

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών μεταξύ του Τμήματος
Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος και του Τμήματος
Γεωπονίας Ζωικής Παραγωγής και Υδάτινου Περιβάλλοντος

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΚΑΤΕΒΑ ΓΕΩΡΓΙΑ



**«Αξιολόγηση ανευπλοειδών και διαπλοειδών σειρών βαμβακιού στον
αγρό και γενετική ανάλυση με χρήση μοριακών δεικτών τύπου
RAPD»**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ : Α.ΜΑΥΡΟΜΑΤΗΣ

ΒΟΛΟΣ 2006



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

Αριθ. Εισ.: 3619/1
Ημερ. Εισ.: 26-03-2008
Δωρεά: Συγγραφέα
Ταξιθετικός Κωδικός: Δ
633.518
ΚΑΤ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών μεταξύ του Τμήματος
Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος και του Τμήματος
Γεωπονίας Ζωικής Παραγωγής και Υδάτινου Περιβάλλοντος

«Αξιολόγηση ανευπλοειδών και διαπλοειδών σειρών βαμβακιού στον αγρό και
γενετική ανάλυση με χρήση μοριακών δεικτών τύπου RAPD»

ΚΑΤΕΒΑ ΓΕΩΡΓΙΑ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Α.Μαυρομάτης (Επιβλέπων)

Λέκτορας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Δ.Ρουπακιάς (Μέλος)

Καθηγητής της Σχολής Γεωπονίας του Α.Π.Θ.

Α.Χά (Μέλος)

Επίκουρος Καθηγητής της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ θερμά τον Λέκτορα της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Αθανάσιο Μαυρομάτη, επιβλέποντα στην πτυχιακή μου διατριβή, για την ανάθεση αυτού του θέματος και την εμπιστοσύνη που έδειξε προς το πρόσωπό μου καθώς και για τις χρήσιμες υποδείξεις του.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Δημήτριο Ρουπακιά, Καθηγητή της Σχολής Γεωπονίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, για τις εύστοχες υποδείξεις και διορθώσεις κατά τη συγγραφή της παρούσης μεταπτυχιακής διατριβής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω το μέλος της επιτροπής κ. Αβραάμ Χά, Επίκουρο Καθηγητή της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την πολύ καλή συνεργασία και την πολύτιμη βοήθειά του στην συγγραφή της εργασίας.

Θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω τον κ. Κορκόβελο Αθανάσιο για την ενδιαφέρουσα συνεργασία που είχα μαζί του κατά τη διάρκεια της μεταπτυχιακής μου διατριβής, και κυρίως για τη βοήθεια και τη μετάδοση της γνώσης του πάνω στο αντικείμενο των μοριακών τεχνικών.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Σπύρο Σουϊπα, Υπεύθυνο του Αγροκτήματος, για την προσοχή που έδειξε στο πείραμα μου στον αγρό και τη βοήθεια και τις γνώσεις που μου έδωσε για τις κατάλληλες καλλιεργητικές φροντίδες των φυτών.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα παιδιά του εργαστηρίου για την πολύ καλή συνεργασία που είχαμε μεταξύ μας, όπως και τον υποψήφιο διδάκτωρ της Σχολής Γεωπονίας του Α.Π.Θ. κ. Δημήτρη Βλαχοστέργιο για τη βοήθεια του κατά τη διάρκεια της στατιστικής επεξεργασίας των δεδομένων του πειράματος.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω βαθύτατα την οικογένεια μου για την οικονομική και ψυχολογική υποστήριξη που μου έδωσαν, καθώς και τους φίλους μου για την αμέριστη συμπαράστασή τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	3
2.1. ΓΕΝΙΚΑ.....	3
2.2. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΟΥ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ.....	4
2.3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ.....	6
2.4. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΕΙΔΩΝ.....	7
2.5. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΟΥ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ.....	9
2.5.1. Απόδοση σε ίνα.....	9
2.5.2. Χαρακτηριστικά ποιότητας των ινών.....	10
2.6. Η ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΣΤΟ ΒΑΜΒΑΚΙ.....	18
2.6.1. Σκοποί της βελτίωσης φυτών.....	18
2.6.2. Μέθοδοι βελτίωσης του βαμβακιού.....	19
2.7. ΥΒΡΙΔΙΑ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ.....	21
2.7.1. Γενικά.....	21
2.7.2. Ενδοειδικά υβρίδια βαμβακιού <i>G. hirsutum</i>	22
2.7.3. Διειδικά υβρίδια βαμβακιού (<i>G. hirsutum</i> x <i>G. barbadense</i>).....	23
2.7.4. Μερικώς διειδικά υβρίδια βαμβακιού.....	25
2.8. ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ.....	27
2.8.1. Τύποι μοριακών δεικτών.....	27
2.8.2. Επιλογή τεχνικής μοριακών δεικτών.....	34
2.8.3. Κατασκευή γενετικών χαρτών.....	36
2.8.4. Χαρτογράφηση πληθυσμών.....	37
2.8.5. Υπολογισμός των ανασυνδυαζόμενων τμημάτων.....	39
2.8.6. Προσδιορισμός τόπων ποσοτικών γνωρισμάτων (QTLs).....	40
2.9. ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ.....	41
2.10. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	46

3.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	47
3.1. ΤΡΙΠΛΟ ΔΙΚΤΥΩΤΟ.....	47
3.1.1. Γενετικό υλικό.....	47
3.1.2. Εγκατάσταση του πειράματος.....	48
3.1.3. Πειραματικό Σχέδιο.....	49
3.1.4. Λήψη παρατηρήσεων στον αγρό.....	51
3.1.5. Μετρήσεις των χαρακτηριστικών ποιότητας της ίνας.....	52
3.1.6. Στατιστική ανάλυση.....	52
3.2. ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΑΓΡΟΥ ΓΙΑ ΕΛΕΓΧΟ ΑΤΟΜΙΚΑ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΑΡΡΕΝΟΣΤΕΙΡΩΝ ΦΥΤΩΝ.....	53
3.2.1. Γενετικό υλικό.....	53
3.2.2. Εγκατάσταση του πειράματος.....	54
3.2.3. Λήψη παρατηρήσεων στον αγρό.....	55
3.3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΓΕΝΟΤΥΠΩΝ ΜΕ ΤΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ.....	56
3.3.1. Δείγματα φύλλων.....	56
3.3.2. Απομόνωση DNA.....	56
3.3.3. Ποσοτικός προσδιορισμός DNA.....	56
3.3.4. Ανάλυση κατά RAPD.....	57
3.3.5. Μοριακή στατιστική ανάλυση.....	58
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	59
4.1. ΤΡΙΠΛΟ ΔΙΚΤΥΩΤΟ.....	59
4.1.1. Εκτίμηση της φυτρωτικής ικανότητας.....	59
4.1.2. Εκτίμηση της πρωιμότητας.....	60
4.1.3. Εκτίμηση του ύψους.....	63
4.1.4. Εκτίμηση της απόδοσης.....	65
4.1.5. Εκτίμηση των χαρακτηριστικών ποιότητας της ίνας.....	67
4.1.6. Μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών.....	73
4.1.6.1. Μελέτη των χαρακτηριστικών του άνθους.....	73
4.1.6.2. Μελέτη των χαρακτηριστικών των φύλλων.....	76
4.1.7. Εκτίμηση της ομοιομορφίας.....	78
4.2. ΑΤΟΜΙΚΑ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΡΡΕΝΟΣΤΕΙΡΑ ΦΥΤΑ.....	80
4.2.1. Εκτίμηση της φυτρωτικής ικανότητας.....	80

4.2.2. Εκτίμηση της πρωιμότητας.....	81
4.2.3. Εκτίμηση του ύψους.....	83
4.2.4. Εκτίμηση της απόδοσης.....	85
4.2.5. Μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών.....	86
4.2.5.1. Μελέτη των χαρακτηριστικών του άνθους.....	86
4.2.5.2. Μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών του φύλλου.....	88
4.2.6. Έλεγχος άνθησης και καρπόδεσης.....	90
4.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ.....	91
5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	98
6.ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	101
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	104

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το βαμβάκι (*Gossypium spp.*) είναι η κύρια καλλιέργεια στον κόσμο που καλλιεργείται για την ίνας της, αλλά είναι και μια σημαντική καλλιέργεια παραγωγής λαδιού. Η ποιότητα της ίνας του, μπορεί να αποδοθεί σε μια ομάδα χαρακτηριστικών τα οποία επηρεάζουν την συμπεριφορά του κατά την εκκόκκιση. Ανάμεσα σε αυτά, το μήκος της ίνας, η αντοχή και η λεπτότητα-ωριμότητα είναι τα βασικά χαρακτηριστικά της ποιότητας που επηρεάζουν την υφαντουργία.

Τα δύο κύρια καλλιεργούμενα είδη βαμβακιού είναι το *G.hirsutum* και το *G.barbadense*. Το είδος *G.hirsutum* δίνει μεγάλες αποδόσεις και συμβάλλει κατά 90% στην παραγόμενη ίνα. Το κύριο μειονέκτημά του όμως είναι η σχετικά χαμηλή ποιότητα ίνας, συγκρινόμενη με την υψηλή ποιότητα ίνας του είδους *G.barbadense*. Η ανώτερη ποιότητα ίνας του βαμβακιού του είδους *G.barbadense* του δίνει ένα σημαντικό πλεονέκτημα στην τιμή, αλλά αποτελεί μόνο ένα μικρό μερίδιο της καλλιέργειας βαμβακιού, λόγω της χαμηλής του απόδοσης και της μικρής του προσαρμοστικότητας σε πολλές περιοχές. Έτσι οι βελτιωτές στράφηκαν στη δημιουργία διειδικών υβριδίων *G.hirsutum* x *G.barbadense*, ώστε να βελτιώσουν την ποιότητα της ίνας, ενώ συγχρόνως να διατηρήσουν την υψηλή απόδοση των βαμβακιών του είδους *G.hirsutum*. Τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά καθώς παρατηρήθηκε αύξηση της απόδοσης σε σχέση με τους γονείς, ενώ η ίνα ήταν γενικά παρόμοια με την ίνα του *G.barbadense* γονέα.

Θα ήταν δυνατό να δημιουργήσουμε καθαρές σειρές βαμβακιού, που να έχουν τα πλεονεκτήματα και των δύο ειδών, εάν με κάποιο τρόπο αντιμετωπίσαμε τον γενετικό εκφυλισμό που παρατηρείται στην F_2 και στις επόμενες γενεές των διειδικών υβριδίων βαμβακιού. Αυτό θα μπορούσε να γίνει ίσως με την παραγωγή σταθερών μερικώς διειδικών σειρών βαμβακιού. Μερικώς διειδικά υβρίδια, σύμφωνα με τους Manromatis και Rourakias (1994), είναι διειδικά υβριδικά φυτά που φέρουν σε ομόλογη κατάσταση μέρος των χρωμοσωμάτων ή χρωμοσωμικά τμήματα από το ένα είδος και τα υπόλοιπα από το άλλο είδος. Οι Manromatis *et al.* (2005) δημιούργησαν μερικώς διειδικά υβρίδια βαμβακιού, προκαλώντας *in vivo* παρθενογένεση, με την επικονίαση διειδικών υβριδίων βαμβακιού με γύρη από το *Hibiscus cannabinus*. Ο αριθμός των χρωμοσωμάτων της πρώτης γενεάς κυμαινόταν από 27 έως 42, ενώ ο αριθμός τους αυξανόταν από γενεά σε γενεά. Επομένως, θα μπορούσαν να

επιλεχθούν μερικώς διειδικά υβριδικά φυτά με 52 χρωμοσώματα, τα οποία συνδυάζουν την υψηλή απόδοση του *G.hirsutum* και την ανώτερη ποιότητα ίνας του είδους *G.barbadense*.

Τα τελευταία χρόνια η σημαντική πρόοδος στον τομέα της μοριακής βιολογίας έχει επιφέρει επανάσταση στην γενετική και στη βελτίωση των φυτών. Για παράδειγμα, η χρήση των μοριακών DNA δεικτών στην επιλογή, δίνει μεγάλες υποσχέσεις για την ταχύτερη βελτίωση των καλλιεργειών, συμπεριλαμβανομένου και του βαμβακιού. Επίσης, οι μοριακοί γενετικοί δείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη ατόμων ή πληθυσμών προκειμένου να εκτιμηθεί η γενετική παραλλακτικότητα και η γενετική συγγένεια εντός και μεταξύ των πληθυσμών.

Σκοπός της εργασίας ήταν η αξιολόγηση του παραγωγικού δυναμικού 20 οικογενειών μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού, σε συνδυασμό με τα χαρακτηριστικά ποιότητας της ίνας του. Συγκεκριμένα, εκτιμήθηκε η γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ και εντός των οικογενειών, με βάση μορφολογικούς δείκτες, καθώς και η ομοιομορφία των σειρών και η ομοιότητα με τους μητρικούς γενοτύπους, ως έκφραση γενοτυπικής σταθερότητας. Επιπλέον, με τη βοήθεια μοριακής γενετικής ανάλυσης με δείκτες τύπου RAPD, εκτιμήθηκε η γενετική συγγένεια μεταξύ των εξεταζόμενων οικογενειών μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού, με τάση να αξιοποιηθούν (πρώιμη επιλογή και χρήση σε προγράμματα αναδιασταυρώσεων). Τέλος, έγινε έλεγχος των ημιγόνιμων και άγονων γενοτύπων για την κατανόηση και απόδοση της συμπεριφοράς τους σε παράγοντες αρρενοστεριότητας, σε κυτογενετικές αλλαγές ή σε αλληλεπιδράσεις με το περιβάλλον.

2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

2.1. ΓΕΝΙΚΑ

Το βαμβάκι είναι κλωστικό φυτό μεγάλης οικονομικής σημασίας παγκοσμίως και ως αγροτικό προϊόν απασχολεί μεγάλο μέρος της μεταποιητικής βιομηχανίας. Η καλλιέργεια του βαμβακιού απαντάται σήμερα σε μια ζώνη η οποία εκτείνεται από τον 45° Β.Π. μέχρι τον 32° Ν.Π., κυρίως όμως εντοπίζεται στις τροπικές περιοχές. Οι κυριότερες χώρες παραγωγής είναι η Κίνα, οι Η.Π.Α, η Ινδία, το Πακιστάν, το Ουζμπεκιστάν, η Τουρκία και η Αυστραλία. Στην Ευρώπη καλλιεργείται κυρίως στην Ελλάδα και στην Ισπανία και σε μικρές εκτάσεις στη Γιουγκοσλαβία και στη Βουλγαρία (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002). Η έκταση του βαμβακιού έχει σταθεροποιηθεί τα τελευταία χρόνια παγκοσμίως στα 320-330 εκατομμύρια στρέμματα με συνολική παραγωγή 19 εκατομμύρια τόνους εκκοκκισμένου βαμβακιού (Εικ. 1).



Εικ.1. Γεωγραφική κατανομή των καλλιεργούμενων εκτάσεων με βαμβάκι

Η ιστορία του καλλιεργούμενου βαμβακιού ίσως είναι μία από τις πιο αξιοσημείωτες ιστορίες στα χρονικά της εξημέρωσης καλλιεργειών. Το πιο σημαντικό στοιχείο της ιστορίας αυτής είναι ότι είναι παγκόσμιας εμβέλειας, καθώς περιλαμβάνει παράλληλη εξημέρωση απομακρυσμένων και γεωγραφικά απομονωμένων άγριων προγόνων σε όλο τον κόσμο. Μάλιστα, το βαμβάκι είναι η μοναδική καλλιέργεια στην οποία εξημερώθηκαν ανεξάρτητα τέσσερα ξεχωριστά είδη (Brubaker *et al.*, 1999a; Brubaker and Wendel, 1994; Percy and Wendel, 1990;

Wendel, 1989; Wendel *et al.*, 1992; Wendel *et al.*, 1999). Αυτή η παράλληλη διαδικασία εξημέρωσης περιλαμβάνει δύο είδη από την Αμερική (*G.hirsutum* και *G.barbadense*) και δύο είδη από την Αφρική και την Ασία (*G.arboreum* και *G.herbaceum*).

Καθένα από τα τέσσερα αυτά είδη *Gossypium*, έχει την δική του ιστορία εξημέρωσης, την δική του ποικιλομορφία και χρησιμοποίηση. Παρόλο που όλα τα είδη διασκορπίστηκαν μακριά από τον τόπο καταγωγής τους τις τελευταίες χιλιετίες, το *G.hirsutum* έχει κυριαρχήσει στο εμπόριο παγκοσμίως, εκτοπίζοντας σημαντικά τα άλλα τρία είδη. Το *Gossypium hirsutum* είναι υπεύθυνο για το 90% της ετήσιας παγκόσμιας παραγωγής βαμβακιού, καθώς έχει εξαπλωθεί σε παραπάνω από 50 χώρες σε όλο τον κόσμο (Wendel and Cronn, 2003).

Το κύριο προϊόν για το οποίο καλλιεργείται το βαμβάκι είναι οι ίνες του. Οι σπόροι του, αποτελούν σημαντική πηγή λαδιού και για την ανθρώπινη κατανάλωση αλλά και για τη βιομηχανία. Η βαμβακόπιτα αποτελεί άριστη τροφή για τα βοοειδή ενώ τα περιβλήματα των σπόρων μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως χονδροειδής τροφή. Τέλος τα υποπροϊόντα του εκκοκκιστηρίου (κοντές ίνες - linters) χρησιμοποιούνται για το γέμισμα στρωμάτων, για την παραγωγή φαρμακευτικού βαμβακιού, φιλμ και άλλων προϊόντων (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002).

2.2. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΟΥ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ

Πολλές ενδείξεις, παλιές και νέες, μαρτυρούν πως η Ινδία είναι η χώρα καταγωγής του βαμβακιού. Η χώρα αυτή με τον πανάρχαιο πολιτισμό της, είναι η μόνη που καλλιέργησε βαμβάκι πριν από τουλάχιστον πέντε χιλιάδες χρόνια. Σ' ένα πανάρχαιο θρησκευτικό βιβλίο των Ινδών που υποθέτουν πως γράφτηκε 1.500 περίπου χρόνια π.Χ. γίνεται λόγος για νήματα στον αργαλειό. Λόγος για βαμβάκι γίνεται επίσης και σε άλλο νεώτερο ιερό βιβλίο των Ινδών που γράφτηκε 800 περίπου χρόνια π.Χ. Ο Ηρόδοτος, ο πατέρας της ιστορίας, γύρω στο 445 π.Χ. έγραψε: «Στην Ινδία φυτρώνουν άγρια δένδρα που παράγουν μαλλί πιο ωραίο και πιο εκλεκτό από το μαλλί του προβάτου και από τα δέντρα αυτά οι Ινδοί εξασφαλίζουν τα ρούχα τους». Ανασκαφές στην κοιλάδα του Ινδού ποταμού αποκάλυψαν λείψανα υφάσματος και σκοινιά από βαμβάκι. Το βαμβάκι που καλλιεργούσαν ανήκει στο είδος *Gossypium arboreum*, δηλαδή το δενδρώδες βαμβάκι, που καλλιεργείται και

σήμερα στην Ινδία. Και άλλοι αρχαίοι συγγραφείς όπως ο Αριστόβουλος, ο Αρριανός, και ο Θεόφραστος αναφέρουν για το βαμβάκι της Ινδίας.

Εντελώς ανεξάρτητα από την Ινδία, αναπτύχθηκε η καλλιέργεια του βαμβακιού στην Κεντρική και Νότια Αμερική. Ο Κολόμβος στο πρώτο του ταξίδι στο Νέο κόσμο αναφέρει ότι στο πρώτο νησί του συμπλέγματος Μπαχάμες, οι ιθαγενείς τους έδωσαν μαζί με άλλα δώρα και κουβάρια από βαμβακερό νήμα. Όταν το 1519 ο κατακτητής Κορτέζ κατέλαβε το Μεξικό, βρήκε τους ιθαγενείς να χρησιμοποιούν βαμβακερά υφάσματα. Το ίδιο παρατήρησε ο Μαγγελάνος στη Βραζιλία και ο Πιζάρο στα 1530 στο Περού. Σε ανασκαφές στο Περού, βρέθηκαν επίσης βαμβακερά υφάσματα που πρέπει να έγιναν 2.500 περίπου χρόνια π.Χ., ενώ στο Μεξικό βρήκαν υπολείμματα βαμβακιού που ανήκουν στο είδος *Gossypium hirsutum* και ανάγονται, όπως αποδείχτηκε με τη χρήση ραδιενεργού άνθρακα C₁₄ στο 5.800 π.Χ. Έτσι και η Αμερική είναι χώρα που καλλιέργησε το βαμβάκι και το χρησιμοποίησε πριν από χιλιάδες χρόνια. Για πολύ καιρό πίστευαν πως το βαμβάκι καλλιεργούνταν στην Αίγυπτο από πολύ παλιά (4.000 π.Χ.), γιατί επικρατούσε η γνώμη ότι οι μούμιες είχαν βαμβακερά περιβλήματα. Στην περίφημη πέτρα Rosseta (196 περίπου π.Χ.), που είναι γραμμένα σε τρεις γλώσσες και έγινε αφορμή να διαβαστούν τα ιερογλυφικά, μερικοί Αιγυπτιολόγοι έχουν τη γνώμη πως αναφέρεται και το βαμβάκι. Περιγραφή βαμβακιού που υπήρχε στην Αίγυπτο έκανε ο Πλίνιος το 77 π.Χ. και ο Πολυδεύκης 100 χρόνια μετά από τον Πλίνιο. Βαμβακερά υφάσματα ήταν γνωστά στην Αίγυπτο από το 500 π.Χ., όπως προκύπτει από τη μαρτυρία του Ηρόδοτου, αλλά στοίχιζαν πανάκριβα και είτε έρχονταν από άλλες χώρες ή γίνονταν στην Αίγυπτο από ξένο βαμβάκι.

Στην Ελλάδα το βαμβάκι αναφέρεται για πρώτη φορά το 2ο μ.Χ. αιώνα από τον Πausανία με το όνομα "βύσσος". Ο Πausανίας που ταξίδεψε σε όλη την Ελλάδα, το 174 περίπου μ.Χ. αναφέρει ότι στην Ηλεία καλλιεργούσαν τη βύσσο που αναπτύσσεται μόνο εδώ και σε κανένα άλλο μέρος της Ελλάδας, και από αυτή έκαναν μαντήλια για το κεφάλι και φορέματα. Η χρήση του βαμβακιού, όπως αργότερα και η καλλιέργεια του φυτού, φαίνεται ότι διαδόθηκαν από τη Συρία και την Κύπρο και στις χώρες αυτές από την Περσία. Από την Ελλάδα το φυτό διαδόθηκε και στη Νότια Ιταλία. Παλιά έγγραφα αναφέρουν (1.050 μ.Χ.) ότι στην περιοχή του Μπάρι οι ιερείς μίσθωναν τα χωράφια μιας εκκλησίας σε βαμβακοκαλλιεργητές. Ο Μέγας Αλέξανδρος δημιούργησε εμπορικούς δρόμους, από τους οποίους πήγαιναν και τα προϊόντα του βαμβακιού, μεταξύ Ανατολής και Δύσης. Στην Κίνα βαμβακερά

υφάσματα αναφέρονταν για πρώτη φορά το 502 μ.Χ. Επέκταση του βαμβακιού στην Κίνα έγινε μετά την κατάκτησή της από τους Μογγόλους το 1.280 μ.Χ. Στη χώρα αυτή, που έβγαζε μετάξι, ο πληθυσμός θεωρούσε το βαμβάκι σαν επικίνδυνο νεωτερισμό που έθιγε τις συνήθειες, τα δικαιώματα και τα συμφέροντά τους. Τέλος, όλες οι προλήψεις και οι αντιθέσεις κατορθώθηκε να υπερνικηθούν. Από το 1.300 μ.Χ. και μετά, το βαμβάκι διαδίδεται γρήγορα παντού και τα βαμβακερά υφάσματα χρησιμοποιούνται γενικά από όλους ([http/1](http://1)).

2.3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ

Το βαμβάκι ανήκει στο γένος *Gossypium*, της οικογένειας *Malvaceae*. Το γένος αυτό περιλαμβάνει περίπου 49 είδη, τα οποία είναι είτε διπλοειδή ($2n=2x=26$), είτε τετραπλοειδή ($2n=4x=52$). Τα διπλοειδή είδη, που είναι και τα περισσότερα, κατανέμονται κυρίως στην Αφρική, Ασία, Μεξικό και Αυστραλία. Δύο από τα διπλοειδή είδη εξημερώθηκαν από τον άνθρωπο και καλλιεργούνταν παλαιότερα σε μεγάλη έκταση (*G.arboreum* και *G.herbaceum*). Τα τετραπλοειδή είδη θεωρείται ότι προέρχονται από το Νέο Κόσμο, κυρίως το Μεξικό, το Περού, τη Βραζιλία, τη Χαβάη και τα νησιά Γκαλαπάγκος. Τα δύο καλλιεργούμενα τετραπλοειδή είδη είναι το *G.hirsutum* και το *G.barbadense* (Wendel and Cronn ,2003).

Τα περισσότερα από τα διπλοειδή είδη τοποθετήθηκαν σε μία από τις οχτώ γενωμικές ομάδες (Α-Κ), που βασίστηκαν σε κυτολογικές και ταξινομικές συγγένειες, ενώ τα αλλοτετραπλοειδή φέρουν δύο διαφορετικά γενώματα, το Α και το D. (Endrizzi *et al*, 1985). Οι Skovsted *et al*. (1937) παρατήρησαν ότι τα τετραπλοειδή βαμβάκια του Νέου Κόσμου είχαν 13 μεγάλα χρωμόσωμα με ένα μέσο μήκος 2,25-2,36 μm (Α γένωμα) και 13 μικρά με μέσο μήκος 1,25-1,45 μm (D γένωμα).

Πίνακας 1 : Γεωγραφική κατανομή των γενωμικών ομάδων βαμβακιού

Γενωμική ομάδα	Αριθμός ειδών	Γεωγραφική κατανομή
A	2	Αφρική, πιθανώς Ασία
B	3	Αφρική, νησιά Cape Verde
C	2	Αυστραλία
D	13	κυρίως Μεξικό, επίσης Περού, νησιά Γκαλαμπάγκος, Αριζόνα βοριοανατολική Αφρική, νοτιοδυτική Ασία, Αραβική χερσόνησος
E	7	ανατολική Αφρική
F	1	Αυστραλία
G	3	βοριοδυτική Αυστραλία
K	12	βοριοδυτική Αυστραλία

πηγή : Wendel and Cronn (2003)

2.4. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΕΙΔΩΝ

G. herbaceum L. Το ποώδες βαμβάκι είναι διπλοειδές είδος και έχει ύψος 1-1,5 μέτρα. Οι φυλλοφόροι βλαστοί είναι λίγοι ή δεν υπάρχουν καθόλου. Στους βλαστούς και τα νεαρά φύλλα υπάρχουν αραιές τρίχες. Τα φύλλα σχηματίζουν 3-5 λοβούς. Τα βράκτια φύλλα είναι οδοντωτά, μένουν πάντα ανοιχτά και δεν σκεπάζουν καθόλου το άνθος ή το καρύδι. Τα άνθη είναι σχετικώς μικρά, με κιτρινωπά πέταλα, που έχουν μικρή ερυθρή κηλίδα. Τα καρύδια είναι μικρά (2,5-3 cm), μάλλον σφαιρικά και καταλήγουν σε μύτη. Δεν ανοίγουν καλά κατά την ωρίμανση. Οι σπόροι καλύπτονται από μακριές και κοντές ίνες. Είναι είδος αυτοφυές στην Ινδία, το Πακιστάν και στην Αφρική. Σήμερα η καλλιέργεια του είδους αυτού έχει εκτοπιστεί από το είδος *G. hirsutum* λόγω της κοντής ίνας του, της μεγάλης ευπάθειας σε ασθένειες, της οψιμότητας και της χαμηλής απόδοσης (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002).

G. arboreum L. Είναι διπλοειδές είδος. Στο δενδρώδες βαμβάκι ανήκουν διάφοροι τύποι πολυετείς και ετήσιοι που φτάνουν σε ύψος μέχρι τα 2 μέτρα. Είναι το πρώτο καλλιεργούμενο είδος βαμβακιού και επικρατεί μεγάλη ανομοιομορφία. Τα φύλλα σχηματίζουν 5-7 λοβούς. Τα βράκτια φύλλα είναι μάλλον τριγωνικά, ακέραια ή καταλήγουν σε δόντια. Τα άνθη έχουν χρώμα κόκκινο, κίτρινο, λεμονί ή άσπρο, με ή χωρίς σκούρη κηλίδα στην βάση των πετάλων. Οι σπόροι φέρουν συνήθως μακριές ίνες και κοντό χνούδι. Βρίσκεται αυτοφυές στο Πακιστάν, την Ινδία και την Κεϋλάνη.

Καλλιεργείται σήμερα σε πολύ μικρή έκταση στην Ινδία (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002).

G.hirsutum L. Το χνοώδες βαμβάκι είναι αλλοπολυπλοειδές (τετραπλοειδές) και στο είδος αυτό ανήκουν όλα τα βαμβάκια τα γνωστά με το όνομα upland. Τα φυτά είναι μικροί ετήσιοι θάμνοι, με ύψος 1-1,5 μέτρα, με λίγους φυλλοφόρους βλαστούς, οι οποίοι παρουσιάζουν συνήθως συμποδιακή ανάπτυξη. Τα στελέχη έχουν χρώμα πράσινο ή καφετί και τα φύλλα σχίζονται σε 3-5 αβαθείς λοβούς που καταλήγουν σε



Εικ.2. *Gossypium hirsutum L.*

σημασία μεταξύ των καλλιεργούμενων ειδών βαμβακιού (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002).

G.barbadense L. Το βαρβαρικό βαμβάκι είναι τετραπλοειδές είδος, κατάγεται από τη Ν.Αμερική και αποτελείται από ξεχωριστούς τύπους πολυετείς ή ετήσιους. Οι πολυετείς τύποι έχουν κλάδους με συνήθως μονοποδιακή ανάπτυξη και γίνονται δέντρα ύψους 5-6 μέτρα. Η άνθηση του επηρεάζεται από τη διάρκεια της φωτοπερίοδου και συγκεκριμένα, χρειάζεται να υποστεί την επίδραση βραχείας



Εικ. 3 : *Gossypium barbadense* L.

φωτοπεριόδου για να μπει στο αναπαραγωγικό στάδιο. Καλλιεργείται κυρίως στο Περού, τη Βραζιλία και την Κολομβία.

Οι ετήσιοι καλλιεργούμενοι τύποι περιλαμβάνουν το αιγυπτιακό βαμβάκι και το Sea-Island. Έχουν ύψος 1-3 μέτρα, συμποδιακή ανάπτυξη με λίγους ή πολλούς μονοποδιακούς κλάδους, φύλλα με 3-5 λοβούς. Τα βράκτια φύλλα έχουν το ίδιο πλάτος και μήκος, τα άνθη είναι μεγάλα και τα πέταλα έχουν χρώμα κίτρινο. Τα καρύδια είναι σχετικά μικρά με πολλούς αδένες στην επιφάνειά τους και έχουν 3-4 χώρους με 5-8 σπόρους σε κάθε χώρο. Οι σπόροι καλύπτονται από πυκνό στρώμα ινών και συνήθως χνούδι. Υπάρχουν όμως και σπόροι με χνούδι μόνο στις δύο άκρες του σπόρου ή και χωρίς χνούδι.

Το αιγυπτιακό βαμβάκι (με μήκος ίνας μέχρι 40 mm) καλλιεργείται στην Αίγυπτο, στο Σουδάν, στο Τουρκεστάν και σε μερικές περιοχές των Η.Π.Α. Το Sea-Island παράγει την πιο εκλεκτή ποιότητα ίνας (λεπτές ίνες με μήκος μέχρι 60 mm) και τα καλύτερα αποτελέσματα δίνει το καλλιεργούμενο σε μερικά νησιά των Δυτικών Ινδιών και σε ορισμένες περιοχές της Αμερικής (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002).

2.5. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΟΥ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΙΝΑΣ

Τα δύο κύρια προϊόντα της βαμβακοκαλλιέργειας είναι οι ίνες και ο σπόρος. Η αξία των ινών είναι πολύ μεγαλύτερη από την αξία του σπόρου και για τον λόγο αυτό, η βελτιωτική προσπάθεια κατευθύνεται προς την αύξηση της απόδοσης σε ίνες και της ποιότητας αυτών.

2.5.1. Απόδοση σε ίνα

Η απόδοση σε ίνες καθορίζεται από την απόδοση σε σύσπορο βαμβάκι αλλά επίσης και από την επί τοις εκατό απόδοση του σύσπορου σε ίνες (αναλογία ινών).

α. Απόδοση σε σύσπορο

Εξαρτάται από το γενότυπο, τον πληθυσμό των φυτών, τον αριθμό των καρυδιών ανά φυτό και το βάρος των καρυδιών. Για την χώρα μας, που η βλαστική περίοδος είναι περιορισμένη, η πρωιμότητα αποτελεί σπουδαίο χαρακτηριστικό της απόδοσης και ο συσχετισμός πρωιμότητας με την απόδοση είναι θετικός. Επίσης οι πρώιμες ποικιλίες έχουν καλύτερη ποιότητα ινών γιατί η ωρίμανση και η συγκομιδή γίνονται κάτω από ευνοϊκές συνθήκες. Επειδή όμως η απόδοση γενικά συνδέεται με το μήκος του βιολογικού κύκλου του φυτού, για κάθε συγκεκριμένη περιοχή οι επιλεγόμενες ποικιλίες θα πρέπει να αξιοποιούν όλη την ευνοϊκή βλαστική περίοδο.

β. Αναλογία ινών

Εκφράζεται με το ποσοστό των ινών επί του βάρους του σύσπορου. Καθορίζεται από τον αριθμό των κυττάρων του σπόρου τα οποία εξελίσσονται σε ίνες και από το βάρος της ίνας. Το ποσοστό ινών δεν αποτελεί κριτήριο στρεμματικής απόδοσης. Κυμαίνεται από 32-42% στις ποικιλίες τύπου upland και 33-36% στις μακρόινες ποικιλίες (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002).

2.5.2.Χαρακτηριστικά ποιότητας των ινών

α. Μήκος και ομοιομορφία μήκους

Το μήκος των διαφόρων ειδών και ποικιλιών βαμβακιού κυμαίνεται από 16-50 mm και περισσότερο. Επειδή οι ίνες διαφοροποιούνται στο μήκος ανάλογα με τη θέση τους πάνω στον σπόρο, ως μήκος αναφέρεται το μέσο μήκος μια δέσμης ινών και όχι μεμονωμένης ίνας. Οι μακρύτερες ίνες δίνουν δυνατότερο και λεπτότερο νήμα.

Οι ποικιλίες διακρίνονται ανάλογα με το μήκος των ινών τους σε :

- i) μακρόινες, με μήκος ίνας πάνω από 32 mm
- ii) μεσομακρόινες, με μήκος ίνας από 28-32 mm
- iii) μεσόινες, με μήκος ίνας από 26,5-28 mm
- iv) κοντόινες, με μήκος ίνας κάτω από 26,5 mm ([http/1](#))

Το μήκος της ίνας είναι κυρίως γενετικό χαρακτηριστικό, επηρεάζεται όμως και από τις εδαφοκλιματικές συνθήκες και τη διαχείριση της καλλιέργειας, κυρίως κατά την πρώτη περίοδο που γίνεται η διαμόρφωση του μήκους της. Σημαντικοί παράγοντες είναι η υγρασία του εδάφους και η περιεκτικότητα σε κάλιο.

Μεγάλο ενδιαφέρον όμως παρουσιάζει και η ομοιομορφία του μήκους μιας δέσμης ινών, η οποία είναι ένδειξη για την περιεκτικότητα σε κοντές ίνες (μήκος <12,5 mm). Το ποσοστό των κοντών ινών αυξάνει τις απώλειες κατά την κλώση, επηρεάζει τα σπασίματα, το χνούδιασμα και τις ατέλειες του νήματος (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002). Όσο πιο ομοιόμορφες είναι οι ίνες τόσο το νήμα που γίνεται από αυτές, θα έχει μεγαλύτερη αντοχή και ομοιόμορφο χρωματισμό (Σφήκας Α.Γ. , 1984). Ο δείκτης ομοιομορφίας (UI) παρέχει μια σχετική μέτρηση της ομοιομορφίας του μήκους των ινών βαμβακιού. Η ομοιομορφία υπολογίζεται ως το ποσοστό του μέσου μήκους όλων των ινών προς το μέσο μήκος του 50% των πιο μακριών ινών του δείγματος. Υψηλοί βαθμοί ομοιομορφίας δείχνουν ομοιόμορφη κατανομή του μήκους των ινών και σχετίζονται με προϊόν υψηλής ποιότητας και με μικρή απώλεια ινών κατά την κλώση ([http/3](#)).

Πίνακας 2 : Γενική περιγραφή για την ομοιομορφία του μήκους ίνας

Δείκτης Ομοιομορφίας (UI)	Περιγραφικός Χαρακτηρισμός
Κάτω από 77	Πολύ χαμηλή
77 - 79	Χαμηλή
80 - 82	Μέση
83 - 85	Υψηλή
Πάνω από 85	Πολύ υψηλή

(Πηγή : www.cottonimproventlab.tamu.edu)

- Καθορισμός μήκους και ομοιομορφίας της ίνας

Το μήκος και η ομοιομορφία της ίνας προσδιορίζονται με τη βοήθεια του ειδικού οργάνου HVI (High Volume Instrument). Αρχικά είναι απαραίτητη η διαδικασία της βαθμονόμησης (calibration) της συσκευής, κατά την οποία μετρούνται πρότυπα δείγματα με γνωστό μήκος ιών, για τη σωστή λειτουργία της συσκευής.

