

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Σχολή Γεωπονικών Επιστημών
Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών

Μεταπτυχιακή Διατριβή

«Γενετικός έλεγχος και ταυτοποίηση γενοτύπων ακτινιδίου μετά από DNA ανάλυση και προσδιορισμό των φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους»

Ιλανίδης Κωνσταντίνος



Βόλος 2006

Μεταπτυχιακή Διατριβή


«Γενετικός έλεγχος και ταυτοποίηση γενοτύπων ακτινιδίου μετά από DNA ανάλυση και προσδιορισμό των φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους».

Ιλανίδης Κωνσταντίνος

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

| | | |
|----------------------|-----------------|-------------------------|
| Μαυρομάτης Αθανάσιος | Νάνος Γεώργιος | Αρβανιτογιάννης Ιωάννης |
| Λέκτορας (Επιβλέπων) | Επικ. Καθηγητής | Αναπλ. Καθηγητής ΖΤ |

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Κατ' αρχήν, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κο Αθανάσιο Μαυρομάτη, Λέκτορα Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών, για την ανάθεση του ενδιαφέροντος και πρωτότυπου αυτού θέματος. Επίσης για την συμπαράσταση και τη βοήθεια που προσέφερε κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων, καθώς επίσης και για την συμβολή του στην ενασχόλησή μου με τον συναρπαστικό τομέα της γενετικής των φυτών. Επιπλέον θερμές ευχαριστίες εκφράζονται στον Επίκουρο Καθηγητή Δενδροκομίας κο Γεώργιο Νάνο για τις πολύτιμες υποδείξεις του και τη διάθεση του εργαστηρίου του, χωρίς την οποία η αποπεράτωση του πειράματος θα ήταν αδύνατη. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω των κο Αρβανιτογιάννη Ιωάννη, Αναπληρωτή Καθηγητή Γεωπονίας, για τις συμβουλές και οδηγίες κατά την διεκπεραίωση της διατριβής καθώς και τον Καθηγητή κο Κωνσταντίνο Κίττα για την συνεργασία. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Κορκόβελο Αθανάσιο, για τις γνώσεις που μου μετέδωσε και την ουσιαστική βοήθεια που προσέφερε σε θέματα πειραματικών τεχνικών. Επιπλέον, όλους όσους εργάστηκαν κατά το διάστημα αυτό,  στο εργαστήριο της Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών για το πολύ καλό κλίμα που υπήρξε και για τις άριστες συνθήκες εργασίας που προσέφεραν.

Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την οικογένειά μου για την παροχή ψυχολογικής και οικονομικής στήριξης όλα τα χρόνια της φοιτητικής μου σταδιοδρομίας, καθώς επίσης και τους φίλους μου για την συμπαράσταση που επέδειξαν.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

| | |
|---|----|
| 1. Περίληψη..... | 2 |
| 2. Εισαγωγή..... | 4 |
| 3. Βιβλιογραφική ανασκόπηση | |
| 3.1 Βοτανική ταξινόμηση..... | 6 |
| 3.2 Μορφολογία..... | 10 |
| 3.3 Πολλαπλασιασμός..... | 14 |
| 3.4 Καλλιεργητικές διαδικασίες..... | 16 |
| 3.5 Φυσιολογία και σύσταση του καρπού..... | 18 |
| 3.6 Αιθυλένιο και αποθήκευση..... | 21 |
| 3.7 Καλλιεργούμενα είδη και ποικιλίες..... | 23 |
| 3.8 Βελτίωση της ακτινιδιάς και μοριακοί δείκτες..... | 27 |
| 4. Σκοπός..... | 40 |
| 5. Υλικά και μέθοδοι..... | 41 |
| 5.1 Μοριακή ανάλυση..... | 43 |
| 5.2 Προσδιορισμός Φυσικοχημικών χαρακτηριστικών..... | 46 |
| 5.3 Προσδιορισμός Οργανοληπτικών χαρακτηριστικών..... | 52 |
| 6. Αποτελέσματα..... | 55 |
| 6.1 Μοριακά αποτελέσματα..... | 55 |
| 6.2 Φυσικοχημικά αποτελέσματα..... | 63 |
| 6.3 Οργανοληπτικά αποτελέσματα..... | 73 |
| 7. Συμπεράσματα..... | 82 |
| 8. Βιβλιογραφία..... | 84 |
| 9. Παράρτημα..... | 97 |

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη των γενετικών σχέσεων και η ανάπτυξη του μοριακού αποτυπώματος 11 γενοτύπων ακτινιδίου, μετά από ανάλυση DNA με χρήση μικροδορυφορικών δεικτών (SSR's). Παράλληλα με στόχο τη διάκριση των ποικιλιών έγινε εξέταση των φυσικοχημικών και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στους καρπούς πέντε γενοτύπων (Allison, Abbott, Hayward, Bruno και Γενότυπος A) σε συνδυασμό με διαφορετικές συνθήκες και χρόνους αποθήκευσης των καρπών τους.

Οι οκτώ δινουκλεοτιδικοί δείκτες μικροδορυφορικού DNA (SSR's) που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν έντονα πολυμορφικοί και εμφάνισαν υψηλή διακριτική ικανότητα για τους γενοτύπους ακτινιδίου που εξετάστηκαν. Με συνδυασμό των αποτελεσμάτων εφαρμογής των εκκινητών, κατέστη δυνατός ο διαχωρισμός και η ταυτοποίηση και των 11 γενοτύπων ακτινιδίου. Η ομαδοποίηση των γενοτύπων όσον αφορά τη γενετική τους συγγένεια, ήταν παρόμοια και με τις δύο μεθόδους ανάλυσης (PCORDA, UPGMA) που χρησιμοποιήθηκαν.

Η μελέτη των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών έδειξε την υπεροχή της ποικιλίας Hayward μετά από αποθήκευση σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες. Ο Γενότυπος A διακρίθηκε ιδιαίτερα για το μεγάλο μέγεθος και το βάρος των καρπών του. Εντούτοις, η υψηλή περιεκτικότητα σε οξέα σε συνδυασμό με το σχετικά χαμηλό ποσοστό διαλυτών στερεών συστατικών προσδίδουν κάποια αδυναμία που θα μπορούσε μέσω της βελτιωτικής διαδικασίας να εξασφαλίσει την εμπορική του επιτυχία. Οι οργανοληπτικές παράμετροι που εξετάστηκαν δεν διαφοροποίησαν σημαντικά τους γενότυπους ακτινιδίου ενώ έδωσαν ένα προβάδισμα στην ποικιλία Hayward και τον Γενότυπο A. Επομένως συμπεραίνεται ότι η εμπορική επικράτηση της Hayward οφείλεται κυρίως στην ικανότητά της να διατηρεί τα καλά της

οργανοληπτικά χαρακτηριστικά μετά από διάφορες μετασλλεκτικές και αποθηκευτικές μεταχειρίσεις.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ακτινιδιά κατάγεται από την Κίνα όπου αυτοφύεται σε πολλές περιοχές και ιδιαίτερα στις παρυφές των δασών που πλαισιώνουν την κοιλάδα του Γιάνγκ Τσε (Γαλάζιος Ποταμός). Η πρώτη εισαγωγή σπόρων στη Νέα Ζηλανδία από την Κίνα έγινε το 1904. Όλοι οι εμπορικοί οπωρώνες που καλλιεργούνται στις εκτός Κίνας χώρες προήλθαν από δύο θηλυκά και ένα αρσενικό φυτό που προέκυψαν από αυτούς τους αρχικούς σπόρους. Το φυτό εισήχθη πρώτη φορά στην Ευρώπη το 1845 από την «Βασιλική Βοτανική Εταιρία του Λονδίνου» και μελετήθηκε δύο χρόνια αργότερα από τον Γάλλο βοτανολόγο J.E. Planchon απ' όπου πήρε και το αρχικό όνομά της (*Actinidia chinensis* Planch.). Αν και ο πρώτος εμπορικός οπωρώνας αναπτύχθηκε στη Νέα Ζηλανδία το 1930, η καλλιέργεια της ακτινιδιάς ουσιαστικά επεκτάθηκε από την δεκαετία του 1970 με την διάδοση της ποικιλίας Hayward σε όλο τον κόσμο. Στην χώρα μας εισήχθη αρκετά πρόσφατα (1973) και τα πρώτα φυτά που προέρχονταν από την Γαλλία εγκαταστάθηκαν στην Θεσσαλία και τη Μακεδονία, και ιδιαίτερα τον Νομό Πιερίας, όπου και σήμερα κυρίως καλλιεργείται. Το ακτινίδιο είναι ένα από τα λίγα οπωροφόρα φυτά, των οποίων η καλλιέργεια εδραιώθηκε τον 20ο αιώνα. Όλα τα προηγούμενα χρόνια, η καλλιέργεια του ακτινιδίου παγκοσμίως βασιζόταν στην ποικιλία 'Hayward' του είδους *A. deliciosa* και μερικούς επικονιαστές της. Εντούτοις, οι ανάγκες για καλύτερη προσαρμοστικότητα σε διάφορα κλίματα έχει οδηγήσει τα τελευταία χρόνια τους ερευνητές στην δημιουργία νέων ποικιλιών-επικονιαστών. Ακόμη πιο πρόσφατα, προωθούνται για εμπορική χρήση ποικιλίες που δίνουν καρπό αρκετά διαφορετικό από αυτόν της 'Hayward, όπως για παράδειγμα η κιτρινόσαρκη ποικιλία ZESPRI™ GOLD που ανήκει στο είδος *A. chinensis*. Γενικότερα υπάρχει μια επιτακτική ανάγκη για εξάπλωση νέων ποικιλιών και ειδών για την καλύτερη

διαπραγματευτική ισχύ των εμπορευμάτων, αλλά και την αποφυγή ατυχών περιστατικών γενετικής ευπάθειας που οφείλονται στην αποκλειστική καλλιέργεια της ποικιλίας Hayward. Το γεγονός αυτό έχει οδηγήσει τους επιστήμονες στην μελέτη της γενετικής βάσης των ειδών ακτινιδίου, αλλά και την καταγραφή και αξιοποίηση των σημαντικότερων αγρονομικών, φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του καρπού. Η καλλιέργεια της ακτινιδιάς είναι μεγάλης σημασίας για την Ελλάδα, αφού υπολογίζεται ότι το 60% περίπου της ετήσιας εγχώριας παραγωγής εξάγεται προς τρίτες χώρες. Στην χώρα μας εκτιμάται ότι καλλιεργούνται 20.000-25.000 στρέμματα και παράγονται ετησίως 40.000-50.000 τόνοι ακτινιδίων, τα δε τελευταία έτη (2004-05) έφτασαν τους 70.000 τόνους περίπου. Η φυσικοχημική σύσταση, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και η αποθηκευτική ικανότητα, προσδίδουν στα ακτινίδια μεγάλες δυνατότητες για βιομηχανική επεξεργασία. Εκτός από την καλλιέργεια των ακτινιδίων για βρώση των καρπών τους, χρησιμοποιούνταν στην ιατρική, αλλά και για την παραγωγή χάρτου. Λόγω του ότι η ακτινιδιά σαν φυτό δεν έχει ιδιαίτερα πολλούς εχθρούς, εύκολα προσαρμόζεται στη βιολογική καλλιέργεια.

3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

3.1 Βοτανική ταξινόμηση

Το ακτινίδιο (*Actinidia deliciosa* [A. Chev] C.F. Liang et A.R. Ferguson) ανήκει στην οικογένεια Actinidiaceae και το γένος *Actinidia*, το οποίο περιλαμβάνει σύμφωνα με τα πλέον πρόσφατα δεδομένα 66 είδη και 118 υποείδη (Huang et al., 2000).

Η οικογένεια Actinidiaceae είναι στενά συγγενική με την Theaceae, δύο οικογένειες των οποίων η γενεαλογία είναι αμφισβητήσιμη (Cosner et al., 1994). Τα περισσότερα άγρια είδη του γένους απαντώνται στην Κίνα, ενώ ελάχιστα βρίσκονται στις όμορες προς αυτή χώρες (Ferguson 1990).

Η κατάταξη των ειδών και υποειδών δεν είναι ξεκάθαρη, καθώς οι περισσότεροι ερευνητές δημιουργούν διαφορετικές ομάδες, ανάλογα με τα χαρακτηριστικά που μελετούν ή τις μεθοδολογίες που ακολουθούν. Με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και κυρίως τα τριχίδια στην επιφάνεια του καρπού η κατάταξη έγινε σε τέσσερις μεγάλες ομάδες, εκ των οποίων οι δύο χωρίζονταν σε δύο υποομάδες η κάθε μία. Οι αντιφάσεις όσον αφορά την κατάταξη βάσει των μορφολογικών χαρακτηριστικών είναι πολλές, (He et al., 2000). Τα τελευταία χρόνια εισήχθησαν μοριακές μέθοδοι για τις βοτανικές μελέτες των ακτινιδιών που βασίζονται στην ανάλυση του γενωμικού DNA, το οποίο δεν επηρεάζεται από παράγοντες του περιβάλλοντος. Οι Huang et al. (2002) έδειξαν την πολυφυλετικότητα ορισμένων παραδοσιακών ομάδων κατάταξης, κάτι που οδηγεί σε αμφισβητήσεις για την σωστή ομαδοποίηση ορισμένων ειδών. Για παράδειγμα οι μοριακές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν με βάση το χλωροπλαστικό γένωμα (ctDNA) της ακτινιδιάς (Cirigliani et al., 1998) έδειξαν ότι ορισμένα είδη, όπως τα *A. rufa* και *A. kolomikta* βρίσκονται σε λάθος θέση όσον αφορά την κατάταξή τους, καθώς επίσης και ότι οι περισσότερες από τις παραδοσιακές ομάδες

κατάταξης δεν είναι σωστά διαμορφωμένες, από την στιγμή που ορισμένες παρουσιάζουν μεγάλη πολυφυλετικότητα.

Στο ακτινίδιο οι χλωροπλάστες και τα μιτοχόνδρια κληρονομούνται ξεχωριστά. Οι χλωροπλάστες κληρονομούνται από το πατρικό φυτό ενώ τα μιτοχόνδρια από το μητρικό όπως προέκυψε από μελέτες που έγιναν σε διειδικές και ενδοειδικές διασταυρώσεις εντός του γένους (Cirriani et al., 1995, Testolin και Cirriani, 1997). Ειδικά για το είδος *A. deliciosa*, για το οποίο υπήρχαν δυσκολίες κατάταξης σε προηγούμενες έρευνες, η πατρική κληρονόμηση των χλωροπλάστων και η μητρική των μιτοχονδρίων, επιβεβαιώθηκε από τους Chat et al. (1999), οι οποίοι χρησιμοποίησαν ενδοειδικά υβρίδια που προέρχονταν από ευρέως καλλιεργούμενες ποικιλίες. Τέτοιοι τρόποι κληρονόμησης έχουν αναφερθεί και για άλλα φυτικά είδη, όπως σε μερικά γυμνόσπερμα (Neale και Sederoff, 1989), καθώς επίσης και σε αγγειόσπερμα, όπως τις μπανάνες (Faure et al., 1994) και είδη του γένους *Cucumis* (Havey et al., 1998).

Μια άποψη που επικρατεί εξαιτίας της έρευνας των Chat et al. (1999), θεωρεί ότι υπάρχουν δύο διαφορετικοί μηχανισμοί κατά την επιλογή των οργανιλίων, από τους οποίους ο ένας εξαφανίζει τα πατρικά μιτοχόνδρια, ενώ ο άλλος τους θηλυκούς χλωροπλάστες. Αυτοί οι μηχανισμοί λαμβάνουν χώρα κατά τα τελευταία στάδια βλάστησης της γύρης, κατά την πορεία της γονιμοποίησης ή στα πρώτα στάδια ανάπτυξης του ζυγώτη. Οι Chat et al. (2003) κατάφεραν μέσω γυνογένεσης να παράγουν φυτά με το γένωμα του μητρικού γενοτύπου και μόνο την ύπαρξη χλωροπλάστων από το πατρικό φυτό, αποδεικνύοντας ότι οι τελευταίοι κληρονομούνται χωρίς την παραμικρή συμβολή των πατρικών πυρηνικών γονιδίων.

Το επίπεδο πλοειδίας εντός του γένους *Actinidia* μπορεί να ποικίλει από το διπλοειδές έως το οκταπλοειδές ανάλογα με το είδος αλλά και το υποείδος. Όπως προκύπτει από την έρευνα των Yan et al. (1997), ο βασικός

χρωμοσωμικός αριθμός είναι $n=x=29$, και το επίπεδο πλοειδίας ορισμένων ειδών και υποειδών ακτινιδίων είναι τα εξής:

Διπλοειδή: *A. chinensis* var. *chinensis*, *A. glaucophylla*, *A. guilinensis*, *A. setosa*, *A. indochinensis* $2n = 2x = 58$

Τετραπλοειδή: *A. chinensis* var. *chinensis*, *A. arguta* var. *arguta*, *A. valvata*, *A. chrysantha* $2n = 4x = 116$

Εξαπλοειδή: *A. deliciosa*, *A. arguta* 'Issai' $2n = 6x = 174$

Οκταπλοειδή: *A. arguta* var. *purpurea* $2n = 8x = 232$

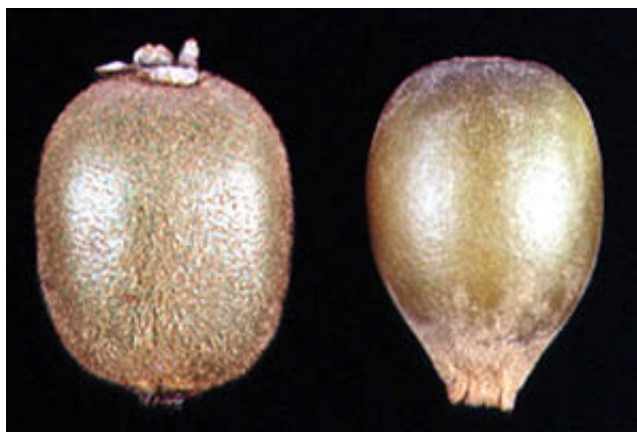
Οι McNeilage et al. (1989) με βάση τον υψηλό βασικό χρωμοσωμικό αριθμό του ακτινιδίου ($x = 29$) πρότειναν ότι ίσως είναι από μόνο του πολυπλοειδές και ότι με περαιτέρω κυτοταξινομικές μελέτες μπορεί να προκύψει ένας μικρότερος βασικός χρωμοσωμικός αριθμός. Αυτό προκύπτει και από τα πειράματα των He et al. (2005) οι οποίοι υπέθεσαν ότι ο βασικός χρωμοσωμικός αριθμός δεν είναι $x = 29$, αλλά $x = 14$ και ότι ο πρώτος προέκυψε από χρωμοσωμικό διπλασιασμό, διαφοροποίηση του γενώματος και διάσπαση του τελευταίου χρωματοσώματος.

Μεταξύ, αλλά και εντός των ειδών του γένους *Actinidia*, βρέθηκε μεγάλη παραλλακτικότητα όσον αφορά το επίπεδο πλοειδίας που μπορεί να οφείλεται σε εγγενή πολυπλοειδισμό, λόγω πιθανής ύπαρξης γαμετών με μη μειωμένο αριθμό χρωματοσωμάτων ($2n$) κατά την γονιμοποίηση (Yan et al., 1997). Αυτοί οι γαμέτες είναι κυρίως ανιχνεύσιμοι στο στάδιο των σποριοκυττάρων παρά στο στάδιο της γύρης.

Είναι πιθανόν, ότι το υψηλό επίπεδο διασταυρωσιμότητας των ειδών και υποειδών του γένους *Actinidia*, που οδηγεί στον αλλοπολυπλοειδικό τύπο, αλλά πιθανώς και στον ομοπλοειδικό υβριδισμό, να ευθύνεται για την ταξινομική πολυπλοκότητα που παρατηρείται εντός του γένους (Chat et al., 2004).

Τα *A. chinensis* και *A. deliciosa* είναι τα δύο σημαντικότερα από οικονομικής άποψης είδη του γένους *Actinidia*.

Τα είδη *A. chinensis* και *A. deliciosa* έχουν πολλά κοινά μορφολογικά χαρακτηριστικά (Εικόνα 3.1.1) και είναι χαρακτηριστικό ότι μέχρι λίγα χρόνια πριν, αντιμετωπιζόνταν σαν ποικιλίες του ίδιου είδους (Ferguson 1990).



Εικόνα 3.1.1. Καρποί των ειδών *A. deliciosa* (αριστερά) και *A. chinensis* (δεξιά) (Ferguson 1999)

Οι Crowhurst et al. (1990) σε μελέτες που έκαναν πάνω στο γενωμικό και χλωροπλαστικό DNA, βρήκαν ότι το *A. chinensis* θα μπορούσε να είναι ένας από τους προγόνους του *A. deliciosa*.

Αυτό επιβεβαιώνεται από την έρευνα των Cipriani et al. (1998) που απέδειξαν ότι τα δύο είδη συνδέονται στενά όσον αφορά το χλωροπλαστικό γένωμα και από την στιγμή που το ακτινίδιο ακολουθεί πατρική κληρονομία των χλωροπλαστών (Cipriani et al., 1995), τότε υπάρχει σοβαρή πιθανότητα το *A. chinensis* να είναι ένας, αν όχι ο μόνος, πρόγονος του *A. deliciosa*.

Οι Yan et al. (1997) χρησιμοποιώντας επαναλαμβανόμενο DNA και γενωμικούς ιχνηλάτες (probes) κατάφεραν να πετύχουν in situ υβριδισμό στο ακτινίδιο και να αποδείξουν ότι τα τετραπλοειδή άτομα του *A. chinensis* σχετίζονταν άμεσα με τα εξαπλοειδή του *A. deliciosa*, αφού οι ιχνηλάτες που

προήλθαν από το διπλοειδές *A. chinensis* δεν μπορούσαν να διαχωρίσουν τα γενώματα τους.

Κάποιες φορές συμβαίνει ορισμένα είδη που απέχουν πολύ με βάση τα μορφολογικά και ενζυμικά χαρακτηριστικά τους, να είναι πάρα πολύ κοντά με βάση την χλωροπλαστική τους ανάλυση. Για παράδειγμα τα είδη *A. eriantha* και *A. latifolia*, τα οποία από έρευνες με αναλύσεις φλαβονοειδών (Webby et al., 1994) και ισοενζύμων (Testolin and Ferguson, 1997) ήταν παντελώς διαφορετικά, βρέθηκαν να έχουν σχεδόν το ίδιο χλωροπλαστικό γένωμα (Cirriani et al., 1998). Το πιθανότερο είναι το μέλος κάθε τέτοιου ζευγαριού να είναι υβρίδιο, του οποίου ο ένας γονέας ανήκει στο άλλο ζευγάρι ή να είναι κάποιος γενότυπος με παρόμοιο χλωροπλαστικό γένωμα.

3.2 Μορφολογία

Η ακτινιδιά είναι ένα πολυετές δικοτυλήδονο φυτό, αναρριχώμενο και φυλλοβόλο, αν και ορισμένα είδη από θερμότερα κλίματα είναι αειθαλή. Ο τύπος της ανάπτυξης του φυτού μοιάζει με αυτόν του αμπελιού, οι κληματίδες του όμως αυξάνονται πολύ περισσότερο κατά την διάρκεια της βλαστικής περιόδου και μπορεί να αυξηθούν κατά 10 cm την ημέρα και κατά 3-4 m σε ετήσια βάση.

Έχει **ρίζες** σαρκώδεις, σχετικά χονδρές και έντονα διακλαδιζόμενες. Λόγω του ότι έχουν μεγάλες απαιτήσεις σε οξυγόνο, ο κύριος όγκος της ριζόσφαιρας αναπτύσσεται σε ένα στρώμα εδάφους που αρχίζει στα 3 ως 4 cm από την επιφάνεια του εδάφους και μπορεί να φθάσει στο βάθος των 50-70 cm.

Οι **βλαστοί** είναι πολύ τρυφεροί και θραύονται εύκολα. Όταν είναι νεαροί, καλύπτονται από πυκνές τρίχες, των οποίων το χρώμα εξαρτάται από την ζωηρότητα του φυτού και την ποικιλία (Παλούκης και Ντινόπουλος 1989).

Έχουν την τάση να περιελίσσονται σφιχτά με δεξιόστροφη κατεύθυνση γύρω

από στηρίγματα, αν και στερούνται ελίκων όπως γίνεται με άλλα αναρριχώμενα φυτά.

Οι **οφθαλμοί** διακρίνονται σε βλαστοφόρους (στην βάση των ετήσιων βλαστών) και μικτούς ανθοφόρους (Εικόνα 3.2.1). Οι πρώτοι συνήθως φέρονται επάκρια ή πλάγια στο κορυφαίο τμήμα του βλαστού, μετά από τον τελευταίο από τους ανθοφόρους οφθαλμούς που φέρονται στο βασικό τμήμα του βλαστού (Ποντίκης 1987). Για την αποφυγή της οφθαλμόπτωσης, από



Εικόνα 3.2.1. Οφθαλμοί σε κληματίδες πρέμνου ακτινιδιάς

έλλειψη επαρκών ωρών ψύχους το χειμώνα, συστήνεται η εφαρμογή υδροκυαναμιδίου πριν την έκπτυξη των οφθαλμών, της οποίας οι επιπτώσεις στο τελικό βάρος του καρπού είναι άλλοτε θετικές και άλλοτε αρνητικές (McPherson et al., 2001). Τα **φύλλα** είναι απλά, μεγάλα, ωσειδή ή καρδίοσχημα και εναλλάσσονται κανονικά. Η άνω επιφάνειά τους είναι στιλπνή, ενώ το χρώμα τους είναι πράσινο σκούρο ή πολύ σκούρο ανάλογα με

το είδος (Εικόνα 3.2.2.). Τα φύλλα που προέρχονται από σπορόφυτα τα πρώτα χρόνια είναι πιο επιμήκη και πιο οδοντωτά σε σχέση με εκείνα που αναπτύσσονται μετά την νεαρή ηλικία (Ταλούκης και Ντινόπουλος 1989).



Εικόνα 3.2.2. Φύλλο της ποικιλίας Hayward

Τα **άνθη**, 1-3 ανά ανθοφόρο μίσχο για τα θηλυκά φυτά (Εικόνα 3.2.3.) και 3-5 ανά ανθοφόρο μίσχο για τα αρσενικά (Εικόνα 3.2.4), φέρονται στις μασχάλες των φύλλων των 5-6 πρώτων γονάτων των κληματίδων του έτους (Βασιλακάκης 1991). Το μέγεθος των ανθέων καθορίζει κατά πολύ και το



Εικόνα 3.2.3 Θηλυκό άνθος ακτινιδιάς



Εικόνα 3.2.4. Αρσενικό άνθος ακτινιδιάς

τελικό μέγεθος του καρπού (Δημούλας 1988). Η ποιότητα των ανθέων της ακτινιδιάς διαμορφώνεται σε ένα διάστημα 10-15 εβδομάδων πριν την άνθιση

(McPherson et al., 2001). Το μέγεθος του καρπού σχετίζεται και με την ημερομηνία εμφάνισης του αντίστοιχου άνθους, αφού άνθη που είχαν εκπτυχθεί νωρίς είχαν μεγαλύτερες ωοθήκες και τελικά έδωσαν μεγαλύτερους καρπούς από τα άνθη που εμφανίστηκαν αργότερα στα ίδια πρέμνα. Αυτό σύμφωνα με τους Smith et al. (1994) ίσως να οφείλεται σε φαινόμενα ανταγωνισμού θρεπτικών συστατικών μεταξύ των σταδιακά εμφανιζόμενων καρπών. Το ένα τρίτο περίπου του συνολικού αριθμού των κυττάρων ενός ώριμου καρπού, βρίσκονται στο άνθος, ενώ η πλειοψηφία των κυτταροδιαιρέσεων ολοκληρώνεται 50 μέρες μετά την άνθιση. Ένα από τα χαρακτηριστικά της ακτινιδιάς είναι η διοικία, δηλαδή τα πρέμνα εμφανίζονται να είναι αρσενικά ή θηλυκά. Αυτό οφείλεται στο ότι τα άνθη των αρσενικών φυτών παράγουν βιώσιμη γύρη αλλά έχουν ατροφικές ωοθήκες, wάρια και στύλους, ενώ τα θηλυκά φυτά μοιάζουν τέλεια, όμως παράγουν μη γόνιμη γύρη.

Ο **καρπός** είναι ράγα και έχει σχήμα ωοειδές κυλινδρικό ή αχλαδόμορφο. Ο φλοιός του είναι χρώματος καφέ και φέρει πολλές πυκνές τρίχες. Το εσωτερικό χρώμα της σάρκας είναι από άσπρο έως κρεμ, ενώ το εξωτερικό σκοτεινό πράσινο. Το μέσο βάρος του καρπού εξαρτάται από την ποικιλία και κυμαίνεται από τα 60 gr και μπορεί να ξεπεράσει τα 150 gr σε ορισμένες περιπτώσεις. Η επιτυχία της επικονίασης είναι σημαντική για την διαμόρφωση του καρπού. Άνθη που δεν έχουν επικονιαστεί σωστά έχουν μικρό αριθμό κυττάρων και χαμηλότερο ρυθμό αύξησης του καρπού. Το τελικό βάρος του καρπού για τις μικρόκαρπες ποικιλίες είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με τον αριθμό των σπόρων που περιέχουν και αντιστοιχεί σε ένα βάρος 3,6-5,6 gr για κάθε 100 σπόρους (McPherson et al., 2001 και οι εν αυτώ αναφορές). Συνολικά μπορεί να περιέχει μέχρι και 1500 σπόρους στο εσωτερικό του.

Οι **σπόροι** είναι χρώματος μαύρου ως καφέ και το κύριο μέρος τους καταλαμβάνεται από το κίτρινου χρώματος ενδοσπέρμιο.

3.3 Πολλαπλασιασμός ακτινιδιάς

Η ακτινιδιά πολλαπλασιάζεται εγγενώς ή αγενώς. Τα φυτά που προέρχονται από την πρώτη μέθοδο, δηλαδή από **σπόρο**, εμφανίζουν ζωνρή βλάστηση, μεγάλη προσαρμοστικότητα και αντοχή σε βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες. Εντούτοις αυτή η μέθοδος δεν χρησιμοποιείται ευρέως διότι η ποιότητα των καρπών που παράγουν τα πρέμνα δεν είναι η καλύτερη δυνατή. Γι' αυτό και μετά την παραγωγή του σποροφύτου είθισται να εμβολιάζονται πάνω σ' αυτό επιθυμητές ποικιλίες. Οι κυριότερες μέθοδοι εμβολιασμού είναι ο ασπιδωτός ενοφθαλμισμός, το επικαθήμενο ασπίδιο («chip budding») και οι εγκεντρισμοί. Ένα ακόμη μειονέκτημα αυτής της μεθόδου πολλαπλασιασμού είναι το σπάσιμο του ληθάργου του σπόρου που απαιτεί ειδικές επίπονες διαδικασίες στρωμάτωσης για την επίτευξή του. Επίσης το ποσοστό των αρσενικών σποροφύτων που προκύπτουν είναι πολύ μεγαλύτερο των θηλυκών (4/1), ενώ και η αναγνώρισή τους είναι αδύνατη πριν τα φυτά περάσουν την νεανική περίοδο, δηλαδή 5 περίπου χρόνια μετά από την βλάστηση των σπόρων. Βεβαίως δεν πρέπει να αμεληθεί και η γενετική παράμετρος, δηλαδή ότι τα φυτά που προκύπτουν έχουν στοιχεία και των δύο γονέων, σε αντιπαράθεση με τον αγενή τρόπο, στον οποίο οι απόγονοι έχουν την ίδια γενετική ταυτότητα με το μητρικό υλικό. Χημικές ουσίες, όπως οι γιββεριλίνες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για επίσπευση της διαδικασίας του σπασίματος του λήθαργου των σπόρων.

Ο κύριος τρόπος πολλαπλασιασμού είναι με την χρησιμοποίηση **φυλλοφόρων μοσχευμάτων** που ριζοβολούν στην υδρονέφωση. Τα πλέον συνηθισμένα είναι τα μοσχεύματα βλαστών. Αυτά μπορεί να συλλέγονται μετά το τέλος της βλαστικής περιόδου, οπότε χαρακτηρίζονται ως μοσχεύματα σκληρού ξύλου ή κατά την διάρκεια της βλαστικής περιόδου, οπότε ονομάζονται μοσχεύματα μαλακού ξύλου. Έχει διαπιστωθεί ότι τα μοσχεύματα σκληρού ξύλου που

λαμβάνονται πριν τα μέσα Ιανουαρίου, δίνουν τα καλύτερα αποτελέσματα. Δευτερεύουσας σημασίας είναι τα μοσχεύματα ριζών, τα οποία δίνουν καλύτερα αποτελέσματα όταν κόβονται τον χειμώνα, όταν και έχουν περισσότερες αποθηκευμένες θρεπτικές ουσίες. Για την υποβοήθηση της ριζοβολίας τα μοσχεύματα εμβαπτίζονται σε διαλύματα ορμονών με κυρίως χρησιμοποιούμενες την αυξίνη 3-ινδολυλοβουτυρικό οξύ (IBA), το ινδολυλοξικό οξύ (IAA) και το α-ναφθαλινοξικό οξύ (NAA).

Τα τελευταία χρόνια έχει εξαπλωθεί πολύ η χρήση της **ιστοκαλλιέργειας** για τον πολλαπλασιασμό της ακτινιδιάς. Συγκεκριμένα χρησιμοποιούνται κυρίως επάκρια μεριστώματα από φυτά που ελέγχονται για την γενετική τους σταθερότητα. Ανάλογα με το υπόστρωμα που χρησιμοποιείται, μπορούν να προκύψουν πανομοιότυπα με το μητρικό αναγεννημένα φυτάρια ή εάν μεσολαβήσει το στάδιο του κάλου να αναγεννηθούν φυτά με σημαντικές διαφορές από το μητρικό φυτό (σωματοκλωνική παραλλακτικότητα), κάτι που είναι επιθυμητό όταν αναζητούνται νέοι αγρονομικοί χαρακτήρες. Αντίθετα, είναι ανεπιθύμητο στην περίπτωση που επιδιώκεται ο ακριβής μικροπολλαπλασιασμός του αρχικού μητρικού γενοτύπου. Είναι ευρέως γνωστό ότι εξαιτίας της σωματοκλωνικής παραλλακτικότητας, η καλλιέργεια ιστών και κυττάρων είναι βαρύνουσας σημασίας για την επιλογή χαρακτήρων για αντοχή σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις (Sacchi et al., 1995). Ο μικροπολλαπλασιασμός και η αναγέννηση μέσω κάλου με έκφυτα από διάφορα μέρη του φυτού έχει αναφερθεί και για άλλα είδη του γένους *Actinidia* όπως για το είδος *A. polygama* (Tanaka et al., 1997, Takahashi et al., 2004). Επίσης έχουν αναφερθεί περιπτώσεις σωματοκλωνικής παραλλακτικότητας σε καλλιέργεια πρωτοπλαστών από φύλλα σποροφύτων του είδους *A. eriantha* (Zhang et al., 1998). Μια ουσία που μπορεί να προκαλέσει πολλά προβλήματα κατά την *in vitro* καλλιέργεια είναι το αιθυλένιο όταν τυχόν βρεθεί στα χρησιμοποιούμενα τριβλία. Ένας τρόπος για την αποφυγή των

ανεπιθύμητων επιδράσεων του αιθυλενίου στην οργανογένεση και γενικότερα την ιστοκαλλιέργεια της ακτινιδιάς, είναι η χρησιμοποίηση τριβλίων με δυνατότητες αερισμού (Arigita et al., 2002). Επίσης η προσθήκη ουσιών που αναστέλλουν την σύνθεση του αιθυλενίου, όπως η AVG σε συνθήκες ιστοκαλλιέργειας προάγουν την οργανογένεση και ανάπτυξη των εκφύτων ακτινιδιάς, όπως έχει δειχθεί με μεριστώματα της ποικιλίας Hayward (Arigita et al., 2003).

