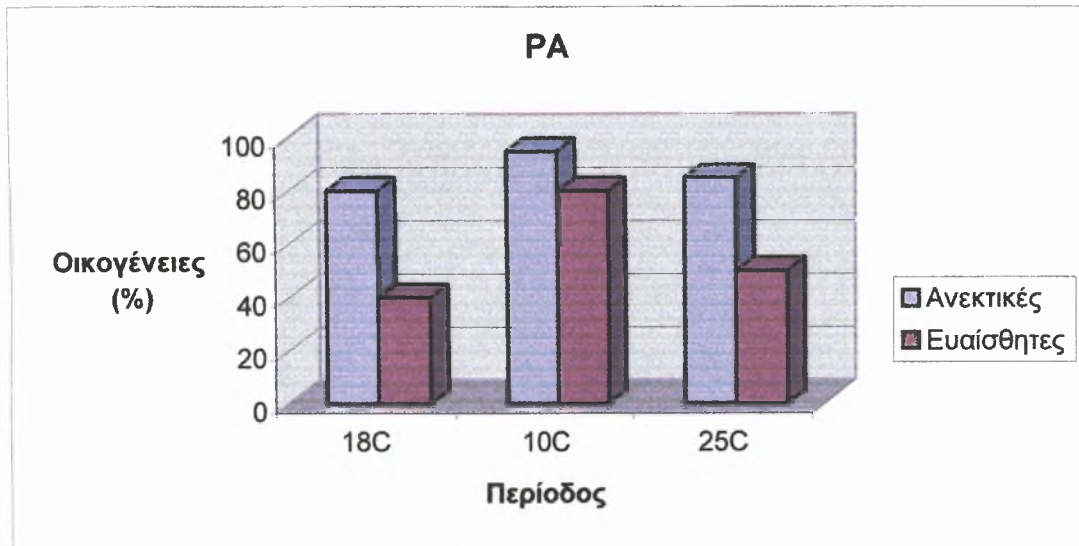
	ΡΑ*	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	___βαθμ.___	___εκ.___	___g / φυτό___	___SPAD___
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ</b>				
Ανεκτικές	7	19.1±2.1	4.9±1.1	22.4±2
Ευαίσθητες	5	14.3±2.9	3.0±1.3	20.1±2
<b>ΚΑΘΑΡΕΣ ΣΕΙΡΕΣ</b>				
Ανεκτική	6	14.0±0.8	2.5±0.7	21.3±2
Ευαίσθητη	4	9.7±1.5	1.1±0.2	16.3±1

\* ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσας προσδιορισμός σε τιμές SPAD C1, ο πληθυσμός των ανεκτικών οικογενειών C0 ο αρχικός πληθυσμός.

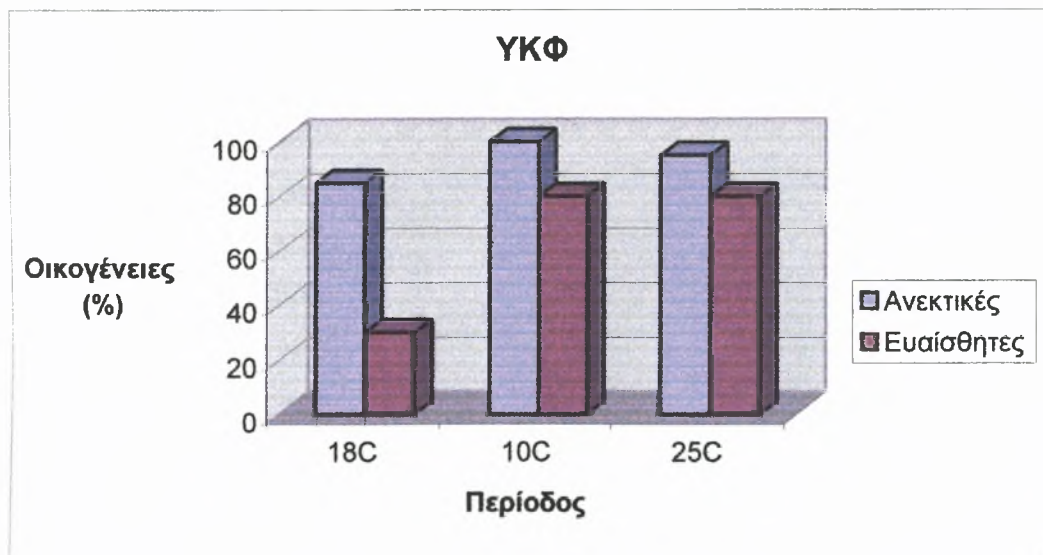
Στα γραφήματα 1-4 παρουσιάζεται το ποσοστό (%) των οικογενειών που το κάθε ένα από τα τρία περιβάλλοντα (18°C, 10°C και 25°C) διαφοροποίησε ως προς την ανεκτικότητα – ευαισθησία σε σχέση με το χαρακτηρισμό τους ύστερα από την συνδυασμένη αξιολόγηση αγρού και εργαστηρίου (Goulas et al., 1997). Το περιβάλλον καταπόνησης ( $\Theta=10^{\circ}\text{C}$ ), παρουσίασε τα υψηλότερα ποσοστά διαφοροποίησης τόσο για τις ανεκτικές (95%, 100%, 100% και 90% για PA, ΥΚΦ, ΧΛΒ και χλωροφύλλη αντίστοιχα), όσο και για τις ευαίσθητες οικογένειες (80%, 80%, 90% και 70% για PA, ΥΚΦ, ΧΛΒ και χλωροφύλλη αντίστοιχα) σε σχέση με τα άλλα δύο περιβάλλοντα (Πίν. 6). Η διαφοροποίηση των ανεκτικών φαίνεται ότι ήταν πιο επιτυχής από την αξιολόγηση των ευαίσθητων οικογενειών. Τα παραπάνω δεδομένα συμφωνούν με εκείνα των Goula et al (1997), σχετικά με την μεγάλη σημασία της επιλογής του κατάλληλου περιβάλλοντος αξιολόγησης για την επιλογή των επιθυμητών γενοτύπων και το συμπέρασμα τους ότι η διαφοροποίηση φαίνεται να επιτυγχάνεται καλύτερα σε συνθήκες καταπόνησης παρά σε ευνοϊκές.

Το χαρακτηριστικό ρώμη-ανάπτυξη (PA) διαφοροποίησε με επιτυχία τους ανεκτικούς από τους ευαίσθητους γενοτύπους κατά τη διάρκεια της καταπόνησης. Οι ανεκτικές οικογένειες βαθμολογήθηκαν κατά μέσο όρο με 7 (άριστα το 10), έναντι 5 των ευαίσθητων. Ο συντελεστής παραλλακτικότητας ήταν  $\text{CV}=33.2\%$ , ενώ η επαναληψιμότητα (R) και ο γενετικός συντελεστής παραλλακτικότητας (GCV) είχαν τιμές 0.74 και 17.9% αντίστοιχα (Πίν. 7).

Η συμπεριφορά των επιλεγμένων οικογενειών για το χαρακτηριστικό ύψος κολεού φύλλου (ΥΚΦ), έδειξε ότι οι ανεκτικές, στους 10°C διαφοροποιήθηκαν εμφανώς από τις ευαίσθητες ( $14.3\pm 1.7$  έναντι  $10.3\pm 2.0$ ). Η διαφοροποίηση ήταν επιτυχής τόσο για τους πληθυσμούς (C1 και C0), όσο και για τις καθαρές σειρές (Πίν. 8). Ο συντελεστής παραλλακτικότητας ήταν μεγαλύτερος στους 10°C με τιμή  $\text{CV}=22.0\%$  σε σχέση με τα άλλα δύο περιβάλλοντα. Το ίδιο συνέβη και με την επαναληψιμότητα ( $R=0.85$ ), ενώ ο γενετικός συντελεστής παραλλακτικότητας είχε τιμή  $\text{GCV}=17.6\%$  (Πίν. 9). Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν ότι για το ύψους κολεού φύλλου η διαφοροποίηση ήταν ιδιαίτερα επιτυχής στο περιβάλλον καταπόνησης

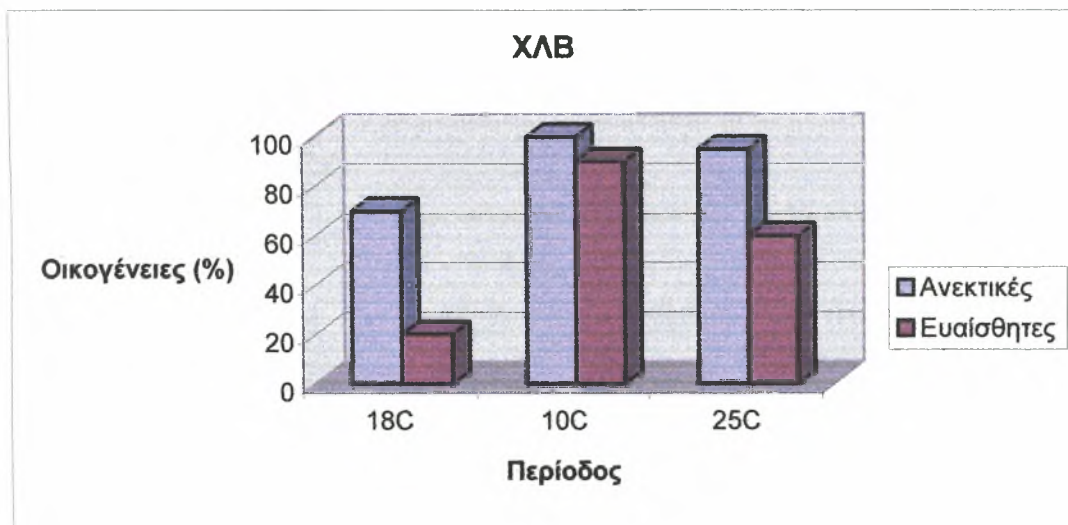


**Γράφημα 1.** Ποσοστό οικογενειών (%) που διαφοροποιήθηκαν ως προς την ανεκτικότητα-ευαισθησία στις χαμηλές θερμοκρασίες για το χαρακτηριστικό ρώμη-ανάπτυξη (ΡΑ) σε κάθε μία από τις 3 περιόδους ανάπτυξης.

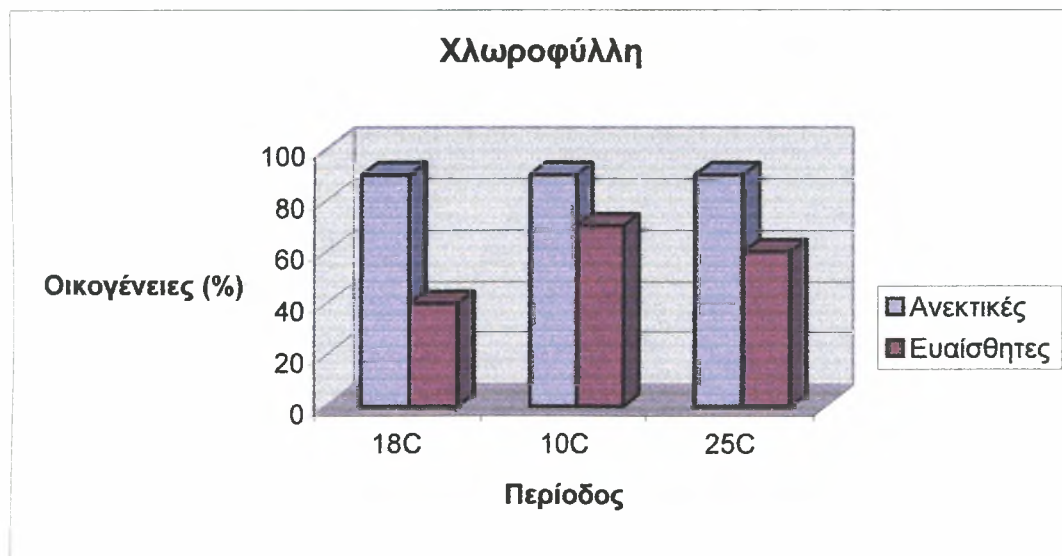


**Γράφημα 2.** Ποσοστό οικογενειών (%) που διαφοροποιήθηκαν ως προς την ανεκτικότητα-ευαισθησία στις χαμηλές θερμοκρασίες για το χαρακτηριστικό ύψος κολεού φύλλου (ΥΚΦ) σε κάθε μία από τις 3 περιόδους ανάπτυξης.





**Γράφημα 3.** Ποσοστό οικογενειών (%) που διαφοροποιήθηκαν ως προς την ανεκτικότητα-ευαισθησία στις χαμηλές θερμοκρασίες για το χαρακτηριστικό χλωρό βάρος (ΧΛΒ) σε κάθε μία από τις 3 περιόδους ανάπτυξης.



**Γράφημα 4.** Ποσοστό οικογενειών (%) που διαφοροποιήθηκαν ως προς την ανεκτικότητα-ευαισθησία στις χαμηλές θερμοκρασίες για το χαρακτηριστικό περιεκτικότητα φύλλου σε χλωροφύλλη (SPAD) σε κάθε μία από τις 3 περιόδους ανάπτυξης.

Πίνακας 6. Οικογένειες που χαρακτηρίστηκαν ως ανεκτικές ή ευαίσθητες σε κάθε περίοδο ανάπτυξης.

Χαρακτηρισμός	Περίοδος Ανάπτυξης	ΡΑ*	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
		%			
Ανεκτικές	I (18°C)	80.0	85.0	70.0	90.0
	II (10°C)	95.0	100.0	100.0	90.0
	III (25°C)	85.0	95.0	95.0	90.0
Ευαίσθητες	I (18°C)	40.0	30.0	20.0	40.0
	II (10°C)	80.0	80.0	90.0	70.0
	III (25°C)	50.0	80.0	60.0	60.0

\* ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΦΥΤΑ, αριθμός φυτών ανά οικογένεια (μέγιστο το 5) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD A = ανεκτική, E = ευαίσθητη.

Πίνακας 7. Συμπεριφορά επιλεγμένων οικογενειών, καθαρών σειρών και πληθυσμών σε θάλαμο ανάπτυξης για το χαρακτηριστικό PA και για τις 3 περιόδους ανάπτυξης.

	Περίοδος I (18°C)	Περίοδος II (10°C)	Περίοδος III (25°C)
	βαθμ.		
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ*</b>			
Ανεκτικές	8	7	7
Ευαίσθητες	7	5	5
<b>ΚΑΘΑΡΕΣ ΣΕΙΡΕΣ</b>			
Ανεκτική	6	4	6
Ευαίσθητη	5	2	4
<b>ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ</b>			
C1	9	8	
C0	9		

\* PA, Ρώμη (άριστο το 10) C1, ο πληθυσμός των ανεκτικών οικογενειών C0 ο αρχικός πληθυσμός.

Πίνακας 8. Συμπεριφορά επιλεγμένων οικογενειών, καθαρών σειρών και πληθυσμών σε θάλαμο ανάπτυξης για το χαρακτηριστικό ΥΚΦ και για τις 3 περιόδους ανάπτυξης.

	Περίοδος I (18°C)	Περίοδος II (10°C)	Περίοδος III (25°C)
	ΕΚ.		
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ*</b>			
Ανεκτικές	14.4±1.9	14.3±1.7	19.1±2.1
Ευαίσθητες	14.1±2.1	10.3±2.0	14.3±2.9
<b>ΚΑΘΑΡΕΣ ΣΕΙΡΕΣ</b>			
Ανεκτική	9.0±0.4	9.3±0.3	14.0±0.8
Ευαίσθητη	8.0±0.7	7.0±1.0	9.7±1.5
<b>ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ</b>			
C1	14.1±1.8	14.6±3.6	
C0	13.6±3.5	10.5±2.2	

\* ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού C1, ο πληθυσμός των ανεκτικών οικογενειών C0 ο αρχικός πληθυσμός

Πίνακας 9. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΥΚΦ των οικογενειών για τις 3 περιόδους ανάπτυξης.

ΥΚΦ*	Περίοδος I (18°C)	Περίοδος II (10°C)	Περίοδος III (25°C)
CV (%)	12.6	22.0	19.3
MO	14.3±1.8	12.7±2.8	17.4±4.3
$\sigma^2_p$	3.28	5.91	11.40
$\sigma^2_g$	2.15	5.08	8.76
R	0.65	0.85	0.76
GCV (%)	10.2	17.6	16.9

ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού MO=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,

$\sigma^2_p$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση, R= επαναληψιμότητα, (κατά προσέγγιση

$R = \sigma^2_g / \sigma^2_p$ ) και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$

Το ίδιο επιτυχής ήταν η διαφοροποίηση των οικογενειών για το χλωρό βάρος (ΧΛΒ). Οι ανεκτικές οικογένειες στους 10°C υπερτερούσαν εμφανώς από τις ευαίσθητες ( $4.1 \pm 0.7$  έναντι  $2.0 \pm 0.8$ ). Ο συντελεστής παραλλακτικότητας ήταν  $CV=41.2\%$  στους 10°C και  $CV=16.7\%$  στους 18°C ενώ ο γενετικός συντελεστής παραλλακτικότητας (GCV), δείχνει ότι οι γενοτυπικές διαφορές εκφράστηκαν πολύ καλύτερα στο περιβάλλον καταπόνησης ( $GCV=34.8\%$  στους 10°C έναντι  $GCV=14.1\%$  στους 18°C, Πίν. 10, 11).