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, ίνες από αντιπροσωπευτικά δείγματα βαμβακιού «πιάνονται» με ένα χτένι τυχαία σε κάποιο σημείο του μήκους τους, παραλληλίζονται και μετρώνται φωτοηλεκτρικά, σε διάφορα ποσοστά ιών, οι αποστάσεις που εξέχουν οι ίνες από το σημείο που έχουν πιαστεί. Συγκεκριμένα, παίρνουμε τις τιμές του μήκους του 2.5% (2.5% Span Length) που αποτελεί το ελάχιστο μήκος σε χιλιοστά που μπορεί να έχει το 2.5% των μακρύτερων ιών του δείγματος. Ακόμη, υπολογίζεται το μήκος του 50% (50% Span Length) που αποτελεί το ελάχιστο μήκος σε χιλιοστά που μπορεί να έχει το 50% των ιών του δείγματος. Ο λόγος του μήκους του 50% των ιών προς το μήκος του 2.5% αποτελεί την ομοιομορφία μήκους των ιών (Uniformity Ratio). Η τιμή του 2.5% αποτελεί και το μήκος (length) που μετράμε ουσιαστικά και που μας ενδιαφέρει.

β. Λεπτότητα-Ωριμότητα

Η λεπτότητα της ίνας σχετίζεται με την περίμετρο ή τη διάμετρο της και με το πάχος των τοιχωμάτων της. Οι μακρόινες ποικιλίες έχουν μικρότερη περίμετρο ιών με λεπτή υφή (Sea-Island, αιγυπτιακό βαμβάκι). Αν τα τοιχώματα της ίνας έχουν μικρό πάχος η ίνα γίνεται πεπλατυσμένη και δείχνει παχύτερη, ενώ με κανονική

πάχυνση των τοιχωμάτων παρουσιάζεται λεπτότερη. Για το λόγο αυτό η λεπτότητα της ίνας σχετίζεται με καλή ωρίμανση και μεγάλη αντοχή (Σφήκας Α.Γ., 1984).

Η ωριμότητα της ίνας αναφέρεται στο πάχος του δευτερογενούς τοιχώματος και επηρεάζει την κλωσιμότητα του βαμβακιού, την ομοιομορφία και την εμφάνιση του νήματος. Ίνες στις οποίες δεν έγινε πάχυνση των τοιχωμάτων (νεκρές ίνες) συντελούν στο σχηματισμό πολλών κόμπων (peps). Οι ίνες αυτές δεν πρέπει να ξεπερνούν το 10% του συνόλου των ινών. Σε βαμβάκια υψηλής ποιότητας, οι ίνες με πλήρη πάχυνση ξεπερνούν το 65%, οι δε υπόλοιπες έχουν πιο λεπτά τοιχώματα (Σφήκας Α.Γ., 1984).

Η λεπτότητα και η ωριμότητα μετρώνται έμμεσα με το ειδικό όργανο micronaire. Το micronaire εκφράζει κυρίως την ωριμότητα και κυμαίνεται από 3,5-5,0 ανάλογα με την ποικιλία και τις συνθήκες ανάπτυξης της ίνας. Στα λεπτόινα βαμβάκια το micronaire έχει μικρότερη τιμή σε σχέση με τα βαμβάκια που έχουν χονδρή ίνα (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002). Βαμβάκια με μικρή τιμή γενικά σχηματίζουν περισσότερους κόμπους. Τιμές κάτω από 3,5 συνήθως δείχνουν ανωριμότητα της ίνας. (Perkins *et al.*, 1984). Τιμές μεταξύ 3.5 και 4.9 είναι επιθυμητές και δείχνουν ώριμες, καλά αναπτυσσόμενες ίνες (http/3). Το χαρακτηριστικό αυτό ελέγχεται από πολλά γονίδια και εμφανίζει διακύμανση ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Schubert *et al.*, 1973).

Πίνακας 3 : Γενική περιγραφή για το micronaire

Κλίμακα Micronaire	Περιγραφικός Χαρακτηρισμός
Κάτω από 2.9	Πολύ λεπτό
2.9 - 3.7	Λεπτό
3.8 - 4.6	Μέσο
4.7 - 5.5	Ελαφρά αδρή
5.6 και άνω	"αδρή"

- Καθορισμός της τιμής του micronaire

Ο δείκτης micronaire χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της λεπτότητας σε συνδυασμό με την ωριμότητα και προσδιορίζεται με το όργανο MICRONAIRE SDL 019.

Η μέθοδος στηρίζεται στην αντίσταση μιας ορισμένης μάζας βαμβακιού στην διέλευση του αέρα. Τοποθετούνται 5 gr βαμβακιού μέσα στον μεταλλικό

σωλήνα και ο σωλήνας κλείνεται προσεκτικά και αεροστεγώς. Στη συνέχεια ρυθμίζεται κατάλληλα το υγρό που υπάρχει μέσα στους γυάλινους συγκοινωνούντες σωλήνες, οι οποίοι ρυθμίζουν την πίεση του αέρα, ώστε η στάθμη του ενός σωλήνα να μην ξεπερνάει ένα προκαθορισμένο όριο. Μετρώντας τη στάθμη του δεύτερου αριθμημένου σωλήνα προκύπτει η τιμή του οργάνου.

γ. Αντοχή-Επιμήκυνση

Η μέτρηση της αντοχής των ινών είναι σημαντική λόγω της στενής σχέσης μεταξύ αντοχής των ινών και αντοχής του νήματος. Επίσης, τα βαμβάκια με μεγάλη αντοχή είναι πιο ανθεκτικά στους έντονους μηχανικούς χειρισμούς (Perkins *et al.*, 1984).

Η αντοχή σχετίζεται με το βάρος της ίνας στη μονάδα του μήκους. Ο κυριότερος παράγοντας της αντοχής της ίνας είναι η κατασκευή των τοιχωμάτων της. Συνήθως εκφράζεται με το απαιτούμενο βάρος που απαιτείται για να σπάσει μια δέσμη ινών με δεδομένη επιφάνεια εγκάρσιας τομής (Σφήκας Α.Γ., 1984).

Οι μετρήσεις της αντοχής μπορούν να γίνουν σε μια μεμονωμένη ίνα ή σε δέσμη ινών. Αυτές που γίνονται σε δέσμη ινών είναι πιο πρακτικές για την έρευνα, το εμπόριο και τον έλεγχο της ποιότητας. Συνήθως χρησιμοποιείται για το σκοπό αυτό το όργανο Pressley (Perkins *et al.*, 1984). Οι συνήθεις τιμές κυμαίνονται μεταξύ 70-90 χιλιάδες λίβρες/τετραγωνική ίντσα. Τροποποιημένο όργανο είναι ο μετρητής Hertel (Stelometer) που μετρά αμέσως την αντοχή και την ελαστικότητα των ινών (Σφήκας Α.Γ., 1984). Μια άλλη μονάδα μέτρησης είναι το gr/tex. Μια μονάδα tex είναι ίση με βάρος σε gr ενός μέτρου ίνας. Έτσι, η αντοχή που παρατηρείται είναι ίση με τη δύναμη σε gr που απαιτείται για να σπάσει μια δέσμη ινών μιας μονάδας tex σε μέγεθος ([http/2](http://2)).

Πίνακας 4 : Γενική περιγραφή για την αντοχή των ινών.

Αντοχή HVI (grams per tex)	Περιγραφικός Χαρακτηρισμός
31 και άνω	Πολύ υψηλή
29 -3 0	Υψηλή
26 - 28	Μέση
24 - 25	Χαμηλή
23 και κάτω	Πολύ χαμηλή

(Πηγή : www.cottonic.com)

Επιμήκυνση είναι ο βαθμός της επέκτασης των ινών πριν εμφανιστεί ένα σπάσιμο κατά τη μέτρηση της αντοχής. Η επιμήκυνση μια δέσμης ινών συνδέεται με την επιμήκυνση του νήματος αλλά δεν έχει σημαντική επίδραση στην αντοχή του νήματος (http/3). Και τα δύο παραπάνω χαρακτηριστικά εξαρτώνται κυρίως από το γενότυπο και λιγότερο από το περιβάλλον.

Πίνακας 5 : Γενική περιγραφή για την επιμήκυνση των ινών

Επιμήκυνση Ίνας	Περιγραφικός Χαρακτηρισμός
4.9 και κάτω	Πολύ χαμηλή
5.0 - 5.8	Χαμηλή
5.9 - 6.7	Μέση
6.8 - 7.6	Υψηλή
7.7 και άνω	Πολύ υψηλή

(Πηγή : www.cottonimprovementlab.tamu.edu)

- **Καθορισμός της αντοχής της ίνας**

Η μέτρηση της αντοχής (strength) της ίνας του βαμβακιού γίνεται με τη συσκευή PRESSLEY SDL 019, η οποία υπολογίζει τον δείκτη Pressley.

Πριν την έναρξη της μέτρησης της αντοχής των υπό εξέταση δειγμάτων πρέπει να προηγηθεί η διαδικασία εξακρίβωσης της σωστής λειτουργία του οργάνου. Αυτό γίνεται με τη χρήση πρότυπου δείγματος βαμβακιού γνωστών τιμών των ποιοτικών χαρακτηριστικών. Από το δείγμα αυτό αποσπάται μικρή ποσότητα ινών. Η ποσότητα αυτή των ινών περνιέται κατ' επανάληψη από τη χτένα ώστε να προκύψει τελικά μια πολύ μικρότερη ποσότητα ινών, παράλληλων μεταξύ τους και ίσου περίπου μήκους, δηλαδή μια δέσμη ινών, η οποία στη συνέχεια τοποθετείται στις δύο εφαπτόμενες σιαγώνες, φροντίζοντας οι ίνες να είναι τεντωμένες. Αφού σφίχτούν οι σιαγώνες με τον τροφέα ώστε να πιάσουν σταθερά τη δέσμη των ινών, κόβεται με το μαχαίρι ό,τι περισσεύει από τη δέσμη έξω από τις σιαγώνες. Έτσι η δέσμη τώρα κρατάει ενωμένες τις σιαγώνες, οι οποίες στη συνέχεια τοποθετούνται στη συσκευή PRESSLEY. Ρυθμίζεται η συσκευή ώστε να βρίσκεται σε οριζόντια θέση και απελευθερώνεται η ασφάλεια. Ένα βάρος κυλάει πάνω στο βαθμονομημένο στέλεχος της συσκευής μέχρι να σπάσει η δέσμη ινών. Τότε το βάρος σταματάει να κυλάει και δίνει μια ένδειξη πάνω στο βαθμονομημένο στέλεχος. Κατόπιν ανοίγονται οι σιαγώνες, συλλέγονται οι σπασμένες πλέον ίνες με την τσιμπίδα και τις ζυγίζονται σε

ζυγό ακριβείας. Διαιρώντας την ένδειξη του Pressley για το δείγμα δια του βάρους του λαμβάνεται μια τιμή.

Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έξι φορές. Ο μέσος όρος των έξι αυτών τιμών διαιρείται με την τιμή του Pressley του δείγματος. Έτσι προκύπτει ο συντελεστής διόρθωσης που θα πρέπει να κυμαίνεται από 0,950-1,050. Από το κάθε δείγμα που μετριέται γίνονται τρεις μετρήσεις ακολουθώντας την διαδικασία που αναφέρεται παραπάνω.

Ο μέσος όρος των δειγμάτων αυτών πολλαπλασιάζεται με τον συντελεστή διόρθωσης και έτσι υπολογίζεται η τιμή Pressley από τον πίνακα. Τιμές αποδεκτές στην κλίμακα της συσκευής PRESSLEY- σπαστήρας για τον μάρτυρα είναι από 15,0-20,0 και για τα δείγματα από 14,5-20,9.

δ. Το χρώμα ινών

Το κανονικό χρώμα των ινών του βαμβακιού είναι το λευκό ή υποκίτρινο. Εάν παραμείνει όμως καιρό στον αγρό και δεχθεί βροχές καθώς και επίδραση μυκητολογικών και εντομολογικών προσβολών μπορεί να γίνει μέχρι γκρίζο, ενώ εάν κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης η υγρασία του σύσπορου είναι υψηλή και ανέβει η θερμοκρασία, το χρώμα γίνεται κίτρινο ή κηλιδωμένο. Υπάρχουν όμως και ποικιλίες με άλλες αποχρώσεις, όπως σταχτί, καστανό, κίτρινο, πρασινωπό, το χρώμα των οποίων οφείλεται σε ειδικά γονίδια (έγχρωμο βαμβάκι). Το χρώμα μπορεί να μετρηθεί αντικειμενικά με το HVI (High Volume Instrument) με τη χρήση χρωμομέτρου (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002).

ε. Ξένες ύλες

Οι ξένες ύλες είναι τμήματα του περισπερμίου, τεμάχια φύλλων, κομμάτια ζιζανίων, τμήματα του φλοιού των στελεχών κ.ά. Οι ξένες ύλες αποτελούν πρόβλημα όχι μόνο κατά την εκκόκκιση αλλά και τη νηματοποίηση, γιατί η διαδικασία του καθαρισμού σπάζει τις ίνες και έτσι αυξάνονται κατά πολύ οι απώλειες. Οι ξένες ύλες επηρεάζουν την ομοιομορφία και την εμφάνιση του νήματος και προωθούν τη δημιουργία κόμπων.

Αντικειμενικά οι ξένες ύλες μετριοούνται με το HVI. Βιντεομετρητές χρησιμοποιούνται για να καθοριστεί το ποσοστό της επιφάνειας που καλύπτεται από ξένα σωματίδια.

στ. Κόμποι (neps) και άγονα ωάρια (motes)

Οι κόμποι στις ίνες δημιουργούνται κυρίως κατά την εκκόκκιση και τον καθαρισμό του εκκοκκισμένου βαμβακιού όπως επίσης και κατά την κλώση. Μπορούν να δημιουργηθούν και κατά τη συγκομιδή, όταν το σύσπορο βαμβάκι έχει μεγάλη υγρασία. Επίσης σχετίζονται και με γενετικούς παράγοντες. Οι ανώριμες ίνες δημιουργούν περισσότερους κόμπους, υποβαθμίζουν την ποιότητα, δυσκολεύουν τη νηματοποίηση και τελικά επηρεάζουν την εμφάνιση και ομοιομορφία του νήματος.

Τα άγονα ωάρια ή αλλιώς «ψοφάκια» οφείλονται κυρίως σε γενετικούς παράγοντες, στις συνθήκες ανάπτυξης των φυτών και σε προσβολές από έντομα. Δημιουργούν τα ίδια προβλήματα με τους κόμπους (Παπακώστα-Τασοπούλου, 2002).

2.6. Η ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΣΤΟ ΒΑΜΒΑΚΙ

Το βαμβάκι θεωρείται αυτογονιμοποιούμενο φυτό, παρόλο που οι φυσικές διασταυρώσεις μπορεί να κυμαίνονται από 0-50%. Η γύρη του βαμβακιού είναι βαριά και κολλώδης και η μεταφορά της με τον άνεμο είναι σχεδόν μηδενική. Μεταφέρεται όμως με τα έντομα, κυρίως με τις μέλισσες και τους βομβίνους (Niles and Feaster, 1984).

2.6.1. Στόχοι στη βελτίωση του βαμβακιού

Οι βασικές επιδιώξεις στη βελτίωση του βαμβακιού είναι (Μαυρομάτης, 1996) :

- α) η αύξηση της απόδοσης
- β) η βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών της ίνας
- γ) η συγκεντρωμένη καρποφορία σε κοντόσωμα κυρίως φυτά
- δ) η πρωιμότητα της άνθησης και η ταυτόχρονη ωρίμανση, και
- ε) η αύξηση του δυναμικού των φυτών για καλύτερη αξιοποίηση των εδαφικών πόρων

Οι σύγχρονες όμως ποικιλίες θα πρέπει να συνδυάζουν και άλλα επιθυμητά χαρακτηριστικά, τα οποία συγχρονίζονται με τις απαιτήσεις των καιρών, τα σύγχρονα συστήματα εκμετάλλευσης και τις μελλοντικές ανάγκες και προοπτικές. Συγκεκριμένα, ο Μαυρομάτης (1996) αναφέρει ότι η σύγχρονη βελτιωτική πρακτική, εκτός των ήδη αναφερόμενων, στρέφεται και στα παρακάτω:

- στ) στη μείωση των εισροών
- ζ) στην ανάπτυξη αντοχής στα έντομα
- η) στην ανάπτυξη αντοχής σε συνθήκες καταπόνησης (ξηρασία, υψηλές θερμοκρασίες, άλατα, βαριά μέταλλα)
- θ) στη βελτίωση της ποιότητας του σπόρου
- ι) στην αναβάθμιση της ποιότητας του βαμβακέλαιου
- κ) στην αξιοποίηση των φυσικά χρωματισμένων ινών (έγχρωμο βαμβάκι)
- λ) στην τροποποίηση των βλαστικών τμημάτων του φυτού με σκοπό την αξιοποίηση τους από τη βιομηχανία .

2.6.2. Μέθοδοι βελτίωσης του βαμβακιού

Οι μέθοδοι βελτίωσης που χρησιμοποιούνται έχουν συνήθως ως σκοπό :

- α) Την εκμετάλλευση της γενετικής παραλλακτικότητας που υπάρχει σε ετερογενείς ποικιλίες μέσω της επιλογής και της αξιολόγησης των απογόνων, και
- β) Τη δημιουργία, με τον υβριδισμό, πληθυσμών με παραλλακτικότητα από τους οποίους μπορεί να πάρει νέους γενετικούς συνδυασμούς.

1. Μαζική επιλογή

Η μαζική επιλογή γίνεται ανακατεύοντας σπόρο από καλά φυτά που επιλέγονται με βάση το φαινότυπό τους. Είναι περισσότερο αποτελεσματική όταν χρησιμοποιείται για χαρακτηριστικά που έχουν μεγάλο συντελεστή κληρονομικότητας. Δεν χρησιμοποιείται συχνά γιατί δεν είναι τόσο ακριβής όσο η επιλογή των απογόνων. Χρησιμοποιείται όμως σε προγράμματα βελτίωσης πληθυσμών (Καλτσίκης, 1992).

2. Επιλογή καθαρής σειράς για βελτίωση εντός των ποικιλιών

Η ενδοποικιλιακή επιλογή είναι αναμφίβολα μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την εισαγωγή και τον εγκλιματισμό επιθυμητών ποικιλιών από άλλες περιοχές (Niles and Feaster, 1984). Με τη μέθοδο αυτή όμως, μπορούμε μέσω της επιλογής απογόνων, να διατηρήσουμε την καθαρότητα της παρούσης ποικιλίας, προοδευτικά να τη βελτιώσουμε και να αναγνωρίσουμε ένα τυχαίο υβρίδιο ή μια μετάλλαξη που μπορεί να οδηγήσει σε μια νέα ποικιλία. Σύμφωνα με αυτή, επιλέγονται τα φυτά τα οποία έχουν τα χαρακτηριστικά της ποικιλίας που επιθυμούμε. Ο σπόρος από τα φυτά αυτά, που μπορεί να προέρχεται είτε από αυτογονιμοποίηση είτε από σταυρογονιμοποίηση, σπέρνεται σε μια σειρά. Οι σειρές αξιολογούνται και επιλέγονται τα φυτά που υπερέχουν. Ο σπόρος από το κάθε φυτό σπέρνεται πάλι σε μια ξεχωριστή σειρά για να γίνει πάλι επιλογή (Καλτσίκης, 1992).

3. Γενεαλογική επιλογή

Στη μέθοδο αυτή γίνεται επιλογή στην F_2 , των 800-1000 καλύτερων φυτών με οπτικά κριτήρια. Οι σπόροι των φυτών αυτών, σπέρνονται σε γραμμές την επόμενη χρονιά και γίνεται επιλογή των καλύτερων γραμμών με αναλογία επιλογής 25%. Από κάθε γραμμή επιλέγονται τα καλύτερα φυτά και οι απόγονοι αυτών σπέρνονται σε γραμμές στην F_4 . Επιλέγονται οι καλύτερες γραμμές και τα καλύτερα φυτά μέσα σε

αυτές. Αυτό συνεχίζεται μέχρι την γενιά F_6 ή F_7 και το πρόγραμμα μπαίνει στο στάδιο της αξιολόγησης των ποικιλιών (Καλτσίκης, 1992).

4. Αναδιασταύρωση

Χρησιμοποιείται για να προσθέσουμε σε μια καλή ποικιλία ένα γνώρισμα, συνήθως ποιοτικό, που υπάρχει σε μια άλλη ποικιλία και η οποία κατά τα άλλα δεν έχει τα επιθυμητά γνωρίσματα. Στο βαμβάκι η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε με ιδιαίτερη επιτυχία για μεταφορά της ανθεκτικότητας στο βακτήριο *Xanthomonas*, για μεταφορά γονιδίων που καθορίζουν τη δύναμη της ίνας καθώς και άλλων γονιδίων όπως του Sm2 (λείο φύλλο) (Καλτσίκης, 1992).

5. Επαναλαμβανόμενη επιλογή

Η επαναλαμβανόμενη επιλογή δεν έχει χρησιμοποιηθεί σε μεγάλη έκταση στη βελτίωση του βαμβακιού. Λίγες είναι οι έρευνες που δείχνουν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου αυτής, στη μεταβολή του μέσου όρου του πληθυσμού (Billbro, 1961 ; Lewis, 1956) και στην αύξηση του ανασυνδυασμού γονιδίων (Miller and Rawlings, 1967a; Meredith and Bridge, 1971). Η επαναλαμβανόμενη επιλογή χρησιμοποιήθηκε από τους Miller και Rawlings (1967b) για αύξηση της απόδοσης, ενώ οι Meredith και Bridge (1973) χρησιμοποίησαν τη μέθοδο αυτή για να βελτιώσουν την αναλογία ίνας.

6. Υβριδισμός

Σήμερα ο υβριδισμός εντός και μεταξύ των ειδών βαμβακιού, ακολουθούμενος από επιλογή, είναι μία σημαντική μέθοδος που χρησιμοποιείται για την βελτίωση του βαμβακιού. Στις περισσότερες περιπτώσεις χρησιμοποιείται η γενεαλογική μέθοδος και η επιλογή αρχίζει στην F_2 γενεά. Κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες όμως ο βελτιωτής μπορεί να χρησιμοποιήσει τη μαζική επιλογή. Στην περίπτωση αυτή η επιλογή των καλύτερων φυτών καθυστερεί για κάποιες γενεές, έτσι ώστε να επιδράσει στους διαδοχικούς πληθυσμούς η φυσική επιλογή (Niles and Feaster, 1984).

2.7. ΥΒΡΙΔΙΑ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ

2.7.1. Γενικά

Το βαμβάκι είναι μία από τις πρώτες καλλιέργειες στην οποία παρατηρήθηκε ευρωστία και ετέρωση στα προϊόντα διειδικών διασταυρώσεων μεταξύ του *G.hirsutum* και του *G.barbadense* (Cook, 1909). Η ετέρωση σε διασταυρώσεις εντός του *G.hirsutum* (Hawkins *et al.*, 1965; Jones and Loden, 1951) και μεταξύ του *G.hirsutum* και του *G.barbadense* (Fryxell *et al.*, 1958; Marani, 1967) έχει μελετηθεί εκτεταμένα.

Η αξιοποίηση της ετέρωσης σε υβρίδια βαμβακιού είναι πολύ δύσκολη γιατί είναι απαραίτητη η διασταύρωση με τα χέρια. Για το λόγο αυτό δεν είναι πολύ διαδεδομένα εμπορικά, εκτός βέβαια των χωρών που διαθέτουν πολλά και φτηνά εργατικά χέρια, όπως είναι η Ινδία (Chaudhry, 1997b). Το ενδιαφέρον όμως για την εμπορική παραγωγή υβριδίων βαμβακιού έχει ενταθεί από τότε που ο Meyer (1973a, 1973b, 1975) εξήγησε με λεπτομέρεια τον μηχανισμό της κυτοπλασματικής – γενετικής αρρενοστειρότητας στο βαμβάκι.

Ο Meyer έδειξε ότι με τη μεταφορά πυρηνικού γενώματος του *G.hirsutum* στο κυτόπλασμα του *G.harkensii* παράγεται πλήρως αρρενόστειρη σειρά (σειρά A). Η γονιμότητα μπορεί να επαναφέρεται στις αρρενόστειρες σειρές που έχουν το κυτόπλασμα του *G.harkensii*, εισάγοντας είτε το κυρίαρχο είτε το ομόζυγο υποτελές γονίδιο R από το *G.harkensii* (σειρά R). Οι αρρενογόνιμες σειρές που επαναφέρουν την γονιμότητα στις αρρενόστειρες σειρές, μπορούν να απομονωθούν από αποθέματα που έχουν το κυτόπλασμα του *G.harkensii*. Οι αρρενόστειρες σειρές διατηρούνται μετά από διασταύρωση με γόνιμες *G.hirsutum* σειρές (σειρές B) (Niles and Feaster, 1984).

Σημαντική προσπάθεια έχει αφιερωθεί στην παραγωγή καλών σειρών επαναφοράς της γονιμότητας από το αρχικό μητρικό υλικό, σύμφωνα με τον Meyer (Niles and Feaster, 1984). Οι Weaver και Weaver (1977) βρήκαν ότι το βαμβάκι τύπου Pima έχει έναν ή περισσότερους παράγοντες που αυξάνουν σημαντικά την έκφραση των γονιδίων επαναφοράς της γονιμότητας. Το κύριο πρόβλημα στη χρησιμοποίηση της κυτοπλασματικής-γονιδιακής αρρενοστειρότητας είναι η απουσία καλών σειρών επαναφοράς της γονιμότητας, ειδικά κάτω από υψηλές θερμοκρασίες (Niles and Feaster, 1984).

Η μεταφορά της γύρης είναι ένα ακόμη εμπόδιο σε πολλές περιοχές για την παραγωγή υβριδίων βαμβακιού (Moffet and Stith, 1972; Waller *et al.*, 1981). Οι φυσικοί επικονιαστές συχνά λείπουν και οι μέλισσες μπορεί να μην εξασφαλίζουν επαρκή επικονίαση. Η εφαρμογή εντομοκτόνων για τον έλεγχο επιβλαβών εντόμων μειώνει την αποτελεσματικότητα των φυσικών επικονιαστών ή των εισαγόμενων μελισσών.

2.7.2. Ενδοειδικά υβρίδια βαμβακιού *G. hirsutum*

Οι Jones και Loden (1951) ήταν οι πρώτοι που παρατήρησαν ότι οι αποδόσεις σε σύσπορο βαμβάκι F₁ upland υβριδίων ήταν από 0.8 έως 47% υψηλότερες σε σχέση με τον καλύτερο γονέα. Σε μια μελέτη για τα υβρίδια στο βαμβάκι βρέθηκαν αρκετοί ερευνητές που είχαν παρατηρήσει αύξηση της απόδοσης σε ενδοειδικά υβρίδια *G. hirsutum* (Davis, 1978). Ο εν λόγω ερευνητής πρόσεξε μια αναφορά από την Ινδία στην οποία υποστηριζόταν ότι παρατηρήθηκε μια αύξηση στην καθαρή απόδοση κατά 138% ενός F₁ υβριδίου σε σχέση με μια εμπορική ποικιλία. Αυτός ήταν ο μεγαλύτερος βαθμός ετέρωσης που είχε βρεθεί. Οι Minhas *et al.* (1994), Patil και Corde (1985) και Gupta και Singh (1987), διαπίστωσαν ετέρωση για απόδοση της τάξης του 0,19% έως 122,7% σε σχέση με τον μέσο όρο των γονέων και 0,02-93,83% σε σχέση με τον καλύτερο γονέα. Οι Panhwar *et al.* (2002) παρατήρησαν 64,2% ετέρωση στην απόδοση του σύσπορου βαμβακιού σε σχέση με το μέσο όρο των γονέων (εμπορικές ποικιλίες Qalandri, K-68/9, Shaheen και Rehmani).

Ο Meredith (1984) αναφέρει μια μικρή αλλά σημαντική αύξηση στο μήκος της ίνας στα ενδοειδικά υβρίδια *G. hirsutum*. Τα δεδομένα των Roupakias *et al.* (1998), σε ελληνικά ενδοειδικά υβρίδια, φαίνεται να συμφωνούν με την παραπάνω διαπίστωση. Μικρή αλλά σημαντική ετέρωση επίσης βρέθηκε για την αντοχή της ίνας (Miller and Marani, 1963; Thomson and Luckett, 1988b; Meredith, 1990). Ο Meredith παρατήρησε μικρή αρνητική ετέρωση για την τιμή του micronaire. Γενικά τα χαρακτηριστικά της ίνας ενός ενδοειδικού upland υβριδίου αναμένονται να είναι σχετικά σταθερά και παρόμοια με την τιμή του μέσου όρου των γονέων (Davis, 1978; Galanopoulou-Sendouca, 1987).

2.7.3. Διεϊδικά υβρίδια βαμβακιού (*G.hirsutum* x *G.barbadense*)

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της ίνας, όπως το μήκος, η αντοχή, η τιμή του micronaire, το χρώμα και οι προσμίξεις, επηρεάζουν την εμπορική τιμή του βαμβακιού. Η εξαιρετική ποιότητα ίνας του βαμβακιού τύπου Pima (*G.barbadense*) δίνει ένα σημαντικό πλεονέκτημα σε σχέση με το upland βαμβάκι, το οποίο καλλιεργείται εκτεταμένα λόγω των υψηλών αποδόσεων, της πρωιμότητας και της προσαρμοστικότητάς του σε πολλές περιοχές. Η ανάγκη να βελτιωθεί η ποιότητα της ίνας του *G.hirsutum* βαμβακιού, οδήγησε τους βελτιωτές να στραφούν στη δημιουργία των διεϊδικών υβριδίων *G.hirsutum* x *G.barbadense*.

Πρώτος ο Cook (1909) αναφέρει ευρωστία σε διεϊδικές διασταυρώσεις *G.hirsutum* x *G.barbadense*. Από τότε πολλοί ήταν οι ερευνητές που μελέτησαν τα διεϊδικά υβρίδια λεπτομερειακά, με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Όσον αφορά την απόδοση σε σύσπορο βαμβάκι σε πολλές μελέτες βρέθηκε ότι αυξάνεται σε σχέση με τους γονείς. Συγκεκριμένα οι Ali και Lewis (1962) αναφέρουν σχετική ετέρωση της τάξης των 60,8%, ο Marani (1963) ετέρωση 97%, οι Solangi *et al.* (2001) βρήκαν ότι η θετική ετέρωση σε σχέση με το μέσο όρο των γονέων κυμαινόταν από 2-118%, ενώ οι Baloch *et al.* (1993) αναφέρουν ετέρωση 96,22% και 71,51% σε σχέση με το μέσο όρο των γονέων και σε σχέση με τον καλύτερο γονέα, αντίστοιχα. Ετέρωση έχει διαπιστωθεί και για την απόδοση σε ίνα από πολλούς ερευνητές (Percy and Turcotte, 1991; Marani, 1963). Οι Γαλανοπούλου-Σενδουκά και Ρουπακιάς (1995) σε μια μελέτη πέντε διεϊδικών υβριδίων επίσης παρατήρησαν θετική ωφέλιμη ετέρωση για την απόδοση σε ίνα (4%), αλλά στη μία μόνο από τις δύο περιοχές που διεξήχθη το πείραμα.

Στα *G.hirsutum* x *G.barbadense* υβρίδια, το βασικό συστατικό της ετέρωσης για απόδοση, είναι ο αριθμός των καρυδίων που παράγονται ανά μονάδα καλλιεργούμενης έκτασης. Σε όλες τις μελέτες που έχουν γίνει μέχρι στιγμής, βρέθηκε ότι η σχετική ετέρωση για τον αριθμό των καρυδίων ανά τετραγωνικό μέτρο ήταν σημαντική και κυμαινόταν από 68,5% (Marani, 1968c) έως 94,2% (Krishnaswami and Kothandaraman, 1977). Σε αντίθεση, το βάρος των καρυδίων και ο αριθμός των σπόρων ανά καρύδι είχαν μικρότερες τιμές. Συγκεκριμένα, το βάρος των καρυδίων ήταν χαμηλότερο από τον γονέα *G.hirsutum*, αλλά υψηλότερο από τον γονέα *G.barbadense*. Αρνητική ετέρωση, συγκρινόμενη με τον γονέα *G.hirsutum* παρατηρήθηκε και για την αναλογία της ίνας.

Η ίνα στα διειδικά υβρίδια είναι πολύ μακριά, λεπτή και δυνατή. Είναι γενικά παρόμοια με την ίνα του γονέα *G. barbadense*, εκτός από την τιμή του *micronaire*. Οι τιμές του *micronaire* είναι συνήθως χαμηλότερες και από τους δύο γονείς. Επομένως σημαντική ετέρωση έχει βρεθεί για το μήκος και την αντοχή της ίνας. Οι Ali και Lewis (1962) διαπίστωσαν σχετική ετέρωση 15,9% και 28,9% για το μήκος και την αντοχή της ίνας, αντίστοιχα. Ο Davis (1979) επίσης αναφέρει ότι τα διειδικά υβρίδια έχουν μακρύτερες και πιο ανθεκτικές ίνες από τα *G. barbadense* βαμβάκια. Σημαντική ετέρωση για το μήκος της ίνας αναφέρθηκε και από τους Syiam *et al.* (1982). Οι Solangi *et al.* (2001) διαπίστωσαν σε μια έρευνά τους, ότι 9 από τα 10 υβρίδια εκδήλωσαν θετική ετέρωση σε σχέση με τον μέσο όρο των γονέων (0,0-11,32%) για το μήκος της ίνας, ενώ 5 υβρίδια εκδήλωσαν θετική ετέρωση σε σχέση με τον καλύτερο (*G. barbadense*) γονέα (0,32-5,33%). Οι χαμηλές τιμές του *micronaire* στα υβρίδια βαμβακιού σύμφωνα με τον Davis (1979), οφείλονται στην εγγενή μείωση της διαμέτρου της ίνας, στην ανεπαρκή εναπόθεση κυτταρίνης στα τοιχώματα της ίνας ή σε ένα συνδυασμό των δύο.

Παρόλο που πολλοί ερευνητές διαπίστωσαν αύξηση της απόδοσης και καλύτερη ποιότητα της ίνας, τα διειδικά υβρίδια *G. hirsutum* x *G. barbadense* δεν χρησιμοποιούνται εμπορικά λόγω του ότι είναι συνήθως πιο ψηλά και πιο όψιμα από τους γονείς. Πολλοί είναι οι ερευνητές οι οποίοι παρατήρησαν αύξηση του ύψους των φυτών (Marani, 1967, 1968c; Krishnaswami and Kothandaraman, 1977; Davis, 1979). Γενικά, τα διειδικά υβρίδια ωριμάζουν αργότερα από τον γονέα *G. hirsutum* και νωρίτερα από τον γονέα *G. barbadense* (Marani, 1967, 1968c; Davis, 1979; Galanopoulou-Sendouca, 1987). Οι Roupakias *et al.* (1998), βρήκαν ότι η πρωιμότητα των διειδικών υβριδίων ποικίλει από περιοχή σε περιοχή. Επομένως, υπάρχει η δυνατότητα τα υβρίδια να χρησιμοποιηθούν εμπορικά σε περιοχές που ωριμάζουν πιο πρώιμα. Ένα άλλο αρνητικό στοιχείο των υβριδίων, είναι ότι τείνουν να έχουν μια μεγάλη αναλογία ξένων υλών, κόμπων και άγονων ωαρίων. Οι Saranga *et al.* (1998) μάλιστα, απέδειξαν ότι στα διειδικά υβρίδια οι συνθήκες ξηρασίας αυξάνουν την αναλογία των άγονων ωαρίων.

Ο Davis (1979) παρατήρησε ότι τα υβρίδια παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στα παθογόνα σε σχέση με τις *G. hirsutum* ποικιλίες. Και οι Γαλανοπούλου-Σενδουκά και Ρουπακιάς (1995) διαπίστωσαν αντοχή των διειδικών υβριδίων στο μύκητα *Verticillium dahliae*, ενώ παράλληλα είχαν την ανώτερη ποιότητα ίνας του *G. barbadense* αλλά και τη χαμηλότερη αναλογία ίνας του.

2.7.4. Μερικώς διειδικά υβρίδια βαμβακιού

Η απομόνωση των μονοσωμικών (Endrizzi and Ramsay, 1979) προσέφερε τη δυνατότητα να αναπτυχθούν διειδικές σειρές αντικατάστασης στο βαμβάκι και έτσι άνοιξε το δρόμο για την ταυτοποίηση χρωμοσωμάτων που μεταφέρουν κύρια γονίδια υπεύθυνα για επιθυμητά αγρονομικά χαρακτηριστικά στα είδη *G.hirsutum* και *G.barbadense* (White *et al.* 1967). Με τα δεδομένα που προέκυψαν και με τη χρήση συγκεκριμένων κυτταρογενετικών μεθόδων, μπορούν να δημιουργηθούν νέοι γενότυποι που περιέχουν στον πυρήνα τους χρωμοσώματα και από τα δύο είδη. Αυτοί οι γενότυποι ονομάστηκαν μερικώς διειδικά υβρίδια (White *et al.* 1967).