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναφερθεί στο ακτινίδιο περιπτώσεις σχηματισμού **συνθετικών σπόρων** μετά από αφαίρεση ακραίων και μασχαλαίων οφθαλμών για το εξαπλοειδές *A. deliciosa* (Adriani et al., 2000). Επιπλέον βλαστικές κορυφές από in-vitro καλλιεργούμενα φυτάρια ακτινιδιάς διατηρήθηκαν επιτυχώς με την μέθοδο της κρυοδιατήρησης μετά από τοποθέτηση σε κάψουλες και αφυδάτωση (Suzuki et al., 1994). Ο σχηματισμός συνθετικών σπόρων ακτινιδιάς μπορεί να αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμος γιατί: α) παράγεται αποστειρωμένο γενετικό υλικό που μπορεί εύκολα να ανταλλαχθεί μεταξύ των εργαστηρίων για έρευνες, β) μπορεί να γίνει γρήγορος πολλαπλασιασμός των φυτών, γ) μπορεί να επιτευχθεί γρήγορη διαθεσιμότητα νέων ποικιλιών από τον συνδυασμό των συνθετικών με τους πραγματικούς σπόρους. Ο συνδυασμός της παραγωγής συνθετικών σπόρων με την μέθοδο της κρυοδιατήρησης μπορεί να οδηγήσει στην μακροχρόνια διατήρηση του γενετικού υλικού της ακτινιδιάς.

3.4 Καλλιεργητικές διαδικασίες

Μια σημαντική επιλογή που θα πρέπει να αποφασιστεί κατά την εγκατάσταση ενός οπωρώνα ακτινιδίου είναι το σύστημα διαμόρφωσης των πρέμνων. Τα συστήματα διαμόρφωσης που συνήθως χρησιμοποιούνται είναι τα εξής τέσσερα: το μονοσύρματο κορδόνι, το πολυσύρματο κορδόνι (παλμέττα), η ημικρεββατίνα και η κρεββατίνα ή πέργκολα. Τα τελευταία χρόνια όμως

έχουν εισαχθεί και δύο νέα σχήματα, τα «Υ» και «Λ» τα οποία έχουν το πλεονέκτημα ότι εξασφαλίζουν καλύτερες συνθήκες φωτισμού. Είναι γνωστό ότι το μέγεθος της φυλλικής επιφάνειας επιδρά στην ποιότητα και την αποθηκευτική ικανότητα των καρπών. Τα αποτελέσματα είναι αλληλοσυγκρουόμενα (Tombesi et al., 1994, Snelgar et al., 1998) για το καλύτερο σύστημα διαμόρφωσης της κόμης των πρέμνων, αφού οι ανοικτές διαμορφώσεις βρέθηκαν σε κάποιες έρευνες να μειώνουν το μέγεθος και την συγκέντρωση των διαλυτών στερεών συστατικών κατά την συγκομιδή (Tombesi et al., 1994), ενώ σε άλλες μελέτες (Snelgar et al., 1998) το πυκνό σύστημα ήταν αυτό που μείωνε την συγκέντρωση των διαλυτών στερεών συστατικών του καρπού κατά την συγκομιδή.

Εντούτοις, ακτινιδιές με πυκνή φυλλική επιφάνεια τείνουν να παράγουν καρπούς που μαλακώνουν πρόωρα πάνω στο πρέμνο, αυξάνοντας ως επακόλουθο τα επίπεδα των απωλειών κατά την αποθήκευση (Snelgar et al., 1998).

Οι διαδικασίες κλαδέματος της ακτινιδιάς χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: το κλάδεμα διαμόρφωσης και το κλάδεμα καρποφορίας. Το πρώτο, που είναι σημαντικό για το τελικό σχήμα του πρέμνου, ολοκληρώνεται τα πρώτα 3-4 χρόνια της ζωής του φυτού. Θα πρέπει να είναι προσεκτικό και όχι αυστηρό, ώστε να δίνεται στο φυτάριο η ευκαιρία να αναπτυχθεί ικανοποιητικά. Το δεύτερο χωρίζεται σε δύο άλλες κατηγορίες, το χειμερινό και θερινό κλάδεμα. Το χειμερινό κλάδεμα έχει ως σκοπό την απάλειψη των προηγούμενα καρποφορούντων βλαστών, την διατήρηση ενός άριστου αριθμού κληματίδων ανά φυτό και την διατήρηση της παραγωγής κοντά στους βραχίονες. Με το θερινό κλάδεμα επιδιώκεται ο έλεγχος της βλάστησης που ανταγωνίζεται τους καρπούς, η αντικατάσταση των εξαντλημένων παραγωγικών μερών από νέα και γενικά η δημιουργία ευνοϊκών συνθηκών φωτισμού και αερισμού για καλύτερη καρποφορία. Το θερινό κλάδεμα που

χρησιμοποιείται κατ' εξοχήν από τους καλλιεργητές αυξάνει την παραγωγή και το βάρος των ακτινιδίων ποικιλίας 'Hayward' (Thorp et al., 2003). Επιπλέον, βρέθηκε να παράγει καρπούς καλύτερης ποιότητας και μεγαλύτερης αποθηκευτικής ικανότητας (Gerasopoulos και Drogoudi, 2005). Μια νέα μέθοδος κλαδέματος που εφαρμόζεται είναι το βλαστικό κλάδεμα ('leader pruning') και περιλαμβάνει την αφαίρεση ζωνών βλαστών από το κέντρο του πρέμνου σε μέτρια διαστήματα κατά την διάρκεια της βλαστικής περιόδου. Αυτό σύμφωνα με τους Miller et al. (2001) βοήθησε στον καλύτερο φωτισμό του πρέμνου και επέδρασε στην αυξημένη παραγωγή, όπως επίσης και στην αυξημένη συγκέντρωση διαλυτών στερεών συστατικών στον καρπό.

3.5 Φυσιολογία και σύσταση του καρπού

Ο καρπός του ακτινιδίου μπορεί να φαγωθεί νωπός, να κονσερβοποιηθεί, ή να αποξηρανθεί σε τεμάχια ή ολόκληρος. Επίσης χρησιμοποιείται για την παραγωγή νέκταρ, μαρμελάδας, κομπόστας, ή ακόμη και κρασιού (Soufleros et al., 2001). Το ακτινίδιο επίσης μπορεί να φαγωθεί σε φέτες μέσα σε φρουτοσαλάτες.

Η προτίμηση των καταναλωτών για το ακτινίδιο (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F. Liang and A.R. Ferguson var. *deliciosa* 'Hayward') καθορίζεται κυρίως από την αναλογία των σακχάρων προς τα οξέα, με την αντοχή στην πίεση και το άρωμα του να παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο (Jaeger et al., 2003). Στην ποικιλία 'Hayward' τα κύρια διαλυτά σάκχαρα είναι η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η σουκρόζη, ενώ τα κύρια οργανικά οξέα είναι το κιτρικό, το κινικό, το μηλικό και τέλος το ασκορβικό οξύ (Heatherbell, 1975). Το ποσοστό των διαλυτών στερεών συστατικών εξαρτάται από την θέση του καρπού στο πρέμνο. Καρποί που προέρχονται από βλαστούς απομακρυσμένους από τον κεντρικό κορμό έχουν μεγαλύτερο ποσοστό ΔΣΣ

σε σχέση με τους καρπούς που βρίσκονται σε κλάδους κοντινούς του κεντρικού κορμού (Hogrkirk et al., 1986, Pyke et al., 1996). Τον ίδιο κανόνα φαίνεται να ακολουθεί και η αντοχή της σάρκας στην πίεση, αφού αυξάνεται όσο ο καρπός απομακρύνεται από τον κεντρικό κορμό.

Κατά την συγκομιδή η περιεκτικότητα του καρπού σε ολική οξύτητα είναι περίπου στο 0.9-2.5% με το κιτρικό οξύ να υπάρχει σε ποσοστό 40-50%, το κινικό επίσης 40-50%, ενώ το μηλικό καταλαμβάνει ποσοστό ίσο με περίπου 10% (Marsh et al., 2004). Τα ποσοστά αυτά αλλάζουν ανάλογα με την ζώνη του καρπού του ακτινιδίου (MacRae et al., 1989a). Το κιτρικό βρίσκεται κυρίως στο εσωτερικό μέρος του φλοιού, το κινικό στο εξωτερικό, ενώ ο πυρήνας περιέχει το μικρότερο ποσοστό σε οξέα, περίπου μισό από τα άλλα μέρη, με το κιτρικό να καταλαμβάνει το μεγαλύτερο ποσοστό. Καθώς ο χρόνος αποθήκευσης μεγαλώνει, το μηλικό οξύ μειώνεται και το κιτρικό οξύ αυξάνεται (Wang και Buta, 2003). Σύμφωνα με τους Paterson et al. (1991) ο χαρακτηριστικός όξινος τόνος στην γεύση της ποικιλίας Hayward είναι άρρηκτα συνδεδεμένος με την συγκέντρωση του κιτρικού οξέως στον καρπό.

Κατά την αποθήκευση και ωρίμανση η οξύτητα στα ακτινίδια της ποικιλίας Hayward μεταβάλλεται λίγο (MacRae et al., 1989b) και συνήθως μειώνεται (Crisosto και Crisosto, 2001) ανάλογα με την τοποθεσία της αρχικής καλλιέργειας. Η ωρίμανση του καρπού είναι μια περίπλοκη διαδικασία, που ελέγχεται γενετικά, και περιλαμβάνει μια αύξηση στην αναπνοή και την παραγωγή αιθυλενίου, καθώς επίσης και αλλαγές στο χρώμα, το άρωμα και το μαλάκωμα του καρπού. Το μαλάκωμα του ακτινιδίου επηρεάζεται από τον χρόνο, την θερμοκρασία, το εξωγενές αιθυλένιο και το στάδιο ωρίμανσης του καρπού (MacRae et al., 1989b). Επιπλέον το μαλάκωμα συνδέεται με δομικές αλλαγές στα κυτταρικά τοιχώματα του καρπού, όπως μια μείωση της ημικυτταρίνης, διάλυση των πλευρικών αλυσίδων της γαλακτόζης και διαλυτοποίηση με αποπολυμερισμό της πηκτίνης (Fisher και Bennett, 1991).

Το κύριο ένζυμο που συμμετέχει σ' αυτές τις διαδικασίες ωρίμανσης είναι η πολυγαλακτουρονάση, η οποία όμως σύμφωνα με τους Wang et al. (2000) εκτός από τον ρόλο που διαδραματίζει στο μαλάκωμα του καρπού συμμετέχει και σε δημιουργικές διαδικασίες, όπως στην έκπτυξη των ριζιδίων και των ανθοφόρων οφθαλμών. Το μαλάκωμα του καρπού βρέθηκε να εξαρτάται από το στάδιο ωριμότητας του καρπού κατά την συγκομιδή, όπως επίσης και από την αντίστοιχη ποικιλία (White et al., 2005). Τα διάφορα μέρη του καρπού δεν μαλακώνουν συνήθως με τον ίδιο ρυθμό. Έτσι ορισμένες φορές ενώ το εξωτερικό και εσωτερικό περικάρπιο μαλακώνουν με τον ίδιο περιοδικό ρυθμό, το εσωτερικό τμήμα του καρπού παραμένει σκληρό ή μαλακώνει πολύ αργά, υποβαθμίζοντας κατά αυτόν τον τρόπο την εμπορική αξία του (White et al., 2005).

Ποικιλίες από μικρόκαρπα είδη τείνουν να έχουν σκληρότερους καρπούς σε σχέση με αυτές που προέρχονται από είδη με μεγάλο καρπό (White et al., 2005). Η συμπεριφορά του καρπού ως προς το μαλάκωμα επιδρά σε τρεις σπουδαίους παράγοντες που καθορίστηκαν από τον Jaeger (2003) ως βαρύνουσας σημασίας για την εμπορική αξία των φρούτων και λαχανικών. Συγκεκριμένα η τραγανότητα κατά την φάση της κατανάλωσης, η ικανότητά του να συντηρείται στα ψυγεία των σπιτιών και η χρονική περίοδος που μπορεί να είναι διαθέσιμο στην αγορά.

Μία άλλη παράμετρος του καρπού του ακτινιδίου είναι το ποσοστό σε ξηρό βάρος. Η ποικιλία 'Hayward' κατά την συγκομιδή της έχει ποσοστό σε ξηρό βάρος που κυμαίνεται από 12 έως 20% (Burdon et al., 2004). Το ξηρό βάρος περιλαμβάνει τα διαλυτά (κυρίως σάκχαρα) και αδιάλυτα στερεά (κυρίως άμυλο και δομικούς υδατάνθρακες). Στην συγκομιδή το άμυλο αποτελεί το 40-70% των συνολικών υδατανθράκων. Κατά την ωρίμανση, το άμυλο σχεδόν ολοκληρωτικά μετατρέπεται σε διαλυτά στερεά, αυξάνοντας το ποσοστό των τελευταίων (Richardson et al., 1997).

Ο καρπός του ακτινίδιου είναι περιζήτητος για την διατροφική καθώς επίσης και την ιατρική του αξία, καθώς είναι μια πολύ σημαντική πηγή βιταμίνης C (ασκορβικού οξέως), της οποίας η περιεκτικότητα στον φρέσκο καρπό μπορεί να φτάσει μέχρι και τα 300mg/100g (Shirkot et al., 2002). Ορισμένες νέες κιτρινόσαρκες διπλοειδείς ποικιλίες ('Hort 16A') (Εικόνα 3.1.2) περιέχουν μεγαλύτερη ποσότητα βιταμίνης C ανά βάρος φρέσκου καρπού (110mg/100gr) στην χώρα καλλιέργειάς τους (Νέα Ζηλανδία) σε σχέση με την ποικιλία 'Hayward' (85mg/100gr) (Ferguson και Ferguson, 2003).



Εικόνα 3.1.2. Κιτρινόσαρκτη διπλοειδής ποικιλία ('Hort 16A') που κυκλοφορεί με την εμπορική ονομασία ZESPRI™ GOLD

3.6 Αποθήκευση & αιθυλένιο

Ένα από τα βασικότερα συστατικά της μεγάλης εμπορικής δυνατότητας των καρπών ακτινιδιάς είναι η συντηρησιμότητά τους για πολλούς μήνες σε κατάλληλες συνθήκες. Η Hayward είναι η πιο ανθεκτική ποικιλία στις μετασυλλεκτικές μεταχειρίσεις και σε αυτό οφείλεται η ευρεία εξάπλωση της ακτινιδιάς τα τελευταία 35 περίπου χρόνια (Huang και Ferguson, 2001).

Το ακτινίδιο μπορεί να συντηρηθεί σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, με αύξηση στα επίπεδα του CO₂ και μείωση στα επίπεδα του O₂, η οποία επιβραδύνει το μαλάκωμα του ακτινιδίου (Harman και McDonald, 1983). Το χαμηλό O₂ (2-3%) σε συνδυασμό με ένα ποσοστό CO₂ της τάξεως του 3-5% στους αποθηκευτικούς χώρους, μπορεί να επιβραδύνει τον ρυθμό μαλακώματος των

καρπών ακτινιδιάς και να παρατείνει την αποθηκευτική ζωή των καρπών για 3-4 μήνες σε σχέση με την αποθήκευση στον αέρα. Η χρησιμοποίηση θαλάμων στους οποίους αφαιρείται το αιθυλένιο επίσης συστήνεται (Antunes & Sfakiotakis 2002 και εν αυτών αναφορές).

Εντούτοις, σύμφωνα με κάποιες αναφορές (Hertog et al., 2004) η αποθήκευση σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα μειώνει την ποιότητα του καρπού της ποικιλίας 'Hayward' επηρεάζοντας την ανταλλαγή αερίων μεταξύ του περιβάλλοντος και του καρπού. Σημαντικό ρόλο για την επιτυχή συντήρηση των καρπών διαδραματίζει και η φυσιολογική κατάσταση τους κατά την συγκομιδή. Τα ακτινίδια που συγκομίζονται με συγκέντρωση ΔΣΣ κατώτερη του 6,2% δεν έχουν καλή αποθηκευτική ικανότητα, διότι παρουσιάζουν σε μεγάλο ποσοστό κατάρρευση της σάρκας μετά από αποθήκευση 3 μηνών στους 0 °C (Crisosto και Crisosto, 2001). Επίσης καρποί που παρουσιάζουν πρώιμο μαλάκωμα δεν έχουν τις προϋποθέσεις για μακρά συντήρηση (Παλούκης και Ντινόπουλος 1989). Σε οποιεσδήποτε αποθηκευτικές συνθήκες, η περιεκτικότητα σε διαλυτά στερεά (ΔΣΣ) του καρπού του ακτινιδίου αυξάνεται κατά τις πρώτες 60 ημέρες της αποθήκευσης και παραμένει σταθερή από εκεί και έπειτα (Antunes και Sfakiotakis 2002).

Οι επιδράσεις του ενδογενούς αιθυλενίου δεν λαμβάνονται υπόψη στα αρχικά στάδια της αποθήκευσης γιατί το ακτινίδιο αρχίζει να παράγει αιθυλένιο από τη στιγμή που η αντοχή του στην πίεση μειωθεί κάτω από τα 10 N (Ritenour et al., 1999).

Η παραγωγή αιθυλενίου βρέθηκε να αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας πάνω από τους 17°C και μέχρι τους 35°C (Antunes και Sfakiotakis, 2000). Σύμφωνα με τους προαναφερόμενους ερευνητές, η ωρίμανση, η οποία επιταχύνθηκε ήταν παρόμοια στις θερμοκρασίες μεταξύ των 20 και 35 ° C. Πάνω από αυτήν την θερμοκρασία (35°C) η ωρίμανση μειώνεται καθώς το στρες των πολύ υψηλών θερμοκρασιών (heat shock)

επιδρά στην παραγωγή αιθυλενίου, μειώνοντας την, παρόλο που η αναπνοή αυξάνεται ως ενός σημείου (Antunes και Sfakiotakis, 2000).

Η μείωση του ρυθμού ωρίμανσης στις υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να οφείλεται στην μειωμένη παραγωγή ή δραστηριότητα των ενζύμων που συμβάλουν στο χαλάρωμα των κυτταρικών τοιχωμάτων όπως έχει δειχθεί για άλλα φρούτα και εν προκειμένω για τα μήλα (Lurie και Klein, 1990). Πάντως η παραγωγή αιθυλενίου στο ακτινίδιο, μειώνεται και τείνει στο μηδέν όταν η θερμοκρασία πέφτει χαμηλά και συγκεκριμένα κάτω από τους 11 °C (Antunes et al., 2000).

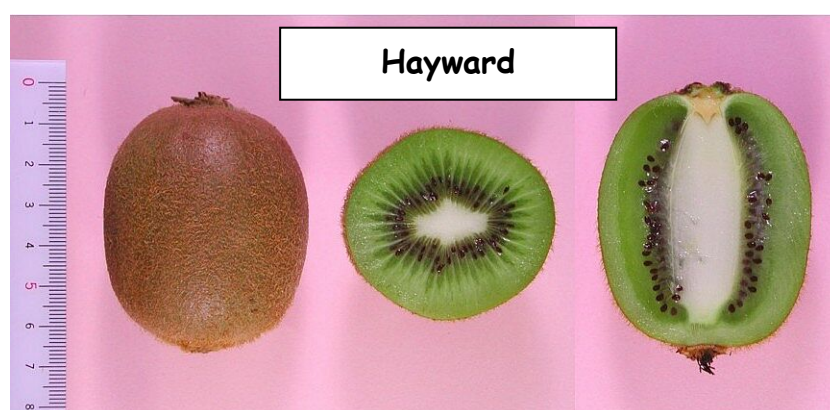
Η βιοσύνθεση του αιθυλενίου είναι μια διαδικασία στην οποία συμμετέχουν πολλοί παράγοντες, ένας από τους οποίους είναι το O₂ που αποτελεί μέρος της ACC οξειδάσης (Pech et al., 1994). Αυτός είναι και ένας λόγος που περιορίζεται το μαλάκωμα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, αφού μειώνεται το οξυγόνο.

Η αύξηση του χρόνου συντήρησης των καρπών μπορεί να γίνει με την χρήση χημικών ουσιών, όπως για παράδειγμα το σαλικυλικό οξύ που διαδραματίζει ρόλο στην ωρίμανση του καρπού επιβραδύνοντας το μαλάκωμα της σάρκας, καθώς παρεμβαίνει στην βιοσύνθεση του αιθυλενίου μέσω της μείωσης της δραστηριότητας της ACC συνθάσης (Zhang et al., 2003). Εκτός από την διατήρηση του ακτινιδίου ως ολόκληρου καρπού, σημασία έχει και η διατήρησή του και σε άλλες μορφές, όπως σε φέτες, οι οποίες γενικά εμφανίζουν πολύ μικρή αποθηκευτική ζωή. Όμως μπορούν να διατηρηθούν για 9-12 ημέρες στους 0-2° C σε συνδυασμό με μεταχείριση με ασβέστιο και αποθήκευσή τους σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (Agar et al., 1999). Με προσθήκη methyl jasmonate οι φέτες ακτινιδίου διατηρήθηκαν στους 10 ° C σε πολύ καλή κατάσταση για 3 εβδομάδες τουλάχιστον (Wang και Buta, 2003).

3.7 Καλλιεργούμενα είδη και ποικιλίες

Τα είδη του γένους *Actinidia* που έχουν μεγάλη εμπορική αξία είναι κατά κύριο λόγο το εξαπλοειδές *A. deliciosa* και το διπλοειδές ή τετραπλοειδές *A. chinensis*. Άλλα είδη που έχουν μικρή εμπορική δυναμική είναι τα *A. arguta* και *A. kolomikta*. Πάντως οι περισσότερες ποικιλίες που καλλιεργούνται ανά τον κόσμο και στην χώρα μας, ανήκουν κυρίως στο είδος *A. deliciosa*.

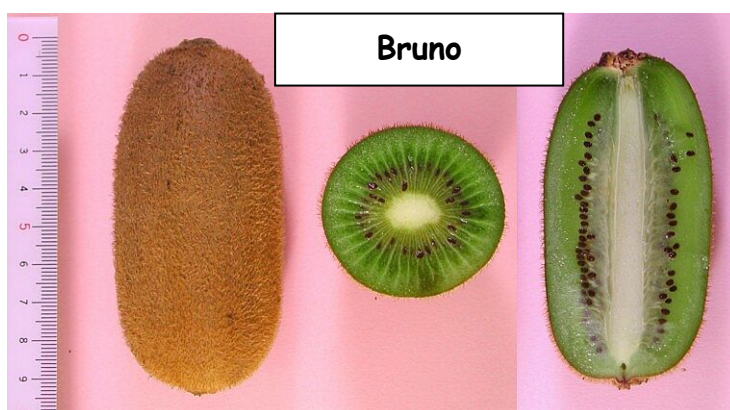
Η ποικιλία 'Hayward', Νεοζηλανδικής προέλευσης, αν και υπήρχε από το 1920, διαδόθηκε εμπορικά σε μεγάλη κλίμακα την δεκαετία του 1970. Δίνει φυτά μέσης ζωηρότητας και παραγωγικότητας. Σχηματίζει μονήρη συνήθως άνθη που ωριμάζουν όψιμα. Ο καρπός είναι μεγάλος, ομοιόμορφος με βάρος που κυμαίνεται τις περισσότερες φορές από 90-100 gr (Εικόνα 3.7.1). Έχει σχήμα ελλειψοειδές και καλή γεύση, κάτι που μπορεί να αποδοθεί στην καλή αναλογία σακχάρων προς οξέα. Το μεγάλο πλεονέκτημα αυτής της ποικιλίας, στο οποίο έχει αποδοθεί η μεγάλη της εξάπλωση, είναι η πολύ μεγάλη συντηρησιμότητά της καθώς επίσης και η αντοχή της στις μεταφορές και τους μετασυλλεκτικούς χειρισμούς. Τα τελευταία χρόνια έχουν διαδοθεί και άλλες επιλογές της Hayward, όπως η TopStar, η Chico και η Wilkins (Ferguson 1999).



Εικόνα 3.7.1. Καρπός της ποικιλίας Hayward

Η 'Bruno', επίσης με καταγωγή από την Νέα Ζηλανδία, λίγο πρωιμότερη της Hayward δίνει πρέμνα μέτριας ευρωστίας με πολύ υψηλή παραγωγικότητα (6-

7 καρποί ανά καρποφόρο όργανο). Οι καρποί (Εικόνα 3.7.2) είναι επιμήκεις ελλειψοειδείς ως κυλινδρικοί, μέσου μεγέθους (65-70gr) και πολύ γευστικοί. Το μειονέκτημα αυτής της ποικιλίας είναι η μικρή αποθηκευτική της ικανότητα και η ευαισθησία της στις μετασυλλεκτικές διαδικασίες (Δημουλάς 1988).



Εικόνα 3.7.2. Καρπός της ποικιλίας Bruno

Η '**Allison**', δίνει φυτά μέτριας ευρωστίας και παραγωγικότητας που ανθίζουν λίγο πιο πρώιμα από την Hayward. Ο μέσου βάρους (70-75gr) καρπός της μοιάζει πάρα πολύ με εκείνον της Abbott, αν και είναι λίγο παχύτερος. Η πολύ κακή δυνατότητα συντήρησης αυτής της ποικιλίας είναι ο κυριότερος λόγος για την περιορισμένη καλλιέργεια της (Δημουλάς 1988).

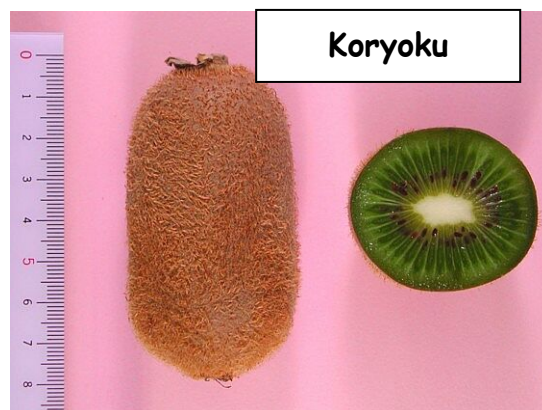
Η '**Abbott**' είναι λίγο πιο πρώιμη της Hayward (ανθίζει 2-6 ημέρες νωρίτερα) και δίνει φυτά μέσης ζωρότητας, μέτρια ως πολύ παραγωγικά. Ο καρπός (Εικόνα 3.7.3) είναι μέσου βάρους (60-65 gr), αλλά αρκετά γλυκός και αρωματικός (Μπρουσοβάνας 1985).



Εικόνα 3.7.3. Καρπός της ποικιλίας Abbott

Η **'Monty'** δίνει πρέμνα με πολύ μεγάλη ζωηρότητα και παραγωγικότητα, όμως ο καρπός που σχηματίζει είναι αρκετά μικρός (40-50gr). Εντούτοις, είναι πολύ αρωματικός, άριστης ποιότητας, ενώ και οι αποθηκευτικές της δυνατότητες είναι καλύτερες των Abbott και Allison, αν και χαμηλότερης δυναμικότητας από την Hayward (Βασιλακάκης 1991).

Ποικιλία με πολύ μικρότερη χρησιμότητα είναι η **'Koryoku'**, η οποία καλλιεργείται κυρίως σε περιορισμένες εκτάσεις της Ιαπωνίας, εξαιτίας της πρωιμότητάς της, αλλά και επειδή ο καρπός (Εικόνα 3.7.4) όταν ωριμάζει τείνει να είναι πάρα πολύ γλυκός.



Εικόνα 3.7.4. Καρπός της ποικιλίας Koryoku

Ως επικονιαστές των προαναφερόμενων ποικιλιών χρησιμοποιούνται κυρίως οι ποικιλίες **'Matua'** και **'Tomuri'**, οι οποίοι είναι κατάλληλοι επικονιαστές για πρώιμες (Abbott, Monty, Koryoku) και όψιμες (Hayward, TopStar)

ποικιλίες αντίστοιχα. Επιπλέον καλλιεργούνται οι κλώνοι **A,B** και **Γ** των οποίων η άνθιση ακολουθεί διαδοχική πορεία (A,B-πολύ πρώιμες, Γ-πολύ όψιμη) με συνέπεια καμία από αυτές να μην θεωρείται καλός επικονιαστής της Hayward (Δημουλάς 1988).

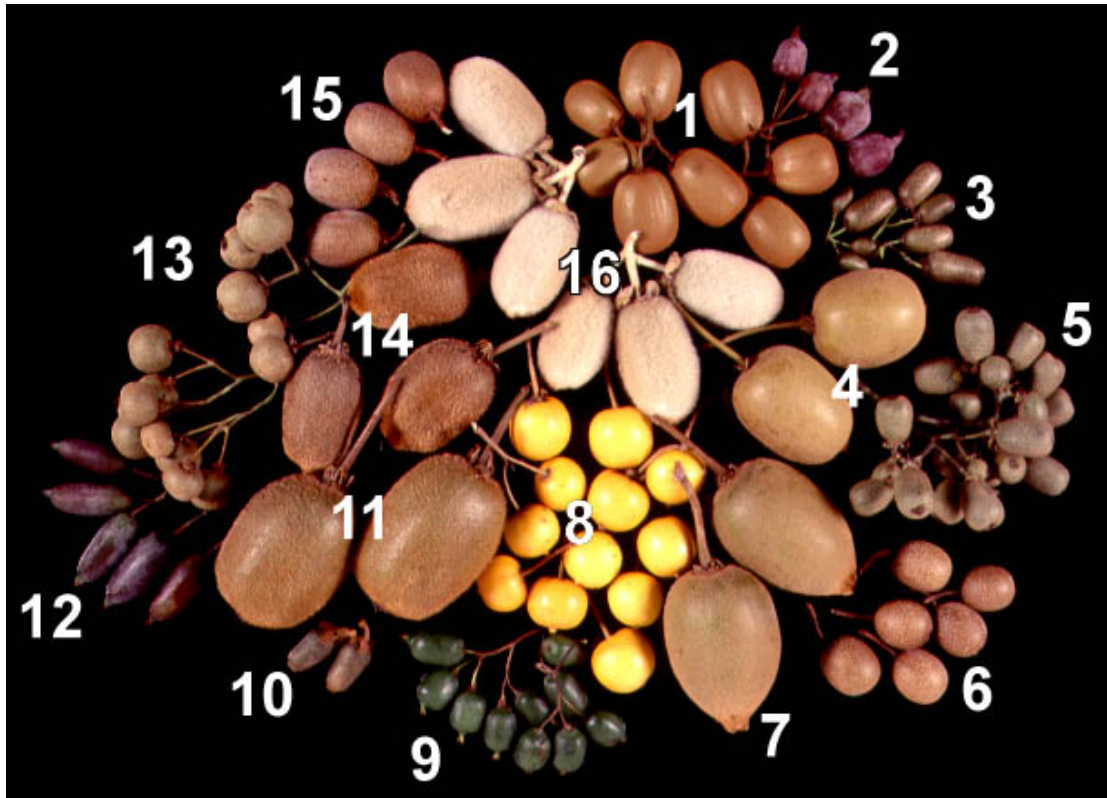
Από το διπλοειδές είδος *A. chinensis* καλλιεργείται μια μεγάλη γκάμα ποικιλιών, στην οποία περιλαμβάνονται οι 'Jinfeng', 'Kuimi' και 'Lushanxiang' κινεζικής προέλευσης, με την πρώτη και την τελευταία να καλλιεργούνται ευρέως από το 1995 στην Καλιφόρνια των ΗΠΑ. Τα επόμενα χρόνια πάντως, η παγκόσμια αγορά των ακτινιδίων αναμένεται να στραφεί στις νέες νεοζηλανδικής προέλευσης κιτρινόσαρκες διπλοειδείς ποικιλίες, όπως ο γενότυπος 'Hort16A' που ήδη κυκλοφορεί με το εμπορικό όνομα ZESPRI™ GOLD kiwifruit. Το χαρακτηριστικό του καρπού αυτής της ποικιλίας είναι το ανοικτό κίτρινο χρώμα της σάρκας του, όπως επίσης και η αρωματική του γεύση που θεωρείται καλύτερη της Hayward. Επίσης ανθίζει πολύ νωρίτερα από την τελευταία (σχεδόν ένα μήνα πιο πριν), κάτι που σημαίνει όμως ότι θα πρέπει να βρεθούν αντίστοιχοι επικονιαστές. Πάντως αν τα καλλιεργητικά προβλήματα και η επιφυλακτικότητα του αγοραστικού κοινού, που έχει εξ ολοκλήρου συνδέσει το ακτινίδιο με την ποικιλία Hayward, ξεπεραστούν, τότε οι νέες διπλοειδείς ποικιλίες αναμένεται να αντικαταστήσουν σε πολλές περιπτώσεις τις ήδη υπάρχουσες εξαπλοειδείς.

Τα δύο άλλα είδη με εμπορικό ενδιαφέρον είναι τα *A. arguta* και *A. kolomikta*. Το πρώτο σχηματίζει καρπούς πολύ μικρού μεγέθους (όσο μία ράγα σταφυλιού), γυαλιστερούς, ακάλυπτους από τρίχες στην εξωτερική του επιφάνεια και πολύ γευστικούς. Το μεγάλο πλεονέκτημα αυτού του είδους είναι ότι συνδυάζει χρήσιμους εμπορικούς χαρακτήρες με αντοχή σε ψυχρά κλίματα. Ήδη μια ποικιλία με το εμπορικό όνομα 'Anna' καλλιεργείται σε μια περιορισμένη έκταση στο Όρεγκον των ΗΠΑ. Ακόμη μεγαλύτερη αντοχή σε ψυχρές συνθήκες, παρουσιάζει το είδος *A. kolomikta* που δίνει πολύ μικρούς,

πλην εύγευστους και περιεκτικούς σε βιταμίνη C καρπούς, αν και η καλλιέργειά του έχει ως τώρα περιοριστεί σε περιοχές με πολύ ψυχρά κλίματα (Ferguson 1999).