Οι ευαίσθητες οικογένειες φάνηκε να έχουν χαμηλότερες τιμές SPAD ( $19.4 \pm 3$ ) από τις ανεκτικές ( $22.0 \pm 2$ ) στο περιβάλλον καταπόνησης, ενώ αρχικά στους 18°C οι ευαίσθητες υπερτερούσαν ελαφρώς των ανεκτικών ( $28.5 \pm 4$  και  $28.3 \pm 3$  αντίστοιχα, Πίν. 12). Αυτό θα μπορούσε να σημαίνει ότι οι ευαίσθητες οικογένειες σε συνθήκες καταπόνησης παρουσιάζουν μειωμένη φωτοσυνθετική ικανότητα και είναι κατ' αρχήν σύμφωνο με την άποψη ότι η καταπόνηση χαμηλών θερμοκρασιών επηρεάζει τη φωτοσυνθετική ικανότητα (Verheul, et al., 1996). Οι ίδιοι ερευνητές μελέτησαν την παραγωγική συμπεριφορά καθαρών σειρών στον αγρό σε παρόμοιες συνθήκες και ανέφεραν διαφορές μεταξύ σειρών προσαρμοσμένων σε χαμηλές θερμοκρασίες και των αντιστοίχων σε τροπικές που αφορούσαν διάφορα φυσιολογικά χαρακτηριστικά όπως αναλογία καθαρής αφομοίωσης (WAK) και σχετική ανάπτυξη (RGR).

Δεδομένα των Bertin et al (1997) έδειξαν ότι γενότυποι ρυζιού ευαίσθητοι στις χαμηλές θερμοκρασίες είχαν μειωμένη χλωροφύλλη. Με βάση αυτά τα δεδομένα φαίνεται ότι η εκτίμηση SPAD μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο στην προσπάθεια αναγνώρισης ανεκτικών γενοτύπων και αξίζει να διερευνηθεί περαιτέρω.

Η διαφοροποίηση για την περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη δεν ήταν τόσο έντονη όπως για τα άλλα χαρακτηριστικά όπως φαίνεται και από τον συντελεστή παραλλακτικότητας ( $CV=16.3\%$ ) και τον γενετικό συντελεστή παραλλακτικότητας ( $GCV=10.0\%$ ). Η επαναληψιμότητα (R) ήταν υψηλότερη στους 18°C με τιμή  $R = 0.89$  (Πίν. 13).

Πίνακας 10. Συμπεριφορά επιλεγμένων οικογενειών, καθαρών σειρών και πληθυσμών σε θάλαμο ανάπτυξης για το χαρακτηριστικό ΧΛΒ και για τις 3 περιόδους ανάπτυξης.

	Περίοδος I (18°C)	Περίοδος II (10°C)	Περίοδος III (25°C)
	g / φυτό		
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ*</b>			
Ανεκτικές	4.0±0.6	4.1±0.7	4.9±1.1
Ευαίσθητες	3.6±0.9	2.0±0.8	3.0±1.3
<b>ΚΑΘΑΡΕΣ ΣΕΙΡΕΣ</b>			
Ανεκτική	2.3±0.4	2.0±0.4	2.5±0.7
Ευαίσθητη	2.1±0.2	0.6±0.0	1.1±0.2
<b>ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ</b>			
C1	3,6±0.9	3.1±1.1	
C0	2,8±1.5		

\* ΧΛΒ. χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης C1, ο πληθυσμός των ανεκτικών οικογενειών C0 ο αρχικός πληθυσμός.

**Πίνακας 11. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΧΛΒ των οικογενειών για τις 3 περιόδους ανάπτυξης.**

ΧΛΒ*	Περίοδος I (18°C)	Περίοδος II (10°C)	Περίοδος III (25°C)
CV (%)	16.7	41.2	34.1
MO	4.1±0.7	3.3±1.3	4.1±1.4
$\sigma^2_p$	0.49	1.48	2.05
$\sigma^2_g$	0.35	1.32	1.75
R	0.71	0.89	0.85
GCV (%)	14.1	34.8	31.5

\* ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης MO=μέσος όρος,  
 CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_p$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  
 R= επαναληψιμότητα, (κατά προσέγγιση  $R = \sigma^2_g / \sigma^2_p$ ) και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .



**Πίνακας 12. Συμπεριφορά επιλεγμένων οικογενειών, καθαρών σειρών και πληθυσμών σε θάλαμο ανάπτυξης για το χαρακτηριστικό Χλωροφύλλη και για τις 3 περιόδους ανάπτυξης.**

	Περίοδος I (18°C)	Περίοδος II (10°C)	Περίοδος III (25°C)
	SPAD		
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ*</b>			
Ανεκτικές	28.3±3	22.0±2	22.4±2
Ευαίσθητες	28.5±4	19.4±3	20.1±2
<b>ΚΑΘΑΡΕΣ ΣΕΙΡΕΣ</b>			
Ανεκτική	28.8±1	19.4±2	21.3±2
Ευαίσθητη	25.1±3	15.3±2	16.3±1
<b>ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ</b>			
C1	27.6±4	17.3±3	
C0	27.7±4		

\* Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD C1, ο πληθυσμός των ανεκτικών οικογενειών C0 ο αρχικός πληθυσμός.

**Πίνακας 13. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για τη Χλωροφύλλη των οικογενειών για τις 3 περιόδους ανάπτυξης.**

Χλωροφύλλη*	Περίοδος I (18°C)	Περίοδος II (10°C)	Περίοδος III (25°C)
CV (%)	10.7	16.3	10.7
MO	28.1±3.0	21.0±3.4	21.6±3.1
$\sigma^2_p$	9.23	5.49	5.42
$\sigma^2_g$	8.29	4.45	3.80
R	0.89	0.81	0.69
GCV (%)	10.2	10.0	9.0

\* Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD MO=μέσος όρος,

CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_p$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,

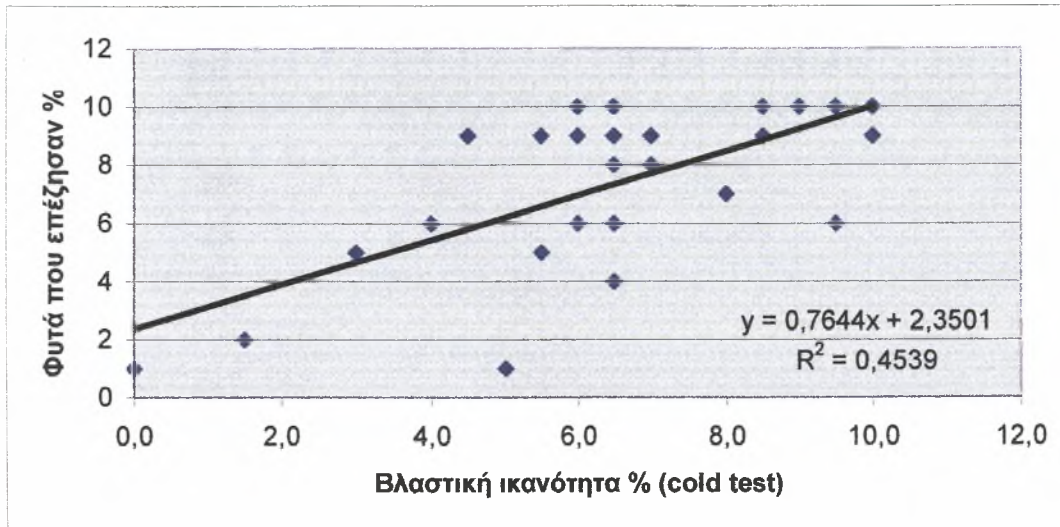
R= επαναληψιμότητα, (κατά προσέγγιση  $R = \sigma^2_g / \sigma^2_p$ ) και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$

Η αξιολόγηση της βλαστικής ικανότητας σε συνθήκες καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών στο εργαστήριο με το Pioneer cold test (Martin B.A. et al., 1988), έδειξε έντονη διαφοροποίηση των ανεκτικών (76%) από τις ευαίσθητες οικογένειες (46%). Έντονη διαφοροποίηση έδειξαν και οι καθарές σειρές με την ανεκτική (Γ-236) να υπερτερεί εμφανώς με ποσοστό 55% έναντι 20% της ευαίσθητης (L-2), ενώ παρόμοια συμπεριφορά επέδειξαν και οι δύο πληθυσμοί C1 και C0 (80% και 15% αντίστοιχα).

Τα δεδομένα από το Pioneer cold test συσχετίζονται αρκετά καλά με τον αριθμό των φυτών που επέζησαν της καταπόνησης των 10°C στο εργαστήριο με συντελεστή συσχέτισης  $r=0.67$  (Διάγραμμα 1). Τα αποτελέσματα συμφωνούν με τους Martin et al (1988) οι οποίοι αναφέρουν συντελεστή συσχέτισης του cold test με δεδομένα αγρού περίπου  $r=0.74$ .

Υψηλή συσχέτιση παρουσιάζουν, όπως άλλωστε ήταν αναμενόμενο, το ύψος κολεού φύλλου με το χλωρό βάρος ( $r=0.88$ ), το ύψος κολεού φύλλου με τη ρώμη-ανάπτυξη ( $r=0.73$ ), και το χλωρό βάρος με τη ρώμη-ανάπτυξη ( $r=0.85$ ). Η περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη παρουσιάζει σχετικά μικρή συσχέτιση με τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά όπως με το ύψος κολεού φύλλου ( $r=0.41$ ), το χλωρό βάρος ( $r=0.52$ ) και τη ρώμη-ανάπτυξη ( $r=0.38$ ). Μικρή και χωρίς σημασία είναι η συσχέτιση της χλωροφύλλης με τα αποτελέσματα του cold test ( $r=0.13$ ).

Στους πίνακες 14-19 παρουσιάζονται τα Μέσα Τετράγωνα από την ανάλυση διακύμανσης για το χλωρό βάρος και το ύψος κολεού του φύλλου, για το σύνολο των οικογενειών αλλά και για τις ανεκτικές και ευαίσθητες οικογένειες χωριστά. Η συνολική διακύμανση φαίνεται να είναι μοιρασμένη στις δύο κατηγορίες οικογενειών με τις ευαίσθητες να συνεισφέρουν ελαφρώς περισσότερο από τις ανεκτικές.



**Διάγραμμα 1.** Φαινοτυπική συσχέτιση μεταξύ της βλαστικής ικανότητας όπως αυτή εκτιμήθηκε με το Rionner Cold Test και του αριθμού φυτών που επέζησαν της καταπόνησης για κάθε οικογένεια.

Τα δεδομένα έδειξαν ότι στο γενετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα έρευνα υπάρχουν γενότυποι που συνδυάζουν άριστη συμπεριφορά σε συνθήκες καταπόνησης για όλα τα χαρακτηριστικά που αξιολογήθηκαν (ΡΑ, ΥΚΦ, ΧΛΒ και χλωροφύλλη). Έτσι οι οικογένειες 15, 65 και 98 κατά πρώτο λόγο, αλλά και οι 56, 10, 87 και 29 κατά δεύτερο ξεχώρισαν για την πολύ καλή συμπεριφορά που επέδειξαν και αποτελούν μία πρώτη ένδειξη των δυνατοτήτων αξιολόγησης σε ελεγχόμενες συνθήκες με την προτεινόμενη μεθοδολογία. Ακόμη τα προηγούμενα δεδομένα ήταν ενδεικτικά για τις δυνατότητες επιλογής των επιθυμητών γενοτύπων και δίδουν έμφαση στην αξία επιλογής στις κατάλληλες κάθε φορά συνθήκες που στην προκειμένη περίπτωση ήταν το περιβάλλον καταπόνησης.

**Πίνακας 14. Μέσα τετράγωνα από την ανάλυση διακύμανσης για το χλωρό βάρος (ΧΛΒ) των οικογενειών.**

Πηγή	ΒΕ	Μέσα Τετράγωνα		
		Περίοδος I	Περίοδος II	Περίοδος III
Μεταξύ οικ.	29	1.995	5.481	8.044
Εντός οικ.	83	0.592	0.595	1.156

**Πίνακας 15. Μέσα τετράγωνα από την ανάλυση διακύμανσης για το χλωρό βάρος (ΧΛΒ) των ανεκτικών οικογενειών.**

Πηγή	ΒΕ	Μέσα Τετράγωνα		
		Περίοδος I	Περίοδος II	Περίοδος III
Μεταξύ οικ.	19	1.601	1.279	4.111
Εντός οικ.	54	0.635	0.559	1.326

**Πίνακας 16. Μέσα τετράγωνα από την ανάλυση διακύμανσης για το χλωρό βάρος (ΧΛΒ) των ευαίσθητων οικογενειών.**

Πηγή	ΒΕ	Μέσα Τετράγωνα		
		Περίοδος I	Περίοδος II	Περίοδος III
Μεταξύ οικ.	9	1.812	1.641	6.499
Εντός οικ.	29	0.491	0.664	0.693

**Πίνακας 17. Μέσα τετράγωνα από την ανάλυση διακύμανσης για το ύψος κολεού φύλλου (ΥΚΦ) των οικογενειών.**

Πηγή	ΒΕ	Μέσα Τετράγωνα		
		Περίοδος I	Περίοδος II	Περίοδος III
Μεταξύ οικ.	29	13.141	21.885	44.695
Εντός οικ.	83	4.518	3.082	10.348

**Πίνακας 18. Μέσα τετράγωνα από την ανάλυση διακύμανσης για το ύψος κολεού φύλλου (ΥΚΦ) των ανεκτικών οικογενειών.**

Πηγή	ΒΕ	Μέσα Τετράγωνα		
		Περίοδος I	Περίοδος II	Περίοδος III
Μεταξύ οικ.	19	14.855	8.193	18.315
Εντός οικ.	54	4.747	3.070	9.101

**Πίνακας 19. Μέσα τετράγωνα από την ανάλυση διακύμανσης για το ύψος κολεού φύλλου (ΥΚΦ) των ευαίσθητων οικογενειών.**

Πηγή	ΒΕ	Μέσα Τετράγωνα		
		Περίοδος I	Περίοδος II	Περίοδος III
Μεταξύ οικ.	9	10.483	12.977	32.288
Εντός οικ.	29	3.976	3.105	13.748

## B. Μοριακή γενετική ανάλυση.

Από τους 20 δείκτες RAPDs που χρησιμοποιήθηκαν για την μοριακή ανάλυση τελικά αποτελέσματα έδωσαν οι 14 εκκινητές. Τα πρότυπα που έδωσε κάθε ένας από τους 14 εκκινητές παρουσιάζονται στους πίνακες του παραρτήματος.

Η μελέτη των προϊόντων ενίσχυσης έδειξε κατά κύριο λόγο κοινά πρότυπα στην πηκτή αγαρόζης ενώ βρέθηκαν και εκκινητές που έδειξαν διαφορετικά πρότυπα για αρκετούς από τους γενότυπους. Δύο τουλάχιστον εκκινητές, οι OPB-18 και OPB-11 διαφοροποίησαν τις ομάδες των γενοτύπων.

Ο εκκινητής OPB-11 (Πίν. 20α, 20β) διαφοροποίησε τις ομάδες των γενοτύπων με βάση την παρουσία μίας ζώνης 1400 βάσεων στους ευαίσθητους γενοτύπους (το 87% των γενοτύπων), και η οποία απουσίαζε από τους ανεκτικούς γενοτύπους (μόνον το 35% εμφάνισαν την ζώνη).

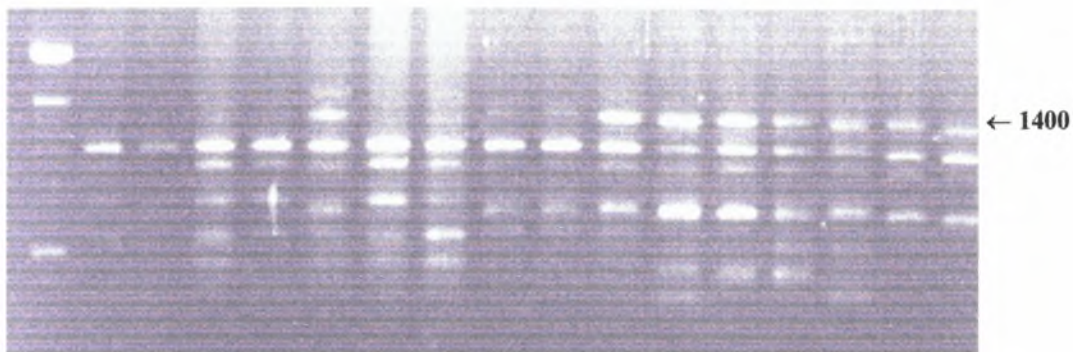
Ο εκκινητής OPB-18 (Πίν. 21α, 21β) διαφοροποίησε τις ομάδες των γενοτύπων με βάση την παρουσία μίας διακεκριμένης ζώνης των 770 βάσεων στους ανεκτικούς (ποσοστό 81.0% εμφάνισαν την ζώνη), και η οποία απουσίαζε από τους ευαίσθητους γενοτύπους (μόνον το 17.0% εμφάνισαν την συγκεκριμένη ζώνη).

Στις εικόνες 1 και 2 εμφανίζονται τα προηγούμενα αποτελέσματα. Τα δεδομένα ήταν μια πρώτη ένδειξη για την κατ' αρχήν δυνατότητα διαφοροποίησης των ομάδων και δυνατότητα διαλογής γενοτύπων ευαίσθητων στις καταπονήσεις χαμηλών θερμοκρασιών. Βεβαίως δεν παραγνωρίζεται το γεγονός ότι οι προηγούμενες διαφορές ενδεχομένως να αντανακλούν γενικότερες διαφορές του γενετικού υλικού κάθε γενοτύπου και όχι απαραίτητως στις χρωμοσωμικές περιοχές που συνδέονται με τα υπό συζήτηση χαρακτηριστικά (ανεκτικότητα-ευαισθησία). Θα απαιτηθούν περισσότερα δεδομένα εργαστηριακής αξιολόγησης και αντίστοιχης επιβεβαίωσης στον αγρό προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της υπό μελέτη μεθοδολογίας.