Οι Ρουπακιάς και Γαλανοπούλου-Σενδουκά (1988) προσπάθησαν, χωρίς επιτυχία, να αναπτύξουν σειρές αντικατάστασης σε δύο ποικιλίες βαμβακιού (Σίνδος 80 και Pima S4). Η αποτυχία οφειλόταν στην έλλειψη φυτών με τον χαρακτηριστικό φαινότυπο των περισσότερων μονοσωμικών, μετά την τέταρτη γενεά αναδιασταύρωσης.

Μια αποσαφηνισμένη έννοια του μερικώς διειδικού υβριδίου, ως ένα φυτό που φέρει ένα μέρος των ομόλογων χρωμοσωμάτων από το *G.hirsutum* και το υπόλοιπο από το *G.barbadense*, επεκτάθηκε από τους Μανρομάτις και Ρουπακιάς (1994) για να περιγράψει εκείνο το υβριδικό φυτό, που φέρει σε ομόλογη κατάσταση μέρος των χρωμοσωμάτων ή χρωμοσωμικά τμήματα από το ένα είδος και τα υπόλοιπα από το άλλο. Αυτό το φυτικό μοντέλο θα μπορούσε να γίνει πραγματικότητα εάν ήταν δυνατό να αναγεννηθούν φυτά από ανώριμους κόκκους γύρης ή από μη γονιμοποιημένα ωάρια προερχόμενα από F₁ διειδικά υβριδικά φυτά (Μανρομάτις and Ρουπακιάς 1994; Ρουπακιάς *et al.* 1998). Ο χρωμοσωμικός διπλασιασμός τέτοιων φυτών, θα μπορούσε να οδηγήσει στη δημιουργία σταθερών και ομόλογων σειρών μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού. Η αξιολόγηση ενός μεγάλου αριθμού σειρών που παράγονται με αυτό τον τρόπο, θα μπορούσε να αναγνωρίσει εκείνες που συνδυάζουν τα επιθυμητά αγρονομικά γνωρίσματα και από τα δύο είδη.

Πολλές εναλλακτικές μέθοδοι έχουν προταθεί για την παραγωγή απλοειδών στο βαμβάκι. Οι Turcotte και Feaster (1963) αναφέρουν ότι ένα διαπλοειδές άτομο παράγει σε μεγάλη συχνότητα απλοειδή από διεμβρυακούς σπόρους βαμβακιού Pima. Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται ημιγαμία, το οποίο είναι μία μη κανονική διαδικασία γονιμοποίησης στην οποία ο αρσενικός και ο θηλυκός γαμέτης αποτυγχάνουν να

ενωθούν. Οι δύο γαμέτες διαιρούνται ανεξάρτητα, δίνοντας απλοειδή αρσενικό και θηλυκό χμαιρικό ιστό (Turcotte and Feaster, 1967, 1969). Από τότε, αρκετοί ερευνητές (Barrow and Chaudhari 1976; Mahill *et al.* 1984) έχουν δημιουργήσει διαπλοειδή μέσω της ημιγαμίας. Από τις μελέτες αυτές βρέθηκε ότι τα αγρονομικά, καθώς και τα γνωρίσματα της ίνας, ήταν βελτιωμένα σε κάποια διαπλοειδή και ήταν σταθερά στην απόδοση όπως οι γονικές σειρές. Η κύρια αδυναμία όμως αυτής της διαδικασίας, είναι ο σχετικά μικρός αριθμός απλοειδών που παράγονται. Έτσι, άρχισαν να αναπτύσσονται μελέτες για την καλλιέργεια ανθήρων. Σύμφωνα με τους Turaen και Samina (1986), Goodin και Trolinder (1990), Μαυρομάτης και Ρουπακιάς (1994), Van Overbeke *et al.* (1995), η παραγωγή απλοειδών μέσω της *in vitro* καλλιέργειας ανθήρων και μικροσπορίων δεν ήταν επιτυχής και στα διπλοειδή και στα τετραπλοειδή βαμβάκια. Ομοίως, οι Μαυρομάτης και Ρουπακιάς (1995) αναφέρουν τη μη επιτυχή αναγέννηση φυτών με την *in vitro* καλλιέργεια αγονιμοποίητων ωαρίων. Έτσι, η μόνη εναλλακτική λύση που προτάθηκε για την παραγωγή διαπλοειδών στο βαμβάκι είναι η γονιμοποίηση με ξένη γύρη. Αυτή η μέθοδος είχε επιτυχή αποτελέσματα στο κριθάρι (*Hordeum vulgare* x *H. bulbosum*) (Kasha and Kao, 1970), στο σιτάρι (wheat x maize) (Sarraf *et al.*, 1994; Zhaug *et al.*, 1996) και στην πατάτα (*Solanum tuberosum* x *S. phureja*) (de Maine, 2003).

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, οι Manromatis *et al.* (2005) μελέτησαν την επίδραση της γονιμοποίησης λουλουδιών υβριδίων βαμβακιού με ξένη γύρη. Έτσι, επικονίασαν F₁ διειδικά υβρίδια με γύρη από το *Hibiscus cannabinus* για να προκαλέσουν *in vivo* παρθενογένεση. Τα φυτά που παρήχθησαν με τον τρόπο αυτό, είχαν μορφολογικά γνωρίσματα και από τα δύο είδη βαμβακιού και ήταν μερικώς γόνιμα, ενώ δεν είχαν κανένα γνώρισμα από το είδος *H. cannabinus*. Ο αριθμός των χρωμοσωμάτων της πρώτης γενεάς (P_{a0}) κυμαινόταν από 27 έως 42. Από γενεά σε γενεά όμως παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού των χρωμοσωμάτων και στην τέταρτη (P_{a3}) γενεά, έφτασαν από 46-52. Έτσι, επικονίαση υβριδίων βαμβακιού (*G. hirsutum* x *G. barbadense*) με ξένη γύρη από το *H. cannabinus* προάγει την παρθενογεννητική ανάπτυξη ωαρίων, τα οποία μετά από μια προοδευτική αύξηση των χρωμοσωμάτων, παράγουν πλήρως γόνιμα φυτά με τα περισσότερα κύτταρα τους να είναι τετραπλοειδή ή περίπου τετραπλοειδή (Manromatis *et al.*, 2005). Επομένως θα μπορούσε να επιλεγθούν φυτά με 52 χρωμοσώματα τα οποία συνδυάζουν την καλή απόδοση του *G. hirsutum* και την υψηλή ποιότητα ίνας του *G. barbadense*.

2.8. ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ

Η μοριακή βελτίωση αφορά ομάδα τεχνικών που έχουν ως βάση την ανάπτυξη και αξιοποίηση των μοριακών δεικτών για την πρόμνη αξιολόγηση γενοτύπων. Με τον όρο μοριακοί ή γενετικοί δείκτες αναφέρονται τα τμήματα του DNA που προκύπτουν μετά από την κατεργασία του φυτικού γενετικού υλικού με διάφορες μεθόδους. Τα τμήματα αυτά εμφανίζονται τελικά σαν διακριτές ζώνες σε ηλεκτροφορητικό προφίλ. Οι μοριακοί δείκτες, που είναι φαινοτυπικά ουδέτεροι και περιβαλλοντικά ανεξάρτητοι, ανιχνεύουν πολυμορφισμούς, δηλαδή διαφορές στις γενετικές πληροφορίες μεταξύ ατομικών φυτών. Με την ιδιότητά τους αυτή, υπόκεινται σε γενετική ανάλυση, χαρτογραφούνται και χρησιμοποιούνται για την σήμανση γενετικών θέσεων, ποιοτικών και ποσοτικών γνωρισμάτων (Σκαράκης, 2005).

2.8.1. Τύποι μοριακών δεικτών

Οι μοριακές τεχνικές χωρίζονται σε δύο κατηγορίες : σε αυτές που βασίζονται στην τεχνική PCR (όπως οι RAPDs, SSRs, AFLPs) και σε αυτές που δεν βασίζονται στην PCR (RFLPs).

1. Τεχνικές μη βασιζόμενες στην PCR

RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms) : Πολυμορφισμός Μήκους Θραυσμάτων εκ Περιορισμού

Οι RFLPs χρησιμοποιούν περιοριστικά ένζυμα που κόβουν τα μόρια DNA σε συγκεκριμένες αλληλουχίες νουκλεοτιδίων, και έτσι παράγουν θραύσματα DNA ποικίλου μεγέθους. Κατά την ανίχνευση των τμημάτων DNA (Southern Blotting) αυτά διαχωρίζονται με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης και μεταφέρονται σε μεμβράνη από νιτροκυτταρίνη ή νάιλον (Southern, 1975). Η μεμβράνη εμβαπτίζεται σε συγκεκριμένα διαλύματα που περιέχουν ανιχνευτές (ιχνηλάτες) του DNA. Η σύνδεση (υβριδοποίηση) των τμημάτων του DNA με τον ανιχνευτή ελέγχεται με βάση την σήμανση του ανιχνευτή (π.χ. με αυτοραδιογραφία αν ο ανιχνευτής είναι συνδεδεμένος με κάποιο ραδιενεργό στοιχείο όπως ο φώσφορος ³²P). Ο ανιχνευτής μπορεί να είναι

DNA κλωνοποιημένο από κάποιο συγκεκριμένο γονίδιο, τυχαία τμήματα γενωμικού DNA ή κάποιο ολιγονουκλεοτίδιο (Χατζόπουλος, 2001).

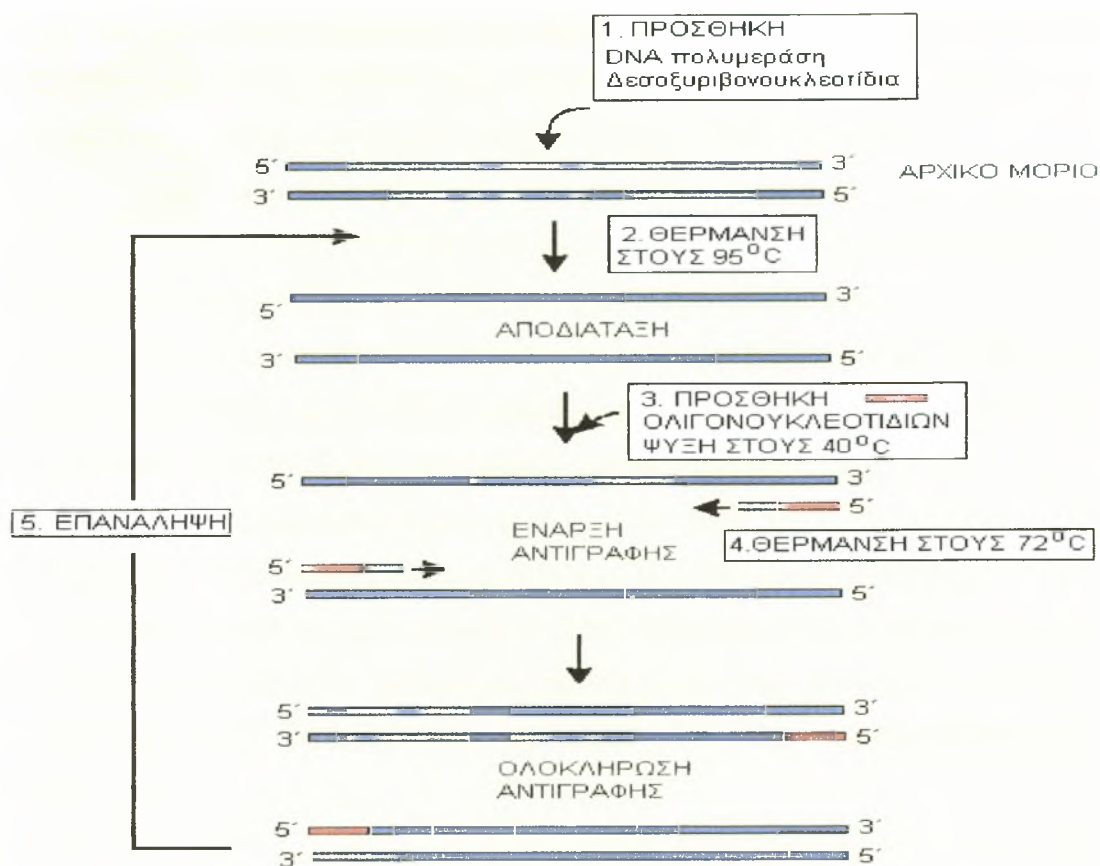
Τα πλεονεκτήματα των δεικτών RFLP, είναι η υψηλή επαναληψιμότητα τους και το ότι είναι συγκυρίαρχοι δείκτες. Από την άλλη όμως απαιτείται υψηλό κόστος για τις αναλύσεις, είναι χρονοβόρος διαδικασία, απαιτείται μεγάλη ποσότητα DNA και συνήθως χρησιμοποιείται ραδιενέργεια (Σκαράκης, 2005).

2. Τεχνικές βασισμένες στη PCR

Η Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης (PCR) έχει γίνει μια από τις ευρύτερα χρησιμοποιούμενες τεχνικές στη μοριακή βιολογία, κυρίως λόγω του ότι είναι γρήγορη, φθηνή και απλή στην εφαρμογή της (Eglic, 1989). Με την τεχνική αυτή, που ανέπτυξε στα 1983 ο Kary Mullis και για την οποία βραβεύτηκε με βραβείο Νόμπελ στα 1993, είναι δυνατή η παραγωγή πολυάριθμων αντιγράφων ενός μορίου DNA σε σύντομο χρονικό διάστημα, ακόμη και αν υπάρχει στη διάθεσή μας ένα μόνο αρχικό μόριο DNA. Η μέθοδος ονομάστηκε αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης διότι κάνει δυνατή τη διαδοχική παραγωγή πολυάριθμων μορίων DNA *in vitro* με τη χρησιμοποίηση της DNA πολυμεράσης.

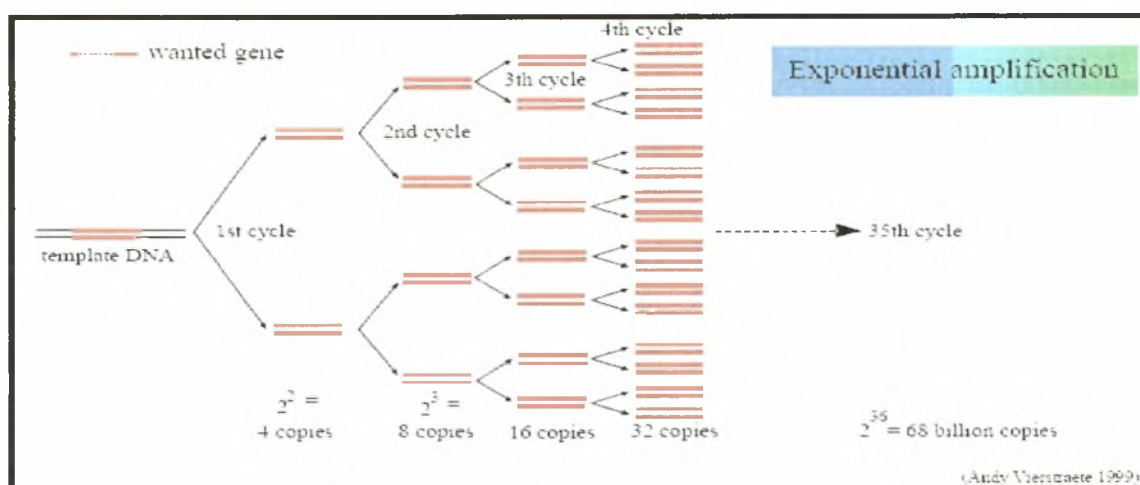
Η PCR αποτελείται από τρία στάδια τα οποία επαναλαμβάνονται κυκλικά. Το πρώτο στάδιο είναι αυτό της «αποδιάταξης» (denaturation). Στο στάδιο αυτό διαχωρίζονται οι δύο κλώνοι του DNA με θέρμανση του μίγματος περίπου στους 94°C. Το αντιδρών μίγμα περιέχει το δίκλωνο DNA, τους εκκινητές, τους τέσσερις τριφωσφορικούς δεοξυριβονουκλεοζίτες και την Taq πολυμεράση. Η Taq πολυμεράση προέρχεται από το θερμόφιλο βακτήριο *Thermus aquaticus*, έτσι ώστε να μην μειώνεται η δράση της κατά τους διάφορους κύκλους εξαιτίας της θέρμανσης.

Στο δεύτερο στάδιο, του «υβριδισμού ή αναδιάταξης» (annealing), το μίγμα ψύχεται για να υβριδιστούν οι εκκινητές με τους δύο κλώνους. Η θερμοκρασία ψύξης είναι καθοριστική στην εξειδίκευση της μεθόδου και γι' αυτό η ακριβής θερμοκρασία (30-65 °C) και ο απαιτούμενος χρόνος ψύξης ποικίλουν ανάλογα με το μέγεθος της πολλαπλασιαζόμενης αλληλουχίας. Τέλος, στο τρίτο στάδιο της «επέκτασης» (extension) λαμβάνει χώρα η σύνθεση του DNA, με θέρμανση του μίγματος στους 72 °C, που είναι η βέλτιστη θερμοκρασία δράσης της πολυμεράσης (Χατζόπουλος Π., 2001).



Εικ. 4 : Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης

Τα τρία στάδια της PCR επαναλαμβάνονται πολλές φορές έτσι ώστε να εξασφαλιστεί ένας υψηλός βαθμός ενίσχυσης των μορίων DNA. Σε κάθε κύκλο η ποσότητα του DNA διπλασιάζεται έχοντας ως αποτέλεσμα την ραγδαία αύξηση του (Kumar, 1999). Μετά από n κύκλους λαμβάνονται 2^n δίκλινα μόρια DNA.



Εικ. 5. : Εκθετική αύξηση του DNA

Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης χρησιμοποιείται σε πολλά συστήματα μοριακών δεικτών. Τρεις στρατηγικές έχουν κυρίως υιοθετηθεί στην ανάπτυξη των μοριακών δεικτών που βασίζονται στην PCR. Αυτές είναι:

(α) δείκτες που πολλαπλασιάζονται κατά την PCR με τη χρήση ενός εκκινητή (RAPDs, SPARs, DAFs, AP-PCR,) και όπου οι διαφορές των δεικτών προκύπτουν από την ποικιλομορφία των εκκινητών σε μήκος ή στην αλληλουχία.

(β) δείκτες που επιλεκτικά πολλαπλασιάζονται κατά τη διαδικασία της PCR με τη χρήση δύο εκκινητών και η εκλεκτικότητά τους προέρχεται από την παρουσία δύο έως τεσσάρων τυχαίων βάσεων στο ακρό 3' του εκκινητή (AFLPs).

(γ) δείκτες που πολλαπλασιάζονται κατά την PCR με τη χρήση δύο εκκινητών, οι οποίοι κατά γενικό κανόνα χρειάζεται να κλωνοποιηθούν και να αλληλουχηθούν για τη δημιουργία εξειδικευμένων εκκινητών. Στην περίπτωση αυτή οι διαφορές μεταξύ των συστημάτων δεικτών, προκύπτουν από διαφορές στην ακολουθία του DNA-στόχου μεταξύ των δύο αυτών εκκινητών (AMP-FLPs, STRs, SSRs) (Staub *et al.*, 1996).

RAPD's (Random Amplification of Polymorphic DNA): Τυχαίως Πολλαπλασιαζόμενα Πολυμορφικά Τμήματα DNA

Οι Williams *et al.* (1990) και Welsh και McClellan (1990) πρότειναν τη χρήση μικρών (συνήθως 10 bp), τυχαίως πολλαπλασιαζόμενων εκκινητών στην αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης, ως μία μέθοδο για την ανάπτυξη πολυμορφικών δεικτών. Οι δείκτες αυτοί ονομάστηκαν RAPD's. Στην περίπτωση των RAPD's, ο εκκινητής προσδένεται σε διάφορες θέσεις πάνω στο δείγμα DNA δίνοντας ως αποτέλεσμα πλήθος προϊόντων. Τα προϊόντα αυτά διαχωρίζονται με βάση το μήκος τους, με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης και εμβάπτιση σε βρωμιούχο αιθίδιο ενώ από τις διαφορές στο ηλεκτροφορητικό πρότυπο διαπιστώνεται η ύπαρξη πολυμορφισμού στο γενωμικό DNA που χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα στην αντίδραση PCR (Βακαλουνάκης και Φραγκιαδάκης, 2003). Οι πολυμορφισμοί του DNA που προκύπτουν, οφείλονται σε διαφορές στην αλληλουχία του περιοχών DNA που έχουν ενωθεί με τον εκκινητή ή σε χρωμοσωμικές διαφορές που επηρεάζουν τις πολλαπλασιαζόμενες περιοχές (Argus and Moreno-Gonzalez, 1993).

Τα κύρια προτερήματα των RAPD δεικτών, είναι η ευκολία, η ταχύτητα και το χαμηλό κόστος. Η ποσότητα του DNA που απαιτείται είναι μικρή, συνήθως 5-50

ng ανά αντίδραση. Επίσης, οι δείκτες αυτοί έχουν μεγάλη γενωμική αφθονία και κατανέμονται τυχαία σε όλο το γένωμα (Spooner *et al.*, 2005). Από την άλλη πλευρά όμως, σημαντικό μειονέκτημα είναι η χαμηλή τους επαναληψιμότητα (Schierwater and Ender, 1993). Γι' αυτό το λόγο και η διαδικασία που ακολουθείται στο εργαστήριο θα πρέπει να είναι όσο γίνεται πιο ακριβής γιατί είναι ευαίσθητοι στις συνθήκες αντίδρασης. Αρκετοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της συγκέντρωσης του προτύπου DNA, της συγκέντρωσης μαγνησίου, της θερμοκρασίας αναδόμησης του εκκινητή, του μήκους και της σύνθεσης των βάσεων του εκκινητή, επηρεάζουν την αντίδραση και θα πρέπει να ελέγχονται προσεκτικά (Tingey *et al.*, 1992). Οι αναλύσεις με RAPD γενικά απαιτούν καθαρό, υψηλού μοριακού βάρους DNA (Spooner *et al.*, 2005). Το DNA που απομονώνεται με σημαντικές ποσότητες πολυσακχαριτών ή φαινολικών ουσιών δεν είναι κατάλληλο, ενώ DNA που περιέχει μέτριες ποσότητες ξένων υλών συχνά παράγει θολούς ή εξασθετισμένους RAPD γενοτύπους. Οι RAPD's είναι συνήθως κυρίαρχοι δείκτες με διαφορές μεταξύ των ατόμων βάσει της απουσίας ή παρουσίας ζωνών .

Παραλλαγές της τεχνικής αυτής, είναι η AP-PCR (Arbitrary Primed Polymerase Chain Reaction) στην οποία χρησιμοποιούνται μεγαλύτεροι τυχαίως πολλαπλασιαζόμενοι εκκινητές από τους RAPD's και η DAF (DNA Amplification Fingerprinting) στην οποία χρησιμοποιούνται μικρότεροι εκκινητές, 5-8 bp, για να παράγουν μεγαλύτερο αριθμό τμημάτων DNA. Ο όρος MAAP (Multiple Arbitrary Amplicon Profiling) χρησιμοποιείται ομαδικά για όλες τις τεχνικές που χρησιμοποιούν μονούς τυχαίους εκκινητές (Spooner *et al.*, 2005).

Οι RAPD δείκτες χρησιμοποιούνται στη χαρτογράφηση του γενώματος, στη βελτίωση φυτών και ζώων καθώς και στην ιχνηλάτηση (fingerprinting) του DNA, με εξειδικευμένη χρησιμότητα στη μελέτη της γενετικής πληθυσμών. Επίσης, παρέχουν μια αποτελεσματική ανάλυση πολυμορφισμών, που επιτρέπουν τη γρήγορη αναγνώριση και απομόνωση τμημάτων DNA συγκεκριμένων χρωμοσωμάτων. Σειρές υβριδίων ή γενετικά αποθέματα που φέρουν ελλείμματα ή διπλασιασμούς μεγάλων χρωμοσωμικών τμημάτων μπορούν να συγκριθούν με κάποιο μάρτυρα και να αναγνωριστεί η περιοχή του γενώματος που φέρει το έλλειμμα ή τον διπλασιασμό (Williams *et al.*, 1990).

SSRs (Simple Sequence Repeats) : Μικροδορυφόροι ή Απλές Επαναλαμβανόμενες Αλληλουχίες

Οι Απλές Επαναλαμβανόμενες Αλληλουχίες αποτελούνται από 2-5 νουκλεοτίδια, όπως $(AC)_n$, $(ATT)_n$ ή $(ATGT)_n$, που επαναλαμβάνονται στη σειρά. Τέτοιες επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες έχουν βρεθεί σε όλα τα ευκαρυωτικά γενώματα σε μεγάλη αφθονία (Budak *et al.*, 2003). Στα σπονδυλωτά, επικρατούν οι επαναλήψεις $(AC)_n$ και έχουν χρησιμοποιηθεί για να κατασκευαστούν οι γενετικοί χάρτες του ανθρώπινου γενώματος καθώς και των αρουραίων και των ποντικών (Rafalski and Tingey, 1993). Στα φυτά, οι Akkaya *et al.* (1992) βρήκαν ότι οι SSRs είναι πολύ πολυμορφικοί και ότι οι επαναλήψεις $(AT)_n$ είναι περισσότερο πολυάριθμες από τις $(AC)_n$. Ωστόσο, άλλες μελέτες (Chin *et al.*, 1996; Ma *et al.*, 1996) προτείνουν ότι και οι επαναλήψεις των δινουκλεοτιδίων CT και TG μπορεί να είναι ευρύτατα διαδεδομένες. Οι SSRs μπορούν να απομονωθούν απευθείας από τράπεζες DNA ή από ειδικές τράπεζες μικροδορυφόρων (Budak *et al.*, 2003).

Οι SSRs αναλύονται μετά από πολλαπλασιασμό με PCR μιας μικρής γενωμικής περιοχής που περιέχει την επαναλαμβανόμενη αλληλουχία και διαχωρισμό των επαναλήψεων με βάση το μήκος τους σε πηκτή. Μόνο μια μικρή ποσότητα DNA απαιτείται ενώ ο εργαστηριακός εξοπλισμός μπορεί να είναι ο ίδιος που χρησιμοποιείται και στους RAPD's. Για τον διαχωρισμό μπορεί να χρησιμοποιηθεί πηκτή αγαρόζης, αλλά για την ανάλυση όλων των αλληλομόρφων προτείνεται η χρήση πηκτής ακριλαμιδίου (Rafalski and Tingey, 1993). Η επαναληψιμότητα των δεικτών αυτών είναι πολύ υψηλή, λόγω του ότι χρησιμοποιούν μεγάλο μήκος εκκινητές στην PCR και το DNA δεν χρειάζεται να είναι υψηλής ποιότητας (Sprooper *et al.*, 2005).

Η ταυτοποίηση κατάλληλων γονιδιακών θέσεων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μοριακοί δείκτες, απαιτεί εξειδικευμένες διαδικασίες κλωνοποίησης συγκεκριμένων τμημάτων DNA και προσδιορισμό της αλληλουχίας εκατέρωθεν των άκρων ώστε να σχεδιαστούν κατάλληλοι εκκινητές. Αυτό είναι ένα σοβαρό μειονέκτημα γιατί απαιτείται εξειδικευμένο προσωπικό, αρκετός χρόνος και υψηλό κόστος (Χατζόπουλος, 2001).

Οι μικροδορυφόροι παρέχουν πολλές πληροφορίες για τη μελέτη των γενετικών σχέσεων μεταξύ στενά συνδεδεμένων φυτικών ειδών καθώς και μεταξύ υποπληθυσμών ενός είδους (Bowcock *et al.*, 1994), λόγω του εξαιρετικά υψηλού βαθμού πολυμορφισμών. Στα περισσότερα φυτικά είδη, ο βαθμός των ανιχνεύσιμων

πολυμορφισμών είναι 10 φορές μεγαλύτερος σε σχέση με τους RFLP δείκτες (Akkaya *et al.*, 1992). Επίσης, οι SSRs είναι συγκυρίαρχοι δείκτες και η ανάλυσή τους μπορεί να αυτοματοποιηθεί (Hernandez *et al.*, 2002). Αυτά τα χαρακτηριστικά είναι ουσιαστικά για την αποτελεσματική διαφοροποίηση στενά συνδεδεμένων σειρών (Akkaya *et al.*, 1992). Τέλος, οι απλές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες θεωρούνται ως ιδανικοί δείκτες για τη χαρτογράφηση του γενώματος (Morgante and Olivieri, 1993).

AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms) : Πολλαπλασιασμός Πολυμορφικών Τμημάτων DNA εκ Περιορισμού

Οι AFLPs είναι τμήματα DNA (50-800 bp) που προκύπτουν μετά από κοπή με περιοριστικά ένζυμα και επιλεκτικό πολλαπλασιασμό με την PCR. Οι εκκινητές της PCR αποτελούνται από μια βασική αλληλουχία, ένα περιοριστικό ένζυμο συγκεκριμένης αλληλουχίας και 1-5 εκλεκτικά νουκλεοτίδια. Όσο πιο μεγάλος είναι ο αριθμός των νουκλεοτιδίων τόσο λιγότερες οι ζώνες που προκύπτουν. Οι ζώνες είναι αποτέλεσμα διαφορών στα σημεία που κόβουν τα ένζυμα ή μεταξύ των σημείων αυτών. Η τεχνική των AFLP δεικτών παράγει τμήματα από πολλές γενωμικές περιοχές (συνήθως 50-100 τμήματα ανά αντίδραση) που διαχωρίζονται με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης (Spooner *et al.*, 2005).

Τα πλεονεκτήματά τους είναι η υψηλή γενωμική τους αφθονία, η αρκετά μεγάλη επαναληψιμότητά τους, η παραγωγή πολλών και πληροφοριακών ζωνών ανά αντίδραση, το μεγάλο εύρος εφαρμογής τους, το γεγονός ότι δεν απαιτούνται δεδομένα αλληλούχησης για την κατασκευή των εκκινητών και το ότι η ανάλυσή τους μπορεί να αυτοματοποιηθεί (Spooner *et al.*, 2005).

Τα μειονεκτήματά τους είναι ότι απαιτούν καθαρό, υψηλού μοριακού βάρους DNA και το ότι είναι κυρίαρχοι. Επίσης, εξαιτίας του μεγάλου αριθμού και της διαφορετικής συχνότητας των ζωνών, είναι αναγκαίο να δημιουργηθούν ακριβή αλλά υποκειμενικά κριτήρια για την αποδοχή ζωνών κατά την ανάλυση. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στο γεγονός ότι οι ζώνες δεν είναι πάντα ανεξάρτητες. Αυτό είναι σημαντικό στη μελέτη γενετικών σχέσεων, γιατί έτσι αυξάνεται το βάρος των μη ανεξάρτητων ζωνών (Spooner *et al.*, 2005).

Λόγω των πολύ πληροφοριακών προφίλ που δίνουν οι AFLPs μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μελέτες που σχετίζονται με την γενετική ταυτοποίηση, με την

καταγωγή και αναγνώριση κλώνων και ποικιλιών καθώς και σε φυλογενετικές μελέτες στενά συνδεδεμένων ειδών. Η υψηλή γενωμική τους αφθονία και γενικά η τυχαία κατανομή τους σε όλο το γονιδίωμα, τους κάνει πολύ χρήσιμους στη δημιουργία γενετικών χαρτών (Vos *et al.*, 1995).

2.8.2. Επιλογή τεχνικής μοριακών δεικτών

Η επιλογή ενός δείκτη για τη βελτίωση των φυτών, εξαρτάται από το στόχο της εργασίας, τη δομή του πληθυσμού, τη γενετική ποικιλομορφία των ειδών που ερευνώνται, τη διαθεσιμότητα των τεχνικών μοριακών δεικτών, τον χρόνο που απαιτείται για την ανάλυση καθώς και το κόστος εφαρμογής (Staub *et al.*, 1996).

Κάθε δείκτης έχει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα και επομένως είναι σημαντικό να γίνει εκτίμηση για κάθε ένα από αυτούς όπως επίσης για την πιθανή ωφέλεια από αυτούς πριν από τη χρήση τους. Για παράδειγμα, χάρτες που αναφέρονται στο ίδιο είδος, μπορούν να κατασκευαστούν με μια κοινή σειρά RFLP εκκινήτων. Εντούτοις κάθε είδος αρχικά απαιτεί την κατασκευή ενός χάρτη. Ο βαθμός πολυμορφισμού στα είδη παίζει επίσης ρόλο στην επιλογή δείκτη. Για παράδειγμα, σε αυτοεπικονιαζόμενα είδη, οι RAPD's είναι πιο χρήσιμοι για να ανιχνεύσουν πολυμορφισμούς μέσα σε ένα σύνολο γονιδίων σε σχέση με τους RFLPs. Επιπλέον η χρήση ενός δείκτη σε ένα είδος δεν αποτελεί ένδειξη της αποτελεσματικότητάς του και σε ένα άλλο είδος (Staub *et al.*, 1996).

Τα συστήματα δεικτών διαφέρουν ως προς την χρησιμότητά τους στους πληθυσμούς, τα είδη και τα γένη καθώς επίσης και στην αποτελεσματικότητά τους στον εντοπισμό του πολυμορφισμού. Για παράδειγμα, RFLPs που χαρτογραφήθηκαν σε ένα πληθυσμό μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως ανιχνευτές για να χαρακτηρίσουν άλλους πληθυσμούς μέσα στο ίδιο είδος. Σε αντιπαράθεση, οι SSRs μπορούν να είναι τόσο πληροφοριακοί όσο και οι RFLPs, αλλά πολυμορφικοί εκκινήτες που έχουν προσδιοριστεί σε ένα είδος μπορεί να μην είναι χρήσιμοι σε άλλα είδη. Χάρτες που χρησιμοποιούν RAPDs και AFLPs μπορούν να κατασκευαστούν σε μια ανάλογη μικρή περίοδο. Τέτοιοι δείκτες όμως δεν είναι χρησιμοποιήσιμοι σε πληθυσμούς γιατί κάθε δείκτης προσδιορίζεται κατά κύριο λόγο από το μήκος του και όχι από την αλληλουχία του. Επιπλέον ζώνες με το ίδιο μέγεθος, από πληθυσμούς ή είδη, δεν σημαίνει ότι έχουν οπωσδήποτε την ίδια αλληλουχία, εκτός αν διερευνηθεί με υβριδισμό (Thormann *et al.*, 1994). Σε

αντίθεση με τους RFLPs αυτοί οι δείκτες έχουν όλα τα πλεονεκτήματα των συστημάτων που βασίζονται σε PCR (π.χ. απαίτηση μικρού δείγματος, μεγάλο όγκο έργου, πιο γρήγορη επιλογή). Αυτά τα πλεονεκτήματα μηδενίζονται αν ο πολυμορφισμός μέσα σε ένα είδος είναι χαμηλός. Όταν ο βαθμός πολυμορφισμού είναι χαμηλός, επιλέγονται συνήθως οι SSRs ως δείκτες. Εντούτοις το κόστος και ο χρόνος που απαιτείται για να αναπτυχθούν αυτοί οι δείκτες είναι μεγάλος (Staub *et al.*, 1996).

Το κόστος εξαρτάται από τον χρόνο που απαιτείται για την εξαγωγή του DNA, το ποσό του DNA που απαιτείται για ανάλυση, το κατά πόσο η κλωνοποίηση και η αλληλούχηση είναι απαραίτητη, το βαθμό κατά τον οποίο η παραλλακτικότητα των αλληλομόρφων μπορεί να αποδοθεί στις ζώνες (κυρίαρχοι, συγκυρίαρχοι), όπως επίσης και από το εάν το σύστημα ηλεκτροφόρησης μπορεί να αυτοματοποιηθεί, ώστε να αξιοποιεί πληροφορίες από ήδη ανεπτυγμένους γενετικούς χάρτες. Συγκυρίαρχοι δείκτες, όπως οι RFLPs, είναι χρήσιμοι για επιλογή και για έρευνες που αφορούν την εξέλιξη αλλά η χρήση τους καταναλώνει χρόνο, είναι σχετικά δαπανηροί και μπορεί να προϋποθέτουν τεχνική εμπειρία. Συχνά το υψηλό κόστος για την ανάπτυξη ενός RFLP δείκτη σε ένα νέο είδος ή η ανικανότητα για επιλογή που οφείλονται στη μεγάλη ποσότητα DNA που απαιτείται σε συνδυασμό με την αργή διαδικασία ανίχνευσης, οδηγούν στο να προτιμηθούν άλλα συστήματα δεικτών. Παρόλα αυτά οι RFLPs προσδίδουν πλεονέκτημα στην συστηματική και εξελικτική μελέτη γιατί, σε αντίθεση με τις περισσότερες τεχνικές που βασίζονται στην PCR και οι οποίες ανιχνεύουν ποικιλομορφία μεταξύ 20-40 βάσεων, βασίζονται στην ομολογία ανάμεσα σε μεγάλα θραύσματα DNA. Η χρήση των δεικτών αυτών είναι ακόμη πιο αποτελεσματική αν οι πολυμορφισμοί είναι άφθονοι (Staub *et al.*, 1996).

