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

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΓΧΡΟΝΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

IN VITRO ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΦΑΚΗΣ (Lens culinaris) ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΟΥΣ ΣΕ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΑ ΣΥΜΒΑΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

ΚΑΤΣΑΒΟΥ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΒΟΛΟΣ, 2008

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, για την υπομονή και την στήριξη καθώς και για τη δύναμη που μου έδωσαν για να τελειώσω το μεταπτυχιακό μου, παρόλες τις δυσκολίες που προέκυψαν.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κο Αθανάσιο Μαυρομάτη, Επίκουρο Καθηγητή Γενετικής και Βελτίωσης Φυτών και επιβλέποντα στην εργασία, για την καθοδήγηση, συμπαράσταση και τις γνώσεις που μου παρείχε. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κο Αρβανιτογιάννη Ιωάννη, Αναπληρωτή Καθηγητή Ποιοτικού Ελέγχου, Μεταποίησης και Τεχνολογίας Προϊόντων Φυτικής και Ζωικής Προέλευσης και τον κο Ιμπραχίμ- Αβραάμ Χα, Αναπληρωτή Καθηγητή Σποροπαραγωγής και Τεχνολογίας Σπόρου, για τις υποδείξεις τους και την συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Κορκόβελο Αθανάσιο, για την ουσιαστική βοήθεια και για τις γνώσεις που μου μετέδωσε τα επτά έτη των σπουδών μου και την οικογένεια του για την συμπαράσταση σε δύσκολες για μένα στιγμές. Επιπλέον, ευχαριστώ τον Δρ. Βλαχοστέργιο Δημήτριο για την παροχή του γενετικού υλικού και την βοηθεια του κατά την διάρκεια του πειράματος.

Ευχαριστώ μέσα από την καρδιά μου τα άτομα που με στήριξαν αυτά τα χρόνια και συγκεκριμένα, την φίλη μου Σιγκούδη Δήμητρα, για τις αμέτρητες ώρες ψυχολογικής υποστήριξης και κατανόησης, τον μεταπτυχιακό φοιτητή Μονογιό Γρηγόρη.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....5

ABSTRACT.....Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ 8

2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ 11

2.1 Καταγωγή και ταξινόμηση της φακης (Lens culinaris).....11

2.2 Γεωγραφική εξάπλωση 14

2.3 Γενετική παραλλακτικότητα 15

2.4 Θρεπτική αξία και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.....17

2.5 Η Βελτίωση της φακής 28

2.5.1 Κλασσική βελτίωση.....28

2.5.2 Μοριακή Βελτίωση (MAB).....39

2.5.4 Εφαρμογές της ιστοκαλλιέργειας στην βελτίωση της φακής.....41

2.5.4.1 Αναγέννηση βλαστών.....46

2.5.4.2 Αναγέννηση ριζών.....48

2.5.4.3 Καλλιέργεια κάλλου και σωματική εμβρυογένεση 50

2.5.4.4 Εμβρυοδιάσωση και διειδικές διασταυρώσεις.....51

2.5.4.5 Καλλιέργεια πρωτοπλαστών.....54

2.5.4.6 Απλοειδή και διαπλοειδή.....55

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....56

3.1 Γενετικό υλικό 56

3.2 Εγκατάσταση πειράματος.....58

3.3 Μεθοδολογία In vitro αναγέννησης.....59

3.4 Χαρακτηριστικά ποιότητας.....67

3.4.1 Φυσικοχημικές ιδιότητες 67

3.4.2 Οργανοληπτική εξέταση 68

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ 70

4.1 Αποτελέσματα In Vitro Αναγέννησης.....70

4.2 Αποτελέσματα Οργανοληπτικών Αναλύσεων.....76

4.3 Αποτελέσματα Φυσικοχημικών Αναλύσεων.....81

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

4.4 Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (Principal Components Analysis- PCA).....85
4.5 Ανάλυση Ομαδοποίησης (Cluster Analysis) 100
4.4 Διαφοροποιούσα Ανάλυση (Discriminant Analysis).....106

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 110

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 114

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός του πειράματος ήταν η μελέτη της in vitro αναγέννησης και των οργανοληπτικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών ελληνικών ποικιλιών φακής. Το γενετικό υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 4 ελληνικές εμπορικές ποικιλίες φακής του είδους *Lens culinaris*, οι οποίες επιλέχθηκαν με βάση την γενεαλογία τους κατά έτη 2005 έως 2008 **(Βλαχοστέργιος, 2008)**. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε η ποικιλία Θεσσαλία η οποία είναι κοινός γονέας με τις άλλες τρεις ποικιλίες τη Σάμο, τη Δήμητρα και την Ικαρία.

Έγινε αξιολόγηση των τεσσάρων ελληνικών εμπορικών ποικιλιών φακής (Θεσσαλία, Σάμος, Δήμητρα και Ικαρία), οι οποίες προήλθαν από αγρό συμβατικής καλλιέργειας, ως προς την *in vitro* αναγέννηση εκφύτων, για να βρεθεί η ικανότητα βλαστογενέσης και ριζογενέσης, με δυο διαφορετικά πρωτόκολλα (Cohen *et al.*, 1984 και Polanco & Ruiz, 2001). Τα έκφυτα για τα δυο πρωτόκολλα, αποτέλεσαν ανώριμα έμβρυα 14 ημερών από το σχηματισμό του λοβού (14 DAP), ο οποίος είχε διάμετρο 5-6 mm. Για κάθε πρωτόκολλο, χρησιμοποιήθηκαν 50 σπόροι ανά ποικιλία, με 10 επαναλήψεις και 5 έκφυτα ανά δίσκο Petri.

Τα χαρακτηριστικά ποιότητας αξιολογήθηκαν για τις 4 ελληνικές εμπορικές ποικιλίες φακής του είδους *Lens culinaris* (Θεσσαλία, Σάμος, Δήμητρα και Ικαρία) και έγινε σύγκριση ως προς τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους, σε συμβατικό και οργανικό περιβάλλον.

Για την εκτίμηση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των σπόρων μετρήθηκε η πυκνότητα των σπόρων, η πυκνότητα σπόρων μετά από 24ωρη ενυδάτωση, ο συντελεστής ενυδάτωσης (hydration coefficient), ο συντελεστής απορρόφησης (swelling coefficient) και το pH των σπόρων. Η οργανοληπτική εξέταση πραγματοποιήθηκε το Δεκέμβριο του 2008. Σπόροι από κάθε ποικιλία υποβλήθηκαν σε βρασμό για 15 λεπτά στους 95 ^{o}C και αξιολογηθήκαν από 10 άτομα.

Συνολικά στα δεδομένα εφαρμόστηκαν πολυπαραγοντικές στατιστικές αναλύσεις για τον προσδιορισμό ομοιότητας ποικιλιών και κατηγοριοποίησης των χαρακτηριστικών στο οργανικό και συμβατικό περιβάλλον και εκτίμηση των συσχετίσεων και καταγραφής των χαρακτηριστικών σε σχέση με τις ποικιλίες και τα περιβάλλοντα. Συγκεκριμένα εφαρμόστηκε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών- PCA (Principal Component Analysis), ANOVA (Ανάλυση Παραλλακτικότητας), Ανάλυση

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Ομαδοποίησης (Cluster Analysis) και Διαφοροποιούσα Ανάλυση (Discriminant Analysis).

Από τη σύγκριση των δυο πρωτοκόλλων ιστοκαλλιέργειας φαίνεται ότι το πρωτόκολλο του Cohen είχε καλύτερα ποσοστά βλαστογένεσης για όλες τις ποικιλίες. Η ταχύτητα δημιουργίας και ανάπτυξης βλαστών και ριζών στο πρωτόκολλο του Cohen ήταν πιο άμεση σε σχέση με το πρωτόκολλο των Polanco & Ruiz. Το ποσοστό ριζοβολίας όλων των ποικιλιών και στα δυο πρωτόκολλα ήταν μικρότερο σε σχέση με την αναγέννηση βλαστών. Η ποικιλία με την καλύτερη αναγέννηση βλαστών και ριζών ήταν η Σάμος. Η Σάμος, στο μεν πρωτόκολλο παρήγαγε πολύ μεγάλους βλαστούς χωρίς πολλαπλή αναγέννηση, ενώ πρωτόκολλο των Polanco & Ruiz παρατηρήθηκαν σχετικά μεγάλοι βλαστοί αλλά με πολλαπλή αναγέννηση. Στην ποικιλία Δήμητρα αν και το ποσοστό της βλαστογένεσης ήταν υψηλό, οι παραγόμενοι βλαστοί ήταν αρκετά μικροί.

Τα περισσότερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά εμφάνισαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, κατά τη σύγκριση του οργανικού με το συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, σε σχέση με τις φυσικοχημικές παραμέτρους οι οποίες δεν είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα δύο περιβάλλοντα. Αντιθέτως οι ποικιλίες είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ενώ δεν παρουσίασαν διαφορές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

Η ανάλυση σε κυρίες συνιστώσες έγινε για την μελέτη των οργανοληπτικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών, στο οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας. Συγκεκριμένα μελετήθηκε το χαρακτηριστικό της ολικής εκτίμησης κάθε ποικιλίας και διαπιστώθηκε ποια είναι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που την επηρεάζουν, καθώς και το ποσοστό της παραλλακτικότητας που εξηγούν. Όλες οι ποικιλίες και τα περιβάλλοντα αξιολογήθηκαν θετικά ως προς την ολική εκτίμηση.

Η ιεραρχική ανάλυση σε ομοειδή σύνολα διαχώρισε πολλά από τα χαρακτηριστικά στα δυο περιβάλλοντα καλλιέργειας. Οι ποικιλίες ομαδοποιήθηκαν στο οργανικό και στο συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, ως προς το σύνολο των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους.

Από την διαφοροποιούσα ανάλυση πρόεκυψαν σχέσεις μεταξύ της ολικής εκτίμησης με περισσότερες από μια ανεξάρτητες μεταβλητές των υπόλοιπων εξεταζόμενων ποικιλιών από την οργανοληπτική εξέταση.

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η εξέταση για την *in vitro* αναγέννηση των ποικιλιών κατατάσσει την Σάμο ως την καλύτερη ποικιλία. Η Δήμητρα και η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Θεσσαλία έχουν μέτρια αναγέννηση ενώ η Ικαρία έχει την χειρότερη ικανότητα αναγέννησης. Από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά φαίνεται ότι η Θεσσαλία είχε την μεγαλύτερη αποδοχή. Ακλούθησε η Σάμος, η Δήμητρα και τελευταία η Ικαρία. Η ποικιλία Ικαρία απορρίπτεται τόσο από το καταναλωτικό κοινό όσο και από την ικανότητα για *in vitro* αναγέννηση σε σχέση με τις υπόλοιπες τρεις ποικιλίες, ενώ η ποικιλία Σάμος φαίνεται ως η καλύτερη λόγω της πάρα πολύ καλής ικανότητας αναγέννησης και της καλής αποδοχής κατά την οργανοληπτική εξέταση.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φακή (*Lens culinaris Medicus subsp.culinaris*) είναι από τα πρώτα φυτικά είδη που εξημερώθηκαν και από τις πιο σημαντικές καλλιέργειες οσπρίων σε πολλές χώρες του κόσμου. Οι σπόροι της αποτελούν πλούσια πηγή πρωτεΐνης, μεταλλικών στοιχείων και βιταμινών για την ανθρώπινη διατροφή και τα βλαστικά της στελέχη, προσφιλή ζωοτροφή. Η ικανότητα της να δεσμεύει άζωτο, βελτιώνει τη θρεπτική κατάσταση του εδάφους, η οποία με τη σειρά της παρέχει ισορροπία στα συστήματα παραγωγής **(Sharker και Erskine, 2006)**.

Η καλλιέργεια της φακης θεωρείται μια από τις παλαιότερες της δυτικής Ασίας και εξακολουθεί να κατέχει εξέχουσα σημασία στην ινδική υποήπειρο, τη μέση Ανατολή, την νότια Ευρώπη καθώς και την ανατολική και βόρεια Αφρική. Σε πολλή μικρότερη κλίμακα καλλιεργείται στον νέο κόσμο, συμπεριλαμβανομένου του Καναδά, της Αμερικής και της Αυστραλίας **(FAOSTAT, 2005)**.

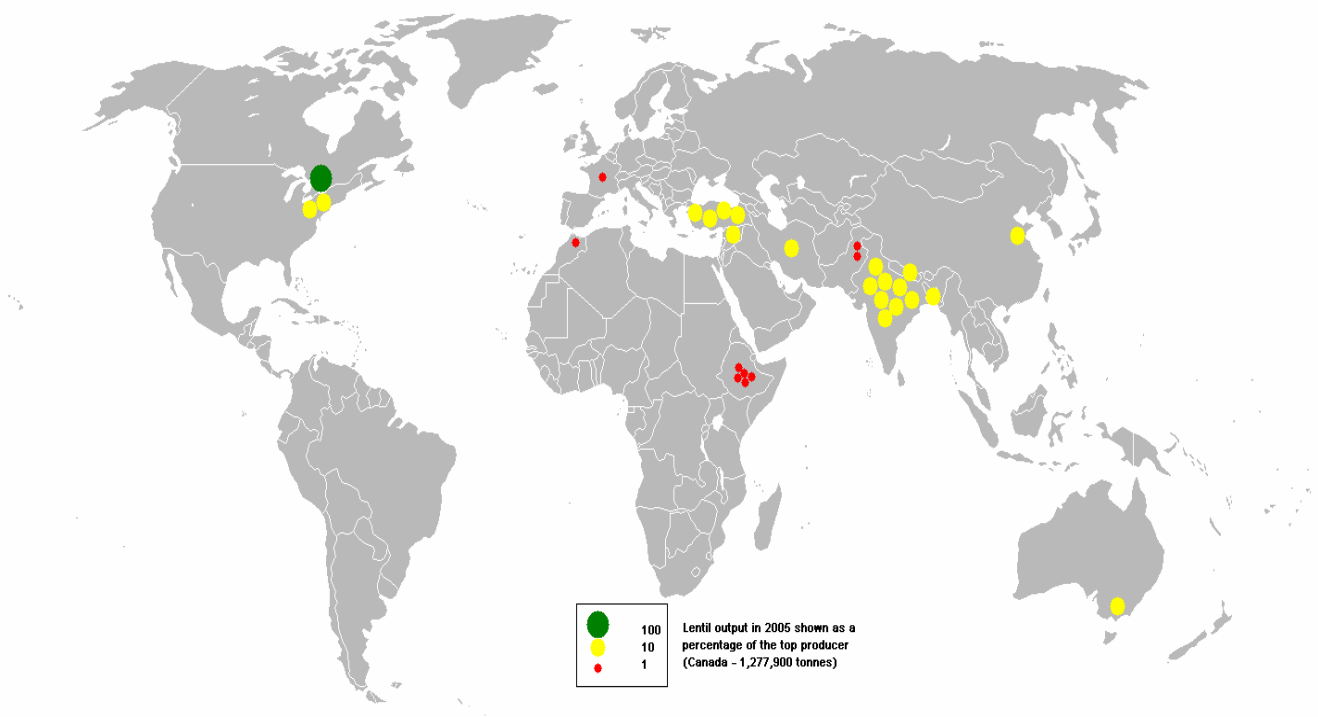
Τα αρχαιότερα ευρήματα φακής έχουν βρεθεί στην Ελλάδα και χρονολογούνται από το 11.000 π.Χ **(Zohary, 1972)**. Μικροί σπόροι φακής που χρονολογούνται από το 10.000 π.Χ, έχουν βρεθεί και με αρχαιολογικές ανασκαφές σε περιοχές της Συρίας αλλά πιθανότατα προέρχονται από άγρια είδη που συγκεντρώθηκαν παρά εξημερώθηκαν. Ωστόσο υπάρχουν ευρήματα για εξημέρωση που περιλαμβάνουν μεγάλους αριθμούς καρπών φακής, οι οποίοι βρέθηκαν στο βόρειο Ισραήλ και χρονολογούνται στο 8.800 π.Χ **(Cubero, 1981).** Το παλαιότερο εύρημα σπόρων φακής που είναι μεγαλύτεροι από τους άγριους σπόρους και επομένως κατηγορηματικά εξημερωμένοι, βρέθηκε στο Ιράν ¶και χρονολογείται από το 5500-5000 Π.Χ. **(Helbaek, 1969)**.¶

Οι φακές είναι αυτογονιμοποιούμενο, διπλοειδές είδος (2n=14), ανήκει στα όσπρια και έχει σχετικά μεγάλο γένωμα με 4.063 Mbp **(Arumugahathan and Earle, 1991)**. Συνήθως καλλιεργείται σε συστήματα αμειψισποράς μαζί με δημητριακά. Η συνολική έκταση της φακής έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια καθώς αυξήθηκε η παραγωγικότητα της καλλιέργειας **(FAO, 2005)**. Μεταξύ των αγρονομικών προβλημάτων, σημαντικότερο είναι η πτώση των ανθέων που περιορίζει σημαντικά την παραγωγή **(Robertson *et al.*, 1996).**

Οι αποδόσεις σε σπόρο κυμαίνονται από 450-675 kg/ha στις ξηρές περιοχές, μπορούν να αυξηθούν σε 2000 kg/ha με άρδευση, αλλά έχουν καταγραφεί και αποδόσεις πάνω από 3.000 kg/ha. ¶ Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε 28

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

ποικιλίες στο Νέο Δελχί, οι αποδόσεις κυμάνθηκαν από 558 έως 1.750 kg/ha, ενώ η παραγωγή σε ξηρή ουσία κυμάνθηκε από 2.667 έως 3.550 kg/ha **(Duke, 1981).**



Εικόνα 1 Παραγωγή φακής (2005).
Πράσινες περιοχές 100% , κίτρινες 10% και κόκκινες 1 %, ως ποσοστό της μεγαλύτερης χώρας παραγωγής (Καναδάς 1.277.900 tn).

¶Η σημαντικότερη χώρα παραγωγής φακής στον κόσμο, είναι η Ινδία με περίπου 1.160.000 εκτάρια που παράγουν 850,000 MT, ¶ενώ η παγκόσμια παραγωγή ήταν 2.875 εκατομμύρια MT σε περίπου 3,36 εκατομμύριο εκτάρια κατά τη διάρκεια του ίδιου έτους **(FAO, 1994).** Το 2005, η παραγωγή της φακής εκτιμήθηκε σε 3.3 εκατομμύρια μετρικούς τόνους από 3.8 εκατομμύρια εκτάρια με μέση απόδοση 850 Kg/ha **(FAO, 2005)**. ¶Άλλες σημαντικές παραγωγής χώρες είναι οι ΗΠΑ, η Αυστραλία, ο Καναδάς, το Πακιστάν, η Συρία, η Αργεντινή, η Χιλή, η Τουρκία, η Αιθιοπία και η Ισπανία. ¶Σε αυτές τις χώρες, η παραγωγή κυμαίνεται από 637 έως 1263 kg/ha ενώ η υψηλότερη παραγωγή είναι 5000 kg/ha και καταγράφηκε στη Γερμανία **(FAO, 1994).** ¶Η παγκόσμια παραγωγή της φακής αυξήθηκε περίπου 65% κατά τη διάρκεια των προηγούμενων 25 ετών **(FAO, 1996)**. ¶Στις αναπτυσσόμενες χώρες, η παραγωγή και η απόδοση της καλλιέργειας αυξήθηκε κατά 60% **(Hulse, 1994).** ¶Σημαντικές αυξήσεις στην παραγωγή έχουν καταγραφεί στην Τουρκία και τον Καναδά. ¶Στις ΗΠΑ, οι φακές καταλαμβάνουν περίπου 60.000 εκτάρια και από

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

το 1984 ως το 1993, η παραγωγή έφτασε τους 65000 τόνους **(Muehlbauer, 1996).** ¶Ο Καναδάς, η Τουρκία και οι ΗΠΑ είναι οι σημαντικότεροι εξαγωγείς **(Muehlbauer *et al.*, 1996)**.

Πίνακας 1 Οι 20 κυριότερες χώρες-εξαγωγείς φακής κατά τα έτη 1994 έως 2000 (κατάταξη σύμφωνα με το έτος 2000) σε ποσότητες MT.

Έτος / **Χώρα**	**1994**	**1995**	**1996**	**1997**	**1998**	**1999**	**2000**
Καναδάς	266,895	285,819	288,790	316,719	374,092	417,208	518,910
Ινδία	16,663	22,718	23,504	23,504	21,000	85,000	191,134
Αυστραλία	422	484	43	0	642	24,994	134,109
Τουρκία	293,218	140,423	246,142	127,150	154,010	105,223	99,109
ΗΠΑ	80,787	87,575	54,646	52,594	53,234	76,063	80,138
Κίνα	74,546	47,931	11,455	17,861	26,310	21,889	17,779
Συρία	67,458	28,043	160,665	133,588	55,600	39,550	16,457
Βέλγιο	4,119	7,373	3,227	5,821	4,053	3,515	5,469
Γαλλία	4,052	3,693	6,538	2,862	1,709	6,693	5,075
Ισπανία	757	1,960	2,211	1,569	2,306	2,221	3,150
Νεπάλ	9,024	2,117	10,936	15,443	30,567	20,000	2,365
Γερμανία	2,693	1,095	1,410	2,118	3,111	3,850	2,321
Αργεντινή	2,993	143	12	5	26	1,751	1,517
Κάτω χώρες	1,803	1,215	1,206	578	1,191	1,344	1,478
Νέα Ζηλανδία	1,512	2,758	1,649	520	919	969	838
Αίγυπτος	112	5,918	57	1,572	428	424	738
Ηνωμένο Βασίλειο	995	1,004	1,042	727	573	574	623
Μαρόκο	2,351	100	557	759	759	1,000	548
Σιγκαπούρη	910	421	493	347	176	237	186
Κένυα	12,572	3	51	1	253	190	10
Σύνολο	843,843	640,793	814,634	703,568	730,062	812,695	1,082,575

(FAO, 2000)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

2.1 Καταγωγή και ταξινόμηση της φακης (*Lens culinaris*)

Το κέντρο καταγωγής του είδους *Lens culinaris* είναι η εγγύς Ανατολή **(Zohary, 1972)** και τα είδη του γένους εξημερώθηκαν πρώτα σε αυτή την περιοχή **(Zohary and Hopf, 1973)**. Ο **Cubero (1981)** συμπέρανε ότι οι φακές εξαπλώθηκαν πρώτα στην περιοχή του Νείλου και τη Μέση Ανατολή ενώ στη συνέχεια στην κεντρική Ευρώπη και μετά στην Ινδική υποήπειρο και στη λεκάνη της Μεσογείου. Στη νότια και κεντρική Αμερική, εισήχθη κατά τα νεότερα χρόνια λόγω της άφιξης εκεί των Ισπανών. Τελευταία εισήχθη στις ΗΠΑ κατά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο και στον Καναδά το 1969.

Ο **Barulina (1930)** ήταν ο πρώτος, ο οποίος πρότεινε ότι οι μικρόκαρπες καλλιεργούμενες φακές προέρχονται από το είδος *Lens orientalis* και το κέντρο καταγωγής ήταν οι ορεινές περιοχές των Ιμαλάϊων. Οι φακές αξιοποιήθηκαν από τους ανθρώπους κατά τη διάρκεια των πρώτων σταδίων της νεολιθικής περιόδου. Ευρήματα σπόρων φακής σε αρχαιολογικές ανασκαφές υποδεικνύουν ότι ήταν ένα από τα πρώτα φυτά που αξιοποιήθηκαν από τον άνθρωπο **(Zohary and Hopf, 1988)**. Το παλαιότερο εύρημα σπόρου προέρχεται από τη Μέση Ανατολή, συνεπώς υπερισχύει η άποψη ότι η εξημέρωση της φακής συντελέστηκε σε αυτήν την περιοχή, μαζί με άλλα όσπρια και δημητριακά.

Ο άγριος πρόγονος *Lens culinaris ssp.orientalis* είναι κοινός τόσο στην Κεντρική Ασία όσο και στη Μέση Ανατολή. Όλο το μελετώμενο υλικό από τις περιοχές αυτές ανήκει σε κοινή ομάδα διασταύρωσης και έχουν την κλασική ταξινόμηση χρωμοσωμάτων, γεγονός που ενισχύει την άποψη του **Barulina** ότι η κεντρική Ασία είναι το κέντρο εξημέρωσης της φακής και που αντιτίθεται με την θέση των **Zohary (1972)** και **Williams *et al.* (1974)** ότι οι καλλιεργούμενες φακές προέρχονται από την εγγύς Ανατολή, όπου και καλλιεργήθηκε μαζί με άλλα λαχανικά κατά τον 7_o αιώνα π.Χ..