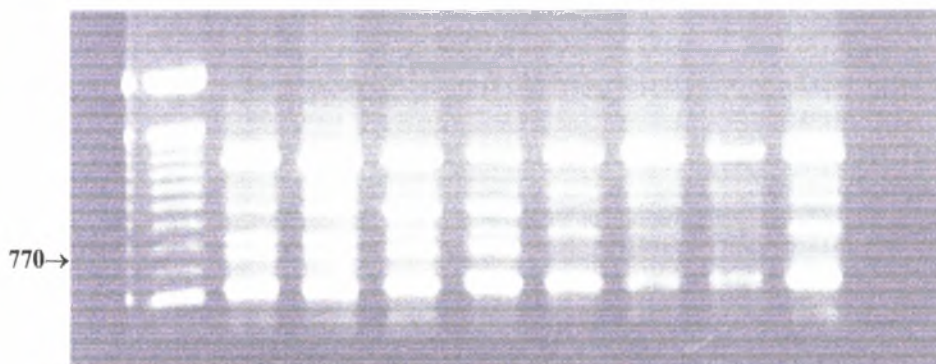
Παρ' όλα αυτά η δημιουργία του κατάλληλου γενετικού υλικού που προέκυψε στα πλαίσια του συγκεκριμένου ερευνητικού έργου θα επιτρέψει την αξιοποίηση όχι μόνο της συγκεκριμένης μεθοδολογίας αλλά και άλλων

μεθόδων σε μια προσπάθεια συνδυασμού της κλασσικής βελτιωτικής μεθοδολογίας με τις σύγχρονες μοριακές τεχνικές.





Εικόνα 1. Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης (1%) των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) για τον εκκινητή OPB-11.



Εικόνα 2. Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης (1%) των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) για τον εκκινητή OPB-18.

Πίνακας 20α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-11. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων								
	300	550	650	700	750	800	1000	1400	1550
Ανεκτ.									
7(α)	+	+	+		+		+	+	
7(β)	+		+				+	+	+
10(α)			+			+	+		
10(β)						+			
15(α)	+	+	+			+	+		
15(β)	+		+			+	+		
16(α)			+				+	+	
16(β)	+	+	+	+			+	+	
24(α)	+						+	+	
24(β)							+	+	+
29(α)	+	+	+		+		+		+
29(β)	+	+	+			+	+		
33(α)	+						+	+	
33(β)	+	+	+	+		+	+	+	
40(α)	+	+	+	+		+	+		
40(β)						+	+		
41(α)	+		+			+	+		
41(β)	+		+			+	+		
50(α)			+			+	+		
50(β)			+			+	+		
54(α)			+			+			
54(β)								+	
56(α)	+	+	+			+	+	+	+
56(β)				+	+		+		
65(α)				+	+		+	+	
65(β)									
70(α)		+					+	+	+
70(β)	+	+	+			+	+	+	
72(α)			+		+	+	+	+	+
72(β)			+			+			
76(α)			+		+	+	+		
76(β)	+	+	+			+	+		
81(α)	+	+	+	+	+	+	+		
81(β)	+		+			+			
87(α)									
87(β)									
91(α)			+				+	+	
91(β)	+	+	+		+	+	+		
98(α)									
98(β)									
Γ-236	+	+	+				+		
C1(α)	+		+		+	+	+		
C1(β)	+		+				+		
Αρ. Ζων.	22/43	13/43	27/43	6/43	9/43	23/43	33/43	15/43	5/43
Ποσοστό (%)	51.0	30.0	63.0	14.0	21.0	53.0	77.0	35.0	12.0

Πίνακας 20β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-11. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων								
	300	550	650	700	750	800	1000	1400	1550
Ευαισθ.									
6(α)			+	+		+	+	+	+
6(β)	+	+	+			+	+	+	
13(α)		+	+			+	+	+	
13(β)		+	+			+	+	+	
30(α)	+		+			+	+	+	
30(β)					+		+	+	
31(α)					+		+	+	
31(β)	+	+	+			+	+		
42(α)	+	+	+				+	+	
42(β)	+	+	+	+		+	+	+	+
53(α)			+			+	+	+	
53(β)			+	+	+	+	+	+	
68(α)	+						+	+	
68(β)		+	+		+	+	+	+	
74(α)									
74(β)							+	+	
82(α)		+	+		+	+	+	+	
82(β)									
94(α)			+		+	+		+	
94(β)			+		+	+	+	+	
L-2							+	+	
CO(α)							+	+	
CO(β)							+	+	
Αρ. Ζων.	6/23	8/23	14/23	3/23	7/23	16/23	20/23	20/23	2/23
Ποσοστό (%)	26.0	35.0	61.0	13.0	30.0	70.0	87.0	87.0	9.0

Πίνακας 21α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-18. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων				
	770	970	1100	1200	1400
Ανεκτ.					
7(α)	+		+	+	+
7(β)		+		+	+
10(α)	+	+		+	
10(β)	+	+	+		
15(α)	+	+	+	+	+
15(β)	+	+	+	+	+
16(α)		+		+	
16(β)	+	+	+	+	
24(α)		+	+	+	+
24(β)		+	+	+	
29(α)	+			+	
29(β)	+			+	
33(α)				+	
33(β)					
40(α)	+	+	+	+	+
40(β)	+	+	+	+	+
41(α)			+	+	+
41(β)	+		+	+	+
50(α)	+	+		+	+
50(β)	+	+		+	
54(α)	+	+	+	+	
54(β)		+	+	+	+
56(α)	+	+	+	+	+
56(β)	+	+	+	+	
65(α)	+	+	+		
65(β)	+	+			
70(α)	+	+			+
70(β)	+	+	+	+	
72(α)	+	+	+	+	+
72(β)	+	+		+	
76(α)	+	+	+	+	+
76(β)		+			
81(α)	+	+	+		
81(β)	+	+	+		+
87(α)	+	+	+	+	+
87(β)	+	+	+		
91(α)	+	+		+	
91(β)	+	+	+		
98(α)	+		+	+	+
98(β)	+		+	+	+
Γ-236	+		+	+	+
C1(α)	+		+	+	
C1(β)	+		+		
Αρ. Ζών.	35/43	31/43	29/43	31/43	20/43
Ποσοστό (%)	81.0	72.0	67.0	72.0	47.0

Πίνακας 21β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-18. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων				
	770	970	1100	1200	1400
Ευαίσθ.					
6(α)				+	+
6(β)	+	+	+	+	
13(α)			+	+	
13(β)			+	+	+
30(α)					
30(β)				+	
31(α)	+	+	+	+	+
31(β)					
42(α)			+		
42(β)			+		
53(α)			+	+	
53(β)		+		+	+
68(α)			+	+	
68(β)			+		
74(α)			+		
74(β)			+	+	
82(α)			+	+	
82(β)					
94(α)	+	+	+	+	+
94(β)	+	+	+	+	
L-2		+	+		
CO(α)		+			
CO(β)		+	+		
Αρ. Ζων.	4/23	8/23	16/23	13/23	5/23
Ποσοστό (%)	17.0	35.0	70.0	57.0	22.0

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η αξιολόγηση των γενοτύπων έγινε σε τρία περιβάλλοντα (18°C, 10°C και 25°C) από τα οποία το πρώτο (περίοδος I, 18°C), αντιπροσώπευε τις ιδανικές συνθήκες φυτρώματος και πρώτης βλαστικής ανάπτυξης της καλλιέργειας, το δεύτερο (περίοδος II, 10°C), τις συνθήκες καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών και το τρίτο (περίοδος III, 25°C) συνθήκες καταπόνησης λόγω απότομης μεταβολής της θερμοκρασίας.

Τα δεδομένα έδειξαν ότι το περιβάλλον καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών επηρέασε ουσιαστικά όλα τα υπό μελέτη χαρακτηριστικά καθώς παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ανεκτικών και ευαίσθητων καθαρών σειρών που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Η υλοποίηση του περιβάλλοντος καταπόνησης ήταν επιτυχής και οδήγησε σε έντονη διαφοροποίηση των γενοτύπων τονίζοντας την μεγάλη σημασία της επιλογής του κατάλληλου κάθε φορά περιβάλλοντος αξιολόγησης για την επιλογή των επιθυμητών γενοτύπων. Τα παραπάνω δεδομένα συμφωνούν με τους Goula et al (1997) οι οποίοι αξιολογώντας καθαρές σειρές καλαμποκιού σε συνθήκες καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών στο εργαστήριο βρήκαν συντελεστές παραλακτικότητας 47.4% και 32.1% για το χλωρό βάρος και το ύψος του φυτού αντίστοιχα, ενώ για το χαρακτηριστικό της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη ανέφεραν ότι δεν φάνηκε να διαφοροποιεί τους γενοτύπους. Στην παρούσα έρευνα οι αντίστοιχες τιμές για το χλωρό βάρος και το ύψος του φυτού ήταν 41.2% και 22.0%, ενώ και για την χλωροφύλλη υπήρξε διαφοροποίηση των γενοτύπων (CV=16.3%). Ειδικά για την χλωροφύλλη σύμφωνα με τους Tollenaar et al (1994), το χαρακτηριστικό της μειωμένης φωτοσυνθετικής ικανότητας έχει μεγάλη σημασία σε συνθήκες καταπόνησης όπου και μπορεί να θεωρηθεί ως ένδειξη υψηλών και σταθερών αποδόσεων.

Όσον αφορά την αξιολόγηση με βάση την βλαστική ικανότητα σε συνθήκες καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών στο εργαστήριο, φαίνεται ότι αποτελεί ένα καλό κριτήριο για την επιλογή των επιθυμητών γενοτύπων. Γενικά ο συνδυασμός των κριτηρίων που χρησιμοποιήθηκαν (ρώμη-

ανάπτυξη, ύψος κολεού φύλλου, χλωρό βάρος, περιεκτικότητα των φύλλων σε χλωροφύλλη και εκτίμηση της βλαστικής ικανότητας) φαίνεται πως είναι αποτελεσματικός για την αξιολόγηση και επιλογή των επιθυμητών γενοτύπων, καθώς επιλέχθησαν επτά (7) οικογένειες με άριστη συμπεριφορά ως προς τα παραπάνω χαρακτηριστικά.

Όσον αφορά τη γενετική μοριακή ανάλυση τα πρώτα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά. Από τα δεδομένα προέκυψαν ενδείξεις για την δυνατότητα διαφοροποίησης των γενοτύπων σε ανεκτικούς και ευαίσθητους. Βεβαίως, ενδεχομένως η διαφοροποίηση που προέκυψε μπορεί να σημαίνει γενικότερες γενοτυπικές διαφορές και όχι κατ' ανάγκην διαφορές που να σχετίζονται με την ανεκτικότητα σε καταπονήσεις. Εκτός από τους εκκινητές που αναφέρθηκαν ότι διαφοροποίησαν τους γενοτύπους και αρκετοί άλλοι έδειξαν διαφορές αλλά δυστυχώς οι διαφορές αυτές δεν ήταν επαναλήψιμες. Το φαινόμενο αυτό έχει παρατηρηθεί και από πολλούς άλλους ερευνητές (Jones et al., 1997; Perez et al., 1998). Οι T. Fahima et al (1999), αναφέρουν ότι σε πολλά είδη φυτών που έχουν χρησιμοποιηθεί τα RAPDs οι ζώνες που παράγονται δεν είναι όλες αποδεκτές και χρήσιμες για γενετικοί δείκτες. Το πρόβλημα αυτό οφείλεται εν μέρει στην σχετικά χαμηλή αναλυτική ικανότητα των πηκτών (π.χ αγαρόζη) που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση των προϊόντων RAPDs (Penner 1996). Τα παραπάνω φαίνεται να επιβεβαιώνονται και από τα δεδομένα της παρούσας έρευνας καθώς η έλλειψη επαναληψιμότητας παρουσιάστηκε σε τουλάχιστον άλλους τρεις (3) από τους εκκινητές που εμφάνισαν πολυμορφισμό.

Παρ' όλα αυτά, τα δεδομένα που προέκυψαν μπορούν να επιτρέψουν την αξιοποίηση όχι μόνον της συγκεκριμένης μεθοδολογίας αλλά και άλλων μεθόδων σε μία προσπάθεια συνδυασμού της κλασικής βελτιωτικής μεθοδολογίας με τις σύγχρονες τεχνικές της μοριακής γενετικής. Από τα δεδομένα της παρούσας έρευνας προέκυψαν τα εξής :

α) η προτεινόμενη μεθοδολογία, συνδυασμός φαινοτυπικών χαρακτηριστικών όπως η ΡΑ, ΥΚΦ, ΧΛΒ και χλωροφύλλη είναι μία πολλά υποσχόμενη μεθοδολογία. Ειδικότερα ο συνδυασμός φαινοτυπικών χαρακτηριστικών και μοριακών τεχνικών όπως τα RAPDs ή και άλλες μοριακές τεχνικές φαίνεται να είναι αποτελεσματικές στην αξιολόγηση-επιλογή επιθυμητών γενοτύπων.

β) η σημασία της επιλογής του κατάλληλου κάθε φορά περιβάλλοντος αξιολόγησης που στην προκειμένη περίπτωση ήταν το περιβάλλον καταπόνησης φαίνεται να είναι μεγάλη.

γ) επιλέχθησαν επτά (7) οικογένειες που συνδυάζουν άριστη συμπεριφορά για όλα τα χαρακτηριστικά που αξιολογήθηκαν.

δ) οι μοριακοί δείκτες όπως τα RAPDs είναι πολύ χρήσιμοι για την ανίχνευση διαφορών μεταξύ των γενοτύπων. Το κυριότερο πρόβλημα των RAPDs ήταν η έλλειψη επαναληψιμότητας των συγκεκριμένων μοριακών δεικτών. Αυτό ίσως μπορεί να ξεπεραστεί με την χρησιμοποίηση πηκτών με υψηλότερη αναλυτική ικανότητα (π.χ. ακρυλαμίδη).

ε) έγινε μία καλή προσέγγιση για την μελέτη των δυνατοτήτων χρησιμοποίησης μεθόδων μοριακής βιολογίας και φυσιολογίας ανάπτυξης (χλωροφύλλη) ως έμμεσων κριτηρίων επιλογής προκειμένου να γίνει πιο αποτελεσματική η συμβατική βελτιωτική μεθοδολογία.

ζ) οι επιλεγμένοι S1 γενότυποι μπορούν να χρησιμοποιηθούν περαιτέρω για δημιουργία καθαρών σειρών. Θα είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον να μελετηθεί η συμπεριφορά των γενοτύπων στην πορεία για την ομοζυγωτία  $S2 \rightarrow S6$  τόσο στο μοριακό επίπεδο όσο και στην παραγωγική συμπεριφορά σε αγρονομικές συνθήκες.

η) το επιλεγμένο γενετικό υλικό μπορεί να αξιοποιηθεί για μελέτη του τύπου κληρονομησης της ανεκτικότητας στην καταπόνηση χαμηλών θερμοκρασιών. Έτσι διασταυρώσεις ανεκτικών  $\times$  ανεκτικών, ανεκτικών  $\times$  ευαίσθητων, ευαίσθητων  $\times$  ευαίσθητων, θα είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσες.

Τέλος φαίνεται ότι η αξιοποίηση των συγκεκριμένων RAPDs που διαφοροποίησαν τους ανεκτικούς γενοτύπους, θα ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέρον να δοκιμαστούν σε σχήμα κυκλικής επιλογής, που να συνδυάζει επιλογή με βοήθεια μοριακών δεικτών (M.A.S.) και συμβατική μεθοδολογία.



## SUMMARY

Development of germplasm tolerant to low temperature stress during field germination and early growth is interesting to maize hybrid breeding industry. Such germplasm would serve as valuable source for developing inbred lines capable to field germinate, stand establishing and expressing early vigor and development.

The possibility to use early development traits evaluated under controlled room growing conditions, along with molecular screening as means of indirect selection criteria was the objective of this study.

Thirty S1 families from a broad based maize population were used. From these families, based on previous field evaluation and selection, the 20 were classified as cold tolerant and the other 10 as sensitive. All these families along with the base population (Co), the derived C1 tolerant to low temperature and two inbred lines (one tolerant and one sensitive) were evaluated under controlled room growing conditions (16/8 h day/night) for three different growing periods. Period I, 49 days under 18°C; period II, 49 days under 18°C and 8 days under 10°C; period III, 49 days under 18°C, 8 days under 10°C and 30 days under 25°C. During these three growing periods data on vigor and development (VD), number of plants survived (PSV), height of the upper leaf sheath (HSL), fresh above ground weight (FW) and leaf chlorophyll (LC) were recorded. All entries were also subjected to Pioneer Cold Test and their germinability was recorded. Furthermore molecular PCR mediated analysis using 20 random RAPD primers was run among and within genotypes.

Data showed that the low temperature stress (period II) accurately differentiated the tolerant from sensitive genotypes. Cold tolerant genotypes generally expressed better vigor and early development based on all traits evaluated. In particular cold tolerant genotypes had better germinability and increased (double) number of plants survived combined with increased FW, LC and HSL. The number of plants survived the cold stress seemed to most effectively differentiate among genotypes. Regarding the variability to

molecular data, RAPD primers OPB-11 and 18 effectively discriminated the tolerant from sensitive genotypes. These data provided preliminary evidence on the possibility these RAPDs to be utilized in MAS breeding schemes.