Πίνακας 6: Γενική επισκόπηση των κύριων μοριακών τεχνικών

	RFLP	RAPD	SSR	AFLP
Συχνότητα στο γένωμα	Υψηλή	Υψηλή	Υψηλή	Υψηλή
Επίπεδο πολυμορφισμού	Μέτριο	Μέτριο	Υψηλό	Μέτριο
Εξειδίκευση τόπων	Ναι	Όχι	Ναι	Όχι
Συγκυριαρχία αλληλομόρφων	Ναι	Όχι	Ναι	Όχι
Επαναληψιμότητα	Υψηλή	Χαμηλή	Υψηλή	Μέτρια-Υψηλή
Ένταση εργασίας	Υψηλή	Χαμηλή	Χαμηλή	Μέτρια
Τεχνικές απαιτήσεις	Υψηλή	Χαμηλή	Χαμηλή-Μέτρια	Μέτρια
Λειτουργικό κόστος	Υψηλό	Χαμηλό	Χαμηλό	Μέτριο
Κόστος ανάπτυξης	Μέτριο-Υψηλό	Μέτριο-Χαμηλό	Υψηλό	Χαμηλό
Απαιτούμενη ποσότητα DNA	Υψηλή	Χαμηλή	Χαμηλή	Μέτρια
Επιδεκτικότητα σε αυτοματοποίηση	Όχι	Ναι	Ναι	Ναι

(Πηγή : Spooner *et al.*, 2005)

2.8.3. Κατασκευή γενετικών χαρτών

Η ανάπτυξη της τεχνολογίας των μοριακών δεικτών και η αναγνώριση πολλών περιοχών δεικτών προκάλεσε ένα νέο ενδιαφέρον στη γενετική χαρτογράφηση.

Η κατασκευή ενός γενετικού χάρτη απαιτεί την επιλογή του πιο κατάλληλου πληθυσμού για χαρτογράφηση, τον υπολογισμό της συχνότητας των ανασυνδυασμών ανά ζεύγη, τη δημιουργία ομάδων συνδέσεως, τον υπολογισμό των αποστάσεων στο χάρτη και τον καθορισμό της σειράς των γονιδίων στο χάρτη (Staub *et al.*, 1996).

Επειδή μεγάλοι πληθυσμοί χαρακτηρίζονται συχνά με διαφορετικούς δείκτες, η κατασκευή των χαρτών γίνεται με την βοήθεια των ηλεκτρονικών υπολογιστών. Πολλά ηλεκτρονικά πακέτα (softwares) έχουν αναπτυχθεί για να βοηθήσουν στην ανάλυση των γενετικών δεδομένων, όπως το Linkage I (Suiter *et al.*, 1983), το GMendel (Echt *et al.*, 1992), το Mapmaker (Lander and Bostein 1986; Landers *et al.*, 1987), το MapManager (Manly and Elliot, 1991) και το JoinMap (Stam, 1993). Τα προγράμματα αυτά, χρησιμοποιούν δεδομένα που έχουν αποκτηθεί από πληθυσμούς για να υπολογίσουν την συχνότητα των ανασυνδυασμών και έτσι να

καθορίσουν τη γραμμική διευθέτηση των γενετικών δεικτών, ελαχιστοποιώντας τις αποστάσεις.

2.8.4.Χαρτογράφηση πληθυσμών

Η επιλογή του πληθυσμού είναι σημαντική για μια επιτυχημένη κατασκευή γενετικού χάρτη. Επειδή η οικονομική σημασία ενός χάρτη εξαρτάται από τις σχέσεις δείκτη – γνωρίσματος, θα πρέπει στα γενετικά αποθέματα που επιλέγονται ως γονείς να περιλαμβάνονται όσο γίνεται περισσότερα κληρονομούμενα ποιοτικά μορφολογικά γνωρίσματα. Προσοχή επίσης θα πρέπει να δοθεί στην καταγωγή των γονέων. Το ζευγάρι των χρωμοσωμάτων και ο ρυθμός των ανασυνδυασμών μπορούν να διαταραχθούν πολύ σε ευρείες διασταυρώσεις και γενικά αποδίδουν πολύ μειωμένες αποστάσεις συνδέσεως (Albini and Jones, 1987; Zamir and Tadmor, 1986). Οι ευρείες διασταυρώσεις συνήθως παράγουν διασπώμενους πληθυσμούς με μια σχετικά μεγάλη σειρά πολυμορφισμών, συγκρινόμενοι με τους απογόνους που προέρχονται μετά από στενή διασταύρωση (Staub *et al.*, 1996).

Η επιλογή του κατάλληλου πληθυσμού που θα χαρτογραφηθεί εξαρτάται από τον τύπο του γενετικού δείκτη που θα χρησιμοποιηθεί (Tanksley *et al.*, 1988). Οι περισσότερες γενετικές πληροφορίες προκύπτουν από πλήρως ταξινομημένο F₂ πληθυσμό με χρησιμοποίηση ενός συγκυρίαρχου δείκτη (Mather, 1938). Οι πληροφορίες από ένα κυρίαρχο δείκτη, μπορεί να είναι ισάζιες για έναν πλήρως ταξινομημένο F₂ πληθυσμό, αν οι έλεγχοι των απογόνων χρησιμοποιούνται για να αναγνωριστούν ετεροζύγωτα F₂ άτομα. Αυτή η διαδικασία είναι συνήθως απαγορευτική λόγω του κόστους και του χρόνου που απαιτείται στους ελέγχους των απογόνων (Staub *et al.*, 1996).

Οι κυρίαρχοι δείκτες παρέχουν τον ίδιο αριθμό πληροφοριών με τους συγκυρίαρχους στις ανασυνδυασμένες ομομεικτικές σειρές, στα διαπλοειδή ή σε αναδιασταυρούμενους πληθυσμούς στη φάση της σύζευξης (Burr *et al.*, 1988). Οι πληροφορίες που προκύπτουν από κυρίαρχους δείκτες μπορούν να μεγιστοποιηθούν με τη χρησιμοποίηση καθαρών σειρών ή διαπλοειδών επειδή όλες οι γονιδιακές περιοχές είναι ομόζυγες ή σχεδόν ομόζυγες. Κάτω από συνθήκες στενής σύνδεσης και οι κυρίαρχοι και οι συγκυρίαρχοι δείκτες που χρησιμοποιούνται σε καθαρές σειρές παρέχουν περισσότερες πληροφορίες ανά άτομο από οποιοδήποτε τύπο δείκτη που χρησιμοποιείται σε αναδιασταυρούμενους πληθυσμούς (Reiter *et al.*, 1992).

Παρόλα αυτά, όσο η απόσταση μεταξύ των δεικτών γίνεται μεγαλύτερη, για παράδειγμα οι γονιδιακές περιοχές γίνονται πιο ανεξάρτητες και οι πληροφορίες που προκύπτουν στους πληθυσμούς καθαρών σειρών μειώνονται δραματικά συγκρινόμενες με τους συγκυρίαρχους δείκτες (Staub *et al.*, 1996).

Οι αναδιασταυρώμενοι πληθυσμοί μπορεί να είναι χρήσιμοι στην χαρτογράφηση κυρίαρχων δεικτών, αν όλες οι περιοχές γονιδίων του επαναλαμβανόμενου γονέα είναι ομόζυγες και αν ο δότης και ο επαναλαμβανόμενος γονέας έχουν αντίθετους πολυμορφικούς αλληλόμορφους δείκτες (Reiter *et al.*, 1992). Οι πληθυσμοί αυτοί είναι πιο πληροφοριακοί, συγκρινόμενοι με τους πληθυσμούς καθαρών σειρών, όσο η απόσταση μεταξύ των συνδεδόμενων περιοχών αυξάνεται στους δευτέρους (Staub *et al.*, 1996).

Οι έλεγχοι των απογόνων F_2 ατόμων συχνά χρησιμοποιούνται στην κατασκευή γενετικών χαρτών, όταν οι φαινότυποι δεν αντικατοπτρίζουν με συνέπεια τους γενοτύπους ή όταν η έκφραση των γνωρισμάτων ελέγχεται από QTLs (Staub *et al.*, 1996). Έχει αναπτυχθεί μία μέθοδος για την γρήγορη ταυτοποίηση των σχέσεων, χρησιμοποιώντας την Ανάλυση Διαχωρισμού Μεγέθους (Bulked Segregant Analysis BSA) (BSA; Michelmore *et al.*, 1991). Στην BSA δύο ανάμεικτα δείγματα λαμβάνονται από ένα διασπώμενο πληθυσμό που προέρχεται από μια διασταύρωση. Αυτά τα δείγματα περιέχουν άτομα που είναι όμοια για κάποιο συγκεκριμένο γνώρισμα, όπως η ανθεκτικότητα σε κάποια ασθένεια. Εξετάζονται για πολυμορφισμούς DNA και οι διαφορές συγκρίνονται με ένα τυχαίο γενετικό υπόβαθρο μη συνδεδόμενων περιοχών. Έτσι, οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων αποτελούν ένδειξη δεικτών που συνδέονται με κάποιο συγκεκριμένο χαρακτηριστικό. Η BSA ξεπερνά κάποια προβλήματα που συνδέονται με τη χρήση σχεδόν ισογονιδιακών σειρών, οι οποίες απαιτούν πολλές αναδιασταυρώσεις για να αναπτυχθούν. Εκεί όπου μόνο ένα μέρος της πολυμορφικής θέσης αναμένεται να χαρτογραφηθεί για μια επιλεγμένη περιοχή χρησιμοποιώντας τις σχεδόν ισογονιδιακές σειρές, περιοχές μη συνδεδόμενες με την περιοχή-στόχο δεν θα διαφέρουν μεταξύ των ανάμεικτων δειγμάτων πολλών ατόμων στην BSA. Επιπροσθέτως, όλες οι γονιδιακές περιοχές που εντοπίζονται κατά την BSA διαχωρίζονται και μπορούν να χαρτογραφηθούν, μειώνοντας έτσι τα προβλήματα συνδέσεως που σχετίζονται με τις σχεδόν ισογονιδιακές σειρές (Staub *et al.*, 1996).

2.8.5.Υπολογισμός των ανασυνδυναζόμενων τμημάτων

Το ποσοστό ανταλλαγής ορίζει την απόσταση δύο θέσεων στο χάρτη. Η σχέση μεταξύ απόστασης στο χάρτη και τιμής ποσοστού ανταλλαγής χαρακτηρίζεται από μία γενετική συνάρτηση χαρτογράφησης (mapping function, mf). Η mf είναι μία φόρμουλα που εκφράζει ποσοτικές σχέσεις μεταξύ αποστάσεων σε ένα χάρτη, χρησιμοποιώντας τη συχνότητα των ανασυνδυασμών. Υπάρχουν πολλοί τύποι συναρτήσεων χαρτογράφησης που μπορούν να εφαρμοστούν, ανάλογα με τον υποτιθέμενο βαθμό παρεμβολής των ανασυνδυασμών που αντιπροσωπεύει καλύτερα τον πληθυσμό προς χαρτογράφηση (Staub *et al.*, 1996). Οι πιο συνήθεις συναρτήσεις χαρτογράφησης αναπτύχθηκαν από τους Haldane (1919) και Kosambi (1944). Η mf του Haldane υποθέτει απουσία παρεμβολής, ενώ του Kosambi λαμβάνει υπόψη θετική παρεμβολή.

Η συχνότητα των ανασυνδυασμένων γαμετών που παράγονται μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης απόστασης μεταξύ δύο περιοχών σε ένα χρωμόσωμα (1 μονάδα χάρτη = περίπου 1 cM). Η απόσταση στον χάρτη παρόλα αυτά δεν είναι τελείως προσθετική. Η αθροιστικότητα βασίζεται στη υπόθεση ότι ο μέσος αριθμός ανασυνδυασμών ανά χρωματίδιο μεταξύ δύο θέσεων, είναι απευθείας ανάλογος με την απόσταση μεταξύ δύο θέσεων. Η συχνότητα των ανασυνδυασμών και η απόσταση στο χάρτη είναι απευθείας ανάλογα. Οι υπολογισμοί της συχνότητας των ανασυνδυασμών θα είναι πιο αξιόπιστοι όταν τα γονίδια είναι στενά συνδεδεμένα (από 1-10 μονάδες στο χάρτη). Το ποσοστό ανασυνδυασμού είναι ισοδύναμο με την απόσταση στον χάρτη μόνο στο εύρος της ελάχιστης απόστασης για ανασυνδυασμό, διότι οι διπλοί ανασυνδυασμοί συμβαίνουν με σημαντική συχνότητα. Η πραγματική απόσταση στον χάρτη μεταξύ δύο γονιδίων τείνει να υποεκτιμάται, έτσι που σε μεγάλες αποστάσεις στον χάρτη τα δύο γονίδια θα είναι απευθείας ανεξάρτητα μεταξύ τους (Kosambi, 1944)

Τα γεγονότα διασταύρωσης μπορούν να περιγραφούν ως ποσοστό ανταλλαγής στους απογόνους. Μόνο τα μισά από τα μειωτικά προϊόντα θα είναι ανασυνδυασμοί όταν ένα χiasma σχηματίζεται μεταξύ των δύο περιοχών. Πολλαπλοί ανασυνδυασμοί μπορούν επίσης να εντοπιστούν μέσω της παρατήρησης των φαινοτύπων των απογόνων. Τα απλά ανασυνδυασμένα γεγονότα δεν είναι ανεξάρτητα και ο αριθμός των διπλών ανασυνδυασμένων γεγονότων είναι συνήθως μικρότερος από ότι προβλέφθηκε. Αυτή η θετική παρεμβολή ποικίλει και εξαρτάται από τον οργανισμό, την ανασυνδυαζόμενη περιοχή, καθώς και από περιβαλλοντικούς ή ποικίλους άλλους

παράγοντες. Γι' αυτό ακριβείς υπολογισμοί διπλών ανασυνδυασμών μπορούν να εξαχθούν μόνο όταν η παρεμβολή λαμβάνεται υπόψη. Η παρεμβολή μετράται με τον συντελεστή σύμπτωσης (coefficient of coincidence, CC), ο οποίος είναι μια έκφραση του λόγου των παρατηρούμενων διπλών ανασυνδυασμών προς τους αναμενόμενους σε ένα χάρτη. Η αναμενόμενη συχνότητα διπλών ανασυνδυασμών είναι προβλέψιμη όταν δύο ανασυνδυασμοί είναι ανεξάρτητα γεγονότα ή αν η παρεμβολή μπορεί να μετρηθεί (Staub *et al.*, 1996).

2.8.6. Προσδιορισμός γονιδιακών θέσεων που ελέγχουν ποσοτικά γνωρίσματα (QTLs)

Σε αντίθεση με την κλασική μέθοδο εντοπισμού απλών γονιδιακών γνωρισμάτων, διαφορετικές μέθοδοι έχουν προταθεί για τον εντοπισμό των QTLs. Τέτοιες μέθοδοι επιχειρούν να προσδιορίσουν το βαθμό της ολικής γενετικής διακύμανσης που συνεισφέρει στην διακύμανση ενός γνωρίσματος. Έλεγχος για την σχέση QTL - γνωρίσματος μπορεί να περιλαμβάνει την εκτίμηση ενός δείκτη, δύο περιοχών δεικτών συγχρόνως ή την εκτίμηση όλων των πιθανών περιοχών δεικτών. Τυπική σύγκριση με ένα δείκτη είναι η χρήση της one-way ανάλυσης της παραλλακτικότητας (F κριτήριο) για την ανάλυση των απογόνων μιας αναδιασταύρωσης και σύγκριση των μέσων όρων των γενοτύπων των δεικτών (t κριτήριο) για τους πληθυσμούς της αναδιασταύρωσης και της F₂ (Soller *et al.*, 1976; Stuber *et al.*, 1992). Η προσέγγιση αυτή παραβλέπει τον πιθανό ανασυνδυασμό μεταξύ του δείκτη και ενός QTL, και έτσι οδηγεί σε μια υποεκτίμηση της επίδρασης των QTLs, αν ο δείκτης και τα QTLs δεν συμπίπτουν (Edwards *et al.*, 1987).

Η μέθοδος που χρησιμοποιεί δύο γονιδιακές περιοχές δεικτών συγχρόνως, συγχωνεύει διαστήματα στον χάρτη, χρησιμοποιώντας τη μέγιστη πιθανότητα ανάλυσης ενός QTL το οποίο έχει εκατέρωθεν δύο περιοχές δείκτη (Lander and Botstein, 1989; Paterson *et al.*, 1991). Η προσέγγιση αυτή αναπτύχθηκε για να εκμεταλλευτεί τις επιπρόσθετες πληροφορίες που παρέχουν οι χάρτες σύνδεσης που έχουν ένα υψηλό βαθμό κορεσμού, όπως συμβαίνει στην τομάτα και το καλαμπόκι (Paterson *et al.*, 1991; Doebly and Stec, 1991). Επιτρέπει επίσης την εκτίμηση της επίδρασης ποσοτικών γνωρισμάτων σε κάθε περιοχή μέσα στο διάστημα του δείκτη, βασιζόμενη στους μέσους όρους και τις διακυμάνσεις που παρατηρούνται στις

κατηγορίες των δεικτών και στον ανασυνδυασμό της συχνότητας μεταξύ των δεικτών (Lander and Botstein, 1989).

Η εκτίμηση όλων των περιοχών δεικτών ταυτοχρόνως, είναι πολύπλοκη και περιλαμβάνει σύγκριση της έκφρασης των γνωρισμάτων σε πολλαπλές περιοχές δεικτών (Cowen, 1989; Rodolphe and Lefort, 1993; Stam, 1993).

Ανεξάρτητα από τη μέθοδο που χρησιμοποιείται, η επιτυχία της επιλογής με τη βοήθεια των δεικτών (MAS) εξαρτάται από την ικανότητα να προσδιοριστούν τα QTLs, καθώς και την έκφραση των QTLs σε διάφορα περιβάλλοντα και γενεές (Dijkhuizen, 1994; Lande and Thompson, 1990; Shoemaker *et al.*, 1994).

2.9. ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΒΑΜΒΑΚΙΟΥ

Τον τελευταίο καιρό οι μοριακές τεχνικές χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο στη βελτίωση του βαμβακιού. Οι δείκτες DNA είναι ένα υποσχόμενο γενετικό εργαλείο που παρέχει τη δυνατότητα να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα της επιλογής στο βαμβάκι (Meredith, 1995). Οι μοριακοί δείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη γονιδίων που ελέγχουν απλά αλλά και σύνθετα γνωρίσματα. Τα περισσότερα σημαντικά χαρακτηριστικά του βαμβακιού είναι ποσοτικά, όπως η απόδοση και τα συστατικά της, καθώς και τα χαρακτηριστικά της ποιότητας της ίνας. Για το λόγο αυτό, έχουν δημιουργηθεί πολλοί γενετικοί χάρτες στο βαμβάκι στους οποίους προσδιορίζονται γονιδιακοί τόποι ποσοτικών γνωρισμάτων QTLs.

Αρκετοί χάρτες που βασίζονται σε πληθυσμούς ενδοειδικών διασταυρώσεων upland βαμβακιού έχουν κατασκευαστεί. Οι Shappley *et al.* (1998) κατασκεύασαν ένα γενετικό χάρτη με 100 QTLs που ανήκουν σε 24 ομάδες συνδέσεως με τη χρησιμοποίηση RFLP δεικτών. Αναφέρουν ότι πολλά QTLs επηρεάζουν περισσότερα από ένα γνωρίσματα. Οι Ulloa και Meredith (2000) χρησιμοποίησαν επίσης RFLPs και δημιούργησαν έναν χάρτη με 26 QTLs τα οποία σχετιζόταν με αγρονομικά γνωρίσματα και χαρακτηριστικά της ίνας. Οι χάρτες όμως αυτοί των ενδοειδικών διασταυρώσεων χαρακτηριζόταν από χαμηλή κάλυψη του γενώματος με δείκτες (Lin *et al.*, 2005).

Καθώς οι πολυμορφισμοί εντός του *G.hirsutum* ήταν ελάχιστοι, οι ερευνητές στράφηκαν στα διειδικά υβρίδια *G.hirsutum* x *G.barbadense* τα οποία εμφάνιζαν ένα αυξημένο αριθμό πολυμορφικών περιοχών. Οι περισσότεροι από τους μεγαλύτερους γενετικούς χάρτες στο βαμβάκι έχουν βασιστεί σε διειδικούς πληθυσμούς (Lin *et al.*, 2005).

Οι Reinish *et al.* (1994) αναφέρουν τον πρώτο γενετικό χάρτη βαμβακιού που κάλυπτε ένα μεγάλο τμήμα του γενώματος. Αυτός ο χάρτης βασίστηκε σε ένα διειδικό F₂ πληθυσμό, περιελάμβανε 705 RFLP περιοχές που ανήκαν σε 41 ομάδες συνδέσεως και είχε ολικό μήκος 4675 cM.

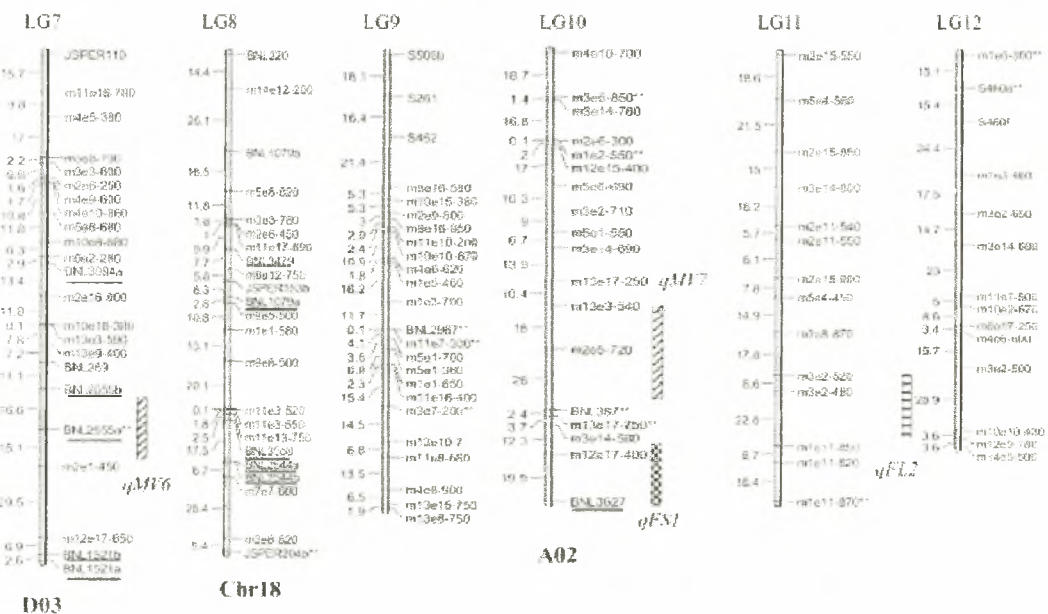
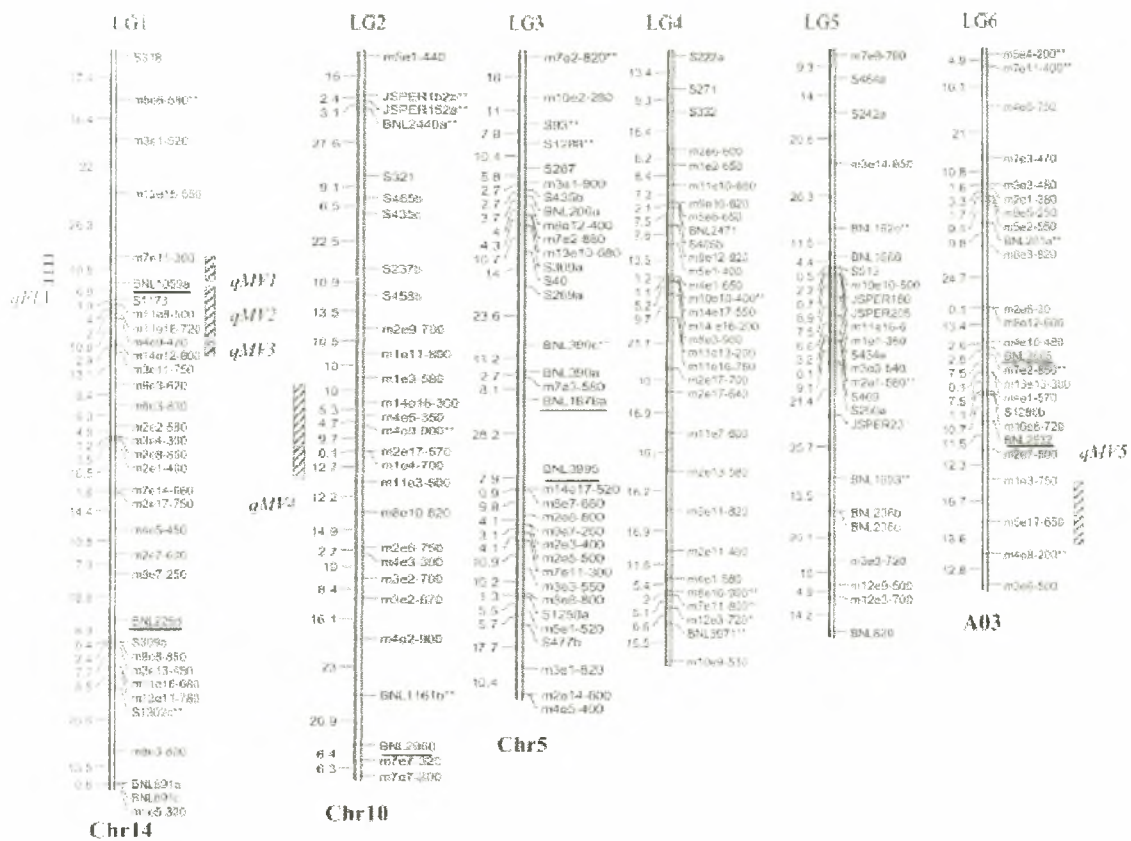
Οι Ulloa *et al.* (2000) χρησιμοποίησαν έναν διασπώμενο διειδικό πληθυσμό από τη διασταύρωση *pima* x *upland*. Δημιούργησαν ένα χάρτη βασιζόμενο σε RAPDs και SSRs και προσδιόρισαν δύο QTLs που ελέγχουν την στοματική αγωγιμότητα. Παρατήρησαν ότι η επιλογή για υψηλή στοματική αγωγιμότητα έχει έμμεση επίδραση στην απόδοση σε ίνα, η οποία αυξάνεται σημαντικά.

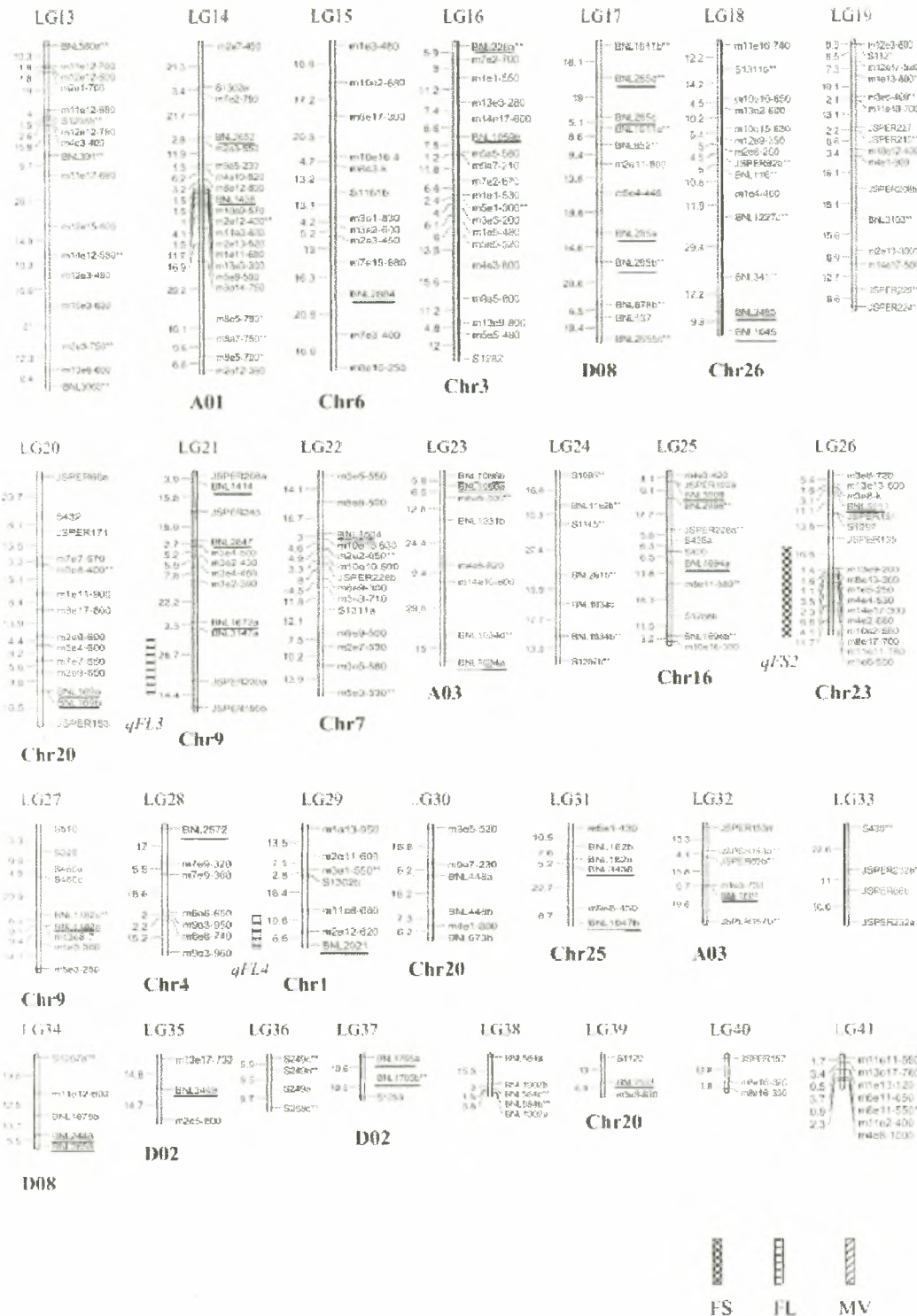
Στη συνέχεια οι Kohel *et al.* (2001) κατασκεύασαν ένα χάρτη με τη βοήθεια RAPD και RFLP δεικτών βασιζόμενοι σε ένα διειδικό πληθυσμό μεταξύ της ποικιλίας TM-1 (*G.hirsutum*) και της 3-79 (*G.barbadense*). Αναγνωρίστηκαν 13 περιοχές ποσοτικών γνωρισμάτων που ελέγχουν την αντοχή, το μήκος και την λεπτότητα της ίνας σε διαφορετικά χρωμοσώματα, αποδεικνύοντας την πολυγονιδιακή κληρονομηση αυτών των χαρακτηριστικών.

Οι Kohel και Yu (2002) αναφέρουν ένα χάρτη που αποτελείται από 868 δείκτες, οι 256 από τους οποίους είναι RFLPs, οι 152 RAPDs, οι 198 SSRs, οι 267 AFLPs καθώς και 5 μορφολογικοί δείκτες. Οι δείκτες αυτοί ανήκουν σε 50 ομάδες συνδέσεως και καλύπτουν περίπου 5000 cM του γενώματος του βαμβακιού. Ο χάρτης αυτός βασίζεται στον πληθυσμό που χρησιμοποίησαν και οι Kohel *et al.*, (2001).

Επιπροσθέτως, οι Lacape *et al.* (2003) δημιούργησαν ένα χάρτη 888 περιοχών χρησιμοποιώντας RFLPs, SSRs και AFLPs καθώς και δύο μορφολογικούς δείκτες, που αντιπροσωπεύουν τα περισσότερα, αν όχι όλα, από τα 26 χρωμοσώματα. Με την κατασκευή ενός RFLP χάρτη από τους Paterson *et al.* (2003) προσδιορίστηκαν QTLs υπεύθυνα για το μήκος, την ομοιομορφία, την επιμήκυνση, την αντοχή, την λεπτότητα και το χρώμα της ίνας. Στην εργασία τους περιγράφουν την επίδραση της άρδευσης και των συνθηκών ανάπτυξης, στο γενετικό έλεγχο της ποιότητας της ίνας. Είναι αξιοσημείωτο ότι αναγνωρίστηκαν 17 QTLs σε συνθήκες περιορισμένης

άρδευσης, ενώ σε συνθήκες επαρκούς άρδευσης αναγνωρίστηκαν μόνο 2. Τέλος, οι *Lin et al.* (2005) δημιούργησαν ένα γενετικό χάρτη με δείκτες SPARs, SSRs και RAPDs οι οποίοι εμφάνισαν 749 πολυμορφικές περιοχές. Ο χάρτης κάλυπτε 5141,8 cM και προσδιορίστηκαν 13 QTLs που σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά της ίνας, μεταξύ των οποίων δύο για αντοχή της ίνας, τέσσερα για μήκος και επτά για την τιμή του micronaire. Στην Ελλάδα, οι *Linos et al.*, (2002) χρησιμοποίησαν δείκτες RAPDs για να περιγράψουν τις γενετικές διαφορές μεταξύ εμπορικών ποικιλιών βαμβακιού και να εντοπίσουν πολυμορφισμούς στις ποικιλίες αυτές με σκοπό να δημιουργήσουν πολυμορφικούς δείκτες για γενοτυπική αναγνώριση.





2.1. Continued.

(Πηγή : Lin *et al.*, 2005)

Εικ. 6: Γενετικός χάρτης τετραπλοειδούς βαμβακιού βασισμένος σε SPARs, SSRs και RAPDs που περιλαμβάνει 41 ομάδες συνδέσεως και καλύπτει 5141,8 cM.

2.10. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της εργασίας ήταν η αξιολόγηση του παραγωγικού δυναμικού 20 οικογενειών μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού, σε συνδυασμό με τα χαρακτηριστικά ποιότητας της ίνας του. Συγκεκριμένα, εκτιμήθηκε η γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ και εντός των οικογενειών, με βάση μορφολογικούς δείκτες, η ομοιομορφία των σειρών και η ομοιότητα με τους μητρικούς γενοτύπους, ως έκφραση γενοτυπικής σταθερότητας. Επιπλέον, με τη βοήθεια μοριακής γενετικής ανάλυσης με δείκτες τύπου RAPD, εκτιμήθηκε η γενετική συγγένεια μεταξύ των εξεταζόμενων οικογενειών μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού, με τάση να αξιοποιηθούν (πρώιμη επιλογή και χρήση σε προγράμματα αναδιασταυρώσεων). Τέλος, έγινε έλεγχος των ημιγόνιμων και άγονων γενοτύπων για την κατανόηση και απόδοση της συμπεριφοράς τους σε παράγοντες αρρενοστεριότητας, σε κυτογενετικές αλλαγές ή σε αλληλεπιδράσεις με το περιβάλλον.

3.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. ΤΡΙΠΛΟ ΔΙΚΤΥΩΤΟ

3.1.1. ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

Το γενετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν 20 μερικώς διειδικά υβρίδια βαμβακιού P₆ γενεάς, που προήλθαν από αμοιβαίες διασταυρώσεις μεταξύ ποικιλιών του *G.hirsutum* (4S, Acala, Coker) και του *G.barbadense* (B403, Carnak). Συγκεκριμένα, τα φυτά αυτά, προήλθαν από διασταύρωση F₁ διειδικών υβριδίων τα οποία επικονιάστηκαν με γύρη του *Hibiscus cannabinus*. Τα μερικώς διειδικά υβρίδια (P₀) διατηρήθηκαν στις επόμενες γενεές (P₀-P₅) με ελεγχόμενες αυτογονιμοποιήσεις και ελεύθερη επικονίαση. Επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες σύγκρισης η εμπορική ποικιλία Celia, οι μητρικοί γενότυποι Carnak και 4S καθώς και μίγματα σπόρων από την P₄ και P₅ γενεά (Πίνακας 7).

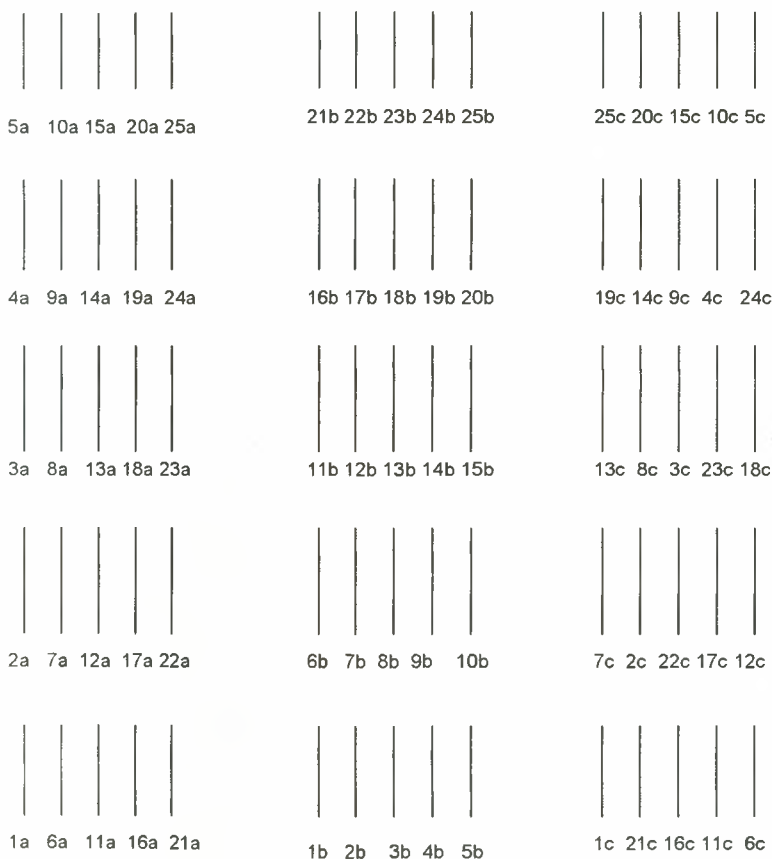
Πίνακας 7: Γενεαλογία του φυτικού υλικού των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού και κωδικοποίηση κατά τα έτη 2002-2005.