Το γένος *Lens* Miller είναι μέλος της φυλής *Vicieae*, της υποοικογένειας *Papilionacea*, της οικογένειας *Leguminosae*. Εκτός του γένους *Lens* στη φυλή *Vicieae* περιλαμβάνονται άλλα τρία είδη : το *Vicia*, το *Lathyrous.* και το *Pisum*. Από μορφολογική πλευρά εξακολουθεί να υπάρχει σχέση μεταξύ των γενών *Lens* και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Vicia. Ωστόσο το γένος *Lens* είναι πολύ μικρότερο και χαρακτηρίζεται από ετήσιο τύπο ανάπτυξης, μικρότερα λουλούδια, κάλυκες που χωρίζονται έντονα σε τμήματα και ευκρινώς ρομβοειδές συσπειρωμένο λοβό με ένα ή δυο στρογγυλούς και πεπλατυσμένους σπόρους **(Ladizinsky *et al.*, 1984).**

Το γένος *Lens* εμπεριέχει επτά τάξα σε έξι είδη **(Ferguson, 1998)**. Το είδος *Lens orientalis* θεωρείται ότι είναι ο πρόγονος του είδους *Lens culinaris* και τα δυο είδη διασταυρώνονται μεταξύ τους και παράγουν πλήρως γόνιμους απογόνους **(Muehlbauer *et al,* 2006)**. Σύμφωνα με την ικανότητα διασταύρωσης, τις φαινοτυπικές σχέσεις και την χρωμοσωμική παραλλακτικότητα, έχει προταθεί από τους **Ladizinsky και Abbo (1993)** ότι υπάρχουν δυο βιολογικά είδη μέσα στο γένος *Lens* : τα *Lens culinaris* και *Lens nigricans* με λίγα υποείδη. Ωστόσο, πρόσθετες πληροφορίες υποδεικνύουν ότι τα προτεινόμενα υποείδη είναι ξεχωριστά είδη. Το 1997, δύο νέα είδη αναγνωρίστηκαν στο γένος *Lens*: το *Lens tumentosus* που διαχωρίστηκε από το *Lens culinaris subsp.orienalis* βάση των λοβών του και ενός μικρού δορυφόρου που υπήρχε σε ένα μικρό ασύμμετρο χρωμόσωμα του **(Ladizinsky *et al.*, 1997)**. Το *Lens lamottei* το οποίο περιγράφηκε από τον **Czefranove (1971)**, βρέθηκε ότι είναι το ίδιο με έναν διαφοροποιημένο καρυότυπο που αναγνωρίστηκε εντός του είδους *Lens nigricans* από τον **Ladizinsky *et al.* (1984)** και τώρα αναγνωρίζεται ως ξεχωριστό τάξα **(van Oss *et al.*, 1997)**. Αποτέλεσμα αυτής της έρευνας, με βάση την ικανότητα διασταύρωσης, των φαινοτυπικών σχέσεων και μορφολογικών δεικτών **(Ferguson and Erskine, 2001)**, το γένος *Lens* περιλαμβάνει τα παρακάτω είδη τα οποία φαίνονται στον πίνακα 2.

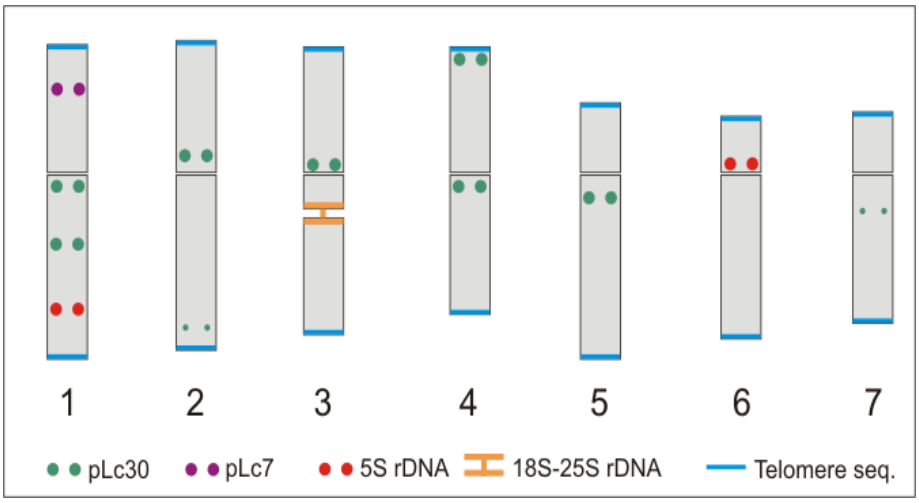
Πίνακας 2 Είδη του γένους Lens (Ferguson and Erskine, 2001)

Lens culinaris ssp.*culinaris* (Medicus)
Lens culinaris ssp.orientalis (Boiss.)
Lens odemensis (Ladizinsky)
Lens tomentosus (Ladizinsky)
Lens lamottei (Czefranove)
Lens ervoides (Brign.) Grande
Lens nigricans (M.Bieb) Godron

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Από πλευράς ικανότητας διασταύρωσης για βελτιωτικούς σκοπούς, τα είδη *Lens* χωρίζονται σε τρεις ομάδες: τα *L.culinaris* και *L.odemensis* που είναι η πρωτεύουσα δεξαμενή γονιδίων, τα *L.ervoides* και *L.nigricans* που ανήκουν στην δευτερεύουσα δεξαμενή γονιδίων και τα *L. lamottei* και *L. tomentosus* που ανήκουν στην τριτεύουσα δεξαμενή γονιδίων **(Muehlbauer and McPhee, 2005)**. Διασταυρώσεις μεταξύ των μελών διαφορετικών δεξαμενών γενικά αποτυγχάνουν, επειδή αποβάλλεται το ενδοειδικό έμβρυο. Παρόλα αυτά, η διάσωση εμβρύου έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχημένα και έχουν παρατηρηθεί βιώσιμα υβρίδια μεταξύ των ομάδων **(Ladizinsky *et al.*, 1985)**.

Όλα τα είδη του γένους *Lens* έχουν σχεδόν τον ίδιο καρυότυπο, ο οποίος περιλαμβάνει 3 ζεύγη μετακεντρικών ή υπομετακεντρικών χρωμοσωμάτων, ένα ζευγάρι μετακεντρικών χρωμοσωμάτων με μια δευτερογενή περίσφιξη πολύ κοντά στο κεντρομερές καθώς και τρία ζευγάρια ακροκεντρικά χρωμοσώματα **(Ladizinsky and Abbo, 1993)**.



Εικόνα 2 Ο καρυότυπος του είδους Lens culinaris

Οι φακές μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με την εποχή σποράς τους ως εαρινές και χειμερινές, ενώ ανάλογα με το μέγεθος των σπόρων τους, κατατάσσονται σε δύο ομάδες. Στην πρώτη ομάδα¶ ανήκει το *Lens culinaris ssp.macrosperma* (Baumb.) και περιλαμβάνει τις μεγαλόσπερμες ποικιλίες με μεγάλους πεπλατυσμένους σπόρους (διαμέτρου 6-9 mm) και μεγάλα λευκά ή μπλε άνθη.¶ Στην δεύτερη ομάδα ανήκουν οι μικρόσπερμοι τύποι του *Lens culinaris ssp.microsperma* (Baumb.) που έχουν μικρά ιώδη άνθη με άσπρους ή ρόδινους κυρτούς λοβούς και σπόρους που κυμαίνονται από 2-6 mm **(Barulina, 1930)**. Οι μεγαλόσπερμοι τύποι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

παρατηρούνται στο βόρειο ημισφαίριο και οι μικρόσπερμοι στη νοτιοδυτική Ασία και την Αφρική **(Muehlbauer *et al.*, 1985).** ¶

2.2 Γεωγραφική εξάπλωση

Το εύρος εξάπλωσης των άγριων ειδών φακής διαμορφώνεται σε γεωγραφικό πλάτος από 72^0 S έως 45^0 N και σε γεωγραφικό μήκος από 70^0 E έως 15^0 W. Περιλαμβάνει τη λεκάνη της Μεσογείου και εκτείνεται στην ανατολή έως το Τατζικιστάν. Οι άγριες φακές αναπτύσσονται σχεδόν αποκλειστικά σε πρωτεύοντα περιβάλλοντα όπου δεν υποβάλλονται σε ανταγωνισμό με άγρια μη ενδημικά είδη φυτών. Συνήθως οργανώνονται σε μικρούς, χαλαρούς διασπώμενους πληθυσμούς. Εδώ, η πυκνότητα φυτών ανά θέση μπορεί να ποικίλει πολύ μεταξύ των ετών κυρίως λόγω κλιματικών συνθηκών **(Ladizinsky *et al.*, 1985).**

Το είδος *Lens ervoides* περιορίζεται κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου και είναι αναλογικά κοινό στο Ισραήλ, τη Συρία, την Τουρκία, στα Αδριατικά παράλια της πρώην Γιουγκοσλαβίας, τη Βόρεια Ιταλία και λιγότερο στην Ισπανία και την Αλγερία. Απομονωμένοι πληθυσμοί υπάρχουν στην Αιθιοπία και την Ουγκάντα **(Ladizinsky *et al.*, 1985).**. Το είδος συνήθως αναπτύσσεται σε σκιερά ή μερικώς σκιερά περιβάλλοντα, κάτω από φυλλώματα δέντρων ή μεταξύ θάμνων. Οικολογικά το είδος *Lens ervoides* διαφέρει από τα άλλα άγρια είδη του γένους, αλλά μπορεί να αναπτύσσεται κοντά σε αυτά όταν συμπίπτουν τα ενδιαιτήματα. Το είδος *Lens ervoides* έχει βρεθεί κοντά με το *ssp.orientalis* στο Ισραήλ και την Τουρκία, με το *Lens odemensis* σε μια τοποθεσία στο Ισραήλ και με το *Lens nigricans* σε δυο τοποθεσίες στην πρώην Γιουγκοσλαβία **(Ladizinsky *et al.*, 1985).**

Το *Lens nigricans* είναι μεσογειακό είδος, που απαντάται κυρίως στη Νότια Ευρώπη. Ανατολικά εκτείνεται έως την χερσόνησο της Κριμαίας και την Γεωργία ενώ δυτικά έως το Λας Πάλμας στα κανάρια νησιά, που είναι συγχρόνως και τα όρια του είδους στο νότο. Το είδος αυτό απαντάται σποραδικά και στην Αλγερία, το Μαρόκο καθώς και στις ιταλικές και γαλλικές Άλπεις. Αναπτύσσεται σε δυο διαφορετικά οικολογικά περιβάλλοντα: σε ανοιχτά ή μερικώς ανοιχτά, σκιερά ενδιαιτήματα, μαζί με άλλα γνωστά ετήσια ψυχανθή, κυρίως τριφύλλι και μηδική, σε ασβεστολιθικά, γρανιτικά και αλσατικά πετρώματα που απαντώνται σε παραθαλάσσιες περιοχές της Αδριατικής της πρώην Γιουγκοσλαβίας χωρίς υψόμετρο έως περιοχές της νότιας Ισπανίας με υψόμετρο 1200 m. Το άλλο περιβάλλον είναι οι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

εγκαταλειμμένες φυτείες και αναβαθμίδες στην Ελλάδα, Γιουγκοσλαβία, Γαλλία και Ισπανία, σε αναβαθμίδες αμπελοχώραφων στις ιταλικές Άλπεις και γύρω από ερείπια στην Ιταλία, Γαλλία και Ισπανία. Οι πληθυσμοί του είδους σε αυτά τα δευτερογενή ενδιαιτήματα είναι πλήρως ενδημικοί και δεν επεκτείνονται σε γειτονικά κύρια ενδιαιτήματα τα οποία είναι προφανώς κατάλληλα για το είδος *Lens nigricans* **(Ladizinsky *et al.*, 1985).**

Το είδος *Lens odemensis* περιγράφηκε πρόσφατα και αναγνωρίστηκε αρχικά σε δυο τοποθεσίες στο Ισραήλ, μετά στην Τουρκία και αργότερα σε φυτική συλλογή σε δυο άλλες περιοχές στην Τουρκία και στην Χίο. Το είδος έχει πρόσφατα συλλεχτεί και στην Συρία. Αναπτύσσεται κυρίως σε ανοιχτά ενδιαιτήματα φυτών μαζί με άλλα ετήσια ψυχανθή όπως βίκο, μηδική και τριφύλλι. Στο Ισραήλ και τη Συρία απαντάται σε επιφανειακά εδάφη που προέρχονται από βαλσατικά πετρώματα και σε υψόμετρο 700 έως 1400 m. Στη Δυτική Τουρκία απαντάται σε αναβαθμίδες, σε μερικώς σκιερές θέσεις κυρίως σε πευκοδάση σε υψόμετρο από 0 έως 800 m. Στη νότια Τουρκία μεγαλώνει σε βαλσατικά και μεταμορφωμένα πετρώδη εδάφη **(Ladizinsky, 1989) .**

Το είδος *Lens culinaris ssp.orientalis* είναι ο άγριος πρόγονος της καλλιεργουμένης φακής. Πληθυσμοί του *Lens culinaris ssp.orientalis* καταλαμβάνουν θέση από την Τουρκία έως το Τατζικιστάν και από το Ιράν έως της χερσόνησο της Κριμαίας. Γενικά περιορίζεται σε πρωτεύοντα ανοιχτά ή μερικώς ανοιχτά ενδιαιτήματα, σε επιφανειακά πετρώδη εδάφη τα οποία προέρχονται από βαλσατικά και μεταμορφωμένα πετρώματα και σε υψόμετρα που κυμαίνονται από 500 έως 1700 m. Συνήθως καλλιεργείται μαζί με είδη ετησίου βίκου, τριφυλλιού, μηδικής και λαθουριού. Το υποείδος *orientalis* είναι επίσης κοινό στο Τουρκμενιστάν, Ουζμπεκιστάν και Τατζικιστάν. Το εύρος κατανομής του επικαλύπτει αυτό των *Lens odemensis*, *Lens nigricans* και *Lens ervoides*, άλλα σπάνια αναπτύσσονται γειτονικά. Το είδος έχει βρεθεί γειτονικά με το *Lens ervoides* στο Ισραήλ και την Τουρκία άλλα ποτέ μαζί με το *Lens odemensis* ή το *Lens nigricans* **(Ladizinsky, 1989) .**

2.3 Γενετική παραλλακτικότητα

Μια πιθανή πηγή γενετικής παραλλακτικότητας της καλλιέργειας της φακής είναι τα συγγενή άγρια είδη. Είναι βασικό τμήμα της δεξαμενής γονιδίων των καλλιεργούμενων φυτών. Είναι πιθανό ότι κατέχουν γενετική παραλλακτικότητα,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

όπως ανθεκτικότητα σε διάφορες ασθένειες και καλύτερη ανεκτικότητα σε περιβαλλοντικές καταπονήσεις, χαρακτηριστικά τα οποία εκλείπουν από τις καλλιεργούμενες καλλιέργειες. Η ορθολογική αξιοποίηση της άγριας δεξαμενής γονιδίων εξαρτάται από τη γενετική συγγένεια μεταξύ των καλλιεργούμενων και των άγριων φυτών και την διαθεσιμότητα των μεθόδων μεταφοράς γονιδίων **(Davies *et al.*, 2007)**.

Το γενετικό δυναμικό της δεξαμενής γονιδίων των άγριων ειδών φακής δεν έχει εκτιμηθεί διεξοδικά. Πηγές ανθεκτικότητας για την σκωρίαση, τη βερτισιλίωση και την ασκοχύτωση έχουν αναγνωριστεί στην άγρια δεξαμενή γονιδίων **(Ahmad *et al.*, 1997b).** Ανθεκτικότητα στην βερτισιλίωση και την ασκοχύτωση έχει βρεθεί και στο είδος *Lens culinaris ssp.orientalis* **(Bayaa *et al.*, 1994, 1995).** Μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στο κρύο έχει βρεθεί στο *Lens culinaris ssp. orientalis* από ότι στις καλλιεργούμενες φακές **(Hamdi *et al.*, 1996)**. Η άγρια δεξαμενή γονιδίων, συγκεκριμένα του *Lens ervoides* και του *Lens odemensis* έχει εμφανίσει ανθεκτικότητα στη ξηρασία αναφορικά με την μικρή σχετική ελάττωση της απόδοσης κάτω από στρες ξηρασίας **(Hamdi and Erskine, 1996).**

¶Ορισμένοι γενότυποι φακής που προέρχονται από το κέντρο καταγωγής της μέσης Ανατολής, έχουν ανθεκτικότητα σε αλκαλικά εδάφη, ασθένειες, μύκητες, ιούς, έντομα, ξηρασία, υψηλό pH, αλατότητα και φτωχά εδάφη **(Duke, 1981; Muehlbauer *et al.*, 1985).** ¶Μερικές ποικιλίες έχουν υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στο ψύχος. ¶Τα στοιχεία για διάφορα αγρονομικά σημαντικά γνωρίσματα συμπεριλαμβανομένης της ανθεκτικότητας σε ασθένειες και παράσιτα, της προσαρμοστικότητας και ανθεκτικότητας σε διάφορες αβιοτικές καταπονήσεις και στην παραγωγή βιομάζας έχουν εν μέρει τεκμηριωθεί **(Robertson, 1996)**.

Διάφορες μελέτες έχουν διεξαχθεί για να εκτιμήσουν τις φαινοτυπικές σχέσεις εντός του γένους *Lens*. Αντικρουόμενα αποτελέσματα έχουν εμφανιστεί και φαίνεται να εξαρτώνται από το γενετικό υλικό και την τεχνική που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση της γενετικής παραλλακτικότητας **(Ahmad and McNeil, 1996)**. Μορφολογικά το είδος *Lens lamottei* είναι στενά συσχετιζόμενο με το *Lens odemensis* και συσχετιζόμενο με τα είδη *Lens odemensis* και *Lens culinaris* με βάση ισοενζυμική έρευνα **(Hoffman *et al.*, 1986)**, ενώ εμφανίζεται ως το πιο απομακρυσμένο τάξα σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα σύμφωνα με ανάλυση RAPD **(Ferguson, 1998)**. Η αξιολόγηση των σχέσεων των ειδών με το *Lens tomentosus* με βάση βιοχημικές ή μοριακές τεχνικές δεν έχει ακόμα διεξαχθεί. Υψηλή όμως γενετική

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

παραλλακτικότητα έχει αναφερθεί εντός των ειδών *Lens nigricans, Lens odemensis* και *ssp.orientalis*, τα οποία είναι συγγενή με τις καλλιεργούμενες φακές. Τα *Lens lamottei* και *Lens ervoides* είναι τα μόνα είδη, τα οποία έχει αναφερθεί ότι έχουν παρόμοια ή πιο περιορισμένη γενετική βάση σε σχέση με τις καλλιεργούμενες φακές **(Ferguson, 1998).**

Η γεωγραφική κατανομή της γενετικής παραλλακτικότητας όπως αποκαλύφθηκε από τις μοριακές τεχνικές, έχει χαρτογραφηθεί σε τέσσερα τάξα άγριας φακής. Αναγνωρίστηκαν κέντρα παραλλακτικότητας καθώς και περιοχές μικρής γενετικής παραλλακτικότητας **(Ferguson, 1998)**. Για το είδος *Lens culinaris ssp.orientalis* υπάρχουν δυο κέντρα παραλλακτικότητας, ένα στη νοτιοανατολική Τουρκία και τη βορειοδυτική Συρία και ένα στη νότια Συρία και την βόρεια Ιορδανία. Οι πληθυσμοί του είδους αυτού από το Ιράν, την κεντρική Ασία και την βόρεια Τουρκία είναι γενετικά πολύ όμοιοι και συμπίπτουν με τον κοινό οικότυπο που αναγνωρίστηκε από τον **Ladizinsky (1984)**. Το κέντρο παραλλακτικότητας του είδους *Lens odemensis* επικαλύπτεται με το νότιο κέντρο παραλλακτικότητας του *Lens culinaris ssp.orientalis* στη νότια Συρία και βόρεια Ιορδανία. Για το είδος *Lens ervoides* υπάρχει μια περιοχή υψηλής γενετικής παραλλακτικότητας κατά μήκος της ανατολικής ακτής της Μεσογείου, άλλα οι πληθυσμοί στις παράκτιες περιοχές της πρώην Γιουγκοσλαβίας έχουν ιδιαιτέρως στενή γενετική βάση **(Ferguson, 1998).**

Ένα ξεκάθαρο κέντρο παραλλακτικότητας για το *Lens nigricans* υπάρχει στην νοτιοδυτική Τουρκία με περιοχές μικρής παραλλακτικότητας κατά μήκος των ακτών της πρώην Γιουγκοσλαβίας, της Γαλλίας και της Ισπανίας. Τα κέντρα παραλλακτικότητας της φακής χαρακτηρίζονται και από υψηλή πληθυσμιακή παραλλακτικότητα **(Ferguson, 1998).**

2.4 Θρεπτική αξία και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

Οι φακές είναι ένα όσπριο¶ που καλλιεργείται για το σπόρο του. Οι σπόροι έχουν σχετικά υψηλό περιεχόμενο πρωτεΐνης, υδατανθράκων και θερμίδων έναντι άλλων οσπρίων και επιλέγεται λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη και του γρήγορου χρόνου μαγειρέματος **(Muehlbauer *et al.*, 1985).** ¶Χρησιμοποιούνται ως κύριο πιάτο, δευτερεύον ή σε σαλάτες. ¶Οι σπόροι μπορούν να τηγανιστούν ενώ τ¶ο αλεύρι χρησιμοποιείται για σούπες, πουρέ ενώ αναμιγνύεται και με δημητριακά για δημιουργία ψωμιού ¶και ως τροφή για τα νήπια **(Williams and Singh, 1988)**.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

¶Λαμβάνοντας υπόψη ¶την έκταση της γενετικής παραλλακτικότητας σε αυτήν την καλλιέργεια και ¶την καταλληλότητα της για ανάπτυξη σε θερμά, ξηρά κλίματα ¶υπάρχει μεγάλη δυνατότητα για αγρονομική και θρεπτική ¶βελτίωση, που θα μπορούσε να υποκινήσει αύξηση της ¶κατανάλωσης τους **(Savage, 1988).**

¶Η συνολική ¶παραγωγή των οσπρίων στην Ινδία (που είναι η κύρια χώρα παραγωγής) έχει παραμείνει σταθερή κατά τη διάρκεια των δύο προηγούμενων δεκαετιών, ενώ ¶ο πληθυσμός έχει αυξηθεί εντυπωσιακά κατά τη διάρκεια της ίδιας περιόδου. ¶Κατά συνέπεια¶, η κατά κεφαλήν διαθεσιμότητα των οσπρίων έχει μειωθεί σημαντικά. ¶Σήμερα καταβάλλονται προσπάθειες για να αναπτυχθούν ποικιλίες οσπρίων υψηλότερης απόδοσης, ώστε να αυξηθεί η παραγωγή και η κατά κεφαλήν διαθεσιμότητά τους ενώ παράλληλα να βελτιωθεί η θρεπτική τους αξία. ¶Εκτός από την απόδοση ¶και την παραγωγικότητα, τα θρεπτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των¶ οσπρίων είναι πολύ σημαντικά από καταναλωτική άποψη. ¶Από άποψη θρεπτικής αξίας¶, η πρωτεΐνη, τα αμινοξέα, το ασβέστιο, ο σίδηρος και οι βιταμίνες, ¶έχουν μεγάλη σημασία στα όσπρια λόγω των συμπληρωματικών επιδράσεων τους¶ σε σχέση με τα δημητριακά. ¶Συγκριτικά όσο πιο σύντομος είναι ο χρόνος μαγειρέματος και όσο χαμηλότεροι οι αντιθρεπτικοί ¶παράγοντες, καθιστούν τις φακές καταλληλότερες για ¶ανθρώπινη κατανάλωση σε σχέση με τα άλλα όσπρια. ¶¶Οι βελτιωτές καθοδηγούν τις προσπάθειες με διασταυρώσεις που έχουν στόχο την αναβάθμιση ¶της χημικής και θρεπτικής αξίας του γενετικού υλικού που έχουν στη διάθεσή τους ¶ **(Solanki *et al.*, 1999).**

Αν και η σύσταση των σπόρων φακής έχει ευρέως αναφερθεί στην βιβλιογραφία **(Dhindsa, Sood and Chaudhary, 1985; Naivikul and D'Appolonia, 1979; Sosulski, Garratt and Slinkard, 1976)**, τα στοιχεία δεν είναι πάντα συγκρίσιμα λόγω των διαφορών του περιβάλλοντος και των μεθόδων ανάλυσης που χρησιμοποιούνται. Σε πολλές περιπτώσεις οι αναλύσεις βασίζονται σε ένα μόνο δείγμα. Το περιεχόμενο σε πρωτεΐνη φαίνεται ότι είναι πολύ ευαίσθητο σε περιβαλλοντικές πιέσεις όπως βροχοπτώσεις, εντάσεις φωτός, την επιμήκυνση της καλλιεργητικής περιόδου, τη διάρκεια της μέρας, τη θερμοκρασία αλλά και σε αγρονομικούς παράγοντες όπως την πυκνότητα των φυτών, τα ζιζάνια και την γονιμότητα του εδάφους **(Mclean *et al.*, 1974)**. Αναλυτικά στοιχεία πάνω στην χημική σύσταση και τη θρεπτική αξία των ποικιλιών φακής έχουν αναφερθεί **(Petterson *et al.*, 1997)**. Εκτός από περιορισμένα στοιχεία από τον **Bhatty (1984)**,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

κυρίως για το περιεχόμενο σε πρωτεΐνη, δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία για την σχέση της θρεπτικής σύστασης με τις ποικιλίες ή τις συνθήκες ανάπτυξης των φακών.