In conclusion our data provided preliminary evidence suggesting that the methodology studied could be useful as screening tool in population improvement schemes.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Arnhold – Schmitt, B. 1995. *Physiologic aspects of genome variability in tissue culture. II. Growth phase – dependent quantitative variability of repetitive B st NI fragments of primary cultures of Daucus carota L. Theor Appl Genet* 91:816 – 813.
- Arnholdt – Schmitt, B., C. Schafer, and K.H. Neumann. 1998. *Untersuchungen zum Einfluss physiologic bedingter Genomvariationen auf RAPD – Analysen bei Daucus carota. Votr Pflanzenzuchtg* 43:107 – 113.
- Arnholdt – Schmitt, B., C. Schafer, and K.H. Neumann. 1999. *RAPD analysis: a method to verify epigenetic variation. Abstracts of the ISHS Conference "Methods and Markers for Quality Assurance in Micropropagation". (Eds. BM Doyle, RF Curry & AC Cassells). Department of Plant Science, National University of Ireland, Cork 24 – 27 August 199, pp. 90 – 91*
- Aldrich, S. R., W. O. Scott and E. R. Leng. 1975. *Modern corn production. 2<sup>nd</sup> ed. A and L. Publications, Illinois.*
- Baruffi, L., G. Damaiani, C.R. Gulielmino, C. Bandi, A.R. Maracrida, G. Gasperi. 1995. *Polymorphism within and between populations of Ceratitits capitata: comparison between RAPD and multilocus enzyme electrophoresis data. Heredity* 74:425 – 437.
- Brauner, S., D.J. Crawford, T.F. Stuessy. 1992. *Ribosomal DNA and RAPD variation in the rare plant family Lactoridaceae. Am J Bot* 79:1436 – 1439.
- Brown, P.T.H., F.D. Large, E. Kranz, H. Lorz. 1993. *Analysis of single protoplasts and regenerated plants by PCR and RAPD technology. Mol Gen Genet* 237:311 – 317.

- *Behl, R.K. , H.S. Nainawatee, and K.P. Singh. 1993. High temperature tolerance in wheat. p. 349-355. In, D. R. Buxton et al. (ed). International Crop Science I. CSSA, Madison, WI.*
- *Bertin, P., J. Bouharmont, and J.M. Kinet. 1997. Somoclonal variation and improvement of chilling tolerance in rice :Changes in chilling-induced chlorophyll fluorescence. Crop Sci. 37: 1727-1735.*
- *Blackmer, T.M., J.S. Schepers, and G.E. Vevel. 1994. Light reflectance compared with other nitrogen stress measurements in corn leaves. Agron J. 86: 934-939.*
- *Blackmer, T.M., and J.J. Scheper. 1995. Use of a chlorophyll meter to monitor nitrogen status and schedule fertigation for corn. J. Prod. Agric. 8: 56-60.*
- *Becker, W.A. 1992. Manual of quantitative genetics. 5<sup>th</sup> ed. Academic Enterprises, Pullman, WA.*
- *Γούλας, Χ., Ζ. Μαμούρης, Ι. Σφακιανάκης, Ε. Μπλέτσος, Ε. Λαζάρου, Β. Μελλίδης, Γ. Καραμαλίγκας, Α. Κορκόβελος και Α. Αγοραστός. 1997. Τελική έκθεση προς την Γ.Γ.Ε. για το ερευνητικό έργο 95 Ε Δ 1116 με τίτλο: Μεθοδολογία επιλογής για δημιουργία γενετικού υλικού καλαμποκιού με ανεκτικότητα σε καταπονήσεις λόγω οριακών θερμοκρασιών.*
- *Γούλας, Χ., 1994. Βελτίωση Φυτών. Πανεπιστημιακές σημειώσεις. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.*
- *Demeke, T., R.P. Adams, R. Chibbar. 1992. Potential taxonomic use of random amplified polymorphic DNA (RAPD): a case study in Brassica. Theor Appl Genet 84:990 – 994.*
- *Dewer, L.M., M. Tollenaar and L. Houwing. 1991. A nondestructive method to monitor leaf greenness in corn. J. Plant Sci. 71: 505-509.*

- *El-Wilhelm, D., P. Biradar, D. G. Bullock, and A. L. Rayburn. 1995. Endopolyploidization of mesocotyls in Nebraska maize populations selected for cold tolerance. Crop Sci. 35: 958-961.*
- *Earl, H. J. and M. Tollenaar. 1997. Maize leaf absorbance of photosynthetically active variation and its estimation using a chlorophyllometer. Crop Sci. 37: 436-440*
- *El-Kholy, A. S., A.E. Hall, and A. A. Mohsen. 1997. Heat and chilling tolerance during germination and heat tolerance during flowering are not associated in cowpea. Crop Sci. 37: 456-463.*
- *Fahima. T., G.I. Sun, A. Behavar, T. Krugman, A. Beiles, E. Nevo. 1999. RAPD polymorphism of wild emmer wheat population, *Triticum dicoccoides*, in Israel. Theor Appl Genet 98: 434 – 447*
- *Fleming, A.A., and J.H. Palmer. 1975. Variation in chlorophyll content of maize lines and hybrids. Crop Sci. 15: 617-620.*
- *Garcia, E., M. JAMILENA, J.I. Alrarez, T. Arnedo, J.L. Oliver, R. Lozano. 1998. Genetic relationships among melon breeding lines revealed by RAPD markers and agronomic traits. Theor Appl Genet 878 – 885.*
- *Hahn, V., K. Blankenhorn, M. Scwall, A.E. Melchinger. 1995. Relationships among early european maize inbreds: III. Genetic diversity revealed with RFLP and pedigree data. Maydica 40:299 – 310*
- *He. S., H. Ohm, S. Mackenzie. 1992. Detection of DNA sequence polymorphisms among wheat varieties. Theor Appl Genet 84:573 – 578.*
- *Hodges, D.M., C.J. Andrews, D.A. Johnson, and R.I. Hamilton. 1997α. Sensitivity of maize hybrids to chilling and their combining abilities at two developmental stages. Crop Sci. 37: 850-856.*

- Hodges D.M., C.J. Anrews, D.A. Johnson, and R.I. Hamilton. 1997b. Antioxidant enzymes and compounds responses to chilling stress and their combining abilities in differentially sensitive maize hybrids. *Crop Sci.* 37: 857-863.
- Hodges, M.D., R.I. Hamilton, and C. Charest. 1995. A chilling response test for early growth phase maize. *Agron. J.* 87: 970-974.
- Hakizima F., S. D. Haley, and B. Turnipseed. 2000. Repeatability and Genotype  $\times$  Environment Interaction of Coleoptile Length Measurements in Winter Wheat. *Crop. Sc.* 40: 1233-1237.
- Jain, A., S. Bhatia, S.S. Banga, S. Prakash, S. Lakshmikumaran. 1994. Potential use of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique to study the genetic diversity in Indian mustard (*Brassica juncea*) and its relationship to heterosis. *Theor Appl Genet* 88:116 – 122.
- Jones, C.J., K.I. Edwards, S. Castaglione, M.O. Winfield, F. Sala, C. Van de Wiel, G. Bredemeijer, B. Vosman, M. Matthes, A. Daly, R. Bretteschneider, P. Bettini, M. Buiatti, E. Maestri, A. Malcevski, N. Marmioli, R. Aert, G. Volckaert, J. Rueda, R. Linacero, A. Vazquez, A. Karp. 1997. Reproducibility testing of RAPD, AFLP, and SSR markers in plants by a network of European Laboratories. *Mol Breed* 3:381- 390
- Karp. A., K. Edwards, M. Bruford, O. Seberg, A. Kremer, P. Boursot, Arctander, D. Tautz, G. Hewitt. 1997. Newer molecular technologies for biodiversity evaluation: opportunities and challenges. *Nature Biotechnol* 15:625 – 628.
- Kesseli. R., O. Ochoa, R. Michelmore. 1994. Variation of RFLP loci in *Lactuca* spp. and origin of cultivated lettuce (*L. sativa*). *Genome* 34:430 – 436.
- Kremer. A., C.E. Durel, R. Pettit, M. Villar. 1994. Marqueurs moléculaires et génétique des arbres forestiers. *Boifutur* 131:17 – 23.

- Kump, B., and B. Javornik. 1996. Evaluation of genetic variability among common buckwheat (*Fagopyrum esculum* Moench) population by RAPD markers. *Plant Sci* 114:149 – 158
- Lupotto, E., C. Balconi, M. Maddaloni, and M. Molto. 1997. Breeding maize for stress tolerance and low input demands. p.153-162. In.
- Lanza, L.L.B., Jr. C. L. De Souza, L.M.M. Ottoboni, M.L.C. Viera, A.P. De Souza. 1997. Genetic distance of inbred lines and prediction of maize single – cross performance using RAPD markers. *Theor Appl Genet* 94:1023 – 1030.
- Lui, Z., and G.R. Furnier. 1993. Comparison of allozyme, RFLP, and RAPD markers for revealing genetic variation within and between 87:97 – 105
- Lyakh, V. A., and A. I. Soroka. 1993. Influence of low temperature treatment of maize microgametophyte in F1 on the structure and cold tolerance of resulting population *Mayidica* 38: 67-71.
- Messmer, M.M., A.E. Melchinger, M. Lee, W.L. Woodman, E.A. Lee, K.R. Lamkey. 1991. Genetic diversity among progenitors and elite lines from the Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS) maize population: comparison allozyme and RFLP data. *Theor Appl Genet* 83:97 – 107.
- Μπουντώνας Γ. και Τ. Καραλάζος. 1968. Το καλαμπόκι στην Ελλάδα. Ινστιτούτο Σιτηρών, Θεσσαλονίκη.
- Moeller D.A, Schaal B.A. 1999. Genetic relationships Among Native American maize accessions of the Great Plains assessed by RAPDs. *Theor Appl Genet* 99:1061 – 1067.
- Markel Dekker, 1993. *Genetic Improvement of field crops Inc.* N. York.



- *Mock, J. J., and M. J. Mc Neil. 1979. Cold tolerance of maize inbred lines adapted to various latitudes in North America. Crop Sc. 19: 239-242.*
- *Martin B.A, O.S. Smith, M. O Neil. 1988. Relationships between Laboratory Germination Tests and Field Emergence of Maire Inbreds. Crop Sci 28:801 – 805.*
- *McClelland, M., J. Welsh. 1994. DNA fingerprinting by arbitrarily primed PCR Methods Appl 4:s59 – s65*
- *Neale, D.B., D.E. Harry. 1994. Genetic mapping in forest trees: RFLPs, RAPDs and beyond. AgBiotech News Inf: 6:107N – 114N*
- *Pejic, I., P. Ajmone – Marsan, M. Morgante, V. Kotumplick, P. Castiglioni, G. Taramino, M. Motto. 1998. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs, and AFLPs. Theor Appl Genet 97:1248 – 1255*
- *Pujar, S., S.A. Tramhankar, V.S. Rao, V.S. Gupta, S. Naik, P.K. Ranjekar. 1999. Arbitrarily primed – PVCR based diversity assessment reflects hierarchical groupings of Indian tetraploid wheat genotypes. Theor Appl Genet 99: 868 – 876.*
- *Penner, G.A. 1996. RAPD analysis of plants. CRC Press, Boca ration, Florida, pp 251 – 268.*
- *Powell. W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey, A. Rafalsky. 1996. The comparision of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Mol Breed 2:225 – 238*
- *Perez, T., J. Albornoz, A. Dominguez. 1998. An evalution of RAPD fragment reproducibility and nature. Mol Ecol 7:1377 – 1357.*

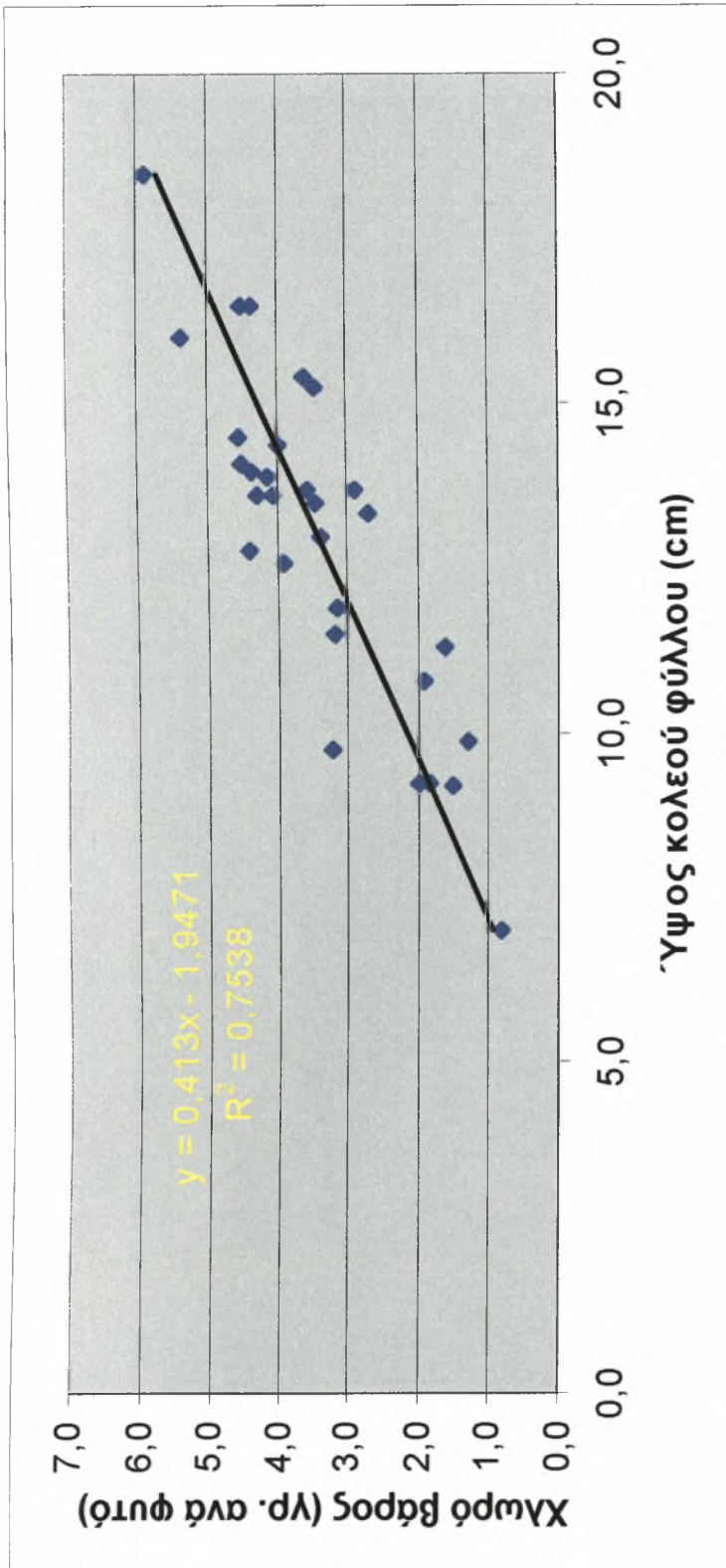


- Rani, V., L. Parina, S.N. Raina. 1995. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in micropropagated plants of *Populus deltoides* Marsh. *Plant Cell Rep* 14:459 – 462
- Rieseberg, L.H. 1996. Homology among RAPD fragments in interspecific comparisons. *Mol Ecol* 5:99 – 105.
- Ragot, M., D.A. Hoisington. 1993. Molecular markers for plant breeding: comparison of RFPD and RAPD genotyping costs. *Theor appl Genet* 86:975 – 984
- Shaw, R. H. 1988. Climate requirements. p. 609-638. In G. F. Sprague and J. W. Dudley (ed). *Corn and corn improvement.*, Agron Monogr. 18. ASA, CCSA, and SSSA, Madison, WI.
- Santos, J.B., J. Niehuis, P. Skrock, J. Tivang, M.K. Slocum. 1994. Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. *Theor Appl Genet* 87:909 – 915.
- Σφήκας, Α. Γ. 1992. Ειδική Γεωργία, Ι. Σιτηρά, ψυχανθή και χορτοδοτικά φυτά. Πανεπιστημιακές σημειώσεις. Α.Π.Θ.
- Thormann, C.E., M.E. Ferreira, L.E.A. Camargo, J.G. Tivang, T.C. Osborn. 1994. Comparison of RFLP and RAPD markers to estimate genetic relationship within and among cruciferous species. *Theor Appl Genet* 89:976 – 980.
- Tollenaar, M., E. Mc. Cullough, and M. Dewar. 1994. Physiological basis of the genetic improvement of corn. p.183-236. In G.A. Slafer (ed).
- Verheal, 1996. *Journal European Society of Agronomy*.