2005	2004	2003	2002	
1	1	27	B7-12	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
2	2	1	A1-1	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
3	CARNAK			
4	4	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
5	17	17	A25-1	[(B403xAcala)xHib.cannabinus]
6	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
7	7	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
8	4S			
9	9 (Θ)	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
10	27	9	A3-10	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
11	CELIA			
12	12(B)	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
13	13	4	A3-1	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
14	14	25	B5-5	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
15	15(Θ)	6	A3-5	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
16	16	28	B9-4	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
17	BULK-P4			
18	28(Θ)	18	B5-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
19	29(B)	12	A5-8	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
20	30	7	A3-6	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
21	21	24	B5-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
22	22	15	A20-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
23	24	2	A1-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
24	BULK-P5			
25	25(B)	2	A1-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]

3.1.2. ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Το πείραμα εγκαταστάθηκε στο Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Βελεστίνο, την καλλιεργητική περίοδο 2005-2006. Οι καλλιεργητικές εργασίες που έγιναν κατά το φθινόπωρο του 2004, αφορούσαν ελαφρύ όργωμα με χρήση καλλιεργητή και εφαρμογή ενός κύκλου αμειψισποράς με βίκο. Ένα μήνα πριν τη σπορά, ο βίκος ενσωματώθηκε με φρέζα, ενώ ακολούθησε ένα νέο φρεζάρισμα πριν από τη σπορά.

Η σπορά πραγματοποιήθηκε στις 06/05/2005. Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν το τριπλό δικτυωτό για 25 επεμβάσεις (οικογένειες) σε τρεις επαναλήψεις (Σχήμα 1). Σε κάθε γραμμή φυτεύτηκαν με το χέρι 130 σπόροι περίπου σε απόσταση 10cm μεταξύ τους και σε βάθος 3 cm. Το μήκος κάθε γραμμής ήταν 10 m, ενώ η απόσταση μεταξύ των γραμμών ήταν 1m. Οι επαναλήψεις απείχαν μεταξύ τους 2 m.



Σχήμα 1 : Σχέδιο σποράς πειραματικού αγρού Τριπλού Δικτυωτού

Στις 21/06/05 έγινε αραίωμα με το χέρι έτσι ώστε να μείνουν σε κάθε σειρά περίπου 70 φυτά. Το κριτήριο απομάκρυνσης ήταν καθαρά φαινοτυπικό, δηλαδή απομακρύναμε τα πιο καχεκτικά φυτά.

Κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου εφαρμόστηκαν όλες οι απαραίτητες φροντίδες για τη σωστή ανάπτυξη των φυτών. Η πρώτη άρδευση έγινε στις 10/05/05 και ακολούθησαν άλλα 7 ποτίσματα με στάγδην άρδευση ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Η καταπολέμηση των ζιζανίων έγινε με μια εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου Cottonex, λίγες μέρες μετά τη σπορά, και στη συνέχεια της καλλιεργητικής περιόδου με σκαλίσματα των ζιζανίων με το χέρι, μεταξύ των γραμμών και πάνω στη γραμμή, και με χρήση φρέζας περιφερειακά του πειραματικού αγρού. Συνολικά έγιναν 4 σκαλίσματα. Όσον αφορά τη λίπανση στις 23/06/05 εφαρμόστηκε διαφυλλική λίπανση με Nutrileaf, ενώ στα μέσα περίπου της καλλιεργητικής περιόδου έγινε εφαρμογή αμμωνιακού λιπάσματος και θεικού καλιομαγνήσιου (Patentkali) σε αναλογία 2:1. Μια εβδομάδα περίπου πριν την συγκομιδή έγινε εφαρμογή στο φύλλωμα με Etherphon, για την επιτάχυνση του ανοίγματος των καρυδιών καθώς και για την αποφύλλωση.

Η συγκομιδή του σύσπορου βαμβακιού έγινε με το χέρι κατά τη χρονική περίοδο 9/11/05 έως 11/11/05 και το σύσπορο κάθε σειράς τοποθετήθηκε σε ξεχωριστή σακούλα στην οποία αναγραφόταν ο γενότυπος και ο αριθμός της επανάληψης στην οποία ανήκε.

3.1.3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΣΧΕΔΙΟ

Όπως προαναφέρθηκε, το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν το τριπλό δικτυωτό για 25 επεμβάσεις (οικογένειες) και τρεις επαναλήψεις. Στο σχέδιο αυτό υπάρχει μια τρίτη βασική ομάδα ή επανάληψη, που συμβολίζεται με το Z. Χρειάζονται k^2 επεμβάσεις, όπου k συνήθως από 5 μέχρι 10, r επαναλήψεις, όπου $r=3$ ή πολλαπλάσιο του τρία.

Για να πάρουμε τη διάταξη των επεμβάσεων για τη βασική ομάδα Z προχωρούμε ως εξής : (α) συνδυάζουμε ένα τετράγωνο k^2 επεμβάσεων με ένα Λατινικό Τετράγωνο k^2 γραμμάτων, (β) τυχαιοποιούμε τις επεμβάσεις που έχουν το ίδιο γράμμα (k επεμβάσεις καλύπτονται από A) μέσα στη ίδια μη πλήρη ομάδα και, (γ) τυχαιοποιούμε τις μη πλήρεις ομάδες μέσα στην επανάληψη.

Τα πλεονεκτήματα του τριπλού δικτυωτού σε σχέση με το απλό είναι:

1. Αυξάνεται η ευαισθησία των συγκρίσεων, γιατί η επιπλέον βασική ομάδα Z δίνει και άλλα ζεύγη επεμβάσεων που βρίσκονται στην ίδια μη πλήρη ομάδα.
2. Μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τρεις ή εννιά επαναλήψεις. Οι βελτιωτές φυτών χρησιμοποιούν συχνά το σχέδιο αυτό με τρεις επαναλήψεις σε προκαταρκτικά πειράματα αποδόσεως.

Για να πάρουμε το σχέδιο του τριπλού δικτυωτού θα συνδυάσουμε ένα Λατινικό Τετράγωνο $k^2=25$, που έχει $k=5$ γράμματα (A, B, Γ, Δ, E) και την πρώτη επανάληψη του απλού δικτυωτού ως εξής :

1A	2E	3Δ	4Γ	5B
6B	7A	8E	9Δ	10Γ
11Γ	12B	13A	14E	15Δ
16Δ	17Γ	18B	19A	20E
21E	22Δ	23Γ	24B	25A

Βλέπουμε ότι οι διαγώνιες περιέχουν όμοια γράμματα. Μαζεύουμε τώρα τα ίδια γράμματα και τις αντίστοιχες επεμβάσεις για να πάρουμε την A σειρά, την B σειρά κ.ο.κ., με αποτέλεσμα τα ακόλουθα:

1A	7A	13A	19A	25A
6B	12B	18B	24B	5B
11Γ	17Γ	23Γ	4Γ	10Γ
16Δ	22Δ	3Δ	9Δ	15Δ
21E	2E	8E	14E	20E

Τυχασιοποιούμε τις σειρές (π.χ. A,E,Δ,Γ,B, που δίνει τις επεμβάσεις στη σειρά πάνω στη διαγώνιο) και παίρνουμε τη βασική ομάδα τύπου Z. Οι βασικές ομάδες τύπου X και Ψ είναι όπως και στο απλό δικτυωτό. Παρατηρούμε ότι σε καμία περίπτωση δεν βρίσκουμε μαζί δύο επεμβάσεις σε παραπάνω από μια μη πλήρη ομάδα.

Σχήμα 2: Το σχέδιο του τριπλού δικτυωτού για 25 επεμβάσεις και τρεις επαναλήψεις

ΜΗ ΠΛΗΡΗΣ ΟΜΑΔΑ I (ομάδα τύπου Χ)					ΜΗ ΠΛΗΡΗΣ ΟΜΑΔΑ II (ομάδα τύπου Ψ)				
1	2	3	4	5	1	6	11	16	21
6	7	8	9	10	2	7	12	17	22
11	12	13	14	15	3	8	13	18	23
16	17	18	19	20	4	9	14	19	24
21	22	23	24	25	5	10	15	20	25

ΜΗ ΠΛΗΡΗΣ ΟΜΑΔΑ III (ομάδα τύπου Ζ)				
1	7	13	19	25
21	2	8	14	20
16	22	3	9	15
11	17	23	4	10
6	12	18	24	5

3.1.4. ΛΗΨΗ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΩΝ ΣΤΟΝ ΑΓΡΟ

Κατά τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου της καλλιέργειας ελήφθησαν διάφορες παρατηρήσεις με σκοπό την αναγνώριση των φαινοτύπων που διέθεταν χαρακτηριστικά του *G.hirsutum*, ή/και του *G.barbadense* ή συνδυασμό χαρακτηριστικών από τα δύο είδη. Για το λόγο αυτό καταγράφηκαν τα στοιχεία των φυτών που αφορούσαν :

1. το ποσοστό φυτρώματος σε κάθε σειρά (αριθμός φυτών που φύτρωσαν /συνολικό αριθμό σπόρων που σπάρθηκαν)
2. την ημερομηνία
 - έναρξης άνθησης (1^ο φυτό- 1^ο άνθος) / γενότυπο
 - άνθησης του 50% των φυτών της γραμμής (>50% των φυτών να έχουν έστω ένα λουλούδι)
 - πλήρους άνθησης (το σύνολο των φυτών να έχουν ένα ή περισσότερα λουλούδια)
3. τα μορφολογικά χαρακτηριστικά
 - Τύπος φύλλων (Gb/Gh/Okra)
 - Χρώμα άνθους
 - Ύπαρξη κηλίδας / άνθος
 - Ένταση κηλίδας
 - Ύψος φυτών

4. την ομοιομορφία των σειρών
5. την απόδοση κάθε γενοτύπου.

3.1.5. ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΙΝΑΣ

Προετοιμασία και εκκοκκισμός των δειγμάτων

Από κάθε δείγμα σύσπορου βαμβακιού αποσπάσθηκε ποσότητα περίπου 100 γραμμαρίων, η οποία εκκοκκίσθηκε με εκκοκκιστική μηχανή βάμβακος SDL 010 (ΜΑΚΙΝΕΤΟ). Κάθε δείγμα διαχωρίστηκε σε ίνα και σπόρο καθώς περνούσε από άξονα με οδοντωτά πριόνια που περιστρέφονται. Το εκκοκκισμένο βαμβάκι χρησιμοποιήθηκε για τις μετρήσεις των ποιοτικών χαρακτηριστικών της ίνας, ενώ ο σπόρος αποθηκεύτηκε σε ψυγείο ελεγχόμενων συνθηκών.

3.1.6. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε σύμφωνα με το πειραματικό σχέδιο του τριπλού δικτυωτού 5x5 με τρεις επαναλήψεις. Χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο MSTATC για MS-DOS. Η ανάλυση της διακύμανσης έγινε με το πρόγραμμα ANOVALAT και η σύγκριση των μέσων όρων με το κριτήριο Duncan.

3.2. ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΑΓΡΟΥ ΓΙΑ ΕΛΕΓΧΟ ΑΤΟΜΙΚΑ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΧΑΜΗΛΗΣ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ ΦΥΤΩΝ

3.2.1. ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

Το γενετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν τα καλύτερα ατομικά φυτά του 2004 (Πίνακας 8), η διασταύρωση Carnak x 4S (F₂), οι μητρικοί γενότυποι Carnak και 4S, τα ημιγόνιμα φυτά και οι οικογένειες που εμφάνιζαν άγονα φυτά το 2004 (Πίνακας 9).

Πίνακας 8: Γενεαλογία του φυτικού υλικού των ατομικών φυτών βαμβακιού και κωδικοποίηση κατά τα έτη 2002-2005.

2005	2004	2003	2002	
1	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
2	21	24	B5-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
3	24	2	A1-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
4	27	9	A3-10	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
5	26	9	A3-10	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
6	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
7	21	24	B5-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
8	16	28	B9-4	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
9	13	4	A3-1	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
10	9	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
11	1	27	B7-12	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
12	20	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
13	22	15	A20-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
15	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
16	13	4	A3-1	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
17	25	2	A1-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
18	14	25	B5-5	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
19	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
20	25	2	A1-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
21	22	15	A20-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
23	12	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
24	21	24	B5-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
25	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
26	29	12	A5-8	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
27	21	24	B5-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
28	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
29	7	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
30	22	15	A20-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
31	17	17	A25-1	[(B403xAcala)xHib.cannabinus]

Πίνακας 9: Γενεαλογία των ημιγόνιμων φυτών και των άγονων οικογενειών και κωδικοποίηση κατά τα έτη 2002-2005.

2005	2004	2003	2002	
A	7/9/12	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
B	4/27/13	9	A3-10	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
Γ	16/10/31	22	B4-7	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
Δ	6/28/25	18	B5-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
E	2/26/1	9	A3-10	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
Z	8	12	A5-8	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
H	12	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
Θ	22	15	A20-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]

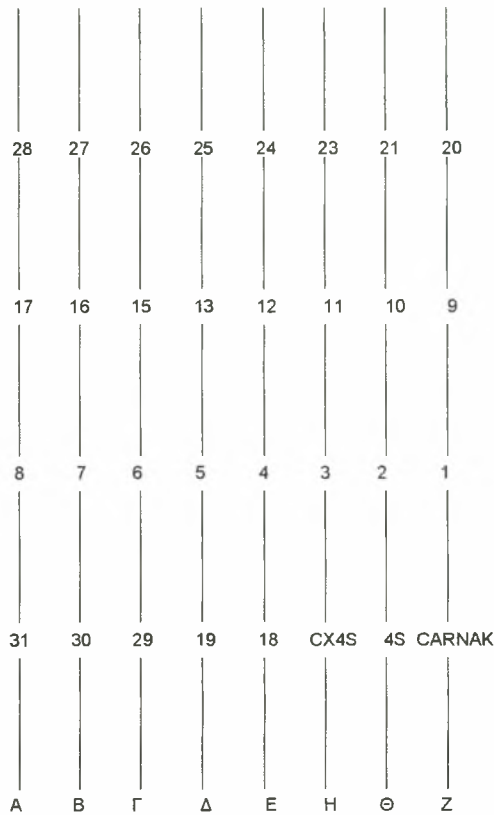
3.2.2. ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Το πείραμα εγκαταστάθηκε στο Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Βελεστίνο, την καλλιεργητική περίοδο 2005-2006. Οι καλλιεργητικές φροντίδες πριν τη σπορά ήταν οι ίδιες με το προηγούμενο πείραμα.

Η σπορά πραγματοποιήθηκε στις 20/5/05 με το χέρι, σε γραμμές των 3 m που απείχαν μεταξύ τους 1m. Οι αποστάσεις μεταξύ των φυτών βαμβακιού ήταν 15 cm, ενώ οι σπόροι τοποθετήθηκαν σε βάθος 5 cm. Σε κάθε γραμμή σπάρθηκαν περίπου 50 σπόροι. (Σχήμα 3)

Έγινε αραίωμα με το χέρι στις 6/7/05 έτσι ώστε σε κάθε θέση να παραμείνει ένα φυτό, το οποίο ήταν το πιο εύρωστο. Καθ' όλη την καλλιεργητική περίοδο εφαρμόστηκαν επισταμένα όλες οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες. Συγκεκριμένα, οι καλλιεργητικές φροντίδες ήταν οι ίδιες με αυτές του προηγούμενου πειράματος. Η συγκομιδή έγινε με το χέρι στις 14/11/05 και το σύσπορο βαμβάκι κάθε σειράς τοποθετήθηκε σε ξεχωριστή σακούλα όπου αναγραφόταν ο γενότυπος.





3.3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΓΕΝΟΤΥΠΩΝ ΜΕ ΤΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Για την αξιολόγηση του γενετικού υλικού χρησιμοποιήθηκαν οι μοριακοί δείκτες RAPDs. Το γενετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν τα 20 μερικώς διειδικά υβρίδια βαμβακιού P₆ γενεάς, ο μάρτυρας Celia, οι ποικιλίες Carnak και 4S, τα μίγματα της P₄ και P₅ γενεάς, τα ατομικά φυτά 1, 3, 6, 13, 29, 21, 25 και τα αρρενόστειρα A, B, Γ, Δ, Z, Η, Θ.

3.3.1. ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΦΥΛΛΩΝ

Για την απομόνωση DNA από φύλλα πάρθηκε ένα δείγμα φύλλων (bulks) 4-6 διαφορετικών φυτών από κάθε γενότυπο.

3.3.2. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ DNA

Το γενωμικό DNA απομονώθηκε από ιστό νεαρών υγιών φύλλων βάρους 0.3 gr για κάθε δείγμα, σύμφωνα με την CTAB μέθοδο για απομόνωση ολικού DNA, όπως προτάθηκε από τους Edwards *et al.* (1991). Το διάλυμα CTAB που χρησιμοποιήθηκε ήταν περιεκτικότητας 2% w/v και περιείχε στα 100 ml, 2gr CTAB (hexadltrimethylammonium bromide – βρωμίδιο του εξατριμεθυλαμμωνίου), 10 ml 1M Tris-HCl (pH 8,0), 4 ml 0,5M Na₂-EDTA και 35ml 4M NaCl συμπληρωμένο έως τα 100 ml. Επίσης περιείχε 1% PVP για την απομάκρυνση του υψηλού βαθμού των πολυφαινολών που περιέχουν τα φύλλα βαμβακιού. Το απομονωμένο DNA διαλύθηκε σε 200 μl TE διαλύματος (10mM TRIS-HCl, 1mM Na₂, EDTA, pH 8,0).

3.3.3. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ DNA

Η συγκέντρωση του DNA προσδιορίστηκε με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αραρόξης 0,7% με πρότυπο δείγμα DNA σαν μάρτυρα. Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του DNA των δειγμάτων υπολογίστηκε στα 100 ng/μl.

3.3.4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΤΑ RAPD

Σε κάθε Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης χρησιμοποιήθηκαν 150 ng γενωμικού DNA σαν μήτρα, 2,5 μ l 10x PCR buffer (Minotech), 0,625 μ M από 10-νουκλεοτιδικό RAPD εκκινητή (Operon Tech), 2 mM $MgCl_2$, 150 μ M dNTPs και 1,5U Taq DNA πολυμεράσης (Minotech), ενώ η αντίδραση ρυθμίστηκε σε 25 μ l τελικό όγκο με αποστειρωμένο και απεσταγμένο νερό (ddH₂O). Στον Πίνακα παρουσιάζονται οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν (Πίνακας 10).

Πίνακας 10: RAPD εκκινητές (Operon Technology) και ακολουθία νουκλεοτιδικών βάσεων

Εκκινητής	Ακολουθία
OPC01	5'TTCGAGCCAG3'
OPC02	5'GTGAGGCGTC3'
OPC07	5'GTCCCGACGA3'
OPC08	5'TGGACCGGTG3'
OPC09	5'CTCACCGTCC3'
OPC12	5'TGTCATCCCC3'
OPC13	5'AAGCCTCGTC3'
OPC14	5'TGCGTGCTTG3'
OPC15	5'GACGGATCAG3'
OPC18	5'TGAGTGGGTG3'

Οι συνθήκες αντίδρασης της PCR ήταν :

1. Προ-αποδιάταξη στους 95°C για 7 λεπτά.
2. 35 κύκλοι που αποτελούνταν από : Αποδιάταξη στους 94 °C για 1 λεπτό, επικόλληση των εκκινητών στους 36 °C για 1 λεπτό και επιμήκυνση των αλυσίδων στους 72 °C για 1.30 λεπτό.
3. Τελική επιμήκυνση των αλυσίδων στους 72 °C για 7 λεπτά.

Τα προϊόντα της Αλυσιδωτής Αντίδρασης της Πολυμεράσης για κάθε γενότυπο, αναμίχθηκαν με 2 μ l διαλύματος φόρτωσης και ηλεκτροφορήθηκαν για μία ώρα σε πηκτή αγαρόζης 1% στην οποία είχε προστεθεί βρωμιούχο αιθίδιο. Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης, η πηκτή εκτέθηκε σε υπεριώδη ακτινοβολία και φωτογραφήθηκε μετά την καταγραφή των πολυμορφισμών των δειγμάτων.

3.3.5. ΜΟΡΙΑΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με την χρήση του προγράμματος NTSYS-pc2 (Rohlf, 2000), προκειμένου να μελετηθούν τα μοριακά δεδομένα του πειράματος, με σκοπό να σχηματιστεί δενδρόγραμμα γενετικής ομοιότητας των γενοτύπων. Ο υπολογισμός της γενετικής ομοιότητας των δειγμάτων έγινε χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο του JACCARD $S_{ij} = a/(a+b+c)$ (Jaccard, 1908) και του DICE $S_{ij} = 2a/(2a+b+c)$ (Dice, 1945), όπου :

1. S_{ij} : η γενετική ομοιότητα των δειγμάτων i και j
2. a : το πλήθος των πολυμορφικών τμημάτων DNA που είναι παρόντα στο δείγμα i και στο δείγμα j .
3. b : το πλήθος των πολυμορφικών τμημάτων DNA που είναι παρόντα στο δείγμα i και στο δείγμα j .
4. c : το πλήθος των πολυμορφικών τμημάτων DNA που είναι παρόντα στο δείγμα j και στο δείγμα i .

Με βάση τις μήτρες γενετικής ομοιότητας, κατασκευάστηκαν δενδρογράμματα φυλογενετικής ανάλυσης με την μέθοδο NEIBOURJOIN και με την μέθοδο UPGMA(Unweighted pair-group method of arithmetic average).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1. ΤΡΙΠΛΟ ΔΙΚΤΥΩΤΟ

4.1.1. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΦΥΤΡΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

Μεταξύ των 20 οικογενειών μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού που εκτιμήθηκαν, βρέθηκε ότι οι μέσοι όροι των ποσοστών φυτρώματος κυμάνθηκαν από 36,15% το ελάχιστο (οικογένεια 15), μέχρι 73,08% το μέγιστο (οικογένεια 14). Οι οικογένειες που ξεχώρισαν ως προς τους μέσους όρους των ποσοστών φυτρώματος ήταν οι 14 με 73,08%, 21 με 71,79%, 2 με 68,72%, 6 με 68,46%, 5 με 66,67%, 1 με 65,13% και 9 με 64,62% (Πίνακας 11).

Πίνακας 11: Το ποσοστό φυτρώματος ανά οικογένεια

ΠΟΣΟΣΤΟ ΦΥΤΡΩΜΑΤΟΣ (%)				
ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	1η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ	2η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ	3η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ	Μ.Ο.
1	50,00	63,85	81,54	65,13
2	49,23	86,92	70,00	68,72
3	78,46	81,54	58,46	72,82
4	60,00	56,15	39,23	51,79
5	67,69	90,00	42,31	66,67
6	80,00	53,08	72,31	68,46
7	32,31	33,08	47,69	37,69
8	51,54	59,23	40,00	50,26
9	60,00	67,69	66,15	64,62
10	51,54	70,00	58,46	60,00
11	56,15	52,31	47,69	52,05
12	26,15	70,00	70,77	55,64
13	52,31	46,15	63,85	54,10
14	90,00	60,77	68,46	73,08
15	40,77	40,77	26,92	36,15
16	68,46	56,15	55,38	60,00
17	35,38	40,77	45,38	40,51
18	39,23	46,15	43,85	43,08
19	55,38	45,38	63,85	54,87
20	33,08	40,77	41,54	38,46
21	52,31	81,54	81,54	71,79
22	30,77	52,31	53,08	45,38
23	33,85	48,46	41,54	41,28
24	61,54	31,54	30,00	41,03
25	33,85	37,69	38,46	36,67

Γενικά τα αποτελέσματα έδειξαν μη ικανοποιητική φυτρωτική ικανότητα, αφού μια αξιόλογη εμπορική ποικιλία έχει περίπου 90-95% φυτρωτική ικανότητα. Παρόλα αυτά και οι μάρτυρες δεν παρουσίασαν μεγάλη φυτρωτική ικανότητα. Συγκεκριμένα 72,82% η Carnak, 52,05% η Celia και 50,26% η 4S. Επομένως, συγκριτικά με αυτούς, θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα 20 μερικώς διειδικά υβρίδια παρουσίασαν μια σχετικά καλή συμπεριφορά, ενώ θα πρέπει να τονίσουμε ότι οι οικογένειες 2 και 6 ξεχώρισαν και στην προηγούμενη γενεά . Από την άλλη, η οικογένεια 15 ενώ το 2004 ανήκε στις οικογένειες με την υψηλότερη φυτρωτική ικανότητα το 2005 είχε την χαμηλότερη.

4.1.2. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΙΜΟΤΗΤΑΣ

Η κατάταξη της πρωιμότητας στις οικογένειες, έγινε με βάση την καταγραφή των ημερομηνιών της άνθησης του πρώτου άνθους, της άνθησης του 50% και της πλήρους άνθησης της κάθε γραμμής.

Ως προς την ημερομηνία άνθησης του πρώτου άνθους, τα δεδομένα από την ανάλυση της παραλλακτικότητας (ANOVA) έδειξαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, για πιθανότητα 0.05, μεταξύ των οικογενειών (Πίνακας 12). Ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV=1.43%) είχε πολύ μικρή τιμή, γεγονός που δείχνει μικρό σφάλμα και μεγάλη πειραματική ακρίβεια για το χαρακτηριστικό αυτό.

Πίνακας 12: Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) για τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την εμφάνιση του άνθους κάθε γραμμής.

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσα Τετράγωνα	Κριτήριο F	F _{0.05}	Σημαντ.
Επαναλήψεις	2	3,307	1,653	1,48	3,32	
Γενότυπος	24	97,520	4,063	3,66	1,89	*
Ομάδες εντός των επαναλήψεων	12	13,307	1,109			
Σφάλμα	36	40,053	1,113			
Σύνολο	74	154,187				
C.V.(%)	1,43					

* : Στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο 0.05

Στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των οικογενειών έδειξαν και τα δεδομένα από την ανάλυση της παραλλακτικότητας για το χαρακτηριστικό της πρωιμότητας που αφορά τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την άνθηση του 50% (Πίνακας 13) και της πλήρους άνθησης της κάθε γραμμής (Πίνακας 14). Η φαινοτυπική διακύμανση εκφρασμένη ως ποσοστό επί τοις εκατό (CV%) βρέθηκε πολύ μικρή και στα δύο χαρακτηριστικά (2,57% και 2,11%, αντίστοιχα).

Πίνακας 13: Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) για τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την άνθηση του 50% κάθε γραμμής

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσα Τετράγωνα	Κριτήριο F	F _{0.05}	Σημαντικ ότητα
Επαναλήψεις	2	24,720	12,360	3,14	3,32	
Γενότυπος	24	419,947	17,498	3,88	1,89	*
Ομάδες εντός των επαναλήψεων	12	74,987	6,249			
Σφάλμα	36	141,627	3,934			
Σύνολο	74	661,281				
C.V.(%)	2,57					

* : Στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο 0.05

Πίνακας 14: Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) για τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την πλήρη άνθηση κάθε γραμμής

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσα Τετράγωνα	Κριτήριο F	F _{0.05}	Σημαντικ ότητα
Επαναλήψεις	2	38,480	19,240	5,65	3,32	*
Γενότυπος	24	294,587	12,274	3,62	1,89	*
Ομάδες εντός των επαναλήψεων	12	40,347	3,362			
Σφάλμα	36	122,507	3,403			
Σύνολο	74	495,92				
C.V.(%)	2,11					

* : Στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο 0.05

Ως προς τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την εμφάνιση του πρώτου άνθους της γραμμής, το κριτήριο Duncan έδειξε ότι οι πιο πρώιμες οικογένειες ήταν οι 8, 9, 17, 21, και 7. Από την άλλη, ως όψιμες χαρακτηρίστηκαν οι οικογένειες 5, 25, 3, 14 και 10 (Πίνακας 15).

Πίνακας 15: Κατάταξη των οικογενειών με βάση τα χαρακτηριστικά της πρωιμότητας άνθησης, σύμφωνα με το κριτήριο Duncan.

Αριθμός ημερών από τη σπορά μέχρι την εμφάνιση του πρώτου άνθους		Αριθμός ημερών από τη σπορά μέχρι την άνθηση του 50% των φυτών της γραμμής		Αριθμός ημερών από τη σπορά μέχρι την πλήρη άνθηση των φυτών της γραμμής	
ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	Μ.Ο.	ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	Μ.Ο.	ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	Μ.Ο.
5	77 a	5	87 a	5	91 a
25	75 b	20	84 ab	25	90 ab
3	75 b	25	83 bc	15	90 ab
14	75 b	15	83 bc	19	89 abc
10	74 bc	19	83 bc	14	89 abc
6	74 bc	14	83 bc	20	89 abc
19	74 bc	6	82 bcd	23	89 abc
20	74 bc	10	82 bcd	6	88 abcd
15	74 bc	24	82 bcd	10	88 abcd
1	74 bc	23	82 bcd	24	88 abcd
23	74 bc	1	81 bcde	1	88 abcd
24	74 bc	18	81 bcde	13	88 abcd
4	73 bc	4	80 cdef	3	87 bcde
2	73 bc	3	80 cdef	18	87 bcde
18	73 bc	13	80 cdef	4	87 bcde
16	73 bc	2	79 def	22	87 bcde
11	73 bc	17	79 def	17	86 cde
12	73 bc	12	79 def	16	86 cde
13	73 bc	22	79 def	2	85 de
22	73 bc	11	79 def	9	85 de
8	72 c	9	78 ef	21	85 de
9	72 c	7	78 ef	12	85 de
17	72 c	21	78 ef	8	84 e
21	72 c	8	77 f	11	84 e
7	72 c	16	77 f	7	84 e

(Μέσοι όροι της ίδιας στήλης που ακολουθούνται από τα ίδια γράμματα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με τη μέθοδο Duncan, σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.)

Όσον αφορά τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την άνθηση του 50% της γραμμής σύμφωνα με το κριτήριο Duncan, βρέθηκε ότι πιο πρώιμες οικογένειες ήταν οι 9, 7, 21, 8, και 16 και πιο όψιμες οι 5, 20, 25, 15, 19, 14. Από τον πίνακα 15 παρατηρούμε ότι όταν στην οικογένεια 5, που ήταν η πιο όψιμη, άνοιξε το πρώτο άνθος (77 ημέρες) στις οικογένειες 8 και 16 η άνθηση είχε ολοκληρωθεί ήδη στο 50% της γραμμής.

Οι πιο πρώιμες οικογένειες ως προς το χαρακτηριστικό της πλήρους άνθησης κάθε γραμμής, ήταν οι 7, 11, 8, 12, 21, 9 και 2 και οι πιο όψιμες οι 5, 25 και 15. Όταν οι οικογένειες 20 και 5 άνοιξαν στο 50% της γραμμής (84 και 87 ημέρες αντίστοιχα) τότε αρκετές οικογένειες είχαν ήδη φτάσει στο στάδιο της πλήρους άνθησης.

Επομένως, εάν συγκρίνουμε τα δεδομένα και των τριών χαρακτηριστικών πρωιμότητας άνθησης βλέπουμε ότι γενικά οι πιο πρώιμες οικογένειες ήταν οι 7, 8, 9 και 21. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ο γενότυπος με τον κωδικό 8 ήταν ο μάρτυρας 4S και ήταν αναμενόμενο να βρίσκεται ανάμεσα στις πιο πρώιμες οικογένειες, καθώς οι ποικιλίες *G.hirsutum* διακρίνονται για την πρωιμότητά τους. Ήταν πολύ θετικό επίσης το γεγονός ότι υπήρχαν μερικώς διειδικά υβρίδια που βρίσκονταν στα ίδια επίπεδα πρωιμότητας ή ήταν πιο πρώιμα από τους μάρτυρες του είδους *G.hirsutum* (γενότυποι 8, 11), αφού ένα από τα μειονεκτήματα των διειδικών υβριδίων είναι η οψιμότητά τους. Τέλος οι πιο όψιμες οικογένειες ήταν οι 5 και 25, οι οποίες ήταν πιο όψιμες ακόμη και από τον μάρτυρα *G.barbadense* (γενότυπος 3).

4.1.3.ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΥΨΟΥΣ

Για την εκτίμηση του ύψους μετρήθηκε το ύψος 10 φυτών από κάθε γραμμή κάθε γενοτύπου και υπολογίστηκε έτσι ο μέσος όρος της κάθε γραμμής. Ο μέσος όρος του ύψους των οικογενειών κυμάνθηκε από 1.04 m το ελάχιστο, έως 1.52 m το μέγιστο.

Από την ανάλυση της παραλλακτικότητας προέκυψε ότι μεταξύ των γενοτύπων υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές όσον αφορά το ύψος, για πιθανότητα 0.05 (Πίνακας 16). Η τιμή του συντελεστή παραλλακτικότητας ήταν μικρή, CV=8.19%, που σημαίνει ότι η ακρίβεια του πειράματος ήταν μεγάλη.

Πίνακας 16: Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) για το μέσο όρο του ύψους για το σύνολο των γενοτύπων

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσα Τετράγωνα	Κριτήριο F	F _{0,05}	Σημαντικότητα
Επαναλήψεις	2	0,108	0,054	5,40	3,32	*
Γενότυπος	24	1,351	0,056	5,41	1,89	*
Ομάδες εντός των επαναλήψεων	12	0,137	0,011			
Σφάλμα	36	0,363	0,010			
Σύνολο	74	1,959				
C.V.(%)	8,19					

* : Στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο 0.05

Από τον πίνακα 17, προκύπτει ότι οι γενότυποι με το μικρότερο ύψος ήταν οι 21, 8, 11, 12 και 4 με ύψη 1.04 m, 1.05 m, 1.05 m, 1.06 m και 1.11 m, αντίστοιχα. Οι γενότυποι 8 και 11 αποτελούσαν τους δύο μάρτυρες *G.hirsutum*, 4S και Celia, αντιστοίχως. Οι πιο ψηλοί γενότυποι ήταν οι 1, 2, 3, 13, και 5 με ύψη αντίστοιχα 1.52 m, 1.41 m, 1.39 m, 1.39 m και 1.38 m. Ο γενότυπος με τον κωδικό 3, ήταν η ποικιλία Carnak. Επομένως, σχεδόν όλα τα μερικώς διειδικά υβρίδια είχαν ύψος ενδιάμεσο των μαρτύρων, εκτός των οικογενειών 1 και 2 που ήταν πιο ψηλές και της 21 που ήταν πιο χαμηλή. Τα στοιχεία αυτά ήταν ενθαρρυντικά, καθώς το αρνητικό στοιχείο των διειδικών υβριδίων ότι είναι πολύ υψηλόσωμα, μπορεί να μειωθεί, αν επιλέξουμε οικογένειες με χαμηλή ανάπτυξη.

Πίνακας 17: Κατάταξη των οικογενειών με βάση το μέσο όρο του ύψους, σύμφωνα με το κριτήριο Duncan

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	ΥΨΟΣ
1	1,52 a
2	1,41 ab
3	1,39 ab
13	1,39 ab
5	1,38 ab
19	1,36 abc
14	1,35 abc
25	1,33 bcd
6	1,31 bcd
9	1,31 bcd
15	1,27 bcde
22	1,26 bcde
7	1,25 bcdef
10	1,24 bcdef
16	1,22 bcdefg
23	1,22 bcdefg
17	1,17 cdefg
18	1,14 defg
24	1,14 defg
20	1,11 efg
4	1,06 fg
12	1,05 fg
11	1,05 g
8	1,05 g
21	1,04 g

(Μέσοι όροι της ίδιας στήλης που ακολουθούνται από τα ίδια γράμματα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με τη μέθοδο Duncan, σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.)

4.1.4. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Η απόδοση, η οποία εκφράζει το μέσο όρο της απόδοσης σύσπορου βαμβακιού ανά γραμμή, κυμάνθηκε από 1,753 kgf έως 5,550 kgf. Από την ανάλυση της παραλλακτικότητας προέκυψε ότι υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των γενοτύπων για επίπεδο σημαντικότητας 0.05 (Πίνακας 18). Δεν υπήρχαν όμως στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των επαναλήψεων, ούτε και μέσα στις ομάδες, για το ίδιο επίπεδο σημαντικότητας. Η τιμή του CV=24,01% ήταν μεγάλη λόγω της ανομοιομορφίας του γενετικού υλικού, τόσο μεταξύ των γραμμών, όσο και μεταξύ των οικογενειών. Τέλος, από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι το πειραματικό σχέδιο του τριπλού δικτυωτού είναι λιγότερο αποτελεσματικό σε σχέση με το RCB.

Πίνακας 18: Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) της απόδοσης σε kgf στο σύνολο των γενοτύπων βαμβακιού

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσα Τετράγωνα	Κριτήριο F	F _{0,05}	Σημαντικότητα
Επαναλήψεις	2	0,711	0,356	0,96	3,32	
Γενοτύπος	24	47,776	1,991	5,39	1,89	*
Ομάδες εντός των επαναλήψεων	12	4,399	0,367	0,99	2,09	
Σφάλμα	36	13,343	0,371			
Σύνολο	74	66,229				
C.V.(%)	24,01					

* : Στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο 0.05

Η κατάταξη ως προς την απόδοση έγινε με το κριτήριο Duncan. Έτσι προέκυψε ότι οι πιο υψηλοαποδοτικές οικογένειες, μετά τους μάρτυρες, ήταν οι 6, 25, 1, 13, 12, 7, 21, 16, 2, 17, 22 και 24 με μέσο όρο απόδοσης από 2,780 kgf έως 2,260 kgf (Πίνακας 19). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι οικογένειες 6, 25, 1 και 16 ανήκαν στις πιο υψηλοαποδοτικές και την προηγούμενη χρονιά, επομένως το χαρακτηριστικό τους αυτό είναι σχετικά σταθερό.