Η συγκέντρωση των σπόρων φακής σε πρωτεΐνη κυμαίνεται σύμφωνα με τις υπάρχουσες πληροφορίες από 22-34,6%, και 100 g ξηρών σπόρων περιέχουν 340-346 g θερμίδες, 12% υγρασία, 20.2 g πρωτεΐνης, 0.6 g λίπους, 65.0 g συνολικών υδατανθράκων, 4 g ίνα, 2.1 g τέφρας, 68 mg ασβεστίου, 325 mg φωσφόρου, 7.0 mg σιδήρου, 29 mg νατρίου, 780 mg καλίου, 0.46 mg θειαμίνης, 0.33 mg ριβοφλαβίνης και 1.3 mg νιασίνης **(Muehlbauer *et al.*, 1985).** Ανάμεσα στις χειμερινές καλλιέργειες οσπρίων, οι φακές είναι η πλουσιότερη σε σημαντικά αμινοξέα (λυσίνη, αργινίνη, λευκίνη και αμινοξέα που περιέχουν θείο) **(Williams *et al.*, 1994).** ¶Η περιεκτικότητα σε άμυλο κυμαίνεται από 35-53% στους σπόρους και 42% στην ξηρή ουσία ενώ η αμυλόζη ποικίλλει από 20,7 έως 38,5% του αμύλου του σπόρου **(Hulse, 1994).**

Πίνακας 3 Σύσταση σπόρων φακής σε μακροστοιχεία και ιχνοστοιχεία

Θρεπτικό στοιχείο	**Αξία ανά 100 g εδώδιμου τμήματος**	**Μονάδα μέτρησης**
Νερό	11.79	g
Ενέργεια	345	Kcal
Πρωτεΐνες	24.95	g
Ολικά λιπίδια (λιπαρά)	2.17	g
Τέφρα	1.94	g
Υδατάνθρακες (διαφοροποιημένοι)	59.15	g
Ίνες (διαιτητικές)	10.8	g
Ασβέστιο, Ca	41	mg
Σίδηρος, Fe	7.56	mg
Μαγνήσιο, Mg	72	mg
Φώσφορος, P	294	mg
Κάλιο, K	578	mg
Νάτριο, Na	7	mg
Ψευδάργυρος, Zn	3.90	mg
Χαλκός, Cu	1.303	mg
Μαγγάνιο, Mn	1.417	mg
Σελήνιο, Se	8.2	mcg
Χρώμιο, Cr	4.9	mcg

(USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, 2004)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

¶ ¶Οι φακές είναι καλή πηγή βιταμινών Β και περιέχουν ανά 100 g: ¶0,26 mg θειαμίνης, 0,21 mg ριβοφλαβίνης, 1,7 mg νικοτινικού οξέος, 223 mg χολίνης, 107 mg φολικού οξέος, 130 mg ινοσιτόλης, 1,6 mg παντοθενικού οξέος, 13,2 mg βιοτίνης, και 0,49 mg πυριδοξίνης. ¶Οι βιταμίνες, εκτός από τα φολικά και παντοθενικά οξέα, αυξάνουν εμφανώς κατά τη διάρκεια της βλάστησης. ¶Οι ξηροί φλοιοί περιέχουν 11,1% πρωτεΐνη (το 1,3% εύπεπτη), 0,7% λίπος, 47,5% υδατάνθρακες, 25,6% ίνες και 3,1% τέφρα **(Duke, 1981)**.¶

Πίνακας 4 Σύσταση σπόρων φακής σε βιταμίνες

Βιταμίνη	**Αξία ανά 100 g εδώδιμου τμήματος**	**Μονάδα μέτρησης**
Βιταμίνη C, ολικό ασκορβικό οξύ	1.7	mg
Θειαμίνη	0.510	mg
Ριβοφλαβίνη	0.106	mg
Νιασίνη	1.495	mg
Παντοθενικό οξύ	0.348	mg
Βιταμίνη B-6	0.403	mg
Φολικό οξύ, ολικό	204	mcg
Βιταμίνη B-12	0.00	mcg
Βιταμίνη A, IU	58	IU
Βιταμίνη A, RAE	3	mcg RAE
Ρετινόλη	0	mcg
Καροτένιο, β	35	mcg
Καροτένιο, α	0	mcg

(USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, 2004)

¶

Το 90% της πρωτεΐνης της φακής βρίσκεται στις κοτυληδόνες, με τις λευκωματίνες και τις σφαιρίνες να είναι οι σημαντικότερες. ¶Οι συντελεστές πεπτικότητας για τη φακή είναι σχετικά υψηλοί και κυμαίνονται από 78-93%, ενώ η βιολογική τους αξία κυμαίνεται από 32-58%. Το ελαϊκό, παλμιτικό και λινελαϊκό είναι τα κυρίαρχα λιπαρά οξέα **(Hulse, 1994)**. ¶Οι φλοιοί, τα ξηρά φύλλα, οι μίσχοι και τα υπολείμματα, χρησιμοποιούνται ως ζωοτροφή. ¶Τα υπολείμματα των φακών περιέχουν περίπου 10,2% υγρασία, 1,8% λίπος, 4,4% πρωτεΐνη, 50% υδατάνθρακες, 21,4% ίνα και 12,2% τέφρα **(Muehlbauer *et al.*, 1985)**. ¶Σύμφωνα με τον **Muehlbauer *et al.*, (1985)**, με μείωση της παραγωγής των καλλιεργειών χορτονομής κάτω από το επιτρεπόμενο όριο στην αγορά, τα υπολείμματα φακής απέκτησαν ίση ή

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

καλύτερη τιμή από τους σπόρους της σε κάποιες χώρες της μέσης ανατολής. ¶Οι πράσινες καλλιέργειες δημιουργούν πολύτιμη χλωρή λίπανση και οι ¶σπόροι τους είναι πηγή αμύλου για τις βιομηχανίες κλωστοϋφαντουργικών προϊόντων και εκτύπωσης **(Kay, 1979).**

Οι πρωτεΐνες είναι σημαντικά συστατικά των σπόρων των οσπρίων. ¶Οι θρεπτικές και λειτουργικές ιδιότητές τους έχουν σημαντικές επιπτώσεις στη γενική ποιότητα του σπόρου και στην απόδοση τους. ¶Οι **Duranti και Gius (1997)** εξέτασαν τις πρωτεΐνες των σπόρων των οσπρίων, λαμβάνοντας υπόψη τις μοριακές και θρεπτικές ιδιότητές τους καθώς και άλλες ενώσεις μη πρωτεϊνικής προέλευσης που έχουν επιπτώσεις στη χρησιμοποίηση των οσπρίων ως τρόφιμα. Οι ουσίες αυτές ¶εξετάστηκαν για τη συμμετοχή τους στον κύκλο ζωής του σπόρου και στην ανθρώπινη διατροφή.

Πίνακας 5 Σύσταση σπόρων φακής σε αμινοξέα

Αμινοξύ	**Αξία ανά 100 g εδώδιμου τμήματος**	**Μονάδα μέτρησης**
Τρυπτοφάνη	0.223	g
Θρεονίνη	0.895	g
Ισολευκίνη	1.078	g
Λευκίνη	1.809	g
Λυσίνη	1.740	g
Μεθειονίνη	0.212	g
Κυστεινη	0.327	g
Φαινυλαλανίνη	1.230	g
Τυροσίνη	0.667	g
Βαλίνη	1.238	g
Αργινίνη	1.928	g
Ιστιδίνη	0.702	g
Αλανίνη	1.042	g
Ασπαρτικό οξύ	2.758	g
Γλουταμινικό οξύ	3.868	g
Γλυκίνη	1.014	g
Προλίνη	1.042	g
Σερίνη	1.150	g

(USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, 2004)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης περιβαλλοντικών συνθηκών για μελέτη της γενετικής και περιβαλλοντικής παραλλακτικότητας και της ¶σύνθεσης ανόργανων στοιχείων, αμινοξέων και αντιθρεπτικών ουσιών. ¶Επιλέχτηκαν τέσσερις ποικιλίες φακής, με τρία επίπεδα πρωτεΐνης η κάθε μια¶. ¶Η περιεκτικότητα σε ακατέργαστη πρωτεΐνη κυμάνθηκε από 24,3% έως 30.2%. Η ανάλυση παραλλακτικότητας έδειξε ότι τόσο οι ποικιλίες όσο και το περιβάλλον ¶είχαν επίδραση στην περιεκτικότητα σε άμυλ¶ο. Σημαντικές διαφορές στις ποικιλίες βρέθηκαν για το ¶ADF (acid detergent fibre), το NDF (neutral detergent fibre), το λίπος, την τέφρα, το ασβέστιο (Ca), το χαλκό (Cu), το κάλιο (K), το μαγνήσιο (Mn), το φώσφορο (P) και τον ψευδάργυρο (Zn). ¶Η πρωτεΐνη παρουσίασε σημαντικές διαφορές στα αμινοξέα αργινίνη και τρυπτοφάνη. Οι ποικιλίες ¶είχαν σημαντικές διαφορές στη σακχαρόζη, τη ¶σταχυόζη, το φυτικό οξύ, τις τανίνες και τους ανασταλτικούς παράγοντες τρυψίνης (TIA). ¶Τα σημαντικά συστατικά δηλαδή η πρωτεΐνη και η περιεκτικότητα σε άμυλο συσχετίστηκαν αντιστρόφως ανάλογα. ¶Το κάλιο, το μαγνήσιο (Mn), ο φώσφορος (P) και ο ψευδάργυρος (Zn) συσχετίστηκαν αρνητικά σε σχέση με την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. ¶Η τρυπτοφάνη ήταν το αμινοξύ με τη μεγαλύτερη έλλειψη και ¶τα αμινοξέα που περιείχαν θείο ήταν τα αμέσως πιο περιορισμένα, στις φακές. Η ραφινόζη συσχετίστηκε θετικά με το άμυλο ¶ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με το ADF **(Wang *et al.*, 2006)**.

Ο μέσος όρος ακατέργαστης πρωτεΐνης στη φακή που παρήχθηκε στον Καναδά μεταξύ 1998 και 2003, κυμάνθηκε από 25.8 έως 27.1 %. Η διακύμανση στο περιεχόμενο της πρωτεΐνης στα μεμονωμένα δείγματα, επιβεβαιώθηκε από τους παραγωγούς και κυμάνθηκε από 21.4 έως 30.0 %. Ενώ το συνολικό περιεχόμενο της πρωτεΐνης αυτής δεν διέφερε πολύ ανά έτος, η μεγάλη παραλλακτικότητα μεταξύ των μεμονωμένων δειγμάτων μέσα σε ένα έτος δείχνει τη μεγάλη επίδραση που έχει ο συνδυασμός των περιβαλλοντικών συνθηκών, της αγρονομικής πρακτικής και των γενετικών παραγόντων. Μεγάλες διαφορές στο περιεχόμενο σε πρωτεΐνη παρατηρηθήκαν και μεταξύ δειγμάτων της ίδιας ποικιλίας. Για αυτό και προτείνεται ότι εντός της ίδιας ποικιλίας, το περιεχόμενο της ακατέργαστης πρωτεΐνης μπορεί να θεωρηθεί ως δείκτης της γενικής επίδρασης του περιβάλλοντος. Η γενική επίδραση του περιβάλλοντος περιλαμβάνει τόσο τις μη ελεγχόμενες επιδράσεις του καιρού όπως τη θερμοκρασία και τη βροχή όσο και την πυκνότητα φύτευσης, τη λίπανση και τον εμβολιασμό **(Wang and Daun, 2003)**.¶

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Δείγματα φακής που αναπτύχθηκαν κάτω από συνθήκες αγρού, συγκρίθηκαν για τη φυσική και χημική σύνθεση των σπόρων, των κυτταρικών τοιχωμάτων (CW) και την πηκτίνη που απομονώθηκε από αυτά. Αποφλοιωμένα και μη, βρασμένα πολύ ή όχι τα δείγματα είχαν παρόμοιο συντελεστή ενυδάτωσης. Τα μειονεκτικά δείγματα που δεν ήταν πολύ βρασμένα, είχαν 44.1 % μικρότερη ποσότητα φυτικού οξέος (PA) από ότι τα καλά βρασμένα. Τα κυτταρικά τοιχώματα των σπόρων απομακρύνθηκαν το ίδιο (3.8-4.2 %) εξίσου τόσο από τα καλοβρασμένα όσο και από τα λιγότερο βρασμένα δείγματα. Στην περίπτωση αυτή, περιείχαν 5.8-6.5 % πρωτεΐνη, 0.5-1.2 % άμυλο, 1.2 -1.7 % λιγνίνη και 17.7-18.1 % γαλακτορουνικό οξύ. Οι κύριοι μονοσακχαρίτες ήταν η αραβινόση, η γλυκόζη, η γαλακτόζη και η ξυλόζη. Μετά από χρώση, τα τοιχώματα και οι κοτυληδόνες των δειγμάτων που δεν ήταν καλά βρασμένα εμφάνισαν κάποιο σχηματισμό που έμοιαζε με ξύλωμα στη μια μεμβράνη. Τα τοιχώματα αυτών των δειγμάτων εμφανίστηκαν πολυστρωματικά κάτω από το μικροσκόπιο. Το περιεχόμενο των δυο δειγμάτων ήταν παρόμοιο σε μεθύλια, βαθμό εστεροποίησης και γαλακτορουνικό οξύ αλλά διέφερε σε χαμηλοεστερικές ουσίες. Το περιεχόμενο των σπόρων σε φυτικά οξέα (PA) φαίνεται ότι παίζει κριτικό ρόλο στην ποιότητα βρασμού των φακών (**Bhatty, 1990).**

Πίνακας 6 Σύσταση σπόρων φακής σε λιπίδια

Λιπίδιο	**Αξία ανά 100 g εδώδιμου τμήματος**	**Μονάδα μέτρησης**
Λιπαρά οξέα, πλήρως κορεσμένα	0.379	g
Λιπαρά οξέα, πλήρως μονοακόρεστα	0.500	g
Λιπαρά οξέα, πλήρως πολυακόρεστα	1.137	g
Χοληστερόλη	0	g
Φυτοστερόλες	57	g
Στιγμαστερόλη	4	g
Καμπεστερόλη	6	g
Β- Σιτοστερόλη	47	g

(USDA, National Nutrient Database for Standard Reference, 2004)

Η ¶Η ηηαποδοχή της φακής ως βασικό τρόφιμο (ανεξάρτητα της θρεπτικής αξίας), είναι περιορισμένη επειδή περιέχει αντιθρεπτικούς παράγοντες όπως αναστολείς τρυψίνης, αιμαγλουτενίνη, ¶σαπωνίνες, φυτικά οξέα, τανίνες, σαπωνίνες

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

και ολιγοσακχαρίτες. Οι ουσίες αυτές είναι υπεύθυνες γιατί προκαλούν συμπτώματα δυσπεψίας και περιορίζουν την αξιοποίηση των θρεπτικών στοιχείων **(Salunkhe and Kadam, 1989)**. ¶ ¶¶¶Οι **Williams *et al.* (1994)** ανέφεραν ότι οι φακές έχουν τις λιγότερες και η φάβα τις υψηλότερες συγκεντρώσεις αναστολέων.

Οι αναστολείς τρυψίνης (ΤΙ) είναι πρωτεΐνες μικρού μοριακού βάρους ικανές να δένονται και να αδρανοποιούν ένα ένζυμο πέψης, την τρυψίνη **(Salunkhe and Kadam, 1989)**. Η παρουσία τους έχει σημασία γιατί ¶¶¶εμποδίζουν τη πρωτεολυτική δραστηριότητα του πεπτικού ενζύμου τρυψίνη και μπορούν να οδηγήσουν σε μειωμένη διαθεσιμότητα των αμινοξέων και μειωμένη ανάπτυξη **(Liener and Kakade, 1980).**

Τα φυτικά οξέα έχουν προταθεί ότι αποτελούν πηγες φωσφόρου, κατιόντων, φωσφορικών αλάτων και ινοσιτόλης **(Reddy *et al.*, 1978)**. Έχει αποδειχτεί ότι μειώνουν την βιοδιαθεσιμότητα των μεταλλικών στοιχείων **(Reddy, Sathe and Pierson, 1988)** και την παρεμπόδιση της δραστηριότητας διάφορων ενζύμων **(Knuckles *et al.*, 1989)**. Η αλληλεπίδραση των φυτικών οξέων με τις πρωτεΐνες, τις βιταμίνες ¶και τα μεταλλικά στοιχεία θεωρούνται ένας από τους περιορισμούς ¶της θρεπτικής αξίας των σπόρων των οσπρίων **(Tabekhia and ¶Luh 1980).**

¶Οι συμπυκνωμένες τανίνες έχουν αναφερθεί ότι εμφανίζονται σε υψηλό ποσοστό στις φακές και ¶είναι παρούσες σε υψηλές συγκεντρώσεις στο κάλυμμα του σπόρου, ¶μπορούν όμως να αφαιρεθούν με κατάλληλη επεξεργασία **(Williams *et al.*, 1994).** Έχουν την ιδιότητα να προσκολλώνται σε πρωτεΐνες με δεσμούς υδρογόνου και με τις υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις που δημιουργούνται, μειώνουν την θρεπτική αξία των φακών **(Hahn *et al.*, 1984)**. ¶Οταν συνδέονται με τις πρωτεΐνες αντιδρούν με τη λυσίνη ή τη μεθειονίνη, καθιστώντας τις σχηματιζόμενες ενώσεις μη διαθέσιμες κατά τη διάρκεια της πέψης **(Davis, 1981).** ¶Εντούτοις, ο βαθμός πολυμερισμού αυτών των πολυφαινολικών ενώσεων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και στην επίδραση της πρωτεϊνικής πεπτικότητας και στη διαθεσιμότητα των βιταμινών και των ανόργανων στοιχείων **(Suschetet, 1975).** Ένα άλλο μειονέκτημα των τανινών που υπάρχουν στις φακές είναι ο αποχρωματισμός που προκαλούν στους σπόρους **(Nozzolillo and De Beada, 1984)**.

Υψηλά επίπεδα σαπωνινών ¶μειώνουν τη βιολογική διαθεσιμότητα μικροθρεπτικών στοιχείων, αλλά έχουν αναφερθεί και θετικές επιδράσεις από αυτά **(Thompson, ¶1993).** Οι ολιγοσακχαρίτες και η αιμαγλουτενίνη είναι ουσίες

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

υπεύθυνες για την δυσπεψία που προκαλείται μετά από κατανάλωση **(Fleming, 1981)**.

¶¶Η αφαίρεση των ανεπιθύμητων συστατικών είναι ουσιαστική για να βελτιώσει τη θρεπτική ποιότητα της φακής και να αυξηθεί η αποδοχή τους από τον άνθρωπο. ¶Ευρέως γίνεται αποδεκτό ότι οι απλές και ανέξοδες τεχνικές επεξεργασίας είναι αποτελεσματικές για επιθυμητές αλλαγές στη σύνθεση των σπόρων. ¶ Η ενυδάτωση, το μαγείρεμα και η βλάστηση, βελτιώνουν την ποιότητα των οσπρίων λόγω της αφαίρεσης μερικών αντιθρεπτικών παραγόντων. ¶Σε πολλές περιπτώσεις, η χρήση μόνο μιας μεθόδου μπορεί να μην επηρεάσει την επιθυμητή αφαίρεση των αντιθρεπτικών ενώσεων και απαιτείται συνδυασμός δύο ή περισσότερων μεθόδων. ¶Η ενυδάτωση είναι μια από τις διαδικασίες που αφαιρεί τους διαλυτούς αντιθρεπτικούς παράγοντες, αλλά μερικές μεταβολικές αντιδράσεις που πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης, έχουν επιπτώσεις στο περιεχόμενο μερικών ενώσεων **(Val Verde *et al.*, 1992).** Το μαγείρεμα αδρανοποιεί γενικά τους παράγοντες που είναι ευαίσθητοι σε θέρμανση όπως οι ανασταλτικοί παράγοντες της τρυψίνης, της χυμοτρυψίνης και πτητικών ενώσεων. ¶Οι ¶**Bressani and Elias (1980)** παρατήρησαν ότι περίπου το 30-40% των πολυφαινολών μπορεί να αφαιρεθούν με μαγείρεμα και αφαίρεση του νερού. ¶Η ανασταλτική δραστηριότητα της τρυψίνης (ΤΙΑ) καταστρέφεται από τις υψηλές θερμοκρασίες **(Antunes and Sgarbieri, 1980)**,ενω έχει αναφερθεί ανθεκτικότητα των ανασταλτικών παραγόντων τρυψίνης στη θερμότητα **(Elias *et al.*, 1976)**. ¶Η βλάστηση έχει αποδειχτεί ότι είναι αποτελεσματική επεξεργασία που αφαιρεί τους ανασταλτικούς παράγοντες, κινητοποιώντας τις δευτερογενείς μεταβολικές ενώσεις που λειτουργούν ως αποθεματικές θρεπτικές ουσίες (π.χ. φυτικά οξέα, ραφινόζη και ολιγοσακχαρίτες). ¶¶Η βλάστηση μπορεί να μειώσει την περιεκτικότητα των σπόρων των οσπρίων σε φυτικό οξύ ανάλογα με τον τύπο του οσπρίου και των συνθηκών βλάστησης. ¶Στις φακές, οι **Belavady and Banerjee (1953)** παρατήρησαν ότι το 53% των φυτικών οξέων υδρολύθηκαν μετά από 5 ημέρες βλάστησης (**Valverde and Frias, 1992)**. ¶

Οι **Solanki *et al.* (1999)** μελέτησαν την επίδραση των ποικιλιών και των περιβαλλοντικών συνθηκών σε θρεπτικά και αντιθρεπτικά συστατικά των ποικιλιών φακής και προσπάθησαν να καθορίσουν τις σχέσεις των χημικών συστατικών των εμπορικών ποικιλιών. Το ακατέργαστο περιεχόμενο πρωτεΐνης εντός μιας ποικιλίας χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης της επίδρασης του περιβάλλοντος. Στο πείραμα τους, εκτιμήθηκαν 21 γενότυποι φακής για γνωρίσματα που σχετίζονται με τη διατροφή,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

όπως η πρωτεΐνη, οι ακατέργαστες ίνες, το λίπος, η τέφρα, οι υδρογονάνθρακες, η ολική και η μεταβολίσιμη ενέργεια. Οι γενότυποι αναλύθηκαν για το βάρος 100 σπόρων και για την απόδοση των φυτών σε σπόρο. Το περιεχόμενο σε πρωτεΐνη κυμάνθηκε από 22.1 έως 27.4 % με σημαντικές διαφορές μεταξύ των γενοτύπων. Σημαντικές διαφορές μεταξύ των γενοτύπων παρατηρηθήκαν και στο περιεχόμενο σε ασβέστιο, φώσφορο, σίδηρο και στο περιεχόμενο της τανίνης. Μεγάλη παραλλακτικότητα παρατηρήθηκε στην απόδοση και το βάρος των 100 σπόρων. Η απόδοση των φυτών σε σπόρο δεν συσχετίστηκε με καμία από τις παραμέτρους των σπόρων που αναλύθηκαν. Οι γενότυποι LH 97 και LH 37 ήταν οι καλύτεροι και μπορούν να αναλυθούν για περαιτέρω ανάπτυξη και επιλογή των επιθυμητών χαρακτηριστικών **(Solanki *et al.*,1999).**

Οι **Ayet *et al.* (1997)** μελέτησαν την επίδραση των συνθηκών βλάστησης είκοσι σπόρων της ποικιλίας *Magda* του είδους *Lens culinaris* για μερικούς αναστολείς. ¶Οι σπόροι βλάστησαν σε 20 ^{o}C ¶κάτω από διάφορες συνθήκες χρόνου, νερού και φωτός. Πραγματοποιήθηκαν ¶ποσοτικές αναλύσεις σε σαπωγενόλες, φωσφορικές ινοσιτόλες και τανίνες με αέρια ¶χρωματογραφία, υγρή χρωματογραφία και σπεκτροφωτομετρικές ¶τεχνικές, αντίστοιχα. Οι ¶σπόροι 6 ημερών περιλάμβαναν τα υψηλότερα επίπεδα σε σαπωγενόλη ¶β, ενώ μειώθηκε η περιεκτικότητα σε τανίνη¶. ¶Το ποσοστό φυτικού οξέος δεν μειώθηκε μετά από 3 ημέρες βλάστησης ¶αλλά μειώθηκε πολύ μετά από τις 6 ημέρες. ¶Βρέθηκε ότι οι βέλτιστες συνθήκες ¶στις οποίες παρατηρήθηκε μείωση αντιθρεπτικών παραγόντων (τανίνες και φυτικά οξέα) ¶ήταν οι 6 ημέρες σε σκοτάδι και με συνεχές πότισμα.

¶Η βλάστηση και η κατεργασία (germination και fermentation) έχει προταθεί ότι βελτιώνουν τη θρεπτική αξία των οσπρίων. Οι ¶**Bartolome *et al.* (1997)** ¶ εκθέτουν τις αλλαγές που εμφανίζονται στις φαινολικές ενώσεις στις φακές (*Lens culinaris var.vulgaris*) κατά τη διάρκεια της βλάστησης και της επεξεργασίας και συζητείται η επίδραση των αντιθρεπτικών επιδράσεων που συνδέονται με τις φαινολικές ενώσεις στα όσπρια, καθώς επίσης και οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες που αποδίδονται σε αυτές. Καθορίστηκαν ¶τα επίπεδα των φαινολικών ενώσεων τα οποία έχουν μικρό μοριακό βάρος (βενζοϊκά οξέα και αλδεϋδες, υδροξυκιναμικά οξέα και παράγωγα τους, φλαβονοειδή και προκυανυδίνες). Κατά την πορεία της¶ βλάστησης δεν παρατηρήθηκε ιδιαίτερη μεταβολή των φαινολικών ενώσεων, αν και σημαντικές δομικές αλλαγές στις ενώσεις προκυανυδικών τύπων παρατηρήθηκαν. ¶Η κατεργασία οδήγησε σε μια γενική αύξηση του περιεχόμενου των φαινολικών

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

ενώσεων. Το γεντιστικό (¶Gentisic) και το φαινυλοπροπιονικό οξύ, η τρυπτοφόλη και τρεις άλλες άγνωστες ενώσεις, ανιχνεύθηκαν στις κατεργασμένες φακές, αλλά όχι στις ακατέργαστες φακές. ¶

¶Οι **Antunes και Sgarbieri (1979)** μελέτησαν τις παραμέτρους που σχετίζονται με το βρασμό των σπόρων των οσπρίων. Βρήκαν ότι ο βρασμός των φακών επηρεάζεται από ¶το μέγεθος των σπόρων, την αρχική περιεκτικότητα σε υγρασία **(Bhatty, 1984),** τις συνθήκες καλλιέργειας των ποικιλιών **(Bhatty, 1988)**, το ποσοστό ξήρανσης **(Tang *et al.*, 1992)** και τις συνθήκες αποθήκευσης (διάρκεια, θερμοκρασία και υγρασία) **(Antunes and Sgarbieri, 1979).**

Οι **Valverde *et al.* (1994)** μελέτησαν τις αλλαγές στη δραστηριότητα των ανασταλτικών παραγόντων της τρυψίνης, του φυτικού οξέος, της τανίνης και της κατεχίνης στο περιεχόμενο της φακής *(Lens culinaris var.vulgaris*) μετά από ενυδάτωση σε απεσταγμένο νερό, κιτρικό οξύ και διαλύματα αλάτων νατρίου. Στη συνέχεια, ¶μελετήθηκε η επίδραση του βρασμού, αφού ξεπλύθηκαν οι σπόροι από τα προαναφερθέντα διαλύματα. Οι δύο ποικιλίες φακής *(L.culinaris var.vulgaris* και *L.culinaris var.variabilis*) βλάστησαν για 6 ημέρες και μετρήθηκε η επίδραση της δραστηριότητας των ανασταλτικών παραγόντων της τρυψίνης, του φυτικού οξέος, της τανίνης και της κατεχίνης. ¶Η ενυδάτωση δεν τροποποίησε τη δραστηριότητα των ανασταλτικών παραγόντων της τρυψίνης, μείωσε την περιεκτικότητα σε φυτικό οξύ και αύξησε το περιεχόμενο της τανίνης και της κατεχίνης.¶ Βράζοντας ο σπόρος αφαίρεσε τη δραστηριότητα των ανασταλτικών παραγόντων της τρυψίνης, μείωσε το επίπεδο του φυτικού οξέος και αύξησε το περιεχόμενο των τανινών και των κατεχινών. ¶Η δραστηριότητα των ανασταλτικών παραγόντων της τρυψίνης και η περιεκτικότητα σε φυτικό οξύ παρουσίασαν μεγάλη μείωση μετά από 6 ημέρες βλάστησης, ενώ το ποσό των τανινών και των κατεχινών στις δύο ποικιλίες φακής αυξήθηκε. ¶Ο βρασμός και η βλάστηση φαίνεται ότι είναι διαδικασίες που βελτιώνουν την ποιότητα της φακης από θρεπτική άποψη, παρά το γεγονός ότι έχει παρατηρηθεί μεγάλη παραλλακτικότητα ανάλογα με την επεξεργασία και την ποικιλία.