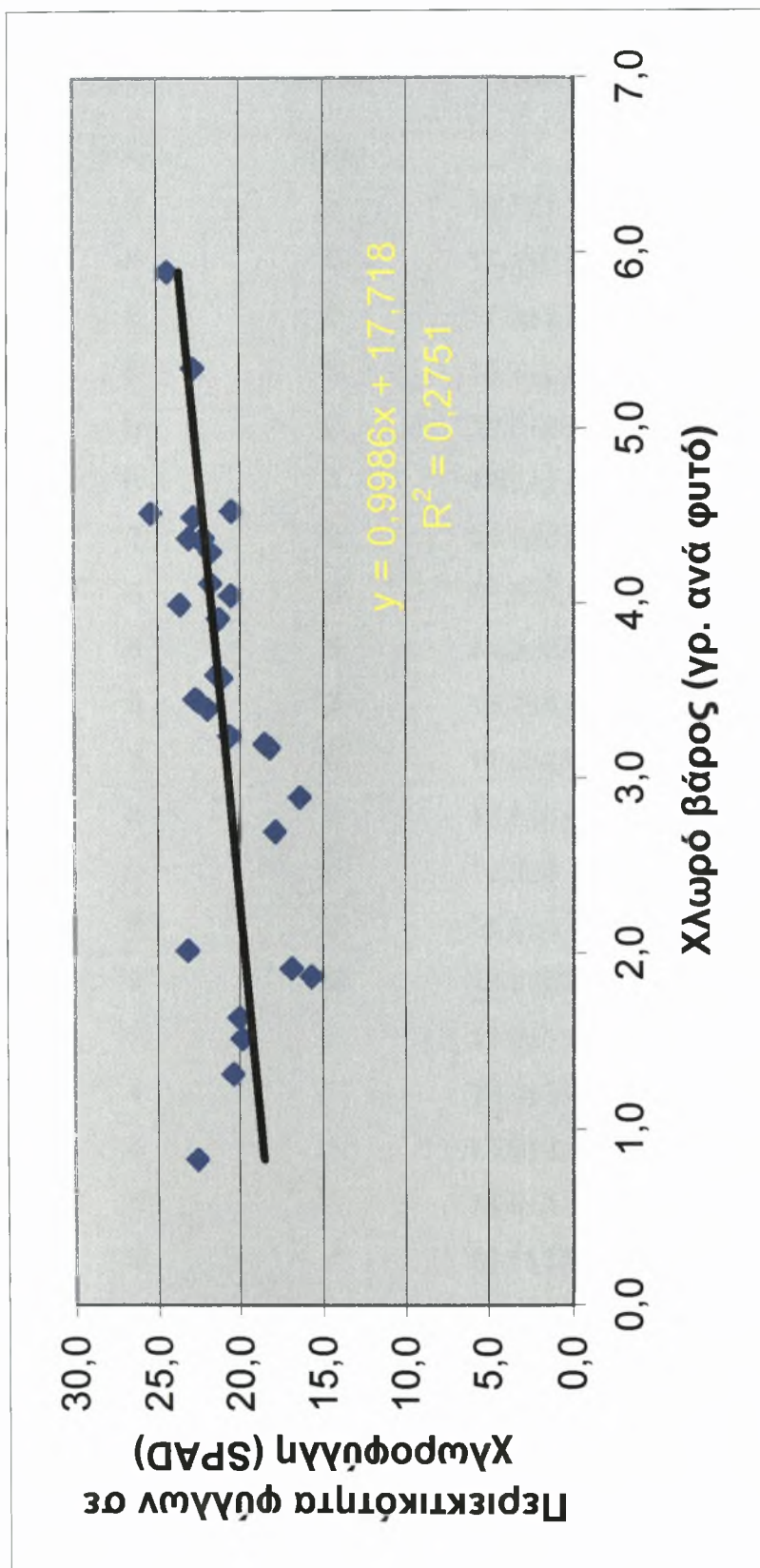
- *Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res 18:6531 – 6535*
- *Welsh, J., M. McClelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res 18:7213 – 7218*
- *Yang, H., H., Schmidt. 1994. Selection of a mutant from adventitious shoot formed in X- ray treated cherry leaves and differentiation of standard and mutant with RAPD. Euphytica 77:89 – 92*
- *Zacchini, M., A. Marotta, M. De Agazio. 1997. Tolerance to salt stress in maize callus lines with different polyamine content. Plant cell Reports 17:119 – 122.*

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

## **Α. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΕ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ**



Διάγραμμα 1. Φαινοτυπική συσχέτιση μεταξύ του ύψους κολεού φύλλου και του χλωρού βάρους για κάθε οικογένεια.



**Διάγραμμα 2.** Φαινοτυπική συσχέτιση μεταξύ του χλωρού βάρους και της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη για κάθε οικογένεια.

**Πίνακας 1. Συμπεριφορά επιλεγμένων ανεκτικών οικογενειών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 18°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (πρώτη περίοδος ανάπτυξης).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΡΑ*	ΦΥΤΑ	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	__βαθμ.__	__αριθμ.__	__εκ.__	__γρ / φυτό__	__SPAD__
7	9	5	15.7±1.7	3.9±0.9	24.6±2.7
10	6	5	17.1±0.5	3.8±0.2	29.9±2.8
15	8	2	17.3±3.2	4.4±0.3	28.8±1.8
16	8	5	13.7±2.0	4.2±1.8	33.2±3.0
24	6	2	12.5±2.1	2.9±1.0	27.0±2.7
29	9	4	17.3±1.0	4.5±0.4	29.4±3.1
33	7	3	14.7±0.6	4.3±0.3	29.7±2.4
40	6	3	13.5±4.8	4.5±1.0	26.5±7.2
41	6	5	14.2±0.8	3.5±0.3	28.5±2.8
50	8	3	15.2±1.5	4.9±0.1	30.9±2.2
54	5	5	11.0±2.6	2.6±0.6	27.6±3.7
56	8	5	13.5±3.6	3.6±0.7	28.3±3.9
65	7	5	13.2±1.1	4.1±0.7	28.7±3.7
70	8	2	16.5±0.7	4.8±0.1	29.5±1.8
72	9	5	16.5±2.3	3.6±0.6	24.5±3.6
76	7	5	13.2±1.9	4.0±1.1	29.8±2.8
81	4	5	10.8±3.4	3.3±1.1	23.2±3.9
87	8	5	13.9±2.1	4.4±0.8	31.4±3.8
91	10	5	13.9±1.5	4.1±0.6	23.5±2.9
98	10	5	13.6±1.6	5.2±0.5	31.7±3.1
Μέσος όρος			14.4±1.9	4.0±0.6	28.3±2.8
CV (%)			13.3	15.9	9.7

- ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΦΥΤΑ, αριθμός φυτών ανά οικογένεια (μέγιστο το 5) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD.

**Πίνακας 2. Συμπεριφορά επιλεγμένων ευαίσθητων οικογενειών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 18°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (πρώτη περίοδος ανάπτυξης).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΡΑ*	ΦΥΤΑ	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	___βαθμ.___	___αριθμ.___	___εκ.___	___γρ / φυτό___	___SPAD___
6	8	5	14.3±4.1	2.9±1.1	27.9±2.5
13	9	5	16.5±2.1	3.4±0.4	32.9±2.8
30	6	1	11.5	4.5	27.3±1.6
31	1	1	10.5	1.8	37.6±4.3
42	6	4	14.5±0.6	3.9±0.4	25.4±2.8
53	6	3	16.7±1.5	3.8±0.6	28.7±4.2
68	6	5	13.6±1.1	3.2±0.5	24.3±1.9
74	7	5	13.5±1.0	3.8±0.6	25.3±2.0
82	9	4	13.5±1.5	4.0±1.1	28.8±2.4
94	10	4	16.9±0.3	5.0±0.5	27.0±2.1
Μέσος όρος			14.1±2.1	3.6±0.9	28.5±4.0
CV (%)			15.1	24.3	14.0

\* ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΦΥΤΑ, αριθμός φυτών ανά οικογένεια (μέγιστο το 5) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD.



**Πίνακας 3. Συμπεριφορά καθαρών σειρών και πληθυσμών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 18°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (πρώτη περίοδος ανάπτυξης).**

	ΡΑ*	ΦΥΤΑ	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	__βαθμ.__	__αριθμ.__	__εκ.__	__γρ / φυτό__	__SPAD__
<b>__ΚΣ__</b>					
Γ-236	6	5	9.0±0.4	2.3±0.4	28.8±1.3
L-2	5	4	8.0±0.7	2.1±0.2	25.1±2.6
<b>__ΠΛΗΘ__</b>					
C 1	9	5	14.1±1.8	3.6±0.9	27.6±3.6
C 0	9	3	13.6±3.5	2.8±1.5	27.7±4.2

ΡΑ, Ρώμη (άριστο το10) ΦΥΤΑ, αριθμός φυτών ανά οικογένεια (μέγιστο το5) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD Γ-236, ανεκτική καθαρή σειρά L-2, ευαίσθητη καθαρή σειρά C1, πληθυσμός επιλεγμένων ανεκτικών οικογενειών C0, ο αρχικός πληθυσμός.

**Πίνακας 4. Συμπεριφορά επιλεγμένων ανεκτικών οικογενειών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 10°C Και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (δεύτερη περίοδος ανάπτυξης).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΡΑ*	ΦΥΤΑ	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	__βαθμ.__	__αριθμ.__	__εκ.__	__γρ / φυτό__	__SPAD__
7	7	5	13.7±1.9	3.6±0.7	21.1±5.3
10	8	4	16.5±2.0	4.4±0.7	22.3±2.2
15	9	2	18.5±0.7	5.9±0.1	24.4±1.5
16	6	5	12.8±2.8	4.4±1.3	23.1±1.5
24	6	1	13.0	3.4	22.0
29	6	2	16.5±0.7	4.5±0.1	22.8±2.0
33	7	5	13.9±1.6	4.1±0.9	21.8±2.0
40	6	2	15.3±1.1	3.5±0.1	22.6±1.8
41	5	5	11.9±0.5	3.2±0.2	18.3±2.2
50	6	3	14.0±2.0	4.4±0.4	22.4±4.9
54	7	5	13.5±1.4	3.5±0.5	22.8±1.5
56	8	3	14.5±2.8	4.5±1.4	20.5±2.8
65	8	2	16.0±4.2	5.4±1.1	22.9±2.3
70	7	4	13.6±0.8	4.3±0.6	21.8±2.9
72	5	5	15.4±1.0	3.6±0.6	21.4±2.1
76	6	5	12.6±1.4	3.9±0.5	21.4±2.8
81	7	2	11.5±3.5	3.2±1.0	18.6±3.2
87	7	5	14.4±1.3	4.0±0.8	23.6±2.9
91	6	4	13.6±0.8	4.1±0.7	20.6±2.4
98	7	5	14.1±1.6	4.5±0.5	25.4±2.9
Μέσος όρος			14.3±1.7	4.1±0.7	22.0±1.7
CV (%)			11.9	16.9	7.8

ΡΑ. Ρώμη (άριστο το 10) ΦΥΤΑ, αριθμός φυτών ανά οικογένεια (μέγιστο το 5) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD.

Πίνακας 5. Συμπεριφορά επιλεγμένων ευαίσθητων οικογενειών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 10°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (δεύτερη περίοδος ανάπτυξης).

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΡΑ*	ΦΥΤΑ	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	___βαθμ.___	___αριθμ.___	___εκ.___	___γρ / φυτό___	___SPAD___
6	5	5	11.3±0.8	1.6±0.6	20.1±3.7
13	5	5	9.9±1.7	1.3±1.2	20.4±2.2
30	7	2	9.8±1.8	3.3±1.6	20.7±3.3
31	1	3	7.0±1.8	0.8±0.5	22.6
42	4	4	9.3±1.0	1.9±0.1	15.7±2.4
53	5	3	13.7±1.5	2.9±0.7	16.5±2.2
68	5	5	10.8±1.9	1.9±0.3	16.9±2.2
74	5	5	9.2±1.4	1.5±0.6	19.9±2.4
82	5	4	9.3±3.0	2.0±1.2	23.2±2.8
94	5	3	13.3±2.1	2.7±1.0	17.9±2.5
Μέσος όρος			10.3±2.0	2.0±0.8	19.4±2.6
CV (%)			19.5	37.6	13.2

\* ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΦΥΤΑ, αριθμός φυτών ανά οικογένεια (μέγιστο το 5) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD.

**Πίνακας 6. Συμπεριφορά καθαρών σειρών και πληθυσμών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 10°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (δεύτερη περίοδος ανάπτυξης).**

	ΡΑ*	ΦΥΤΑ	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	__βαθμ.__	__αριθμ.__	__εκ.__	__γρ / φυτό__	__SPAD__
<b>__ΚΣ__</b>					
Γ-236	4	4	9.3±0.3	2.0±0.4	19.4±1.6
L-2	2	3	7.0±1.0	0.6±0.0	15.3±2.3
<b>__ΠΛΗΘ__</b>					
C 1	8	5	14.6±3.6	3.1±1.1	17.3±2.7
C 0			10.5±2.2		

ΡΑ, Ρώμη (άριστο το10) ΦΥΤΑ, αριθμός φυτών ανά οικογένεια (μέγιστο το 5) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD Γ-236, ανεκτική καθαρή σειρά L-2, ευαίσθητη καθαρή σειρά C1, πληθυσμός επιλεγμένων ανεκτικών οικογενειών C0, ο αρχικός πληθυσμός.

Πίνακας 7. Συμπεριφορά επιλεγμένων ανεκτικών οικογενειών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 25°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (τρίτη περίοδος ανάπτυξης).

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΡΑ*	ΦΥΤΑ	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	__βαθμ.__	__αριθμ.__	__εκ.__	__γρ / φυτό__	__SPAD__
7	8	4	22.0±2.2	5.2±1.1	19.4±2.2
10	8	5	21.8±1.3	5.3±1.3	24.1±1.8
15	10	2	20.5±2.1	6.6±1.5	24.7±0.2
16	6	4	19.8±2.1	6.4±0.8	21.2±1.7
24	7	0			
29	7	4	18.0±2.6	3.9±1.0	24.5±5.7
33	7	4	19.3±5.0	4.6±1.4	22.3±2.3
40	6	4	17.7±1.5	3.4±0.2	25.3±0.9
41	6	5	17.6±2.6	3.6±1.0	20.3±1.4
50	6	3	23.0±1.0	6.9±1.1	26.0±2.2
54	7	5	18.8±3.6	3.8±1.3	22.2±1.1
56	8	4	18.8±3.3	4.6±1.4	21.6±1.0
65	9	5	17.2±2.3	5.4±1.3	23.9±2.7
70	9	5	15.2±2.3	4.3±1.1	22.2±1.8
72	7	5	18.2±1.9	3.9±0.7	17.8±3.0
76	7	3	20.0±2.0	5.3±1.7	21.5±0.4
81	6	4	16.8±3.9	3.5±0.7	19.9±1.2
87	6	5	18.4±5.5	5.4±1.5	24.3±0.7
91	7	5	17.8±3.1	4.5±0.9	24.2±1.5
98	7	4	22.8±2.9	5.8±1.1	21.0±0.7
Μέσος όρος			19.1±2.1	4.9±1.1	22.4±2.2
CV (%)			11.1	22.0	9.9

\* ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΦΥΤΑ, αριθμός φυτών ανά οικογένεια (μέγιστο το 5) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD.

Πίνακας 8. Συμπεριφορά επιλεγμένων ευαίσθητων οικογενειών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 25°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (τρίτη περίοδος ανάπτυξης).

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΡΑ*	ΦΥΤΑ	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	βαθμ.	αριθμ.	εκ.	γρ / φυτό	SPAD
6	7	5	10.8±2.5	1.3±0.5	21.0±2.8
13	6	4	16.5±1.3	4.4±0.6	22.6±1.6
30					
31	7	1	16.0	3.0	23.9
42	3	4	14.8±1.3	3.0±0.9	19.1±1.8
53	4	2	15.5±10	3.1±2.3	17.2±3.2
68	6	4	11.3±3.8	1.9±0.9	17.4±1.6
74	5	5	10.0±4.5	1.3±0.6	19.2±3.3
82	7	3	16.3±2.9	3.9±0.7	20.7±3.3
94	7	3	18.0±2.6	4.8±0.6	20.3±0.5
Μέσος όρος			14.3±2.9	3.0±1.3	20.1±2.2
CV (%)			20.2	43.3	11.1

\* ΡΑ, Ρώμη (άριστο το 10) ΦΥΤΑ, αριθμός φυτών ανά οικογένεια (μέγιστο το 5) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD.

**Πίνακας 9. Συμπεριφορά καθαρών σειρών και πληθυσμών σε θάλαμο ανάπτυξης σε 25°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα (τρίτη περίοδος ανάπτυξης).**

	ΡΑ*	ΦΥΤΑ	ΥΚΦ	ΧΛΒ	Χλωροφύλλη
	__βαθμ.__	__αριθμ.__	__εκ.__	__γρ / φυτό__	__SPAD__
__ΚΣ__					
Γ-236	6	4	14.0±0.8	2.5±0.7	21.3±1.5
L-2	4	3	9.7±1.5	1.1±0.2	16.3±0.4

ΡΑ, Ρώμη (άριστο το10) ΦΥΤΑ, αριθμός φυτών ανά οικογένεια (μέγιστο το 5) ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD Γ-236, ανεκτική καθαρή σειρά L-2, ευαίσθητη καθαρή σειρά C1, πληθυσμός επιλεγμένων ανεκτικών οικογενειών C0, ο αρχικός πληθυσμός.

**Πίνακας 10. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΥΚΦ των ανεκτικών οικογενειών για την πρώτη περίοδο ανάπτυξης (θάλαμος ανάπτυξης, 18°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα ).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
7	15.7±1.7	10.9	2.9	2.7	0.90	10.4
10	17.1±0.5	3.2	0.3	0.0	0.06	0.8
15	17.3±3.2	18.4	10.1	9.8	0.97	18.2
16	13.7±2.0	14.3	3.8	3.5	0.93	13.7
24	12.5±2.1	17.0	4.5	4.2	0.94	16.4
29	17.3±1.0	5.6	0.9	0.6	0.69	4.6
33	14.7±0.6	3.9	0.3	0.1	0.16	1.6
40	13.5±4.8	35.3	22.8	22.5	0.99	35.1
41	14.2±0.8	5.9	0.7	0.4	0.60	4.6
50	15.2±1.5	10.1	2.3	2.1	0.88	9.4
54	11.0±2.6	23.4	6.6	6.3	0.96	22.9
56	13.5±3.6	27.0	13.3	13.0	0.98	26.7
65	13.2±1.1	8.3	1.2	0.9	0.77	7.3
70	16.5±0.7	4.3	0.5	0.2	0.44	2.8
72	16.5±2.3	14.2	5.5	5.2	0.95	13.8
76	13.2±1.9	14.6	3.7	3.4	0.92	14.0
81	10.8±3.4	31.8	11.8	11.5	0.98	31.5
87	13.9±2.1	14.9	4.3	4.0	0.93	14.4
91	13.9±1.5	10.6	2.2	1.9	0.87	9.9
98	13.6±1.6	11.5	2.4	2.1	0.88	10.8

ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΜΟ= μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2=\sigma^2_g/\sigma^2_P$  και

$GCV=(\sigma^2_g)^{1/2}/MO$ .