Πίνακας 19: Κατάταξη των οικογενειών με βάση το μέσο όρο της απόδοσης (kg), σύμφωνα με το κριτήριο Duncan

Απόδοση (Kgr)	
ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	Μ.Ο.
11	5,550 a
8	4,173 b
3	3,440 bc
6	2,780 cd
25	2,750 cd
1	2,697 cd
13	2,560 cd
12	2,543 cd
7	2,490 cd
21	2,487 cd
16	2,457 cd
2	2,410 cd
17	2,353 cd
22	2,297 cd
24	2,260 cd
15	2,150 d
20	2,130 d
14	2,117 d
9	2,093 d
19	2,083 d
10	2,053 d
5	1,963 d
18	1,890 d
4	1,803 d
23	1,753 d

(Μέσοι όροι της ίδιας στήλης που ακολουθούνται από τα ίδια γράμματα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με τη μέθοδο Duncan, σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.)

Από τον παραπάνω πίνακα προκύπτει ότι οι μάρτυρες υπερτερούν των οικογενειών των μερικώς διειδικών υβριδίων. Επομένως δεν παρατηρείται ετέρωση των μερικώς διειδικών υβριδίων σε σχέση με τους μάρτυρες. Οι πιο χαμηλοαποδοτικές οικογένειες ήταν οι 23, 4, 18 και 5. Η οικογένεια 23, η οποία έδωσε την μικρότερη απόδοση με 1,753 kg, αποτέλεσε το 31,5% της απόδοσης της εμπορικής ποικιλίας Celia, το 42% της απόδοσης του γονέα 4S και το 50,9% του γονέα Carnak. Επίσης, η οικογένεια 4, με απόδοση 1,803 kg, αποτέλεσε το 32,5% της απόδοσης της Celia, το 43,2% της απόδοσης της 4S και το 52,4% της Carnak.

Πίνακας 20: Αποδόσεις σε σύσπορο βαμβάκι (kgr) και μέσοι όροι των τριών επαναλήψεων για το σύνολο των γενοτύπων

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	1η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ (Kgr)	2η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ (Kgr)	3η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ (Kgr)
1	2,70	2,97	2,42
2	3,48	1,82	1,93
3	3,40	4,27	2,65
4	2,25	1,27	1,89
5	1,01	2,74	2,14
6	2,06	2,43	3,85
7	2,31	2,36	2,80
8	4,38	4,30	3,84
9	1,42	2,40	2,46
10	2,01	2,77	1,38
11	5,00	6,74	4,91
12	1,66	3,15	2,82
13	2,19	2,68	2,81
14	1,85	2,31	2,19
15	2,08	2,84	1,53
16	2,28	2,48	2,61
17	2,74	2,21	2,11
18	0,97	1,71	2,99
19	1,86	2,37	2,02
20	1,73	2,74	1,92
21	2,87	2,41	2,18
22	2,61	1,92	2,36
23	2,20	1,18	1,88
24	2,78	1,71	2,29
25	3,04	2,84	2,37
Μ.Ο.	2,44	2,66	2,49

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρήθηκε ότι οι αποδόσεις των τριών επαναλήψεων και οι μέσοι όροι τους έχουν μικρές διαφορές μεταξύ τους.

4.1.5. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Στον πίνακα 21 παραθέτονται τα αποτελέσματα στα πέντε βασικά χαρακτηριστικά ποιότητας της ίνας του βαμβακιού (μήκος, ομοιομορφία, αντοχή, επιμήκυνση και micronaire) που αντιστοιχούν στους 25 γενοτύπους. Οι τιμές των

χαρακτηριστικών εκφράζουν τους μέσους όρους για τις τρεις επαναλήψεις και έχουν καταταχισθεί σύμφωνα με το κριτήριο Duncan.

Πίνακας 21: Χαρακτηριστικά ποιότητας της ίνας των 25 γενότυπων καταταχισμένα σύμφωνα με το κριτήριο Duncan

ΓΕΝ.	Μήκος (mm)	Ομοιομορφία (pct)	Αντοχή (g/tex)	Επιμήκυνση	Micronaire
1	34,05 b	82,83 bc	39,39 abcdefgh	8,5 bc	3,333 bcdefg
2	33,86 b	83,40 abc	39,72 cde	8,5 bc	2,933 fgh
3	35,94 a	85,10 abc	42,03 abc	7,8 bcdefg	3,333 bcdefg
4	29,78 gh	84,00 abc	36,64 efgh	8,5 bc	3,400 bcdef
5	30,68 efgh	84,43 abc	40,52 abcd	7,2 defgh	3,267 cdefg
6	34,01 b	83,50 abc	35,66 gh	10,0 a	3,233 cdefgh
7	29,32 h	81,63 c	39,12 cdefg	6,8 gh	3,533 bcd
8	29,36 h	85,80 ab	34,47 h	8,3 bcd	4,000 a
9	33,21 bc	84,70 abc	40,91 abcd	7,8 bcdefg	2,933 fgh
10	33,24 bc	83,87 abc	44,16 a	8,0 bcdef	2,767 h
11	30,35 fgh	85,70 ab	39,97 cde	8,1 bcde	3,800 ab
12	32,50 bcde	82,83 bc	34,67 h	8,0 bcdef	3,667 abc
13	32,84 bcd	84,67 abc	37,18 defg	7,8 bcdefg	2,900 gh
14	33,09 bc	83,40 abc	39,15 cdefg	7,6 bcdefg	3,267 cdefg
15	33,11 bc	82,63 bc	40,84 abcd	7,5 bcdefg	3,000 efgh
16	32,28 bcde	83,63 abc	40,71 abcd	8,4 bc	2,900 gh
17	33,32 bc	84,07 abc	37,54 defgh	7,4 cdefg	3,333 bcdefg
18	31,47 cdefg	83,87 abc	40,79 abcd	8,5 bc	3,200 cdefgh
19	33,91 b	86,70 a	37,73 defgh	7,7 bcdefg	3,333 bcdefg
20	33,97 b	84,53 abc	43,78 ab	8,2 bcd	3,167 defgh
21	31,08 defgh	82,33 bc	35,89 fgh	6,9 fgh	3,367 bcdefg
22	31,89 cdef	85,50 ab	40,08 bcde	7,0 efgh	3,233 cdefgh
23	32,94 bcd	85,80 ab	39,46 cdef	6,3 h	3,467 bcde
24	32,48 bcde	84,10 abc	38,80 cdefg	8,6 b	3,467 bcde
25	33,98 b	84,00 abc	42,05 abc	7,5 bcdefg	3,100 defgh

(Μέσοι όροι της ίδιας στήλης που ακολουθούνται από τα ίδια γράμματα δεν διαφέρουν σημαντικά, σύμφωνα με τη μέθοδο Duncan, σε επίπεδο σημαντικότητας $p=0.05$.)

Αναλυτικότερα, ως προς το μήκος της ίνας οι μέσες τιμές κυμάνθηκαν μεταξύ 29.32 mm η ελάχιστη και 35.94 mm η μέγιστη. Την μέγιστη τιμή κατείχε η μητρική ποικιλία Carnak. Οι καλύτεροι γενότυποι ως προς αυτό το χαρακτηριστικό ήταν οι οικογένειες 1, 6, 25, 20, 19 και 2, με μέσες τιμές μήκους 34.05 mm, 34.01 mm, 33.98 mm, 33.97 mm, 33.91 mm και 33.86 mm, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε ότι όλες οι ποικιλίες ανήκαν είτε στις μεσομακρόνες, με μήκος ίνας 28-32mm, είτε στις μακρόνες με μήκος μεγαλύτερο από 32 mm. Επίσης, οι περισσότερες οικογένειες

είχαν μήκος αντίστοιχο με τις ποικιλίες *G.barbadense* (>33), με εξαίρεση τους γενοτύπους 22, 18, 21, 5, 4 και 7 που είχαν μήκος ίνας που έτεινε στο είδος *G.hirsutum* (<32).

Από την ανάλυση της παραλλακτικότητας για το χαρακτηριστικό του μήκους της ίνας προέκυψε ότι υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των γενοτύπων, για πιθανότητα 0,05 (Πίνακας 22). Ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV=3,24%) είχε πολύ μικρή τιμή, γεγονός που δείχνει μικρό σφάλμα και μεγάλη πειραματική ακρίβεια για το χαρακτηριστικό αυτό.

Πίνακας 22: Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) για το μήκος ίνας σε mm για το σύνολο των γενοτύπων βαμβακιού.

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσα Τετράγωνα	Κριτήριο F	F _{0.05}	Σημαντικότητα
Επαναλήψεις	2	10,356	5,178	5,23	3,32	*
Γενότυπος	24	201,753	8,406	6,83	1,89	*
Ομάδες εντός των επαναλήψεων	12	23,430	1,952			
Σφάλμα	36	35,607	0,989			
Σύνολο	74	271,147				
C.V.(%)	3,24					

* : Στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο 0.05

Όσον αφορά το χαρακτηριστικό της ομοιομορφίας της ίνας οι μέσες τιμές κυμάνθηκαν από 81.63% έως 86.70%. Οι οικογένειες με την μεγαλύτερη ομοιομορφία ίνας ήταν οι 19, 8, 23, 11 και 22 με μέσες τιμές 86.70%, 85.80%, 85.80%, 85.70% και 85.50% αντίστοιχα. Σύμφωνα με τον πίνακα 2, όλες οι οικογένειες των μερικώς διειδικών υβριδίων ανήκαν στις κατηγορίες της μέσης έως υψηλής ομοιομορφίας. Οι γενότυποι 19, 23 και 22 παρουσίασαν υψηλή ομοιομορφία (>85), όπως και η εμπορική ποικιλία Celia και οι μητρικοί γενότυποι 4S και Carnak.

Μεταξύ των γενοτύπων δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, όπως προέκυψε από την ανάλυση της διακύμανσης. Η φαινοτυπική διακύμανση εκφρασμένη ως ποσοστό επί τοις εκατό (CV%) ήταν πολύ μικρή και για το χαρακτηριστικό αυτό (Πίνακας 23).

Πίνακας 23: Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) για την ομοιομορφία της ίνας για το σύνολο των γενοτύπων βαμβακιού.

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσα Τετράγωνα	Κριτήριο F	F _{0.05}	Σημαντικ ότητα
Επαναλήψεις	2	0,596	0,298	0,09	3,32	
Γενότυπος	24	105,846	4,410	1,36	1,89	
Ομάδες εντός των επαναλήψεων	12	37,336	3,111			
Σφάλμα	36	118,228	3,284			
Σύνολο	74	262,006				
C.V.(%)	2,14					

* : Στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο 0.05

Ως προς την αντοχή οι μέσες τιμές των γενοτύπων κυμάνθηκαν από 34.47 gr/tex έως 44.16 gr/tex. Τις υψηλότερες τιμές παρουσίασαν τα μερικώς διειδικά υβρίδια 10, 20 και 25 με μέσες τιμές 44.16 gr/tex, 43.78 gr/tex και 42.05 gr/tex, αντιστοίχως. Ακολουθεί η Carnak με αντοχή 42.03 gr/tex, ενώ η 4S έχει τη χαμηλότερη τιμή, 34.47 gr/tex. Παρατηρήθηκε επομένως, ότι σχεδόν όλες οι οικογένειες, εκτός των 10, 20 και 25, είχαν μέσες τιμές αντοχής μεταξύ των δύο μητρικών ποικιλιών. Επίσης, όλοι οι γενότυποι είχαν μέση αντοχή μεγαλύτερη των 31 gr/tex, που αντιστοιχεί στον υψηλότερο βαθμό αντοχής (Πίνακας 4).

Από την ανάλυση της παραλλακτικότητας (Πίνακας 24) προέκυψε ότι υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των γενοτύπων, όσον αφορά το χαρακτηριστικό της αντοχής, για επίπεδο σημαντικότητας 95%. Η τιμή του CV=5.04% ήταν πολύ μικρή, γεγονός που υποδεικνύει μεγάλη πειραματική ακρίβεια.

Πίνακας 24: Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) για την αντοχή της ίνας σε gr/tex για το σύνολο των γενοτύπων

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσα Τετράγωνα	Κριτήριο F	F _{0.05}	Σημαντικ ότητα
Επαναλήψεις	2	3,056	1,528	0,41	3,32	
Γενότυπος	24	476,721	19,863	5,03	1,89	*
Ομάδες εντός των επαναλήψεων	12	54,372	4,531			
Σφάλμα	36	135,019	3,751			
Σύνολο	74	669,167				
C.V.(%)	5,04					

* : Στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο 0.05

Οι μέσες τιμές των γενοτύπων, όσον αφορά την επιμήκυνση της ίνας, ήταν μεταξύ 6.3 και 10.0. Την μεγαλύτερη επιμήκυνση παρουσίασαν οι γενότυποι 6, 24, 1, 2, 4, 18 και 16 με μέσες τιμές αντίστοιχά 10.0, 8.6, 8.5, 8.5, 8.5, 8.5 και 8.4. Παίρνοντας υπόψη τα δεδομένα του πίνακα 5, δεκατρία μερικώς διειδικά υβρίδια (γενότυποι 6, 24, 1, 2, 4, 18, 16, 20, 10, 12, 13, 9, 19) παρουσίασαν πολύ υψηλή επιμήκυνση, καθώς είχαν μέσες τιμές μεγαλύτερες του 7.7, 8 μερικώς διειδικά υβρίδια (γενότυποι 14, 25, 15, 17, 5, 22, 21, και 7) παρουσίασαν υψηλή επιμήκυνση, ενώ μόνο ένα μερικώς διειδικό υβρίδιο, ο γενότυπος 23, παρουσίασε μέση επιμήκυνση. Οι τρεις μάρτυρες βρισκόταν στην κατηγορία της πολύ υψηλής επιμήκυνσης, με τον μάρτυρα 4S να υπερτερεί των άλλων δύο.

Μεταξύ των γενοτύπων υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, σε επίπεδο πιθανότητας 0,05, για το χαρακτηριστικό της επιμήκυνσης (Πίνακας 25).

Πίνακας 25: Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) για την επιμήκυνση της ίνας για το σύνολο των γενοτύπων.

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσα Τετράγωνα	Κριτήριο F	F _{0,05}	Σημαντικότητα
Επαναλήψεις	2	0,301	0,151	0,48	3,32	
Γενότυπος	24	31,967	1,332	4,69	1,89	*
Ομάδες εντός των επαναλήψεων	12	2,168	1,181			
Σφάλμα	36	11,471	0,319			
Σύνολο	74	45,907				
C.V.(%)	6,72					

* : Στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο 0.05

Τέλος, οι μέσες τιμές του micronaire κυμάνθηκαν από 2,7 έως 4.0. Από τον πίνακα 21 προκύπτει ότι τις μεγαλύτερες τιμές micronaire τις είχαν οι δύο *G.hirsutum* μάρτυρες, η ποικιλία 4S και η Celia, με τιμές 4.0 και 3.8, αντίστοιχα, ενώ η Carnak (*G.barbadense*) είχε μία ενδιάμεση τιμή. Σύμφωνα με την κλίμακα του micronaire που παρουσιάζεται στον πίνακα 3, όλες οι οικογένειες των μερικώς διειδικών υβριδίων, ανήκαν στην κατηγορία των λεπτών ινών. Εξαιρείται η οικογένεια 10 που ανήκε στις πολύ λεπτές. Σύμφωνα με τους Perkins *et al.* (1984) τιμές του micronaire κάτω του 3.5 συνήθως δείχνουν ανωριμότητα της ίνας. Μόνο οι οικογένειες 12 και 7 είχαν μέση τιμή άνω του 3.5, που δείχνει ότι οι ίνες τους είχαν ωριμάσει καλά και

είχαν αντοχή. Επίσης, όλες οι οικογένειες, εκτός της 12, παρουσίαζαν χαρακτήρα *barbadense* βαμβακιού, καθώς είχαν μέση τιμή ίση ή μικρότερη του 3.5. Η τιμή του micronaire για τα upland βαμβάκια είναι περίπου 4-4.5.

Από την ανάλυση της παραλλακτικότητας για την τιμή του micronaire φάνηκε ότι υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των γενοτύπων, σε επίπεδο πιθανότητας 0,05. Η φαινοτυπική διακύμανση εκφρασμένη ως ποσοστό επί τοις εκατό (CV=7.19%) ήταν πολύ μικρή (Πίνακας 26).

Πίνακας 26: Ανάλυση παραλλακτικότητας (ANOVA) για την τιμή του micronaire για το σύνολο των γενοτύπων.

Πηγή Παραλλακτικότητας	Βαθμοί Ελευθερίας	Άθροισμα Τετραγώνων	Μέσα Τετράγωνα	Κριτήριο F	F _{0.05}	Σημαντικότητα
Επαναλήψεις	2	0,128	0,064	1,06	3.32	
Γενότυπος	24	6,098	0,254	4,58	1,89	*
Ομάδες εντός των επαναλήψεων	12	0,513	0,043			
Σφάλμα	36	2,152	0,060			
Σύνολο	74	8,891				
C.V.(%)	7,19					

* : Στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο 0.05

Από την γενική εικόνα των γενοτύπων όλων των οικογενειών ως προς την απόδοση και τα πέντε ποιοτικά χαρακτηριστικά της ίνας συνολικά, προέκυψε ότι οι οικογένειες που παρουσίασαν την καλύτερη συμπεριφορά ήταν οι 1, 6, 12, 15, 20 και 25. Στον πίνακα 27 παραθέτονται οι έξι καλύτερες οικογένειες των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού.

Πίνακας 27 : Απόδοση και ποιοτικά χαρακτηριστικά των έξι επιλεγόμενων οικογενειών των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού.

A/A	Γενότυπος	Απόδοση (kgr)	Μήκος (mm)	Ομοιομορφία (pct)	Αντοχή (g/tex)	Επιμήκυνση	Micronaire
1	1	2,697	34,05	82,83	39,39	8,5	3,333
2	6	2,780	34,01	83,50	35,66	10,0	3,233
3	12	2,543	32,50	82,83	34,67	8,0	3,667
4	15	2,150	33,11	82,63	40,84	7,5	3,000
5	20	2,130	33,97	84,53	43,78	8,2	3,167
6	25	2,750	33,98	84,00	42,05	7,5	3,100

4.1.6. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

4.1.6.1. Μελέτη των χαρακτηριστικών του άνθους

Για την μελέτη των χαρακτηριστικών του άνθους ελήφθησαν παρατηρήσεις σε 20 άνθη κάθε γραμμής. Οι παρατηρήσεις αφορούσαν το χρώμα του άνθους (λευκό, κρεμ ή κίτρινο) και την ύπαρξη ή όχι κηλίδας στο εσωτερικό του άνθους (έντονη κηλίδα, αχνή, χωρίς). Από τις παρατηρήσεις αυτές προέκυψαν δεδομένα ομοιότητας των γενοτύπων με τις μητρικές σειρές ή αν ήταν «γέφυρα» αυτών των δύο, δηλαδή είχε χαρακτηριστικά και των δύο ειδών (Πίνακας 28).

Το 8% κατά μέσο όρο των οικογενειών των μερικώς διειδικών υβριδίων παρουσίασαν τα τυπικά χαρακτηριστικά του άνθους του είδους *G.hirsutum*, δηλαδή λευκό άνθος και απουσία κηλίδας στο εσωτερικό του, ενώ το 12% κατά μέσο όρο των οικογενειών εμφάνισαν τα τυπικά χαρακτηριστικά του είδους *G.barbadense*, δηλαδή κίτρινο άνθος και ύπαρξη σκούρης κηλίδας. Το μεγαλύτερο ποσοστό κατά μέσο όρο, δηλαδή το 77% των οικογενειών, εμφάνισαν μορφολογικά χαρακτηριστικά και των δύο ειδών, δηλαδή αποτελούσαν «γέφυρες» των δύο ειδών. Δηλαδή, το μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισε έντονη φαινοτυπική παραλλακτικότητα και αυτό υποδηλώνει την ύπαρξη γενετικού υλικού που να συνδυάζει τα χαρακτηριστικά και των δύο ειδών. Αυτοί οι γενότυποι παρουσιάζουν φαινοτυπική αστάθεια και δυσχεραίνουν το έργο της συνεχιζόμενης επιλογής.



Εικ. 7: Τυπικό άνθος και φύλλο του είδους *G. hirsutum*



Εικ. 8: Τυπικό άνθος και φύλλα του είδους *G. barbadense*

Πίνακας 28: Χαρακτηρισμός των οικογενειών των μερικώς διεδικών υβριδίων βαμβακιού με βάση τα μορφολογικά γνωρίσματα του άνθους και κατάξή τους (%) ως προς την ομοιότητά τους με τα είδη *G. hirsutum*, *G. barbadense* ή «γέφυρα» αυτών των δύο ειδών

Α/Α	ΓΕΝ.	1η ΕΠΑΝΑΛΛΗΨΗ			2η ΕΠΑΝΑΛΛΗΨΗ			3η ΕΠΑΝΑΛΛΗΨΗ			ΜΕΣΟΙ ΟΡΟΙ		
		G.H.	G.B.	G.H.-G.B.	G.H.	G.B.	G.H.-G.B.	G.H.	G.B.	G.H.-G.B.	G.H.	G.B.	G.H.-G.B.
1	1	0%	20%	80%	5%	15%	80%	10%	10%	80%	5,0%	15,0%	80,0%
2	2	5%	10%	85%	0%	0%	100%	0%	40%	60%	1,6%	16,6%	81,6%
3	4	0%	60%	40%	0%	70%	30%	0%	85%	15%	0,0%	71,7%	28,3%
4	5	15%	0%	85%	20%	5%	75%	15%	0%	85%	16,6%	1,6%	81,6%
5	6	10%	0%	90%	0%	25%	75%	0%	0%	100%	3,3%	8,3%	88,3%
6	7	15%	5%	80%	50%	0%	50%	20%	0%	80%	28,3%	1,7%	60,0%
7	9	5%	15%	80%	5%	0%	95%	10%	0%	90%	6,7%	5,0%	88,3%
8	10	5%	5%	90%	0%	20%	80%	30%	0%	70%	11,7%	8,3%	80,0%
9	12	20%	0%	80%	15%	15%	70%	10%	0%	90%	15,0%	5,0%	80,0%
10	13	0%	10%	90%	0%	5%	95%	0%	20%	80%	0,0%	11,7%	88,3%
11	14	0%	20%	80%	0%	10%	90%	0%	10%	90%	0,0%	13,3%	86,7%
12	15	15%	45%	30%	5%	35%	60%	0%	25%	75%	6,7%	35,0%	38,3%
13	16	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0,0%	0,0%	100,0%
14	18	10%	0%	90%	15%	0%	85%	0%	0%	100%	8,3%	0,0%	91,7%
15	19	0%	30%	70%	5%	15%	80%	0%	45%	55%	1,7%	30,0%	68,3%
16	20	5%	20%	75%	5%	40%	55%	0%	25%	75%	3,3%	28,3%	68,3%
17	21	15%	0%	85%	20%	15%	65%	15%	0%	85%	16,7%	5,0%	78,3%
18	22	15%	10%	75%	25%	30%	45%	5%	20%	75%	15,0%	20,0%	65,0%
19	23	25%	0%	75%	20%	0%	80%	0%	40%	60%	15,0%	13,3%	71,7%
20	25	5%	35%	60%	0%	15%	85%	15%	0%	85%	6,6%	16,6%	76,6%
	M.O.	8%	14%	77%	10%	16%	75%	7%	16%	78%	8%	12%	77%

4.1.6.2. Μελέτη των χαρακτηριστικών των φύλλων

Για την μελέτη των χαρακτηριστικών των φύλλων, ελήφθησαν παρατηρήσεις σε 20 φυτά κάθε γραμμής. Οι παρατηρήσεις αφορούσαν το σχήμα του φύλλου, δηλαδή αν ήταν τυπικό φύλλο *G.hirsutum*, *G.barbadense* ή ΟΚΡΑ, με το χαρακτηριστικό παλαμοσχιδές φύλλο.

Όσον αφορά το σχήμα του φύλλου, από τον πίνακα 29, προέκυψε ότι το 28% των οικογενειών των μερικώς διειδικών υβριδίων είχαν το χαρακτηριστικό σχήμα φύλλου του *G.hirsutum*, το 59% το χαρακτηριστικό σχήμα του *G.barbadense*, ενώ το 13% είχε το χαρακτηριστικό σχήμα των ποικιλιών ΟΚΡΑ, που ανήκουν στο είδος *G.barbadense*. Άρα το μεγαλύτερο ποσοστό των οικογενειών (62%), ομοιάζε στο είδος *G.barbadense*, σύμφωνα με το σχήμα του φύλλου.



The okra shaped cotton leaf Photo: L. Wilson (CSIRO)

Εικ. 9: Χαρακτηριστικό φύλλο βαμβακιού τύπου Οκρά



Εικ. 10: Χαρακτηριστικό φύλλο βαμβακιού του είδους *G. barbadense*

Πίνακας 29: Χαρακτηρισμός των οικογενειών των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού με βάση τα μορφολογικά γνωρίσματα του φύλλου και κατάταξή τους (%) ως προς την ομοιοτήτά τους με τα είδη *G.hirsutum*, *G. barbadense* ή *G.barbadense* - *Okra*

Α/Α	GEN.	1η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ			2η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ			3η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ			ΜΕΣΟΙ ΟΡΟΙ		
		G.H.	G.B.	G.B.-OKRA	G.H.	G.B.	G.B.-OKRA	G.H.	G.B.	G.B.-OKRA	G.H.	G.B.	G.B.-OKRA
1	1	80%	20%	0%	70%	30%	0%	55%	45%	0%	68%	32%	0%
2	2	0%	80%	20%	10%	85%	5%	45%	50%	5%	18%	72%	10%
3	4	15%	75%	10%	35%	65%	0%	35%	60%	5%	28%	67%	5%
4	5	60%	40%	0%	80%	20%	0%	55%	45%	0%	65%	35%	0%
5	6	0%	55%	45%	15%	85%	0%	10%	80%	10%	8%	73%	18%
6	7	25%	75%	0%	20%	80%	0%	20%	75%	5%	22%	77%	2%
7	9	30%	70%	0%	15%	85%	0%	25%	75%	0%	23%	77%	0%
8	10	0%	55%	45%	15%	75%	10%	35%	5%	60%	17%	45%	38%
9	12	20%	70%	10%	15%	80%	5%	35%	65%	0%	23%	72%	5%
10	13	0%	60%	40%	45%	45%	10%	10%	80%	10%	18%	62%	20%
11	14	0%	45%	55%	5%	65%	30%	5%	85%	10%	3%	65%	32%
12	15	35%	50%	15%	10%	70%	20%	20%	70%	10%	22%	63%	15%
13	16	50%	50%	0%	45%	55%	0%	60%	40%	0%	52%	48%	0%
14	18	15%	80%	5%	30%	70%	0%	60%	40%	0%	35%	63%	2%
15	19	0%	65%	35%	0%	65%	35%	0%	95%	5%	0%	75%	25%
16	20	0%	45%	55%	0%	50%	50%	0%	75%	25%	0%	57%	43%
17	21	25%	70%	5%	45%	50%	5%	50%	50%	0%	40%	57%	3%
18	22	85%	15%	0%	80%	20%	0%	80%	20%	0%	82%	18%	0%
19	23	35%	45%	20%	25%	50%	25%	30%	60%	10%	30%	52%	18%
20	25	0%	90%	10%	10%	70%	20%	15%	75%	10%	8%	78%	13%
M.O.		24%	58%	19%	29%	61%	11%	32%	60%	8%	28%	59%	13%

4.1.7. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΜΟΙΟΜΟΡΦΙΑΣ

Η εκτίμηση της ομοιομορφίας των οικογενειών των μερικώς διειδικών υβριδίων έγινε με μια κλίμακα 1-3, όπου το 1 είναι για οικογένειες πολύ ομοιόμορφες ενώ όσο αυξάνεται η τιμή τόσο οι οικογένειες εμφανίζουν μικρότερη ομοιομορφία. Από το μέσο όρο των τιμών ομοιομορφίας των τριών επαναλήψεων προέκυψε ότι οι οικογένειες με τη μεγαλύτερη ομοιομορφία ήταν οι 12, 4, 21, 5, 10, 13, 16 και 20, ενώ τη μεγαλύτερη ανομοιομορφία έδειξαν οι οικογένειες 1, 2 και 18 (Πίνακας 30).

Πίνακας 30: Ο βαθμός ομοιομορφίας των οικογενειών των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	1η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ	2η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ	3η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ	Μ.Ο.
1	3	3	3	3,0
2	3	3	3	3,0
3	1	2	1	1,3
4	2	2	2	2,0
5	2	3	2	2,3
6	2	3	3	2,7
7	2	3	3	2,7
8	1	1	1	1,0
9	2	3	3	2,7
10	2	3	2	2,3
11	1	1	1	1,0
12	2	1	2	1,7
13	2	2	3	2,3
14	3	2	3	2,7
15	3	3	2	2,7
16	2	3	2	2,3
17	3	3	2	2,7
18	3	3	2	2,7
19	3	3	3	3,0
20	2	2	3	2,3
21	2	2	2	2,0
22	3	2	3	2,7
23	3	3	2	2,7
24	3	2	2	2,3
25	2	3	3	2,7

* Όπου: 1 = Υψηλή ομοιομορφία

2 = Μέση ομοιομορφία

3 = Χαμηλή ομοιομορφία

Από τις οικογένειες των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού που επιλέχθηκαν για την υψηλή τους απόδοση αλλά και τα καλά ποιοτικά χαρακτηριστικά τους η οικογένεια 12 ήταν η πιο ομοιόμορφη, ακολουθούσε η 20, στη συνέχεια οι οικογένειες 6, 15 και 25, ενώ τελευταία ήταν η οικογένεια με τον κωδικό I που είχε χαμηλή ομοιομορφία.

4.2. ΑΤΟΜΙΚΑ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΑ ΚΑΙ ΜΕ ΧΑΜΗΛΗ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΦΥΤΑ

4.2.1. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΦΥΤΡΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

Μεταξύ των καλύτερων ατομικών φυτών του 2004 που εκτιμήθηκαν, βρέθηκε ότι τα ποσοστά φυτρώματος κυμάνθηκαν από 14% το ελάχιστο (γενότυπος 20) έως 64% το μέγιστο (γενότυπος 19). Τα ατομικά φυτά με την καλύτερη φυτρωτική ικανότητα ήταν οι γενότυποι 19 (64%), 2 (62%), 13 (62%), 30 (56%) και 6 (54%) (Πίνακας 31).

Πίνακας 31: Ποσοστό φυτρώματος των ατομικά επιλεγμένων φυτών και των μαρτύρων

ΑΤΟΜΙΚΑ ΦΥΤΑ	
ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΦΥΤΡΩΜΑΤΟΣ (%)
1	42
2	62
3	40
4	22
5	26
6	54
7	36
8	22
9	52
10	32
11	38
12	32
13	62
15	50
16	36
17	32
18	52
19	64
20	14
21	50
23	52
24	42
25	38
26	52
27	30
28	32
29	48
30	56
31	46
Cx4S(F2)	28
4S	32
CARNAK	40

Γενικά παρατηρήθηκε ότι ούτε τα ατομικά φυτά αλλά ούτε και οι μάρτυρες 4S, Carnak και Carnak x 4S (F2) είχαν καλή φυτρωτική ικανότητα, καθώς μια καλή εμπορική ποικιλία έχει συνήθως φυτρωτική ικανότητα 90-95%.

4.2.2. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΙΜΟΤΗΤΑΣ

Η εκτίμηση της πρωιμότητας των γενοτύπων έγινε με βάση : α) τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την εμφάνιση του πρώτου άνθους, β) τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την άνθηση του 50% των φυτών της γραμμής και, γ) τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την πλήρη άνθηση των φυτών στην γραμμή.

Όσον αφορά τα φυτά που είχαν μικρή γονιμότητα το 2004, τα πιο πρώιμα φυτά σε σχέση με τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την εμφάνιση του πρώτου άνθους ήταν τα Θ, Ζ και Δ ενώ το πιο όψιμο και με διαφορά αρκετών ημερών, ήταν ο γενότυπος Α (Πίνακας 32).

Πίνακας 32: Αριθμός των ημερών από τη σπορά για τα τρία χαρακτηριστικά της πρωιμότητας για το σύνολο των φυτών με χαμηλή γονιμότητα

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	ΠΡΩΤΟ ΑΝΘΟΣ (αριθμός ημερών από τη σπορά)	50% ΑΝΘΗΣΗΣ (αριθμός ημερών από τη σπορά)	ΠΛΗΡΗΣ ΑΝΘΗΣΗ (αριθμός ημερών από τη σπορά)
A	79	83	86
B	68	75	89
Γ	68	72	77
Δ	67	74	78
E	68	77	90
Z	67	75	79
H	71	77	80
Θ	63	71	77

Για το χαρακτηριστικό της πρωιμότητας της άνθησης του 50% των φυτών σε κάθε γραμμή οι πιο πρώιμοι γενότυποι ήταν οι Θ, Γ, και Δ ενώ πιο όψιμος εξακολουθούσε να είναι ο Α. Τέλος, τα φυτά που έφτασαν στην πλήρη άνθηση της γραμμής πιο γρήγορα, ήταν τα Θ, Γ, και Δ, ενώ πιο όψιμα ήταν τα Β και Α.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι οι πιο πρώιμοι γενότυποι ανάμεσα στα φυτά με χαμηλή γονιμότητα ήταν οι Θ, Γ και Δ ενώ πιο όψιμος ήταν ο γενότυπος Α.

Όσον αφορά τα ατομικά επιλεγμένα φυτά, οι γενότυποι που εμφάνισαν πιο γρήγορα το πρώτο άνθος στην γραμμή ήταν οι 2, 4, 5, 6, 10 και 17 ενώ οι πιο όψιμοι ήταν οι 21, 25, 20, 26 και 31. Οι πιο πρώιμοι γενότυποι για την άνθηση του 50% των φυτών στη γραμμή ήταν οι 6, 5, 30, 2, 4, 8 και 17 και οι πιο όψιμοι οι 24, 27, 25, και 26. Τέλος, για τον αριθμό των ημερών από τη σπορά μέχρι την πλήρη άνθηση της γραμμής οι πιο πρώιμοι γενότυποι ήταν οι 6, 2, 5, 3, 8, 16 και 17, ενώ οι πιο όψιμοι οι 27, 25, 26 και 24 (Πίνακας 33).

Πίνακας 33: Αριθμός ημερών που μεσολάβησε από τη σπορά μέχρι την εμφάνιση του πρώτου άνθους, της άνθησης του 50% των φυτών και της πλήρους άνθησης για το σύνολο των ατομικά επιλεγμένων φυτών

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	ΠΡΩΤΟ ΑΝΘΟΣ αριθμός ημερών από τη σπορά)	50% ΑΝΘΗΣΗΣ (αριθμός ημερών από τη σπορά)	ΠΛΗΡΗΣ ΑΝΘΗΣΗ (αριθμός ημερών από τη σπορά)
CARNAK	63	69	75
4S	61	67	73
C x 4S	60	66	72
1	69	76	79
2	60	68	72
3	63	69	75
4	60	68	74
5	60	67	73
6	61	64	71
7	64	74	77
8	63	68	74
9	68	71	77
10	61	71	77
11	63	72	77
12	70	77	83
13	64	73	80
15	63	72	84
16	64	69	74
17	61	68	74
18	67	75	79
19	69	76	82
20	73	77	83
21	72	79	86
23	67	76	80
24	67	80	85
25	72	83	92
26	75	85	89
27	71	82	91
28	67	77	80
29	63	69	76
30	63	67	75
31	75	81	84

Ως αποτέλεσμα των παραπάνω οι γενότυποι 2, 4, 5, 6 και 17 βρέθηκαν ότι ήταν οι πρωιμότεροι, ενώ οι 25 και 26 βρέθηκαν ότι ήταν οι οψιμότεροι.

Γενικά παρατηρήθηκε ότι τόσο τα φυτά με χαμηλή γονιμότητα, όσο και τα ατομικά επιλεγμένα φυτά ήταν αρκετά όψιμα και πολλά από αυτά πιο όψιμα και από τον γονέα *G.barbadense*.

4.2.3. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΥΨΟΥΣ

Το ύψος κάθε γενότυπου προέκυψε από το μέσο όρο του ύψους 5 τυχαίων φυτών σε κάθε γραμμή και εκφράστηκε σε m. Όσον αφορά τα ατομικά επιλεγμένα φυτά, το μέσο ύψος των γενοτύπων κυμάνθηκε από 0.88 m έως 1.57 m (Πίνακας 34).

Οι γενότυποι με το μικρότερο ύψος ήταν οι 30, 24, 18, 6, 5 και 25, που είχαν μέσο ύψος 0.88 m, 0.89 m, 0.93 m, 0.94 m, 0.96 m και 0.97 m, αντίστοιχα. Οι γενότυποι αυτοί είχαν ύψος παρόμοιο με τον γονέα και μάρτυρα 4S (0.93 m). Το ύψος αυτό είναι επιθυμητό γιατί διευκολύνεται η μηχανοσυλλογή των φυτών βαμβακιού. Το μεγαλύτερο ύψος είχαν οι γενότυποι 9, 31 και 1 με μέσες τιμές 1.57 m, 1.39 m και 1.31 m, αντίστοιχα.