Η μελέτη στόχευσε στη βελτιστοποίηση των συνθηκών μαγειρέματος της φακης *(Lens culinaris* cv.*anicia)* για επεξεργασία.¶ ¶Η ακεραιότητα των σπόρων της φακης ήταν καλύτερη όταν δεν υπερέβη η θερμοκρασία μαγειρέματος τους 90 ^{o}C. ¶Η απώλεια σταθερότητας ήταν συνέπεια της ενυδάτωσης των σπόρων δεδομένου ότι ο συντελεστής συμμεταβολής μεταξύ της σταθερότητας και της ποσότητας του νερού

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

έφθασε σε -0,93 ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία μαγειρέματος και το μέσο θέρμανσης (ατμός ή νερό). ¶Κατά συνέπεια, οι σπόροι της φακής διατήρησαν τη σταθερότητα και την πληρότητά τους με βρασμό κάτω από τους 90 ^{o}C για διάρκεια έως ακόμη και δυο ώρες¶ **(Varoquaux *et al.*, 1995).**¶ ¶

Το μαγείρεμα της φακης σε νερό οδηγεί συχνά σε σπάσιμο του περιβλήματος και απελευθέρωση του αμύλου και των κυτταρικών τοιχωμάτων στο μαγειρεμένο μέσο, γ¶εγονός το οποίο δεν είναι αποδεκτό για παστερίωση υπό κενό **(Varoquaux and Nguyen, 1993)**. ¶Το μαγείρεμα των ξηρών σπόρων φακής στον ατμό δεν γίνεται λόγω της υπερβολικής διάρκειας της διαδικασίας **(Huang and Bourne, 1983).**

¶¶Η γνώση της θρεπτικής αξίας της φακης θα παρέχει στοιχεία που μπορούν να αξιοποιηθούν από τους βελτιωτές ώστε να αυξηθεί η κατανάλωση και θα βοηθηθεί η βιομηχανία στη δημιουργία μιας βάσης δεδομένων που θα παρέχει στοιχεία για τη διάκριση και κατοχύρωση τους (labelling) **(Wang and Daun, 2003)**.

2.5 Η Βελτίωση της φακής

Μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του ’70, πραγματοποιήθηκαν σημαντικά προγράμματα βελτίωσης του είδους *Lens* με κύρια αντικείμενα την ανάπτυξη προσαρμοσμένων, ανθεκτικών στις καταπονήσεις, υψηλοαποδοτικών γενοτύπων. Η συστηματική όμως έρευνα της φακής άρχισε πρόσφατα σε σύγκριση με τις άλλες πρώιμα εξημερωμένες καλλιέργειες. Κατά την διάρκεια των τελευταίων τριών δεκαετιών έχει πραγματοποιηθεί πρόοδος σε πολλά επίπεδα έρευνας της καλλιέργειας. Έχουν συλλεχθεί, αποτιμηθεί και συντηρηθεί μεγάλοι αριθμοί γενοτύπων σε εθνικό και διεθνές επίπεδο, με το ICARDA να διατηρεί το μεγαλύτερη συλλογή καλλιεργούμενων και άγριων γενοτύπων (περίπου 7407 πληθυσμοί) **(Sharker and Erskine, 2006)** ενώ σε εθνικά ¶προγράμματα και άλλων χωρών διατηρούνται επίσης σημαντικοί αριθμοί πληθυσμών **(Muehlbauer et al., 1995).**

2.5.1 Κλασσική βελτίωση

Η σύγχρονη βελτίωση της φακής ξεκίνησε εδώ και λίγες δεκαετίες και διεξάγεται σε εθνικά και διεθνή ινστιτούτα. Ωστόσο το μεγαλύτερο μέρος της φακής που καλλιεργείται από αγρότες εκτός του νέου κόσμου, έχει ακόμα τη μορφή των παραδοσιακών ποικιλιών. Οι ποικιλίες αυτές επιλέχτηκαν για προσαρμογή στις συνθήκες κάθε τόπου και αποτελούν πολύτιμη πηγή γενετικής παραλλακτικότητας. Η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

καλλιέργεια ευρέως προσαρμοσμένων, υψηλοαποδοτικών ποικιλιών φακής μπορεί να προκαλέσει την εξάλειψη πολλών παραδοσιακών ποικιλιών έχοντας ως αποτέλεσμα μια ανεπανόρθωτη μείωση της γενετικής παραλλακτικότητας **(Davies *et al.*, 2007)**.

¶Η γνώση των δυνάμεων της επιλογής που λειτουργούν κατά τη διάρκεια της διάδοσης της καλλιέργειας της φακής προέρχεται από αξιοποιηση της παραλλακτικότητας που υπάρχει στους σύγχρονους παραδοσιακούς πληθυσμούς από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. ¶Ακολουθώντας την εξάπλωση, συλλέγοντας και αξιολογώντας τους παραδοσιακούς πληθυσμούς στη δεκαετία του '20, ο **Barulina (1930)** ταξινόμησε την παραλλακτικότητα σε έξι ομάδες (grex varietatum), κάθε μια από τις οποίες διαφοροποιήθηκε γεωγραφικά και χαρακτηρίστηκε από μια ομάδα μορφολογικών χαρακτήρων, κυρίως ποιοτικών, κοινών μέσα στην ομάδα αλλά διαφορετικών σε άλλες ομάδες. ¶Αυτός ο τύπος γεωγραφικής συσχέτισης αντανακλάται σε παραλλακτικότητα στα ποσοτικά μορφολογικά γνωρίσματα (πίνακας 7) **(Davies *et al.*, 2007)**. ¶Τέτοιοι μορφολογικοί χαρακτήρες παρατηρούνται εύκολα και οδηγούν σε επιλογή. ¶Η γεωγραφική διαφοροποίηση μεταξύ των παραδοσιακών πληθυσμών έχει βρεθεί και για άλλους άγνωστους οικοφυσιολογικούς παράγοντες που είναι αποτέλεσμα επιλογής για εδαφολογικές και για κλιματολογικές συνθήκες ¶ **(Erskine *et al.*, 1989).**

Τα συμπτώματα σιδηροανεπάρκειας είναι αισθητά σε μερικούς πληθυσμούς φακής που αναπτύσσονται σε ασβεστούχο έδαφος. ¶Σε μια συλλογή 3512 παραδοσιακών πληθυσμών που προέρχονται από 18 χώρες, παρουσίασαν συμπτώματα έλλειψης σιδήρου (< 1,5%). ¶Σε αυτές τις περιοχές τα εδάφη είναι ιδιαίτερα ασβεστούχα με pH > 8.0, που είναι γνωστό ότι μειώνουν τη διαθεσιμότητα σιδήρου. ¶Οι πληθυσμοί που παρουσιάζουν συμπτώματα έλλειψης προέρχονται από σχετικά θερμά κλίματα, όπως της Ινδίας (37,5% των πληθυσμών παρουσιάζουν έλλειψη σιδήρου) και η Αιθιοπία (30%), όπου το pH είναι 6.5-7.0. ¶Αυτό προέκυψε είτε από την πιθανότητα εισαγωγής σε αυτές τις περιοχές πληθυσμών ευαίσθητων σε τροφοπενία σιδήρου, είτε από πίεση επιλογής είτε υπέρ των ευαίσθητων σε τροφοπενία σιδήρου τύπων, είτε γονιδίων που συνδέθηκαν με έλλειψη σιδήρου **(Erskine *et al.*, 1993).**¶ ¶

¶Σε έρευνα που καταγράφεται η μορφολογική παραλλακτικότητα στη συλλογή παγκόσμιου γενώματος της φακής, η φαινολογία των πληθυσμών βρέθηκε ως το κλειδί για την προσαρμοστικότητα της καλλιέργειας σε μακρογεωγραφική κλίμακα **(Erskine *et al.*, 1989).** ¶Για να κατανοηθεί περαιτέρω η φαινολογία,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

μελετήθηκαν οι αντιδράσεις στην άνθηση, στη θερμοκρασία και τη φωτοπερίοδο σε μια παγκόσμια συλλογή 369 πληθυσμών από 13 σημαντικές χώρες παραγωγής (25 τυχαία επιλεγμένοι πληθυσμοί ανά χώρα) μαζί με τις γραμμές από πρόγραμμα βελτίωσης του ICARDA. ¶Η κατανομή των χωρών με ευαισθησία στη θερμοκρασία και τη φωτοπερίοδο εξηγεί την ανταπόκριση στην επιλογή για την προσαρμοστικότητα σε νέα οικολογικά περιβάλλοντα μετά από τη διάδοση της καλλιέργειας από το κέντρο προέλευσή της **(Erskine *et al.*, 1994).**¶

Πίνακας 7 Αγροοικολογικές περιοχές παραγωγής φακής και βασικοί στόχοι βελτίωσης **(Davies *et al.*, 2007).**¶

Περιοχή	**Χαρακτηριστικά για γενετικό ανασυνδιασμό**
Μεσογειακές περιοχές	
I. Χαμηλά έως μέτρια υψόμετρα < 250 m	
300-400 mm ετήσιας βροχόπτωσης	Βιομάζα (σπόρος και καλάμι), χαρακτηριστικά για μηχανική συγκομιδή και ανθεκτικότητα wilt
<300 mm ετήσιας βροχόπτωσης	Βιομάζα, αποφυγή ξηρασίας μέσω προτίμησης
Μαρόκο	Βιομάζα, χαρακτηριστικά για μηχανική συγκομιδή και ανθεκτικότητα rust
Αίγυπτος	Απόδοση σπόρου, αντίδραση στην άρδευση, προτίμηση και ανθεκτικότητα wilt
II. Μεγάλα υψόμετρα > 250 m	
Ορεινές περιοχές Ανατολίας	Βιομάζα και σκληραγώγηση στο ψύχος
Ορεινές περιοχές βόρειας Αφρικής	Απόδοση σπόρου και μικρό επίπεδο σκληραγώγησης στο ψύχος
Νότια Ασία και ανατολική Αφρική	
Ινδία, Πακιστάν, Νεπάλ, Αιθιοπία	Απόδοση σπόρου, προτίμηση και ανθεκτικότητα στο rust, ascochyta και wilt
Μπαγκλαντές	Απόδοση σπόρου, προτίμηση και ανθεκτικότητα στο rust και *Stemphylium*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Η διάδοση σε χαμηλότερα γεωγραφικά πλάτη όπως την Αίγυπτο, την Αιθιοπία και την Ινδία συνοδεύθηκε από μείωση της αντίδρασης στην φωτοπερίοδο. ¶Ο έλεγχος της φωτοπεριόδου στην αρχή της άνθησης, εξασφαλίζει ότι η άνθηση αρχίζει ετησίως την ίδια ημερολογιακή περίοδο, ανεξάρτητα από τις διακυμάνσεις στη θερμοκρασία. ¶Συνεπώς, η επιλογή για τον έλεγχο της φωτοπεριόδου σε ένα φυτό μεγάλης ημέρας όπως η φακή υπονοεί προσαρμογή σε σχετικά μικρές ημέρες, οι οποίες εμφανίζονται σε χαμηλά γεωγραφικά πλάτη και που ειδάλλως θα καθυστερούσαν την άνθηση σε μεγάλη έκταση. ¶Υπό αυτές τις συνθήκες, η καλλιέργεια στηρίζεται περισσότερο στη θερμοκρασία από ότι στην φωτοπερίοδο για να εξασφαλίσει ότι η άνθηση εμφανίζεται σε κατάλληλη οικολογικά και αγρονομικά χρονική στιγμή. ¶Υπήρξαν επίσης στοιχεία, όπου η άνθηση στην υποτροπική ομάδα εμφάνισε ευαισθησία σε σχέση με τη θερμοκρασία από ότι στο δυτικό ασιατικό γένωμα **(Ellis and Hong, 1995).** ¶ ¶

¶Η μετακίνηση από τη δυτική Ασία σε υψηλότερα γεωγραφικά πλάτη, όπως στη Ρωσία, οδήγησε σε μείωση της ευαισθησίας της φωτοπεριόδου και σε αύξηση της ευαισθησίας της θερμοκρασίας, απεικονίζοντας πιθανώς την αλλαγή στην ημερομηνία σποράς από το χειμώνα στην άνοιξη. ¶ ¶Η ευαισθησία στη θερμοκρασία σε διαδικασίες εκτός της άνθησης, όπως η θερμοκρασία στη βλάστηση, έχουν επίσης αλλάξει κατά τη διάρκεια της διάδοσης από την Εγγύ Ανατολή σε περιβάλλοντα με υψηλότερη θερμοκρασία. ¶Η μέση βλάστηση 15 τυχαία επιλεγμένων πληθυσμών από την Αιθιοπία και την Ινδία, ήταν υψηλότερη από αυτή παρόμοιων δειγμάτων από το Λίβανο και την Τουρκία **(Ellis and Hong, 1995).** ¶

Ο βαθμός σκληραγώγησης στο ψύχος έχει επίσης επηρεαστεί από τη διάδοση της φακής από την περιοχή της προέλευσής της ως χειμερινή καλλιέργεια στην Εγγύς Ανατολή. ¶Μια παγκόσμια συλλογή 3910 πληθυσμών ελέγχθηκε για ανθεκτικότητα στο ψύχος στην Τουρκία, το χειμώνα του 1979/80, όταν οι θερμοκρασίες ήταν μικρότερες από -26.8 ^{o}C και για 47 ημέρες ήταν καλυμμένες από χιόνι. ¶Από το σύνολο τους μόνο 238 πληθυσμοί παρέμειναν ανεπηρέαστοι από τον κρύο χειμώνα. ¶Η προέλευσή τους ήταν από τη Χιλή (28%), την Ελλάδα (33%), τη Συρία (33%) και την Τουρκία (15%), όπου η επιλογή για ανθεκτικότητα στο ψύχος είχε εμφανιστεί μέσω της χειμερινής σποράς, αν και η παραγωγή φακης βρίσκεται κυρίως σε βόρειες χώρες, όπου ο χειμώνας είναι πιο βαρύς, όπως η Ρωσία (5%), και η Ουγγαρία (4%), όπου η σπορά γίνεται αποκλειστικά την άνοιξη. ¶Η συχνότητα των

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

σκληραγωγημένων στο ψύχος πληθυσμών από χώρες με θερμότερο χειμώνα, όπως η Αίγυπτος, Αιθιοπία, Ινδία και Πακιστάν, ήταν < 1% **(Erskine *et al.*, 1981).** ¶

¶Τέτοιες τοπικές διαφορές προκύπτουν από τη διάδοση της καλλιέργειας στα νέα φυσικά περιβάλλοντα με επακόλουθη φυσική και τεχνητή επιλογή για τοπική προσαρμοστικότητα. ¶Ενα παράδειγμα είναι η διάδοση της φακής από την Εγγύς Ανατολή στην Ινδία που οδήγησε σε απώλεια ανθεκτικότητας στο ψύχος και στη δυνατότητα να αφαιρεθεί ο σίδηρος από τα ασβεστούχα, με υψηλό pH εδάφη, μείωση στην ευαισθησία της φωτοπεριόδου κατά την άνθηση, αύξηση στην πρωίμηση της άνθησης, αύξηση της ευαισθησίας στη θερμοκρασία άνθησης και στη θερμοκρασία βλάστησης. Δεν είναι γνωστοί όλοι οι ¶παράγοντες που έχουν επιπτώσεις στην προσαρμοστικότητα. ¶Κάθε παράγοντας μπορεί να είναι δευτερεύουσας σπουδαιότητας, αλλά συλλογικά επεξηγούν τους παράγοντες που καθορίζουν την προσαρμοστικότητα. ¶Εκτός από τη φυσική επιλογή, παρεμβάσεις έγιναν και από τον άνθρωπο για τα κύρια μορφολογικά γνωρίσματα του σπόρου, για τα οργανοληπτικά και αγρονομικά γνωρίσματα ¶ **(Erskine *et al.*, 1981).** ¶

Με την κατανόηση της συγκεκριμένης προσαρμοστικότητας της φακής, οι τοπικοί περιορισμοί στην παραγωγή και οι καταναλωτικές απαιτήσεις των διάφορων γεωγραφικών περιοχών για απόδοση, στοχεύει με το πρόγραμμα βελτίωσης του ICARDA στην παράγωγη χρήσιμου γενετικού υλικού. ¶Όπως παρατηρείται, πολλές από τις δυνάμεις επιλογής που είναι σημαντικές στην προσαρμοστικότητα της φακής είναι εξειδικευμένες σε κάποιο περιβάλλον, όπως η θερμοκρασία και οι ευαισθησία στη φωτοπερίοδο. ¶Σαφώς, η επιλογή που γίνεται σε συνθήκες πολύ διαφορετικές από εκείνες του περιβάλλοντος καλλιέργειας θα έχει χαμηλότερη ανταπόκριση στο περιβάλλον αυτό από την επιλογή που γίνεται άμεσα μέσα στο περιβάλλον καλλιέργειας. ¶Εκμεταλλευόμενο τα συγκεκριμένα συγκριτικά ερευνητικά πλεονεκτήματα στο ICARDA, διασταυρώνουν και αξιολογούν διασπώμενους πληθυσμούς. ¶Η επιλογή του μίγματος των διασπώμενων πληθυσμών γίνεται στο περιβάλλον καλλιέργειας. ¶Από το 1985, έχουν γίνει συγκεκριμένες διασταυρώσεις για εθνικά προγράμματα, όπως στην Αλγερία, το Μπαγκλαντές, την Αίγυπτο, την Ινδία, την Ιορδανία, το Μαρόκο, το Νεπάλ, τη Συρία και την Τουρκία¶ **(ICARDA, 1995).**

Η διαχείριση παραδοσιακών ή παλαιότερων ποικιλιών των καλλιεργειών στον αγρό συστήνεται συχνά για να συνδυάσει τη συντήρηση και τη χρήση των γενετικών πόρων, αλλά πειραματικές μελέτες για διαχείριση στον αγρό είναι δύσκολο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

να βρεθούν, ιδιαίτερα στις βιομηχανικές χώρες. ¶Για να ερευνηθεί εάν η διαχείριση αγρού οδηγεί σε προσαρμογή και ενισχύει τη βιοποικιλότητα των ειδών οι **Horneburg and Heiko, (2008)** σχεδίασαν το παρακάτω πείραμα. ¶¶Τρεις παραδοσιακές ποικιλίες (landraces) αξιολογήθηκαν σε τρία αγροκτήματα στη Γερμανία. ¶Σε κάθε αγρόκτημα αναπτύχθηκαν τρεις πληθυσμοί, βασιζόμενοι σε τρεις μεθόδους επιλογής: ¶(ι) τη φυσική επιλογή, (ΙΙ) τη μαζική επιλογή και (ΙΙΙ) την επιλογή ατομικών απογόνων για απόδοση. ¶Οι μέθοδοι επιλογής εφαρμόστηκαν για δύο έως τέσσερα έτη. ¶Οι εννέα νέοι πληθυσμοί που αναπτύχθηκαν για κάθε πληθυσμό (τρεις μέθοδοι Χ τρεις περιοχες) καλλιεργήθηκαν ακολουθως για συγκριτικές δοκιμές σε δύο αγροκτήματα. ¶Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι πληθυσμοί που επιλέχτηκαν σε μια συγκεκριμένη τοποθεσία ήταν ανώτεροι σε παραγωγικότητα στην περιοχή επιλογής από τους πληθυσμούς που επιλέχτηκαν σε άλλες περιοχές, γεγονός που δείχνει ότι η διαχείριση στον αγρό μπορεί να οδηγήσει σε προσαρμοστικότητα των πληθυσμών σε κάποια περιοχή. Εμφανίστηκαν ¶σημαντικές αλλαγές στα μορφολογικά γνωρίσματα. ¶Για έναν από τους πληθυσμούς, η φυσική επιλογή αύξησε το βάρος του σπόρου. ¶Η ανταπόκριση στις διαφορετικές μεθόδους επιλογής εξαρτήθηκε κατά ένα μεγάλο μέρος από τον πληθυσμό (landrace) και την περιοχή της επιλογής, και καμία μέθοδος δεν ήταν ανώτερη. ¶Τελικά, η διαχείριση αγρού είναι μια χρήσιμη προσέγγιση που διατηρεί, διαφοροποιεί και αναπτύσσει τους γενετικούς πόρους των φυτών. ¶Η φυσική επιλογή ως η πιο οικονομική και αποτελεσματική είναι η μέθοδος που συστήνεται¶.