**Πίνακας 11. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΥΚΦ των ευαίσθητων οικογενειών για την πρώτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 18°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
6	14.3±4.1	29.0	17.2	16.9	0.98	28.8
13	16.5±2.1	12.5	4.3	4.0	0.93	12.1
30	11.5					
31	10.5					
42	14.5±0.6	4.0	0.3	0.1	0.16	1.6
53	16.7±1.5	9.2	2.3	2.1	0.88	8.6
68	13.6±1.1	8.4	1.3	1.0	0.78	7.4
74	13.5±1.0	7.4	1.0	0.7	0.72	6.3
82	13.5±1.5	10.9	2.2	1.9	0.87	10.2
94	16.9±0.3	1.5	0.1			

\* ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 12. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΥΚΦ των ανεκτικών οικογενειών για την δεύτερη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 10°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
7	13.7±1.9	14.0	3.7	3.3	0.89	13.2
10	16.5±2.0	12.4	4.2	3.8	0.90	11.7
15	18.5±0.7	3.8	0.5	0.1	0.18	1.6
16	12.8±2.8	21.7	7.7	7.3	0.95	21.1
24	13.0					
29	16.5±0.7	4.3	0.5	0.1	0.18	1.8
33	13.9±1.6	11.8	2.7	2.3	0.85	10.8
40	15.3±1.1	7.0	1.1	0.7	0.64	5.5
41	11.9±0.5	4.6	0.3			
50	14.0±2.0	14.3	4.0	3.6	0.90	13.5
54	13.5±1.4	10.1	1.9	1.5	0.78	9.0
56	14.5±2.8	19.2	7.8	7.3	0.95	18.7
65	16.0±4.2	26.5	18.0	17.6	0.98	26.2
70	13.6±0.8	5.5	0.6	0.2	0.27	2.9
72	15.4±1.0	6.2	0.9	0.5	0.56	4.7
76	12.6±1.4	11.0	1.9	1.5	0.79	9.8
81	11.5±3.5	30.7	12.5	12.1	0.97	30.2
87	14.4±1.3	9.3	1.8	1.4	0.77	8.2
91	13.6±0.8	5.5	0.6	0.2	0.27	2.9
98	14.1±1.6	11.3	2.6	2.1	0.84	10.4

\* ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολοού ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2=\sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV=(\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 13. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΥΚΦ των ευαίσθητων οικογενειών για την δεύτερη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 10°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
6	11.3±0,8	6.7	0.6	0.2	0.29	3.6
13	9.9±1,7	17.3	2.9	2.5	0.86	16.0
30	9.8±1,8	18.1	3.1	2.7	0.87	16.9
31	7.0±1,8	25.8	3.3	2.8	0.87	24.1
42	9.3±1,0	11.3	1.1	0.7	0.62	8.9
53	13.7±1,5	11.2	2.3	1.9	0.82	10.1
68	10.8±1,9	17.8	3.7	3.3	0.89	16.8
74	9.2±1,4	15.7	2.1	1.7	0.80	14.0
82	9.3±3,0	32.3	8.9	8.5	0.95	31.5
94	13.3±2,1	15.6	4.3	3.9	0.91	14.9

\* ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 14. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΥΚΦ των ανεκτικών οικογενειών για την τρίτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 25°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_p$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
7	22.0±2.2	9.8	4.7	3.3	0.71	8.3
10	21.8±1.3	6.0	1.7	0.3	0.19	2.6
15	20.5±2.1	10.3	4.5	3.1	0.70	8.6
16	19.8±2.1	10.4	4.3	2.9	0.68	8.6
24						
29	18.0±2.6	14.3	6.7	5.3	0.79	12.8
33	19.3±5.0	25.9	24.9	23.5	0.95	25.2
40	17.7±1.5	8.6	2.3	1.0	0.41	5.6
41	17.6±2.6	14.8	6.8	5.4	0.80	13.2
50	23.0±1.0	4.3	1.0			
54	18.8±3.6	19.3	13.2	11.8	0.90	18.3
56	18.8±3.3	17.6	10.9	9.5	0.87	16.5
65	17.2±2.3	13.3	5.2	3.8	0.74	11.4
70	15.2±2.3	15.0	5.2	3.8	0.74	12.9
72	18.2±1.9	10.6	3.7	2.3	0.63	8.4
76	20.0±2.0	10.0	4.0	2.6	0.66	8.1
81	16.8±3.9	23.1	14.9	13.5	0.91	22.0
87	18.4±5.5	29.9	30.3	28.9	0.95	29.2
91	17.8±3.1	17.5	9.7	8.3	0.86	16.2
98	22.8±2.9	12.6	8.3	6.9	0.83	11.5

\* ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_p$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2=\sigma^2_g / \sigma^2_p$  και  $GCV=(\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

Πίνακας 15. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΥΚΦ των ευαίσθητων οικογενειών για την τρίτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 25°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_p$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
6	10.8±2.5	23.1	6.2	4.8	0.78	20.4
13	16.5±1.3	7.8	1.7	0.3	0.18	3.3
30						
31	16.0					
42	14.8±1.3	8.5	1.6	0.2	0.14	3.1
53	15.5±10.6	68.4	112.5	111.1	0.99	68.0
68	11.3±3.8	33.6	14.3	12.9	0.90	31.9
74	10.0±4.5	45.3	20.5	19.1	0.93	43.7
82	16.3±2.9	17.7	8.3	7.0	0.84	16.2
94	18.0±2.6	14.7	7.0	5.6	0.80	13.2

\* ΥΚΦ, ύψος ανωτέρου κολεού ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_p$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2=\sigma^2_g / \sigma^2_p$  και  $GCV=(\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 16. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΧΛΒ των ανεκτικών οικογενειών για την πρώτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 18°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
7	3.9±0.9	22.8	0.8	0.7	0.86	21.1
10	3.8±0.2	6.0				
15	4.4±0.3	6.4				
16	4.2±1.8	41.9	3.1	3.0	0.96	41.1
24	2.9±1.0	34.1	1.0	0.9	0.89	32.2
29	4.5±0.4	7.9	0.1	0.01	0.12	2.7
33	4.3±0.3	7.0	0.1			
40	4.5±1.0	21.4	0.9	0.8	0.88	20.1
41	3.5±0.3	8.4				
50	4.9±0.1	2.0				
54	2.6±0.6	24.0	0.4	0.3	0.73	20.5
56	3.6±0.7	18.4	0.4	0.3	0.76	16.0
65	4.1±0.7	16.9	0.5	0.4	0.77	14.9
70	4.8±0.1	2.9				
72	3.6±0.6	15.9	0.3	0.2	0.67	13.0
76	4.0±1.1	28.0	1.3	1.2	0.92	26.8
81	3.3±1.1	32.6	1.2	1.1	0.91	31.1
87	4.4±0.8	18.1	0.6	0.5	0.83	16.5
91	4.1±0.6	13.7	0.3	0.2	0.65	11.0
98	5.2±0.5	9.6	0.2	0.1	0.55	7.1

\* ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 17. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΧΛΒ των ευαίσθητων οικογενειών για την πρώτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 18°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
6	1.9±1.1	56.5	1.1	1.0	0.90	53.7
13	2.4±0.4	14.9	0.1	0.01	0.11	5.0
30	3.5					
31	0.8					
42	2.9±0.4	12.3	0.1	0.02	0.14	4.6
53	2.8±0.6	19.4	0.3	0.2	0.64	15.6
68	2.2±0.5	25.1	0.3	0.2	0.63	19.9
74	2.8±0.6	23.0	0.4	0.3	0.74	19.8
82	3.0±1.1	37.4	1.2	1.1	0.91	35.7
94	4.0±0.5	13.2	0.3	0.2	0.60	10.2

\* ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / ΜΟ$ .

**Πίνακας 18. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΧΛΒ των ανεκτικών οικογενειών για την δεύτερη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 10°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
7	3.6±0.7	19.7	0.5	0.5	0.91	18.8
10	4.4±0.7	17.0	0.6	0.5	0.92	16.4
15	5.9±0.1	2.4	0.02			
16	4.4±1.3	30.8	1.8	.,8	0.98	30.4
24	3.4					
29	4.5±0.1	3.1	0.02			
33	4.1±0.9	22.7	0.9	0.8	0.95	22.2
40	3.5±0.1	2.0	0.005			
41	3.2±0.2	5.6	0.03			
50	4.4±0.4	9.3	0.2	0.1	0.73	7.9
54	3.5±0.5	15.5	0.3	0.2	0.85	14.3
56	4.5±1.4	30.0	1.9	1.8	0.98	29.7
65	5.4±1.1	19.8	1.1	1.1	0.96	19.4
70	4.3±0.6	13.2	0.3	0.3	0.86	12.2
72	3.6±0.6	15.6	0.3	0.3	0.86	14.5
76	3.9±0.5	13.7	0.3	0.2	0.85	12.6
81	3.2±1.0	30.9	1.0	0.9	0.96	30.2
87	4.0±0.8	19.8	0.6	0.6	0.93	19.1
91	4.1±0.7	17.4	0.5	0.5	0.91	16.6
98	4.5±0.5	10.8	0.2	0.2	0.81	9.7

\* ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .



**Πίνακας 19. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΧΛΒ των ευαίσθητων οικογενειών για την δεύτερη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 10°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
6	1.6±0.6	34.1	0.3	0.3	0.86	31.6
13	1.3±1.2	89.5	1.4	1.4	0.97	88.1
30	3.3±1.6	50.0	2.6	2.6	0.98	49.6
31	0.8±0.5	61.6	0.3	0.2	0.83	56.2
42	1.9±0.1	5.1	0.01			
53	2.9±0.7	24.1	0.5	0.4	0.91	23.0
68	1.9±0.3	15.8	0.1	0.0	0.52	11.4
74	1.5±0.6	42.2	0.4	0.4	0.89	39.9
82	2.0±1.2	58.6	1.4	1.4	0.97	57.7
94	2.7±1.0	37.0	1.0	1.0	0.96	36.2

\* ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 20. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΧΛΒ των ανεκτικών οικογενειών για την τρίτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 25°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
7	5.2±1.1	21.4	1.2	1.1	0.86	19.8
10	5.3±1.3	24.8	1.7	1.5	0.90	23.6
15	6.6±1.5	22.7	2.2	2.0	0.92	21.8
16	6.4±0.8	12.8	0.7	0.5	0.75	11.1
24						
29	3.9±1.0	26.6	1.1	0.9	0.84	24.5
33	4.6±1.4	31.1	2.0	1.9	0.92	29.8
40	3.4±0.2	5.1				
41	3.6±1.0	27.6	1.0	0.8	0.83	25.1
50	6.9±1.1	15.6	1.1	1.0	0.85	14.4
54	3.8±1.3	33.8	1.6	1.5	0.90	32.1
56	4.6±1.4	29.6	1.9	1.7	0.91	28.2
65	5.4±1.3	24.7	1.8	1.6	0.91	23.5
70	4.3±1.1	26.4	1.3	1.1	0.87	24.6
72	3.9±0.7	17.9	0.5	0.3	0.65	14.4
76	5.3±1.7	32.4	2.9	2.7	0.94	31.4
81	3.5±0.7	18.7	0.4	0.3	0.60	14.5
87	5.4±1.5	27.3	2.2	2.0	0.92	26.3
91	4.5±0.9	20.0	0.8	0.7	0.80	17.8
98	5.8±1.1	19.2	1.2	1.1	0.86	17.9

\* ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 21. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για το ΧΛΒ των ευαίσθητων οικογενειών για την τρίτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 25°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
6	1.3±0.5	40.7	0.3	0.1	0.36	24.4
13	4.4±0.6	13.1	0.3	0.2	0.48	9.1
30						
31	3.0					
42	3.0±0.9	30.1	0.8	0.6	0.79	26.8
53	3.1±2.3	76.5	5.4	5.3	0.97	75.3
68	1.9±0.9	46.9	0.8	0.6	0.79	41.6
74	1.3±0.6	45.2	0.3	0.2	0.51	32.4
82	3.9±0.7	16.5	0.4	0.3	0.60	12.8
94	4.8±0.6	13.0	0.4	0.2	0.57	9.8

\* ΧΛΒ, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος στο κάθε στάδιο ανάπτυξης, ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 22. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για την Χλωροφύλλη των ανεκτικών οικογενειών για την πρώτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 18°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
7	24.6±3	10.8	7.1	3.3	0.47	7.4
10	29.9±3	9.3	7.7	3.9	0.51	6.6
15	28.8±2	6.3	3.3			
16	33.2±3	9.1	9.2	5.4	0.59	7.0
24	27.0±3	9.8	7.0	3.2	0.46	6.6
29	29.4±3	10.8	10.1	6.3	0.62	8.5
33	29.7±2	8.2	6.0	2.2	0.36	5.0
40	26.5±7	27.3	52.2	48.4	0.93	26.3
41	28.5±3	9.9	8.0	4.2	0.53	7.2
50	30.9±2	7.2	5.0	1.2	0.23	3.5
54	27.6±4	13.5	13.9	10.1	0.73	11.5
56	28.3±4	14.0	15.7	11.9	0.76	12.2
65	28.7±4	12.8	13.5	9.7	0.72	10.9
70	29.5±2	6.3	3.5			
72	24.5±4	14.7	12.9	9.1	0.71	12.3
76	29.8±3	9.7	8.3	4.5	0.54	7.1
81	23.2±4	16.8	15.2	11.4	0.75	14.5
87	31.4±4	12.2	14.6	10.8	0.74	10.5
91	23.5±3	12.6	8.7	4.9	0.56	9.4
98	31.7±3	9.8	9.7	5.9	0.61	7.7

\*Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD, ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2=\sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV=(\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 23. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για την Χλωροφύλλη των ευαίσθητων οικογενειών για την πρώτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 18°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
6	27.9±2	8.9	6.1	2.3	0.38	5.5
13	32.9±3	8.6	8.0	4.2	0.52	6.2
30	27.3±2	5.9	2.6			
31	37.6±4	11.5	18.6	14.7	0.80	10.2
42	25.4±3	11.2	8.1	4.3	0.53	8.2
53	28.7±4	14.8	18.0	14.2	0.79	13.1
68	24.3±2	8.1	3.8	0.0	0.00	0.5
74	25.3±2	7.9	4.0	0.2	0.05	1.7
82	28.8±2	8.3	5.8	2.0	0.34	4.9
94	27.0±2	7.9	4.6	0.8	0.18	3.3

\*Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD, ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 24. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για την Χλωροφύλλη των ανεκτικών οικογενειών για την δεύτερη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 10°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
7	21.1±5	25.1	28.1	24.5	0.87	23.4
10	22.3±2	10.1	5.1	1.4	0.28	5.3
15	24.4±2	6.3	2.4			
16	23.1±2	6.4	2.2			
24	22.0					
29	22.8±2	8.7	4.0	0.3	0.08	2.5
33	21.8±2	9.2	4.0	0.4	0.09	2.8
40	22.6±2	8.2	3.4			
41	18.3±2	11.9	4.7	1.1	0.23	5.7
50	22.4±5	21.8	23.8	20.1	0.85	20.0
54	22.8±2	6.5	2.2			
56	20.5±3	13.5	7.7	4.1	0.53	9.8
65	22.9±2	9.9	5.1	1.5	0.29	5.3
70	21.8±3	13.5	8.7	5.0	0.58	10.3
72	21.4±2	9.8	4.4	0.8	0.17	4.1
76	21.4±3	13.3	8.0	4.4	0.55	9.8
81	18.6±3	17.2	10.1	6.5	0.64	13.7
87	23.6±3	12.4	8.6	4.9	0.57	9.4
91	20.6±2	11.8	5.9	2.3	0.39	7.3
98	25.4±3	11.3	8.2	4.6	0.56	8.4

\*Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD, ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / ΜΟ$ .

**Πίνακας 25. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για την Χλωροφύλλη των ευαίσθητων οικογενειών για την δεύτερη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 10°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_P$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
6	20.1±4	18.3	13.4	9.7	0.73	15.6
13	20.4±2	10.8	4.8	1.2	0.25	5.4
30	20.7±3	15.7	10.6	6.9	0.66	12.7
31	22.6					
42	15.7±2	15.3	5.8	2.1	0.37	9.3
53	16.5±2	13.6	5.0	1.3	0.27	7.1
68	16.9±2	12.9	4.8	1.1	0.23	6.2
74	19.9±2	12.2	5.9	2.2	0.38	7.5
82	23.2±3	12.0	7.8	4.1	0.53	8.8
94	17.9±3	13.9	6.2	2.6	0.41	8.9

\*Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD, ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_P$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_P$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 26. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για την Χλωροφύλλη των ανεκτικών οικογενειών για την τρίτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 25°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_p$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
7	19.4±2	11.1	4.7	3.8	0.82	10.1
10	24.1±2	7.6	3.4	2.5	0.74	6.6
15	24.7±1	0.8				
16	21.2±2	8.2	3.0	2.1	0.71	6.9
24						
29	24.5±6	23.4	32.8	31.9	0.97	23.0
33	22.3±2	10.2	5.2	4.3	0.83	9.3
40	25.3±1	3.7	0.9	0.01	0.03	0.6
41	20.3±1	6.8	1.9	1.0	0.54	4.9
50	26.0±2	8.3	4.7	3.8	0.81	7.5
54	22.2±1	5.1	1.3	0.4	0.32	2.9
56	21.6±1	4.4	0.9	0.1	0.06	1.1
65	23.9±3	11.2	7.2	6.3	0.88	10.5
70	22.2±2	8.3	3.4	2.5	0.74	7.1
72	17.8±3	16.8	9.0	8.1	0.90	16.0
76	21.5±1	1.9	0.2			
81	19.9±1	5.8	1.3	0.5	0.35	3.4
87	24.3±1	3.1	0.6			
91	24.2±2	6.0	2.1	1.2	0.59	4.6
98	21.0±1	3.4	0.5			

\*Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD, ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_p$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_p$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / ΜΟ$ .