Στα μερικώς διειδικά υβρίδια που είχαν χαμηλό ποσοστό γονιμότητας, το ύψος των φυτών που είχαν χαμηλό ποσοστό γονιμότητας κυμάνθηκε από 0.97 m έως 1.42 m. Το μικρότερο ύψος είχαν οι γενότυποι Β και Γ (0.97 m) και το μεγαλύτερο οι Α και Δ (1.42 m) (Πίνακας 35).

Πίνακας 34: Μέσο ύψος (m) των ατομικά επιλεγμένων διειδικών υβριδίων και των τριών μαρτύρων

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	ΥΨΟΣ (m)
CARNAK	1,39
4S	0,93
CARNAK x 4S (F ₂)	1,08
1	1,31
2	1,00
3	1,25
4	1,15
5	0,96
6	0,94
7	1,02
8	1,01
9	1,57
10	1,04
11	1,01
12	1,12
13	1,25
15	1,11
16	1,29
17	1,28
18	0,93
19	1,16
20	0,99
21	1,12
23	0,99
24	0,89
25	0,97
26	1,21
27	0,99
28	1,06
29	1,11
30	0,88
31	1,39

Πίνακας 35: Μέσο ύψος (m) των φυτών με χαμηλό ποσοστό γονιμότητας κατά το έτος 2004

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	ΥΨΟΣ (m)
A	1,42
B	0,97
Γ	0,97
Δ	1,42
E	1,01
Z	1,35
H	1,21
Θ	1,19

4.2.4. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Η απόδοση εκφράστηκε ως gr σύσπορου βαμβακιού ανά γραμμή. Στα ατομικά επιλεγμένα φυτά κυμάνθηκε από 70 gr έως 1010 gr, ενώ στα φυτά με χαμηλό ποσοστό γονιμότητας κυμάνθηκε από 50 gr έως 780 gr (Πίνακες 36 και 37, αντίστοιχα).

Πίνακας 36: Απόδοση σε σύσπορο βαμβάκι (gr) των ατομικά επιλεγμένων φυτών και των τριών μαρτύρων

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	ΑΠΟΔΟΣΗ (gr)
CARNAK	1010
4S	1290
CARNAK x 4S (F ₂)	1050
1	590
2	710
3	730
4	310
5	270
6	540
7	300
8	390
9	250
10	190
11	460
12	360
13	320
15	290
16	520
17	1010
18	460
19	340
20	220
21	170
23	280
24	210
25	70
26	90
27	140
28	370
29	740
30	680
31	250

Όπως προκύπτει από τον παραπάνω πίνακα, οι αποδόσεις των ατομικά επιλεγμένων φυτών ήταν μικρές σε σχέση με τους μάρτυρες. Όλοι οι γενότυποι, εκτός του γενοτύπου 17, είχαν μικρότερες αποδόσεις από τους μάρτυρες και αρκετοί ήταν

αυτοί που ούτε καν έφτασαν το 50% της απόδοσης των μαρτύρων. Οι πιο υψηλοαποδοτικοί γενότυποι ήταν οι 17, 29, 3, 2, 30 και 1 με αποδόσεις 1010 gr, 740 gr, 730 gr, 710 gr, 680 gr και 590 gr, αντίστοιχα. Τις πιο χαμηλές αποδόσεις είχαν οι γενότυποι 25, 26 και 27 με αποδόσεις αντίστοιχα 70 gr, 90 gr και 140 gr.

Όσον αφορά τα χαμηλής γονιμότητας φυτά του 2004, παρατηρήθηκε ότι είχαν περίπου τις ίδιες αποδόσεις με τα ατομικά επιλεγμένα φυτά (Πίνακας 37). Θα πρέπει να τονίσουμε όμως ότι ο γενότυπος A είχε πολύ μικρή απόδοση, της τάξης των 50 gr, η οποία αποτελούσε το 4.9 % της απόδοσης του μάρτυρα Carnak και το 3.9% της απόδοσης του μάρτυρα 4S. Τα ποσοστά αυτά ήταν πολύ μικρά και σε συνδυασμό με τα μορφολογικά γνωρίσματα θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι ο γενότυπος A ήταν ημιγόνιμος. Από την άλλη ο γενότυπος Z ήταν ο πιο υψηλοαποδοτικός, με 780 gr, και συγκριτικά με τα ατομικά φυτά είχε την υψηλότερη απόδοση μετά τον γενότυπο 17.

Πίνακας 37: Απόδοση σε σύσπορο βαμβάκι (gr) των φυτών που είχαν χαμηλή γονιμότητα το 2004

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	ΑΠΟΔΟΣΗ (gr)
A	50
B	350
Γ	480
Δ	440
E	610
Z	780
H	170
Θ	340

4.2.5. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

4.2.5.1. Μελέτη των χαρακτηριστικών του άνθους

Για τη μελέτη των χαρακτηριστικών του άνθους ελήφθησαν παρατηρήσεις σε 10 φυτά ανά γραμμή. Οι παρατηρήσεις αυτές ήταν οι ίδιες με τις αντίστοιχες του προηγούμενου πειράματος. Από αυτές, προέκυψαν ποσοστά ομοιότητας των διειδικών υβριδίων με τους γονείς *G.hirsutum* και *G.barbadense* (Πίνακες 38, 39). Από τα ποσοστά αυτά, παρατηρήθηκε ότι το 8% κατά μέσο όρο των ατομικά

επιλεγμένων διειδικών υβριδίων, ομοιάζε στον γονέα *G.hirsutum*, το 10% στον γονέα *G.barbadense*, ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό των γενοτύπων (της τάξης του 82%) ήταν «γέφυρα» των δύο ειδών, δηλαδή είχε χαρακτηριστικά και από τα δύο είδη. Από την άλλη, στα μερικώς διειδικά υβρίδια με χαμηλό ποσοστό γονιμότητας μόνο το 6% κατά μέσο όρο ομοιάζε στο είδος *G.hirsutum*, το 25% στο είδος *G.barbadense* και τέλος το 69% είχαν χαρακτηριστικά και από τα δύο είδη.

Πίνακας 38: Χαρακτηρισμός των ατομικά επιλεγμένων μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού με βάση τα μορφολογικά γνωρίσματα του άνθους και κατάταξή τους (%) ως προς την ομοιότητά τους με τα είδη *G.hirsutum*, *G.barbadense* ή «γέφυρα» αυτών των δύο ειδών

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	G.H.	G.B.	G.H. - G.B.
1	0%	0%	100%
2	0%	0%	100%
3	30%	0%	70%
4	0%	30%	70%
5	0%	40%	60%
6	0%	10%	90%
7	0%	0%	100%
8	0%	0%	100%
9	0%	0%	100%
10	10%	0%	90%
11	0%	0%	100%
12	60%	0%	40%
13	0%	40%	60%
15	10%	0%	90%
16	0%	0%	100%
17	30%	0%	70%
18	0%	0%	100%
19	0%	0%	100%
20	0%	0%	100%
21	30%	0%	70%
23	0%	0%	100%
24	0%	0%	100%
25	0%	50%	50%
26	10%	20%	70%
27	10%	0%	90%
28	10%	60%	30%
29	20%	0%	80%
30	0%	40%	60%
31	0%	0%	100%
M.O.	8%	10%	82%

Πίνακας 39: Χαρακτηρισμός των χαμηλής γονιμότητας μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού με βάση τα μορφολογικά γνωρίσματα του άνθους και κατάταξή τους (%) ως προς την ομοιότητά τους με τα είδη *G.hirsutum*, *G. barbadense* ή «γέφυρα» αυτών των δύο ειδών

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	G.H.	G.B.	G.H. - G.B.
A	0%	100%	0%
B	0%	10%	90%
Γ	10%	0%	90%
Δ	0%	0%	100%
E	20%	0%	80%
Z	0%	60%	40%
H	20%	0%	80%
Θ	0%	30%	70%
M.O.	6%	25%	69%

4.2.5.2. Μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών του φύλλου

Για τη μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών του φύλλου ελήφθησαν παρατηρήσεις σε 10 φυτά ανά γραμμή των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού για τον τύπο του φύλλου, δηλαδή αν ήταν τυπικό φύλλο *G.hirsutum*, τυπικό φύλλο *G.barbadense* ή τύπου Οκρα (Εικ. 9). Από τον πίνακα 40, προκύπτει ότι 33% των ατομικά επιλεγμένων μερικώς διειδικών υβριδίων παρουσίαζε το τυπικό φύλλο του είδους *G.hirsutum*, το 62% είχε το τυπικό φύλλο του είδους *G.barbadense*, ενώ μόλις το 5% είχε φύλλα τύπου Οκρα. Επομένως, το μεγαλύτερο ποσοστό των ατομικά επιλεγμένων μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού (67%) παρουσίαζε τα χαρακτηριστικά του είδους *G.barbadense*, όσον αφορά το σχήμα του φύλλου.

Από τον πίνακα 41, προκύπτει ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των χαμηλής γονιμότητας μερικώς διειδικών υβριδίων, παρουσίαζε το τυπικό φύλλο του *G.barbadense* (81%), το 4% είχε φύλλα τύπου Οκρα, ενώ το 15% παρουσίαζε το τυπικό φύλλο του *G.hirsutum*.

Πίνακας 40: Χαρακτηρισμός των ατομικά επιλεγμένων μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού με βάση τα μορφολογικά γνωρίσματα του φύλλου και κατάταξή τους (%) ως προς την ομοιότητά τους με τα είδη *G.hirsutum*, *G. barbadense* ή *G.barbadense* – Οκρά

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	G.H.	G.B.	G.B.-ΟΚΡΑ
1	80%	20%	0%
2	10%	80%	10%
3	40%	60%	0%
4	0%	100%	0%
5	20%	50%	30%
6	0%	80%	20%
7	40%	60%	0%
8	30%	70%	0%
9	50%	50%	0%
10	40%	50%	10%
11	20%	60%	20%
12	90%	10%	0%
13	30%	60%	10%
15	30%	70%	0%
16	10%	70%	20%
17	0%	100%	0%
18	50%	50%	0%
19	30%	70%	0%
20	70%	30%	0%
21	100%	0%	0%
23	20%	80%	0%
24	50%	50%	0%
25	0%	100%	0%
26	0%	100%	5%
27	10%	90%	0%
28	10%	90%	0%
29	40%	40%	20%
30	40%	60%	0%
31	60%	40%	0%
M.O.	33%	62%	5%

Πίνακας 41: Χαρακτηρισμός των χαμηλής γονιμότητας μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού με βάση τα μορφολογικά γνωρίσματα του φύλλου και κατάταξή τους (%) ως προς την ομοιότητά τους με τα είδη *G.hirsutum*, *G. barbadense* ή *G.barbadense* – Οκρα

ΓΕΝΟΤΥΠΟΣ	G.H.	G.B.	G.B.-ΟΚΡΑ
A	0%	100%	0%
B	0%	100%	0%
Γ	0%	70%	30%
Δ	70%	30%	0%
E	50%	50%	0%
Z	0%	100%	0%
H	0%	100%	0%
Θ	0%	100%	0%
M.O.	15%	81%	4%

4.2.6. ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΑΝΘΗΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΡΙΠΟΔΕΣΗΣ

Στους γενότυπους των ημιγόνιμων και άγονων φυτών της προηγούμενης γενεάς (γενότυποι Α-Θ) τοποθετήθηκαν καρτελάκια στα λουλούδια έτσι ώστε να παρατηρηθεί η ανθόπτωση και η καρπόδεση. Από τις παρατηρήσεις αυτές προέκυψε ότι όλοι οι γενότυποι συμπεριφέρθηκαν φυσιολογικά ως προς την άνθηση και την καρπόδεση, εκτός του γενότυπου Α. Στα φυτά του γενότυπου αυτού είτε τα άνθη τους έπεφταν πριν να γονιμοποιηθούν, είτε πιο συχνά έπεφταν στο στάδιο του χτενιού, ενώ παρατηρήθηκε και μια μικρή πτώση νεαρών καρυδιών. Τελικά λίγα ήταν τα καρύδια τα οποία έδεσαν και μεγάλωσαν κανονικά.

4.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

Στα πλαίσια της μοριακής γενετικής ανάλυσης, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 10 μονόκλωνες αλληλουχίες τύπου RAPD ως εκκινητές. Πολυμορφισμοί ανιχνεύθηκαν και στους 10 εκκινητές. Η μοριακή ανάλυση των 39 γενοτύπων βαμβακιού που εξετάστηκαν με βάση το μοριακό πρότυπο των 10 εκκινητών που επιλέχθηκαν, αποτελείται συνολικά από 61 ζώνες, που αντιστοιχούν σε ίσο αριθμό περιοχών του γενόματος που πολλαπλασιάστηκαν κατά το σύνολο των αντιδράσεων PCR. Το ποσοστό των πολυμορφισμών ανήλθε στο 82%, καθώς 50 από τις 61 περιοχές που πολλαπλασιάστηκαν βρέθηκαν πολυμορφικές. Κατά μέσο όρο κατεγράφησαν 5 πολυμορφικές ζώνες ανά εκκινητή, ενώ ο μέγιστος αριθμός πολυμορφικών ζωνών ανά εκκινητή ήταν 9 και ο ελάχιστος 2.

Πίνακας 42: Σύνοψη μοριακού προτύπου των 10 εκκινητών

RAPD εκκινητής	Αριθμός πολυμορφικών ζωνών	Σύνολο ζωνών που πολλαπλασίασε ο εκκινητής
OPC01	9	9
OPC02	6	6
OPC07	3	5
POC08	3	7
OPC09	5	5
OPC12	4	4
OPC13	4	6
OPC14	2	4
OPC15	9	10
OPC18	5	5
Σύνολο	50	61
M.O.	5	6

Το μοριακό πρότυπο κάθε εκκινητή καταγράφηκε και στη συνέχεια κωδικοποιήθηκε για το σύνολο των γενοτύπων. Κατά την κωδικοποίηση, η παρουσία ή η απουσία των ζωνών αντιπροσωπεύτηκε από τη μονάδα «1» ή το μηδέν «0», αντίστοιχα, σύμφωνα με το δυαδικό σύστημα. Το σύνολο των παραπάνω κωδικοποιημένων παρατηρήσεων αποτέλεσε τη βάση για τον υπολογισμό των μητρώων γενετικής συγγένειας κατά τους αλγορίθμους JACCARD και DICE, ενώ οι

φυλογενετικές σχέσεις υπολογίστηκαν από τις μήτρες γενετικής ομοιότητας που προέκυψαν σύμφωνα με τις μεθόδους NEIGHBOURJOIN και UPGMA.

Η τελική επιλογή έγινε με βάση τη συσχέτιση των αποτελεσμάτων κάθε φυλογενετικής ανάλυσης με την αρχική μήτρα. Για την εκτίμηση του παραπάνω βαθμού συσχέτισης υπολογίστηκε ο συντελεστή συσχέτισης MxComp. Με βάση τις τιμές αυτού του συντελεστή που έδωσαν όλοι οι δυνατοί συνδυασμοί των μεθόδων υπολογισμού των φυλογενετικών σχέσεων, επιλέχθηκε τελικά ο συνδυασμός JACCARD/UPGMA, καθότι παρουσίασε το μεγαλύτερο βαθμό συσχέτισης (0.80) (Πίνακας 43).

Πίνακας 43: Βαθμός συσχέτισης των φυλογενετικών σχέσεων με τα μοριακά δεδομένα

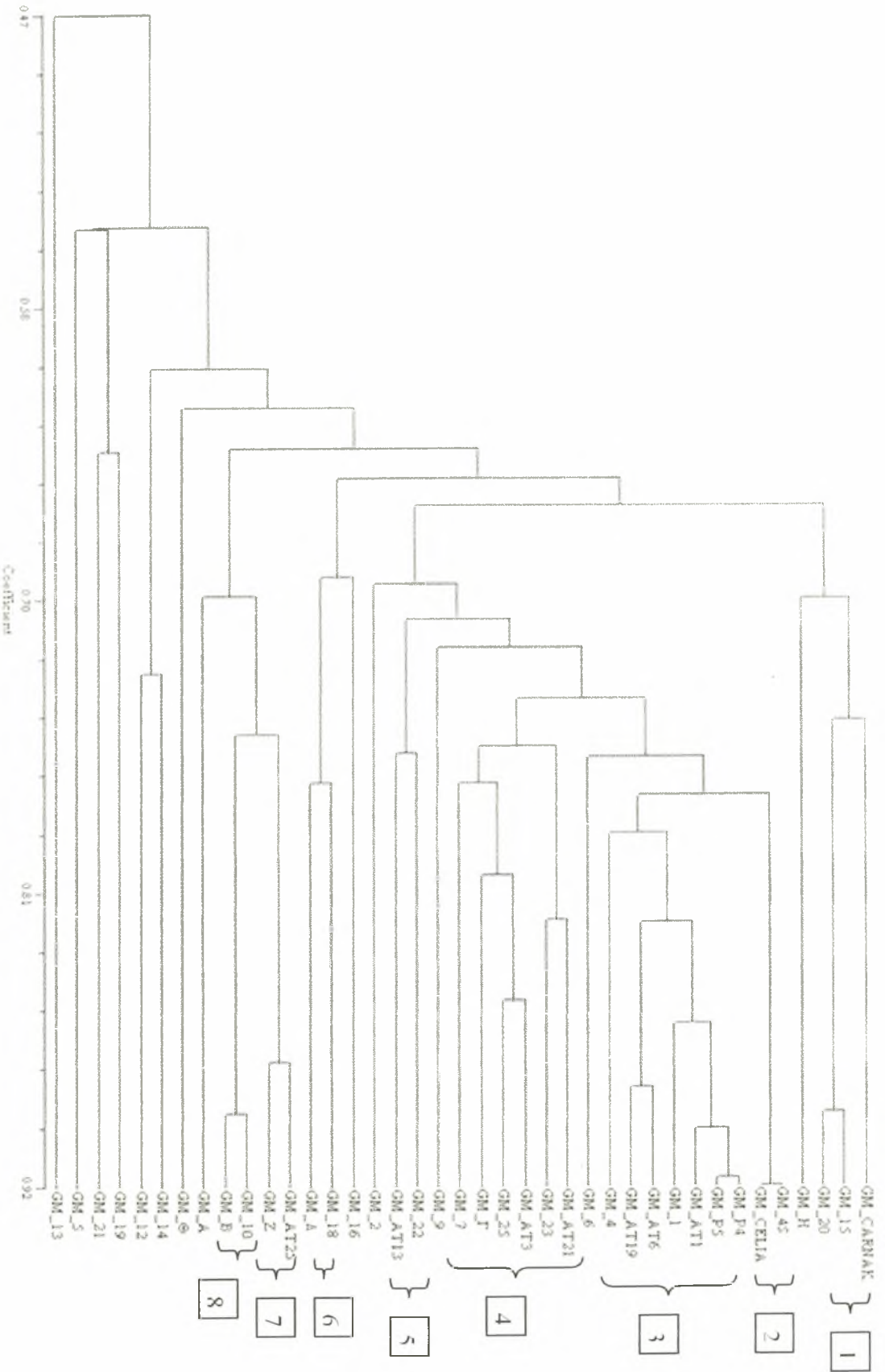
Μέθοδος υπολογισμού των φυλογενετικών σχέσεων	Τιμή MxComp
DICE/NEIGHBORJOIN	0.24
JACCARD/NEIGHBORJOIN	0.61
DICE/UPGMA	0.79
JACCARD/UPGMA	0.80

Στην Εικόνα 11 παρουσιάζεται το δενδρόγραμμα γενετικής συγγένειας των εξεταζόμενων γενοτύπων. Η μοριακή γενετική ανάλυση έγινε σε επίπεδο συσχέτισης 0.75. Γενικά μπορεί να διακριθεί η ομαδοποίηση των γενοτύπων σε οχτώ ομάδες. Στην πρώτη ομάδα, υπήρξε κοινή ομαδοποίηση της ποικιλίας Carnak με τις οικογένειες των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού 15 και 20. Η συγγένεια των γενοτύπων 15, 20 επιβεβαιώνεται από την κοινή τους γενεαλογική προέλευση [(B403xCoker) x *Hib.cannabinus*] (Πίνακας 44). Από τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του φύλλου (Πίνακας 29) παρατηρούμε ότι και οι δύο οικογένειες ομοιάζουν σε μεγάλο ποσοστό (78% η οικ.15 και 100% η οικ.20) με τα βαμβάκια του είδους *G.barbadense* και ίσως αυτός να είναι ο λόγος που ομαδοποιούνται με τον γονέα *G.barbadense*. Ο γενότυπος H, αν και έχει την ίδια γενετική προέλευση με τις οικογένειες 15 και 20, εμφανίζεται να μην συνδέεται στενά με αυτές. Από την παραγωγική του συμπεριφορά παρατηρούμε ότι ο γενότυπος αυτός ξεχωρίζει από τους υπόλοιπους γενοτύπους. Οι μάρτυρες 4S και Celia βρίσκονται στην ίδια ομάδα

και αυτό επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι ανήκουν και οι δύο στο ίδιο είδος *G. hirsutum*. Τα μίγματα της P₄ και P₅ γενεάς, με τα ατομικά επιλεγμένα φυτά 1, 6, 19 και τις οικογένειες 1 και 4 ομαδοποιούνται μαζί (ομάδα 3). Όλοι οι παραπάνω γενότυποι έχουν κοινή γενεαλογική προέλευση [(Carnakx4S)x*Hib. cannabinus*], ενώ επιπλέον τα ατομικά φυτά 1, 6, και 19 ανήκουν στην ίδια οικογένεια (οικογένεια 6), η οποία ομαδοποιείται με αυτά σε ένα ευρύτερο σύνολο. Στην τέταρτη ομάδα υπήρξε κοινή ομαδοποίηση για τις οικογένειες 23, 25 τα ατομικά επιλεγμένα φυτά 21 και 3 και τον γενότυπο Γ. Το ατομικά επιλεγμένο φυτό 3 ανήκει στην οικογένεια 23 και αυτό συμφωνεί με την παραπάνω ομαδοποίηση. Επίσης, όλοι οι προηγούμενοι γενότυποι έχουν κοινή προέλευση [(Carnakx4S) x *Hib. cannabinus*]. Οι οικογένειες 7 και 9 αν και ανήκουν στην ίδια υποομάδα με τους παραπάνω γενότυπους, σε επίπεδο συσχέτισης 0.70, φαίνεται να είναι λιγότερο συγγενείς με τους προηγούμενους. Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι ανήκουν σε άλλη γενεαλογία [(B403xCoker) x *Hib. cannabinus*], ενώ η ομαδοποίηση μέσα στην ίδια ομάδα οφείλει να επανεξεταστεί. Η οικογένεια 22 και το ατομικά επιλεγμένο φυτό 13 ομαδοποιούνται μαζί. Οι δύο τελευταίοι γενότυποι τυγχάνει να ανήκουν στην ίδια οικογένεια και αυτό επιβεβαιώνεται από τη μοριακή γενετική ανάλυση. Η οικογένεια 2 διαφοροποιείται σημαντικά σε σχέση με τις άλλες συγγενικές σειρές της ίδιας γενεαλογίας. Από την παρατήρηση της συνολικής συμπεριφοράς της οικογένειας αυτής στον αγρό δεν δικαιολογείται αυτή η διαφοροποίηση. Η οικογένεια 18 βρίσκεται στην ίδια ομάδα με τον γενότυπο Δ (ομάδα 6). Το γεγονός ότι ανήκουν στη ίδια ομάδα επιβεβαιώνεται από την κοινή τους γενεαλογία [(Carnakx4S)x*Hib. cannabinus*], όπως επίσης και από το ότι ο γενότυπος Δ προέρχεται από την παραπάνω οικογένεια. Η οικογένεια 16 φαίνεται να έχει μικρή συγγένεια με την παραπάνω ομάδα, χωρίς όμως να δικαιολογείται αυτή η διάκριση με βάση την αγρονομική συμπεριφορά της. Το ατομικά επιλεγμένο φυτό 25 και ο γενότυπος Z βρίσκονται στην ίδια ομάδα (ομάδα 7) και εμφανίζουν υψηλή συγγένεια, όπως και η οικογένεια 10 με τον γενότυπο Β (ομάδα 8). Οι γενότυποι Β και 10 έχουν κοινή γενεαλογική προέλευση [(B403xCoker) x *Hib. cannabinus*], όπως και το ατομικό φυτό 25 και ο γενότυπος Z [(Carnakx4S)x*Hib. cannabinus*]. Παρατηρείται απομακρυσμένη γενετική σχέση του γενότυπου Α με τις δύο προηγούμενες ομάδες. Αυτή του η διαφοροποίηση παρατηρείται και στην απόδοση του, καθώς είναι ιδιαίτερα μικρή. Τέλος, όσον αφορά τους υπόλοιπους γενότυπους που εξετάστηκαν, είναι πιο απομακρυσμένοι γενετικά

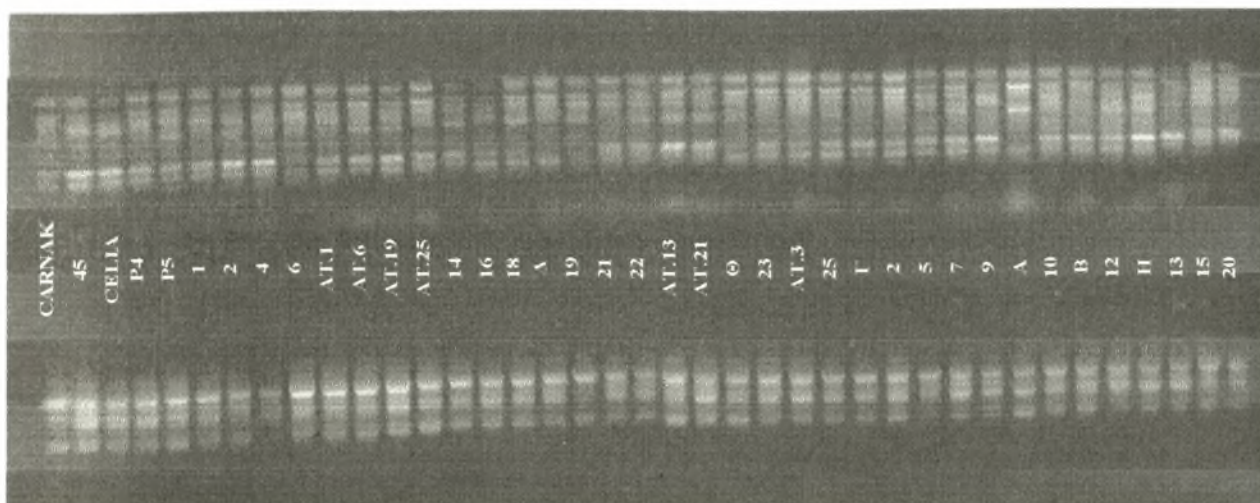
απο τους υπόλοιπους και ομαδοποιούνται σε ένα πολύ ευρύτερο σύνολο με αυτούς.

Εικ. 11. Δενδρογράφημα φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ 36 μερικών διειδικών υβριδίων βακτηρίου και πέντε μαρτύρων και διάκριση σε ομοιοτήδη υποσύνολα όπως προέκυψαν από την ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου RAPD.

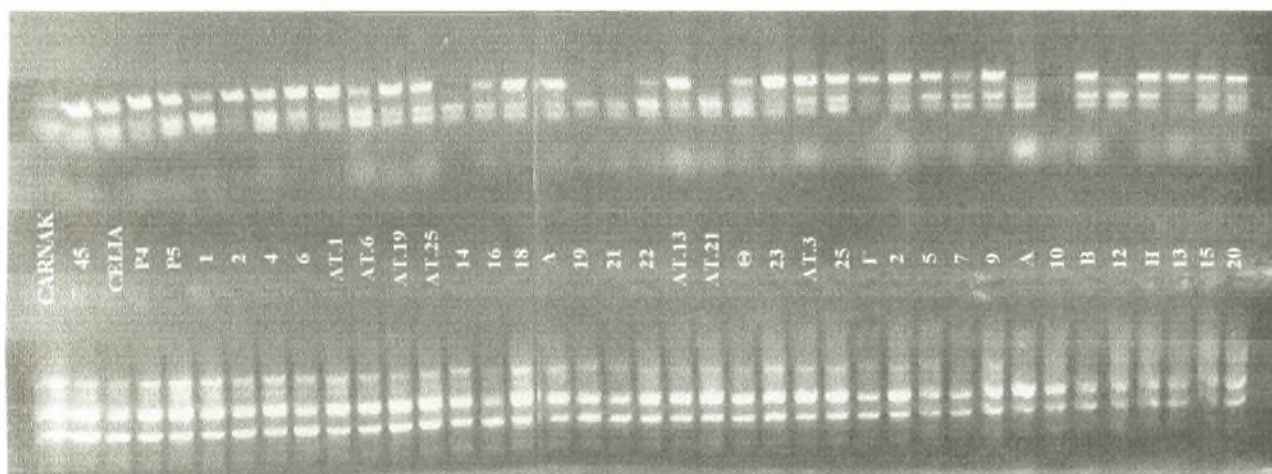


Πίνακας 44: Γενεαλογία του φυτικού υλικού και κωδικοποίηση κατά τα έτη 2002-2005.

2005	2004	2003	2002	
1	1	27	B7-12	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
2	2	1	A1-1	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
3	CARNAK			
4	4	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
5	17	17	A25-1	[(B403xAcala)xHib.cannabinus]
6	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
7	7	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
8	4S			
9	9 (Θ)	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
10	27	9	A3-10	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
11	CELIA			
12	12(B)	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
13	13	4	A3-1	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
14	14	25	B5-5	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
15	15(Θ)	6	A3-5	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
16	16	28	B9-4	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
17	BULK-P4			
18	28(Θ)	18	B5-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
19	29(B)	12	A5-8	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
20	30	7	A3-6	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
21	21	24	B5-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
22	22	15	A20-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
23	24	2	A1-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
24	BULK-P5			
25	25(B)	2	A1-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
AT.1	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
AT.3	24	2	A1-3	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
AT.6	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
AT.13	22	15	A20-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
AT.19	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
AT.21	22	15	A20-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
AT.25	6	14	A12-2	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
A	7/9/2012	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
B	4/27/13	9	A3-10	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
Γ	16/10/31	22	B4-7	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
Δ	6/28/25	18	B5-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
E	2/26/1	9	A3-10	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
Z	8	12	A5-8	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]
H	12	8	A3-9	[(B403xCoker)xHib.cannabinus]
Θ	22	15	A20-6	[(Carnakx4S)xHib.cannabinus]



Εικ. 12: Προφίλ ζωνών που προκύπτει από τον πολλαπλασιασμό των ομαδοποιημένων δειγμάτων μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού με τους εκκινητές OPC01 (πάνω) και OPC02 (κάτω)



Εικ. 13: Προφίλ ζωνών που προκύπτει από τον πολλαπλασιασμό των ομαδοποιημένων δειγμάτων μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού με τους εκκινητές OPC12 (πάνω) και OPC14 (κάτω)

5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την εκτίμηση του ποσοστού φυτρώματος των είκοσι μερικώς διειδικών υβριδίων, προέκυψε ότι η φυτρωτική ικανότητα τους είναι σχετικά μικρή. Το μεγαλύτερο ποσοστό φυτρώματος που παρατηρήθηκε ήταν 73.08%, ενώ το ποσοστό φυτρώματος μιας αξιόλογης εμπορικής ποικιλίας κυμαίνεται στο 90-95%.

Από τη μελέτη των οικογενειών των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού ως προς τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του άνθους, προέκυψε ότι υπήρχε παραλλακτικότητα μεταξύ των οικογενειών καθώς το 77% των οικογενειών παρουσίασε χαρακτηριστικά και των δύο ειδών. Αντίθετα, από τις παρατηρήσεις των μορφολογικών χαρακτηριστικών των φύλλων, προέκυψε ότι υπήρχε σχετική ομοιομορφία μεταξύ των φυτών εντός της κάθε οικογένειας, αφού το μεγαλύτερο ποσοστό (62%) των οικογενειών εμφάνισε τα τυπικά χαρακτηριστικά του είδους *G. barbadense*. Τέλος, μετά από οπτική εκτίμηση των οικογενειών για το βαθμό ομοιομορφίας τους, προέκυψε ότι οι οικογένειες παρουσίασαν χαμηλή έως μέση ομοιομορφία.

Όσον αφορά την πρωιμότητα με κριτήριο τις ημερομηνίες εμφάνισης του πρώτου άνθους, της άνθησης του 50% και της πλήρους άνθησης της κάθε οικογένειας, η ανάλυση της διακύμανσης έδειξε ότι υπήρχε παραλλακτικότητα μεταξύ των οικογενειών και για τα τρία χαρακτηριστικά της πρωιμότητας. Ήταν ενθαρρυντικό το γεγονός ότι υπήρχαν οικογένειες μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού, οι οποίες βρισκόταν στα ίδια επίπεδα ή ήταν πιο πρόωμες από τους μάρτυρες του είδους *G. hirsutum*.

Ως προς την απόδοση σε σύσπορο βαμβάκι, βρέθηκε ότι τα μερικώς διειδικά υβρίδια βρισκόταν σε χαμηλότερα επίπεδα σε σχέση με την απόδοση των μαρτύρων. Υπήρχε όμως παραλλακτικότητα μεταξύ των οικογενειών και επομένως είναι δυνατή η συνέχιση της επιλογής για περαιτέρω βελτίωση της απόδοσης των γενοτύπων.

Από την εκτίμηση των χαρακτηριστικών της ποιότητας της ίνας, προέκυψε ότι οι οικογένειες των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού είχαν υψηλή ποιότητα ίνας, σε σχέση με τις διεθνείς προδιαγραφές των πιο αξιόλογων εμπορικών ποικιλιών. Ως προς το μήκος της ίνας, οι οικογένειες ανήκαν είτε στην κατηγορία των μεσομακρόινων, είτε στην κατηγορία των μακρόινων ποικιλιών. Για το χαρακτηριστικό της ομοιομορφίας της ίνας δεν βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές

διαφορές μεταξύ των γενοτύπων, επομένως θα ήταν σωστό να μην επιλέξουμε ως προς τα χαρακτηριστικά αυτό. Θα μπορούσαμε όμως να αναφέρουμε ότι τα επίπεδα ομοιομορφίας της ίνας στις περισσότερες οικογένειες ήταν πολύ υψηλά. Όσον αφορά την αντοχή της ίνας, όλες οι οικογένειες επιδείκνυαν άριστη συμπεριφορά, καθώς είχαν τιμές αντοχής μεγαλύτερες του μέγιστου βαθμού αντοχής, ενώ πολύ καλή συμπεριφορά επιδείκνυαν και ως προς το χαρακτηριστικό της επιμήκυνσης. Τέλος, οι τιμές του *micronaire* ήταν χαμηλές και παρόμοιες με αυτές των βαμβακιών του είδους *G. barbadense*.

Οι παρατηρήσεις που αφορούσαν την ομοιομορφία των ατομικών φυτών σε σχέση με την ομοιομορφία των οικογενειών από τις οποίες προέρχονται έδειξαν ότι δεν υπάρχει μεγάλη διαφορά μεταξύ των οικογενειών και των ατομικών φυτών. Από την παρατήρηση και καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών του άνθους, προέκυψε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των ατομικά επιλεγμένων φυτών και των ημιγόνιμων και άγονων γενοτύπων παρουσίασε έντονη παραλλακτικότητα. Αντίθετα, από την παρατήρηση του σχήματος του φύλλου προέκυψε ομοιομορφία εντός του γενοτύπου για το χαρακτηριστικό αυτό για τα ατομικά επιλεγμένα μερικώς διειδικά υβρίδια βαμβακιού όπως και για τους ημιγόνιμους και άγονους γενοτύπους της προηγούμενης γενεάς. Ακόμη, τα ατομικά επιλεγμένα φυτά παρουσίασαν χαμηλή φυτρωτική ικανότητα. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε περιβαλλοντικούς, ή πιο πιθανό σε γενετικούς παράγοντες (ανευπλοειδία). Ως προς την πρωιμότητα, τα περισσότερα ήταν όψιμα σε σχέση με τον μάρτυρα *G. barbadense*. Η απόδοση του σύσπορου βαμβακιού των ατομικών φυτών ήταν μικρή σε σχέση με τις εμπορικές ποικιλίες. Όλοι σχεδόν οι γενότυποι είχαν μικρότερες αποδόσεις από τους μάρτυρες και αρκετοί ήταν αυτοί που ούτε καν έφτασαν το 50% της απόδοσης των μαρτύρων. Από τις παρατηρήσεις της πορείας άνθησης και καρπόδεσης των ημιγόνιμων και άγονων μερικώς διειδικών υβριδίων, προέκυψε ότι όλοι οι γενότυποι συμπεριφέρθηκαν φυσιολογικά ως προς την άνθηση και την καρπόδεση, εκτός από τον γενότυπο Α. Στα φυτά του γενοτύπου αυτού είτε τα άνθη τους έπεφταν πριν να γονιμοποιηθούν, είτε πιο συχνά έπεφταν στο στάδιο του χτενιού, ενώ παρατηρήθηκε και μια μικρή πτώση νεαρών καρυδιών. Τελικά ένας μικρός αριθμός καρυδιών έδεσε και μεγάλωσε κανονικά. Επομένως θα πρέπει να αποκλειστεί το ενδεχόμενο ολικής αρρενοστερότητας.