Ο **Mikhov (2006)** μελέτησε την αποδοτικότητα των μεθόδων βελτίωσης που χρησιμοποιήθηκαν στη φακή. Πραγματοποιήθηκε ¶ανάλυση για να μελετηθεί η αποδοτικότητα επιλογής σε παραδοσιακούς, μεταλλαγμένους και πληθυσμούς υβριδίων. ¶Δεκατρείς νέες και παλιές ποικιλίες και πολλές γραμμές με βελτιωμένα χαρακτηριστικά αναπτύχθηκαν χρησιμοποιώντας αυτές τις μεθόδους. Την ¶ χαμηλότερη αποδοτικότητα επιλογής είχαν οι παραδοσιακοί πληθυσμοί (landraces). Καταχωρήθηκαν ¶τρεις ποικιλίες ¶υψηλού δυναμικού με πολύτιμες ιδιότητες για αντικατάσταση των παλαιών που ήδη χρησιμοποιούνται. Από ¶τις ποικιλίες αυτές, οι παραγωγοί έχουν παρουσιάσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την ποικιλία Bellaandrdquo λόγω της απουσίας των ¶τανινών και των ελαφριών και μεγάλων σπόρων με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.¶

Σε ένα πείραμα που πραγματοποιήθηκε από τους **Haddad and Muehlbauer, (1981)** μελετήθηκαν τρεις πληθυσμοί φακής (*Lens culinaris* MEDIC.) οι οποίοι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

καλλιεργήθηκαν ¶ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΘΗΚΑΝαπό την F2 έως την F4 γενιά με τη μέθοδο καταγωγής από μεμονωμένους σπόρους (SSD) και μαζική (BP) μέθοδο βελτίωσης. Σκοπός του πειράματος ήταν η σύγκριση της σχετικής αποτελεσματικότητας των μεθόδων για διατήρηση της γενετικής παραλλακτικότητας και επιλογής. ¶¶Η SSD διατήρησε περισσότερη γενετική παραλλακτικότητα σε 15 από τις 21 συγκρίσεις των χαρακτηριστικών που μελετήθηκαν. ¶Η γενετική παραλλακτικότητα ήταν μεγάλη στην SSD για το ύψος φυτών, τις ημέρες για ωριμότητα και την απόδοση στον πληθυσμό 1, το ¶ύψος του χαμηλότερου λοβού στον πληθυσμό 2 και για τις ημέρες ως την άνθιση, το ύψος του χαμηλότερου λοβού, τον τύπο φυτών, και την παραγωγή στον πληθυσμό 3. Οι πληθυσμοί που παράχθηκαν με την SSD μέθοδο, είχαν 10.9, και 13% περισσότερο ψηλές γραμμές και στους τρεις πληθυσμούς, αντίστοιχα, όταν συγκρίθηκαν με τους ίδιους πληθυσμούς που βελτιώθηκαν με μαζική μεθοδολογία. ¶Η μαζική επιλογή διατήρησε 14.2, και 4% ψηλότερους τύπους στους τρεις πληθυσμούς, αντίστοιχα, και 16 και 33% περισσότερες διασπάσεις που δημιούργησαν από το έδαφος ψηλότερους λοβούς. ¶Αυτό έδειξε μειωμένη συχνότητα κοντών φυτών με χαμηλά λουλούδια ως αποτέλεσμα φυσικής επιλογής που λειτουργεί μέσα στη μαζική ενάντια στους λιγότερο ανταγωνιστικούς κοντούς τύπους φυτών. ¶Η μέθοδος SSD είναι μια οικονομικά αποδοτική μέθοδος στους πληθυσμούς φακής και συστήνεται για τη βελτίωση τους **(¶Haddad and Muehlbauer, 1981).**

¶Η μαζική επιλογή με κριτήριο τον φαινότυπο των φυτών για απόδοση συγκρίθηκε με την τυχαία επιλογή στην F5 γενιά σε τρεις πυκνότητες φυτών (66, 33 και 200 σπόροι/m^2) μετά από αποτίμηση των F7 απογόνων για αποδόσεις για πάνω από δύο εποχές, σε δύο πληθυσμούς φακής. ¶Η τυχαία δειγματοληψία φυτών ήταν τόσο αποτελεσματική όσο και η μαζική επιλογή μέσω φαινοτυπικών παρατηρήσεων στην απομόνωση των υψηλοαποδοτικών F7 γραμμών. ¶Η πυκνότητα φυτών του περιβάλλοντος επιλογής δεν είχε επιπτώσεις στην αντίδραση της επιλογής. ¶Οι συσχετισμοί μεταξύ του αριθμού σπόρου επιλεγμένων F5 φυτών και της μέσης απόδοσης F7 των απογόνων τους ήταν r=+-0.26 και -0,06 σε δύο πληθυσμούς, που δείχνουν την έλλειψη θετικής ανταπόκρισης στην επιλογή φυτών για τον αριθμό σπόρου. ¶Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η τυχαία δειγματοληψία είναι η οικονομικότερη μέθοδος επιλογής φυτών από τις εξεταζόμενες για απόδοση και η πυκνότητα φυτών για επιλογή φυτών μπορεί να είναι τόσο μικρή ώστε να διαχωρίζεται το κάθε φυτό και να επιτρέπεται σωστή εστίαση στην επιλογή φυτών για χαρακτηριστικά, εκτός της απόδοσης, σημαντικά όμως για τα προγράμματα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

βελτίωσης και με υψηλότερη κληρονομικότητα από την απόδοση **(Erskine et al., 1990).** ¶

Τρεις διασταυρώσεις φακής (διασταύρωση 1 = Chilean × PI 297784, διασταύρωση 2 = Tekoa × PI 212611, διασταύρωση 3 = Precoz × PI 212611) προωθήθηκαν σε ένα ιεραρχικό σχέδιο από τη F2 έως την F5 γενιά και εξετάστηκαν σε επαναλαμβανόμενα πειράματα στον αγρό. ¶Ο σκοπός ήταν να εκτιμηθούν οι γενοτυπικές διαφορές και οι συνδιακυμάνσεις για διάφορους χαρακτήρες και να διαχωριστούν στα συστατικά τους (αθροιστική, κυριαρχική, και αθροιστική × κυριαρχική παραλλακτικότητα). Η αθροιστική παραλλακτικότητα ήταν το σημαντικότερο συστατικό της παραλλακτικότητας της διασταύρωσης 2 για όλους τους χαρακτήρες, εκτός από το ύψος φυτών και το βάρος σπόρου. Οι εκτιμήσεις της κυριαρχικής παραλλακτικότητας εμφανίστηκαν να είναι μεγάλες στις διασταυρώσεις 1 και 3. Εκτιμήσεις της αθροιστικής × κυριαρχική συνιστώσας φαίνεται να είναι πολύ μικρές και στους τρεις πληθυσμούς. Η κυριαρχική παραλλακτικότητα βρεθηκε πολύ υψηλή για το ύψος φυτών και στις τρεις διασταυρώσεις και για το βάρος σπόρου στις διασταυρώσεις 2 και 3 **(Haddad et al.,1992).**

Εκατόν πενήντα έξι παραδοσιακοί πληθυσμοί φακής (landraces) (*Lens culinaris* Medicus) που συλλέχθηκαν από 10 επαρχίες της Αιθιοπίας, αξιολογήθηκαν για ένα σύνολο έξι ποσοτικών χαρακτηριστικών για τρεις διαφορετικές υψομετρικές περιοχές. Η παραλλακτικότητα ¶μεταξύ των πληθυσμών στις διάφορες περιοχές βρέθηκε για το χρόνο άνθησης, την ωρίμανση, το βάρος 100 σπόρων, τον αριθμό σπόρων/λοβό και το ύψος των φυτών. ¶Οι διαφορές διευκρινίστηκαν με διαφοροποιούσα ανάλυση (DA) βασισμένη στο βάρος των 100 σπόρων, το χρόνο άνθησης και το ύψος των φυτών. Οι ¶φακές των δυτικών ορεινών περιοχών ήταν πρώιμες, αυτές των βόρειων ορεινών περιοχών μεγαλόσπερμες, ενώ οι φακές από τις κεντρικές ορεινές περιοχές ανήκαν στη λιγότερο διακριτή ομάδα με μεγάλη παραλλακτικότητα. ¶Η επιλογή για το μέγεθος σπόρου ήταν αποτέλεσμα των τοπικών προτιμήσεων του κοινού. ¶Οι άνθρωποι ήταν πιθανώς οι αρμόδιοι και για την έλλειψη προσαρμοστικής αξίας στη φαινολογία των φυτών σε σχέση με το υψόμετρο. ¶Η επιλογή για απόδοση σε σπόρο των χαμηλών και μέσων υψομέτρων έδωσε θετική ανταπόκριση στην επιλογή και για τις δυο περιοχές. ¶Εντούτοις, η επιλογή για απόδοση στις ορεινές περιοχές δεν έδωσε καμία θετική ανταπόκριση, δείχνοντας ότι η προσαρμογή σε ορεινές περιοχές διέφερε από αυτή στις πεδινές ¶ **(Bejiga *et al.*, 1996).**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Η μελέτη περιγράφει την ανάπτυξη μιας υψηλά επαναλαμβανόμενης διαδικασίας επιλογής (screening) για ανθεκτικοτητα στο κρύο, με χρησιμοποίηση ελεγχομένων πληθυσμών που περιλαμβάνουν αρχικά τον εγκλιματισμό των φυτών σε θάλαμο ανάπτυξης και δευτερευόντως μια δοκιμή ανθεκτικότητας στο ψύχος σε ειδικό θάλαμο. ¶Οι σπόροι αρχικά βλάστησαν σε δίσκους petri και έπειτα φυτεύτηκαν ατομικά σε αποστειρωμένους δίσκους. ¶Οι αρχικές θερμοκρασίες στην αίθουσα αύξησης για δύο εβδομάδες ήταν 25 ^{o}C την ημέρα και 10 ^{o}C την νύχτα με φωτοπερίοδο 12 h. ¶Στην τρίτη εβδομάδα, η φωτοπερίοδος άλλαξε σε 10 ^{o}C την ημέρα και 0 ^{o}C τη νύχτα για εγκλιματισμό των φυτών. ¶Χρησιμοποιώντας μια τροποποιημένη αίθουσα με θερμοκρασία -15 ^{o}C, μετά από μια περίοδο εγκλιματισμού 6-8 εβδομάδων (επειδή και οι δύο χρόνοι εγκλιματισμού είχαν την ίδια επίδραση για την ανθεκτικότητα των γενοτύπων στο κρύο), σε ποσοστό ψύξης 2 και 3 ^{o}C /h και χρόνο έκθεσης 3 h στους -15 ^{o}C ήταν κατάλληλοι να ανιχνεύσουν σημαντικές διαφορές (P<001) μεταξύ διάφορων γραμμών με συγκριτικά χαμηλό βαθμό τραυματισμού για τους πιο σκληραγωγημένους γενοτύπους στο κρύο **(Ali *et al.*, 1999).**

Η ανάλυση κληρονομικότητας για ανθεκτικότητα της φακής στο ψύχος έγινε σε F2 και F3 πληθυσμούς σε δύο τοποθεσίες στο Balochistan του Πακιστάν και σε ένα ελεγχόμενο περιβάλλον στο οχυρό Collins, στο Κολοράντο των ΗΠΑ. ¶Οι πληθυσμοί των πατρικών και F2 πληθυσμών καλλιεργήθηκαν για 2 έτη (1991-92 και 1992-93). ¶¶¶Οι προσπάθειες να χρησιμοποιηθεί η ανάλυση παραλλακτικότητας εγκαταλείφθηκαν υπέρ της συσχέτισης γονέα-απογόνου για γνώση της κληρονομικότητας. ¶Οι εκτιμήσεις της κληρονομικότητας κυμάνθηκαν από 0.31±0.06 ως 0,71 ± 0,06 στις συνθήκες αγρού. ¶Υπό ελεγχόμενες συνθήκες, η κατ' εκτίμηση κληρονομικότητα μεγιστοποιήθηκε σε 1,00 ± 0,17 χρησιμοποιώντας φακές 6 έως 8 εβδομάδων. ¶Σημαντικές διασπάσεις μετασχηματισμένων φυτών βρέθηκαν σε πέντε από τους έξι πληθυσμούς στη F3 γενιά. ¶Τα μετασχηματισμένα φυτά εμφανίστηκαν στην ελεγχόμενη F3 γενιά αλλά δεν παρατηρήθηκαν στον αγρό. ¶Αυτό δείχνει ότι η ανθεκτικοτητα στο κρύο είναι κάτω από τον έλεγχο γονιδίων και είναι περιβαλλοντικά ευαίσθητη στην έκφραση τους **(Ali and Johnson, 2008).**

Δεκαεννέα διαφορετικοί γενότυποι φακής, 8 από τη Νότια Ασία, 6 από τη δυτική Ασία, και 5 υβρίδια με γονείς από τη νότια και δυτική Ασία (ή άλλα μεσογειακά περιβάλλοντα), αξιολογήθηκαν για αύξηση, φαινότυπο, απόδοση και συστατικά απόδοσης σε περιοχή στο Νεπάλ. Επιπλέον, η παραγωγή ξηρής ουσίας, η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

αύξηση της ρίζας και η χρήση νερού 8 επιλεγμένων γενοτύπων από τις τρεις ομάδες μετρήθηκαν στα βασικά φαινολογικά στάδια. Η απόδοση σε σπόρο των δυτικών ασιατικών γενοτύπων ήταν μόνο 330 kg/ha, ενώ οι νότιοι ασιατικοί γενότυποι είχαν μέση απόδοση σε σπόρο 1270 kg/ha. Τα υβρίδια επίσης, είχαν πολύ μεγάλη απόδοση σε σπόρο (1550 kg/ha) σε σχέση με τους βόρειους γενοτύπους. Η υψηλή απόδοση σε σπόρο για τους νοτιοασιατικούς και υβριδικούς γενότυπους συνδέθηκε με τη γρήγορη εδαφοκάλυψη, την πρώιμη άνθηση και ωριμότητα, την μεγάλη αναπαραγωγική περίοδο, τον μεγαλύτερο αριθμό σπόρων και λοβών, το μεγαλύτερο ποσοστό ξηρής ουσίας, το μεγαλύτερο δείκτη συγκομιδής και την υψηλή αποδοτικότητα χρήσης νερού. ¶Οι δυτικοί ασιατικοί γενότυποι, αφ' ετέρου, άνθισαν 43 ημέρες αργότερα, ωρίμασαν 15 ημέρες αργότερα και είχαν μικρότερη αναπαραγωγική χρονική περίοδο (μέχρι 22 ημέρες) από τους υβριδικούς και ασιατικούς γενοτύπους του νότου. ¶Η μεγαλύτερη απόδοση σε σπόρο των υβριδίων κατά 23% έναντι των νότιων ασιατικών γενοτύπων ήταν αποτέλεσμα μιας παρόμοιας αύξησης στο μέγεθος του σπόρου (βάρος ανά σπόρο). ¶Δεν υπήρξε καμία σημαντική διαφορά στο συνολικό μήκος ρίζας (ΜΟ 4,7 km/m^2), ξηρή ουσία ρίζας (ΜΟ 95,5 g/m^2), ή χρήσης νερού μεταξύ των 3 ομάδων κατά τη διάρκεια του μεγαλυτέρου μέρους της καλλιεργητικής περιόδου. ¶Υπήρξε μια σημαντική διαφορά στη συνολική χρήση νερού λόγω της μεγαλύτερης εποχής ανάπτυξης του ILL 7983 δυτικού ασιατικού γενοτύπου και της δυνατότητας του να χρησιμοποιήσει τις όψιμες βροχοπτώσεις. ¶Η μέγιστη αποδοτικότητα χρήσης νερού για απόδοση σε σπόρο (kg/ha) ήταν 7.0 mm νερού και για την υπέργεια ξηρή ουσία ήταν 18.9 mm, συγκρίσιμες με εκείνες που αναφέρθηκαν στην Ινδία και τα μεσογειακά περιβάλλοντα της νοτιοδυτικής Αυστραλίας και της Συρίας **¶(Shrestha *et al.*, 2005).**

Οι **Maher *et al.* (2003)** αξιολόγησαν ¶¶309 γονότυπους φακής ¶(*Lens culinaris* Medik) για ανθεκτικότητα σε υψηλά επίπεδα αλατότητας (6 dS/m NaCl). ¶Τρία χαρακτηριστικά χρησιμοποιήθηκαν για να καθορίσουν την ανθεκτικότητα : ¶το ξηρό βάρος βλαστών, το ύψος φυτών και τα συμπτώματα τοξικότητας. ¶Το αποτέλεσμα ήταν ότι 237 από τους 309 αξιολογηθέντες γενοτύπους, επηρεάστηκαν σημαντικά από 6 dS/m NaCl. ¶Οι αυστραλιανές ποικιλίες είχαν χαμηλή ανθεκτικότητα σε NaCl, ειδικά η ‘Nugget' και για τα τρία χαρακτηριστικά. Ένας γενότυπος που εμφάνισε ανθεκτικότητα και στα τρία χαρακτηριστικά ήταν ο LG128 (ILL3534) από την Ινδία.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Οι **Hamdy *et al.* (2000)** πραγματοποίησαν μια μελέτη στη φακή για να ταξινομήσουν έξι νέες ποικιλίες σε σχέση με το βαθμό ανθεκτικότητας στην αλατότητα. ¶Οι καλλιέργειες φακής αναπτύχθηκαν σε μικρά λυσίμετρα που τοποθετήθηκαν στο θερμοκήπιο και αρδεύονταν με υφάλμυρο νερό διαφορετικών συγκεντρώσεων, 0.9 dS m^{-1} (γλυκό νερό, που χρησιμοποιείται για έλεγχο), 3, 6 και 9 dSm^{-1}.¶ ¶Η αποδοτικότητα χρήσης νερού στα σιτηρά (WUEg) είναι το αγρονομικό κριτήριο που χρησιμοποιείται για την ταξινόμηση των έξι ποικιλιών, και αντιπροσωπεύει την αναλογία της ξηρής ουσίας της φακής στο νερό που καταναλώνεται λόγω εξατμισοδιαπνοής. ¶¶Για τις έξι ποικιλίες παρατηρήθηκε ότι η περιοχή των φύλλων, η παραγωγικότητα σε ξηρή ουσία και η κατανάλωση νερού διέφεραν ανάλογα με τις συγκεντρώσεις του άλατος. ¶Το WUEg που λήφθηκε ως μέσος όρος των 4 επιπέδων αλατότητας, έδειξε την ποικιλία ILL5845 ως την πιο ανθεκτική, δεδομένου ότι είχε την υψηλότερη αξία WUEg (1,20 g/kg). ¶Οι ποικιλίες ILL5883, ILL6796, ILL5582 και ILL4400 κυμάνθηκαν μεταξύ μέτριας και μικρής ανθεκτικότητας, δεδομένου ότι η μέση αξία WUEg ήταν 0,89 g/kg. ¶Η ποικιλία ILL8006 ήταν αυτή με τη χαμηλότερη αξία WUEg (0,67 g/kg). ¶Επιπλέον η παραγωγικότητά της ήταν η χαμηλότερη και υπό αλατούχες και χωρίς αλατούχες εδαφολογικές συνθήκες¶ επομένως, λόγω της κακής αγρονομικής απόδοσής της, δεν συστήνεται κάτω από άρδευση με υφάλμυρο νερό.

Οι **Fernandez *et al.* (2008)** αξιολόγησαν μια ισπανική συλλογή 234 γενοτύπων φακής για ανθεκτικότητα στο ζιζάνιο *Orobanche crenata* σε συνθήκες αγρού. ¶Ενα ευρύ φάσμα αντιδράσεων παρατηρήθηκε, εντούτοις, πλήρης ανθεκτικότητα δεν ανιχνεύθηκε. ¶Μερικοί γενότυποι εμφάνισαν ουσιαστική μείωση μόλυνσης. ¶Τριάντα πέντε γενότυποι φακής με μειωμένη μόλυνση επιλέχτηκαν για περαιτέρω αξιολόγηση στον αγρό και για να καθορίσουν τα συστατικά της ανθεκτικότητας σε εργαστηριακά πειράματα. ¶Η μειωμένη μόλυνση φάνηκε ότι βασίζεται σε έναν συνδυασμό διάφορων μηχανισμών αποφυγής και ανθεκτικότητας: ¶(ι) σε χαμηλότερη πυκνότητα ρίζας, (ιι) σε χαμηλότερη επαγωγή βλάστησης σπόρου του ζιζανίου, (ιιι) σε μειωμένη παραγωγή ριζών του ζιζανίου και (iv) σε περιορισμένη ανάπτυξη φυματίων. ¶Επιπλέον, σε μερικούς γενοτύπους παρατηρήθηκε νέκρωση των φυματίων. ¶Αυτή η μελέτη εξηγεί πώς οι συμπληρωματικές *in vitro* μέθοδοι αξιολόγησης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να ταξινομήσουν και να προσδιορίσουν τους γενοτύπους φακής με πιθανή ανθεκτικότητα στο *Orobanche*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

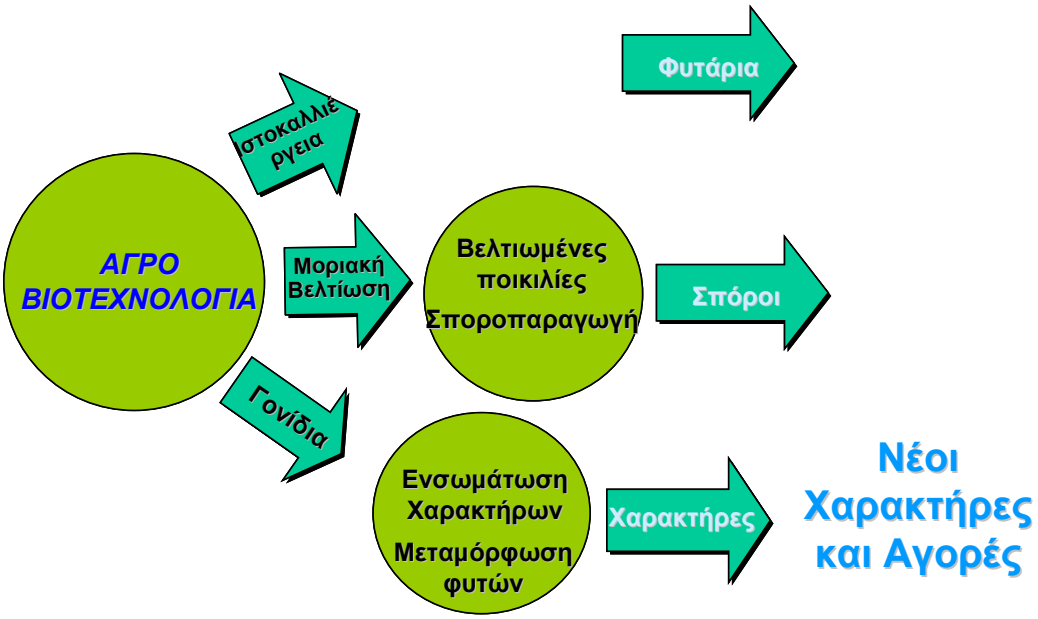
crenata, βασισμένη σε μηχανισμούς διαφορετικής ανθεκτικότητας, οι όποιοι στο μέλλον μπορεί να μεταφερθούν σε κάποια ποικιλία με βελτίωση.

2.5.2 Μοριακή Βελτίωση (MAB)

Με τη βοήθεια συγκεκριμένων γενετικών μονοπατιών, η γονιδιακή προσέγγιση μπορεί να στοχεύσει σε αύξηση της απόδοσης με βελτίωση αγρονομικών χαρακτηριστικών, όπως με εισαγωγή ανθεκτικότητας για αβιοτικές καταπονήσεις, ζιζανιοκτόνων και εντομοκτόνων. Μπορούν να γίνουν βελτιώσεις και στην ποιότητα της καλλιέργειας, συμπεριλαμβανόμενων των διατροφικών χαρακτηριστικών. Για αυτό και η τεχνολογία της γενετικής μηχανικής παρέχει σημαντική βοήθεια στην κλασική βελτίωση. Στην γενωμική εποχή, η γενετική μηχανική είναι ένα εργαλείο το οποίο χρησιμοποιείται για να απαντήσει σε βασικές βιολογικές ερωτήσεις όπως είναι η λειτουργία των γονιδίων και οι ρόλοι που έχουν σε σοβαρές φυσιολογικές διαδικασίες. Αξιόπιστα, αποτελεσματικά και αναπαραγόμενα συστήματα αναγέννησης και μετασχηματισμού (transformation) είναι απαραίτητα για αποτίμηση της επίδρασης των γονιδίων των γενωμάτων και των λειτουργιών τους καθώς και για ανακάλυψη της τεράστιας γνώσης που προκύπτει από τα γονιδιώματα φυτικών μοντέλων **(Ford *et al.*, 2003)**.

¶Η επιτυχής μεταφορά γονιδίων από διάφορες πηγές στους καλλιεργούμενους τύπους μπορεί να βοηθηθεί την επαναδιασταύρωση και την επιλογή με σκοπό να αφήσει πίσω ανεπιθύμητα γνωρίσματα και μεταφέροντας γονίδια ενδιαφέροντος. ¶Η επιλογή με χρήση μοριακών δεικτών μπορεί να γίνει ένα πολύτιμο εργαλείο σε μελλοντική χρήση άγριων ειδών¶¶ **(Muehlbauer *et al.*, 1993).**

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 3 Χρήση αγροβιοτεχνολογίας στη βελτίωση φυτών

Η βελτίωση για ασθένειες με δημιουργία ανθεκτικών φυτών προτείνεται ως το πιο αποτελεσματικό μέσο για τον έλεγχο τους. Έχουν βρεθεί πολλοί ανθεκτικοί γενότυποι τόσο στις καλλιεργούμενες όσο και στις άγριες φακές, καθώς και γονίδια ανθεκτικότητας. Τα προγράμματα βελτίωσης για τον έλεγχο των ασθενειών βασίζονται σε επαναδιασταύρωση και διατοπικά πειράματα. Πυραμιδοποίηση των γονιδίων και εύρεση γονιδίων κάθετης και οριζόντιας ανθεκτικότητας καθώς και χρησιμοποίηση γονιδίων που είναι παρόντα σε άγρια είδη είναι οι μέθοδοι που θα χρησιμοποιηθούν στο μέλλον. Η αναγνώριση περισσότερων πηγών με γονίδια ανθεκτικότητας, καλή γνώση του συστήματος παθογόνου-ξενιστή και αναγνώριση μοριακών δεικτών στενά συνδεδεμένων με γονίδια ανθεκτικότητας προτείνονται ως πιο αποτελεσματικές λύσεις για περαιτέρω μελέτη **(Ye *et al.*, 2002).**

Οι **Eujay *et al.* (1998)** ήταν οι πρώτοι που αναγνώρισαν δείκτες κατάλληλους για επιλογή γονιδιακών θέσεων ανθεκτικότητας απλά κληρονομούμενων ασθενειών όπως το φουζάριο (Fw). Μετέπειτα οι **Ford *et al.* (1999)** αναγνώρισαν RAPD δείκτες οι όποιοι ήταν κοντά και πλαισίωναν την κυρίαρχη θέση της ανθεκτικότητας της ασκοχύτας στον πληθυσμό ILL5588 (*Ral*1/*AbR*1). Οι **Chowdhury *et al.* (2001)** ανέπτυξαν και αυτοί δείκτες οι οποίοι συνόρευαν με την θέση ανθεκτικότητας της ασκοχύτας στην ποικιλία Indianhead (*ral*2). Προσφάτως αναγνωρίστηκαν δείκτες οι οποίοι είναι πολύ κοντά με την κυρίαρχη θέση ανθεκτικότητας της ασθένειας στον πληθυσμό ILL7537 **Rubeena *et al.* (2006)** και οι **Tullu *et al.* (2003)** αναγνώρισαν δείκτες οι οποίοι συνδέονται με ανθεκτικότητα στην ανθράκωση στον πληθυσμό

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

PI320937 (*LCt*-2). Η πιο πρόσφατη έρευνα για μοριακούς δείκτες που αναπτύχθηκε για επιλογή ανθεκτικότητας κάποιας ασθένειας αναφέρεται από τους **Hamwieh *et al.* (2005)**, οι οποίοι αναγνώρισαν δείκτες πολύ κοντά στη θέση *Fw* του πληθυσμού ILL5588.

Στη συνέχεια η έρευνα στράφηκε από τους τυχαίους δείκτες σε δείκτες με συγκεκριμένη αλληλουχία, που μπορούν να αναχαραχθούν και μεταβιβάζονται ασθενώς μεταξύ των γενωμάτων **(Nguyen *et al.*, 2001).** Αν και πολλοί SCAR δείκτες αναπτύχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν μεταξύ των γενοτύπων, δεν ήταν δυνατόν να γίνει επιλογή για γονίδια που ελέγχουν χαρακτηριστικά που ενδιαφέρουν. Αντιθέτως, οι νέοι μοριακοί λειτουργικοί χάρτες που αναπτύσσονται **(Phan *et al.*, 2006),** μπορούν να οδηγήσουν σε απευθείας επιλογή των πραγματικών υποψηφίων γονιδίων. Με τη βοήθεια της γνώσης των γονιδιακών περιοχών οι οποίες εξηγούν ποσοτικά τα γενετικά τμήματα συγκεκριμένων φαινοτύπων **(Rubeena *et al.*, 2006),** αυτοί οι χάρτες θα καταφέρουν να δώσουν ακρίβεια στην επιλογή για σύνθετα γονιδιακά χαρακτηριστικά, για μελλοντική πυραμιδοποίηση των χαρακτηριστικών γονιδίων **(Taran *et al.*, 2003)** και προσαρμογή σε πολλά περιβάλλοντα.