3.8 Βελτίωση της ακτινιδιάς και μοριακοί δείκτες

Το ακτινίδιο έως τώρα δεν είχε τραβήξει την προσοχή των βελτιωτών και των γενετιστών. Ένας λόγος είναι ότι το ακτινίδιο είναι ένα νέο σχετικά σπυροφόρο. Επίσης, το κυρίως εμπορικά καλλιεργούμενο είδος *A. deliciosa* είναι δίοικο και εξαπλοειδές, κάτι που δυσχεραίνει τις γενετικές αναλύσεις (Testolin et al., 2001). Τα τελευταία χρόνια όμως η μεγάλη εξάπλωση του ακτινιδίου έχει ωθήσει τους βελτιωτές και βοτανολόγους στην ανάγκη για διεύρυνση της γενετικής βάσης του φυτού, καθώς επίσης και την γνώση των φυλογενετικών σχέσεων της οικογένειας Actinidiaceae, εξαιτίας της συμμετοχής άγριων ειδών που μπορούν να προσφέρουν χρήσιμη γενετική παραλλακτικότητα στις βελτιωτικές διαδικασίες (Huang et al., 2000). Η παγκόσμια αγορά ακτινιδίων βασίζεται στην καλλιέργεια λίγων ειδών του γένους *Actinidia* και κυρίως του είδους *A. deliciosa*. Εντούτοις, παρόλη την αξιοπρόσεκτη παραλλακτικότητα σε ποσοτικά γνωρίσματα μέσα στο συγκεκριμένο είδος (Εικόνα 3.8.1), πολλοί χρήσιμοι και ενδιαφέροντες αγρονομικοί χαρακτήρες που λείπουν από το «κλασσικό» ακτινίδιο βρίσκονται σε άλλα είδη του γένους.



Εικόνα 3.8.1. Φαινοτυπική παραλλακτικότητα των καρπών μεταξύ διάφορων ειδών του γένους *Actinidia* (Ferguson 1999). 1) *A. rufa* 2) *A. melanandra* 3) *A. glaucophylla* 4) *A. chinensis* 5) *A. latifolia* 6) *A. indochinensis* 7) *A. chinensis* 'Hort16A' 8) *A. macrosperma* 9) *A. arguta* 10) *A. fulvicoma* 11) *A. deliciosa* 'Hayward' 12) *A. arguta* var. *purpurea* 13) *A. guilinensis* 14) *A. setosa* 15) *A. crisantha* 16) *A. eriantha*

Ένα παράδειγμα είναι οι κιτρινόσαρκοι και κοκκινόσαρκοι γενότυποι του διπλοειδούς *A. chinensis* και της ομάδας *Leiocarpae* και υποομάδας *Solidae* αντίστοιχα. Επίσης η προσαρμοστικότητα σε διάφορα ψυχρά κλίματα είναι ένα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό, όπως για παράδειγμα το είδος *A. kolomikta* που φύεται ακόμη και στις στέπες της Σιβηρίας.

Οι διειδικές διασταυρώσεις ενέχουν πολλά προβλήματα στην επιτυχή βελτίωση της ακτινιδιάς. Αυτό κυρίως οφείλεται στον διαφορετικό αριθμό πλοειδίας μεταξύ πολλών ειδών που προκαλεί προβλήματα ζωτικότητας του εμβρύου. Για ορισμένα επιθυμητά χαρακτηριστικά, όπως η αντοχή στο ψύχος,

αυτό είναι ένα ανυπέρβλητο εμπόδιο για απογονική βελτίωση δεδομένου ότι οι εμπορικές ποικιλίες του ευπαθούς στο ψύχος *A. deliciosa* είναι εξαπλοειδείς, ενώ οι ανθεκτικοί γενότυποι στο ψύχος κατατάσσονται σε διπλοειδή και τετραπλοειδή είδη. Μια ενδεχόμενη λύση μπορεί να είναι η εμβρυοδιάσωση η οποία αποδείχθηκε σχετικά αποτελεσματική σε συγκεκριμένες διειδικές διασταυρώσεις (Hirsch et al., 2001).

Η γνώση της κληρονομής των ποσοτικών χαρακτηριστικών μπορεί να αποδειχθεί επίσης πολύ χρήσιμη για τους βελτιωτές. Εκτιμήσεις ότι για τα αρσενικά φυτά, το μήκος του ανθικού μίσχου και η διάρκεια της άνθισης κληρονομούνται σε μεγάλο ποσοστό, δηλαδή η δράση των γονιδίων που τα εκφράζουν είναι αθροιστική, μπορούν να οδηγήσουν στην σωστή εκλογή γονικών φυτών για την δημιουργία επιθυμητών αρσενικών γενοτύπων με αυτά τα χαρακτηριστικά (Daoyu et al., 2001).

Αντίστοιχα, για τα θηλυκά φυτά τα γνωρίσματα είναι το μήκος του ανθικού μίσχου, το συνολικό ποσοστό των ανθοφόρων οφθαλμών, ο λόγος μήκος / πλάτος του φύλλου και κυρίως το μήκος και το βάρος του καρπού (Daoyu et al., 2001, Beatson 1991). Αυτό σημαίνει ότι εκλογή σποροφύτων, με καλά στοιχεία όσον αφορά τα παραπάνω χαρακτηριστικά, θα μπορέσουν πιθανότατα να τα μεταβιβάσουν στις επόμενες γενιές, από τις οποίες μπορεί να προκύψει μια εκλεκτή ποικιλία.

Οι Cheng et al. (2004) στην έρευνά τους πάνω στην κιτρινόσαρκη ποικιλία 'Hort 16A' που ανήκει στο διπλοειδές είδος *Actinidia chinensis* έδειξαν ότι τα σάκχαρα, η βιταμίνη C και το ποσοστό του ξηρού βάρους στον καρπό είχαν υψηλό συντελεστή κληρονομικότητας, κάτι που δείχνει την σταθερότητα αυτών των γνωρισμάτων σε μελλοντικές βελτιωτικές επιλογές από την συγκεκριμένη ποικιλία.

Η γνώση της γενετικής παραλλακτικότητας και η συγγένεια μεταξύ των διάφορων φυτικών υλικών είναι βασικής σημασίας για την βελτίωση των

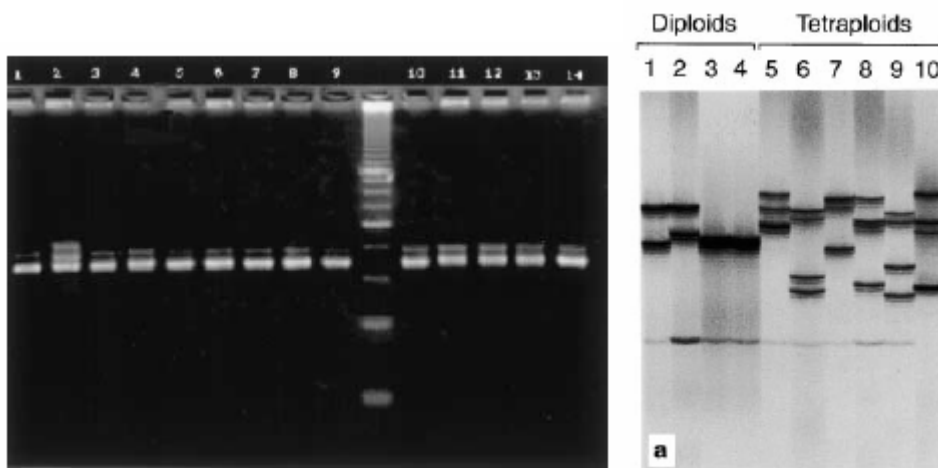
φυτών. Η εκτίμηση της γενετικής παραλλακτικότητας μεταξύ των διαφόρων φυτικών υλικών γίνεται με την υιοθέτηση μεθόδων που βασίζονταν σε απλά η πολύπλοκα κληρονομούμενα χαρακτηριστικά. Στην κορυφή αυτών των μεθόδων βρίσκονται οι μορφολογικοί και βιοχημικοί δείκτες που αποτελούσαν για πολλά χρόνια τα εργαλεία για την ταξινόμηση και διάκριση των φυτικών ειδών. Εντούτοις η αποτελεσματικότητά τους είναι αμφισβητήσιμη. Η μικρή διαθεσιμότητα μορφολογικών και βιοχημικών δεικτών, ο άγνωστος τρόπος με τον οποίο ελέγχονταν αυτά τα χαρακτηριστικά, η ισχυρή επίδραση του περιβάλλοντος στην διαμόρφωση του φαινοτύπου και η εξάρτηση αυτών των δεικτών από τα στάδια αύξησης των φυτών οδήγησαν στην εξεύρεση ακριβέστερων μέσων για την περάτωση των γενετικών αναλύσεων. Αυτό επετεύχθη με την χρησιμοποίηση των μοριακών δεικτών.

Οι μοριακές τεχνικές χρησιμοποιούνται για γενετικές και εξελικτικές μελέτες, καθώς επίσης και για άλλες ερευνητικές εφαρμογές, όπως για παράδειγμα την ταυτοποίηση ποικιλιών, ο προσδιορισμός φυλογενετικών σχέσεων και ο εντοπισμός επιθυμητών γονιδίων (QTL's). Το κύριο πλεονέκτημά των μοριακών δεικτών σε σχέση με τους μορφολογικούς και βιοχημικούς δείκτες είναι ότι ανιχνεύουν διαφορές στις αλληλουχίες του DNA και όχι στα προϊόντα που αυτές εκφράζουν. Αυτό ταυτόχρονα αυξάνει την πολυμορφικότητά τους καθώς επίσης αφαιρεί την επίδραση του περιβάλλοντος που μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα συμπεράσματα.

Οι μοριακοί δείκτες μπορούν να είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την βελτίωση των φυτικών ειδών, επειδή χαρακτηριστικά που γίνονται εμφανή μόνο σε ώριμα στάδια των φυτών μπορούν να ανιχνευθούν πολύ νωρίτερα, από το στάδιο των σποροκλινών. Επίσης σε δίοικα είδη, όπως το ακτινίδιο, μπορεί να υπολογιστεί η συνεισφορά του πατρικού γονέα στην διαμόρφωση των χαρακτηριστικών των απογόνων. Η ταξινόμηση διάφορων γενοτύπων σε

συγκεκριμένες ομάδες μπορεί να αποτρέψει την ανάπτυξη και εφαρμογή πολλών διασταυρώσεων, των οποίων το αποτέλεσμα θα ήταν ανεπιτυχές.

Οι μοριακοί δείκτες που χρησιμοποιούνται για γενετικές αναλύσεις στα φυτά είναι οι RAPDs, RFLPs, SSRs και τέλος οι AFLPs. Οι τρεις πρώτοι απαιτούν την χρησιμοποίηση της PCR τεχνικής για την ενίσχυση και την εμφάνιση των αποτελεσμάτων. Οι μοριακοί δείκτες τύπου SSR'S αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες διάφορων νουκλεοτιδίων, (συνήθως 2-6), έκτασης μέχρι και 102 bp, οι οποίες κατανέμονται σε ολόκληρο το γονιδίωμα (αν και η κατανομή τους ποικίλλει ανάλογα το είδος και το χρωμόσωμα) και πλαισιώνονται από ιδιαίτερα συντηρημένες ακολουθίες (Chambers και MacAnoy, 2000). Τα αποτελέσματα ενίσχυσης διαχωρίζονται κατά περίπτωση ανάλογα με τις διαφορές μήκους των ενισχυόμενων τμημάτων (μεγάλες ή μικρές) σε πηκτή αгарόζης ή σε πηκτή ακρυλαμίδης (Εικόνα 3.8.2). Βέβαια η ανάλυση μέσω μικροδορυφόρων υπόκειται και σε περιορισμούς: όπως: 1) ο τρόπος παραλλαγής τους στον χρόνο κατά την εξέλιξη των ειδών 2) η δημιουργία νέων αλληλόμορφων μέσω άνισης σύζευξης και λόγω συχνών μεταλλάξεων γεγονός που περιορίζει την χρήση τους για εκτίμηση της συγγένειας ατόμων μεταξύ τους σε ένα μικρό αριθμό γενεών. 3) ο μεγάλος αριθμός αλληλομόρφων που δυσκολεύει την εκτίμηση των συχνοτήτων τους 4) η απαίτηση για εκτενή ανάλυση του γενώματος, εξαιτίας της χαμηλής συχνότητας εμφάνισης τέτοιων μικροδορυφορικών περιοχών στους φυτικούς οργανισμούς σε σχέση με τους ζωικούς οργανισμούς. Οι SSR δείκτες είχαν αναπτυχθεί αρχικά για προσδιορισμό του βαθμού ασυγγένειας μεταξύ των ειδών και την ανίχνευση



Εικόνα 3.8.2. Αποτύπωση προϊόντων ενίσχυσης σε πηκτή αγαρόζης (αριστερά) ή ακρυλαμίδης (δεξιά) από εφαρμογή μικροδορυφόρων σε διάφορα είδη του γένους *Actinidia*

μειγμάτων στις διάφορες σπορομερίδες (Ravi et al., 2003 και οι εν αυτώ αναφορές). Από τότε όμως έχουν χρησιμοποιηθεί σε πολλά είδη φυτών, μεταξύ αυτών και τροπικά όπως το μάνγκο όπου χρησιμοποιήθηκαν με επιτυχία στην ταυτοποίηση και εκτίμηση της γενετικής παραλλακτικότητας μεταξύ ποικιλιών της Ταϊλάνδης (Eiadthong et al., 1999). Επιπλέον έχουν εφαρμοστεί και σε μικροοργανισμούς, όπως για συγκριτική γενετική ανάλυση με AFLPs και RAPDs δείκτες σε αποικίες του μύκητα *Saccharomyces cerevisiae* (Gallego et al., 2005) που έδειξε την διακριτική ανωτερότητα των δύο πρώτων σε σχέση με τους RAPDs.

Οι μικροδορυφόροι έχουν το πλεονέκτημα σε σχέση με τους AFLP και RAPD δείκτες, ότι είναι συγκυρίαρχοι και ικανοί να διαχωρίσουν όλες της μορφές μιας μικροδορυφορικής περιοχής. Επομένως είναι περισσότερο πληροφοριακοί από τους AFLP και RAPD οι οποίοι είναι κυρίαρχοι δείκτες (Fraser et al., 2004).

Επίσης είναι περισσότερο πολυμορφικοί από τους άλλους δύο όπως έχει αποδειχθεί και από έρευνες με μικροδορυφόρους, AFLPs και RAPDs σε άλλα φυτικά είδη, όπως το κριθάρι και την πατάτα, με τους AFLPs να είναι οι

λιγότερο πολυμορφικοί στα συγκεκριμένα γενώματα (Fraser et al., 2004 και οι εν αυτώ αναφορές).

Το υψηλό επίπεδο πολυμορφισμού των μικροδορυφορικών δεικτών οφείλεται και στον υψηλό ρυθμό μετάλλαξης των νουκλεοτιδικών αλληλουχιών (Peakall et al., 1998). Επιπλέον σύμφωνα με τους Valdes et al. (1993) και τους Schlotterer και Tautz (1992) η παραλλακτικότητα στον αριθμό των επαναλαμβανόμενων μονάδων πιθανόν να οφείλεται σε αποκλίσεις κατά την αντιγραφή και άλλα φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα κατά την μείωση. Η υψηλή παραλλακτικότητα των μικροδορυφορικών περιοχών σε σχέση με τις αντίστοιχες που ανίχνευαν οι RAPD και AFLP δείκτες, η οποία παρατηρήθηκε σε πειράματα στην ελιά (Belaj et al., 2002), μπορεί να εξηγηθεί από τον μηχανισμό δημιουργίας τους. Έτσι φαινόμενα διπλασιασμού (στις SSR περιοχές) είναι συχνότερα από απλές μονονουκλεοτιδικές μεταλλάξεις ή εισαγόμενα/διαγραφόμενα στοιχεία που δημιουργούν πολυμορφισμούς ανιχνεύσιμους από τους RAPD και AFLP δείκτες. Οι μικροδορυφόροι έχουν χρησιμοποιηθεί και για τον καθορισμό ετερωτικών ομάδων σε μεγάλης σημασίας σταυρογονιμοποιούμενα είδη, όπως το καλαμπόκι (Choukan et al., 2005).

Η γενική συχνότητα εμφάνισης των μικροδορυφόρων στα διάφορα φυτικά είδη είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με το μέγεθος του αντίστοιχου γενώματος και ανάλογη με την ποσότητα του επαναλαμβανόμενου DNA, όμως παραμένει σταθερή στις αντιγραφόμενες, και ιδίως στις μη μεταφραζόμενες περιοχές του γενώματος (Morgante et al, 2002). Τα προηγούμενα χρόνια το κόστος αναγνώρισης και ανάπτυξης μικροδορυφόρων ήταν πολύ υψηλό. Αυτό οδήγησε στην περιορισμένη χρήση τους στα σημαντικά από οικονομικής πλευράς φυτικά είδη. Τα πρωτόκολλα εμπλουτισμού που ακολούθησαν για την μείωση του κόστους παραγωγής και χρήσης των μικροδορυφόρων, δημιούργησαν προβλήματα αντιπροσωπευτικότητας των επαναλαμβανόμενων ακολουθιών

του DNA των φυτών (Scott et al., 2000). Εικάζεται ότι τα προσεχή χρόνια η υψηλή πληροφοριακή ικανότητα των SSR και AFLP δεικτών σε συνδυασμό με την προβληματικότητα των RAPD's για λεπτομερή και σταθερή γενετική ανάλυση, θα οδηγήσουν στην μείωση της χρήσης των τελευταίων και την σχεδόν αποκλειστική εφαρμογή των δύο πρώτων για δημιουργία DNA αποτυπωμάτων.

Γενικά η υπεροχή της γενετικής ανάλυσης μέσω μικροδορυφόρων προκύπτει από: 1) την ανάλυση μίας και μόνης γενωμικής περιοχής, 2) την ταυτόχρονη παρατήρηση πολλών αλληλομόρφων επειδή υπόκεινται συχνά σε μεταλλάξεις, 3) την συγκυριαρχική τους κληρονομήση 4) την επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων τόσο στο χρόνο όσο και στο χώρο (μεταξύ διαφόρων εργαστηρίων) και 5) τα υψηλά επίπεδα πολυμορφισμού που εμφανίζουν.

Οι RAPD αναλύσεις έχουν το μειονέκτημα τις αξιοπιστίας, της σταθερότητας των αποτελεσμάτων και της μεταβιβασιμότητας μεταξύ των διάφορων εργαστηρίων (Jones et al., 1997).

Στο ακτινίδιο η εφαρμογή μοριακών δεικτών σε επίπεδο κυρίως γένους έχει πραγματοποιηθεί κατά κύριο λόγο για τον προσδιορισμό φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των ειδών αλλά και για την δημιουργία γενετικών χαρτών και αποτυπωμάτων ταυτοποίησης ποικιλιών.

Εντούτοις οι SSR's που είναι αποτελεσματικοί για την γενετική ανάλυση ενός είδους μπορεί να είναι χρήσιμοι και για είδη του ίδιου γένους όπως οι μικροδορυφόροι που απομονώθηκαν από το διπλοειδές *A. chinensis* και οι οποίοι αποδείχθηκαν αξιόπιστοι για γενετική ανάλυση και σε άλλα συγγενικά είδη, όπως το *A. deliciosa* (Huang et al., 1998). Η επιτυχής εφαρμογή των μικροδορυφόρων σε διάφορα συγγενή είδη του είδους από το οποίο παράγονται έχει αποδειχθεί με χαρακτηριστικό παράδειγμα το ρύζι, το σιτάρι και το triticale (Kuleung et al., 2004). Συγκεκριμένα μικροδορυφόροι που απομονώθηκαν στο σιτάρι μεταφέρονταν με 17% επιτυχία στο ρύζι,

μικροδορυφόροι που απομονώθηκαν στο ρύζι εφαρμόστηκαν με 25% επιτυχία στο σιτάρι, ενώ μικροδορυφόροι και από τα δύο παραπάνω γενώματα (σιτάρι και ρύζι) μεταφέρονταν στο triticale με απόδοση 58 και 39% αντίστοιχα.

Οι μικροδορυφόροι είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικοί για γενετική χαρτογράφηση στο εξαπλοειδές *A. deliciosa* όπως φαίνεται και από την έρευνα των Testolin et al. (2001). Οι συγκεκριμένοι ερευνητές χρησιμοποίησαν τους SSR's σε συνδυασμό με AFLP δείκτες για δημιουργία ενός γενετικού χάρτη σύνδεσης με την βοήθεια της μεθόδου της ψευδοδιασταύρωσης.

Ο υψηλός βαθμός πολυμορφισμού των μικροδορυφόρων στο ακτινίδιο (Huang et al., 1998) οφείλεται στην παραλλακτικότητα του μήκους της μικροδορυφορικής περιοχής αν και δεν μπορεί να αποκλειστεί η πιθανότητα να οφείλεται στα εισαγόμενα / διαγραφόμενα στοιχεία όπως συμβαίνει και σε άλλα φυτικά είδη (Peakall et al., 1998). Ένα αρκετά συνηθισμένο φαινόμενο από την χρησιμοποίηση μικροδορυφόρων, είτε γενωμικών, είτε EST-μικροδορυφόρων, στα διάφορα είδη ακτινιδιάς, είναι ο μεγάλος αριθμός εμφανιζόμενων ζωνών σε σχέση με τον αναμενόμενο βάσει του βαθμού πλοειδίας (Huang et al., 1998, Fraser et al., 2005), κάτι που δείχνει ότι το ακτινίδιο (*A. chinensis*) ίσως να μην είναι πραγματικά διπλοειδές, αλλά τετραπλοειδές με έναν βασικό χρωμοσωμικό αριθμό $x=14$ ή 15 . Αυτό σημαίνει ότι ίσως μεσολάβησε χρωμοσωμικός διπλασιασμός κατά την εξέλιξη των ειδών του γένους *Actinidia* (Huang et al., 1998). Το ότι πολλά είδη καλλιεργούμενων φυτών είναι πολυπλοειδή έχει να κάνει με τα πλεονεκτήματα που προσφέρει το αυξημένο επίπεδο πλοειδίας στην ανάπτυξη σημαντικών αγρονομικών χαρακτηριστικών. Είναι χαρακτηριστικό ότι η πολυπλοειδία έχει συνδεθεί με την ύπαρξη μεγάλου μεγέθους καρπών, την ασυνήθιστη αλληλεπίδραση μεταξύ των γονιδίων που οδηγεί σε νέους

φαινοτύπους, καθώς επίσης και με την γενικότερη ανάπτυξη και βελτίωση νέων φυτικών ειδών (Eckardt 2004).

Η μεγάλη χρησιμότητα των μικροδορυφόρων φαίνεται και από το ότι ορισμένοι SSR δείκτες μπόρεσαν να ανιχνεύσουν την σωματοκλωνική παραλλακτικότητα που αναπτύχθηκε σε *in vitro* αναγεννημένα φυτά του είδους *A. deliciosa*, ενώ αντίθετα οι RAPD δείκτες δεν είχαν αυτήν την διακριτική ικανότητα (Palombi και Damiano, 2002). Επίσης μεγάλη βάση είχε δοθεί για την εύρεση μοριακών δεικτών που να συνδέονται με το φύλο των φυταρίων, αφού και η διοικία δημιουργεί πολλά προβλήματα κατά την πρώιμη επιλογή για καλλιέργεια ή βελτίωση της ακτινιδιάς. Ο Mc Neilage (1997) ανέφερε το είδος των χρωματοσωμάτων που υπάρχουν στα αρσενικά και θηλυκά φυτά του *A. deliciosa*. Συγκεκριμένα, θεώρησε ότι τα θηλυκά έχουν τον χρωμοσωμικό τύπο XXXXXX ενώ τα αρσενικά τον τύπο XXXXXY. Το πρόβλημα για τον διαχωρισμό του φύλου γίνεται ακόμη μεγαλύτερο από την στιγμή που τα X και Y χρωματοσώματα δεν μπορούν να διαχωριστούν με βάση την εμφάνισή τους εξαιτίας του μικρού τους μεγέθους.

Για αυτόν τον σκοπό χρησιμοποιήθηκαν κυρίως RAPD δείκτες με σχετική αποτυχία, αν εξαιρεθεί η έρευνα των Shirkot et al. (2002), οι οποίοι βρήκαν 6 RAPD δείκτες που σχετίζονταν με τα θηλυκά και 2 RAPD δείκτες που σχετίζονταν με τα αρσενικά άτομα του είδους *A. deliciosa*.

Εκτός από τους γενωμικούς μικροδορυφορικούς δείκτες, έχουν χρησιμοποιηθεί για γενετικές αναλύσεις στο ακτινίδιο και οι EST (Expressed Sequence Tags) μικροδορυφόροι. Οι EST μικροδορυφορικοί δείκτες απαντώνται κυρίως στις αντιγραφόμενες περιοχές του γενώματος και ως εκ τούτου είναι λιγότερο πολυμορφικοί από τους μικροδορυφόρους των μη αντιγραφόμενων περιοχών, όμως η σταθερότητα αυτών των περιοχών τους κάνει περισσότερο μεταβιβάσιμους από είδος σε είδος, κάτι που μπορεί να αυξήσει την χρησιμότητά τους στα βελτιωτικά προγράμματα. Μικροδορυφόροι

που προέρχονταν από EST βάσεις δεδομένων έχουν χρησιμοποιηθεί έως τώρα για την αναλυτική τους ικανότητα σε διάφορες έρευνες φυτικών ειδών, όπως στο σιτάρι (Eujayl et al., 2002) και το αμπέλι (Scott et al., 2000). Πάντως η πολυμορφική ικανότητα των γενωμικών σε σχέση με τους EST μικροδορυφόρους φαίνεται και από την έρευνα των Cho et al. (2000) στο ρύζι σύμφωνα με την οποία, βρέθηκε ότι οι SSR's είχαν κατά πολύ υψηλότερα επίπεδα (83,8%) πολυμορφισμών σε σχέση με τους EST's (54%). Οι EST μικροδορυφόροι αν και παρουσιάζουν μεγάλη αντιπροσωπευτικότητα μεταξύ των ειδών, τείνουν να είναι λιγότερο πολυμορφικοί εντός του είδους, λόγω της σταθερότητας των ρυθμιστικών και λειτουργικών γονιδίων κατά την διάρκεια της φυσικής επιλογής. Όμως η μεγαλύτερη αξιοποίησή τους σε πειράματα συγγένειας μεταξύ των ειδών σε σχέση με τους μικροδορυφόρους που απομονώνονται από μη εκφραζόμενες γενωμικές περιοχές δίνει μια υπεροχή σε σχέση με τους δεύτερους στην σύνδεση τους με διάφορα επιθυμητά χαρακτηριστικά, κάνοντάς τους περισσότερο λειτουργικούς για τα βελτιωτικά προγράμματα (Cordeiro et al., 2001).

Έχει αναφερθεί (Morgante et al., 2002) ότι οι μικροδορυφόροι παρουσιάζουν μια μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στις EST περιοχές παρά σε ολόκληρο το γενωμικό DNA των φυτικών ειδών, με μια μεγαλύτερη συχνότητα στις CT/GA ακολουθίες και μια μικρότερη στις AT ακολουθίες, οι οποίες αντιπροσωπεύουν μη αντιγραφόμενες περιοχές. Στην έρευνα των Fraser et al. (2004), με EST μικροδορυφόρους που προέρχονταν από το εξαπλοειδές *A. deliciosa*, η κυρίως εμφανιζόμενη δινουκλεοτιδική αλληλουχία ήταν η CT (45,3%) που σε συνδυασμό με την GA (25,3%) έδιναν ένα συνολικό ποσοστό της τάξεως του 70,5%. Αντίθετα οι AC/GT περιοχές εμφανίστηκαν σε πολύ μικρή αναλογία, μόλις 4%.

Επίσης, σύμφωνα με την ίδια έρευνα, τα φυτικά μέρη που έδιναν τα πιο υψηλά ποσοστά δινουκλεοτιδικών μικροδορυφορικών αλληλουχιών ήταν αυτά που προέρχονταν από αναπαραγωγικούς ιστούς, όπως οι καρποί και τα άνθη.

Αυτή η μεγαλύτερη αναλογία μικροδορυφορικών αλληλουχιών στα αναπαραγωγικά μέρη του φυτού ίσως προσδίδει στα φυτά ένα συγκριτικό πλεονέκτημα στην προσαρμοστικότητά τους σε αντίξοες συνθήκες και προσβολές από εχθρούς ή ασθένειες, ή κατά την εισαγωγή των συγκεκριμένων ειδών σε νέα περιβάλλοντα.

4. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη των γενετικών σχέσεων και η ανάπτυξη του μοριακού αποτυπώματος γενοτύπων ακτινιδίου μετά από ανάλυση DNA με χρήση μικροδορυφορικών δεικτών (SSR's). Συγκεκριμένα αξιολογήθηκε η διακριτική ικανότητα δινουκλεοτιδικών μικροδορυφορικών αλληλουχιών στην εκτίμηση της γενετικής συγγένειας εξαπλοειδών γενοτύπων που άνηκαν στο είδος *A. deliciosa* και που αντιπροσωπεύουν τις κυριότερες καλλιεργούμενες ποικιλίες ακτινιδίου του Ελλαδικού χώρου.

Ακολούθησε μελέτη των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών στους καρπούς των ποικιλιών σε σχέση με διάφορες συνθήκες και χρόνους αποθήκευσης, ενώ παράλληλα έγινε εκτίμηση των οργανοληπτικών παραμέτρων με κριτήρια την γευστική διαφοροποίηση, για τον χαρακτηρισμό των ποικιλιών και την αποδοχή τους.

5. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Φυτικό υλικό

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν ποικιλίες ακτινιδιού και συγκεκριμένα καλλιεργούμενοι αρσενικοί και θηλυκοί γενότυποι (Πίνακας 5.1) που ανήκαν στο εξαπλοειδές ($2n=6x$) είδος *Actinidia deliciosa* καθώς επίσης και δύο άλλοι γενότυποι που αναπτύχθηκαν και καλλιεργούνται στον Ελλαδικό χώρο. Ο ένας (♀) αποτελούσε σποροφυτική επιλογή της ποικιλίας 'Hayward' από διασταύρωσή της με άγνωστο επικονιαστή. Συγκεκριμένα, πάρθηκαν οι σπόροι από καρπούς της Hayward που είχαν επικονιαστεί από άγνωστο αρσενικό πρέμνο. Αφού έσπασε ο λήθαργος με διαδοχικές διαβρέξεις, εναλλαγές θερμοκρασιών και στρωματώσεις, φυτεύτηκαν όλα τα σπορόφυτα που προέκυψαν. Μια πρώτη επιλογή αφορούσε την εκλογή κατάλληλων επικονιαστών της Hayward, γι' αυτό το λόγο κρατήθηκαν τα ζυγάρια σε ανάπτυξη σπορόφυτα σαν υποτιθέμενοι αρσενικοί γενότυποι. Εντούτοις, σε προχωρημένο στάδιο της ανάπτυξής τους αναγνωρίστηκαν και θηλυκά εντός των σποροφύτων εκ των οποίων έγινε μια διαλογή 30 περίπου φυτών, τα οποία πολλαπλασιάστηκαν με μοσχεύματα και έδωσαν τον συγκεκριμένο γενότυπο που χρησιμοποιήθηκε στην εργασία. Η θηλυκή αυτή διαλογή κωδικοποιήθηκε τυχαία ως Γενότυπος Α (Εικόνα 5.1). Ο έτερος (♂) γενότυπος που ονομάστηκε ως Αρσενικός Γενότυπος Β ήταν ένα πρέμνο με παρρεκλίνοντα μορφολογικά χαρακτηριστικά από τους μέχρι τώρα γνωστούς καλλιεργούμενους επικονιαστές της 'Hayward', αφού είχε καχεκτική βλαστική ανάπτυξη, φτωχό φύλλωμα και πολύ όψιμη ανθοφορία.

Πίνακας 5.1. Γενότυποι του είδους *A. deliciosa*, και κατάταξη με βάση το φύλο και το βαθμό πλοειδίας τους

| <i>Γενότυποι</i> | <i>Φύλο</i> | <i>Επίπεδο πλοειδίας</i> |
|------------------|-------------|--------------------------|
| Γενότυπος A | ♀ | 6x |
| Hayward | ♀ | 6x |
| Koryoku | ♀ | 6x |
| Bruno | ♀ | 6x |
| Allison | ♀ | 6x |
| Abbott | ♀ | 6x |
| Top Star | ♀ | 6x |
| Tomuri | ♂ | 6x |
| Ματια | ♂ | 6x |
| Αρ. Hayward | ♂ | 6x |
| Αρ. Γενοτύπος Β | ♂ | 6x |



Εικόνα 5.1. Ο Γενότυπος A (δεξιά) σε σχέση με την ποικιλία Hayward (αριστερά)

5.1 ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

5.1.1 Εξαγωγή DNA

Η εξαγωγή DNA έγινε για τους δύο από τους 11 γενότυπους αφού για τους υπόλοιπους υπήρχε διαθέσιμο DNA από προηγούμενη ερευνητική δραστηριότητα, που αφορούσε διεθνή συνεργασία μεταξύ των πανεπιστημίων του Udine (Ιταλία), Montpellier (Γαλλία), Wuhan (Κίνα), Beijing (Κίνα) και Θεσσαλίας (Ελλάδα) για την δημιουργία μικροδορυφόρων στο ακτινίδιο.

Οι δύο αυτοί γενότυποι ήταν ο Γενότυπος Α και ο Αρ. Γενότυπος Β. Συλλέχθηκαν νεαροί βλαστοί νωρίς την άνοιξη και αφέθηκαν στο ψυγείο σε συνθήκες σκότους έως ότου να εκπτυχθούν οι βλαστοφόροι οφθαλμοί τους. Στην συνέχεια αφαιρέθηκαν από τους βλαστούς τα νεαρά φύλλα και ακολούθησε εξαγωγή DNA σύμφωνα με την μικρομέθοδο CTAB (Doyle & Doyle, 1990). Συγκεκριμένα πάρθηκαν 0,3 gr φυτικού ιστού από κάθε γενότυπο και αφού τοποθετήθηκαν σε μικροφυγοκεντρικό σωλήνα μαζί με μαζί με 800μL ρυθμιστικού διαλύματος CTAB, 10μL β-μερκαπτοαιθανόλης (1%v/v) και 2μL RNA-άσης πολτοποιήθηκαν με την βοήθεια μικρού πλαστικού αποστειρωμένου γουδιού. Ακολούθως το διάλυμα μεταφέρθηκε σε υδατόλουτρο στους 60 °C για 15 λεπτά περίπου. Το υπερκείμενο διάλυμα που περιείχε το DNA πάρθηκε μετά από φυγοκέντριση για 20 λεπτά στα 10.000 g. Ακολούθησε απομάκρυνση των πρωτεϊνών με διάλυμα χλωροφορμίου / ισοαμυλικής αλκοόλης 24/1 και καθίζηση του DNA με χρήση 2/3 του όγκου ισοπροπανόλης και άλατος (Na-acetate) 0,1M με φυγοκέντριση 5 λεπτών στις 10.000 g μετά από ψύξη του διαλύματος για 30 λεπτά στους -20 °C. Έγινε απομάκρυνση των πολυσακχαριτών με διάλυμα NaCl 1,0 M (Guowei et al., 1992) ενώ ακολούθησε καθαρισμός του DNA με διάλυμα αιθανόλης 70% και άλατος (K-acetate) 0,1 M για δύο φορές και μια φορά με καθαρή αιθανόλη. Στη συνέχεια το καθαρό πλέον DNA διαλύθηκε σε 200μL

διαλύματος TE.). Η ποσοτικοποίηση του DNA έγινε οπτικά σε πηκτική αгарόζης (0,7%) μετά από σύγκριση με πρότυπα διαλύματα του πλασμιδίου λ.