Τέλος, οι δείκτες τύπου RAPD αποδείχτηκαν ιδιαίτερα αξιόπιστοι για το γενετικό υλικό του πειράματος, και με υψηλή διακριτική ικανότητα. Το φαινόμενο

αυτό μπορεί να οφείλεται στους RAPD's ή στην υψηλή γενετική παραλλακτικότητα του γενετικού υλικού που εξετάστηκε. Οι πιο πολυμορφικοί δείκτες (OPC01, OPC12, OPC15) αποδείχτηκαν και ως περισσότερο πληροφοριακοί, αφού βοήθησαν στη διακριτότητα μεταξύ των γενοτύπων. Τέλος, για επίπεδο συσχέτισης 0.75, η ομαδοποίηση και η περιγραφή των φυλογενετικών σχέσεων αποδείχτηκε ιδιαίτερα ακριβής σε σχέση με την γενεαλογία του φυτικού υλικού που εξετάστηκε. Εξαιρέση αποτελούν οι οικογένειες των μερικώς διειδικών υβριδίων 2 και 16, οι οποίες βρέθηκαν να έχουν μικρή συγγένεια με τους υπόλοιπους γενοτύπους της ίδιας γενετικής προέλευσης. Η διάκριση των γενοτύπων αυτών όμως δεν επιβεβαιώθηκε από τα μορφολογικά τους γνωρίσματα ή την αγρονομική συμπεριφορά. Η περίπτωση αυτών των γενοτύπων προτείνεται να εξεταστεί περαιτέρω, με τη χρήση κυτταρογενετικών αναλύσεων.

6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αξιολογήθηκαν 20 οικογένειες μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού P₆ γενεάς, που προήλθαν από αμοιβαίες διασταυρώσεις μεταξύ ποικιλιών του *G. hirsutum* (4S, Acala, Coker) και του *G. barbadense* (B403, Carnak). Συγκεκριμένα, τα φυτά αυτά, προήλθαν από διασταύρωση F₁ διειδικών υβριδίων τα οποία επικονιάστηκαν με γύρη του *Hibiscus cannabinus* και διατηρήθηκαν στις επόμενες γενεές με ελεγχόμενες αυτογονιμοποιήσεις και ελεύθερη επικονίαση. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες σύγκρισης η εμπορική ποικιλία Celia, οι μητρικοί γενότυποι Carnak και 4S καθώς και μίγματα σπόρων από την P₄ και P₅ γενεά. Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε ήταν το τριπλό δικτυωτό για 25 επεμβάσεις (οικογένειες) σε τρεις επαναλήψεις.

Η αγρονομική συμπεριφορά αξιολογήθηκε με βάση το ποσοστό φυτρώματος των οικογενειών, την πρωιμότητα, το ύψος των φυτών και την απόδοση σε σύσπορο βαμβάκι, ενώ η ποιότητα της ίνας των οικογενειών των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού εκτιμήθηκε με βάση την τιμή του μήκους της ίνας, της ομοιομορφίας, της αντοχής, της επιμήκυνσης και της τιμής του micronaire. Τέλος, εκτιμήθηκε ο βαθμός ομοιομορφίας εντός των οικογενειών με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ανθέων και των φύλλων, καθώς και με οπτική εκτίμηση του βαθμού ομοιομορφίας.

Από τη ανάλυση των δεδομένων προέκυψε ότι όσον αφορά τη φυτρωτική ικανότητα, οι οικογένειες των μερικώς διειδικών υβριδίων παρουσίασαν μια σχετικά καλή φυτρωτική ικανότητα, σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Από τη άλλη, υπήρχε παραλλακτικότητα για το χαρακτηριστικό της πρωιμότητας μεταξύ των οικογενειών. Συγκεκριμένα οι περισσότερες από αυτές ήταν όψιμες, αλλά υπήρξαν και οικογένειες οι οποίες βρίσκονταν στα ίδια επίπεδα ή ήταν πιο πρώιμες από τους μάρτυρες του είδους *G. hirsutum*. Το ύψος των γενοτύπων κυμάνθηκε περίπου μεταξύ του ύψους των δύο γονέων, 4S και Carnak. Επιπλέον, ως προς την απόδοση σύσπορου βαμβακιού οι τιμές των οικογενειών κυμάνθηκαν σε χαμηλότερα επίπεδα από αυτές των μαρτύρων, αλλά παρουσίασαν παραλλακτικότητα, γεγονός που αφήνει περιθώρια περαιτέρω γενετικής βελτίωσης. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά της ποιότητας της ίνας, οι οικογένειες των μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού είχαν υψηλή ποιότητα ίνας, σε σχέση με τις διεθνείς προδιαγραφές των πιο αξιολογών εμπορικών ποικιλιών. Τέλος, από την εκτίμηση της ομοιομορφίας προέκυψε ότι υπήρχε ανομοιομορφία εντός των οικογενειών για τα χαρακτηριστικά των άνθεων, ενώ για τα

χαρακτηριστικά των φύλλων οι οικογένειες επιδείκνυαν ομοιομορφία, αφού οι περισσότερες είχαν φύλλα τύπου *G.barbadense*. Μετά από οπτική εκτίμηση των οικογενειών για τον βαθμό ομοιομορφίας εντός αυτών, προέκυψε ότι οι οικογένειες παρουσίαζαν χαμηλή έως μέση ομοιομορφία.

Επιπλέον, αξιολογήθηκαν τα καλύτερα ατομικά μερικώς διειδικά υβριδικά φυτά της προηγούμενης γενεάς καθώς και τα ημιγόνιμα και άγονα φυτά της ίδιας γενεάς. Επίσης σπάρθηκε η διασταύρωση Carnak x 4S (F_2) και οι μητρικοί γενότυποι Carnak και 4S, ως μάρτυρες. Οι γενότυποι σπάρθηκαν σε γραμμές. Στη συνέχεια εκτιμήθηκε η αγρονομική συμπεριφορά των γενοτύπων με βάση το ποσοστό φυτρώματος, την πρωιμότητα, το ύψος των φυτών και την απόδοση σύσπορου βαμβακιού. Επίσης, στις σειρές των ημιγόνιμων και άγονων γενοτύπων μελετήθηκε η πορεία άνθησης και καρπόδεσης. Τέλος, εκτιμήθηκε η ομοιομορφία εντός των γενοτύπων, με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των άνθων και των φύλλων.

Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι τα ποσοστά φυτρώματος κυμαινόταν σε χαμηλά επίπεδα. Ως προς την πρωιμότητα, τα ατομικά επιλεγμένα και τα ημιγόνιμα και άγονα φυτά της προηγούμενης γενεάς ήταν όψιμα, πολλά από αυτά πιο όψιμα και από τον μάρτυρα *G.barbadense*. Το ύψος των ατομικά επιλεγμένων φυτών της κυμάνθηκε μεταξύ του ύψους των γονέων 4S και Carnak, ενώ το ύψος των άγονων και ημιγόνιμων φυτών κυμάνθηκε σε πιο υψηλά επίπεδα, παρόμοια με αυτά του *G.barbadense* γονέα. Όσον αφορά την απόδοση του σύσπορου βαμβακιού, παρατηρήθηκαν μικρές αποδόσεις σε σχέση με τις μητρικές ποικιλίες. Αρκετοί γενότυποι μάλιστα, είχαν αποδόσεις που ούτε καν έφτασαν το 50% της απόδοσης των μαρτύρων. Το μεγαλύτερο ποσοστό των ατομικά επιλεγμένων φυτών και των ημιγόνιμων και άγονων γενοτύπων παρουσίαζε ανομοιομορφία εντός των γενοτύπων, ως προς τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του άνθους, ενώ σε αντίθεση, επιδείκνυαν ομοιομορφία ως τον τύπο φύλλου, καθώς το μεγαλύτερο ποσοστό είχε φύλλα τύπου *G.barbadense*. Τέλος, όλες οι ημιγόνιμες και άγονες σειρές συμπεριφέρθηκαν φυσιολογικά ως προς την άνθηση και την καρπόδεση, εκτός του γενοτύπου A. Στα φυτά του γενότυπου αυτού είτε τα άνθη τους έπεφταν πριν να γονιμοποιηθούν, είτε πιο συχνά έπεφταν στο στάδιο του χτενιού, ενώ παρατηρήθηκε και μια μικρή πτώση νεαρών καρυδιών.

Για την αξιολόγηση του γενετικού υλικού χρησιμοποιήθηκαν οι μοριακοί δείκτες RAPDs. Το γενετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν 20 οικογένειες μερικώς διειδικών υβριδίων βαμβακιού P_6 γενεάς, τα ατομικά επιλεγμένα φυτά με

του κωδικούς 1, 3, 6, 13, 29, 21, 25, τα άγονα και ημιγόνιμα φυτά A, B, Γ, Δ, Z, Η, Θ, η εμπορική ποικιλία Celia, οι μητρικοί γενότυποι Capnak και 4S και τα φυτά που προέκυψαν από μίγματα σπόρων από την P₄ και P₅ γενεά.

Για τη αξιολόγηση των γενοτύπων αρχικά έγινε απομόνωση του DNA με τη CTAB μέθοδο για απομόνωση ολικού DNA και στη συνέχεια προσδιορίστηκε η ποσότητα του DNA στα δείγματα. Για την μοριακή ανάλυση του γενώματος των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν 10 εκκινητές τύπου RAPD και ανιχνεύτηκαν πολυμορφισμοί και στους δέκα από αυτούς.

Το σύνολο των κωδικοποιημένων παρατηρήσεων αποτέλεσε τη βάση για τον υπολογισμό των μητρώων γενετικής συγγένειας κατά τους αλγορίθμους JACCARD και DICE, ενώ οι φυλογενετικές σχέσεις υπολογίστηκαν από τις μήτρες γενετικής ομοιότητας που προέκυψαν σύμφωνα με τις μεθόδους NEIGHBOURJOIN και UPGMA. Τελικά επιλέχτηκε ο συνδυασμός JACCARD/UPGMA.

Οι δείκτες τύπου RAPD αποδείχτηκαν ιδιαίτερα αξιόπιστοι για το γενετικό υλικό του πειράματος, και με υψηλή διακριτική ικανότητα. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να οφείλεται στους RAPD's ή στην υψηλή γενετική παραλλακτικότητα του γενετικού υλικού που εξετάστηκε. Οι πιο πολυμορφικοί δείκτες (OPC01, OPC12, OPC15) αποδείχτηκαν και ως περισσότερο πληροφοριακοί, αφού βοήθησαν στη διακριτότητα μεταξύ των γενοτύπων. Τέλος, για επίπεδο συσχέτισεως 0.75, η ομαδοποίηση και η περιγραφή των φυλογενετικών σχέσεων αποδείχτηκε ιδιαίτερα ακριβής σε σχέση με την γενεαλογία του φυτικού υλικού που εξετάστηκε. Εξαιρέση αποτελούν οι οικογένειες των μερικώς διειδικών υβριδίων 2 και 16, οι οποίες βρέθηκαν να έχουν μικρή συγγένεια με τους υπόλοιπους γενότυπους της ίδιας γενετικής προέλευσης. Η διάκριση των γενοτύπων αυτών όμως δεν επιβεβαιώθηκε από τα μορφολογικά τους γνωρίσματα ή την αγρονομική συμπεριφορά. Η περίπτωση αυτών των γενοτύπων προτείνεται να εξεταστεί περαιτέρω, με τη χρήση κυτταρογενετικών αναλύσεων.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A. and Cregan, P.B. (1992). *Genetics* 132: 1131-1139.
- Albini, S.M., G.H. Jones (1987). Synoptonemal complex spreading in *Allium cepa* and *A.fistulosum*. I. The initiation and sequence pairing. *Chromosoma* 95 :324-338.
- Ali M. and Lewis C.F. (1962). Effects of reciprocal crossing on cytological and morphological features of interspecific hybrids of *Gossypium hirsutum* L. and *Gossypium barbadense* L. . *Crop Sci.* 2:20-22.
- Arus P. and Moreno-Gonzalez J. (1993). Marker-assisted selection. In: *Plant Breeding: Principles and prospects*. Edited by M.D. Hayward, N.O. Bosemark and I.Romagosa.. Published by Chapman & Hall, London.
- Βακαλουνάκης Δ.Ι. και Φραγκιαδάκης Γ.Α. (2003). Φυτοπαθοβελτίωση με έμφαση στη τομάτα και τα κολοκυνθοειδή. Βακαλουνάκης. Ηράκλειο.
- Baloch, M.J., A.R. Lakko and A.H. Soomro (1993). Heterosis in interspecific cotton hybrids. *Pak.J.Bot.*, 25:13-20.
- Barrow J.R., Chaudhari H.K. (1976). A homozygous interspecific F2 hybrid of *Gossypium barbadense* x *Gossypium hirsutum* via the semigmetic haploid method. *Crop Sci.* 16:441-442.
- Bilbro, J.D. (1961). Comparative effectiveness of three breeding methods in modifying coarseness of cotton fiber. *Crop Sci.* 1: 313-316.
- Bowcock, A.M., A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde, E. Minch, J.R. Kidd and L.L. Cavalli-Sforza. (1994). High resolution human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* (London) 368: 455-457.
- Brubaker, C. L., and Wendel, J. F. (1994). Reevaluating the origin of domesticated cotton (*Gossypium hirsutum*; *Malvaceae*) using nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). *Am.J. Bot.* 81, 1309-1326.
- Brubaker, C. L., Bourland, F. M., and Wendel, J. F. (1999a). The origin and domestication of cotton. In “*Cotton: Origin, History, Technology and Production*” (C.W. Smith and J. T. Cothren, Eds.),pp. 3-31. Wiley, New York.
- Budak H.,F. Pedraza, P. B. Cregan, P. S. Baenziger, and I. Dweikat (2003). Development and Utilization of SSRs to Estimate the Degree of Genetic Relationships in a Collection of Pearl Millet Germplasm. *Crop Sci.* 43:2284-2290.
- Burr, B., F.A.Burr, K.H. Thompson, M.C. Albertsen and C.W. Stuber (1988). Gene mapping with recombinant inbreds in maize. *Genetics* 118:519-526.

- Chaudhry, M.R. (1997b). Commercial cotton hybrids. The lint cotton advisory comitee. Recordr XY.
- Chin, E.C.L., M.L. Senior, H. Shu, and J.S. Smith. (1996). Maize simple repetitive DNA sequences: Abundance and allele variation. *Genome* 39:866–873.
- Cook, O.F. (1909). Suppressed and intensified characters in cotton hybrids. USDA *Plant Ind Bull* 147.
- Cowen, N.M. (1989). Multiple regression analysis of RFLP data sets used mapping QTLs. P. 113-116. In : T.Heletjaris and B. Burr (eds.). *Development and applications of molecular markers to problems in plant genetics*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.
- Davis, D.D. (1978). Hybrids cotton : Specific problem and potential. *Adv. Agron.*, 30:129-157.
- Davis D.D. (1979). Synthesis of commercial F₁ hybrids in cotton. II Long. Strong-fibered *G.hirsutum* L. x *G.barbadense* L. hybrids with superior agronomic properties. *Crop Sci.* 19:115-119.
- Dijkhuizen, A. (1994). In : “*Application of restriction fragment length polymorphism for the assesement of genetic variability and study of quantitavely inherited traits in cucumber (Cucumis sativus L.)*”. PhD Diiss.,Univ. of Wisconsin, Madison.
- Doebly, J. and A.Stec (1991). Genetic analysis of morphological differences between maize and teosinte. *Genetics* 129:285-295.
- Echt, C., S. Knapp, and B.H. Liu (1992). Genome mapping with non-inbred crosses using GMendel 2.0. *Maize Genet. Coop.* Nwsl. 66:27-29.
- Edwards, M.D., C.W.Stuber, and J.F. Wendel (1987). Molecular facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. I. Number, genomic distribution and types of gene action. *Genetics* 116:113-125.
- Erlich, H.A. (1989).In “ *PCR technology: principles and applications for DNA amplifications*”.Stockton Press, NY.
- Endrizzi J.E., Ramsay G. (1979). Monosomes and telosomes for 18 of 26 chromosomes of *Gossypium hirsutum*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 21:531-536.
- Endrizzi, J.E., Turcote, E.L. and Kohel, R.J. (1985). Genetics, cytology and evoloution of *Gossypium* . *Advances in Genetics*. Vol. 23.
- Fryxell, P.A., G. Staten, and J.H. Porter (1958). Performance of some wide crosses in *Gossypium*. New Mexico *Agric. Exp. Stn. Bull.* 419

- Galanopoulou – Sendouca S. (1987). Performance of cotton hybrids in Greece. *Agric. Rec.*,11:325-342.
- Galanopoulou - Sendouca S., Roupakias D.G. (1995). Heterosis of cotton F₁ hybrids and its relationship to the mean yield of advanced unselected generations. *J. Genet. Breed.*
- Goodin J.R., Trilinder N.L. (1990). The in vitro production of cotton (*Gossypium*) fibers. In “*Abstracts VIIth International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*”. Amsterdam,24-29 June (IAPTC : Amsterdam).
- Gupta, S.P. and T.H. Singh (1987). Heterosis and inbreeding depression for seed cotton yield and some seed and fibre attributes in upland cotton (*G.hirsutum L.*). *Crop Improvement*, 14: 14-17.
- Haldane, J.B.S. (1919). The combination of linkage values and the calculation of distance between the loci of linked factors. *J.Genet.* 8:299-309.
- Hawkins, B.S., Peacock, H.A., Ballard, W.W. (1965). Heterosis and combining ability in upland cotton – effect on yield. *Crop Sci.* 5:543-546.
- Hernandez, P., D.A. Laurie, A. Martin, and J.W. Snape (2002). Utility of wheat simple sequence repeat (SSR) markers for genetic analysis of *Hordeum chilense* and *tritordeum*. *Theor. Appl. Genet.* 104:735–739.
- Jones J.E. , and H.D. Loden (1951). Heterosis and combining ability in upland cotton. *Agron. J.* 43:514-516.
- Καλτσίκης Π.Ι.(1992). Ειδική βελτίωση φυτών. Εκδόσεις Σταμούλης, Πειραιάς.
- Kasha K.J. , Kao K.N. (1970). High frequency haploid production in barley (*Hordeum vulgare L.*). *Nature* 225:874-875. doi: 10.1038/225874a0.
- Kohel R.J., Endrizzi J.E., White T.G. (1977). An evaluation of *Gossypium barbadense L.* chromosomes 6 and 17 in the *G.hirsutum L.* genome. *Crop Sci.* 17:404-406.
- Kohel, R.J., Russell J., John Yu, Yong-ha Park and Gerald R. Lazo. (2001). Molecular mapping and characterization of traits controlling fiber quality in cotton. *Euphytica* 121:163-172.
- Kohel, R.J., J. Yu, Y. Park, and G.R. Lazo (2001). Molecular mapping and characterization of traits controlling fiber quality. *Euphytica* 121:163-172.
- Kohel, R.J. and J. Yu (2001). Molecular Characterization of *Gossypium* Germplasma for Cotton Improvement. In : *IPGRI 2002. Managing Plant Genetic Diversity* eds. J.M.M. Engels, V. Ramanatha Rao, A.H.D. Brown and M.T. Jackson.

- Kosambi D.D. (1944). The estimation of map distances from recombinational values. *Annals of Eugenics* 12:172-175.
- Krishnaswami R. and Kothandaraman R. (1977). Heterosis in interspecific hybrids of *Gossypium*. *Indian J. Genet. Plant Breed.* 37:40-45.
- Kumar L.S. (1999). DNA markers in plant improvement: An overview *Biotechnology Advances* 17: 143–182.
- Lacape, J.M., T.B. Nguyen, S. Thibivilliers, B. Bojinov, B. Courtois, R.G. Cantrell, B. Burr, and B. Hau.(2003). A combined RFLP-SSR-AFLP map of tetraploid cotton based on a *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense* backcross population. *Genome* 46:62-626.
- Lande, R. and R. Thompson (1990). Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124: 743-756.
- Lander, E.S. and D. Bostein, (1986). Mapping complex genetic traits in humans: New method using a complex RFLP linkage map. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. 51:49-62
- Lander, E.S. and D. Bostein (1989). Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFPL linkage maps. *Genetics* 121:185-199.
- Lander, E.S., P. Green, J. Abrahamson, A.Barlow, M.J. Daly, S.E. Lincoln, and L. Newberg (1987). MAPMAKER : An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1:174-181.
- Lewis, C.F.1956. Cotton Breeding Methods. In : *Proc. Cotton Improvement Conf.,Atlanta, Ga.*
- Lin, Z., D. He, X. Zhang, Y. Nie, X. Guo, C. Feng and J.McD. Stewart (2005). Linkage map construction and mapping QTL for cotton fibre quality using SRAP, SSR and RAPD. *Plant Breeding* 124:180-187.
- Linos, A.A., P.J. Babeli, and P.J. Kaltsikes (2002). Cultivar identification in upland cotton using RAPD markers. *Aust. J. Agric. Res.* 53: 637-642.
- Μαυρομάτης Α.Γ. (1996). Από την πτυχιακή διατριβή : Αναγέννηση *in vitro* και σωμακλωνική παραλλακτικότητα στο βαμβάκι (*Gossypium spp.*).
- Ma, Z.Q., M. Roder, and M.E. Sorrells. (1996). Frequencies and sequence characteristics of di-, tri-, and tetra-nucleotide microsatellites in wheat. *Genome* 39:123–130.
- de Maine M.J.(2003). Potato haploid technologies. In ‘*Doubled Haploid production in crop plants*’. (Eds M. Maluszynski, K.J.Kasha, B.P. Forster, I. Szarejko). Pp. 241-247. (Kluwer Academic Publishers:Dordrecht, The Netherlands).

- Mahill J.F., Jenkins J.N., McCarty J.C. Jr, Parrott W.L. (1984). Performance and stability of doubled haploid lines of upland cotton derived via semigamy. *Crop Sci.* 24:271-277.
- Manly K.F. and R.W.Elliot (1991).MapManager, a microcomputer programm for analysis of data from recombinant inbred strains. *Mammalian Genome* 1:123-763
- Mather, K. (1938). In: “*Measurement of linkage in heredity*”. Methuen and Co., London.
- Marani A. (1963). Heterosis and combining ability for yield and components of yield in a diallel cross of two species of cotton. *Crop Sci.* 3:552-555.
- Marani, A. (1967). Heterosis and compining ability in intraspecific and interspecific crosses of cotton. *Crop Sci.* 7:519-522.
- Marani A. (1968c). Heterosis and inheritance of quantitative characters in interspecific crosses of cotton. *Crop Sci.* 8:299-303.
- Mavromatis A.G., Kantartzi S.K., Vlachostergios D.N., Xynias I.N., Skarakis G.N., Roupakias D.G. (2005). Induction of embryo development and fixation of partial interspecific lines after pollination of F1 cotton interspecific hybrids (*G.barbadense* x *G.hirsutum*) with pollen from *Hibiscus cannabinus*. *Australian Journal of Agricultural Research* 56:1101-1109.
- Mavromatis A.G., Roupakias D.G. (1994). Biotechnology : a hope for partial interspecific hybrid in cotton (*Gossypium spp*). In ‘*Cotton biotechnology. Proceedings of a Meeting of the Working Group on Cotton Biotechnoligy.* Leuven, Belgium, 22-23 Oct.1993.(Ed. M.C. Peeters) FAO-Technical Series No.32, pp.29-36. (FAO : Rome).
- Mavromatis A.G., Roupakias D.G. (1995). Haploid production via intergeneric pollination and ovule culture in cotton (*Gossypium spp.*). Proc 2nd meeting of the WG Cotton biotechnology of the FAO- Int Cooperative Res Network on Cotton, 31st March and 1st
- Meredith, W.R. Jr. (1984). Quantitative genetics. In *R.J. Kohel and C.F. Lewis (Ed.) cotton.* Agron 24. USA, CSSA, Madison, WI.,pp:131-150.
- Meredith, W.R. Jr. (1990). Yield and fiber quality potential for second generation cotton hybrids. *Crop Sci.* 30:1045-1048.
- Meredith, W.R. Jr. (1995). Use of molecular markers in cotton breeding. P. 303-308. In *G.A. Constable and N.W. Forrester (ed.) Proc. World Cotton Res. Conf.* 14-17 Feb. 1994, Brisbane, Australia. SCIRO. Melbourne, Australia.
- MeredithW.R. Jr. (1998). Heterosis in cotton. In *Heterosis in crops.* CIMMYT workshop ASA and CSSA, Madison, W.I., pp: 17-22.

- Meredith W.R. and Bridge R.R. (1971). Breakup of linkage blocks in cotton, *Gossypium hirsutum* L. *Crop Sci.* 13:698-701.
- Meredith W.R. and Bridge R.R. (1973). Recurrent selection for lint percent within a cultivar of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Crop Sci.* 13:698-701.
- Meyer, V.G. (1973a). Fertility restorer genes for cytoplasmic male sterility from *Gossypium harkensii*. P. 65. In : *Proc. Beltwide Cotton Prod. Res. Conf.*, Phoenix, Ariz.
- Meyer, V.G. (1973b). Registration of sixteen germplasm lines of Upland cotton (Reg. No. G.P. 3 to G.P. 18). *Crop Sci.* 13:778.
- Meyer, V.G. (1975). Male sterility from *Gossypium harkensii*. *J. Hered.*, 66:23-27.
- Michelmore, R.W., I. Paran, and R.V. Kesseli (1991). Identification of markers linked to disease.
- Miller, P.A. and Rawlings, J.O. (1967a). Breakup of initial linkage blocks through intermating in a cotton breeding population. *Crop Sci.* 7:199-204.
- Miller, P.A. and A. Marani (1963). Heterosis and combining ability in diallel crosses for upland cotton. *Gossypium hirsutum* L. *Crop Sci.* 4:446-444.
- Miller, P.A. and Rawlings, J.O. (1967b). Selection for increased lint yield and correlated responses in Upland cotton. *Crop Sci.* 7:637-640.
- Minhas, N.M., T. Mahmood, M.A. Khan and S.Y. Naz (1994). Heterosis studies in cotton (*G. hirsutum* L.). *Animal and Plant Sci.*, 4: 99-101.
- Moffet, J.O., and L.S. Stith. (1972). Pollination by honeybees of male-sterile cotton in cages. *Crop Sci.* 14:476-478.
- Morgante M and Olivieri AM. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant Journal* 3:175–182.
- Niles G.A. and Feaster C.V. (1984). Breeding. In R.J. Kohel and C.F. Lewis (Ed.) *cotton*. Agron 24. USA, CSSA, Madison, WI.
- Παπακώστα – Τασοπούλου Δ. (2002). Βιομηχανικά φυτά. Εκδόσεις σύγχρονη παιδεία, Θεσσαλονίκη.
- Panhwar, G.N., A.D. Kalhor, A.H. Soomro, G.H. Tunio, G.H. Kalwar and M.S. Chang (2002). Heterosis studies in varietal crosses of *Gossypium hirsutum* L. for certain economic characters. *Asian J. of Plant Sci.*, Vol. 1, No 1:44-47.
- Paterson, A.H., Y. Saranga, M. Menz, C.X. Jiang (2003). QTL analysis of genotype x environment interactions affecting cotton fiber quality. *Theor. Appl. Genet.* 106:384-396.

- Paterson A.H., S. Damon, J.D. Hewitt, D. Zamir, H.D. Rabinowitch, S.E. Lincoln, E.S.Lander, S.D. Tanksley (1991). Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato : Comparison across species, generations and environments. *Genetics* 127: 187-197.
- Patil, R.A. and P.R. Chopde (1985). Heterosis for yield and its traits in upland cotton. *Md. J. Agric.*, 5:402-406.
- Percy R.G., Turcotte E.L. (1991). Early-maturing, short-statured American Pima cotton parents improve agronomic traits of interspecific hybrids. *Crop Sci.* 31:709-712.
- Percy, R. G., and Wendel, J. F. (1990). Allozyme evidence for the origin and diversification of *Gossypium barbadense* L. *Theor. Appl. Genet.* 79, 529–542.
- Perkins H.H., Ethridge D.E. and Bragg C.K. (1984). Fiber. In R.J. Kohel and C.F. Lewis (Ed.) *cotton*. Agron 24. USA, CSSA, Madison, WI.
- Rafalski A.J. and S.V.Tingey (1993). Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. *Trends in Genetics* 9 (8):275-280.
- Reinisch M.J., J. Dong, C.L. Brubaker, D.M. Stelly, J.F. Wendel, A.H. Paterson (1994). A detailed RFLP map of cotton , *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense* : Chromosome organization and evolution in a disomic polyploidy genome. *Genetics* 138: 829-847.
- Reiter, R.S., J.G.K. Williams, K.A. Feldman, A.Rafalski, S.V. Tingey, and P.A. Scolnik, (1992). Global and local genome mapping in *Arabidopsis thaliana* by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNAs. In: *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 89:1477-1481.
- Rodolphe, F. and M.Lefort (1993). A multi-marker model for detecting chromosomal segments displaying QTL activity. *Genetics* 134:1277-1288.
- Roupakias D.G., Galanopoulou-Sendouca S.(1988). Partial interspecific hybrids in cotton : prospects and limitations. In : *Proc 2nd Meet of the Greek Plant Breeding Soc.*, Thessaloniki, 20-21 Oct. 1988. pp 260-266.
- Roupakias D.G., E. Gouli-Vavdinoudi, M. Koutsika- Sotiriou, S. Galanopoulou-Sendouca, and A.S. Mauromatis (1998). Heterosis in cotton. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol.42. Cotton (Ed. by Y.P.S. Bajaj).
- Σκαράκης Γ.Ν. (2005). Κλασική και μοριακή βελτίωση φυτών. Σημειώσεις στα πλαίσια μεταπτυχιακών σπουδών.
- Σφήκας Α.Γ. (1984). Ειδική Γεωργία. Βιομηχανικά φυτά.
- Saranga, Y., N. Sass, Y. Tal, R. Yucha (1998). Drought conditions induce mote formation in interspecific cotton hybrids. *Field Crops Research* 55:225-234.

- Sarrafi A., Amrani N., Alibert G. (1994). Haploid regeneration from tetraploid wheat using maize pollen. *Genome* 37:176-178.
- Schierwater B. and Ender A. (1993). Different thermostable DNA polymerases may apply to different RAPD products. *Nucleic Acids Research* 21:4647-4648.
- Schubert, A.M., Benedict, C.R., Berlin, J.D., Kohel, R.J. (1973): Cotton fiber development -Kinetics of cell elongation and secondary wall thickening. *Crop Sci.* 13, 704-709
- Shappley, Z.W., J.N. Jenkins, J. Zhu, J.C. MacCarty Jr. (1998). Quantitative trait loci associated with agronomic and fiber traits of upland cotton. *Journal of Cotton Sci.* 2:153-163.
- Shoemaker, R.C., L.L. Lorenzen, B.W. Diers, and T.C. Olson (1994). Genome mapping and agriculture, p. 1-10. In : P.M. Gresshoff (ed.). *Plant genome analysis*. CRC Press, Boca Raton . Fla.
- Skovsted, A. (1937). Cytological studies in cotton. IV. Chromosome conjugation in interspecific hybrids. *J.Genet.* 34:97-134.
- Solangi, M.Y., M.J. Baloch, H. Bhuto, A.R. Lakho, M.H. Solangi (2001). Hybrid vigour in interspecific F₁ hybrids of *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense* for some economic characters. *Pakistan J. of Biol. Sci.* 4(8):945-948.
- Soller, M., T. Brondy, and A. Genizi (1976). On the power of experimental designs for the detection of linkage between marker loci and quantitative loci in crosses between inbred lines. *Theor. Applic. Genet.* 47:35-39.
- Southern E.M. (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol.Biol.* 98:503-517.
- Spooner D., R. van Treuren and M. C. de Vicente. Molecular markers for genebank management. In : *IPGRI Technical Bulletin No. 10*, 2005.
- Stam, P. (1993). Construction of integrated genetic linkage maps by means of a new computer package : JoinMap. *Plant J.*3:739-744.
- Staub J.E., F.C. Serquen, Gupta M. (1996). Genetic Markers, Map Construction, and Their Application in Plant Breeding. *Hort. Science.* 31(5) :729-740.
- Stuber, C.W., S.E. Lincoln, D.W. Wolf, T. Helentjaris, and E. Lander (1992). Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics* 132:823-839.
- Suiter, K.A., J.F. Wendel, and J.S. Case (1983). Linkage-1. A pascal computer program for the detection and analysis of genetic linkage. *J. Heredity* 74:203-204.

- Syiam, M.M., H.Y. Awad, M.A. Gharbawi and T.Y. Atta (1982). Heterosis and potential ratio of technological characters in some inter-specific and intra-specific crosses of cotton. *Agric. Res.*, 60:7657-7660.
- Tanksley, S.D., J. Miller, A. Paterson, and R. Bernatsky (1988). Molecular mapping of plant chromosomes, p. 157-173. In: *J.P. Gustafson and R. Appels (eds.). Chromosome structure and function : Impact of new concepts*. Plenum Press, New York.
- Tingey S.V., A.J. Rafalski, Williams J.G.K. (1992). Genetic analysis with RAPD markers. Applications of RAPD technology to plant breeding. In : *Joint Plant Breeding Symposia Series, 1* Nov. 1992. Mineapolis, Minnesota.
- Thomson, N.J. and D.J. Lockett (1988b). Heterosis and combining ability effects in cotton. II Heterosis. *Aust. J. Agric. Res.* 39:973-990.
- Thormann, C.E., M.E. Ferreira, L.E. J.G. Tivang and T.C. Osborn (1994). Comparison of RFLP and RAPD markers to estimate genetic relationships within and among cruciferous species. *Theor. Appl. Genet.* 88:973-980.
- Turaev A.M., Shamina Z.B. (1986). Optimisation of the medium for cotton anther culture. *Soviet. Plant Physiology* 33:439-444.
- Turcotte E.L., Feaster C.V. (1963). Haploids: high-frequency production from single embryo seeds in a line of Pima cotton. *Science* 140:1407-1408.
- Turcotte E.L., Feaster C.V. (1967). Semigamy in Pima cotton. *J. Hered.* 58:55-57.
- Turcotte E.L., Feaster C.V. (1969). Semigametic production of haploids in Pima cotton. *Crop Sci.* 9:653-655.
- Ulloa, M., R.J. Cantrell, R.G. Percy, E. Zeiger and Z. Lu (2000). QTL analysis of stomatal conductance and relationship to lint yield in an interspecific cotton. *J. Cot. Sci* 4 :10-18.
- Ulloa, M., and W.R. Meredith Jr. (2000). Genetic linkage map and QTL analysis of agronomic and fiber quality traits in an intraspecific population. *J. Cot. Sci.* 4:161-170.
- Van Overbeke G., Mavromatis A., Roupakias D., Swennen R., Peeters M.C. (1995). Initiation of cotton anther culture. In '*Proceedings of a Joint Meeting of Working Groups: Cotton Breeding, Cotton Variety Trials and Cotton Technology*'. Adana, Turkey, 18-24 Sept. 1995, and Working Group Cotton Biotechnology'. Thessaloniki, Greece, 31 Mar.-1 Apr. 1995. pp.185-189. (Cotton Research Network-ICAC, NAGREF: Thessaloniki, Greece).
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M and Zabeau M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23:4407-4414.

- Waller, G.B., F.D. Nilson, and J.H. Martin. (1981). Influence of genotype, season and time-of-day on nectar production in cotton. *Crop Sci.* 21:507-511.
- Weaver, D.B., and J.B. Weaver, Jr. (1977). Inheritance of pollen fertility restoration in cytoplasmic male sterile upland cotton. *Crop Sci.* 17:497-499.
- Welsh J. and M. McClelland.(1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research.* 18 (24):7213-7218.
- Wendel, J. F. (1989). New World tetraploid cottons contain Old World cytoplasm. In:*Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86, 4132-4136.
- Wendel, J.F., and Cronn R.C.(2003). Polyploidy and Evolutionary History of Cotton. *Advances in Agronomy*, Volume 78: 139-186.
- Wendel, J. F., and Albert, V. A.(1992). Phylogenetics of the cotton genus (*Gossypium L.*): Characterstate weighted parsimony analysis of chloroplast DNA restriction site data and its systematic and biogeographic implications. *Syst. Bot.* 17, 115-143.
- Wendel, J. F., Small, R. L., Cronn, R. C., and Brubaker, C. L.(1999). Genes, jeans, and genomes:Reconstructing the history of cotton. In: Proceedings of the VII International Symposium of the International Organization of Plant Biosystematists. In “*Plant Evolution in Man-made Habitats*” (L. W. D. van Raamsdonk and J. C. M. den Nijs, Eds.), pp. 133-161. Hugo de Vries Laboratory, Amsterdam.
- White T.G., Richmond T.R., Lewis C.F. (1967). Use of cotton monosomes in developing interspecific substitution line. *Crops Research*, ARS 34-91, 3-15.
- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Kenneth J.L., Rafalski J.A., Tingey S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research.* 18 (22) :6531-6535.
- Χατζόπουλος, Π. (2001). Βιοτεχνολογία Φυτών. Εκδόσεις Έμβρυο. Αθήνα.
- Zhang J., Fiebre B., RauppW.J., Harisson S.A., Gill B.S. (1996). Wheat embryogenesis and haploid production in wheat x maize hybrids. *Euphytica* 90:315-324.
- Zamir, D. and Y. Tadmor (1986). Unequal segregation of nuclear genes in plants. *Bot. Gaz.* 147:355-358.



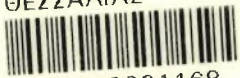
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ

www.agro.gr (1)

www.cottonic.com (2)

www.cottonimprovementlab.tamu.edu (3)

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000091168