2.5.4 Εφαρμογές της ιστοκαλλιέργειας στην βελτίωση της φακής

Η τεχνική της ιστοκαλλιέργειας χρησιμοποιείται σε μεγάλη έκταση σήμερα για τη μελέτη βασικών και εφαρμοσμένων προβλημάτων της βιολογίας φυτών.

Η ιστοκαλλιέργεια *(plant tissue culture)* είναι η τεχνολογία της παραγωγής φυτικού πολλαπλασιαστικού υλικού από πολύ μικρά φυτικά τμήματα (ιστούς ή κύτταρα), που αποχωρίζονται από το μητρικό φυτό και αναπτύσσονται κάτω από ασηπτικές συνθήκες μέσα σε δοκιμαστικούς σωλήνες ή δοχεία, όπου οι συνθήκες περιβάλλοντος και θρέψης ελέγχονται αυστηρά. Στην πραγματικότητα δεν πρόκειται πάντα για καλλιέργεια ιστών αλλά για ασηπτική καλλιέργεια κάτω από πειραματικές συνθήκες φυτικών τμημάτων, το μέγεθος των οποίων μπορεί να κυμαίνεται από γυμνούς πρωτοπλάστες και ατομικά κύτταρα μέχρι ολόκληρα όργανα όπως είναι οι ωοθήκες, τα έμβρυα και οι κοτυληδόνες.

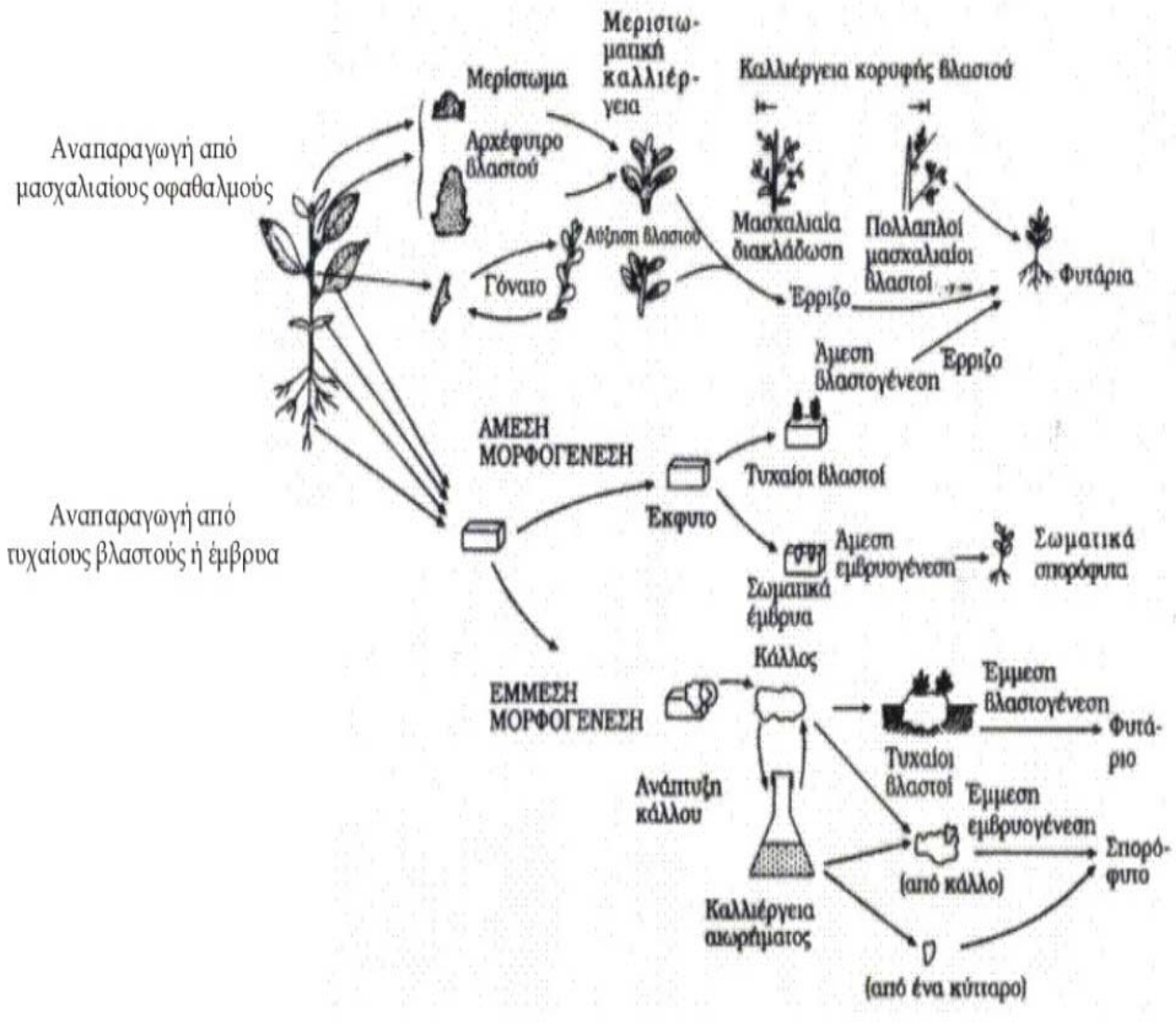
Η καλλιέργεια φυτών υπό ασηπτικές συνθήκες (ιστοκαλλιέργεια, *in vitro* καλλιέργεια, μικροπολλαπλασιασμός) στηρίζεται στη θεωρία της ολοδυναμίας των φυτικών ιστών σύμφωνα με την οποία τα κύτταρα έχουν την ικανότητα να αναγεννώνται προκειμένου να δώσουν ένα πλήρες φυτό **(Haberland, 1902)**.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Ο μικροπολλαπλασιασμός περιλαμβάνει την αποκοπή ενός μικρού τμήματος από το μητρικό φυτό, την απαλλαγή του από μικροοργανισμούς (αποστείρωση) και την τοποθέτηση του σε θρεπτικό υπόστρωμα για καλλιέργεια. Αυτό το φυτικό τμήμα ονομάζεται μόσχευμα ή μικρομόσχευμα ή έκφυτο (explant) και αποτελεί τη βασική μονάδα για κάθε καλλιέργεια. Οι νέοι βλαστοί που παράγονται από το μικρομόσχευμα επανακαλλιεργούνται για επέκταση της καλλιέργειας. Τελικά από αυτά σχηματίζονται ρίζες έτσι ώστε να παράγονται νέα αυτοδύναμα φυτάρια. Ως έκφυτα μπορούν να χρησιμοποιηθούν οποιαδήποτε φυτικά τμήματα που έχουν την δυνατότητα να αναπαράγουν το αρχικό φυτό. Τέτοια είναι τα επάκρια και πλευρικά μεριστώματα, οι μασχαλιαίοι οφθαλμοί, οι κορυφές των βλαστών, τα έμβρυα των σπερμάτων καθώς και τμήματα νεαρών φύλλων, κοτυληδόνων, υποκοτύλων και ριζών.

Αν και ο **Haberlant (1902)** απέτυχε στις πρώτες του προσπάθειες να καλλιεργήσει μεμονωμένα κύτταρα, έθεσε τις βάσεις για εξέλιξη στον τομέα της ιστοκαλλιέργειας. Σημαντικό βήμα στην εξέλιξη του μικροπολλαπλασιασμού αποτέλεσε ο σχηματισμός ριζών από κάλλους καρότου και η *in vitro* καλλιέργεια σπόρων, εμβρύων και φυτικών τμημάτων ορχιδέας που οδήγησαν στη δημιουργία του πρώτου φυτού με την τεχνική αυτή **(Nobecourt *et al.*,1939)**.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 4 Πορεία ιστοκαλλιέργειας μετά από επιλογή διαφορετικών εκφύτων για *in vitro* για παραγωγή φυταρίων και σποροφύτων

Η εφαρμογή του αγενούς πολλαπλασιασμού φυτών μέσω ιστοκαλλιέργειας ξεκίνησε από τους **Morel και Martin (1952),** οι οποίοι έδειξαν ότι φυτά ντάλιας μπορούν να απαλλαχτούν από τον ιό του μωσαϊκού μέσω της καλλιέργειας των βλαστικών κορυφών.

Ο πολλαπλασιασμός των φυτών με ιστοκαλλιέργεια, όπως εφαρμόζεται σήμερα, στηρίζεται σε δύο διαδικασίες. Αφενός στο σχηματισμό βλαστών από φυτικά τμήματα που βασίζεται στην παρατήρηση των **Wikson και Thimann (1958)** ότι η κυριαρχία κορυφής στο μπιζέλι θα μπορούσε να ξεπεραστεί με χειρισμό μεγαλύτερης δόσης κυτοκινίνης και αφετέρου στον επίκτητο σχηματισμό ριζών από

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

μικρομοσχεύματα. Η επιλεκτική επαγωγή επίκτητων βλαστών και ριζών προήλθε από τους **Skoog και Miller (1957),** οι οποίοι ανακάλυψαν ότι υψηλά επίπεδα κυτοκινίνης σε συνδυασμό με χαμηλή συγκέντρωση αυξίνης οδήγησαν στην ανάπτυξη βλαστών από κάλλο καπνού. Η πρώτη εφαρμογή της ιστοκαλλιέργειας σε εμπορική κλίμακα πραγματοποιήθηκε με τον μικροπολλαπλασιασμό της ορχιδέας στις αρχές του 1963.

Πρόσφατα καθώς οι τεχνικές των υποστρωμάτων βελτιώθηκαν, έγινε σαφές ότι η ιστοκαλλιέργεια προσφέρει απλοποιημένα συστήματα για εφαρμογή σε πολλά άλλα πεδία της επιστήμης των φυτών όπως η βιοχημεία, η γενετική, η βελτίωση φυτών, η φυτοπαθολογία και άλλοι τομείς της σύγχρονης βιοτεχνολογίας **(Ingram, 1980).** Η πρακτική εφαρμογή των μεθόδων του μικροπολλαπλασιασμού στην αναγέννηση και τον εμπορικό πολλαπλασιασμό των φυτών βελτιώθηκε σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες και αποτελεί σήμερα σημαντική εναλλακτική λύση των συμβατικών μεθόδων πολλαπλασιασμού για μεγάλο εύρος φυτικών ειδών.

Οι τομείς, όπου η ιστοκαλλιέργεια εφαρμόζεται είναι οι εξής:

1. Παραγωγή φαρμακευτικών και λοιπών σκευασμάτων.
2. Γενετική βελτίωση φυτών.
3. Παραγωγή άνοσου φυτικού υλικού (απαλλαγμένου ιώσεων).

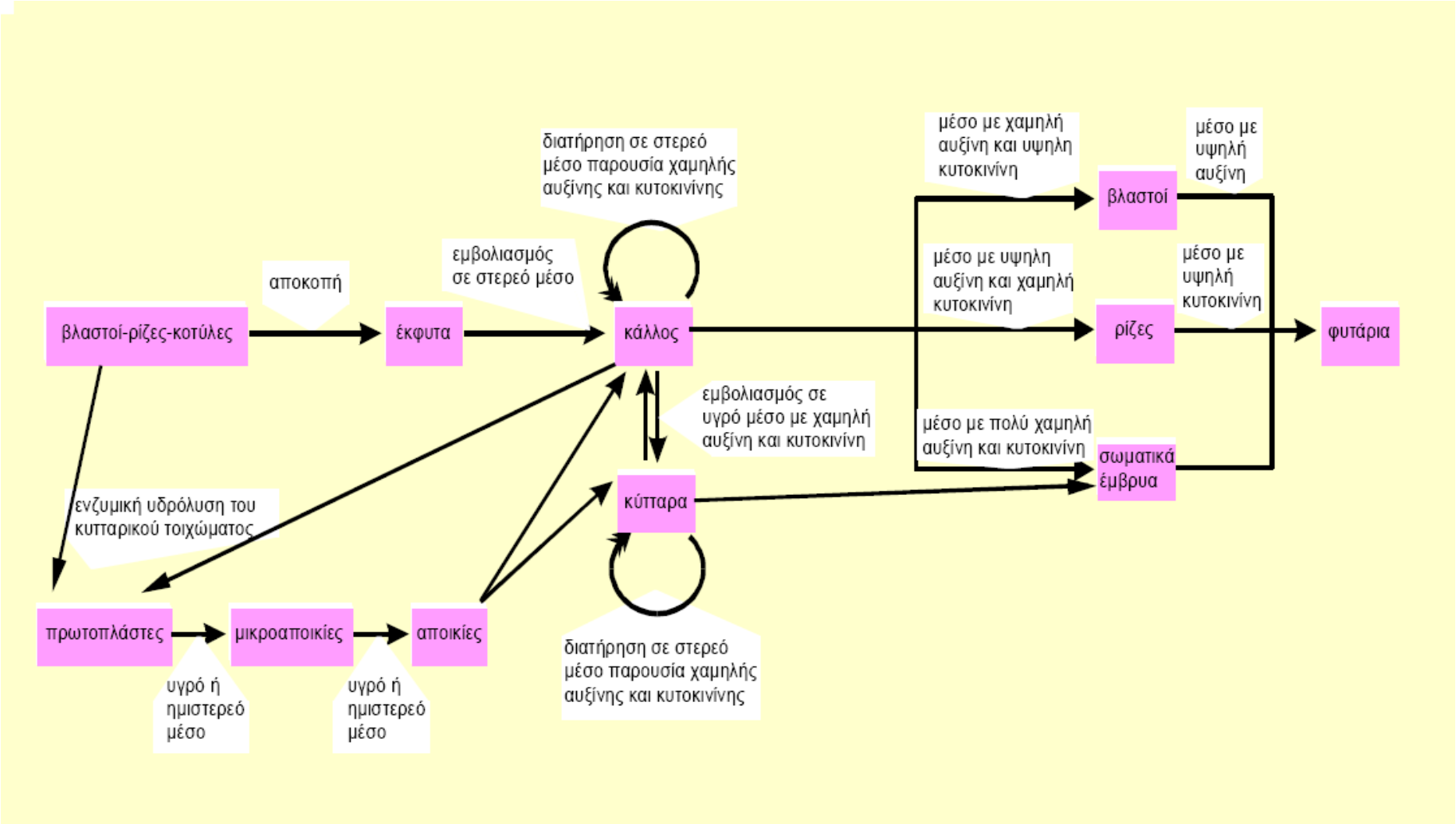
Άλλες πιθανές εφαρμογές επί του παρόντος ή στο εγγύς μέλλον είναι η δυνατότητα επιλογής μεταλλάξεων *in vitro.*

Η ιστοκαλλιέργεια σε συνδυασμό με τη γενετική μηχανική μπορεί να συνδυάσει γονίδια διαφορετικών φυτικών ειδών σ’ ένα νέο άτομο και έτσι να παράγει φυτά πιο αποδοτικά, που έχουν την ικανότητα π.χ. της αζωτοδέσμευσης ή είναι πιο ανθεκτικά σε αντίξοες εδαφοκλιματικές συνθήκες. Η τεχνική της καλλιέργειας εμβρύων έχει εξυπηρετήσει τον υβριδισμό για πολλά έτη. Επίσης, η επικονίαση σε δοκιμαστικό σωλήνα μπορεί να βρει χρήση στη βελτίωση φυτών.

Μια άλλη χρήση είναι η δημιουργία απλοειδών φυτών όπου μειώνει τα στάδια του υβριδισμού και βοηθά στην απόκτηση μεταλλάξεων και η τεχνική της συνένωσης πρωτοπλαστών σε γενετικώς καθορισμένα είδη και η δημιουργία σωματικών υβριδίων. Πέρα από την χρήση της στον πολλαπλασιασμό, η καλλιέργεια οργάνων μπορεί να προσαρμοστεί για μελέτη ειδικών προβλημάτων μορφογένεσης και για μελέτη θέσεων όπου γίνεται η βιοσύνθεση ειδικών μεταβολιτών και αυξητικών παραγόντων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 5 Περιληπτική διαγραμματική απεικόνιση των διαφορετικών χειρισμών και υποστρωμάτων ιστοκαλλιέργειας για *in vitro* παραγωγή φυταρίων

Οι εφαρμογές της ιστοκαλλιέργειας μπορούν να παίξουν σημαντικό ρόλο στη επίλυση βασικών προκλήσεων που αντιμετωπίζει η κλασική βελτίωση ¶Οι τεχνικές δυσκολίες στην πραγματοποίηση υβριδίων εκτός από εκείνων που παρατηρούνται στην αρχική δεξαμενή γονιδίων, είναι ένα σημαντικό εμπόδιο. ¶Η αναπαραγωγική απομόνωση, η ελλιπής ανάπτυξη ή η κατάρρευση εμβρύων, η στειρότητα των υβριδίων και ο περιορισμένος γενετικός ανασυνδυασμός είναι σημαντικά εμπόδια σε μια εκτεταμένη χρήση του άγριου γενώματος.¶ Η συμβατικές διασταυρώσεις είναι επιτυχείς στην παραγωγή των ενδοειδικών υβριδίων στη φακή και τα υβρίδια αξιολογούνται για επιθυμητούς ανασυνδιασμούς. ¶Η *in vitro* καλλιέργεια των υβριδικών εμβρύων στη φακή, πραγματοποιήθηκε σε ορισμένες περιπτώσεις με τη χρήση διασταυρώσεων τύπου γέφυρας **(Muehlbauer *et al.*,1993).**

2.5.4.1 Αναγέννηση βλαστών

Λόγω των δυσκολιών να παραχθούν διειδικά υβρίδια φακής, απαιτείται συχνά κάποια τεχνική για γρήγορη δημιουργία και πολλαπλασιασμό βλαστών πριν τη δημιουργία ριζών. Η *in vitro* αναπαραγωγή από ακραία μεριστώματα φακής αναφέρθηκε πρώτα από τον **Bajaj (1979)** ο οποίος βρήκε ότι αναγέννηση βλαστών παρατηρήθηκε σε θρεπτικό μέσο MS, που περιείχε 2 mg/l IAA και 0.5 mg/l KN.

Οι **Williams and McHaugen (1986)** καλλιεργώντας τμήματα φακής, όπως κομμάτια μεριστωματικού ιστού και κοτυληδόνες, σε υπόστρωμα το οποίο περιείχε κινιτίνη και γιβερριλίνη, παρήγαγαν βλαστούς σε σχετικά μεγάλους αριθμούς ακόμη και μετά από συνεχόμενη ιστοκαλλιέργεια. Οι βλαστοί αυτοί στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν σε ειδικούς θαλάμους με ελεγχόμενη υγρασία για να παράγουν ολοκληρωμένα, υγιή φυτά.

Η αναγέννηση βλαστών από μεριστώματα έκφυτων με χρήση BAP, αναφέρθηκε αργότερα από τους **Polanco *et al.*, (1988)** όπου άκρες βλαστών νεαρών φυτών, προερχόμενες από τα πρώτα γόνατα ή και ανώριμους σπόρους καλλιεργήθηκαν σε μέσο MS το οποίο περιείχε 2.25 ή 0.225 mg/l BAP και 0.186 ή 0.0186 mg/l NAA με ή χωρίς 1 mg/l GA_3 και παρήγαγε πολλαπλούς βλαστούς.

Οι **Malik and Saxena (1990)**, παρατήρησαν ότι το TDZ ήταν πιο αποτελεσματικό από την κινιτίνη και την ζεατίνη για παραγωγή πολλαπλών βλαστών σε καλλιέργειες νεαρών φυτών φακης με το μεγαλύτερο αριθμό βλαστών και υψηλότερο ποσοστό αναγέννησης να διαπιστώνεται μεταξύ 10 έως 30 μM TDZ. Οι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Ye *et al.* (2002) επιβεβαίωσαν ότι τα BAP και TDZ αυξάνουν τον σχηματισμό βλαστών σε καλλιέργειες σπόρων και ότι το θρεπτικό μέσο MS παρήγαγε περισσότερους και μεγαλύτερους βλαστούς από ότι το Gamborg΄s B5 **(Gamborg *et al.*, 1968)**, με απαραίτητη προσθήκη 750 mg/l $CaCl_2$ για ελαχιστοποίηση της νέκρωσης των άκρων των βλαστών.

Οι **Polanco and Ruiz (2001)** περιγράφουν ένα αποτελεσματικό και απλό πρωτόκολλο για αναγέννηση ανώριμων σπόρων φακής. Ανώριμοι σπόροι μεγέθους από 1 έως 6 mm τεσσάρων ποικιλιών φακής καλλιεργήθηκαν *in vitro* σε 10 διαφορετικά θρεπτικά υποστρώματα. Το υπόστρωμα της καλλιέργειας περιελάμβανε διαφορετικές συγκεντρώσεις από BAP, μόνο του ή μαζί με άλλες φυτοορμόνες. Μετά από τέσσερις εβδομάδες καλλιέργειας παρατηρήθηκε πολλαπλή αναγέννηση βλαστών. Το μέγεθος των ανώριμων σπόρων εμφάνισε σημαντικές διαφορές στην αναγέννηση βλαστών.

Οι **Fratini and Ruiz (2002)** ανέφεραν υψηλούς αριθμούς βλαστών με χρήση TDZ αλλά η επακόλουθη ριζοβολία παρεμποδίστηκε μετά την χρήση του συγκεκριμένου ρυθμιστή αύξησης. Για αυτό συνέστησαν την ζεατίνη για παραγωγή βλαστών πιθανότατα λόγω της μικρότερης επίδρασης της φυσικής κυτοκινίνης.

Οι **Sharker *et al.* (2003)** χρησιμοποίησαν τέσσερις ποικιλίες φακής (BM-1, BM-2, BM-3 και BM-4) που ανήκουν στον μικρόσπερμο τύπο για *in vitro* αναγέννηση. Μεταξύ διαφορετικών εκφύτων, οι κοτυληδόνες των BM-2 και BM-4 ποικιλιών ήταν οι καταλληλότερες για πολλαπλή αναγέννηση βλαστών ενώ τα έμβρυα χωρίς περίβλημα είχαν τα αμέσως καλύτερα αποτελέσματα. Καλύτερη πολλαπλή αναγέννηση βλαστών εμφανίστηκε σε MS θρεπτικό υπόστρωμα, το οποίο περιείχε 0,5 mg/l BAP, 0,5 mg/l KN, 0,1 mg GA_3 και 5,5 mg/l τυροσίνη. Μέτρια επιτυχία παρατηρήθηκε στην ανάπτυξη ριζών σε MS υπόστρωμα με 25 mg/l BAP.

Οι **Ahmad *et al.* (1997)** δημιούργησαν ένα *in vitro* πρωτόκολλο για έμβρυα υβριδίων μεταξύ των καλλιεργούμενων ποικιλιών φακής και δυο με δυο άγριων συγγενών ειδών φακής (*Lens ervoides και Lens culinaris ssp.orientalis*). Το αντικείμενο των πειραμάτων ήταν να βελτιστοποιηθεί το μέσο της *in vitro* αναγέννησης βλαστών από κομβικά τμήματα χωρίς τη μεσολάβηση της φάσης του κάλλου. Ο αριθμός των βλαστών ανά έκφυτο, ο αριθμός των κόμβων ανά βλαστό, το μήκος των βλαστών καθώς και τα επίπεδα της γιββεριλίνης και βενζυλαδενίνης είχαν τις μεγαλύτερες επιδράσεις. Για το λόγο αυτό τα πειράματα ανέδειξαν ένα πρωτόκολλο το οποίο έδειξε τα βέλτιστα επίπεδα των ρυθμιστών αύξησης, τα άλατα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

του θρεπτικού υποστρώματος MS και τις συγκεντρώσεις της σουκρόζης για να επιτευχθεί η μεγίστη αναγέννηση φυτών. Το μέσο που συστήθηκε για βέλτιστη βλαστική αναγέννηση χωρίς το ενδιάμεσο στάδιο του κάλλου περιείχε 2,89 μM GA_3 σε συνδυασμό με 1,11 μM BA σε μέσο MS χωρίς σουκρόζη. Το τελικό στάδιο επιτυχημένης δημιουργίας αναγεννημένων φυτών συμπληρώθηκε με τη μεταφορά των εκφύτων σε ένα τρίτο MS μέσο, το οποίο περιείχε τη μίση ποσότητα αλάτων.

2.5.4.2 Αναγέννηση ριζών

Μέχρι προσφάτως τα ψυχανθή αποδείχτηκαν δύστροπα είδη στην *in vitro* αναγέννηση. Η δημιουργία ριζών στην *in vitro* καλλιέργεια της φακής, απαραίτητη για δημιουργία ολόκληρων φυτών μετά την εμβρυοδιάσωση, αποδείχτηκε πιο δύσκολη από ότι σε άλλα φυτικά είδη. Κατά την πρώτη αναφορά ιστοκαλλιέργειας φακής **(Bajaj and Dhanju, 1979)** δεν υπήρχε αναφορά για την αύξηση της ρίζας. Μετέπειτα αναφορές που αφορούσαν την εμβρυοδιάσωση **(Cohen *et al.*, 1984; Ladizinsky *et al.*, 1985)** περιέγραψαν ανάπτυξη ρίζας από έμβρυα που διασώθηκαν σε μέσο MS το οποίο περιείχε 0.2 mg/l IAA, 0.2 mg/l IAA και 30 g/l σουκρόζη.