5.1.2 Εκκινητές Μικροδορυφορικών Περιοχών

Για την ανάλυση των πολυμορφισμών χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 8 ζεύγη εκκινητών που δημιουργήθηκαν στα πλαίσια διεθνούς συνεργασίας μεταξύ των πανεπιστημίων του Udine (Ιταλία), Montpellier (Γαλλία), Wuhan (Κίνα), Βειjing (Κίνα) και Θεσσαλίας (Ελλάδα). Οι εκκινητές στόχευαν σε δι-νουκλεοτιδικές επαναλαμβανόμενες μικροδορυφορικές αλληλουχίες τύπου AG/CT και AC/GT. Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν και οι ακολουθίες που στόχευαν φαίνονται στον πίνακα 5.1.2.1.

Πίνακας 5.1.2.1. Κωδικοί και αλληλουχίες των εκκινητών

| | | Εκκινητές |
|----------------------|------------|---|
| (AC/GT) _n | UDK 96-001 | 5' GAATCGCGTAATGATTGATGG 5' GTTCCCACTCTGCAAAAGC |
| | UDK 96-030 | 5' TCATGTTTGTGGTTGAGTTGTG 5' AGCAATAAACTCAAGCGCGT |
| | UDK 96-035 | 5' AAGAGCCATAGCTTATTCACCG 5' AAGTAAAGCCATTGTCATTGCA |
| | UDK 96-040 | 5' TCGAGTTACCTAGCTACTCCGC 5' CAAGGGAAGAAAATGTTGAACC |
| | UDK 96-092 | 5' ATCACATGAATACGTGGATTGC 5' TGTGTGTTCAATTTGTCATCCTT |
| | UDK 96-101 | 5' GGGTTTGTTTGAGGGAAAGA 5' AACACCAAACAGCACCCCTTC |
| (AG/CT) _n | UDK 97-402 | 5' ATATGATAGAACGCCATCCCC 5' GACGTGCCATCAGTTTCCTT |
| | UDK 97-411 | 5' TGATTAAATCCCCAAACCCA 5' TCCCAATCTCATCATCCCTC |

5.1.3. Αντιδράσεις PCR

Οι αντιδράσεις στον θερμοκυκλοποιητή ήταν τελικών όγκων 25 μL και περιείχαν 10mM Tris HCl, 50mM KCl, 1,5mM MgCl, 0,2mM dNTP's, 10mM εκκινητή, 50ng γενωμικού DNA και 1U ένζυμο πολυμερισμού (*Taq polymerase*). Το πρόγραμμα της PCR που ακολουθήθηκε με τις θερμοκρασίες και τα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα είχε ως εξής: 94 °C για 6 λεπτά για την προδιάταξη του DNA, 94 °C για 50 δευτερόλεπτα για την αποδιάταξη του DNA, 55 °C για 50 δευτερόλεπτα για τον υβριδισμό των εκκινητών, 72 °C για ενάμιση λεπτό για την αντιγραφή του επιλεγμένου DNA τμήματος από τους εκκινητές (αυτά τα 3 στάδια συνιστούν με επαναλήψεις τους 35 κύκλους) και τέλος 72 °C για 7 λεπτά για την πλήρωση των αντιγραφών τους.

5.1.4 Ανάλυση προϊόντων της PCR

Τα προϊόντα ενίσχυσης της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης διαχωρίστηκαν σε πηκτή μετουσιωμένης πολυακρυλαμίδης 6% με 6M ουρία σε συσκευή ηλεκτροφόρησης αλληλούχισης πάχους 0,4 mm (*sequencing gel*) στην οποία εφαρμοζόταν τάση 1500 V για 2,5 ώρες περίπου. Τα αποτελέσματα του διαχωρισμού εμφανίστηκαν με την μέθοδο του νιτρικού αργύρου (*silver staining*) της PROMEGA Madison (*Promega Technical Manual for DNA Sequencing System*). Η εκτίμηση του αριθμού των βάσεων εμφανιζόμενων ζωνών, έγινε σε σχέση με τέσσερις μάρτυρες: τα πλασμίδια $\Phi\chi$ 174 και pBR 322 κομμένα με το ένζυμο περιορισμού Hae III και δύο Ladders 100 και 20 pb αντίστοιχα.

Με βάση τα δεδομένα των παραπάνω αναλύσεων εκτιμήθηκαν οι παράμετροι: ο αριθμός των αλληλομόρφων ανά περιοχή (N), ο δείκτης ποικιλότητας (*Diversity Indices, DI*), οι πληροφορίες πολυμορφικού περιεχομένου (*Polymorphism Information Content, PIC*) και η πιθανότητα ταύτισης

(Probability of Identity, I). Οι παράμετροι I, PIC, DI υπολογίστηκαν με βάση τις παρακάτω σχέσεις (Pasqualone et al., 1999) :

$$DI = 1 - \sum_{i=1}^n p_i$$

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2 p_i^2 p_j^2$$

$$I = \sum_{i=1}^n p_i^4 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n (2 p_i p_j)^2$$

Οι παράμετροι PIC, DI, I εκφράζουν τον βαθμό πολυμορφισμού ενός εκκινητή και παίρνουν τιμές μεταξύ 0 και 1. Όσο περισσότερο οι PIC και DI τείνουν στην μονάδα και ο I στο μηδέν, τόσο περισσότερο πολυμορφικός είναι ένας δείκτης και επομένως έχει καλύτερη διακριτική ικανότητα. Η γενετική συγγένεια μεταξύ των εξεταζόμενων γενοτύπων ακτινιδίου, εκτιμήθηκε με τη βοήθεια του δείκτη Jaccard και ομαδοποίηση κατά UPGMA. Επιπλέον έγινε ανάλυση των επιδράσεων κύριων συνιστωσών (PCOORDA) με δύο κύριες συνιστώσες.

5.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Συλλογή και διατήρηση των καρπών

Για τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά χρησιμοποιήθηκαν 5 από τις 11 ποικιλίες και συγκεκριμένα οι Hayward, Abbott, Bruno, Allison και Γενότυπος Α. Η συλλογή των καρπών έγινε από έναν εμπορικό σπρωμένα του χωριού Επισκοπή του Νομού Ημαθίας, όταν τα διαλυτά στερεά συστατικά

έφθασαν στο επίπεδο του 6,5% περίπου (τέλος Οκτώβρη). Συλλέχθηκαν 120 καρποί από κάθε ποικιλία. Οι καρποί παρέμειναν σε θερμοκρασία 8° C για 20 περίπου ημέρες και έπειτα χωρίστηκαν τυχαία σε τρεις ομάδες των 40 καρπών έκαστη. Η πρώτη ομάδα παρέμεινε στον χώρο της απλής αποθήκευσης (20° C) σε συνδυασμό με την ύπαρξη μήλων εντός αυτής για την γρήγορη ωρίμανση των καρπών. Όταν η αντοχή στην πίεση των καρπών έφθασε σε επίπεδα στα οποία οι καρποί να μπορούν να φαγωθούν ευχάριστα, δηλαδή από 1,5 kgF και κάτω, έγινε η πρώτη μέτρηση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών σε 36 από τους 40 καρπούς που συνιστούσαν 6 επαναλήψεις των 6 καρπών η κάθε μία. Οι υπόλοιποι 4 καρποί κρατήθηκαν για την οργανοληπτική εξέταση. Οι άλλες δύο ομάδες των 40 καρπών μεταφέρθηκαν σε θαλάμους συντήρησης με απορρόφηση αιθυλενίου στους 0° C για την καλύτερη συντηρησιμότητά τους και εξήχθησαν διαδοχικά μετά από έναν και δύο μήνες αντίστοιχα από την ημερομηνία αποθήκευσής τους. Ακολούθησε ο προσδιορισμός των φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών μετά την ωρίμανσή τους για τις δύο ομάδες ομοίως όπως και για την πρώτη.

5.2.1. Προσδιορισμός του pH

Για την μέτρηση του pH χρησιμοποιήθηκε ψηφιακό πεχάμετρο (Εικόνα 5.2.1.1). Αναμίχθηκαν 2 mL χυμού με 18 mL απιονισμένου νερού και ακολούθησε ανάδευση. Το ηλεκτρόδιο του πεχάμετρου τοποθετούνταν στο διάλυμα, του οποίου η ανάδευση συνεχίζονταν για όσο διάστημα συνεχιζόταν η μέτρηση. Όταν η ένδειξη στην συσκευή σταθεροποιούνταν, γινόταν η καταγραφή της τιμής.



Εικόνα 5.2.1.1. Ψηφιακό πεχάμετρο

5.2.2. Προσδιορισμός της συνεκτικότητας του καρπού

Η συνεκτικότητα της σάρκας μετρήθηκε με πενετόμετρο (Fruit tester FT 327 Effegi, 48011, Alfonsine, Italy) με δίσκο διαμέτρου 7.9 mm (Εικόνα 5.2.2.1). Έγιναν δύο μετρήσεις ανά καρπό στις δύο πλευρές του στο μέσο της απόστασης μεταξύ κάλυκα και ποδίσκου. Η μέτρηση γινόταν με αφαίρεση ενός μικρού τμήματος φλούδας με ξυράφι από την επιφάνεια του καρπού, όπου επρόκειτο να πιεστεί το έμβολο. Η τιμή της συνεκτικότητας λαμβάνονταν ως ο μέσος όρος των δύο μετρήσεων για κάθε καρπό.



Εικόνα 5.2.2.1. Μέτρηση καρπών ακτινιδιάς για αντοχή στην πίεση με πενετόμετρο Effegi

5.2.3. Προσδιορισμός των διαλυτών στερεών συστατικών (ΔΣΣ) του καρπού

Τα διαλυτά στερεά μετρήθηκαν με την βοήθεια ενός φορητού διαθλασίμετρου (Εικόνα 5.2.3.1) με κλίμακα από 0 έως 20% (Atago). Ο χυμός 6 καρπών (ένας καρπός ανά επανάληψη) μετρούνταν για την περιεκτικότητά του σε διαλυτά στερεά και η μέση τιμή που λαμβάνονταν αντιπροσώπευε την τιμή των ΔΣΣ.

5.2.4. Προσδιορισμός της ολικής οξύτητας

Η ογκομετρούμενη οξύτητα μετρήθηκε ως εξής: αναμίχθηκαν 2 mL χυμού από τον εσωτερικό φλοιό 6 καρπών με 18 mL απιονισμένου νερού και ακολούθησε ανάδευση. Ακολούθησε



Εικόνα 5.2.3.1. Φορητό διαθλασίμετρο Atago για προσδιορισμό των διαλυτών στερεών συστατικών του καρπού

εξουδετέρωση των οξέων με διάλυμα NaOH 0.1M και ταυτόχρονη μέτρηση με πεχάμετρο (Εικόνα 5.2.4.1) έως ότου η ένδειξη να φτάσει την τιμή 8.2. Δεδομένου ότι το βασικό οξύ στον χυμό του ακτινιδίου είναι το κιτρικό και ο συντελεστής εξουδετέρωσης του είναι 6,4 (δηλαδή 1000 mL NaOH 0.1 M απαιτούνται για να εξουδετερώσουν 6,4 gr κιτρικού οξέως) έγινε η απαραίτητη αναγωγή της τιμής που προέκυψε από την στήλη του NaOH σε



Εικόνα 5.2.4.1. Ογκομετρικός σωλήνας και ψηφιακό πεχάμετρο για προσδιορισμό της οξύτητας

ποσοστό βάρους του καρπού, που μας δίνει την ολική ποσοστιαία οξύτητα του καρπού.

5.2.5. Προσδιορισμός του ξηρού βάρους

Για τον προσδιορισμό του ξηρού βάρους κόπηκαν, αποφλοιώθηκαν, ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε γυάλινα τριβλία γνωστού βάρους κυλινδρικά τεμάχια καρπού κατά μήκος του κάθετου άξονα του τελευταίου, ώστε να περικλείονται όλα τα μέρη του εσωτερικού του καρπού. Αφού τοποθετήθηκαν στους $80^{\circ} C$ για 72 ώρες περίπου, επαναζυγίστηκαν και από την διαφορά του αρχικού χλωρού με το τελικό ξηρό βάρος υπολογίστηκε το ποσοστό σε ξηρή ουσία του καρπού.

5.2.6. Προσδιορισμός του λόγου των διαμέτρων

Το μήκος, η μικρή (ύψος) και η μεγάλη διάμετρος (πλάτος-κατά μήκος του εγκάρσιου άξονα) του καρπού μετρήθηκαν με παχύμετρο (Diamond Brand,

China) (Εικόνα 5.2.6.1). Από την διαίρεση των τριών αυτών τιμών ανά δύο, δηλαδή της μεγάλης διαμέτρου προς την μικρή και του μήκους προς το πλάτος, προκύπτουν δύο τιμές που μας δείχνουν το ποσοστό διαπλάτυνσης



Εικόνα 5.2.6.1. Μέτρηση του μήκους του καρπού με την χρήση παχύμετρου

του καρπού, ένα κριτήριο αρκετά σημαντικό για την εμπορική παραγωγή ακτινιδίου, καθώς επίσης και το σχετικό μήκος του καρπού αντίστοιχα (mm). Όσο ο πρώτος λόγος απομακρύνεται από την μονάδα, τόσο υποβαθμίζεται η εμπορική αξία των καρπών των αντίστοιχων ποικιλιών.

5.2.7. Προσδιορισμός του βάρους του καρπού

Το βάρος του καρπού (g) λαμβάνονταν με αναλογικό ζυγό (Εικόνα 5.2.7.1) γραμμαρίων με ακρίβεια ενός δεκαδικού.



Εικόνα 5.2.7.1. Μέτρηση του βάρους με ζυγαριά ακρίβειας ενός δεκαδικού

5.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Ο προσδιορισμός των οργανοληπτικών παραμέτρων έγινε με χρήση ερωτηματολογίων, τα οποία μοιράστηκαν σε πάνελ 10 μη εκπαιδευμένων ατόμων. Το ερωτηματολόγιο περιλάμβανε τα χαρακτηριστικά ποιότητας που αφορούσαν την εμφάνιση, την γεύση, την οσμή, την αφή και την συνολική εντύπωση (Πίνακας 5.3.1).

Συγκεκριμένα τα χαρακτηριστικά ποιότητας ήταν:

Για την εμφάνιση: εξωτερικό και εσωτερικό χρώμα

Για την γεύση: μεταλλική, στυφή, όξινη, γλυκιά, χορτώδης, μουχλιασμένη, παραμένουσα, προσκόλληση στα δόντια, χυμώδης

Για την οσμή: ένταση οσμής και ξυλώδης αίσθηση

Για την αφή: ευκολία διάλυσης, ινώδης δομή σάρκας, ζελατινώδης δομή σάρκας και τραγανότητα και

η συνολική εντύπωση

Τα ερωτηματολόγια είχαν διαβαθμίσεις, από το ένα έως το πέντε χαρακτηρίζοντας το πολύ έντονο, το έντονο, το μέτριο, το λίγο έντονο και το καθόλου έντονο.

Οι καρποί κόβονταν χωρίς την οπτική επαφή των δοκιμαστών ώστε να μην γνωρίζουν την ποικιλία που δοκιμάζουν και να εξασφαλιστεί η αντικειμενικότητα του πειράματος. Αφού συμπλήρωναν τις παραμέτρους που αφορούσαν την αφή, την οσμή και την γεύση οι καρποί κόβονταν στη μέση για τον προσδιορισμό της εξωτερικής εμφάνισης. Κατά την δοκιμασία της γεύσης μεταξύ των δοκιμών στις διάφορες ποικιλίες, μεσολαβούσαν διαλείμματα με νερό και φρυγανιές ώστε να εξαλειφθεί η αίσθηση της προηγούμενης γεύσης. Οι δοκιμαστές σημείωναν στα λευκά τετράγωνα της προτιμήσεις τους και στην συνέχεια γινόταν αναγωγή των βαθμολογήσεων με την πενταβάθμια κλίμακα.

Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με τα στατιστικά πακέτα MSTAT, SPSS και JMP. Έγινε ανάλυση της παραλλακτικότητας (ANOVA) και σύγκριση των μέσων όρων με χρησιμοποίηση του κριτηρίου της ελάχιστης σημαντικής διαφοράς (ΕΣΔ). Επίσης έγινε ιεραρχική ανάλυση σε ομοειδή σύνολα (Cluster Analysis), καθώς επίσης και ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (Principal Component Analysis).

Πίνακας 4.3.1. Ερωτηματολόγιο οργανοληπτικής εξέτασης

‘ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΕ ΑΚΤΙΝΙΔΙΟ’

ΠΟΙΚΙΛΙΑ:

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ:

ΟΝΟΜΑ:

Α. ΕΞΩΤΕΡΙΚΗ ΕΜΦΑΝΙΣΗ

| Εξωτερικό | Ανοιχτό καφέ | Χλωμό καφέ | Καφέ | Σκούρο καφέ | Πολύ σκούρο καφέ |
|-----------|-----------------|---------------|---------|----------------|---------------------|
| Χρώμα | | | | | |
| Εσωτερικό | Ανοιχτό πράσινο | Χλωμό πράσινο | Πράσινο | Σκούρο πράσινο | Πολύ σκούρο πράσινο |
| Χρώμα | | | | | |

Β. ΓΕΥΣΗ

| | Πολύ έντονο | Έντονο | Μέτριο | Λίγο έντονο | Καθόλου έντονο |
|------------------------|-------------|--------|--------|-------------|----------------|
| Μεταλλική | | | | | |
| Στυφή | | | | | |
| Όξινη | | | | | |
| Γλυκιά | | | | | |
| Χορτώδης | | | | | |
| Μουχλιασμένη | | | | | |
| Παραμένουσα γεύση | | | | | |
| Προσκόλληση στα δόντια | | | | | |
| Χυμώδης | | | | | |

Γ. ΟΣΜΗ

| | Πολύ έντονη | Έντονη | Μέτρια | Λίγο έντονη | Καθόλου έντονη |
|---------|-------------|--------|--------|-------------|----------------|
| Οσμή | | | | | |
| Ξυλώδης | | | | | |

Δ. ΑΦΗ

| | Πολύ έντονο | Έντονο | Μέτριο | Λίγο έντονο | Καθόλου έντονο |
|-------------------------|-------------|--------|--------|-------------|----------------|
| Ευκολία διάλυσης | | | | | |
| Ινώδης δομή σάρκας | | | | | |
| Ζελατινώδης δομή σάρκας | | | | | |
| Τραγανότητα | | | | | |

Ε. ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΕΝΤΥΠΩΣΗ

| Πολύ καλό | Καλό | Μέτριο | Κακό | Πολύ κακό |
|-----------|------|--------|------|-----------|
| | | | | |

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 Αποτελέσματα Μοριακής Ανάλυσης

Και οι οκτώ εκκινητές μικροδορυφορικού DNA που χρησιμοποιήθηκαν ήταν πολυμορφικοί. Τα αλληλόμορφα που εκτιμήθηκαν κυμαίνονταν από 4 έως 12 με μια μέση τιμή εμφάνισης τα $7,18 \pm 2,27$ (Πίνακας 6.1.1). Ο υψηλός αριθμός εμφάνισης αλληλομόρφων ανά μικροδορυφορική περιοχή δείχνει την χρησιμότητα αυτών των δεικτών αν και δεν υπάρχει ευθεία συσχέτιση μεταξύ αυτού του αριθμού και της τιμής του PIC (Prasad et al, 2000).

Πίνακας 6.1.1. Εκτιμήσεις αριθμού αλληλομόρφων, Diversity indices DI, Probability of identity I, Polymorphic information content PIC μικροδορυφορικών περιοχών επαναλαμβανόμενων ακολουθιών

| ΕΚΚΙΝΗΤΕ | Αλληλόμορφα | PIC | DI | I |
|----------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Σ | | | | |
| 96-030 | 12 | 0,916 | 0,921 | 0,012 |
| 97-411 | 10 | 0,874 | 0,886 | 0,024 |
| 96-092 | 8 | 0,847 | 0,863 | 0,034 |
| 96-101Γ | 8 | 0,829 | 0,847 | 0,042 |
| 97-402A | 7 | 0,807 | 0,829 | 0,051 |
| 97-402B | 7 | 0,796 | 0,82 | 0,057 |
| 96-035 | 6 | 0,796 | 0,821 | 0,057 |
| 96-040 | 6 | 0,79 | 0,816 | 0,06 |
| 96-001 | 6 | 0,784 | 0,811 | 0,063 |
| 96-101B | 5 | 0,738 | 0,774 | 0,086 |
| 96-101A | 4 | 0,668 | 0,72 | 0,13 |
| M.O. | $7,18 \pm 2,27$ | $0,804 \pm 0,066$ | $0,828 \pm 0,054$ | $0,056 \pm 0,032$ |

Για την παράμετρο PIC η μέση τιμή ήταν $0,804 \pm 0,066$ με ένα εύρος από 0,668 έως 0,916 (Πίνακας 6.1.1). Αυτή η τιμή θεωρείται αρκετά υψηλή αν συνυπολογίσουμε το γεγονός ότι αντίστοιχες τιμές στο καλαμπόκι (Choukan et al., 2005), το σιτάρι (Prasad et al., 2000) και το ρύζι (Prasad et al., 2000) ήταν πολύ χαμηλότερες και συγκεκριμένα λάμβαναν μια τιμή της τάξεως του 0,54, 0,71 και 0,578 αντίστοιχα. Όμως οι Fraser et al. (2005) με εφαρμογή EST μικροδορυφόρων σε διάφορα είδη του γένους *Actinidia* βρήκαν τιμές PIC που ήταν αρκετά υψηλές, αφού οι 14 από τους 17 δείκτες είχαν τιμές που κυμαίνονταν από 0,90 και πάνω. Πρέπει να αναφερθεί ότι αυτό ίσως οφείλεται στην μεγάλη αντιπροσωπευτικότητα που έχουν οι EST μικροδορυφόροι μεταξύ των ειδών, αν και εντός του είδους παρουσιάζουν μικρότερη πολυμορφική ισχύ από τους γενωμικούς μικροδορυφόρους. Οι περισσότερο πολυμορφικοί δείκτες ήταν οι UDK 96-030 και UDK 97-411 που ανήκουν στην κατηγορία των δεικτών που στόχευαν σε AC/GT και AG/CT ακολουθίες αντίστοιχα. Στο γένωμα του ακτινιδίου όπως και σ' αυτό άλλων φυτικών ειδών (Morgante and Olivieri, 1993) οι AG/CT ακολουθίες είναι πιο κοινές από τις AC/GT ακολουθίες (Weising et al., 1996, Huang et al., 1998). Αντίθετα σε ορισμένα είδη όπως το σιτάρι οι (GT)_n ακολουθίες είναι οι περισσότερο πολυμορφικές (Prasad et al., 2000).

Για την παράμετρο DI, η μέση τιμή ήταν $0,828 \pm 0,054$ με επιμέρους τιμές που κυμαίνονταν από ένα ελάχιστο 0,72 έως ένα μέγιστο 0,921, ενώ για την παράμετρο I η αντίστοιχη μέση τιμή ήταν $0,056 \pm 0,032$ με ένα εύρος από 0,13 έως 0,012 (Πίνακας 6.1.1). Σύμφωνα με τις τιμές PIC, DI και I οι περισσότερο πολυμορφικοί εκκινητές ήταν οι UDK 96-030 και UDK 97-411 ενώ οι λιγότερο πολυμορφικοί ήταν οι UDK 96-101A και UDK 96-101B. Επιπλέον παρουσιάστηκε η περίπτωση ορισμένοι εκκινητές να ενισχύουν περισσότερες των μία μικροδορυφορικές περιοχές, φαινόμενο το οποίο έχει παρουσιαστεί και στο παρελθόν με εφαρμογή μικροδορυφόρων στην ελιά

(Belaž et al., 2002). Συγκεκριμένα οι εκκινητές που παρουσίασαν τέτοια συμπεριφορά ήταν οι UDK 96-101 και UDK 97-402 με τον πρώτο να ενισχύει τρεις και τον δεύτερο δύο μικροδορυφορικές περιοχές αντίστοιχα. Επίσης από την εφαρμογή του εκκινητή UDK 97-411 στην ποικιλία Koryoku παρουσιάστηκε μεγαλύτερος αριθμός ζωνών (7) σε σχέση με αυτόν που αναμένονταν (6) βάσει του επιπέδου πλοειδίας του γενοτύπου (Πίνακας 6.1.2). Αυτό το φαινόμενο έχει επανειλημμένως παρουσιαστεί στο ακτινίδιο με εφαρμογή μικροδορυφόρων (Fraser et al., 2005, Huang et al., 1998) και σύμφωνα με τους Huang et al. (1998) συμβαίνει διότι ίσως το ακτινίδιο να είναι αλλοπολυπλοειδές με έναν βασικό χρωμοσωμικό αριθμό $x=14$ ή 15 και όχι $x=29$ όπως έως τώρα θεωρείται.

Με βάση τον αριθμό των αλληλομόρφων και των βάσεων στις οποίες εμφανίζονται αυτά, κατέστη δυνατός ο σχηματισμός του μοριακού αποτυπώματος για κάθε γενότυπο (Πίνακας 6.1.2.). Δηλαδή, οι αριθμοί που εμφανίζονται στον πίνακα δείχνουν τον αριθμό των βάσεων στις οποίες εμφανίστηκαν ζώνες από την εφαρμογή των δεικτών. Αυτές οι βάσεις στις οποίες εμφανίζονται τα αλληλόμορφα, επιτρέπουν τον διαχωρισμό των γενοτύπων ανάλογα με τα κοινά ή διαφορετικά τους αλληλόμορφα στις αντίστοιχες βάσεις. Για παράδειγμα, από την εφαρμογή του δείκτη UDK 97-411 οι γενότυποι Hayward και Ματσα μπορούν να διαχωριστούν από τους υπολοίπους με βάση το j αλληλόμορφο που αντιστοιχεί στην βάση 140 και δεν εμφανίζεται στους υπολοίπους. Ακολούθως, από τους εννέα γενοτύπους που υπολείπονται οι Koryoku και Bruno διαχωρίζονται με το g αλληλόμορφο που αντιστοιχεί στην βάση 130, ο Γενότυπος A και ο επικονιαστής της Hayward από το h αλληλόμορφο στις 134 βάσεις. Οι Tomuri, Abbott και Γενότυπος B διαχωρίζονται μόνοι τους ο κάθε ένας από τους εναπομείναντες TopStar και Allison από τα f , i και b αλληλόμορφα που αντιστοιχούν στις βάσεις 128, 136 και 116 αντίστοιχα. Για τον περαιτέρω διαχωρισμό των ζευγαριών των

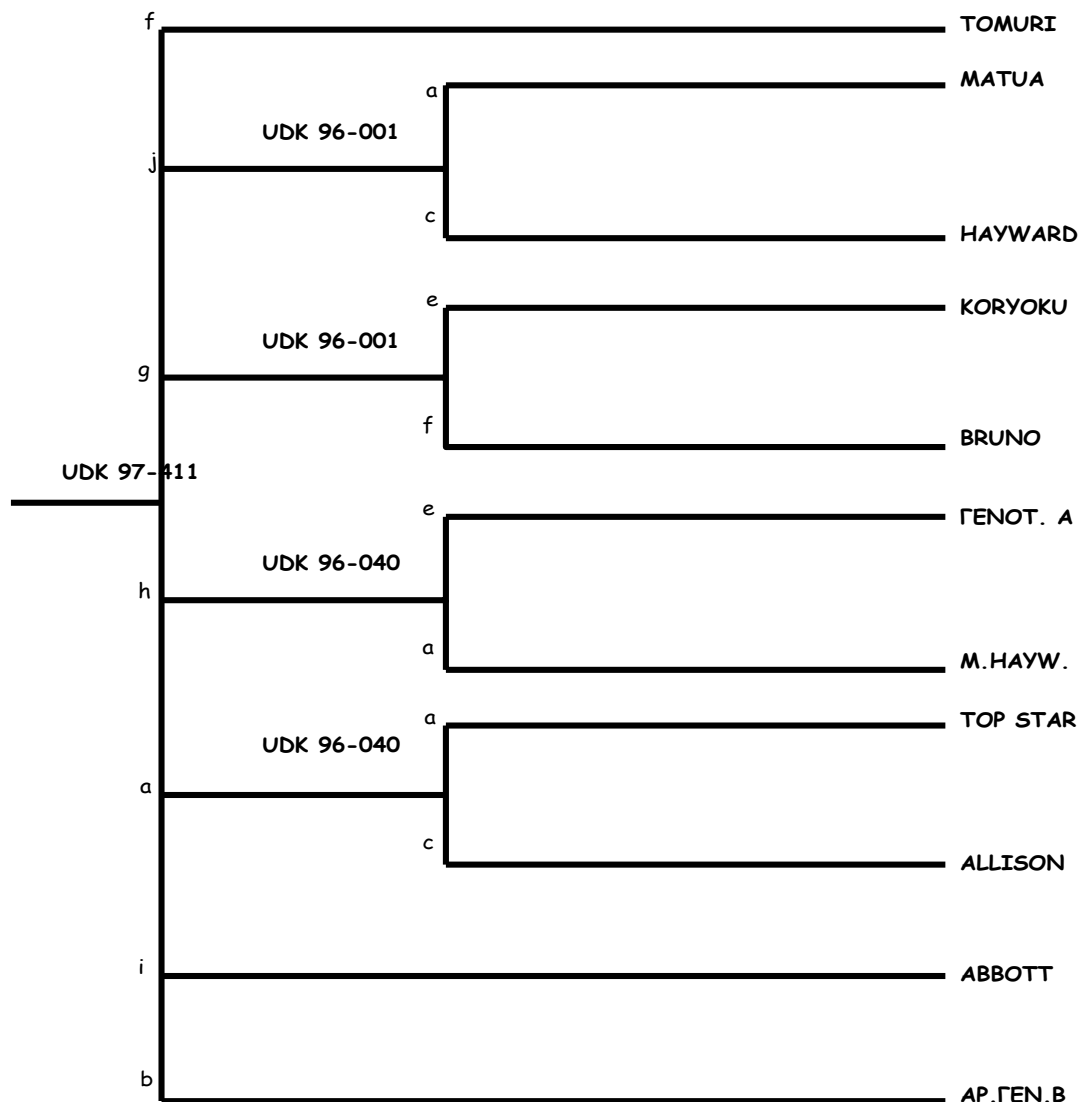
γενοτύπων που προέκυψαν πρέπει να χρησιμοποιηθούν με την ίδια διαδικασία και τα αποτελέσματα άλλων εκκινήτων.

Πίνακας 6.1.2. Μοριακό αποτύπωμα των 11 γενοτύπων με βάση τα αλληλόμορφα που εμφανίζονται στις αντίστοιχες βάσεις με εφαρμογή των παρακάτω δεικτών

| Γενότυποι | UDK 97-411 | UDK96-001 | UDK 96-040 |
|---------------------|-----------------------------|-----------------|-----------------|
| ΓενότυποςΑ | 114/134/136 | 238/248/252 | 110/122 |
| Hayward | 114/122/126/130/134/140 | 248/252 | 108/110/122 |
| Koryoku | 118/122/126/128/130/134/136 | 238/248/267/271 | 112/126 |
| Topstar | 114/116/122/126 | 248/252 | 108/110 |
| Bruno | 118/126/128/130/136 | 238/248/267/273 | - |
| Allison | 114/116/122/136 | 248/267/273 | 112/122 |
| Abbott | 122/136 | 248/252/273 | 122/126 |
| Tomuri | 114/116/122/126/128/134 | 238/267/271 | 110/118/122 |
| Matua | 122/126/128/136/140 | 238/248/267/273 | 118/122 |
| Αρ. Hayw. | 122/134/136 | 238/248/267/273 | 108/110/112/118 |
| Αρ. Γενοτ. Β | 116/118 | 252/267/273 | 118/122 |

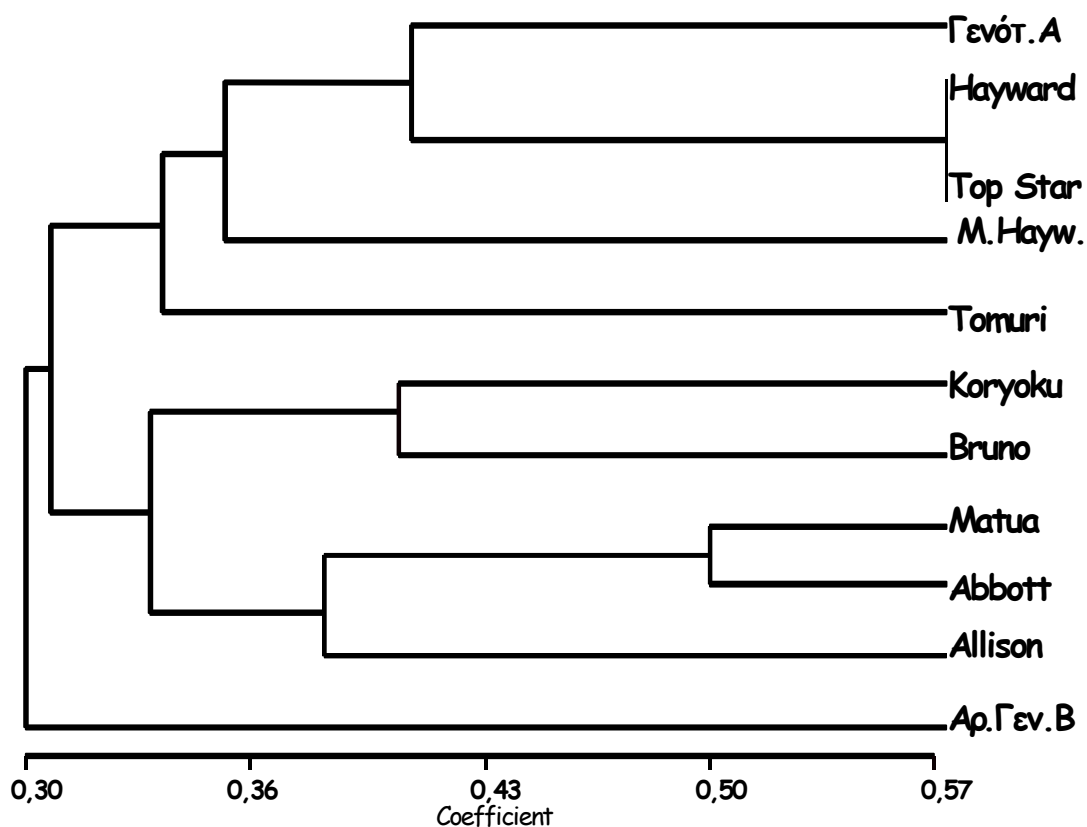
Επίσης με συνδυασμό των αποτελεσμάτων για το σύνολο των εκκινήτων που εξετάστηκαν κατέστη εφικτή η ταυτοποίηση και ο διαχωρισμός των γενοτύπων (Εικόνα 6.1.1). Όπως φάνηκε, μια ομάδα τριών εκκινήτων ήταν αρκετή, ώστε να διαχωρίσει πλήρως και τους 11 γενοτύπους.

Σύμφωνα με την ομαδοποίηση κατά UPGMA, και τον δείκτη ομοιότητας κατά Jaccard, οι γενότυποι κατατάχθηκαν σε τέσσερις κατηγορίες (Διάγραμμα 6.1.2).



Εικόνα 6.1.1. Ταυτοποίηση των γενοτύπων του είδους *A. deliciosa* βάσει των αναγραφόμενων δεικτών

Πρέπει να τονιστεί ότι εκτός από την ομαδοποίηση κατά UPGMA, δοκιμάστηκε και η ομαδοποίηση κατά NJ, η οποία όμως έδωσε μικρότερες τιμές του συντελεστή συσχέτισης. Πάντως η ομαδοποίηση κατά NJ χρησιμοποιείται τις περισσότερες φορές σε σχέση με την UPGMA παρά τις μικρότερες τιμές του συντελεστή συσχέτισης, διότι αυτή η μέθοδος είναι λιγότερο ευαίσθητη σε μεταλλάξεις που προκαλούν παραλλακτικότητα (Katsiotis et al., 2003).