**Πίνακας 27. Μέσοι όροι και γενετικές παράμετροι για την Χλωροφύλλη των ευαίσθητων οικογενειών για την τρίτη περίοδο ανάπτυξης ( θάλαμος ανάπτυξης, 25°C και φωτοπερίοδο 16 ώρες ημέρα και 8 ώρες νύχτα).**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *	ΜΟ	CV (%)	$\sigma^2_p$	$\sigma^2_g$	$h^2$	GCV (%)
6	21.0±3	13.6	8.1	7.2	0.89	12.8
13	22.6±2	7.2	2.7	1.8	0.68	5.9
30						
31	23.9					
42	19.1±2	9.7	3.4	2.5	0.75	8.4
53	17.2±3	18.4	9.9	9.1	0.91	17.5
68	17.4±2	9.4	2.7	1.8	0.68	7.7
74	19.2±3	17.3	11.0	10.2	0.92	16.6
82	20.7±3	15.9	10.8	10.0	0.92	15.3
94	20.3±1	2.3	0.2			

\*Χλωροφύλλη, έμμεσος προσδιορισμός σε τιμές SPAD, ΜΟ=μέσος όρος, CV=συντελεστής παραλλακτικότητας,  $\sigma^2_p$ =φαινοτυπική διακύμανση,  $\sigma^2_g$ =γενετική διακύμανση,  $h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_p$  και  $GCV = (\sigma^2_g)^{1/2} / MO$ .

**Πίνακας 28. Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης της βλαστικής ικανότητας των ανεκτικών οικογενειών σε συνθήκες καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών με το COLD TEST.**

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ	R1	R2	ΣΥΝΟΛΙΚΑ
	( % )*		
7	100.0	80.0	90.0
10	50.0	80.0	65.0
15	50.0	80.0	65.0
16	70.0	100.0	85.0
24	50.0	50.0	50.0
29	70.0	60.0	65.0
33	60.0	70.0	65.0
40	60.0	50.0	55.0
41	100.0	90.0	95.0
50			
54	90.0	80.0	85.0
56	100.0	60.0	80.0
65	80.0	80.0	80.0
70	60.0	30.0	45.0
72	100.0	100.0	100.0
76	50.0	80.0	65.0
81	90.0	100.0	95.0
87	70.0	60.0	65.0
91	100.0	70.0	85.0
98	100.0	100.0	100.0
Μέσος όρος			76.0

\* Ποσοστό % των σπόρων που βλάστησαν.

**Πίνακας 29. Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης της βλαστικής ικανότητας των ευαίσθητων οικογενειών των καθαρών σειρών και των πληθυσμών σε συνθήκες καταπόνησης χαμηλών θερμοκρασιών με το COLD TEST.**

	R1	R2	ΣΥΝΟΛΙΚΑ
	( % )*		
<b><u>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ</u></b>			
6	60.0	60.0	60.0
13	70.0	70.0	70.0
30	20.0	10.0	15.0
31	0.0	0.0	0.0
42	80.0	60.0	70.0
53	50.0	10.0	30.0
68	60.0	60.0	60.0
74	50.0	60.0	55.0
82	60.0	60.0	60.0
94	50.0	30.0	40.0
Μέσος όρος			46.0
<b><u>ΚΑΘ. ΣΕΙΡΕΣ</u></b>			
Γ-236	50.0	60.0	55.0
L-2	10.0	30.0	20.0
<b><u>ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ</u></b>			
C1	100.0	60.0	80.0
C0	10.0	20.0	15.0

\*Ποσοστό % των σπόρων που βλάστησαν, Γ-236 η ανεκτική καθαρή σειρά,  
L-2 η ευαίσθητη καθαρή σειρά.

## **Β. ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Πίνακας 1α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-1. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενότυποι	Ζεύγη βάσεων							
	200	300	500	600	900	1000	1200	1300
Ανεκτ.								
7(α)	+	+	+				+	
7(β)		+		+			+	+
10(α)	+	+	+	+			+	
10(β)	+	+	+	+			+	
15(α)	+	+			+		+	
15(β)	+	+		+			+	
16(α)		+		+			+	
16(β)		+		+			+	
24(α)	+	+	+	+			+	+
24(β)		+	+	+			+	
29(α)		+		+	+		+	
29(β)	+	+	+	+			+	
33(α)				+			+	
33(β)		+		+			+	
40(α)		+		+			+	
40(β)	+	+		+	+		+	
41(α)		+	+	+			+	
41(β)		+	+	+			+	
50(α)	+	+		+			+	
50(β)	+	+		+	+		+	
54(α)		+					+	
54(β)		+		+			+	
56(α)	+	+		+			+	
56(β)	+	+		+	+		+	
65(α)		+	+	+			+	
65(β)								
70(α)	+			+				
70(β)	+	+		+			+	
72(α)	+	+	+	+		+	+	+
72(β)		+		+			+	
76(α)								
76(β)	+	+		+		+	+	+
81(α)	+	+		+				
81(β)	+			+			+	+
87(α)	+	+	+	+		+	+	
87(β)	+			+		+	+	
91(α)	+	+		+			+	
91(β)		+		+				
98(α)		+		+				
98(β)		+		+			+	+
Γ-236	+			+			+	+
C1(α)	+	+		+			+	
C1(β)	+	+					+	
Αρ. Ζων.	24/4	36/43	11/43	37/43	5/43	4/43	37/43	7/43
Ποσοστό (%)	56.0	84.0	25.0	86.0	12.0	9.0	86.0	16.0

Πίνακας 1β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-1. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων							
	200	300	500	600	900	1000	1200	1300
Ευαίσθ.								
6(α)	+			+	+		+	
6(β)	+			+		+	+	
13(α)	+	+		+	+	+	+	
13(β)				+			+	+
30(α)	+			+			+	
30(β)	+	+		+			+	
31(α)		+		+			+	
31(β)		+		+	+		+	+
42(α)				+			+	
42(β)		+	+	+		+	+	+
53(α)		+		+			+	
53(β)		+		+			+	
68(α)		+		+			+	
68(β)	+	+		+			+	
74(α)		+		+			+	
74(β)								
82(α)		+	+				+	
82(β)		+	+		+		+	
94(α)		+		+			+	
94(β)		+		+			+	
L-2		+		+			+	
CO(α)		+		+			+	
CO(β)		+		+				
Αρ. Ζων.	6/23	17/23	3/23	20/23	4/23	3/23	21/23	3/23
Ποσοστό (%)	26.0	75.0	13.0	87.0	17.0	13.0	91.0	13.0

Πίνακας 2α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-2. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων							
	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
Ανεκτ.								
7(α)		+				+	+	+
7(β)	+	+				+	+	+
10(α)	+	+				+	+	+
10(β)	+	+				+	+	+
15(α)		+				+		+
15(β)	+	+		+		+	+	+
16(α)	+	+		+			+	+
16(β)	+	+		+			+	+
24(α)	+	+				+	+	+
24(β)	+	+				+		
29(α)	+	+	+			+		+
29(β)		+	+			+		+
33(α)		+				+	+	+
33(β)		+		+		+	+	
40(α)				+		+	+	+
40(β)	+			+		+	+	+
41(α)		+				+	+	+
41(β)		+				+	+	+
50(α)		+					+	
50(β)	+	+					+	+
54(α)		+		+		+	+	+
54(β)					+	+	+	+
56(α)						+		+
56(β)								+
65(α)	+	+		+			+	+
65(β)		+		+			+	+
70(α)	+	+	+			+	+	
70(β)		+				+	+	+
72(α)		+			+	+	+	+
72(β)	+	+					+	
76(α)	+	+						
76(β)	+	+				+	+	
81(α)		+		+		+		
81(β)		+	+			+	+	+
87(α)								
87(β)						+		+
91(α)		+						+
91(β)		+			+		+	+
98(α)	+	+				+		+
98(β)	+	+				+	+	+
Γ-236	+	+		+		+	+	+
C1(α)	+	+	+			+	+	+
C1(β)		+				+	+	+
Αρ. Ζων.	19/43	36/43	5/43	11/43	3/43	30/43	31/43	34/43
Ποσοστό (%)	44.0	84.0	12.0	26.0	7.0	70.0	72.0	80.0

Πίνακας 2β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-2. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων							
	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
Ευαίσθ.								
6(α)		+	+				+	+
6(β)		+					+	+
13(α)				+				
13(β)				+			+	+
30(α)						+	+	
30(β)								
31(α)	+	+	+	+				+
31(β)		+		+				+
42(α)						+		
42(β)	+						+	+
53(α)		+		+				+
53(β)		+						+
68(α)		+		+			+	
68(β)		+	+				+	+
74(α)		+		+		+		
74(β)			+			+		
82(α)					+			
82(β)		+			+			
94(α)						+	+	+
94(β)		+				+		
L-2		+			+			
CO(α)					+			+
CO(β)					+			
Αρ. Ζων.	2/23	12/23	4/23	7/23	5/23	6/23	8/23	11/23
Ποσοστό (%)	9.0	52.0	17.0	30.0	22.0	26.0	35.0	48.0



Πίνακας 3α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-3. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων			
	400	700	900	1000
Ανεκτ.				
7(α)	+	+	+	+
7(β)			+	+
10(α)	+		+	+
10(β)	+	+	+	+
15(α)		+	+	+
15(β)	+	+	+	+
16(α)	+	+	+	+
16(β)	+	+	+	+
24(α)		+	+	
24(β)		+	+	
29(α)	+		+	
29(β)			+	
33(α)				
33(β)	+		+	+
40(α)	+		+	+
40(β)	+		+	+
41(α)	+	+	+	
41(β)		+	+	
50(α)			+	
50(β)	+	+		
54(α)		+		
54(β)			+	
56(α)	+		+	
56(β)	+	+	+	
65(α)	+		+	+
65(β)			+	+
70(α)	+	+	+	+
70(β)		+	+	+
72(α)		+	+	+
72(β)	+	+	+	+
76(α)	+		+	+
76(β)	+		+	
81(α)				+
81(β)	+	+	+	
87(α)	+	+		+
87(β)	+	+		+
91(α)	+		+	+
91(β)			+	
98(α)			+	+
98(β)	+		+	+
Γ-236	+	+	+	+
C1(α)	+	+	+	
C1(β)	+	+		
Αρ. Ζων.	27/43	23/43	36/43	24/43
Ποσοστό (%)	63.0	53.0	84.0	56.0

Πίνακας 3β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-3. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων			
	400	700	900	1000
Ευαίσθ.				
6(α)		+		
6(β)		+		
13(α)		+		
13(β)				
30(α)			+	
30(β)			+	+
31(α)	+		+	
31(β)				
42(α)			+	+
42(β)	+			+
53(α)	+	+	+	
53(β)			+	
68(α)	+		+	+
68(β)			+	+
74(α)	+		+	
74(β)			+	+
82(α)			+	
82(β)	+		+	+
94(α)		+	+	
94(β)		+		
L-2	+			+
CO(α)		+		
CO(β)				+
Αρ. Ζων.	6/23	7/23	13/23	9/23
Ποσοστό (%)	26.0	30.0	56.0	39.0

Πίνακας 4α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-4. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων					
	600	700	900	1000	1400	1500
Ανεκτ.						
7(α)	+	+	+		+	+
7(β)		+	+	+	+	+
10(α)		+	+	+	+	+
10(β)	+			+	+	+
15(α)	+		+			
15(β)	+		+	+	+	
16(α)	+	+	+	+		+
16(β)	+	+	+		+	+
24(α)	+		+	+	+	+
24(β)	+	+	+	+	+	
29(α)	+		+	+		+
29(β)					+	+
33(α)	+	+	+		+	
33(β)	+	+	+	+	+	+
40(α)	+	+		+		+
40(β)	+	+	+	+		+
41(α)	+			+	+	
41(β)	+		+	+	+	+
50(α)	+	+	+	+		+
50(β)		+		+		+
54(α)		+			+	
54(β)	+			+	+	+
56(α)	+	+	+	+		+
56(β)	+			+		+
65(α)	+		+		+	
65(β)	+	+	+			
70(α)	+	+				+
70(β)	+	+		+		+
72(α)		+	+	+	+	+
72(β)		+	+	+	+	
76(α)	+		+		+	
76(β)	+	+	+		+	+
81(α)	+	+		+	+	+
81(β)	+		+		+	+
87(α)	+			+	+	
87(β)			+		+	
91(α)	+	+	+	+	+	+
91(β)					+	
98(α)	+			+	+	+
98(β)	+	+	+	+	+	+
Γ-236			+			+
C1(α)	+	+	+	+	+	+
C1(β)		+	+		+	
Αρ. Ζων.	29/43	25/43	29/43	27/43	30/43	28/43
Ποσοστό (%)	67.0	58.0	67.0	63.0	70.0	65.0

Πίνακας 4β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-4. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων					
	600	700	900	1000	1400	1500
Ευαίσθ.						
6(α)	+	+	+	+	+	+
6(β)	+	+	+	+	+	+
13(α)		+	+			
13(β)	+	+	+	+		+
30(α)	+	+		+	+	+
30(β)	+		+		+	+
31(α)					+	+
31(β)	+	+		+	+	+
42(α)	+	+	+	+	+	+
42(β)	+		+		+	+
53(α)				+		+
53(β)		+			+	+
68(α)	+	+	+	+	+	
68(β)		+		+	+	+
74(α)	+	+	+			+
74(β)		+	+		+	+
82(α)		+	+			
82(β)		+		+	+	+
94(α)	+		+	+	+	+
94(β)	+	+		+		+
L-2	+		+			+
CO(α)	+	+	+	+		
CO(β)		+				
Αρ. Ζων.	14/23	17/23	14/23	13/23	14/23	17/23
Ποσοστό (%)	61.0	74.0	61.0	57.0	61.0	74.0

Πίνακας 5α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-5. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων										
	200	400	500	700	800	900	1000	1100	1200	1500	2000
Ανεκτ.											
7(α)	+	+									+
7(β)	+					+				+	+
10(α)	+				+	+	+	+		+	+
10(β)	+				+	+	+				+
15(α)	+		+		+	+	+				+
15(β)	+						+	+		+	+
16(α)	+	+	+			+	+			+	+
16(β)	+	+	+			+	+	+	+	+	+
24(α)	+		+			+	+		+	+	
24(β)	+	+					+		+	+	
29(α)	+						+	+		+	
29(β)				+			+			+	
33(α)	+		+	+			+				
33(β)	+		+		+	+		+		+	+
40(α)	+				+	+				+	+
40(β)	+	+	+		+	+				+	+
41(α)	+				+	+			+	+	
41(β)	+					+			+	+	
50(α)	+	+				+				+	
50(β)				+	+	+	+	+	+		
54(α)	+	+			+	+			+		
54(β)										+	
56(α)		+	+				+	+		+	
56(β)	+								+	+	
65(α)	+		+	+	+	+		+		+	+
65(β)	+		+		+	+	+				+
70(α)	+						+		+		+
70(β)	+								+		
72(α)									+	+	
72(β)	+								+	+	
76(α)	+		+			+		+		+	+
76(β)	+	+	+	+	+		+	+		+	
81(α)	+	+		+							+
81(β)	+					+		+	+		
87(α)	+			+			+	+	+		+
87(β)	+		+		+			+	+		+
91(α)	+	+	+	+		+	+	+		+	
91(β)		+		+			+			+	
98(α)		+	+	+		+					+
98(β)	+	+			+	+		+			
Γ-236	+				+			+	+		+
C1(α)	+				+			+	+	+	
C1(β)	+				+			+	+		
Αρ. Ζων.	36/43	14/43	15/43	10/43	17/43	22/43	19/43	18/43	18/43	26/43	19/43
Ποσοστό (%)	84.0	33.0	35.0	23.0	40.0	51.0	44.0	42.0	42.0	60.0	44.0

Πίνακας 5β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-5. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων										
	200	400	500	700	800	900	1000	1100	1200	1500	2000
Ευαίσθ.											
6(α)	+				+		+		+	+	
6(β)	+				+		+		+	+	
13(α)	+				+						+
13(β)	+			+				+			
30(α)	+			+	+	+		+			
30(β)	+				+					+	+
31(α)			+						+	+	
31(β)	+	+	+			+	+				
42(α)	+	+			+	+	+		+		+
42(β)	+			+	+				+		
53(α)	+							+		+	
53(β)		+			+	+			+	+	
68(α)	+						+	+	+		+
68(β)	+	+		+		+		+	+	+	
74(α)	+		+							+	
74(β)		+			+			+	+	+	
82(α)			+				+				-
82(β)	+				+				+		
94(α)	+		+		+		+		+		+
94(β)	+	+			+			+			-
L-2	+	+			+		+			+	
CO(α)	+				+		+			+	
CO(β)	+							+		+	
Αρ. Ζων.	19/23	7/23	5/23	4/23	14/23	5/23	10/23	8/23	11/23	12/23	7/23
Ποσοστό (%)	83.0	30.0	22.0	17.0	61.0	22.0	43.0	35.0	48.0	52.0	30.0