Οι **Polanco *et al.* (1988)** βρήκαν ότι ρίζες μπορούν να αναγεννηθούν από βλαστούς σε μέσο το οποίο περιέχει 2 mg/l IAA ή 0.186 mg/l NAA. Η δημιουργία ριζών κυμάνθηκε σε ποσοστό από 0 έως 86 % και εξαρτιόταν από τον γενότυπο και το έκφυτο. Οι **Ahmad *et al.* (1997b)** βρήκαν ότι MS μέσο με 5.37 μM NAA ήταν το καλύτερο για επαγωγή ριζών μεταξύ των ειδών φακής και των F1 ενδοειδικών υβριδίων.

Οι **Polanco and Ruiz (1997)** μελέτησαν **τ**ην επίδραση του BAP στον σχηματισμό ριζών σε αναγεννημένους βλαστούς φακής σε θρεπτικό υπόστρωμα. Ακραία μεριστώματα και φύλλα καθώς και ανώριμοι σπόροι καλλιεργήθηκαν αρχικά σε θρεπτικό μέσο το οποίο περιείχε 2,25 και 0,225 mg/l BAP ώστε να γίνει πολλαπλή αναγέννηση βλαστών. Οι αναγεννημένοι βλαστοί σχημάτισαν ρίζες σε ποσοστά που κυμάνθηκαν από 4,6 έως 39,9 % σε υπόστρωμα το οποίο περιείχε 2 mg/l IAA. Η επιτυχία στη δημιουργία ριζών στο συγκεκριμένο μέσο, εξαρτήθηκε από το είδος της κινιτίνης που χρησιμοποιήθηκε στο αρχικό μέσο, την συγκέντρωση της και τον χρόνο που πέρασε από τον σχηματισμό των βλαστών στο αρχικό μέσο έως τη μεταφορά των εκφύτων σε νέο θρεπτικό μέσο για παραγωγή ριζών. Η *in vivo* μελέτη της αύξησης ριζών σε σπορόφυτα φακής εντόπισε ισχυρή ανασταλτική δράση του

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

BAP στην ανάπτυξη της ρίζας που εκφράζεται με τη δραστική μείωση του μεριστώματος της ρίζας κατά την μίτωση.

Οι **Polanco and Ruiz (2001)** παρατήρησαν ότι οι βλαστοί που δημιουργήθηκαν με την αναγέννηση (έως 4 βλαστοί για κάθε έκφυτο σε υπόστρωμα με κινιτίνη και 5 με 20 βλαστοί για υπόστρωμα με BAP) ανέπτυξαν σποραδικά ρίζες 30 ημέρες μετά την μεταφορά τους σε μέσο που περιείχε 11,4 μM IAA. Η αποδοτικότητα του θρεπτικού μέσου για δημιουργία ριζών ποικίλε και είχε άμεση εξάρτηση με το θρεπτικό μέσο που χρησιμοποιήθηκε για αναγέννηση βλαστών καθώς και από τις εξεταζόμενες ποικιλίες. Το υψηλότερο ποσοστό ριζών (88,9 %) παρατηρήθηκε σε αναγεννημένους βλαστούς της ποικιλίας Verdina σε υπόστρωμα με 1 μM NAA.

Οι **Fratini and Ruiz (2002)** βρήκαν και το BAP και TDZ παρεμποδίζουν τη δημιουργία ριζών όταν εφαρμόζονται κατά την φάση σχηματισμού βλαστών. Για αυτό πρότειναν τη μείωση του χρόνου έκθεσης των βλαστών σε αυτούς τους ρυθμιστές αύξησης στο ελάχιστο. Αντιθέτως οι **Ye *et al.* (2002)** δεν παρατήρησαν αναστολή στη δημιουργία ριζών μετά από τη δημιουργία βλαστών με BAP. Σε αυτή την μελέτη, άκρες βλαστών από καλλιεργούμενα και άγρια είδη φακής ανέπτυξαν ρίζες σε μέσο με 1.5 mg/l NAA. Ωστόσο διαφορές μεταξύ της ικανότητας ριζογένεσης διάφορων ειδών, παρατηρήθηκαν με το ποσοστό ριζοβολίας των βλαστών του *Lens ervoides* να είναι 83 % ενώ για το *Lens nigricans* μόνο 52 %. Σε προηγούμενη μελέτη, οι **Ye *et al.* (2000)** παρατήρησαν αντίστοιχα 70 % και 74 % ριζοβολίας των υβριδίων *Lens culinaris* X *Lens ervoides* και *Lens culinaris* X *Lens culinaris ssp.orientalis*.

Οι **Fratini and Ruiz (2003)** παρατήρησαν ότι τοποθετώντας ακραία τμήματα μασχαλιαίων οφθαλμών στο μέσο καλλιέργειας (αντιστραμμένα) αντί για τμήματα της βάσης, η συχνότητα παραγωγής ριζών αυξήθηκε σημαντικά. Το υψηλότερο ποσοστό ριζοβολίας ήταν 95 % και παρατηρήθηκε σε τμήματα οφθαλμών τα οποία ήταν αντιστραμμένα σε μέσο MS το οποίο περιείχε 3% σουκρόζη, 5 μM IAA και 1 μM KN σε αντίθεση με το ποσοστό ριζοβολίας που ήταν 11% όταν τα έκφυτα ήταν τοποθετημένα σε κανονική κατεύθυνση στο ίδιο μέσο.

Μια μετέπειτα μελέτη από τους **Newell *et al.* (2006)**, έδειξε ξεκάθαρα ότι ο αερισμός περισσότερο από την κατεύθυνση των βλαστών, είναι ο κριτικός παράγοντας που αυξάνει την συχνότητα των ριζών. Απέδειξαν ότι σχεδόν το 100%

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

των τμημάτων των βλαστών της φακής μπορούσε να παράγει ρίζες όταν η άκρες των έκφυτων ήταν καλά αερισμένες.

Οι **Gulati *et al.* (2001)** ανέπτυξαν μια μέθοδο εμβολιασμού στην οποία οι βλαστοί της φακής ενώνονταν σε έκφυτα τα οποία είχαν αποκεφαλισμένες ρίζες και τα οποία δημιουργούσαν μια γραμμή από αγγειακούς ιστούς. Τα πλεονεκτήματα της τεχνικής αυτής είναι ότι απαιτείται πολύ μικρότερος χρόνος (λιγότερο από δυο εβδομάδες) για ριζοβολία και ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε ρυθμιστής αύξησης κατά την διάρκεια της παραγωγής βλαστών, δίνοντας επιτυχημένα αποτελέσματα που κυμαίνονται από 84 έως 96 %. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιήθηκε σε υβρίδια από διασταυρώσεις των *L.culinaris X L.lamottei* με 53 % αποτελεσματικότητα **(Fiala, 2006)**.

2.5.4.3 Καλλιέργεια κάλλου και σωματική εμβρυογένεση

Η καλλιέργεια κάλλου και η μετέπειτα αναγέννηση με σωματική εμβρυογένεση ή οργανογένεση, είναι απαραίτητη για γενετική μεταφορά και αυξάνει τον ανασυνδιασμό μεταξύ γενωμάτων των διειδικών υβριδίων και της *in vitro* επιλογής σε κυτταρικό επίπεδο. Η αρχική αναφορά ιστοκαλλιέργειας στη φακή από τους **Bajaj and Dhanju (1979),** περιέγραφε επίσης παραγωγή κάλλου από μεριστώματα σε MS μέσο συμπληρωμένο με 1 ή 2 mg/l 2,4 D αλλά καμία αναγέννηση από κάλλο δεν παρατηρήθηκε.

Η πρώτη αναφορά αναγέννησης από κάλλο έγινε από τους **Williams and McHughen (1986),** οι οποίοι βρήκαν ότι κάλλος μπορούσε να παραχθεί σε MS μέσο με συνδυασμούς από 2,4 D, KIN και GA_3 σε συγκεντρώσεις 0.1, 1 και 10 mg/l. Βλαστοί από ιστούς κάλλου βρέθηκαν μόνο σε μέσο αναγέννησης που περιείχε 10 mg/l KN σε συνδυασμό με 1 ή 0.1 mg/l GA_3.

Η πρώτη αναφορά σωματικής εμβρυογένεσης της φακής έγινε από τους **Saxena and King (1987)**. Έκφυτα από ανώριμα έμβρυα καλλιεργήθηκαν είτε σε B5A (B5 +500 mg/l αμμωνιακό N) ή σε υπόστρωμα BS το οποίο περιείχε 1-10 mg/l 2,4D. Η ανάπτυξη του κάλλου ήταν καλύτερη σε συγκέντρωση 2,4- D μεταξύ 1-5 mg/l και το υπόστρωμα B5A παρήγαγε πιο οργανωμένους κάλλους από το MS. Ο κάλλος που δημιουργήθηκε σε υπόστρωμα με 1 mg/l 2,4-D και μεταφέρθηκε σε υπόστρωμα με χωρίς 2,4-D αλλά περιείχε 1 mg/l BAP και 0.25 mg/l IAA παρήγαγε εμβρυοειδή με όμοιο σχήμα. Τα εμβρυοειδή μεταφέρθηκαν σε υπόστρωμα B5A χωρίς ρυθμιστές

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

ανάπτυξης και με προσθήκη 70 mg/l γλουταμίνη για να προωθηθεί η ανάπτυξη των εμβρύων. Τα έμβρυα τα οποία ανέπτυξαν καλοσχηματισμένους βλαστούς και ρίζες κατάφεραν να αναπτυχθούν σε τροποποιημένο υπόστρωμα B_5 (B_5A) χωρίς ρυθμιστές ανάπτυξης.

Οι **Polanco *et al*. (1988)** μελέτησαν την επίδραση του θρεπτικού μέσου και των εκφύτων στη δημιουργία κάλλου και βλαστών φακής. Τρία διαφορετικά έκφυτα (κορυφές βλαστών, πρώτος κόμβος και πρώτο ζευγάρι φύλλων) από τρεις ισπανικές ποικιλίες φακής καλλιεργήθηκαν σε δυο βασικά θρεπτικά υποστρώματα. Το πρώτο μέσο ήταν το MS που περιείχε μεταλλικά άλατα και το δεύτερο το MSB που περιείχε ρυθμιστές αύξησης. Υπόστρωμα με 2,4-D προώθησε τη δημιουργία κάλλου σε όλα τα έκφυτα, αλλά καμία αναγέννηση φυτικού οργάνου δεν παρατηρήθηκε από αυτούς τους κάλλους. Πολλαπλή δημιουργία βλαστών παρατηρήθηκε σε ποσοστά που κυμάνθηκαν από 33 έως 92 % των εκφύτων σε θρεπτικό υπόστρωμα που περιείχε 2,25 mg/l BA και 0,186 mg/l NAA + 2,25 mg/l BA. Στα άλλα μέσα αναπτύχθηκαν ένας με δυο βλαστοί ανά έκφυτο, σε ποσοστό από 10 έως 98 % των εκφύτων. Από τα έκφυτα που ελέχθησαν, οι καλύτερες μορφολογικές αντιδράσεις παρατηρήθηκαν σε κόμβους και οι χειρότερες σε φύλλα.

Οι **Rozwadowski *et al.* (1990)** κατάφεραν να δημιουργήσουν επιτυχώς αποικίες κάλλων από επικοτύλες πρωτοπλαστών με χρήση σύνθετου KM8P υποστρώματος το οποίο περιείχε ένα συνδυασμό από πέντε ρυθμιστές ανάπτυξης (2.2 μM 2,4-D + 2.7 μM NAA + 2.2 μM BAP +2.3 μM KN + 2.2 μM GA_3) ή τρεις ρυθμιστές ανάπτυξης (5.4 μM NAA +2.2 μM BAP). Ωστόσο καμία από αυτές τις αποικίες των κάλλων δεν παρήγαγε βλαστούς ή έμβρυα.

2.5.4.4 Εμβρυοδιάσωση και διειδικές διασταυρώσεις

Ικανότητα διασταύρωσης ορίζεται από τον Ladizinsky (1992) ως η δυνατότητα διασταύρωσης ατόμων τα οποία ανήκουν σε διαφορετικά τάξα και παράγουν έμβρυα ή σπόρους από τα οποία προκύπτει ένα F1 φυτό. Η δυνατότητα διασταύρωσης εντός του γένους *Lens* παρεμποδίζεται από τους φραγμούς διασταύρωσης τόσο εντός των ειδών όσο και μεταξύ των ειδών **(Ladizinsky and Abbo 1993, Ladizinsky 1997, Ferguson *et al.* 2000)**. Το *Lens culinaris ssp. orientalis* θεωρείται ότι είναι ο άγριος πρόγονος των καλλιεργούμενων φακών και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

είναι εύκολες οι διασταυρώσεις μεταξύ των ειδών **(Ladizinsky *et al.* 1984)**. Έχουν ωστόσο διαπιστωθεί εξαιρέσεις από τους **Ladizinsky and Abbo (1993)** και **Van Oss *et al.*(1997)**, οι οποίοι διαπίστωσαν ότι η συλλογή S76 του είδους *Lens culinaris ssp. orientalis* της Συρίας είναι συμβατή με μόνο δυο συλλογές τις S74 και S138 και ασύμβατη με όλες τις άλλες συλλογές σύμφωνα με την αποτυχία να δημιουργηθούν υβριδικά έμβρυα.

Μερικώς γόνιμα υβρίδια μπορούν να παρατηρηθούν από πολλές διασταυρώσεις εντός του γένους με διαφόρων βαθμών γονιμότητα. Σε πολλές περιπτώσεις είναι απαραίτητες, η εφαρμογή GA_3 ή οι τεχνικές διάσωσης των εμβρύων. Μόνο τρεις διασταυρώσεις δεν έχουν δώσει υβρίδια έως σήμερα, η *Lens culinaris ssp.orientalis* X *Lens ervoides* ή *Lens nigricans* **(Ladizinsky *et al.*, 1984)**, η *Lens culinaris ssp.tomentosus* X *Lens lamottei* **(van Oss *et al.*, 1997)**. Σε όλες αυτές τις διασταυρώσεις, είτε δεν εφαρμόστηκε GA_3 ή δεν εφαρμόστηκε διάσωση εμβρύου στον κατάλληλο χρόνο.

Μια *in vitro* τεχνική δυο σταδίων, δημιουργήθηκε για την ανάπτυξη διειδικών υβριδίων μέσα στο γένος Lens από τους **Cohen *et al.* (1984).** Την καλλιέργεια γονιμοποιημένων ωαρίων 14 ημερών σε θρεπτικό υπόστρωμα MS το οποίο περιείχε ζεατίνη, επακολούθησε η απελευθέρωση των εμβρύων από τα περιβλήματα τους, η οποία επέτρεψε τη δημιουργία βιώσιμων και εύρωστων φυτών.

Ο **Ladizinsky (1992)** εξήγησε ότι η επιτυχία στις διασταυρώσεις της φακής εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ των γενωμάτων των γονέων, στο υβρίδιο του ζυγώτη, το έμβρυο ή το ενδοσπέρμιο καθώς και στο τμήμα μεταξύ του ιστού του υβριδίου και του περιβλήματος του. Η ικανότητα διασταύρωσης μεταξύ της φακής και των άγριων συγγενών της εμποδίζεται από τους φραγμούς πριν ή μετά τη γονιμοποίηση. Προκύπτουν προβλήματα κατά το ζευγάρωμα των χρωμοσωμάτων σε πολλές διασταυρώσεις, όπως μεταξύ του *Lens culinaris* X *Lens tumentosus* **(Ladizinsky, 1997)**. Ένα άλλο κοινό πρόβλημα είναι ότι τα υβριδικά έμβρυα παύουν να αυξάνονται 7-14 ημέρες μετά την επικονίαση λόγω του εκφυλισμού του ενδοσπερμίου και έτσι χρειάζεται διάσωση για να παρατηρηθούν βιώσιμα έμβρυα. Συνεπώς οι διασταυρώσεις μεταξύ των *Lens culinaris* X *Lens ervoides* και *Lens culinaris* X *Lens nigricans* χρειάζονται τεχνικές διάσωσης του εμβρύου ώστε να αναπτυχθούν ώριμα υβρίδια φυτών **(Abbo and Ladizinsky, 1991; Cohen *et al.*, 1984)**. Σε κάποιες διασταυρώσεις μεταξύ των *Lens culinaris* X *Lens culinaris ssp.orientalis*, το υβρίδιο παύει να αναπτύσσεται αλλά το ενδοσπέρμιο δεν εμφανίζει

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

σημάδια αποσύνθεσης **(Ladizinsky, 1992)**. Αντιθέτως οι **Ladizinsky and Abbo (1991)** παρατήρησαν ότι το ενδοσπέρμιο εμφανιζόταν ιδιαιτέρως μη κανονικό ή δεν υπήρχε στις διασταυρώσεις του *Lens culinaris* X *Lens culinaris ssp.orientalis*. Τα υβρίδια εμφάνισαν ποικίλους βαθμούς γονιμότητας λόγω χρωμοσωμικών μετατοπίσεων και επακόλουθων προβλημάτων κατά το ζευγάρωμα των χρωμοσωμάτων στην μείωση **(Ladizinsky *et al.*, 1984)**. Αυτά τα προβλήματα παρατηρούνται στη F1 γενιά και παραμένουν και στις επόμενες γενιές προκαλώντας μερική ή πλήρη στειρότητα. Για παράδειγμα, στις διασταυρώσεις *Lens culinaris* cv.Eston X *Lens ervoides* (L01-827A), παρατηρήθηκαν 150 F1 σπόροι αλλά μόνο 85 (57%) προχώρησαν ως την F2 **(Fiala, 2006)**. Η γονιμότητα είναι συχνά πολλή μικρή με παραγωγή χαμηλών ποσοστών γόνιμης γύρης από τους ανθήρες, που εξαρτάται από τον πληθυσμό των διασταυρώσεων του *Lens culinaris* X *Lens culinaris ssp.orientalis* και κυμαίνεται από 2 έως 69 % **(Ladizinsky *et al,*. 1984)**. Επίσης χλωρωτικά σπορόφυτα που μπορεί να ποικίλουν στην F1 γενιά, εμποδίζουν την επιτυχία των διασταυρώσεων **(Ladizinsky and Abbo, 1993)**.

Οι **Ahmad *et al.* (1995)** ανέφεραν την παραγωγή βιώσιμων υβριδίων μεταξύ των ειδών *Lens culinaris* X *Lens ervoides*, *Lens culinaris* X *Lens nigricans*, *Lens culinaris* X *Lens culinaris ssp.odemensis* και *Lens culinaris ssp. culinaris* X *Lens culinaris ssp. orientalis* με εφαρμογή 50-400 ppm GA_3 σε ανεπτυγμένους λοβούς τεσσάρων και δέκα ημερών μετά την επικονίαση. Τα έμβρυα από διειδικές διασταυρώσεις φακής συχνά αποβάλλονται 7-14 ημέρες μετά την επικονίαση λόγω καταστροφής του ενδοσπερμίου ή εξαιτίας χρωμοσωμικών δυσλειτουργιών και έχουν ως αποτέλεσμα την συρρίκνωση των μη βιώσιμων εμβρύων. Οι **Cohen *et al.* (1984)** ήταν οι πρώτοι που ανέφεραν την διάσωση των υβριδίων αυτών με καλλιέργεια των σπερμοβλαστών σε στέρεο MS υπόστρωμα το οποίο περιείχε 100 g/l σουκρόζη, 0.2 mg/l IAA, 0.5 mg/l GA_3 και 0.5 mg/l ζεατίνη. Επτά με δέκα ημέρες αργότερα, τα έμβρυα αφαιρέθηκαν από το μέσο και μεταφέρθηκαν σε άλλο, το οποίο περιείχε 30 g/l σουκρόζη και 0.5 mg/l ζεατίνη και τα οποία μεταφέρθηκαν σε ίδιο μέσο δυο εβδομάδες αργότερα. Οι **Fratini and Ruiz (2006)** ανέπτυξαν ένα πρωτόκολλο, στο οποίο οι σπερμοβλάστες που προήρθαν από τις ενδοειδικές διασταυρώσεις διασώθηκαν δεκαοκτώ ημέρες μετά την επικονίαση με τη βοήθεια ενός θρεπτικού υποστρώματος το οποίο περιείχε άλατα MS με 1μM l IAA, 0.8 μM KN, 1% σουκρόζη και 0.8 % άγαρ. Δυο εβδομάδες αργότερα, τα έμβρυα αφαιρέθηκαν και καλλιεργήθηκαν σε ίδιας σύστασης μέσο για άλλες δυο εβδομάδες και στη συνέχεια

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες μέχρι να αναπτυχθούν τα φυτάρια. Παρατηρήθηκαν έξι υβρίδια μεταξύ των *Lens culinaris ssp.culinaris* X *Lens culinaris ssp. orientalis*, 2 μεταξύ των *Lens culinaris* X *Lens nigricans* και 1 μεταξύ των *Lens culinaris* X *Lens ervoides*. Έγινε σύγκριση των διάφορων τεχνικών με τις οποίες παρατηρήθηκαν ενδοειδικά έμβρυα συμπεριλαμβανομένου της διασταύρωσης χωρίς εμβρυοδιάσωση, της διασταύρωσης χωρίς εμβρυοδιάσωση αλλά με εφαρμογή GA_3 για την ανάπτυξη λοβών **(Ahmad *et al.*, 1995)** και με εφαρμογή εμβρυοδιάσωσης με χρήση βελτιωμένου μέσου **(Cohen *et al.*, 1984)**. Αν και τα έμβρυα τα οποία επέζησαν με την εφαρμογή του βελτιωμένου μέσου ήταν λίγα, όλες οι άλλες μέθοδοι απέτυχαν να παράγουν ώριμα υβρίδια εκτός από ένα, υβρίδιο το οποίο παράχθηκε μεταξύ των ειδών *Lens culinaris* X *Lens ervoides* με χρήση του πρωτοκόλλου του **Cohen *et al.* (1984)**. Ο **Fiala (2006)** παρατήρησε επίσης υβρίδια μεταξύ των ειδών *Lens culinaris* X *Lens ervoides* με χρήση του πρωτοκόλλου **Cohen *et al.* (1984)**. Επιπροσθέτως, ένα βιώσιμο υβρίδιο μεταξύ των ειδών *Lens culinaris* X *Lens lamottei* παράχθηκε από τη μελέτη αυτή. Ωστόσο, τα υβριδικά φυτάρια που αναπτύχθηκαν δεν κατάφεραν να βγάλουν απευθείας ρίζες ή έβγαλαν κατόπιν με βοήθεια της τεχνικής του μικροεμβολιασμού **(Gulati *et al.*, 2001)**. Η βελτίωση του πρωτοκόλλου της εμβρυοδιάσωσης για αύξηση της αποτελεσματικότητας των διασταυρώσεων φαίνεται ότι είναι ζωτικό στάδιο για την αντιμετώπιση της αποβολής των ενδοειδικών υβριδίων του γένους *Lens*.

2.5.4.5 Καλλιέργεια πρωτοπλαστών

Ο σωματικός υβριδισμός με σύντηξη πρωτοπλαστών παρέχει τη δυνατότητα να ξεπεραστούν επιτυχημένα τα φράγματα που υπάρχουν πριν και μετά το σχηματισμό του ζυγώτη στις διειδικές διασταυρώσεις **(Davey *et al.*, 2005)**. Έτσι δόθηκε η δυνατότητα να αναγεννηθούν φυτά πολλών ειδών οσπρίων συμπεριλαμβανόμενου των *Pisum* **(Ochatt *et al.*, 2000)**, *Trifolium* **(Gresshoff, 1980)**, *Lotus* **(Ahuja *et al.*, 1983)** *και Melilotus* **(Luo and Jia, 1998)** και έχει ήδη πραγματοποιηθεί ασύμμετρη σύντηξη πρωτοπλαστών στη βελτίωση του *Medicago* **(Tian and Rose, 1999)**. Οι **Rozwadowski *et al.* (1990)** καλλιέργησαν πρωτοπλάστες από ιστούς επικοτύλης φακής και περίπου 6% των πρωτοπλαστών αναπτύχθηκαν σε

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

αποικίες κυττάρων. Ωστόσο δεν υπάρχουν αναφορές επιτυχούς ανάπτυξης ή αναγέννησης πρωτοπλαστών στο είδος *Lens*.

2.5.4.6 Απλοειδή και διαπλοειδή

Τα διαπλοειδή είναι ένα σημαντικό εργαλείο βελτίωσης για πολλά καλλιεργούμενα είδη συμπεριλαμβανομένου του σιταριού, κριθαριού, ρυζιού, καλαμποκιού και της ελαιοκράμβης. Η χρήση διαπλοειδών αυξάνει την αποτελεσματικότητα της επιλογής και επιτρέπει σε νέες ποικιλίες να βελτιωθούν έως και πέντε έτη ταχύτερα από ότι με χρησιμοποίηση μόνο συμβατικών μεθόδων βελτίωσης. Τα απλοειδή μπορούν να παραχθούν είτε από κύτταρα ανώριμης γύρης, είτε από κύτταρα ανώριμων ωαρίων ή ακλουθώντας εξάλειψη ασύμμετρων χρωμοσωμάτων μετά από ενδοειδικές διασταυρώσεις. Μια πρόσφατη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας που αφορά την παραγωγή διαπλοειδών στο Fabaceae **(Croser *et al.*, 2006)** υποδεικνύει ότι καμία από αυτές τις προσεγγίσεις δεν πέτυχε να παράγει απλοειδή φυτά φακής, αλλά παρατηρήθηκαν τα πρώτα στάδια διαίρεσης απομονωμένων μικροσπορίων.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν :

α) Εξέταση της in vitro ικανότητας αναγέννησης τεσσάρων ελληνικών ποικιλιών φακής, για να μελετηθεί η χρησιμοποίηση τους σε προγράμματα βελτίωσης.

β) Μελέτη των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους, για να βρεθεί τυχόν προτίμηση του καταναλωτικού κοινού

γ) Μελέτη των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών.