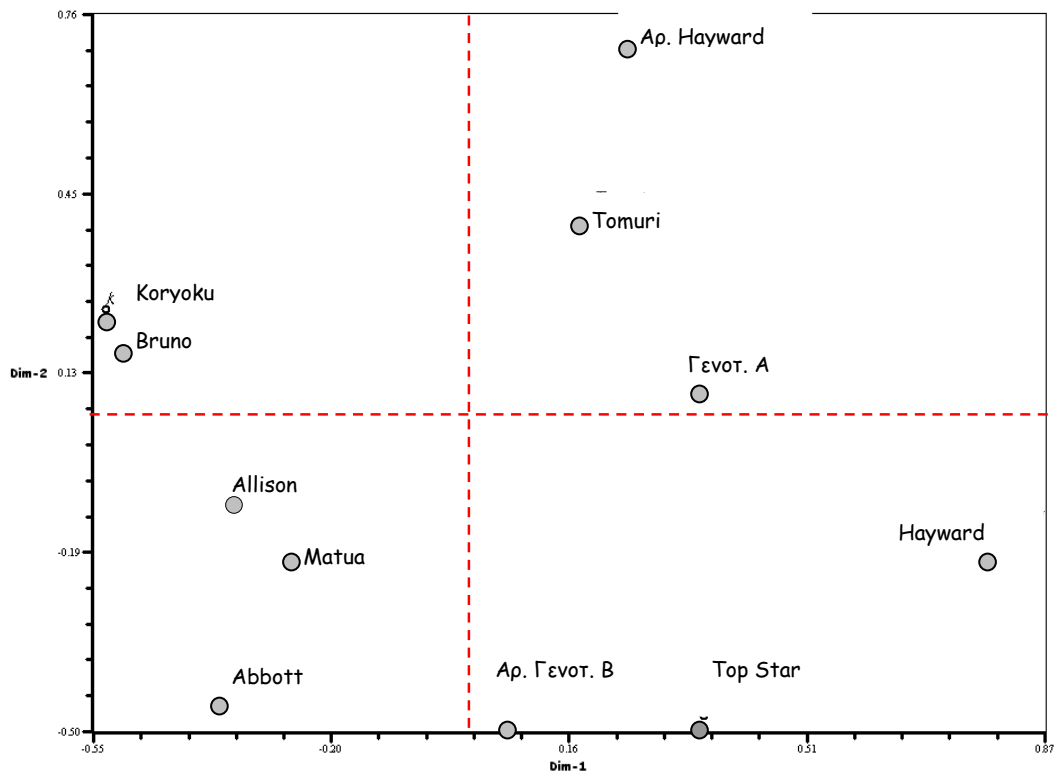
Εικόνα 6.1.2. Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων κατά Jaccard μεταξύ γενοτύπων του είδους *Actinidia deliciosa* και ομαδοποίηση με τη μέθοδο UPGMA ($r=0.75$)

Η τιμή του συντελεστή συσχέτισης ($r=0,75$) ήταν αρκετά υψηλή, δεδομένου ότι με αντίστοιχη εφαρμογή μικροδορυφόρων στο ρύζι (Ravi et al., 2003) η τιμή αυτή ήταν 0,582. Στο ακτινίδιο με εφαρμογή μικροδορυφόρων σε είδη του γένους *Actinidia* η τιμή του συντελεστή συσχέτισης ήταν παρόμοια (Κορκόβελος κ.α., 2004). Σε άλλη έρευνα κατά την οποία συγκρίνονταν η διακριτική ικανότητα τριών διαφορετικών κατηγοριών δεικτών (RAPD's, AFLP's και SSR's) για τον προσδιορισμό γενετικών σχέσεων στην ελιά οι συντελεστές συσχέτισης ήταν $r = 0,67$, $0,66$ και $0,76$ αντίστοιχα (Belaj et al., 2002). Πάντως έχουν αναφερθεί και μεγαλύτερες τιμές του συντελεστή

συσχέτισης όπως με εφαρμογή των RAPD και AFLP δεικτών στην φυσικιά για την οποία ήταν 0,987 και 0,982 αντίστοιχα (Katsiotis et al., 2003). Οι γενότυποι Top Star και Hayward βρέθηκαν να είναι στενά συγγενικές, κάτι που επιβεβαιώνεται και από την προέλευση της πρώτης, αφού αποτελεί οφθαλμική μετάλλαξη της Hayward (Ferguson 1999). Επιπλέον στην ίδια ομάδα κατατάχθηκαν ο Γενότυπος A όπως αναμενόταν αφού αποτελεί σποροφυτική επιλογή της Hayward, καθώς επίσης και οι επικονιαστές της τελευταίας Tomuri και M.Hayward. Οι Abbott και Allison έχουν κοινή καταγωγή (Ferguson 1999) και αυτό επιβεβαιώθηκε, αφού μαζί με την Matua αποτέλεσαν την δεύτερη ομάδα. Η Koryoku, η οποία αποτελεί προϊόν ανοικτής επικονίασης της ποικιλίας Hayward (Ferguson 1999) εντάχθηκε σε μια τρίτη ομάδα μαζί με την Bruno, ενώ ο Γενότυπος B (♂) βρέθηκε απομακρυσμένος γενετικά από τους υπόλοιπους γενοτύπους κάτι που επιβεβαιώνεται και από τα ιδιαίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά που τον περιγράφουν. Οι ομάδες που διαμορφώθηκαν επιβεβαιώνονται και από τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που αντιστοιχούν στους γενοτύπους, καθώς οι ποικιλίες Abbott και Allison δίνουν καρπούς που ομοιάζουν (πεπλατυσμένους στην βάση), ενώ και οι Koryoku και Bruno έχουν καρπούς με παρόμοια χαρακτηριστικά (επίμηκες σχήμα καρπού).

Η ομαδοποίηση με την ανάλυση κύριων συντεταγμένων (PCOORDA) εξηγούσε το 33% της διακύμανσης και κατέταξε με ανάλογο τρόπο τους γενοτύπους, σε τέσσερις κατηγορίες (Εικόνα 6.1.3). Η τιμή της διακύμανσης (33%) που εξηγούσε η ανάλυση είναι αρκετά μεγάλη σε σύγκριση με πειράματα στο βαμβάκι με εφαρμογή RAPD δεικτών (Linos et al., 2002), κατά την οποία η PCOORDA σε δύο κύριες συνιστώσες εξηγούσε μόνο το 24,48% της διακύμανσης. Εντούτοις, στην φυσικιά οι δύο κύριες συνιστώσες της PCOORDA από εφαρμογή RAPDs και AFLPs για εκτίμηση των φυλογενετικών

σχέσεων εξηγούσε την διακύμανση κατά 47,99 και 47,91% αντίστοιχα (Katsiotis et al., 2003).



Εικόνα 6.1.3. Η pcoroada σε δύο κύριες συνιστώσες που εξηγούσε την διακύμανση κατά 33 %

6.2 Αποτελέσματα Φυσικοχημικών Αναλύσεων

Η ανάλυση της παραλλακτικότητας των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών για επίπεδο σημαντικότητας 5% κατά την πρώτη αποθήκευση σε κοινό ψυγείο μέχρι την ωρίμανση των καρπών έδειξε ότι το μόνο χαρακτηριστικό για το οποίο δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ήταν η παράμετρος πλάτος/ύψος του καρπού (Πίνακας 6.2.1). Εντούτοις η ποικιλία Bruno είχε την μικρότερη τιμή σ' αυτό το χαρακτηριστικό, κάτι που επιβεβαιώνεται και από την ιδιαίτερα κυλινδρική μορφή του καρπού της (Δημουλάς 1988). Ο Γενότυπος A, είχε το μεγαλύτερο μέγεθος και βάρος καρπού, με μεγάλη διαφορά μάλιστα από τους άλλους, ενώ ακολούθησαν διαδοχικά οι Hayward, Allison, Abbott και Bruno αντίστοιχα. Μάλιστα η μέση τιμή του βάρους (187,27 gr) για τον Γενότυπο A είναι ιδιαίτερα υψηλή αν ληφθεί υπόψη ότι οι μεγαλύτεροι καρποί της Hayward που έχουν παρατηρηθεί είναι 150 gr. Ένας άλλος παράγοντας που παίζει μεγάλο ρόλο στην γευστική αποδοχή του κοινού για το ακτινίδιο είναι η αναλογία των σακχάρων προς τα οξέα (Jaeger et al., 2003). Για τα διαλυτά στερεά συστατικά, η ποικιλία Bruno εμφάνισε την μεγαλύτερη τιμή, με μεγάλη μάλιστα διαφορά από τους υπόλοιπους γενοτύπους, ενώ η τιμή της ίδιας παραμέτρου για τον Γενότυπο A μόλις ξεπερνούσε το ποσοστό (12%) που πρέπει να έχει ένας καρπός ακτινιδίου, ώστε να είναι αρκετά αποδεκτός από τους καταναλωτές. Μάλιστα ο συνδυασμός αυτής της πολύ χαμηλής τιμής με την αρκετά μεγάλη ολική οξύτητα σε σχέση με τους υπόλοιπους γενοτύπους, διαφοροποιούν τον Γενότυπο A αρκετά ως προς αυτά τα χαρακτηριστικά που καθορίζουν εν πολλοίς την γεύση του καρπού. Η αποδοχή του καρπού καθορίζεται αρκετά και από την αντοχή στην πίεση (Jaeger et al., 2003), η οποία όμως εκτός της ποικιλίας Allison δεν διέφερε στατιστικώς σημαντικά για τους υπόλοιπους γενοτύπους, καθώς οι μετρήσεις έγιναν σε ώριμους καρπούς. Το ξηρό βάρος της ποικιλίας Hayward συμφωνούσε με μετρήσεις

Πίνακας 6.2.1. Ανάλυση της παραλλακτικότητας των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών σε επίπεδο σημαντικότητας 5% μετά από αποθήκευση στους 8° C για 20 ημέρες

| Ποικιλία | Βάρος Καρπού | Αντοχή στην πίεση | Διαλυτά Στερεά | Ξηρό Βάρος | pH | Πλάτος / Ύψος | Μήκος / Πλάτος | Ολική Οξύτητα |
|----------|---------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | gr | kg | % | % | | | | % |
| Μονάδες | | | | | | | | |
| Hayward | 111,77 ^b | 1,15 ^a | 14,25 ^c | 17,38 ^b | 3,22 ^b | 1,12 ^a | 1,24 ^a | 1,55 ^a |
| Abbott | 65,68 ^a | 1,20 ^a | 13,62 ^b | 17,25 ^b | 3,17 ^b | 1,12 ^a | 1,49 ^c | 1,71 ^a |
| Γενοτ. A | 187,27 ^c | 1,37 ^a | 12,17 ^a | 14,72 ^a | 2,98 ^a | 1,14 ^a | 1,38 ^b | 2,07 ^b |
| Allison | 69,87 ^a | 1,72 ^b | 15,10 ^d | 18,94 ^c | 3,25 ^b | 1,12 ^a | 1,50 ^c | 1,70 ^a |
| Bruno | 65,57 ^a | 1,12 ^a | 16,32 ^e | 19,91 ^c | 3,25 ^b | 1,09 ^a | 1,77 ^d | 1,66 ^a |
| M.O. ±ΤΣ | 100,02±3,32 | 1,31±0,095 | 14,29±0,19 | 17,64±0,51 | 3,17±0,04 | 1,12±0,019 | 1,48±0,018 | 1,74±0,07 |
| F-test | * | * | * | * | * | Ns | * | * |
| ΕΣΔ | 9,79 | 0,28 | 0,54 | 1,49 | 0,18 | 0,055 | 0,053 | 0,20 |

Πίνακας 6.2.2. Ανάλυση της παραλλακτικότητας των μέσων όρων των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των πέντε ποικιλιών για επίπεδο σημαντικότητας 5% για τις δύο περιόδους σε συντήρηση με απορρόφηση αιθυλενίου (έναν και δύο μήνες)

| Ποικιλία | Βάρος Καρπού | Αντοχή στην πίεση | Διαλυτά Στερεά | Ξηρό Βάρος | pH | Πλάτος / Ύψος | Μήκος / Πλάτος | Ολική Οξύτητα |
|----------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | gr | kg | % | % | | | | % |
| Μονάδες | | | | | | | | |
| Hayward | 112,13 ^b | 0,95 ^d | 14,32 ^c | 16,13 ^b | 3,16 ^b | 1,14 ^a | 1,23 ^a | 1,62 ^b |
| Abbott | 68,54 ^a | 0,88 ^c | 14,02 ^b | 16,51 ^b | 3,12 ^{ab} | 1,14 ^a | 1,47 ^c | 1,52 ^a |
| Γενοτ. A | 175,22 ^c | 0,78 ^b | 12,86 ^a | 14,11 ^a | 3,07 ^a | 1,14 ^a | 1,40 ^b | 1,75 ^c |
| Allison | 66,21 ^a | 0,74 ^{ab} | 14,86 ^d | 16,21 ^b | 3,14 ^{ab} | 1,12 ^a | 1,52 ^c | 1,76 ^c |
| Bruno | 66,21 ^a | 0,69 ^a | 15,95 ^e | 17,52 ^c | 3,17 ^b | 1,14 ^a | 1,72 ^d | 1,49 ^a |
| M.O. ±ΤΣ | 97,66±1,86 | 0,81±0,023 | 14,4±0,08 | 16,09±0,25 | 3,13±0,026 | 1,13±0,017 | 1,47±0,021 | 1,63±0,027 |
| F-test | * | * | * | * | * | Ns | * | * |
| ΕΣΔ | 5,29 | 0,065 | 0,23 | 0,71 | 0,076 | 0,049 | 0,058 | 0,078 |

Πίνακας 6.2.3. Ανάλυση της παραλλακτικότητας των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών σε επίπεδο σημαντικότητας 5% μετά από αποθήκευση 20 ημερών στους 8° C και 30 μέρες σε συντήρηση με απορρόφηση αιθυλενίου

| Ποικιλία | Βάρος Καρπού | Αντοχή στην πίεση | Διαλυτά Στερεά | Ξηρό Βάρος | pH | Πλάτος / Ύψος | Μήκος / Πλάτος | Ολική Οξύτητα |
|----------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| Μονάδες | gr | kg | % | % | | | | % |
| Hayward | 112,58 ^b | 1,09 ^b | 13,90 ^b | 16,62 ^b | 3,28 ^b | 1,14 ^a | 1,21 ^a | 1,70 ^{bc} |
| Abbott | 68,60 ^a | 1,10 ^b | 12,58 ^a | 16,71 ^b | 3,20 ^{ab} | 1,11 ^a | 1,45 ^{bc} | 1,61 ^{ab} |
| Γενοτ. A | 177,33 ^c | 0,99 ^{ab} | 12,37 ^a | 14,70 ^a | 3,12 ^a | 1,11 ^a | 1,41 ^b | 1,82 ^d |
| Allison | 70,83 ^a | 1,00 ^{ab} | 14,37 ^c | 16,26 ^b | 3,25 ^b | 1,12 ^a | 1,53 ^c | 1,78 ^{cd} |
| Bruno | 66,85 ^a | 0,88 ^a | 15,20 ^d | 17,76 ^c | 3,25 ^b | 1,14 ^a | 1,72 ^d | 1,58 ^a |
| M.O. ±TΣ | 99,24±2,70 | 1,02±0,04 | 13,68±0,11 | 16,41±0,30 | 3,22±0,03 | 1,13±0,025 | 1,46±0,032 | 1,70±0,035 |
| F-test | * | * | * | * | * | Ns | * | * |
| ΕΣΔ | 7,97 | 0,11 | 0,33 | 0,89 | 0,098 | 0,07 | 0,097 | 0,103 |

Πίνακας 6.2.4. Ανάλυση της παραλλακτικότητας των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών σε επίπεδο σημαντικότητας 5% μετά από αποθήκευση 20 ημερών στους 8° C και 60 μέρες σε συντήρηση με απορρόφηση αιθυλενίου

| Ποικιλία | Βάρος Καρπού | Αντοχή στην πίεση | Διαλυτά Στερεά | Ξηρό Βάρος | pH | Πλάτος / Ύψος | Μήκος / Πλάτος | Ολική Οξύτητα |
|----------|---------------------|-------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Μονάδες | gr | kg | % | % | | | | % |
| Hayward | 111,68 ^b | 0,81 ^c | 14,73 ^b | 15,63 ^b | 3,04 ^a | 1,13 ^a | 1,24 ^a | 1,55 ^a |
| Abbott | 68,48 ^a | 0,66 ^b | 15,45 ^c | 16,31 ^{ab} | 3,04 ^a | 1,16 ^a | 1,50 ^c | 1,43 ^a |
| Γενοτ. A | 177,10 ^c | 0,56 ^c | 13,35 ^a | 13,52 ^a | 3,02 ^a | 1,16 ^a | 1,40 ^b | 1,68 ^d |
| Allison | 61,58 ^a | 0,48 ^c | 15,35 ^c | 16,16 ^{ab} | 3,04 ^a | 1,11 ^a | 1,52 ^c | 1,74 ^b |
| Bruno | 65,57 ^a | 0,50 ^c | 16,70 ^d | 17,28 ^c | 3,09 ^a | 1,15 ^a | 1,71 ^d | 1,42 ^b |
| M.O. ±TΣ | 96,88±2,43 | 0,60±0,026 | 15,12±0,12 | 15,78±0,38 | 3,05±0,04 | 1,14±0,023 | 1,48±0,027 | 1,56±0,044 |
| F-test | * | * | * | * | Ns | Ns | * | * |
| ΕΣΔ | 7,15 | 0,077 | 0,39 | 1,12 | 0,12 | 0,069 | 0,079 | 0,132 |

προηγούμενων ερευνών (Burdon et al., 2004) ενώ το χαμηλότερο ποσοστό σε αυτήν την κατηγορία το καταλάμβανε ο Γενότυπος A. Δεδομένου ότι το ξηρό βάρος περιλαμβάνει τα διαλυτά (σάκχαρα) και αδιάλυτα στερεά (κυρίως άμυλο και δομικούς υδατάνθρακες) και ότι κατά την ωρίμανση, το άμυλο σχεδόν ολοκληρωτικά μετατρέπεται σε διαλυτά στερεά, αυξάνοντας το ποσοστό των τελευταίων (Richardson et al., 1997), παρατηρείται μια συμφωνία χαμηλού ποσοστού ξηρού βάρους και ποσοστού διαλυτών στερεών για τον Γενότυπο A. Τέλος, για την αναλογία του μήκους προς το πλάτος των καρπών που προσδιορίζει αρκετά και την ευαισθησία των καρπών στις μετασυλλεκτικές μεταχειρίσεις, η ποικιλία Hayward όπως αναμένονταν ήταν αυτή με την μικρότερη τιμή, ενώ και ο Γενότυπος A λάμβανε αρκετά μικρή τιμή σε σχέση με τις λοιπές ποικιλίες.

Όσον αφορά τις αποθηκεύσεις σε θάλαμο συντήρησης με απορρόφηση αιθυλενίου (Πίνακες 6.2.3 & 6.2.4) παρατηρείται ότι η κατάταξη των γενοτύπων ανάλογα με το βάρος δεν διαφοροποιείται σε σχέση με την αποθήκευση. Εκεί που υπάρχει διαφοροποίηση και φαίνεται η αλληλεπίδραση της ποικιλίας με το αποθηκευτικό περιβάλλον είναι η αντοχή στην πίεση αφού η Hayward που ήταν δεύτερη ως προς το χαρακτηριστικό αυτό, μετά από αποθήκευση 20 ημερών στους 8° C και 30 ημερών στον θάλαμο συντήρησης με απορρόφηση αιθυλενίου, έρχονταν με διαφορά πρώτη μετά από 60 μέρες στον θάλαμο. Η Allison φάνηκε πως επηρεάστηκε περισσότερο από την μακρά αποθήκευση και ότι έχει χαμηλή συντηρησιμότητα, αφού από τρίτη στην αποθήκευση των 30 ημερών κατετάγη τελευταία μετά από 60 ημέρες. Ως προς τα διαλυτά στερεά συστατικά η βασική διαφοροποίηση προέρχονταν από τη συμπεριφορά της Abbott που από τέταρτη κατά την αποθήκευση των 30 ημερών, ήρθε δεύτερη μετά από 60 ημέρες στον θάλαμο απορρόφησης αιθυλενίου. Όσον αφορά το ξηρό βάρος, αυτό μειώθηκε κάπως σε όλες τις ποικιλίες. Τέλος σημαντική ήταν η πτώση της οξύτητας του Γενοτύπου A

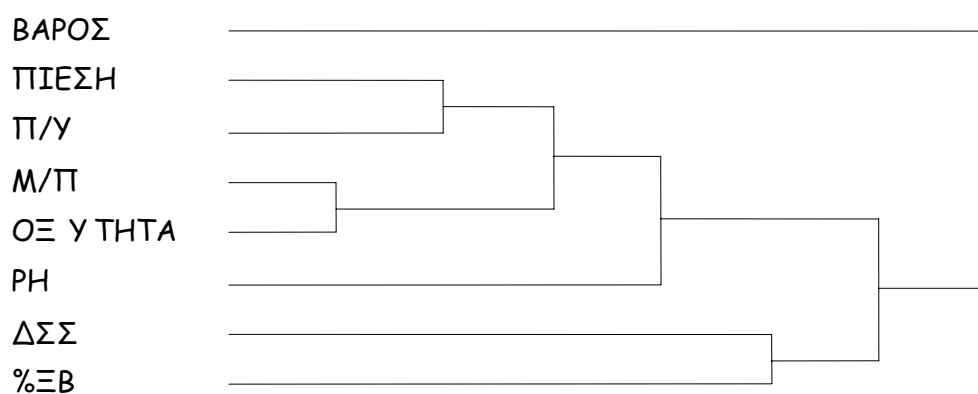
αφού είχε την υψηλότερη τιμή μετά από 30 μέρες αποθήκευση, ενώ η μόνη ποικιλία της οποίας η οξύτητα δεν μειώθηκε αρκετά ήταν η Allison η οποία από δεύτερη με ολική οξύτητα 1,78% μετά από 20 ημέρες στους 8° C και 30 ημέρες στον θάλαμο, ήρθε πρώτη (1,74%) μετά από το ίδιο διάστημα στους 8° C και 60 ημέρες σε θαλάμους συντήρησης με απορρόφηση αιθυλενίου.

Η μεγαλύτερη όμως σημασία για την εμπορική αξία των καρπών ακτινιδιάς, και ειδικά της ποικιλίας Hayward, δίνεται εξαιτίας της αποθηκευτικής ικανότητας των φρούτων. Ο Πίνακας 6.2.2 που απεικονίζονται μαζί τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και για τις δύο αποθηκευτικές περιόδους παρουσιάζεται η διαφοροποίηση στην σχετική φυσικοχημική συμπεριφορά των καρπών ως προς ορισμένες παραμέτρους.

Συγκεκριμένα, η ποικιλία Allison η οποία σε συντήρηση κοινού ψυγείου είχε την μεγαλύτερη αντοχή στην πίεση, βρέθηκε να είναι τέταρτη κατά σειρά μεταξύ των γενοτύπων σε συνθήκες αποθήκευσης σε θαλάμους συντήρησης με απορρόφηση αιθυλενίου. Η Hayward σε αυτή την περίπτωση αποθήκευσης είχε τις καλύτερες επιδόσεις ως προς το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό, κάτι που είναι λογικό αφού η μεγάλη καλλιεργητική και εμπορική της εξάπλωση, οφείλεται στην πολύ καλή δυνατότητα συντήρησης της. Ο Γενοτύπος A επίσης κατατάσσονταν τρίτος και αρκετά απομακρυσμένος από την Hayward αντίθετα από την πρώτη αποθηκευτική μεταχείριση στην οποία είχε μεγαλύτερη αντοχή στην πίεση από την τελευταία. Οι τιμές του Γενοτύπου A ως προς την αντοχή στην πίεση φαίνεται να βρίσκονται σε συμφωνία με παλιότερη θεώρηση, σε επίπεδο είδους, ότι μικρόκαρπα είδη είναι περισσότερο ανθεκτικά στο μαλάκωμα (White et al., 2005). Εντούτοις, η συμπεριφορά της Allison ως προς την αντοχή στην πίεση δεν επιβεβαιώνει την παραπάνω θεωρία, αφού παρά το μικρό της μέγεθος, μαλάκωσε γρήγορα. Άρα σε επίπεδο ποικιλιών εντός του είδους δεν φαίνεται να ισχύει εξ' ολοκλήρου η παραπάνω θεωρία. Ένα θετικό στην συμπεριφορά του

Γενοτύπου Α σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες είναι μια σχετική μείωση στην ολική οξύτητά του. Ενώ κατά την απλή αποθήκευση είχε με μεγάλη διαφορά την μεγαλύτερη τιμή, κατά την αποθήκευση σε θαλάμους απορρόφησης αιθυλενίου την ξεπέρασε η ποικιλία Allison αν και οι μέσοι όροι τους δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά. Η σχετική συμπεριφορά των γενοτύπων ως προς τις άλλες φυσικοχημικές παραμέτρους ήταν ίδια με αυτήν της αποθήκευσης σε ατμόσφαιρα κοινού ψυγείου.

Η ιεραρχική ανάλυση σε ομοειδή σύνολα (Cluster Analysis) με βάση τις τιμές όλων των αποθηκευτικών μεταχειρίσεων είχε ως αποτέλεσμα την ομαδοποίηση των φυσικοχημικών παραμέτρων (Εικόνα 6.2.1).

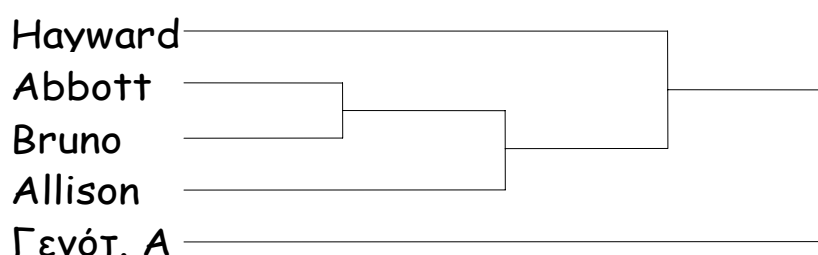


Εικόνα 6.2.1. Ταξινόμηση των φυσικοχημικών παραμέτρων σε ομοειδή σύνολα

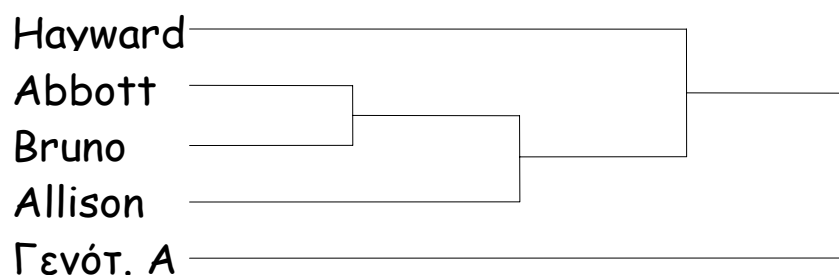
Με αυτήν την ανάλυση φαίνεται ξεκάθαρα η συσχέτιση μεταξύ των διαλυτών στερεών συστατικών και του ποσοστού του καρπού σε ξηρά ουσία. Επίσης η αντοχή στην πίεση φαίνεται να επηρεάζεται από το σχήμα και συγκεκριμένα από τον λόγο του πλάτους προς το ύψος των καρπών, κάτι που συμφωνεί με παλιότερα δεδομένα που ανέφεραν ότι το μαλάκωμα σε διάφορα είδη ακτινιδιάς σχετίζεται με το σχήμα και το μέγεθος του καρπού (White et al., 2005). Επιπλέον η ολική οξύτητα ομαδοποιήθηκε με την αναλογία μήκους

προς πλάτος του καρπού, ενώ η παράμετρος του βάρους του καρπού δεν ομαδοποιήθηκε σε καμιά από τις παραπάνω ομάδες.

Η Cluster Analysis με βάση τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της πρώτης (Εικόνα 6.2.2), δεύτερης, τρίτης (Παράρτημα) και των δύο τελευταίων αποθηκευτικών μεταχειρίσεων μαζί (Εικόνα 6.2.3) ταξινόμησε τους γενοτύπους κατά τον ίδιο τρόπο.



Εικόνα 6.2.2. Ταξινόμηση των εξεταζόμενων ποικιλιών ακτινιδίου σε ομοειδή σύνολα με βάση τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες κατά την πρώτη αποθηκευτική διαδικασία



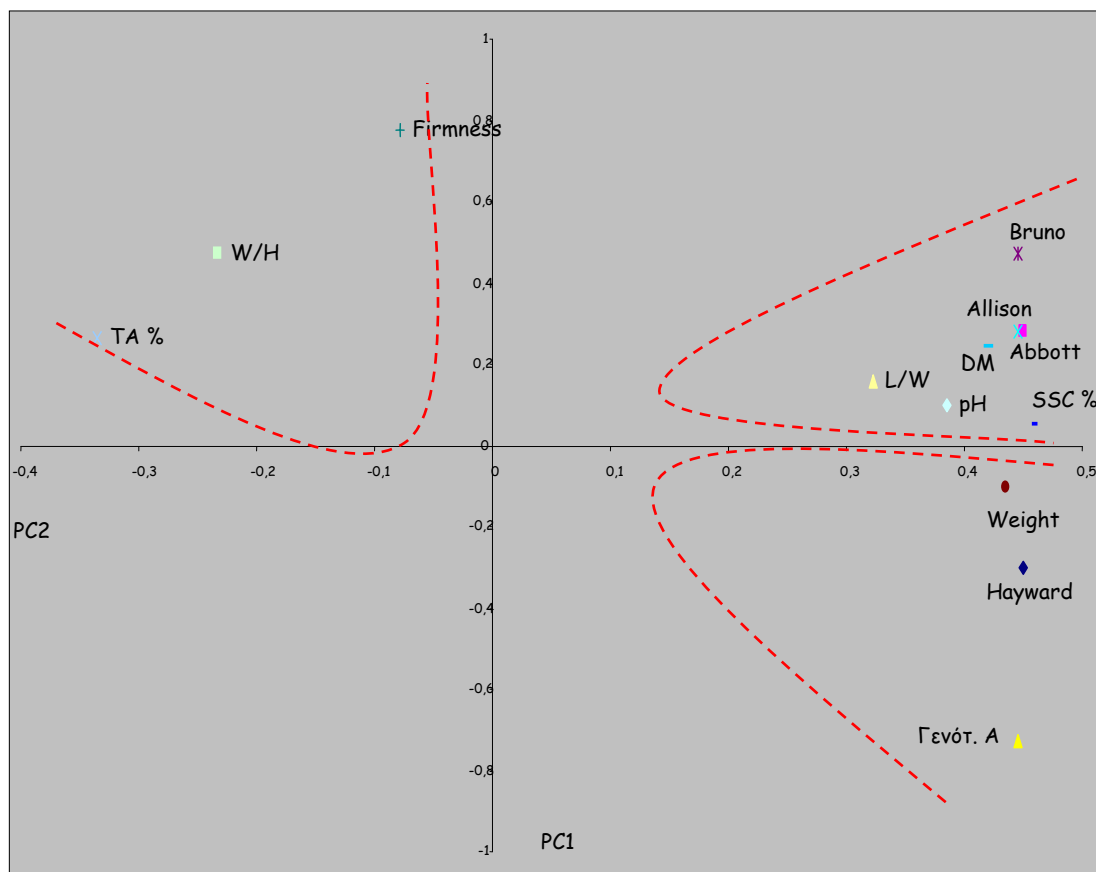
Εικόνα 6.2.3. Ταξινόμηση των εξεταζόμενων ποικιλιών ακτινιδίου σε ομοειδή σύνολα με βάση τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες κατά την δεύτερη και τρίτη αποθηκευτική διαδικασία

Οι Allison, Bruno και Abbott κατατάχθηκαν σε μια ομάδα με τις δύο τελευταίες να αποτελούν μια μικρότερη υποομάδα. Αυτή η κατάταξη φαίνεται να έρχεται σε μια συμφωνία με τα αποτελέσματα και της μοριακής ανάλυσης, όπου οι Allison και Abbott βρέθηκαν να είναι στενά συγγενικές. Η Hayward

επίσης μπορεί να καταταχθεί σε ένα γενικότερο σύνολο με τις προηγούμενες τρεις ποικιλίες, ενώ ο Γενότυπος A κατατάχθηκε μόνος του. Αυτό ήταν αναμενόμενο αν ληφθούν υπόψη οι αποκλίνουσες, σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες, τιμές που έλαβαν οι φυσικοχημικές του παράμετροι, όμως δεν ήταν αναμενόμενο με βάση την μοριακή ανάλυση στην οποία, ως συνέπεια της προέλευσής του κατατάχθηκε μαζί με την ποικιλία Hayward.

Η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (Principal Component Analysis) για τη φυσικοχημική εξέταση, καταδεικνύει ότι πρακτικά απαιτούνται τρεις κύριες συνιστώσες προκειμένου να εξηγηθεί το 99,9 % της συνολικής παραλλακτικότητας. Η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες έγιναν για όλες τις αποθηκεύσεις ξεχωριστά, για τις τρεις αποθηκεύσεις μαζί, ενώ πραγματοποιήθηκε και μια ανάλυση η οποία περιελάμβανε συνδυασμό των οργανοληπτικών με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (Βλέπε Παράρτημα).