Πίνακας 6α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-6. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων									
	300	400	500	600	700	800	1000	1100	1200	1600
Ανεκτ.										
7(α)	+			+	+			+	+	
7(β)	+					+	+	+		+
10(α)	+				+		+	+	+	
10(β)	+								+	
15(α)	+	+		+			+	+	+	
15(β)	+					+				+
16(α)	+		+	+	+			+	+	
16(β)	+					+	+	+		+
24(α)	+				+		+	+	+	
24(β)	+								+	
29(α)	+			+			+	+	+	
29(β)	+					+				+
33(α)	+	+	+	+				+		
33(β)		+	+	+	+			+	+	
40(α)		+	+			+	+	+		+
40(β)	+		+		+		+	+	+	
41(α)			+						+	
41(β)				+			+	+	+	
50(α)	+		+			+				+
50(β)	+		+	+				+		
54(α)	+		+	+		+		+	+	
54(β)	+	+	+	+		+		+	+	
56(α)		+	+	+						+
56(β)										
65(α)	+	+		+	+		+			
65(β)										
70(α)										
70(β)	+		+		+	+				
72(α)	+	+	+	+	+	+		+		+
72(β)	+		+	+				+		
76(α)			+				+		+	
76(β)	+	+	+	+	+			+	+	
81(α)		+	+			+	+	+		+
81(β)										
87(α)		+	+	+			+			
87(β)		+	+	+			+			
91(α)	+	+		+			+			+
91(β)	+	+		+	+		+	+		+
98(α)		+					+	+	+	+
98(β)		+		+			+		+	
Γ-236	+	+		+			+			
C1(α)	+	+		+	+		+			
C1(β)		+	+	+			+			
Αρ. Ζων.	25/43	20/43	20/43	24/43	12/43	11/43	21/43	21/43	18/43	12/43
Ποσοστό (%)	58.0	47.0	47.0	56.0	28.0	26.0	49.0	49.0	42.0	28.0

Πίνακας 6β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-6. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων									
	300	400	500	600	700	800	1000	1100	1200	1600
Ευαίσθ.										
6(α)			+		+					+
6(β)			+	+	+	+	+	+		+
13(α)	+				+	+	+	+		
13(β)	+		+		+	+	+		+	
30(α)	+		+	+		+	+		+	
30(β)										+
31(α)									+	+
31(β)	+									
42(α)				+	+	+				
42(β)	+	+	+		+					
53(α)					+	+				+
53(β)	+	+	+			+		+		
68(α)					+	+		+		+
68(β)	+	+			+					
74(α)	+	+	+					+		+
74(β)	+					+		+		
82(α)									+	+
82(β)			+			+			+	+
94(α)	+	+			+		+			+
94(β)				+	+					
L-2			+		+	+				+
CO(α)		+	+			+	+			+
CO(β)							+			
Αρ. Ζων.	10/23	6/23	10/23	4/23	12/23	12/23	7/23	6/23	5/23	12/23
Ποσοστό (%)	43.0	26.0	43.0	17.0	52.0	52.0	30.0	26.0	22.0	52.0



Πίνακας 7α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-7. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων								
	500	600	700	800	900	1000	1100	1200	1300
Ανεκτ.									
7(α)	+	+	+			+	+		+
7(β)				+		+		+	+
10(α)	+		+	+		+			+
10(β)			+	+		+	+		
15(α)		+			+	+	+		+
15(β)	+	+		+		+	+		
16(α)		+		+			+		
16(β)		+		+			+		
24(α)	+	+	+	+			+	+	
24(β)	+	+	+	+					
29(α)		+			+		+		
29(β)	+	+	+	+			+		
33(α)							+	+	+
33(β)				+			+	+	
40(α)		+	+			+		+	
40(β)	+	+			+		+		
41(α)			+	+			+	+	
41(β)			+				+		
50(α)		+		+					
50(β)	+	+		+	+		+		+
54(α)		+					+		
54(β)		+					+	+	
56(α)	+	+							+
56(β)	+			+	+				
65(α)		+	+	+			+		+
65(β)									
70(α)	+								+
70(β)		+		+					
72(α)	+		+	+		+	+	+	+
72(β)		+		+	+		+		
76(α)					+				
76(β)	+	+		+	+	+		+	
81(α)	+	+			+				
81(β)					+		+	+	
87(α)		+	+		+	+	+		
87(β)	+					+	+		
91(α)	+	+	+	+					
91(β)		+		+					+
98(α)		+		+					+
98(β)		+		+			+	+	+
Γ-236	+			+			+	+	
C1(α)	+	+		+			+		
C1(β)	+	+					+		
Αρ. Ζων.	19/43	28/43	13/43	25/43	11/43	11/43	26/43	12/43	13/43
Ποσοστό (%)	44.0	65.0	30.0	58.0	26.0	26.0	60.0	28.0	30.0

Πίνακας 7β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-7. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων								
	500	600	700	800	900	1000	1100	1200	1300
Ευαίσθ.									
6(α)	+			+	+				
6(β)	+			+		+	+		
13(α)	+	+		+	+	+	+		
13(β)								+	+
30(α)	+						+		
30(β)	+	+					+		
31(α)		+		+			+		
31(β)		+		+	+		+	+	+
42(α)	+	+	+	+	+	+			
42(β)		+	+	+		+			
53(α)				+					
53(β)									
68(α)	+	+	+	+					
68(β)	+			+			+	+	+
74(α)				+			+		
74(β)		+	+					+	+
82(α)		+	+				+		
82(β)		+	+		+				
94(α)		+		+					
94(β)		+		+			+		
L-2	+	+	+	+	+	+			
CO(α)		+		+				+	
CO(β)		+		+					+
Αρ. Ζων.	9/23	15/23	7/23	16/23	6/23	5/23	10/23	5/23	5/23
Ποσοστό (%)	39.0	65.0	30.0	70.0	26.0	22.0	43.0	22.0	22.0

Πίνακας 8α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-10. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων					
	650	800	1000	1100	1300	1500
Ανεκτ.						
7(α)	+	+	+	+		+
7(β)		+	+	+		+
10(α)			+	+		+
10(β)	+			+		+
15(α)	+		+		+	+
15(β)	+			+		+
16(α)	+			+		
16(β)				+		
24(α)	+	+	+	+		
24(β)	+	+	+	+		
29(α)	+		+			
29(β)				+		
33(α)	+	+	+			
33(β)		+		+		
40(α)	+	+	+	+		
40(β)	+				+	
41(α)	+	+		+		
41(β)	+					
50(α)				+		
50(β)	+		+	+	+	
54(α)	+	+	+	+		
54(β)		+				
56(α)			+			
56(β)				+	+	
65(α)	+	+	+	+	+	
65(β)						
70(α)		+	+	+		
70(β)				+		
72(α)			+	+		
72(β)	+			+	+	
76(α)					+	
76(β)			+	+	+	+
81(α)			+		+	
81(β)	+	+	+	+		+
87(α)	+	+			+	+
87(β)	+					+
91(α)	+	+	+			
91(β)		+		+		
98(α)		+		+		
98(β)			+			
Γ-236	+			+		
CI(α)	+	+		+		
CI(β)	+	+				
Αρ. Ζων.	24/43	19/43	22/43	27/43	10/43	10/43
Ποσοστό (%)	56.0	44.0	51.0	63.0	23.0	23.0

Πίνακας 8β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-10. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων					
	650	800	1000	1100	1300	1500
Ευαίσθ.						
6(α)	+			+	+	
6(β)	+		+	+		+
13(α)	+	+	+	+	+	+
13(β)						
30(α)		+		+		
30(β)	+					
31(α)						
31(β)					+	
42(α)	+		+		+	+
42(β)		+	+		+	+
53(α)					+	
53(β)						
68(α)	+		+	+		
68(β)	+				+	
74(α)		+	+	+		+
74(β)		+	+			
82(α)		+	+			
82(β)			+		+	
94(α)				+		
94(β)				+		
L-2	+	+	+		+	+
CO(α)		+		+		
CO(β)		+		+		
Αρ. Ζων.	8/23	9/23	10/23	10/23	9/23	6/23
Ποσοστό (%)	35.0	39.0	43.0	43.0	39.0	26.0

Πίνακας 9α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-16. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων						
	400	900	1000	1100	1300	2100	2300
Ανεκτ.							
7(α)	+			+	+		+
7(β)	+		+		+	+	
10(α)	+		+	+		+	
10(β)				+			
15(α)							
15(β)	+	+	+				
16(α)				+			+
16(β)				+			+
24(α)	+	+	+				
24(β)	+		+				+
29(α)	+		+		+		
29(β)	+						
33(α)	+			+			+
33(β)	+		+		+	+	
40(α)	+						
40(β)	+						
41(α)	+				+		+
41(β)	+	+	+	+	+	+	
50(α)	+	+	+	+		+	
50(β)				+			
54(α)							
54(β)	+	+	+				
56(α)				+			+
56(β)				+			+
65(α)	+	+	+				
65(β)	+		+				+
70(α)	+		+		+		
70(β)	+	+		+	+		+
72(α)	+		+	+	+	+	
72(β)	+		+	+		+	
76(α)				+			
76(β)							
81(α)	+		+	+			
81(β)				+			+
87(α)				+			+
87(β)	+	+	+				
91(α)	+	+	+				+
91(β)	+	+	+		+		
98(α)	+	+		+			
98(β)	+			+			+
Γ-236	+	+	+	+	+	+	
C1(α)	+			+			
C1(β)	+	+		+			
Αρ. Ζων.	31/43	14/43	22/43	23/43	10/43	8/43	14/43
Ποσοστό (%)	72.0	33.0	51.0	53.0	23.0	18.0	33.0

Πίνακας 9β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-16. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων						
	400	900	1000	1100	1300	2100	2300
Ευαίσθ.							
6(α)		+	+			+	
6(β)	+						
13(α)			+	+			+
13(β)			+				+
30(α)	+						
30(β)	+	+		+	+		
31(α)	+			+	+	+	+
31(β)	+	+					+
42(α)	+						
42(β)	+			+	+		
53(α)		+	+				
53(β)							
68(α)	+						
68(β)		+		+			
74(α)	+		+			+	+
74(β)				+	+		+
82(α)	+				+		
82(β)	+	+		+	+		
94(α)							
94(β)					+		
L-2		+	+		+		
CO(α)	+						+
CO(β)	+		+	+			
Αρ. Ζων.	13/23	7/23	7/23	8/23	8/23	3/23	7/23
Ποσοστό (%)	57.0	30.0	30.0	35.0	35.0	13.0	30.0

Πίνακας 10α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-17. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων								
	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1300
Ανεκτ.									
7(α)		+	+	+	+	+	+	+	+
7(β)		+	+	+	+	+	+	+	+
10(α)		+	+	+		+	+		
10(β)	+	+	+	+					
15(α)			+		+	+	+		
15(β)		+	+	+	+	+	+	+	+
16(α)		+	+	+		+	+	+	+
16(β)		+	+				+		
24(α)		+	+		+		+		
24(β)									
29(α)	+			+					
29(β)	+		+	+		+	+	+	
33(α)						+	+		
33(β)									
40(α)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40(β)	+	+	+	+	+	+	+		+
41(α)		+	+	+	+	+	+		+
41(β)	+	+	+	+	+	+	+		
50(α)				+	+	+	+		
50(β)	+			+			+	+	+
54(α)	+	+	+				+	+	+
54(β)			+	+	+	+	+		
56(α)			+	+	+	+	+	+	+
56(β)			+			+	+	+	+
65(α)	+	+	+					+	+
65(β)									
70(α)					+				
70(β)	+	+	+	+			+	+	+
72(α)		+	+	+	+	+	+	+	+
72(β)		+				+	+	+	+
76(α)	+	+	+	+	+		+		
76(β)		+						+	
81(α)		+	+					+	+
81(β)	+		+		+				
87(α)			+	+	+	+	+		
87(β)			+					+	+
91(α)							+	+	
91(β)	+	+	+						
98(α)			+		+		+		
98(β)		+	+		+	+	+	+	+
Γ-236	+	+	+	+	+		+	+	+
C1(α)	+		+	+		+	+	+	
C1(β)			+	+					
Αρ. Ζων.	15/43	23/43	32/43	23/43	20/43	21/43	30/43	21/43	19/43
Ποσοστό (%)	35.0	53.0	74.0	53.0	47.0	49.0	70.0	49.0	44.0

Πίνακας 10β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-17. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων								
	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1300
Ευαίσθ.									
6(α)	+	+	+	+	+			+	+
6(β)		+	+	+		+	+		
13(α)		+	+	+		+	+	+	+
13(β)		+	+	+	+	+	+	+	+
30(α)		+	+			+	+	+	+
30(β)		+	+			+	+	+	
31(α)			+		+	+	+	+	
31(β)			+	+		+	+		
42(α)	+	+	+	+		+	+		+
42(β)			+	+		+	+		+
53(α)		+	+	+		+	+		
53(β)		+			+				
68(α)		+	+	+		+	+	+	+
68(β)	+	+	+					+	+
74(α)			+						
74(β)			+	+		+			+
82(α)			+	+		+		+	+
82(β)									
94(α)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
94(β)			+	+			+		
L-2		+	+						
CO(α)	+							+	
CO(β)	+		+					+	
Αρ. Ζων.	6/23	13/23	20/23	13/23	5/23	14/23	13/23	12/23	11/23
Ποσοστό (%)	26.0	57.0	87.0	57.0	22.0	61.0	57.0	52.0	48.0



Πίνακας 11α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-19. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων				
	800	1300	1400	1500	2000
Ανεκτ.					
7(α)	+	+	+	+	+
7(β)				+	
10(α)		+	+		
10(β)					
15(α)					
15(β)	+	+	+		+
16(α)			+	+	
16(β)					
24(α)			+		
24(β)					
29(α)					
29(β)		+		+	
33(α)			+		
33(β)					
40(α)	+		+	+	+
40(β)			+		
41(α)		+			+
41(β)	+		+		
50(α)		+	+		
50(β)				+	+
54(α)			+	+	+
54(β)		+			
56(α)			+	+	+
56(β)		+		+	+
65(α)				+	
65(β)					
70(α)	+				
70(β)			+	+	
72(α)	+	+		+	+
72(β)		+		+	+
76(α)	+		+		
76(β)		+		+	
81(α)		+	+	+	+
81(β)	+		+		
87(α)	+		+		
87(β)					+
91(α)		+	+	+	
91(β)					
98(α)	+		+		
98(β)	+	+		+	+
Γ-236	+		+	+	
C1(α)		+	+	+	
C1(β)					
Αρ. Ζων.	12/43	15/43	21/43	19/43	13/43
Ποσοστό (%)	28.0	35.0	49.0	44.0	30.0

Πίνακας 11β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-19. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων				
	800	1300	1400	1500	2000
Ευαίσθ.					
6(α)					
6(β)	+		+		
13(α)			+	+	
13(β)			+	+	
30(α)					
30(β)				+	
31(α)	+		+		+
31(β)					
42(α)			+		+
42(β)				+	+
53(α)			+		
53(β)		+			
68(α)			+	+	+
68(β)					+
74(α)			+		+
74(β)				+	
82(α)			+	+	
82(β)					
94(α)	+	+	+	+	
94(β)				+	
L-2			+		+
CO(α)		+			
CO(β)			+		+
Αρ. Ζων.	3/23	3/23	13/23	10/23	8/23
Ποσοστό (%)	13.0	13.0	57.0	43.0	35.0

Πίνακας 12α. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-20. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης.

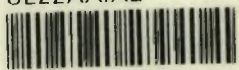
Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων							
	700	800	900	1000	1200	1500	1800	2000
Ανεκτ.								
7(α)	+	+	+			+	+	
7(β)		+	+				+	+
10(α)	+	+	+					
10(β)		+	+			+		+
15(α)	+	+	+			+		+
15(β)	+	+		+		+		+
16(α)		+		+			+	+
16(β)		+		+				
24(α)		+	+			+		
24(β)	+	+	+			+		
29(α)		+	+					
29(β)		+				+		
33(α)			+			+	+	
33(β)	+		+	+				+
40(α)	+		+	+		+		
40(β)	+		+	+		+		
41(α)	+	+	+			+		+
41(β)	+	+	+			+		+
50(α)		+						+
50(β)		+					+	+
54(α)		+	+	+		+	+	+
54(β)			+		+	+	+	
56(α)	+		+			+		
56(β)								
65(α)		+		+			+	+
65(β)				+			+	+
70(α)	+	+	+			+	+	+
70(β)	+	+	+				+	+
72(α)		+			+	+	+	+
72(β)		+					+	+
76(α)								+
76(β)	+		+			+	+	+
81(α)	+		+	+				+
81(β)	+		+				+	+
87(α)								
87(β)	+		+					
91(α)								+
91(β)					+		+	+
98(α)	+	+	+			+		+
98(β)		+	+				+	+
Γ-236	+	+	+	+		+	+	+
C1(α)		+	+			+	+	+
C1(β)	+	+				+	+	+
Αρ. Ζων.	19/43	28/43	23/43	10/43	3/43	22/43	20/43	28/43
Ποσοστό (%)	44.0	65.0	53.0	23.0	7.0	51.0	47.0	65.0

Πίνακας 12β. Πρότυπο των προϊόντων ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης για τον εκκινητή OPB-20. Το σύμβολο (+) επισημαίνει την παρουσία ζώνης

Γενό- τυποι	Ζεύγη βάσεων							
	700	800	900	1000	1200	1500	1800	2000
Ευαίσθ.								
6(α)	+	+	+				+	+
6(β)	+	+	+		+		+	+
13(α)				+				
13(β)	+		+	+			+	
30(α)			+			+	+	
30(β)								
31(α)	+	+		+				+
31(β)	+	+		+				+
42(α)						+		
42(β)	+		+				+	
53(α)	+	+		+				+
53(β)	+	+			+			+
68(α)								
68(β)	+	+	+				+	+
74(α)		+		+	+	+		+
74(β)						+		
82(α)								
82(β)		+			+			+
94(α)	+		+			+	+	
94(β)		+			+	+		+
L-2		+						+
CO(α)	+							
CO(β)								
Αρ. Ζων.	11/23	11/23	7/23	6/23	5/23	6/23	7/23	11/23
Ποσοστό (%)	49.0	49.0	30.0	26.0	22.0	26.0	30.0	49.0



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000072411