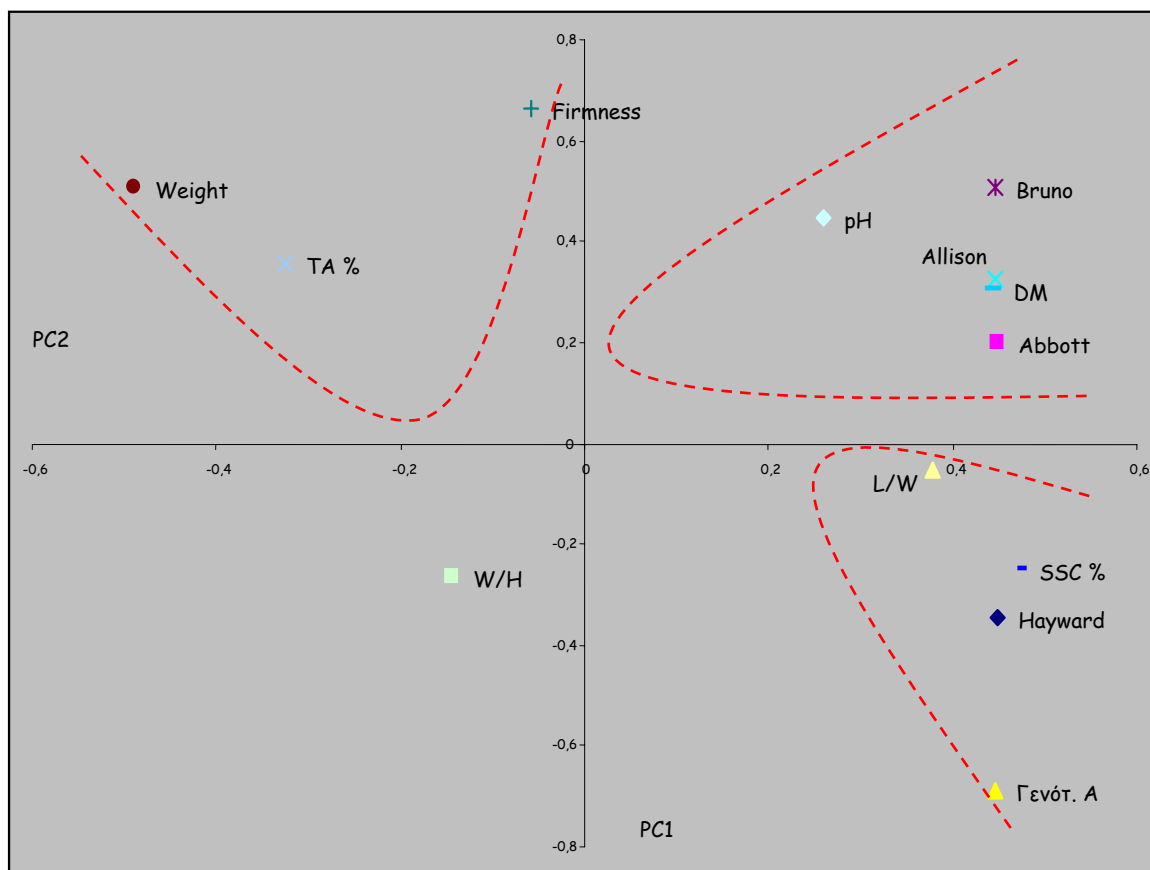
Η διαγραμματική παράσταση έγινε με συνδυασμό των συνιστωσών ανά δύο. Με βάση τις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες των ποικιλιών και χαρακτηριστικών για την ανάλυση της πρώτης αποθηκευτικής μεταχείρισης (Εικόνα 6.2.4), βρέθηκε το άθροισμα των οποίων εξηγούσε την διακύμανση κατά 99% για τις ποικιλίες και 66% για τα χαρακτηριστικά κατέστη δυνατή η ομαδοποίηση των γενότυπων σε σχέση με κάποια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Οι γενότυποι Allison, Bruno και Abbott βρέθηκαν να ομαδοποιούνται μαζί με βάση το pH, το ποσοστό του καρπού σε ξηρή ουσία (DM), τον λόγο του μήκους προς το πλάτος του καρπού (L/W), καθώς επίσης και ως προς την περιεκτικότητα του καρπού σε διαλυτά στερεά συστατικά (SSC), κάτι που φαίνεται και από την σύγκριση των μέσων όρων τους (Πίνακας 6.2.1.). Οι δύο εναπομένουσες ποικιλίες, η Hayward και ο Γενότυπος A μπορούσαν να ομαδοποιηθούν μόνο με βάση το βάρος του καρπού τους (Weight), που είναι λογικό αν αναλογιστούμε ότι ήταν οι μεγαλύτεροι καρποί. Τα χαρακτηριστικά ολική οξύτητα, αντοχή στην πίεση



Εικόνα 6.2.4. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών για την πρώτη αποθηκευτική μεταχείριση που εξηγούσε την διακύμανση κατά 99% για τις ποικιλίες και 66% για τα χαρακτηριστικά

και ο λόγος του πλάτους προς το ύψος του καρπού ομαδοποιήθηκαν ξεχωριστά από όλες τις ποικιλίες και τις λοιπές φυσικοχημικές παραμέτρους. Η ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες και για τις τρεις αποθηκευτικές μεταχειρίσεις μαζί, που εξηγούσε την διακύμανση κατά 99% για τις ποικιλίες και 62% για τα χαρακτηριστικά, κατέταξε ποικιλίες και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά με τρόπο παρόμοιο της ανάλυσης της πρώτης αποθήκευσης (Εικόνα 6.2.5). Οι ποικιλίες Allison, Bruno και Abbott μπορούσαν να ομαδοποιηθούν με βάση το ποσοστό σε ξηρή ουσία και το pH. Η ποικιλία Hayward και ο Γενότυπος A ομαδοποιούνταν μαζί με βάση το λόγο του μήκους ως προς το πλάτος του καρπού και το ποσοστό (%) σε διαλυτά στερεά συστατικά. Το βάρος, η ολική οξύτητα και η αντοχή στην πίεση σχημάτιζαν

μια ομάδα που δεν περιελάμβανε κάποια από τις ποικιλίες, ενώ η παράμετρος
ΤΟΥ



Εικόνα 6.2.5. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών και για τις τρεις αποθηκευτικές μεταχειρίσεις που εξηγούσε την διακύμανση κατά 99% για τις ποικιλίες και 62% για τα χαρακτηριστικά

πλάτους προς το ύψος του καρπού δεν μπορούσε να καταταχθεί σε κάποια από τις παραπάνω κατηγορίες.

6.3 Αποτελέσματα οργανοληπτικών αναλύσεων

Η ανάλυση της παραλλακτικότητας για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Πίνακες 6.3.1 και 6.3.2) έδειξε ότι οι ποικιλίες για κάποιες παραμέτρους διέφεραν μεταξύ τους. Συγκεκριμένα για την κατηγορία της εξωτερικής εμφάνισης ο Γενότυπος A είχε μεγάλη διαφορά από τους υπόλοιπους αφού χαρακτηρίζονταν από πολύ σκούρο καφέ χρώμα. Όσον αφορά το χρώμα της σάρκας η ποικιλία Bruno είχε το βαθύτερο πράσινο χρώμα ενώ οι Allison και Hayward το περισσότερο ανοικτό. Στις προσδιοριστικές παραμέτρους της γεύσης στις περισσότερες δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών. Σε μερικές από αυτές όμως τα αποτελέσματα έρχονταν σε πλήρη συμφωνία με αυτά που αναμένονταν από τις φυσικοχημικές αναλύσεις. Όσον αφορά την γλυκύτητα του καρπού η βαθμολογία της ποικιλίας Bruno αν και δεν διέφερε στατιστικώς σημαντικά από αυτές των άλλων ποικιλιών, ήταν η υψηλότερη, κάτι που συμφωνεί απόλυτα με το μεγαλύτερο ποσοστό διαλυτών στερεών συστατικών που συνολικά είχε η συγκεκριμένη ποικιλία. Αντίθετα οι ποικιλίες Γενότυπος A και Abbott που είχαν το μικρότερο ποσοστό σακχάρων, ήταν και οι λιγότερο γλυκές σύμφωνα με την βαθμολόγηση των δοκιμαστών. Ακόμη και στην κατηγορία της όξινης γεύσης ο Γενότυπος A και η Allison, που είχαν το μεγαλύτερο ποσοστό ολικής οξύτητας στις φυσικοχημικές αναλύσεις, είχαν την εντονότερη αίσθηση οξύτητας. Επιπλέον η Bruno δημιούργησε στους δοκιμαστές την αίσθηση της μουχλιασμένης γεύσης, περισσότερο από τις άλλες ποικιλίες, κάτι που πιθανώς να σχετίζεται με την αντοχή στην πίεση αφού το έντονο μαλάκωμα του καρπού (υπερωρίμανση) ίσως να προκαλεί γεύση αλλοίωσης του καρπού. Αυτό φαίνεται και από την τελευταία θέση της ποικιλίας Hayward σε αυτή την κατηγορία, αφού ήταν η περισσότερο ανθεκτική στο μαλάκωμα. Η μόνη κατηγορία στην οποία υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές για την κατηγορία της γεύσης ήταν αυτή της

Πίνακας 6.3.1. Ανάλυση της παραλλακτικότητας των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών της εμφάνισης και γεύσης σε επίπεδο σημαντικότητας 5% και για τις τρεις αποθηκεύσεις

| Ποικιλία | Εξ. Εμφάνιση | Εσ. Εμφάνιση | Μεταλλική | Στυφή | Ώξινη | Γλυκιά | Χορτώδης | Μουχλιασμένη | Παραμένουσα | Προσκόλληση | Χυμώδης |
|-------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| Hayward | 2,36 ^{ab} | 1,88 ^a | 2,58 ^a | 2,43 ^a | 2,97 ^a | 2,67 ^a | 2,20 ^a | 1,30 ^a | 3,26 ^a | 1,88 ^{ab} | 3,32 ^a |
| Abbott | 2,56 ^{ab} | 2,71 ^{ab} | 2,50 ^a | 2,26 ^a | 3,17 ^a | 2,44 ^a | 2,09 ^a | 1,42 ^a | 2,86 ^a | 2,02 ^{ab} | 3,59 ^a |
| Γενότυπος A | 3,36 ^b | 2,60 ^{ab} | 2,64 ^a | 2,41 ^a | 3,37 ^a | 2,56 ^a | 2,20 ^a | 1,42 ^a | 3,16 ^a | 2,10 ^b | 3,58 ^a |
| Allison | 2,00 ^a | 1,73 ^a | 2,64 ^a | 2,26 ^a | 3,03 ^a | 2,80 ^a | 2,57 ^a | 1,37 ^a | 2,97 ^a | 1,53 ^a | 3,10 ^a |
| Bruno | 2,38 ^{ab} | 3,19 ^b | 2,56 ^a | 2,42 ^a | 2,74 ^a | 3,40 ^a | 2,43 ^a | 1,46 ^a | 2,73 ^a | 1,77 ^{ab} | 3,31 ^a |
| M.O.±ΤΣ | 2,53±0,33 | 2,42±0,36 | 2,58±0,17 | 2,36±0,32 | 3,06±0,32 | 2,77±0,42 | 2,30±0,28 | 1,39±0,15 | 2,99±0,17 | 1,86±0,15 | 3,38±0,18 |
| F-test | * | * | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns | * | ns |
| ΕΣΔ | 1,072 | 1,16 | 0,55 | 1,05 | 1,05 | 1,38 | 0,9 | 0,49 | 0,54 | 0,48 | 0,59 |

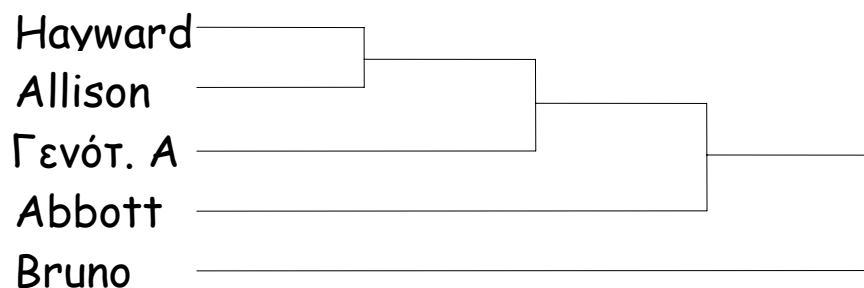
Πίνακας 6.3.2. Ανάλυση της παραλλακτικότητας των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών της οσμής, συνεκτικότητας και συνολικής εντύπωσης σε επίπεδο σημαντικότητας 5% και για τις τρεις αποθηκεύσεις

| Ποικιλία | Οσμή | Ξυλώδης Οσμή | Ευκολία Διάλυσης | Ινώδης Δομή | Ζελατινώδης Δομή | Τραγανότητα | Συνολική Εντύπωση |
|-------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| Hayward | 2,72 ^a | 2,07 ^a | 3,26 ^{ab} | 3,28 ^{ab} | 3,00 ^a | 3,53 ^c | 3,86 ^a |
| Abbott | 2,10 ^a | 2,47 ^a | 3,48 ^b | 2,50 ^a | 3,18 ^a | 3,03 ^{bc} | 3,13 ^a |
| Γενότυπος A | 2,11 ^a | 2,01 ^a | 3,39 ^{ab} | 3,30 ^b | 2,97 ^a | 2,84 ^{ab} | 3,34 ^a |
| Allison | 2,14 ^a | 2,30 ^a | 2,92 ^a | 2,98 ^{ab} | 2,83 ^a | 3,13 ^{bc} | 3,38 ^a |
| Bruno | 2,58 ^a | 2,06 ^a | 3,60 ^b | 2,68 ^{ab} | 2,97 ^a | 2,27 ^a | 3,13 ^a |
| M.O. ±ΤΣ | 2,33±0,38 | 2,18±0,22 | 3,33±0,14 | 2,95±0,23 | 2,99±0,16 | 2,96±0,19 | 3,37±0,25 |
| F-test | ns | ns | * | * | ns | * | ns |
| ΕΣΔ | 1,25 | 0,71 | 0,47 | 0,74 | 0,53 | 0,61 | 0,82 |

προσκόλλησης της σάρκας του καρπού στα δόντια με τον Γενότυπο A να έχει εντονότερο το χαρακτηριστικό αυτό και τις Abbott, Hayward, Bruno και Allison να ακολουθούν διαδοχικά.

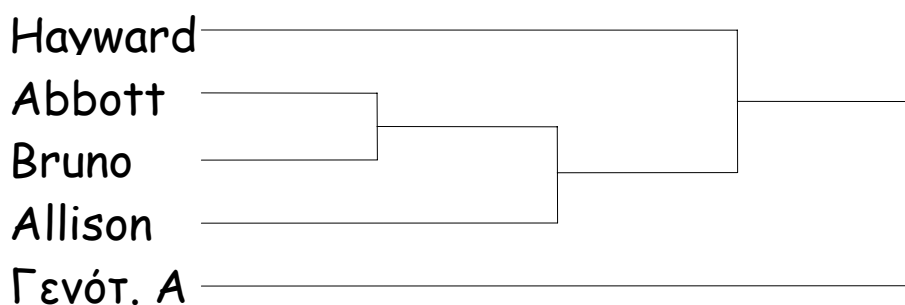
Στην κατηγορία της οσμής δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές αν και η Hayward προκαλούσε την εντονότερη οσφρητική αίσθηση, ενώ ο Γενότυπος A είχε την μικρότερη ξυλώδη οσμή, πράγμα σημαντικό για την καταναλωτική καθιέρωση της ποικιλίας.

Όσον αφορά την κατηγορία της συνεκτικότητας της σάρκας, σε όλες τις παραμέτρους, πλην της ζελατινώδους δομής, υπήρχαν διαφορές στατιστικώς σημαντικές μεταξύ των ποικιλιών. Η Bruno ήταν η ποικιλία που διαλύονταν πιο εύκολα από όλες και η τραγανότητά της υπολείπονταν των άλλων ποικιλιών, κάτι που επίσης μπορεί να οφείλεται στην έντονη τάση της να μαλακώνει γρηγορότερα. Ένα διαφαινόμενο αρνητικό στοιχείο στην εμπορική αποδοχή του Γενοτύπου A ήταν η έντονη ινώδης δομή του, αυτό όμως μπορεί και να μην διαδραματίζει τόσο σημαντικό ρόλο αν συνυπολογίσουμε το γεγονός ότι η πλέον διαδεδομένη ποικιλία, η Hayward, είχε παρόμοια τιμή με τον Γενότυπο A ως προς αυτό το χαρακτηριστικό. Συνολικά, αν και οι διαφορές της αξιολόγησης δεν ήταν σημαντικές, η ποικιλία Hayward επιβεβαίωσε την αποδοχή της από τους δοκιμαστές. Πάντως και νέες ποικιλίες, όπως ο Γενότυπος A έκαναν αρκετά καλή εντύπωση και ξεπέρασαν ήδη καθιερωμένες καλλιεργούμενες ποικιλίες, όπως η Abbott, γεγονός που δείχνει ότι πιθανή είσοδός του σε καλλιέργεια εμπορικής κλίμακας, θα μπορούσε να υποσκελίσει ορισμένους γενοτύπους, αν αυτό συνδυαστεί και με άλλους παράγοντες, όπως η καλή αποθηκευτική ικανότητα και η ύπαρξη κατάλληλων επικονιαστών. Η ιεραρχική ανάλυση σε ομοειδή σύνολα (Cluster Analysis) των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών κατέταξε τα τελευταία σε πέντε ομάδες (Εικόνα 6.3.1). Στην πρώτη ομάδα ομαδοποιήθηκαν τα χαρακτηριστικά της εμφάνισης (εσωτερικό και εξωτερικό χρώμα) και η



Εικόνα 6.3.2. Ταξινόμηση των εξεταζόμενων ποικιλιών ακτινιδίου σε ομοειδή σύνολα με βάση τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά

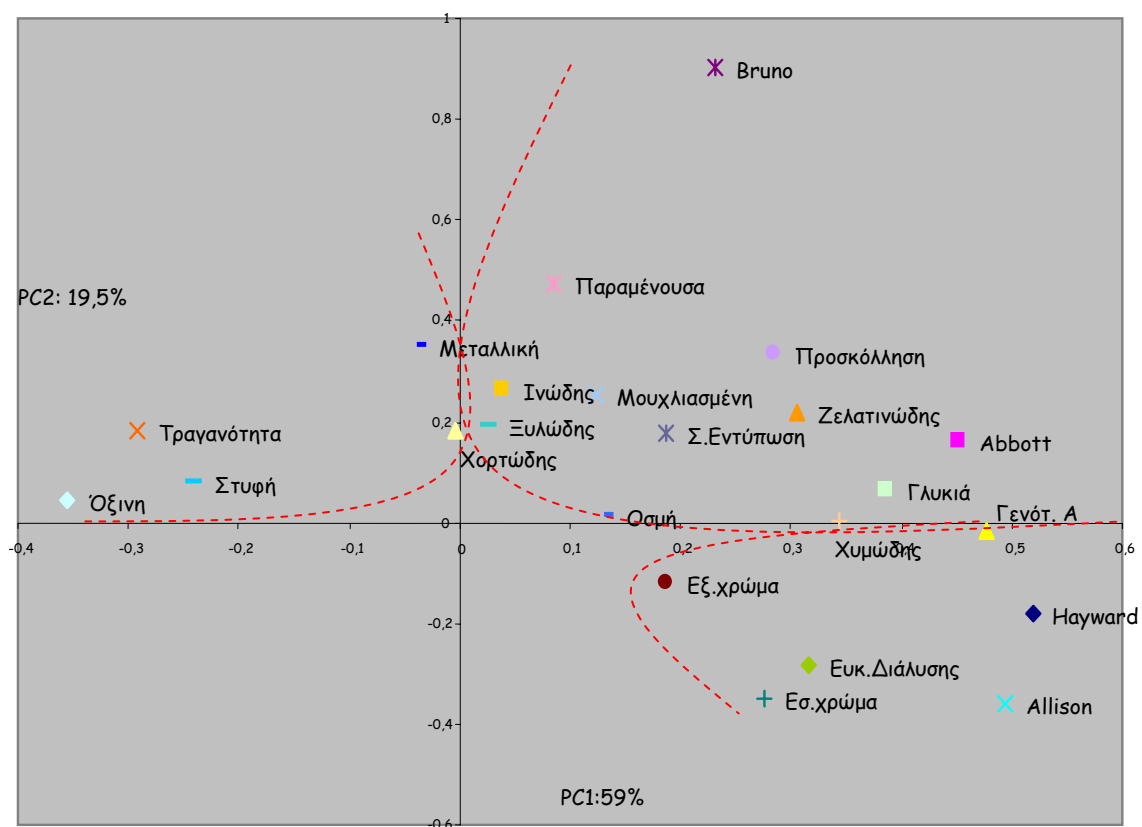
Συγκεκριμένα, η Hayward ομαδοποιήθηκε μαζί με την Allison σε μια μικρή ομάδα, στην οποία όμως διαδοχικά μπορούν να προστεθούν ο Γενότυπος Α και η ποικιλία Abbott. Η Bruno βρέθηκε να κατατάσσεται μόνη της, κάτι που έρχεται σε αντίθεση με τις φυσικοχημικές ομοιότητες τις ποικιλίας αυτής με την ποικιλία Abbott κατά πρώτον και την Allison κατά δεύτερο λόγο. Εντούτοις, τα αποτελέσματα της Cluster Analysis εάν ληφθούν υπόψη τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Εικόνα 6.3.3) είναι διαφορετικά από την ανάλυση με βάση μόνο τις οργανοληπτικές παραμέτρους



Εικόνα 6.3.3. Ταξινόμηση των εξεταζόμενων ποικιλιών ακτινιδίου σε ομοειδή σύνολα με βάση τα οργανοληπτικά και φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά

και προσομοιάζει με την ανάλυση που έγινε μόνο με βάση τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά.

Η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες (Principal Component Analysis) για την οργανοληπτική εξέταση, καταδεικνύει όπως και για την φυσικοχημική ανάλυση ότι πρακτικά απαιτούνται τρεις κύριες συνιστώσες προκειμένου να εξηγηθεί το 89 % της συνολικής παραλλακτικότητας για τις ποικιλίες. Όμως η ανάλυση στις δύο πρώτες κύριες συνιστώσες που εξηγούσε την διακύμανση κατά 78% έδωσε την δυνατότητα να ομαδοποιηθούν οι ποικιλίες με βάση τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά (Εικόνα 6.3.4).



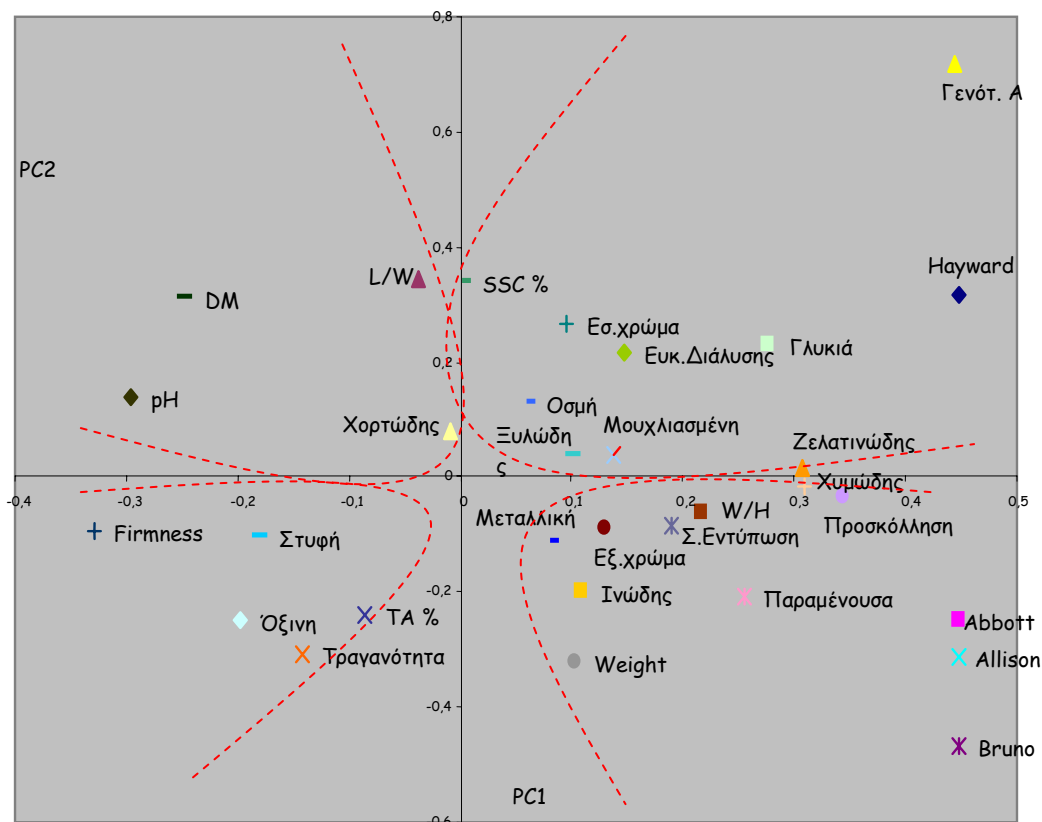
Εικόνα 6.3.4. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών που εξηγούσε την διακύμανση κατά 78% για τις ποικιλίες και 45,8% για τα χαρακτηριστικά

Το ποσοστό της διακύμανσης που εξηγούνταν ήταν παρόμοιο με αυτό που προέκυψε (73%) από οργανοληπτική εξέταση γενοτύπων ακτινιδιάς από

διάφορα είδη, στους οποίους περιλαμβάνονταν η ποικιλία Hayward και ορισμένες νέες κιτρινόσαρκες διπλοειδείς ποικιλίες (Jaeger et al., 2003).

Ο Γενότυπος A μπορούσε να ομαδοποιηθεί με την ποικιλία Hayward και την Allison ως προς το εσωτερικό και εξωτερικό τους χρώμα, και την ευκολία διάλυσής τους. Οι ποικιλίες Bruno και Abbott μπορούσαν να ομαδοποιηθούν με βάση τα χαρακτηριστικά της οσμής, της συνεκτικότητας πλην της τραγανότητας, της συνολικής εντύπωσης, καθώς επίσης και ορισμένων χαρακτηριστικών της γεύσης, στα οποία περιλαμβάνονταν η γλυκύτητα, η μουχλιασμένη αίσθηση, η χυμώδης αίσθηση, το κατά πόσο παραμένει το άρωμα της ποικιλίας μετά την βρώση και η προσκόλληση της σάρκας του καρπού στα δόντια. Τα χαρακτηριστικά της γεύσης που απομένουν, δηλαδή η μεταλλική, χορτώδης, όξινη και στυφή αίσθηση, ομαδοποιήθηκαν μαζί με την τραγανότητα της σάρκας του καρπού σε μια τέταρτη κατηγορία ανεξάρτητη από τις ποικιλίες.

Η ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες για τα οργανοληπτικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά μαζί που εξηγούσε την διακύμανση κατά 44% για τα χαρακτηριστικά και 99% για τις ποικιλίες κατέταξε τους γενοτύπους σε δύο ομάδες (Εικόνα 6.3.5). Η εν λόγω ανάλυση που αφορούσε τις ποικιλίες, βρέθηκε να συμφωνεί με την ανάλυση που έγινε για τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και στις τρεις αποθηκευτικές μεταχειρίσεις μαζί. Οι ποικιλίες Hayward και Γενότυπος A ομαδοποιήθηκαν μαζί με βάση την αναλογία των διαλυτών στερεών συστατικών. Οι οργανοληπτικές παράμετροι ομαδοποιήθηκαν με τα χαρακτηριστικά της ευκολίας διάλυσης και ζελατινώδους δομής, της οσμής (και τις δύο παραμέτρους), του εσωτερικού χρώματος της σάρκας του καρπού καθώς επίσης και με ορισμένα χαρακτηριστικά της γεύσης που ήταν η γλυκύτητα και η μουχλιασμένη αίσθηση. Οι Abbott, Allison και Bruno ομαδοποιούνταν με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του βάρους και του λόγου του πλάτους προς το ύψος του



Εικόνα 6.3.5. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των οργανοληπτικών, φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών και από τις τρεις αποθηκευτικές μεταχειρίσεις που εξηγούσε την διακύμανση κατά 44% για τα χαρακτηριστικά και 99% για τις ποικιλίες

καρπού. Επίσης μπορούσαν να καταταχθούν στην ίδια ομάδα με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του εξωτερικού χρώματος, της ινώδους δομής, της συνολικής εντύπωσης και τις παραμέτρους της γεύσης που αφορούσαν την προσκόλληση στα δόντια, την μεταλλική και παραμένουσα αίσθηση και το κατά πόσο ο καρπός θεωρείται χυμώδης. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του ποσοστού σε ξηρή ουσία, του λόγου του μήκους προς το πλάτος του καρπού και του pH, αποτελούσαν μια δεύτερη κατηγορία μαζί με την χορτώδη αίσθηση της γεύσης και ανεξάρτητα από τις ποικιλίες. Η δεύτερη ανεξάρτητη ομάδα από τους γενοτύπους προσδιορίζονταν από τις φυσικοχημικές παραμέτρους της αντοχής στην πίεση και την ολική οξύτητα, μαζί με τα χαρακτηριστικά της γεύσης που όριζαν την όξινη και στυφή γεύση

καθώς και την τραγανότητα του καρπού. Αυτή η διαφοροποίηση της κατάταξης των ποικιλιών ανάλογα με τις παραμέτρους που αναλύονται (φυσικοχημικές ή οργανοληπτικές ή και τις δύο μαζί) μπορεί να αποδοθεί στον περιορισμένο αριθμό επαναλήψεων των οργανοληπτικών εξετάσεων (3), καθώς επίσης και στο ότι η αίσθηση που δημιουργείται από την βρώση των καρπών είναι αποτέλεσμα πολλών παραγόντων εκτός από την αναμφισβήτητο ρόλο που διαδραματίζουν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της κάθε ποικιλίας.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι μοριακοί δείκτες μικροδορυφορικού DNA (SSR's) που χρησιμοποιήθηκαν, αποδείχθηκαν ιδιαίτερα αποτελεσματικοί αφού εμφάνισαν έντονους πολυμορφισμούς και υψηλή διακριτική ικανότητα για τους γενοτύπους ακτινιδίου που εξετάστηκαν. Το γεγονός αυτό επέτρεψε τη δημιουργία του μοριακού αποτυπώματος των γενοτύπων καθώς και την ταυτοποίηση τους.

Η εμφάνιση διακριτών ζωνών και η ενίσχυση περισσότερων των μία μικροδορυφορικών περιοχών, επιβεβαίωσαν την αλλοπολυπλοειδική προέλευση του γενώματος της ακτινιδιάς.

Από τη μοριακή ανάλυση που έγινε, παρατηρήθηκαν τέσσερις ομάδες συγγένειας με σχετικά μεγάλες γενετικές αποστάσεις μεταξύ τους, γεγονός που επιβεβαιώνει την ευρεία γενετική βάση των καλλιεργούμενων γενοτύπων. Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων επιβεβαιώθηκε με δύο μεθόδους ανάλυσης (PCORDA, UPGMA), οι οποίες ομαδοποίησαν τους γενοτύπους, βάση των γενετικών τους σχέσεων με παρόμοιο τρόπο.

Η ανάλυση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών έδειξε την υπεροχή της ποικιλίας Hayward μετά από αποθήκευση σε σχέση με τις υπόλοιπες εξεταζόμενες ποικιλίες. Η ποιοτική υποβάθμιση των ποικιλιών Bruno, Allison και Abbott κατά την αποθηκευτική διαδικασία δείχνει το συγκριτικό μειονέκτημα τους σε σχέση με την καθιερωμένη εμπιστοσύνη των παραγωγών ως προς την ποικιλία Hayward.

Ο Γενότυπος A, ο οποίος αποτελεί σποροφυτική διαλογή της Hayward, χαρακτηρίζεται από διακριτότητα όσον αφορά το μεγάλο μέγεθος και βάρος

των καρπών του. Η υψηλή περιεκτικότητα σε οξέα σε συνδυασμό με το σχετικά χαμηλό ποσοστό διαλυτών στερεών συστατικών στους καρπούς του, συνιστούν κάποιες αδυναμίες που θα πρέπει να βελτιωθούν για να επιτευχθεί η διάδοση της ποικιλίας και η εμπορική της χρήση.

Ο προσδιορισμός των οργανοληπτικών παραμέτρων έδειξε ότι γευστικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των ποικιλιών δεν υπήρχαν. Επομένως η εμπορική επικράτηση της ποικιλίας Hayward οφείλεται κυρίως στις καλές προδιαγραφές που εξακολουθεί να διατηρεί μετά τις μετασυλλεκτικές μεταχειρίσεις και τη διατήρηση για μακρό χρονικό διάστημα των καλών οργανοληπτικών της χαρακτηριστικών. Οι υπόλοιπες ποικιλίες απέδειξαν ότι μπορούν να σταθούν αξιόλογα όσον αφορά την αποδοχή του δοκιμαστικού κοινού, δίνοντας έτσι την αίσθηση ανάγκης για γευστική διαφοροποίηση του ακτινιδίου στο μέλλον.

Συνοψίζοντας, προκύπτει ότι η γενετική παραλλακτικότητα που παρατηρήθηκε από τα δεδομένα της μοριακής ανάλυσης ακόμη και εντός του εξαπλοειδούς είδους *A. deliciosa* σε συνδυασμό με την ανάλυση των φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των εξεταζόμενων γενοτύπων, δείχνει τις μεγάλες προοπτικές για ενδοειδική βελτίωση και δημιουργία νέων ποικιλιών ακτινιδίου.

8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Adriani M., Piccioni E., Standardi A., (2000), Effect of different treatments on the conversion of 'Hayward' kiwifruit synthetic seeds to whole plants following encapsulation of *in vitro*-derived buds, *N. Z. J. Cr. Hort. Sci.* 28: 59-67
2. Agar I.T., Massantini R., Hess-Pierce B., Kader A.A., (1999), Postharvest CO₂ and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut kiwifruit slices, *J. Food Sci.* 64: 433-440
3. Antunes M.D.C., Pateraki I., Kanellis A.K., Sfakiotakis E.M., (2000), Differential effects of low temperature inhibition on the propylene induced autocatalysis of ethylene production, respiration and ripening of 'Hayward' kiwifruit, *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 75: 575-580
4. Antunes M.D.C., Sfakiotakis E.M., (2000), Effect of high temperature stress on ethylene biosynthesis, respiration and ripening of 'Hayward' kiwifruit, *Postharvest Biol. Technol.* 20: 251-259
5. Antunes M.D.C., Sfakiotakis E.M., (2002), Ethylene biosynthesis and ripening behaviour of 'Hayward' kiwifruit subjected to some controlled atmospheres, *Postharvest Biol. Technol.* 26: 167-179
6. Arigita L., González A., Sánchez-Tamés R., (2002), Influence of CO₂ and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured *in vitro*, *Physiol. Plantarum* 115: 166-173.
7. Arigita L., Sánchez Tamés R., González A., (2003), 1-Methylcyclopropene and ethylene as regulators of *in vitro* organogenesis in kiwi explants, *Pl. Gr. Regul.* 40: 59-64
8. Beatson R.A., (1991), Inheritance of fruit characters in *Actinidia deliciosa*, *Acta Hortic.* 297: 79-86

9. Belaj A., Satovic Z., Cipriani G., Baldoni L., Testolin R., Rallo L., Trujillo I., (2002), Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive, *Theor. Appl. Genet.* 107: 736-744
10. Burdon J., McLeod D., Lallu N., Gamble J., Petley M., Gunson A., (2004), Consumer evaluation of 'Hayward' kiwifruit of different at-harvest dry matter contents, *Postharvest Biol. Technol.* 34: 245-255
11. Chambers G.K., and MacAvoy E.S., (2000), Microsatellites: consensus and controversy: *Comparative Biochemistry and Physiology B.* 126: 455-476
12. Chat J., Chalak. L., Petit R.J., (1999), Strict paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in intraspecific crosses of kiwifruit, *Theor. Appl. Genet.* 99: 314-322
13. Chat J., Decroocq S., Petit R.J., (2003), A one-step organelle capture: gynogenetic kiwifruits with paternal chloroplasts, *Proceedings: Biol. Sci.* 270: 783-790
14. Chat J., Jauregui B., Petit R.J., Nadot S., (2004), Reticulate evolution in kiwifruit (*Actinidia*, Actinidiaceae) identified by comparing their maternal and paternal phylogenies, *Am. J. Bot.* 91: 736-747
15. Cheng C.H., Seal A.G., Boldingh H.L., Marsh K.B., MacRae E.A., Murphy S.J., Ferguson A.R., (2004), Inheritance of taste characters and fruit size and number in a diploid *Actinidia chinensis* (kiwifruit) population, *Euphytica* 138: 185-195
16. Cho Y.G., Ishii T., Temnykh S., Chen X., Lipovich L., McCouch S.R., Parl W.D., Ayres N., Cartinhour S., (2000), Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza Sativa* L.), *Theor. Appl. Genet.* 100: 713-722

17. Choukan R., Hossainzadeh A., Ghannadha M.R., Warburton M.L., Talei A.R., Mohammadi S.A., (2005), Use of SSR data to determine relationships and potential heterotic groupings within medium to late maturing Iranian maize inbred lines, *Field Crop Res.*, article in press
18. Cipriani G., Testolin R., Gardner R., (1998), Restriction-site variation of PCR-amplified chloroplast DNA regions and its implication for the evolution and taxonomy of *Actinidia*, *Theor. Appl. Genet.* 96: 389-396
19. Cipriani G., Testolin R., Morgante M., (1995), Paternal inheritance of plastids in interspecific hybrids of the genus *Actinidia* revealed by PCR-amplification of chloroplast DNA fragments, *Mol. Gen. Genet* 247: 693-697
20. Cordeiro G.M., Casu R., McIntyre C.L., Manners J.M., Henry R.J., (2001), Microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* spp.) ESTs cross transferable to erianthus and sorghum, *Plant Sci.* 160: 1115-1123
21. Cosner M.E., Jansen R.K., Lammers T.G., (1994), Phylogenetic relationships in the Campanulales based on rbcL sequences, *Plant Syst. Evol.* 190: 79-95
22. Crisosto C.H., Crisosto G., (2001), Understanding consumer acceptance of early harvested 'Hayward' kiwifruit, *Postharvest Biol. Technol.* 22: 205-213
23. Crowhorst R.N., Lints R., Atkinson R.G., Gardner R.C., (1990), Restriction fragment length polymorphisms in the genus *Actinidia* (Actinidiaceae), *Plant Syst. Evol.* 172: 193-203
24. Daoyu Z., Lawes G.S., Gordon I.L., (2001), Estimates of genetic variability and heritability for vegetative and reproductive characters (*Actinidia deliciosa*), *Euphytica* 124: 93-98
25. Doyle, J. J. and Doyle, L. J. , (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.

26. Eckardt N.A., (2004), Two genomes are better than one: widespread paleopolyploidy in plants and evolutionary effects, *Plant Cell* 16: 1647-1649
27. Eiadthong W., Yonemori K., Sugiura A., Utsunomiya N., Subhadrabandhu S., (1999), Identification of mango cultivars of Thailand and evaluation of their genetic variation using the amplified fragments by simple sequence repeat-(SSR-) anchored primers, *Sci. Hort.* 82: 57-66
28. Eujayl I., Sorrells M.E., Baum M., Wolters P., Powell W., (2002), Isolation of EST-derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat, *Theor. Appl. Genet.* 104: 399-407
29. Faure S., Noyer J.-L., Carreel F., Horry J.-P., Bakry F., Lanaud C., (1994), Maternal inheritance of chloroplast genome and paternal inheritance of mitochondrial genome in bananas (*Musa acuminata*), *Curr. Genet.* 25: 265-269
30. Ferguson A.R. & Ferguson L.R., (2003), Are kiwifruit really good for you? *Acta Hort.* 610: 131-138
31. Ferguson A.R., (1990), Kiwifruit (*Actinidia*). In: Moore JN Ballington Jr JR (eds) *Genetic resources of temperate fruit and nut crops*, vol 2, I.S.H.S. Wageningen, The Netherlands: 603-653
32. Ferguson A.R., (1999), New Temperate Fruits: *Actinidia chinensis* and *Actinidia deliciosa*, *Perspectives on new crops and new uses*. J. Janick (ed.), ASHS Press, Alexandria, VA: 342-347
33. Fischer R.L., and Bennett A.B., (1991), Role of cell hydrolases in fruit ripening, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 675-703
34. Fraser G.L., Harvey F.C., Crowhurst N.R., De Silva N.H., (2004), EST-derived microsatellites from *Actinidia* species and their potential for mapping, *Theor. Appl. Genet.* 108: 1010-1016

35. Fraser L.G., McNeilage M.A., Tsang G.K., Harvey C.F., De Silva H.N., (2005), Cross-species amplification of microsatellite loci within the dioecious, polyploidy genus *Actinidia* (Actinidiaceae), *Theor. Appl. Genet.* 112: 149-157
36. Gallego F.J., Perez M.A., Nunez Y., Hildago P., (2005), Comparison of RAPDs, AFLPs and SSR markers for the genetic analysis of yeast strains of *Saccharomyces cerevisiae*, *Food Microbiol.* 22: 561-568
37. Gerasopoulos D., Drogoudi P.D., (2005), Summer-pruning and preharvest calcium chloride sprays affect storability and low temperature breakdown incidence in kiwifruit, *Postharvest Biol. Technol.* 36: 303-308
38. Guowei F., Hammer S., Grumet R., (1992), A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA, *Biotechniques* 13: 53-54
39. Harman J.E., McDonald B., (1983), Controlled atmosphere storage of kiwifruit: effects on storage life and fruit quality, *Acta Hort.* 138: 195-202
40. Havey M.J., McCreight J.D., Rhodes B., Taurick G., (1998), Differential transmission of the *Cucumis* organellar genomes, *Theor. Appl. Genet.* 97: 122-128
41. He Z., Zhang X., Zhong Y., Ye L., (2000), Phylogenetic relationships of *Actinidia* and genera based on micromorphological characters of foliar trichomes, *Genet. Resour. Crop Evol.* 47: 627-639
42. He Z.-C., Li J.-Q., Cai Q., Wang Q., (2005), The cytology of *Actinidia*, *Saurauia* and *Clematoclethra* (Actinidiaceae), *Bot. J. Lin. Soc.* 147: 369-374

43. Heatherbell D.A., (1975), Identification and quantitative analysis of sugars and non-volatile organic acids in Chinese gooseberry fruit (*Actinidia chinensis* Planch.), *J. Sci. Food. Agric.* 26: 815-820
44. Hertog M.L.A.T.M., Nicholson S.E., Jeffery P.B., (2004), The effect of modified atmospheres on the rate of firmness change of 'Hayward' kiwifruit, *Postharvest Biol. Technol.* 31: 251-261
45. Hirsch A.M., Testolin R., Brown S., Chat J., Fortune D., Bureau J.M., De Nay D., (2001), Embryo rescue from interspecific crosses in the genus *Actinidia* (kiwifruit), *Plant Cell Rep.* 20: 508-516
46. Hopkirk G., Beever D.J., Triggs C.M., (1986), Variation in soluble solids concentration in kiwifruit at harvest, *N. Z. J. Agric. Res.* 29: 475-484
47. Huang H., Ferguson A.R., (2001), Kiwifruit in China, *N. Z. J. Crop. Hort. Sci.* 29: 1-14
48. Huang H., Gong J.J., Wang S-M., He Z-C., Zhang Z-H., Li J-Q., (2000), Genetic diversity in the genus *Actinidia*, *Ch. Biodiver.* 8: 1-12
49. Huang H., Kubisiak T.L., Layne D.R., (2002), Phylogenetic Relationships in *Actinidia* as Revealed by RAPD Analysis, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127: 759-766
50. Huang W-G., Cipriani G., Morgante M., Testolin R., (1998), Microsatellite DNA in *Actinidia chinensis*: isolation, characterisation, and homology in related species, *Theor. Appl. Genet.* 1269-1278
51. Jaeger S.R., (2003a), Innovation in the fruit industry: need for convenience, *Food Aus.* 55: 129-132
52. Jaeger S.R., Rossiter K.L., Wismer W.V., Harker F.R., (2003b), Consumer-driven product development in the kiwifruit industry, *Food Qual. Pref.* 14: 187-198
53. Jones C.L., Edwards K.J., Castaglione S., Winfield M.O., Sala F., van de Wiel C., Bredemeijer G., Vosman B., Matthes M., Daly A.,

- Brettschneider R., Bettini P., Buiatti M., Maestri E., Malcevschi A., Marmioli N., Aert R., Volckaert G., Rueda J., Linacero R., Vazquez A., Karp A., (1997), Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories, *Mol. Breed.* 3: 381-390
54. Katsiotis A., Hagidimitriou M., Drossou A., Pontikis C., Loukas M., (2003), Genetic relationships among species and cultivars of *Pistacia* using RAPDs and AFLPs, *Euphytica* 132: 279-286
55. Kuleung C., Baenziger P.S., Dweikat I., (2004), Transferability of SSR markers among wheat, rye, and triticale, *Theor. Appl. Genet.* 108: 1147-1150
56. Linos A.A., Bebeli P.J., Kaltsikes P.J., (2002), Cultivar identification in upland cotton using RAPD markers, *Aust. J. Agric. Res.* 53: 637-642
57. Lurie S., Klein J.D., (1990), Heat treatment of ripening apples: differential effects on physiology and biochemistry, *Physiol. Plant* 78: 181-186
58. MacRae E.A., Bowen J.H., Stec M.H., (1989a), Maturation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward) from two orchards: differences in composition of the tissue zones, *J. Sci. Food Agric.* 47: 401-416
59. MacRae E.A., Lallu N., Searle A., Bowen J., (1989b), Changes in the softening and composition of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) affected by maturity at harvest and postharvest treatments, *J. Sci. Food Agric.* 49: 413-430
60. Marsh K., Attanayake S., Walker S., Gunson A., Boldingh H., MacRae E., (2004), Acidity and taste in kiwifruit, *Postharvest Biol. Technol.* 32: 159-168

61. McNeilage M.A., (1997), Progress in breeding hermaphrodite kiwifruit cultivars and understanding the genetics of sex determination, *Acta Hort.* 444: 72-78
62. McNeilage M.A., Considine J.A., (1989), Chromosome studies in some *Actinidia* taxa and implications for breeding, *N. Z. J. Bot.* 27: 71-81
63. McPherson H.G., Richardson A.C., Snelgar W.P., Patterson K.J., Currie M.B., (2001), Flower quality and fruit size in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*), *N. Z. J. Cr. Hort. Sci.* 29: 93-101
64. Miller S.A., Broom F.D., Thorp T.G., Barnett A.M., (2001), Effects of leader pruning on vine architecture, productivity, and fruit quality in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward), *Sci. Hort.* 91: 189-199
65. Morgante M., Hanafey M., Powell W., (2002), Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes, *Nat. Genet.* 30: 194-200
66. Morgante M., Olivieri A.M., (1993), PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics, *Plant J.* 3: 175-182
67. Neale D.B., Sederoff R.R., (1989), Paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in loblolly pine, *Theor. Appl. Genet.* 77: 212-216
68. Palombi M.A., Damiano C., (2002), Comparison between RAPD and SSR molecular markers in detecting genetic variation in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev), *Plant Cell Rep* 20: 1061-1066
69. Pasqualone A., Lotti C., Blanco A., (1999), Identification of durum wheat cultivars and monovarietal semolinas by analysis of DNA microsatellites, *Eur. Food Res. Tech.* 210:144-147
70. Paterson V.J., MacRae E.A., Young H., (1991), Relationships between sensory properties and chemical composition of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*), *J. Sci. Food Agric.* 57: 235-251

71. Peakall R., Gilmore S., Keys W., Morgante M., Rafalski A., (1998), Cross-species amplification of soybean (*Glycine max*) simple-sequence-repeats (SSRs) within the genus and other legume genera, *Mol. Biol. Evol.* 15: 1275-1287
72. Pech J.C., Balague C., Latche A., Bouzayen M., (1994), Postharvest physiology of climacteric fruits: recent developments in the biosynthesis and action of ethylene, *Sciences des Aliments* 14: 3-15
73. Prasad M., Varshney R.K., Roy J.K., Balyan H.S., Gupta P.K., (2000), The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat, *Theor. Appl. Genet.* 100: 585-592
74. Pyke N.B., Hopkirk G., Alspach P.A., Cooper K.M., (1996), Variation in harvest and storage quality of fruit from different positions on kiwifruit vines, *N. Z. J. Cr. Hort. Sci.* 24: 39-46
75. Ravi M., Geethanjali S., Sameeyafarheen F., Maheswaran M., (2003), Molecular Marker based Genetic Diversity Analysis in Rice (*Oryza sativa* L.) using RAPD and SSR markers, *Eyphytica* 133: 243-252
76. Richardson A.C., McAneney K.J., Dawson T.E., (1997), Carbohydrate dynamics in kiwifruit, *J. Hortic. Sci.* 72: 907-917
77. Ritenour M.A., Crisosto C.H., Garner D.T., Cheng G.W., Zoffoli J.P., (1999), Temperature, length of cold storage and maturity influence the ripening rate of ethylene-preconditioned kiwifruit, *Postharvest Biol. Technol.* 15: 107-115
78. Sacchi G. A., Morgutti S., Abruzzese A., Alisi C., Cocucci M., Espen L., Leva A. R., Muleo R., Negrinia N., Cocucci S. M., (1995), Changes in some physiological and biochemical parameters during two subcultures in kiwi (*Actinidia deliciosa*) callus, *Pl. Sci.* 106: 107-113

79. Schlotterer C., Tautz D., (1992), Slippage synthesis of simple sequence DNA, *Nucleic Acids Res.* 20: 211-215
80. Scott K.D., Egger P., Seaton G., Rossetto M., Ablett E.M., Lee L.S., Henry R.J., (2000), Analysis of SSRs derived from grape ESTs, *Theor. Appl. Genet.* 100: 723-726
81. Shirkot P., Sharma D.R., Mohapatra T., (2002), Molecular identification of sex in *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* by RAPD markers, *Sci. Hort.* 94: 33-39
82. Smith G.S., Gravett I.M., Edwards C.M., Curtis J.P., Buwalda J.G., (1994), Spatial analysis of the canopy of kiwifruit vines as it related to the physical, chemical and postharvest attributes of the fruit, *An. Bot.* 73: 99-111
83. Snelgar W.P., Hopkirk G., Seelye R.J., Martin P.J., Manson P.J., (1998), Relationship between canopy density and fruit quality of kiwifruit, *N. Z. J. Cr. Hort. Sci.* 26: 223-232
84. Soufleros E.H., Pissa I., Petridis D., Lygerakis M., Mermelas K., Boukouvalas G., Tsimitakis E., (2001), Instrumental analysis of volatile and other compounds of Greek kiwi wine; sensory evaluation and optimisation of its composition, *Food Chem.* 75: 487-500
85. Suzuki M., Niino T., Akihama T., (1994), Cryopreservation of shoot tips of kiwifruit seedlings by the alginate encapsulation-dehydration technique, *Pl. Tiss. Cult. Lett.* 11: 122-128
86. Takahashi W., Sugawara F., Yamamoto N., Bando E., Matsushita J., Tanaka O., (2004), Plant regeneration in *Actinidia polygama* Miq. by leaf, stem, and petiole culture with zeatin, and from stem-derived calli on low-sucrose medium, *J. For. Res.* 9: 85-88

87. Tanaka H., Shoyama Y., Sasaki Y., Sashida Y., (1997), Micropropagation of *Actinidia polygama* from fruit galls, *Pl. Cell Tiss. Org. Cult.* 48: 135-137
88. Testolin R., Cipriani G., (1997), Paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in the genus *Actinidia*, *Theor. Appl. Genet.* 94: 897-903
89. Testolin R., Ferguson A.R., (1997), Isozyme polymorphism in the genus *Actinidia* and the origin of the kiwifruit (*A. deliciosa*) genome, *Systematic Bot.* 22
90. Testolin R., Huang W.G., Lain O., Messina R., Vecchione A., Cipriani G., (2001), A kiwifruit (*Actinidia* spp.) linkage map based on microsatellites and intergrated with AFLP markers, *Theor. Appl. Genet.* 103: 30-36
91. Thorp T.G., Ferguson I.B., Boyd L.M., Barnett A.M., (2003), Fruiting position, mineral concentration and incidence of physiological pitting in 'Hayward' kiwifruit, *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 78: 505-511
92. Tombesi A., Antognozzi E., Palliotti A., (1994), Optimum leaf area index in T-bar trained kiwifruit vines, *J. Hort. Sci.* 69: 339-350
93. Valdes A.M., Slatkin M., Freimer N.B., (1993), Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited, *Genome* 133: 737-749
94. Wang C.Y., Buta J.G., (2003), Maintaining quality of fresh-cut kiwifruit with volatile compounds, *Postharvest Biol. Technol.* 28: 181-186
95. Wang Z-Y., MacRae E.A., Wright M.A., Bolitho K.M., Ross G.S., Atkinson R.G., (2000), Polygalacturonase gene expression in kiwifruit: relationship to fruit softening and ethylene production, *Plant Mol. Biol.* 42: 317-328

96. Webby R.F., Wilson R.D., Ferguson A.R., (1994), Leaf flavonoids of *Actinidia*, *Biochem. Syst. Ecol.* 22: 277-286
97. Weising K, Fung R.W.M., Keeking D.J., Atkinson R.G., Gardner R., (1996), Characterization of microsatellites from *Actinidia chinensis*, *Mol. Breed.* 2: 117-131
98. White A., Nihal de Silva H., Requejo-Tapia C., Roger Harker F., (2005), Evaluation of softening characteristics of fruit from 14 species of *Actinidia*, *Postharvest Biol. Technol.* 35: 143-151
99. Yan G., Atkinson R.G., Ferguson A.R., McNeilage M.A., Murray B.G., (1997), In situ hybridization in *Actinidia* using repeat DNA and genomic probes, *Theor. Appl. Genet.* 94: 507-513
100. Yan G., Ferguson A.R., McNeilage M.A., Murray B.G., (1997), Numerically unreduced (2n) gametes and sexual polyploidization in *Actinidia*, *Euphytica* 96: 267-272
101. Yan G., Yao J., Ferguson A.R., McNeilage M.A., Seal A.G., Murray B.G., (1997), New reports of chromosome numbers in *Actinidia* (*Actinidiaceae*), *N. Z. J. Bot.* 35: 181-186
102. Zhang Y., Kunsong C., Zhang S., Ferguson I., (2003), The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit, *Postharvest Biol. Technol.* 28: 67-74
103. Zhang Y.-J., Qian Y.-Q., Mu X.-J., Cai Q.-J., Zhou Y.-L., Wei X.-P., (1998), Plant regeneration from *in vitro*-cultured seedling leaf protoplasts of *Actinidia eriantha* Benth, *Pl. Cell Rep.* 17: 819-821

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

104. Βασιλακάκης Μ., (1991), Στοιχεία Γενικής και Ειδικής Δενδροκομίας

105. Δημουλάς Ι., (1988), Η ακτινιδιά
106. Κορκόβελος Α., Μαυρομάτης Α., Γούλας Χ., (2004), Μοριακή γενετική ανάλυση με δείκτες μικροδορυφορικού DNA (SSRs) και εκτίμηση του επιπέδου πλοειδίας με κυτταρομετρία ροής σε είδη του γένους *Actinidia*. Ε.Ε.Ε.Γ.Β.Φ, 10^ο Συνέδριο, Αθήνα 25 -27 Νοε. 2004. Περιλήψεις σελ. 71
107. Μπρουσοβάνας Ν., (1985), Η ακτινιδιά, Ένα μοντέρνο, παραγωγικό και καλλωπιστικό φυτό
108. Παλούκης Σ., Ντινόπουλος Ο., (1989), Ακτινιδιά: Φυτό, Καλλιέργεια, Προστασία, Εμπορία
109. Ποντίκης Κ.Α., (1987), Ειδική Δενδροκομία, Ακρόδρυα-Πυρηνόκαρπα-Λοιπά Καρποφόρα

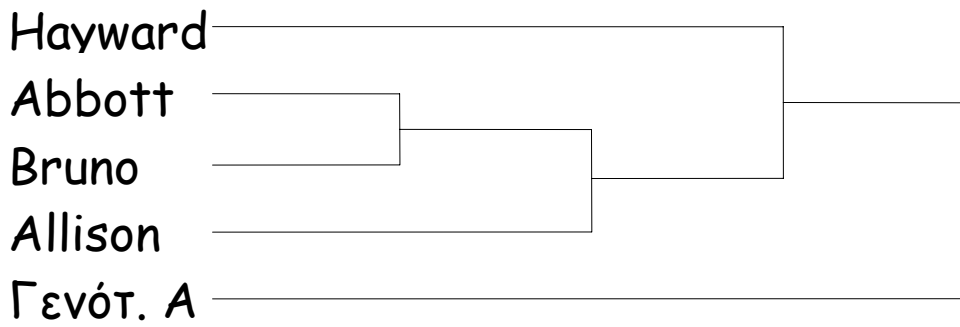
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 9.1. Μοριακό αποτύπωμα των 11 γενοτύπων με βάση τα αλληλόμορφα που εμφανίζονται στις αντίστοιχες βάσεις με εφαρμογή των δεικτών UDK 96-092, UDK 96-035, UDK 96-101A και UDK 96-101B. Με * σημειώνονται οι θέσεις που δεν εμφανίστηκαν αποτελέσματα

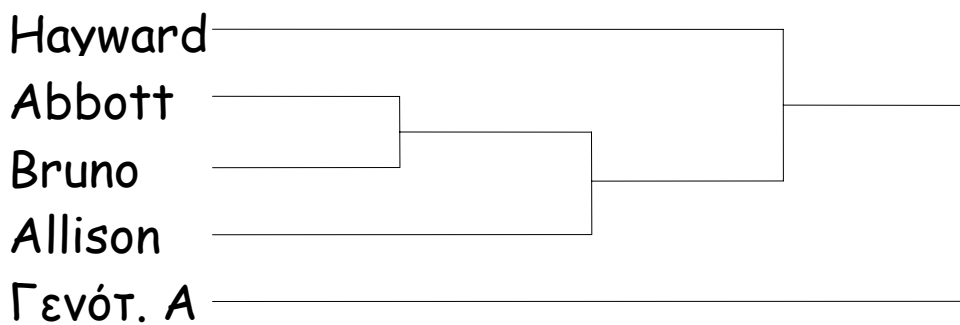
| Γενότυποι | UDK 96-092 | UDK 96-035 | UDK 96-101A | UDK 96-101B |
|---------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|---------------------|
| Γενότυπος A | 184/190/192/194/198 | 269/273/306/308/310 | 230/234/240 | 259/263/267 |
| Hayward | 184/194/196/200 | 267/269/273/308/310 | 234/240 | 263/267/269/273 |
| Koryoku | 184/192/196/198 | 273/308 | 230/234/238 | 259/263/273 |
| Topstar | 182/184/192/194/196/198 | 267/269/273/306/308/310 | 234/238/240 | 263/267/269/273 |
| Bruno | 184/192/194 | 267/308 | 234/238 | 259 |
| Allison | * | 273/306/310 | 234 | 263 |
| Abbott | * | * | 230/234/238/240 | 263/267 |
| Tomuri | 190/194 | 269/308/310 | 234 | 263 |
| Matua | 182/190/194/196 | 269/273/308/310 | 238/240 | 259/263/267/269/273 |
| Αρ. Hayw. | 184/194/198/200 | 269/273/308/310 | 238 | 259 |
| Αρ. Γενοτ. B | 182/190/194/196 | 267/306/310 | 234/238/240 | 263/273 |

Πίνακας 9.2. Μοριακό αποτύπωμα των 11 γενοτύπων με βάση τα αλληλόμορφα που εμφανίζονται στις αντίστοιχες βάσεις με εφαρμογή των δεικτών UDK 96-101Γ, UDK 97-402Α, UDK 97-402Β και UDK 96-030. Με * σημειώνονται οι θέσεις που δεν εμφανίστηκαν αποτελέσματα

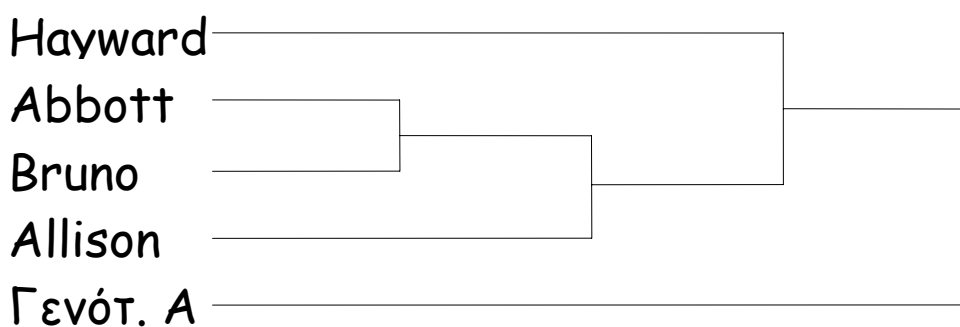
| Γενότυποι | UDK 96-101Γ | UDK97-402Α | UDK97-402Β | UDK 96-030 |
|---------------------|-------------------------|----------------|-----------------|------------------------|
| ΓενότυποςΑ | 414/464 | 54/58 | 120 | 66/68/74/90/106/108 |
| Hayward | 414/416/422/424/438/464 | 47/51/54/58 | 122/126/144 | 68/74/86/90/94/106/108 |
| Koryoku | 418/422/438/458 | 47/51/58 | 120/124/126/144 | 98 |
| Topstar | 414/416/422/424/438/458 | 47/49/58 | 120/140/144 | 74/94/108 |
| Bruno | 414/416/422/438 | 49/54/58/62 | 126/140/144/146 | 60/66/82/98/106 |
| Allison | 414 | 47/54/58/62/66 | * | 98 |
| Abbott | 414/422/438/458 | 49/54/58/66 | * | 94/98 |
| Tomuri | 414/438/458 | 47 | * | * |
| Matua | 414/422/438/458 | 49/58/62/66 | 140/146 | 86/98 |
| Αρ. Hayw. | 414/438/464 | 51/54 | 120 | 72/82/86/90/94/108 |
| Αρ. Γενοτ. Β | 418/422/424/438/458 | 54/58 | 144 | 60/66/74/86/106/108 |



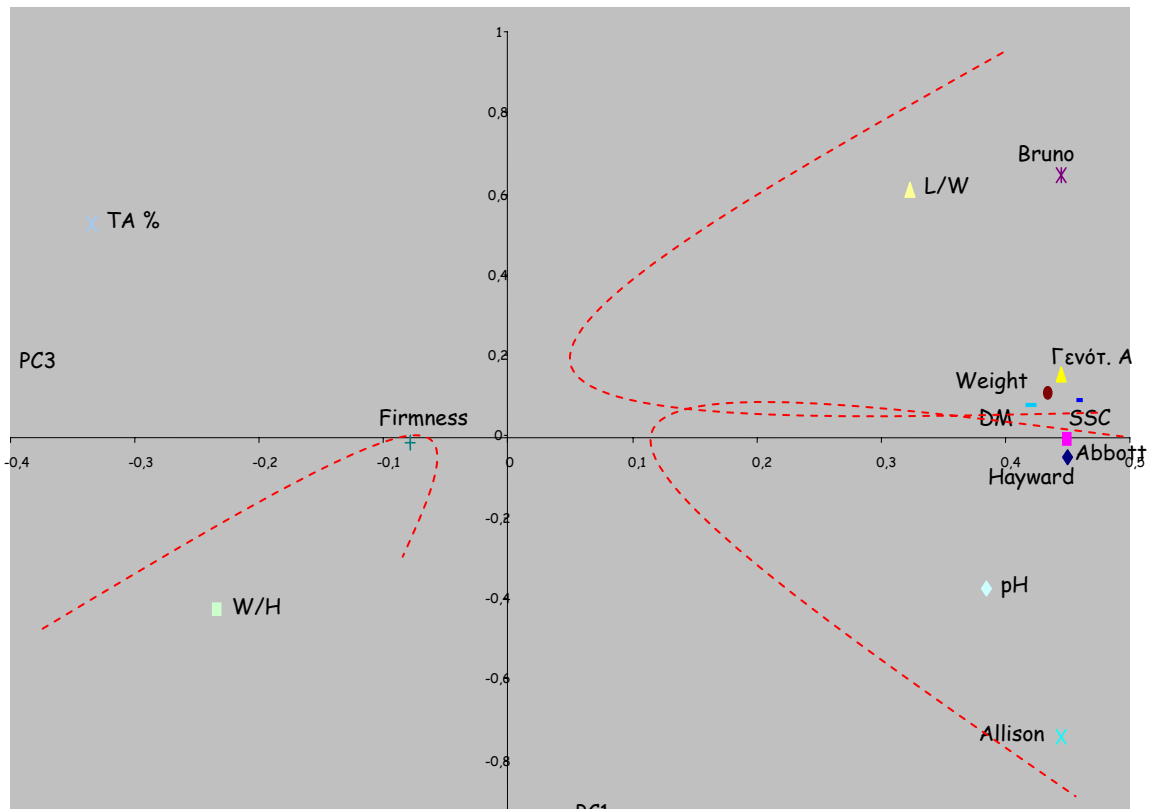
Εικόνα 9.1. Ταξινόμηση των εξεταζόμενων ποικιλιών ακτινιδίου σε ομοειδή σύνολα με βάση τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες κατά την δεύτερη αποθηκευτική διαδικασία



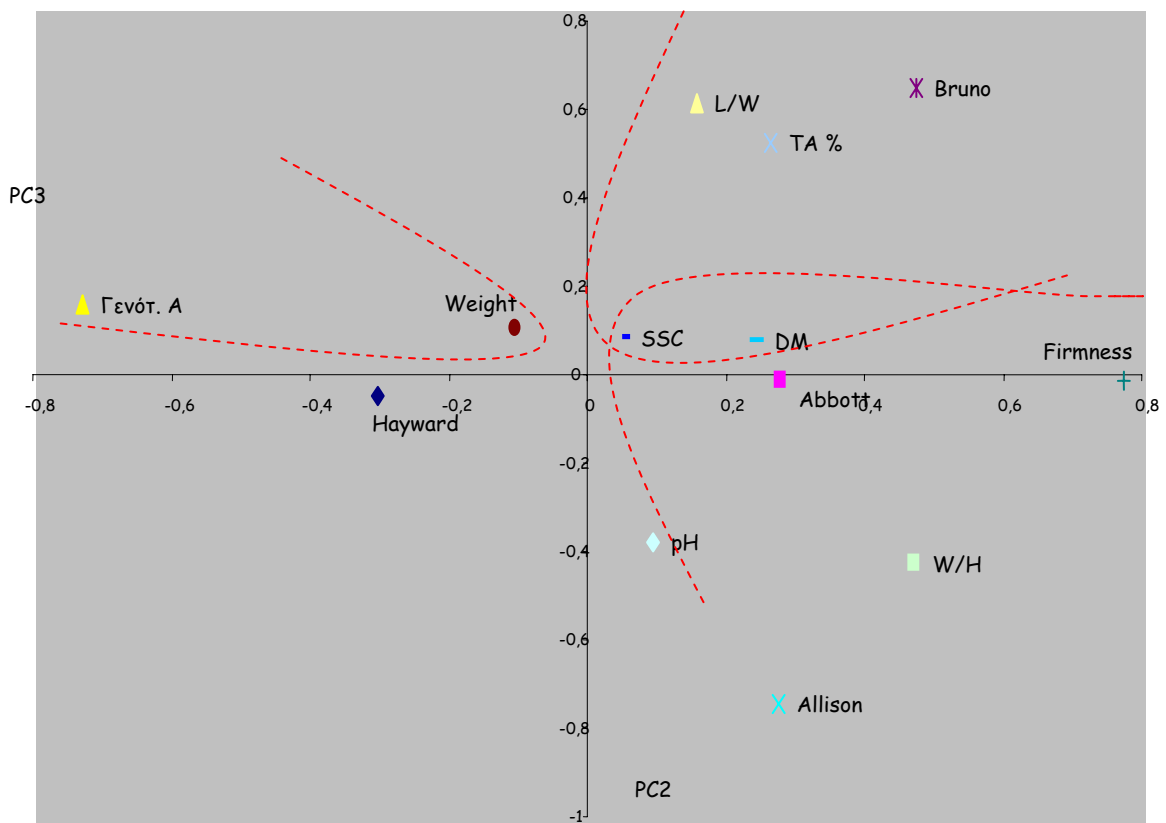
Εικόνα 9.2. Ταξινόμηση των εξεταζόμενων ποικιλιών ακτινιδίου σε ομοειδή σύνολα με βάση τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες κατά την τρίτη αποθηκευτική διαδικασία



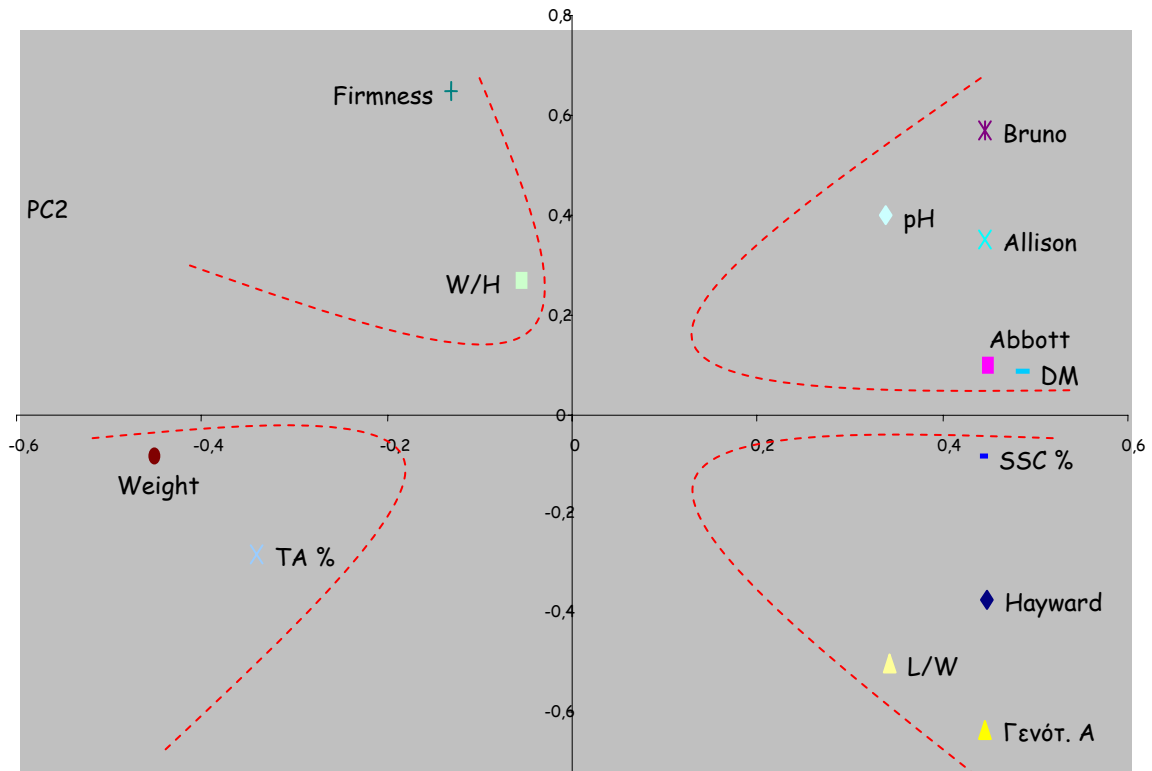
Εικόνα 9.3. Ταξινόμηση των εξεταζόμενων ποικιλιών ακτινιδίου σε ομοειδή σύνολα με βάση τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες και στις τρεις αποθηκευτικές διαδικασίες



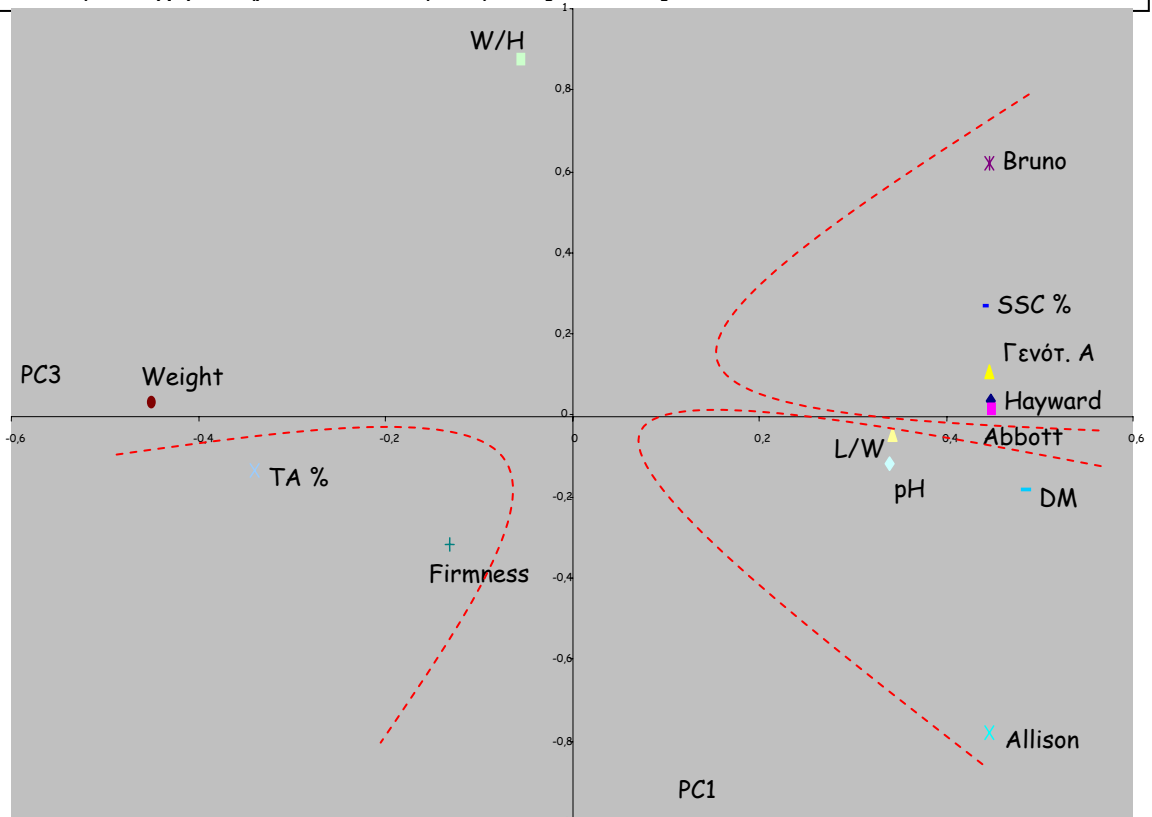
Εικόνα 9.4. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών για την πρώτη αποθηκευτική μεταχείριση που εξηγούσε την διακύμανση κατά 64,2% για τα χαρακτηριστικά και 99% για τις ποικιλίες



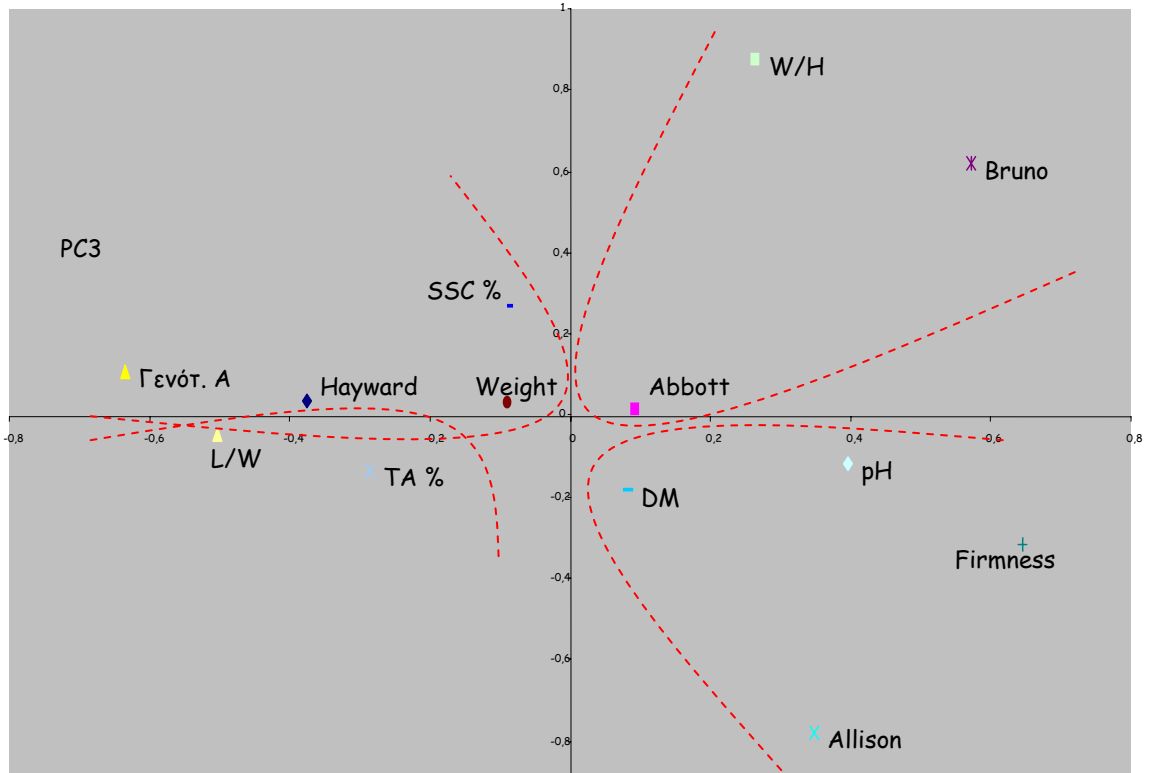
Εικόνα 9.5. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών για την πρώτη αποθηκευτική μεταχείριση που εξηγούσε την διακύμανση κατά 27,8% για τα χαρακτηριστικά και 2% για τις ποικιλίες



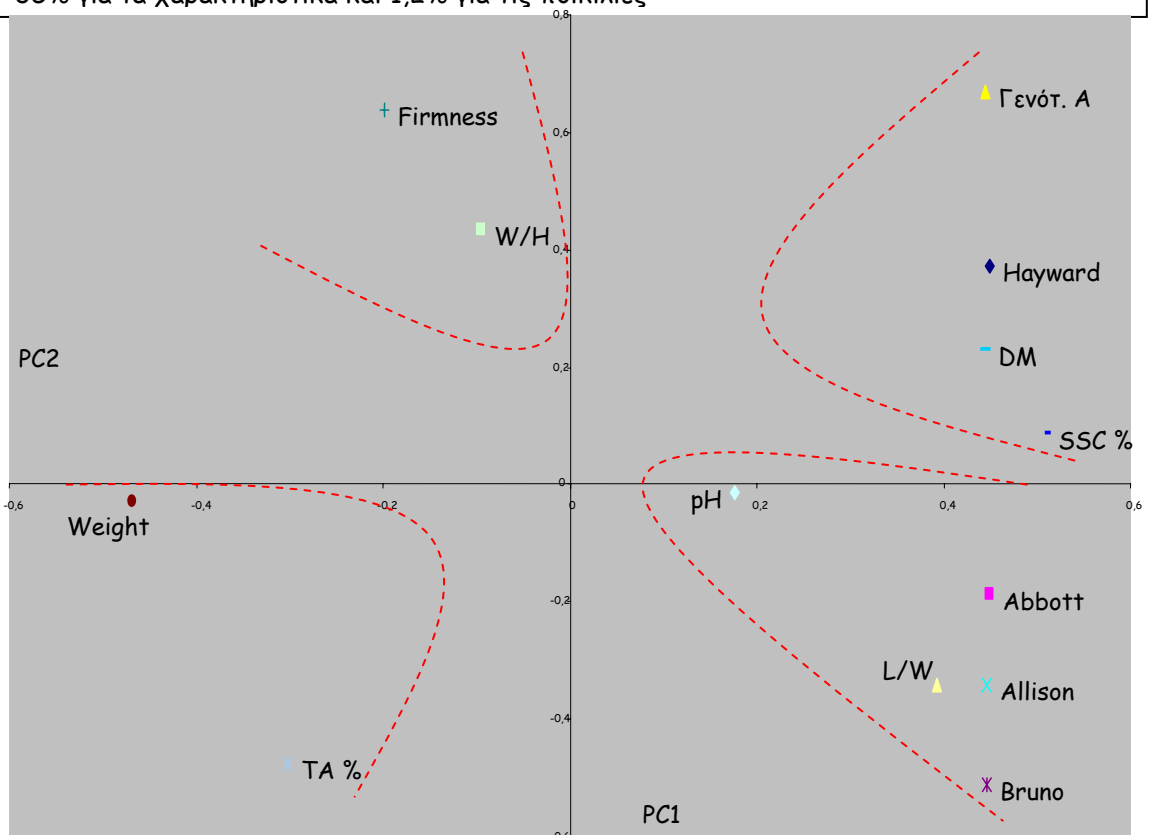
Εικόνα 9.6. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών για την δεύτερη αποθηκευτική μεταχείριση που εξηγούσε την διακύμανση κατά 64% για τα χαρακτηριστικά και 99,5% για τις ποικιλίες



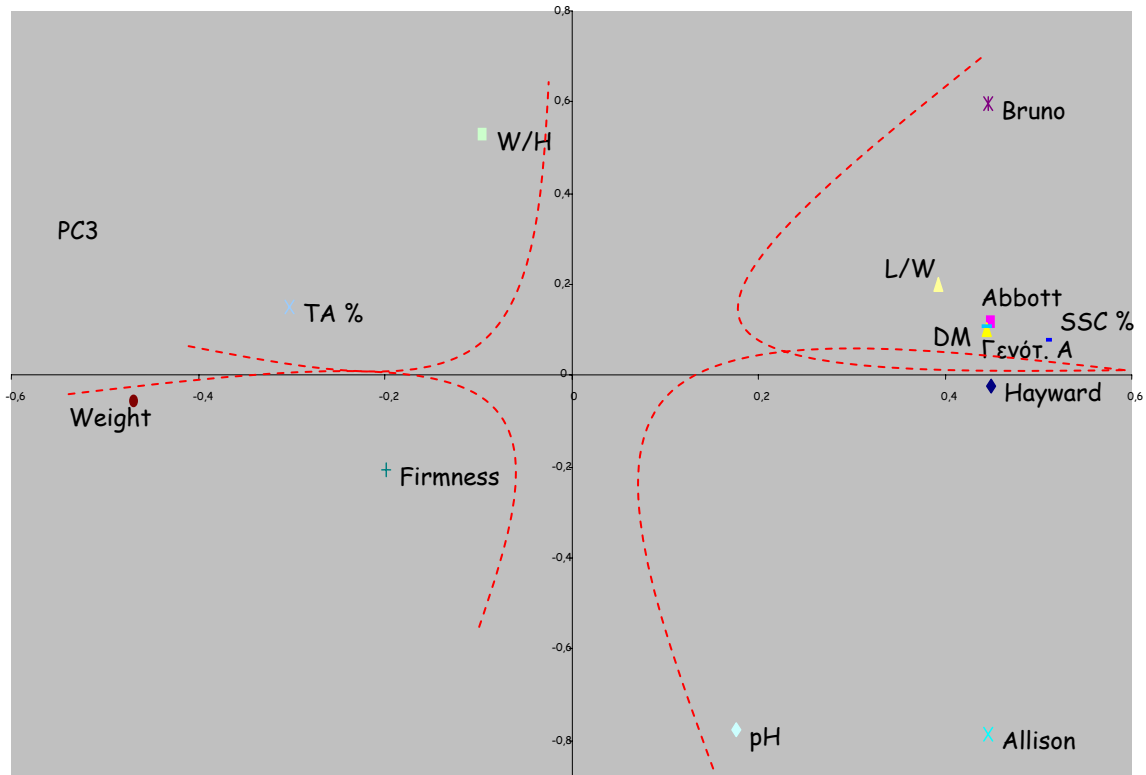
Εικόνα 9.7. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών για την δεύτερη αποθηκευτική μεταχείριση που εξηγούσε την διακύμανση κατά 56,9% για τα χαρακτηριστικά και 99% για τις ποικιλίες



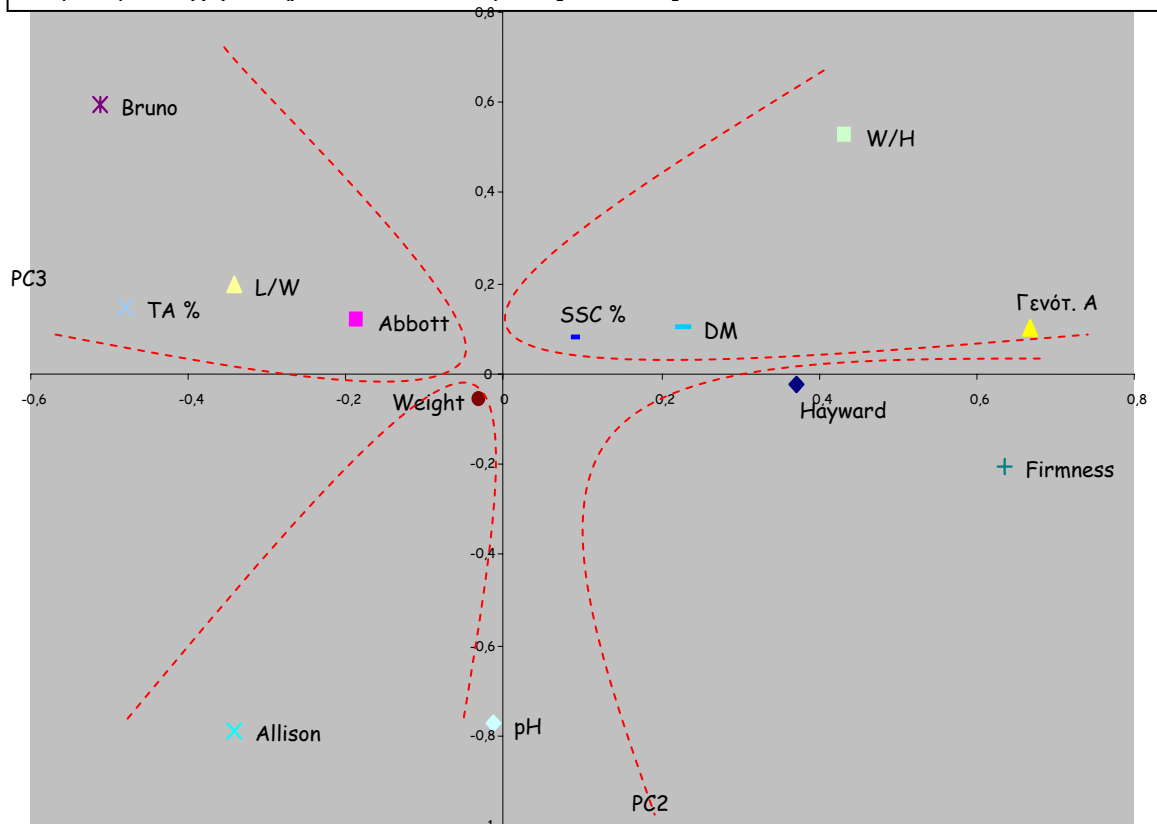
Εικόνα 9.8. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών για την δεύτερη αποθηκευτική μεταχείριση που εξηγούσε την διακύμανση κατά 35% για τα χαρακτηριστικά και 1,2% για τις ποικιλίες



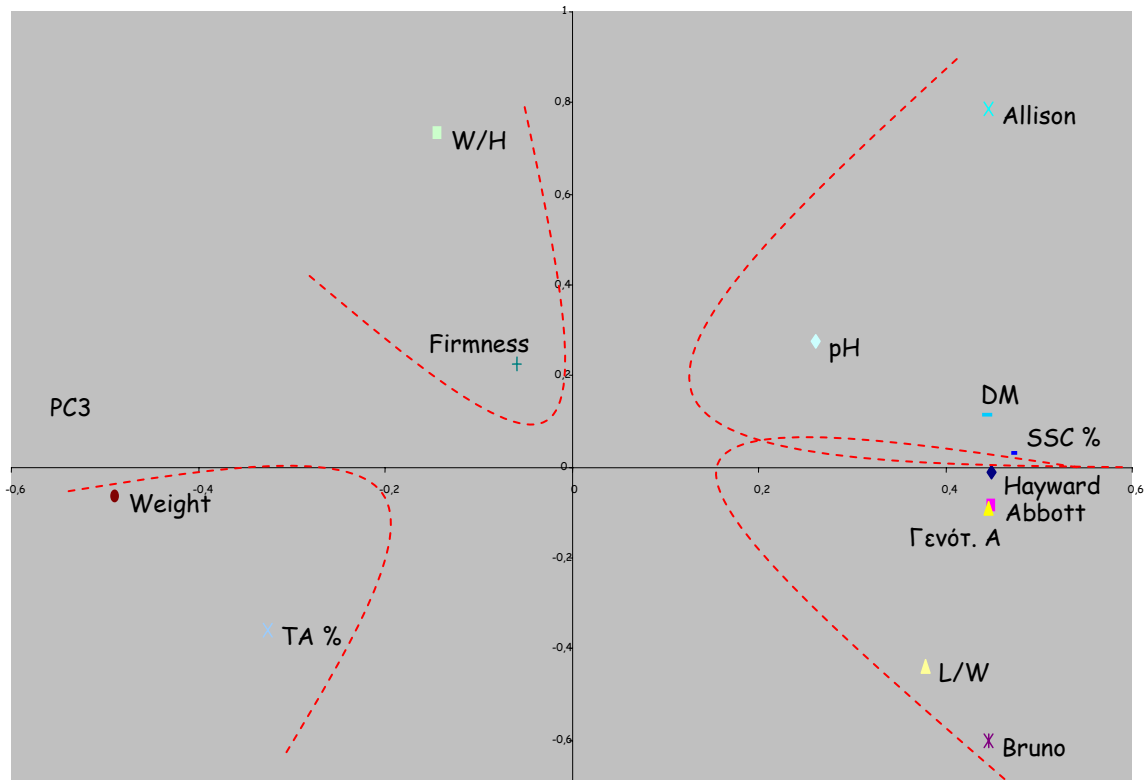
Εικόνα 9.9. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών για την τρίτη αποθηκευτική μεταχείριση που εξηγούσε την διακύμανση κατά 64% για τα χαρακτηριστικά και 99,5% για τις ποικιλίες



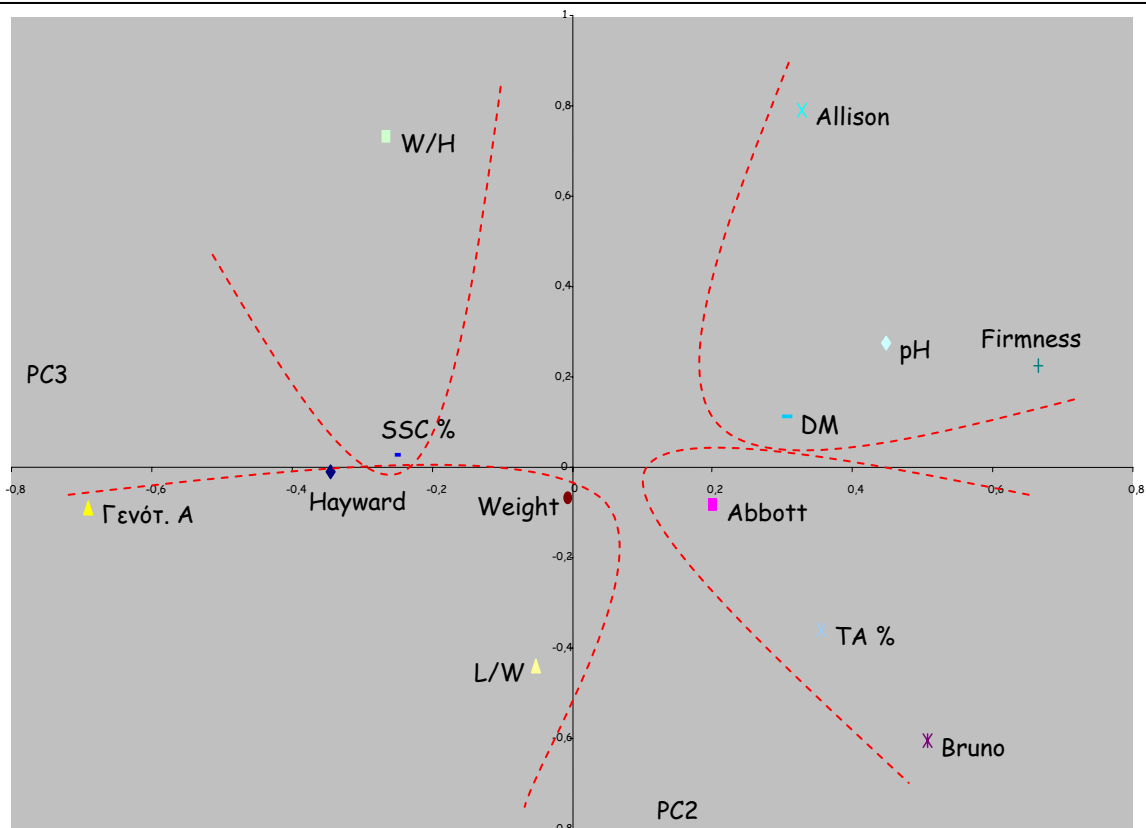
Εικόνα 9.10. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών για την τρίτη αποθηκευτική μεταχείριση που εξηγούσε την διακύμανση κατά 57,8% για τα χαρακτηριστικά και 99% για τις ποικιλίες



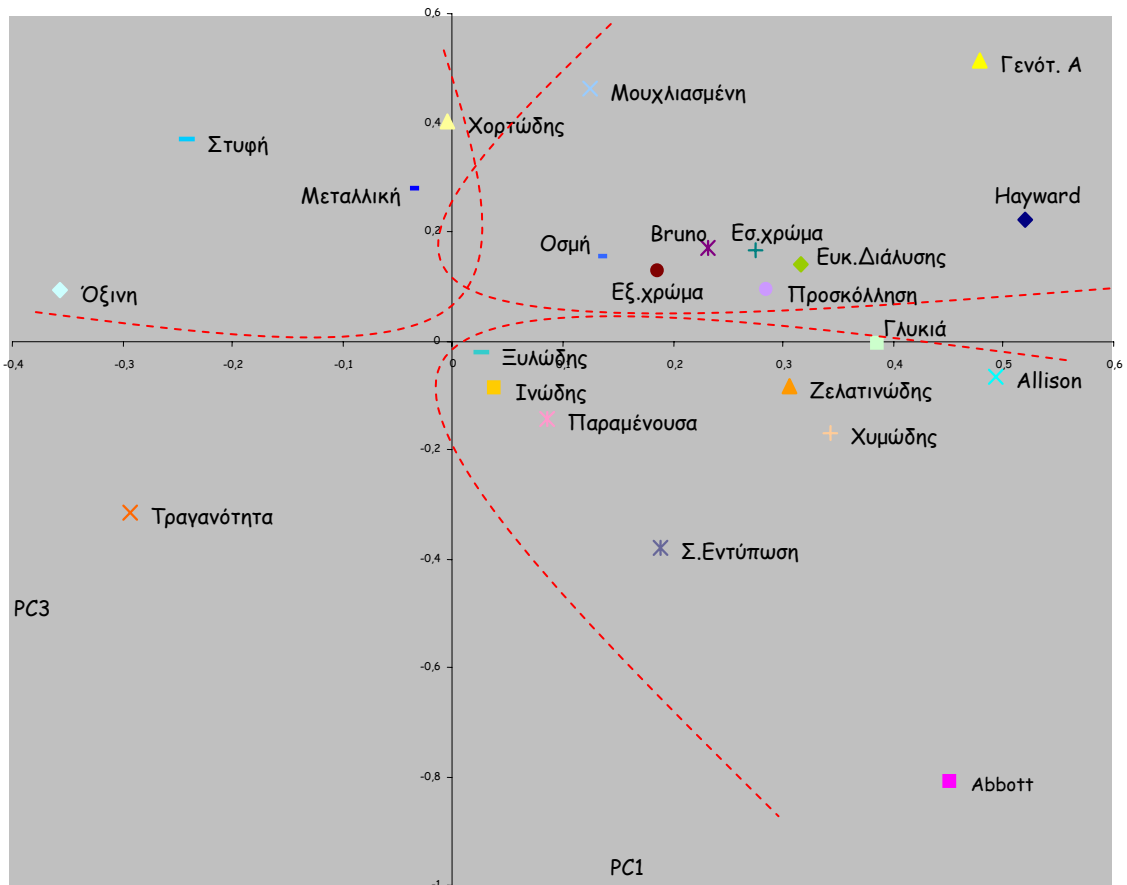
Εικόνα 9.11. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών για την τρίτη αποθηκευτική μεταχείριση που εξηγούσε την διακύμανση κατά 33,5% για τα χαρακτηριστικά και 1,3% για τις ποικιλίες



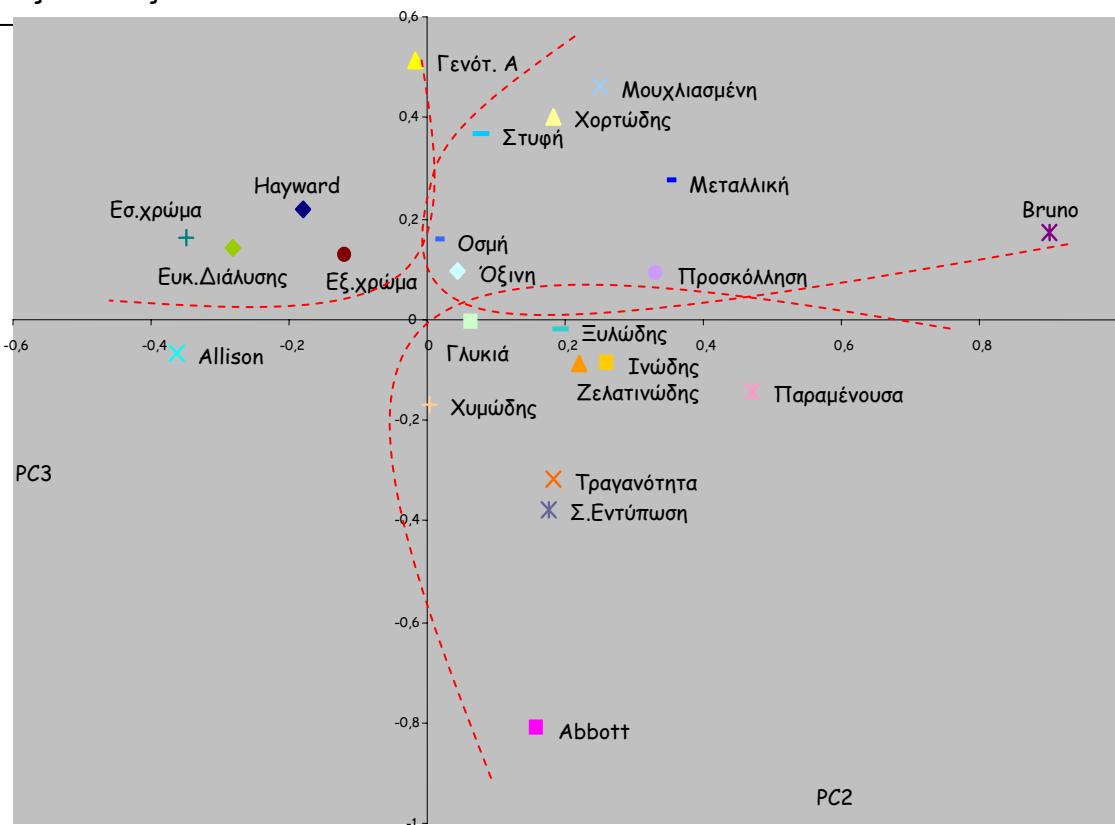
Εικόνα 9.12. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών και για τις τρεις αποθηκευτικές μεταχειρίσεις που εξηγούσε την διακύμανση κατά 52,8% για τα χαρακτηριστικά και 98,7% για τις ποικιλίες



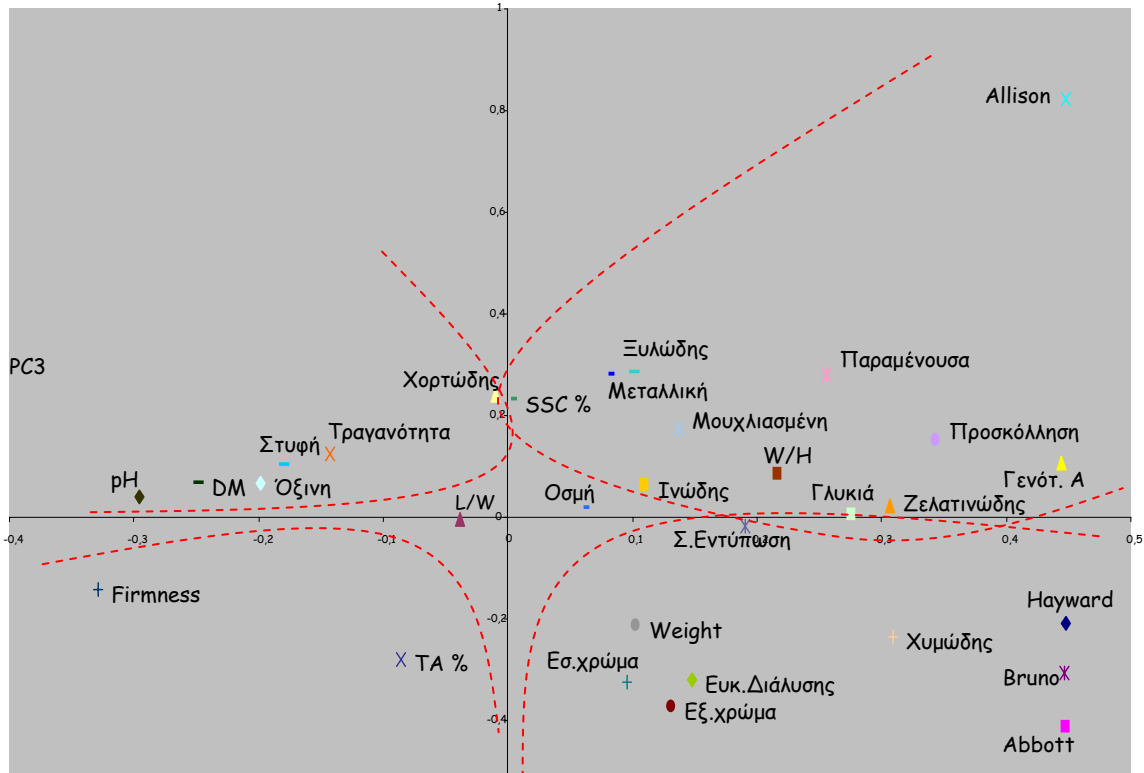
Εικόνα 9.13. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών και των ποικιλιών και για τις τρεις αποθηκευτικές μεταχειρίσεις που εξηγούσε την διακύμανση κατά 34,5% για τα χαρακτηριστικά και 1,5% για τις ποικιλίες



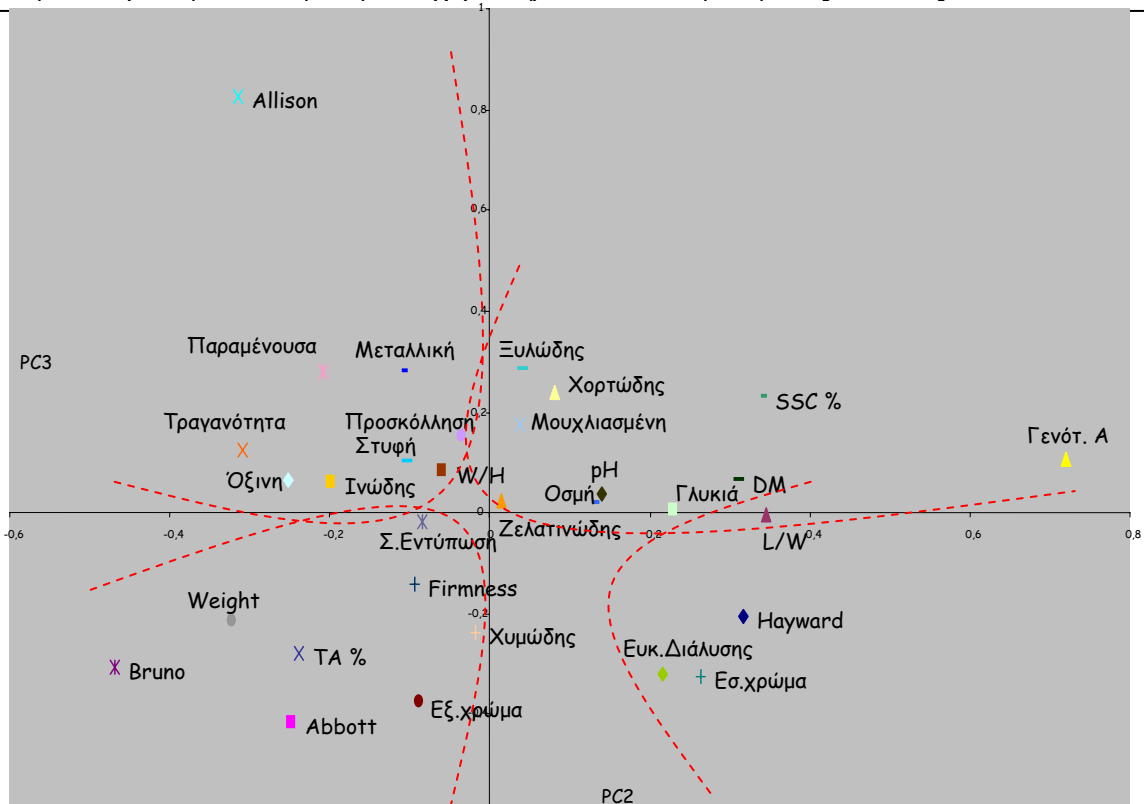
Εικόνα 9.14. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τις ποικιλίες που εξηγούσε την διακύμανση κατά 40,5% για τα χαρακτηριστικά και 69,2% για τις ποικιλίες



Εικόνα 9.15. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τις ποικιλίες που εξηγούσε την διακύμανση κατά 33,2 % για τα χαρακτηριστικά και 29,5% για τις ποικιλίες



Εικόνα 9.16. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των ποικιλιών, των φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και για τις τρεις αποθηκευτικές διαδικασίες που εξηγούσε την διακύμανση κατά 37,8% για τα χαρακτηριστικά και 99,2% για τις ποικιλίες



Εικόνα 9.17. Ανάλυση σε δύο κύριες συνιστώσες των ποικιλιών, των φυσικοχημικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και για τις τρεις αποθηκευτικές διαδικασίες που εξηγούσε την διακύμανση κατά 33,7% για τα χαρακτηριστικά και 0,9% για τις ποικιλίες