δ) Συγκριτική μελέτη των τεσσάρων ποικιλιών φακής σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, ως προς τα οργανοληπτικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά.

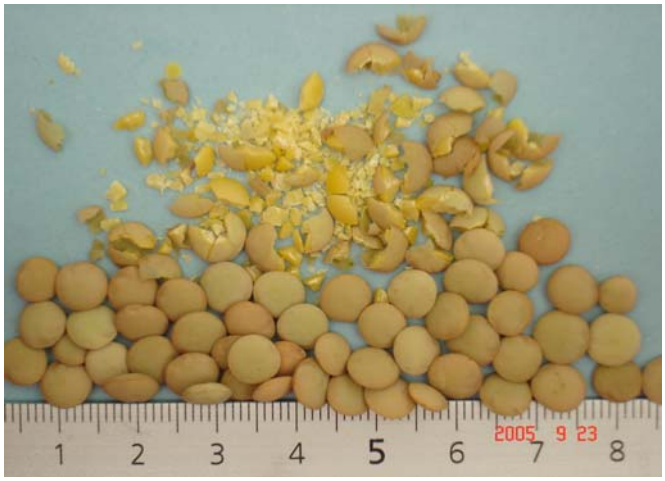
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Γενετικό υλικό

Το γενετικό υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 4 ελληνικές εμπορικές ποικιλίες φακής (*Lens culinaris*). Οι ποικιλίες αυτές επιλέχθηκαν με βάση την γενεαλογία τους κατά έτη 2005 έως 2008 (εικόνα 6-9) **(Βλαχοστέργιος, 2008)**. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε η ποικιλία Θεσσαλία, η οποία είναι κοινός γονέας των άλλων τριών ποικιλιών (Σάμο, Δήμητρα, Ικαρία), με σκοπό να μελετηθεί η γενοτυπική επίδραση στην *in vitro* ανταπόκριση και την φυσικοχημική σύσταση σπόρων φακής.

Η ποικιλία Θεσσαλία (Μ-1956) δημιουργήθηκε στο ΙΚΦ (Ινστιτούτο Κτηνοτροφικών φυτών) από επιλογή πληθυσμού που εισήχθηκε από τη Γερμανία και χρησιμοποιήθηκε ως κοινός γονέας για τις ποικιλίες Σάμος, Δήμητρα και Ικαρία. Είναι πλατύσπερμη, μεσοπρώιμη ποικιλία, πολύ βραστερή που αντέχει στους παγετούς. Η ποσότητα σπόρου σποράς είναι 9-9,5 Kg/στρέμμα, έχει βάρος 1000 σπόρων 59-62 g και μέση απόδοση 220 Kg/στρέμμα.

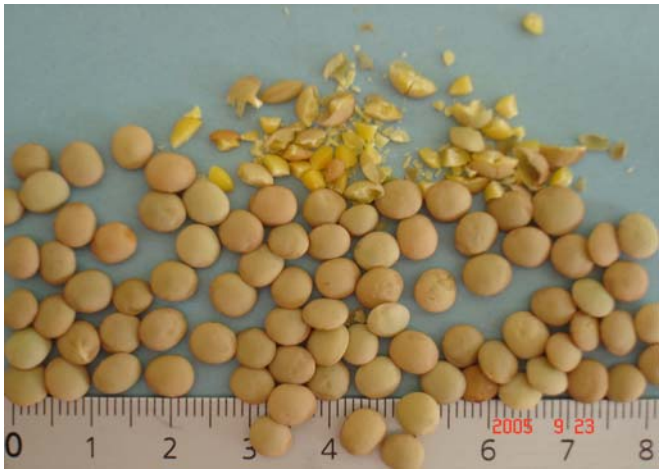


Εικόνα 6 Σπόροι ποικιλίας Θεσσαλία (Βλαχοστέργος,2005)

Η Σάμος είναι σχετικά νέα ποικιλία που εγγράφηκε στον εθνικό κατάλογο το 1989. Θεωρείται ως η καλύτερη λεπτόσπερμη ποικιλία. Είναι υβρίδιο που δημιουργήθηκε από το ΙΚΦ και προήλθε με επιλογές από διασταύρωση της πλατύσπερμης ποικιλίας Θεσσαλία Μ-1956 (Berlin) με την λεπτόσπερμη Μ-11071 (Seville Blanche Tardife HUNGARY) που έχει εισαχθεί από την Ουγγαρία. Είναι λεπτόσπερμη, μεσοπρώιμη ποικιλία με άριστη εμφάνιση σπόρων ως προς το σχήμα, το χρώμα και το μέγεθος (αρκετά μεγάλο με βάρος 1000 σπόρων 40-45 g).

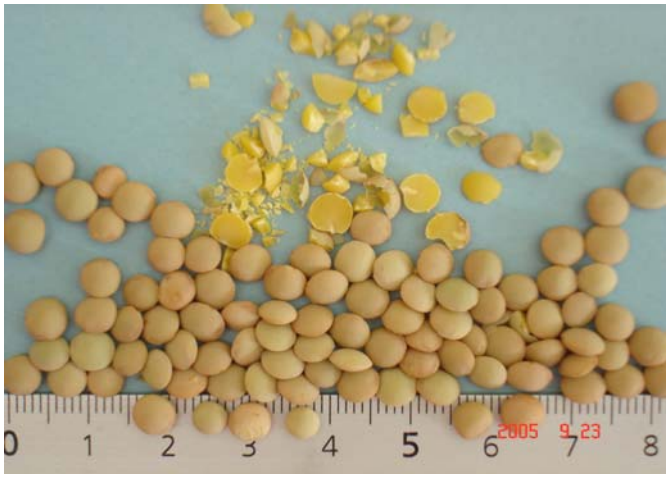
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Παρουσιάζει πολύ σύντομη διάρκεια βλάστησης, δεν πλαγιάζει, είναι πολύ βραστερή, χυλώνει και είναι ανθεκτική στους παγετούς του χειμώνα (έως -11 ^{o}C). Η ποσότητα σπόρου σποράς είναι 7-8 Kg/στρέμμα, είναι πολύ παραγωγική με μέση απόδοση 260-300 Kg/στρέμμα.



Εικόνα 7 Σπόροι ποικιλίας Σάμος (Βλαχοστέργος,2005)

Η Δήμητρα είναι ποικιλία που δημιουργήθηκε από το ΙΚΦ και προήλθε με επιλογή μετά από διασταύρωση της πλατύσπερμης ποικιλίας Θεσσαλία Μ-1956 (Berlin) με την ποικιλία Πελασγία Μ-670 από το Ρέθυμνο. Είναι μεσοπρώιμη, λεπτόσπερμη ποικιλία, ανθεκτική στους παγετούς του χειμώνα, με καλόβραστους σπόρους σε οποίο έδαφος και εάν καλλιεργηθεί. Η ποσότητα σπόρου σποράς είναι 6-6,5 Kg/στρέμμα (λόγω πλαγιάσματος) με μέση απόδοση 260 Kg/στρέμμα.

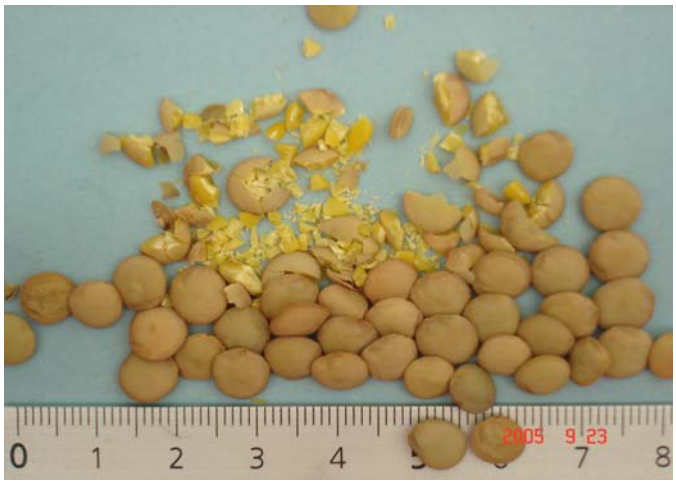


Εικόνα 8 Σπόροι ποικιλίας Δήμητρα (Βλαχοστέργος,2005)

Η Ικαρία είναι και αυτή ποικιλία που δημιουργήθηκε από το ΙΚΦ και προήλθε με επιλογή μετά από διασταύρωση της πλατύσπερμης ποικιλίας Θεσσαλία Μ-1956 (Berlin) με φυτά του πληθυσμού Μ-10629 (hybrid INRA) που εισήχθη από τη Γαλλία. Είναι πλατύσπερμη, μεσοπρώιμη ποικιλία, με ημιόρθια ανάπτυξη, ανθεκτική

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

στο ψύχος του χειμώνα και στον περονόσπορο. Έχει την ίδια απόδοση με την Θεσσαλία (220-230 Kg/στρέμμα), είναι πολύ βραστερή και νόστιμη (πιο βραστερή από την Θεσσαλία), με ποσότητα σπόρου σποράς 11-12,5 Kg/στρέμμα.



Εικόνα 9 Σπόροι ποικιλίας Ικαρία (Βλαχοστέργος,2005)

Για την εξέταση των ποικιλιών ως προς τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, χρησιμοποιήθηκαν οι τέσσερεις ελληνικές εμπορικές ποικιλίες φακής **(Θεσσαλία, Σάμος, Δήμητρα και Ικαρία)** και έγινε συγκριτική μελέτη των ποικιλιών ως προς το οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας. Για να βρεθεί η ικανότητα της *in vitro* αναγέννησης των τεσσάρων ποικιλιών οι οποίες προήλθαν από συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, έγινε συγκριτική μελέτη δυο διαφορετικών πρωτοκόλλων ιστοκαλλιέργειας (Cohen *et al.*, 1984 και Polanco & Ruiz, 2001).

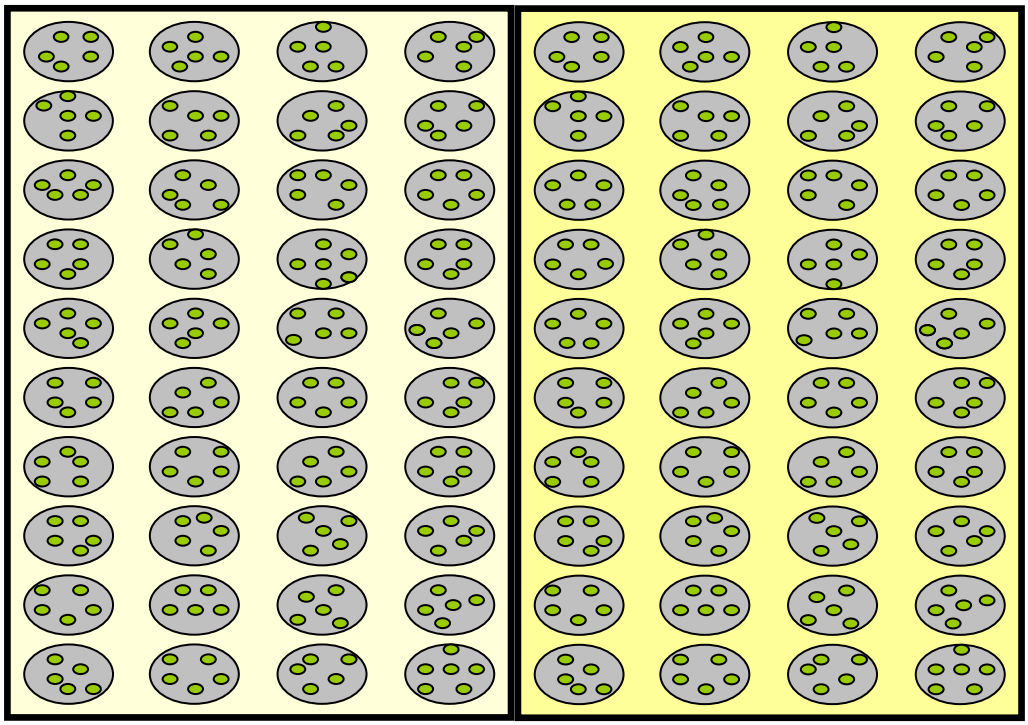
3.2 Εγκατάσταση πειράματος

Το πειραματικό σχέδιο από το οποίο χρησιμοποιηθήκαν οι σπόροι των τεσσάρων ποικιλιών, ήταν RCBD με τέσσερεις επαναλήψεις. Το υλικό που χρησιμοποιήθηκε στην *in vitro* αναγέννηση προέκυψε από συμβατικό αγρό στην Λάρισα, πειράματος του ΙΚΦ κατά το καλλιεργητικό έτος 2005-2006. Το υλικό που χρησιμοποιήθηκε για τα οργανοληπτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά προέκυψε από δυο αγρούς (συμβατικό και οργανικό) του ΙΚΦ, σε πειράματα των καλλιεργητικών ετών 2005-2006, 2006-2007 και 2007-2008 **(Βλαχοστέργιος Δημήτρης, 2008)**.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

3.3 Μεθοδολογία *In vitro* αναγέννησης

Έγινε αξιολόγηση των τεσσάρων ελληνικών εμπορικών ποικιλιών φακής (**Θεσσαλία, Σάμος, Δήμητρα και Ικαρία**), οι οποίες προήλθαν από αγρό συμβατικής καλλιέργειας, ως προς την *in vitro* αναγέννηση εκφύτων, για να βρεθεί η ικανότητα βλαστογενέσης και ριζογενέσης, με βάση δυο διαφορετικά πρωτόκολλα, (Cohen *et al.* (1984) και Polanco και Ruiz (2001)). Το πρωτόκολλο του Cohen *et al.* (1984), επιλέχτηκε με βάση τη βιβλιογραφία ως το πρώτο επιτυχημένο ολοκληρωμένο σύστημα *in vitro* αναγέννησης ανώριμων εμβρύων φακής (14 DAP), με υψηλά ποσοστά βλαστογένεσης. Το πρωτόκολλο των Polanco και Ruiz (2001) επιλέχθηκε λόγω των πολύ καλών αποτελεσμάτων βλαστογένεσης, ριζογένεσης και δημιουργίας φυταρίων από ανώριμα έμβρυα, σε θρεπτικά υποστρώματα τα οποία αποτελούνταν από διαφορετικά είδη και ποσότητες ρυθμιστών αύξησης. Τα έκφυτα για τα δυο πρωτόκολλα, αποτέλεσαν ανώριμα έμβρυα 14 ημερών από το σχηματισμό του λοβού (14 DAP), ο οποίος είχε διάμετρο 5-6 mm. Για κάθε πρωτόκολλο, χρησιμοποιήθηκαν 50 σπόροι ανά ποικιλία, με 10 επαναλήψεις και 5 έκφυτα ανά δίσκο Petri. Η διάταξη του πειράματος της *in vitro* αναγέννησης για κάθε πρωτόκολλο παρουσιάζεται στην εικόνα 10.



Εικόνα 10 Σχηματική απεικόνιση της in vitro αναγέννησης του πρωτοκόλλου Cohen και του πρωτοκόλλου Polanco & Ruiz

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Τα δυο πρωτόκολλα αναγέννησης ανώριμων εμβρύων (Cohen *et al.*, 1984) και (Polanco και Ruiz, 2001), που χρησιμοποιήθηκαν, παρουσιάζουν διαφορές ως προς τις συνθήκες καλλιέργειας, τις ορμόνες και τον χρόνο παραμονής των εκφύτων στα υποστρώματα. Η βασική διαδικασία που ακολουθήθηκε για την *in vitro* καλλιέργεια των ανώριμων εμβρύων φακής ήταν ίδια και για τα δυο πρωτόκολλα και περιελάμβανε τα ακόλουθα στάδια:

- Παρασκευή των διαλυμάτων ιστοκαλλιέργειας (άλατα Murasnige και Skoog, 5 stock solutions) για το θρεπτικό υπόστρωμα. Τα διαλύματα περιλαμβάνουν μακροστοιχεία και μικροστοιχεία, τα οποία ομαδοποιηθήκαν στο θρεπτικό υπόστρωμα. σε 5 stock solutions, ανάλογα με το είδος και τη συγκέντρωση της κάθε ένωσης. Η παρασκευή τους έγινε με προσθήκη κάθε χημικής ουσίας του stock, σε δοχεία του 1 l, 100 και 10 ml ανάλογα με την πυκνότητα του κάθε διαλύματος. Οι χημικές ουσίες, η συγκέντρωση και η πυκνότητα του κάθε stock παρουσιάζονται στον πίνακα 11.
- Παρασκευή του διαλύματος των βιταμινών ιστοκαλλιέργειας (1 stock solution) για το θρεπτικό υπόστρωμα. Η κάθε βιταμίνη τοποθετήθηκε σε κωνική φιάλη και προστέθηκαν 500 ml αποσταγμένο νερό. Οι βιταμίνες ομαδοποιηθήκαν όλες μαζί σε 1 stock, το οποίο έγινε πιο πυκνό και τοποθετηθήκαν σε φιάλη των 500 ml. Στον πίνακα 12 παρουσιάζονται οι βιταμίνες που χρησιμοποιήθηκαν στο θρεπτικό υπόστρωμα, η συγκέντρωση και η πυκνότητα τους.
- Παρασκευή των ρυθμιστών αύξησης (IAA, GA_3, ZEA, NAA, BAP). Η κάθε ορμόνη παρασκευάζεται μόνη της, με προσθήκη 10 mg σε 100 ml αποσταγμένο νερό. Η διάλυση κάθε ρυθμιστή αύξησης γίνεται με προσθήκη λίγων σταγόνων διαλύτη και μηχανική ανάδευση για 5 min. Στον πίνακα 13 καταγράφονται οι ορμόνες που χρησιμοποιηθηκαν στην ιστοκαλλιέργεια, τα μοριακά τους βάρη και οι ουσίες που χρησιμοποιηθηκαν για την διάλυση τους.
- Παρασκευή του θρεπτικού υποστρωμάτων MSB και αποστείρωση του. Το θρεπτικό υπόστρωμα δημιουργήθηκε με προσθήκη των διαλυμάτων μικροστοιχείων και μακροστοιχείων (άλατα MS), του διαλύματος των βιταμινών, σουκρόζης και αποσταγμένου νερού, σε κωνική φιάλη των 1000 ml. Η προσθήκη του αποσταγμένου νερού έγινε ως τα 980 ml. Στη συνέχεια

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

έγινε ρύθμιση του pH του διαλύματος στην τιμή του 5,7 (αύξηση του pH με προσθήκη KOH). Στο διάλυμα προστέθηκε το άγαρ και αναδεύτηκε με μηχανικό αναδευτήρα και θέρμανση στους 200 ^{o}C μέχρι να γίνει διαυγές. Στη συνέχεια έγινε αποστείρωση του διαλύματος σε κλίβανο για 20 min, με πίεση 103,4 x 10^{3} Pa στους 121 ^{o}C και παρέμεινε για να κρυώσει έως ότου η θερμοκρασία του να γίνει 40-45 ^{o}C. Στο τέλος προστεθήκαν σε κάθε υπόστρωμα οι ορμόνες, οι οποίες λόγο της ευαισθησίας στη θερμότητα αποστειρώθηκαν με διήθηση μέσω μιας μεμβράνης με φίλτρο τύπου Millipore (πίνακες 9 και 10).

- Η αποστείρωση των σπόρων έγινε στο περιβάλλον της τράπεζας ιστοκαλλιέργειας (Laminal Flow), σε δυο στάδια. Στο πρώτο στάδιο έγινε απολύμανση με εμβάπτιση σε αιθανόλη 70 % (v/v) για περίπου 30 sec και ακολούθησε τοποθέτηση σε διάλυμα υποχλωριώδους Na (35 %). Στο δεύτερο στάδιο, τα δείγματα ξεπλύθηκαν για 2 φορές με απεσταγμένο και αποστειρωμένο νερό. Η αποστείρωση των σπόρων έγινε σε τράπεζα ιστοκαλλιέργειας.
- Τοποθέτηση των θρεπτικών υποστρωμάτων στα τριβλεία. Petri. Τα υποστρώματα παρέμειναν στα τριβλία για 1 ημερα ώστε να στερεοποιηθούν.
- Εξαγωγή του περιβλήματος των εμβρύων και τοποθέτηση τους στα τριβλία. Η εξαγωγή έγινε αμέσως μετά την αποστείρωση των σπόρων της φακής στην τράπεζα ιστοκαλλιέργειας. Με αποστειρωμένη λαβίδα και νυστέρι αφαιρέθηκε το περίβλημα του κάθε σπόρου, προσεχτικά ώστε να μην καταστραφεί το έμβρυο του. Μετά την αφαίρεση του περιβλήματος ο κάθε σπόρος τοποθετούνταν αμέσως σε τριβλίο το οποίο σκεπαζόταν από το καλπάκι του, ώστε να περιοριστεί τυχόν μόλυνση των εκφύτων. Σε κάθε τριβλίο τοποθετήθηκαν πέντε σπόροι φακής, οι οποίοι είχαν κάποια απόσταση μεταξύ τους. Οι σπόροι τοποθετήθηκαν κατακόρυφα στο υπόστρωμα ώστε ένα μόνο μέρος τους να εφάπτεται με αυτό και να υπάρχει με αυτόν τον τρόπο ο απαραίτητος αέρας για την ανάπτυξη των εκφύτων. Μετά την τοποθέτηση και του τελευταίου σπόρου το κάθε τριβλίο έκλεινε αεροστεγώς με ταινία
- Σήμανση και τοποθέτηση στις ελεγχόμενες συνθήκες καλλιέργειας για κάθε πρωτόκολλο. Οι συνθήκες καλλιέργειας για το κάθε πρωτόκολλο παρουσιάζονται στους πίνακες 9 και 10.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Η αποστείρωση των σπόρων, η εξαγωγή του περιβλήματος τους, η τοποθέτηση τους στα υποστρώματα και η σήμανση τους έγινε σε τράπεζα ιστοκαλλιέργειας (Laminal Flow). Ο αέρας με πίεση περνά μέσα από ένα φίλτρο που βρίσκεται στο πίσω μέρος της τράπεζας και περνά με ομοιόμορφη ταχύτητα πάνω από τον πάγκο εργασίας. Η παρουσία του φίλτρου σε συνδυασμό με την ταχύτητα ροής του αέρα, εμποδίζει τους μικροοργανισμούς να εγκατασταθούν στην τράπεζα και τον πάγκο εργασίας. Το Laminal Flow αποστειρώνεται με ψεκασμό αλκοόλης 70 % και αφήνεται να λειτουργήσει για 30 min πριν αρχίσει οποιαδήποτε εργασία.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Πίνακας 9 Αναλυτική περιγραφή των σταδίων, της σύστασης, των συνθηκών και του χρόνου παραμονής των εκφύτων στο πρωτόκολλο του Cohen *et al.* (1984)

Πρωτόκολλο ανώριμων εμβρύων Cohen *et al.* (1984)					
Υπόστρωμα	**Ημερομηνία**	**Σύσταση θρεπτικού μέσου**	**Ποσότητα**	**Συνθήκες καλλιέργειας**	**Χρόνος παραμονής**
Έναρξης	31/5/2007	Άλατα MS Σουκρόζη Άγαρ Stock βιταμινών IAA GA_3 ZEA	221 ml 100 g 9 g 50 ml 0,2 mg 0,5 mg 0,5 mg	pH 5,7 24 ^{0}C Σκοτάδι	3 ημέρες
Α΄ Μμεταφοράς	4/6/2007	Άλατα MS Σουκρόζη Άγαρ Stock βιταμινών IAA GA_3 ZEA	221 ml 100 g 9 g 50 ml 0,2 mg 0,5 mg 0,5 mg	pH 5,7 24 ^{0}C Φωτοπερίοδος (4000 Lux) 12 h	7 ημέρες
Β΄ Μεταφοράς	11/6/2007	Άλατα MS Σουκρόζη Stock βιταμινών Άγαρ ZEA	221 ml 30 g 50 ml 30 g 0,2 mg	pH 5,7 24 ^{0}C Φωτοπερίοδος (4000 Lux) 12 h	14 ημέρες
Γ΄ Μεταφοράς	25//6/2007	Άλατα MS Σουκρόζη Stock βιταμινών Άγαρ ZEA	221 ml 30 g 50 ml 30 g 0,2 mg	pH 5,7 24 ^{0}C Φωτοπερίοδος (4000 Lux) 12 h	20 ημέρες

MS = Murashige & Skoog, ZEA = Ζεατίνη, IAA = Ινδολο-3-ακετυλικό οξύ, GA_3 = γιβεριλλικό οξύ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Πίνακας 10 Αναλυτική περιγραφή των σταδίων, της σύστασης, των συνθηκών και του χρόνου παραμονής των εκφύτων στο πρωτόκολλο των Polanco & Ruiz (2001).

Πρωτόκολλο ανώριμων εμβρύων Polanco & Ruiz (2001)					
Υπόστρωμα	**Ημερομηνία**	**Σύσταση θρεπτικού μέσου**	**Ποσότητα**	**Συνθήκες καλλιέργειας**	**Χρόνος παραμονής**
Έναρξης	31/5/2007	Άλατα MS Σουκρόζη Άγαρ Stock βιταμινών NAA GA_3 BAP	221 ml 30 g 10 g 50 ml 0,186 mg 0,96 mg 0,225 mg	pH 5,6 25 ± 1 ^{0}C Φωτοπερίοδος 16 h	15 ημέρες
Α΄ Μεταφοράς	15/6/2007	Άλατα MS Σουκρόζη Άγαρ Stock βιταμινών NAA GA_3 BAP	221 ml 30 g 10 g 50 ml 0,186 mg 0,96 mg 0,225 mg	pH 5,6 25 ± 1 ^{0}C Φωτοπερίοδος 16 h	15 ημέρες
Β΄ Μεταφοράς	29/6/2007	Άλατα MS Σουκρόζη Stock βιταμινών Άγαρ IAA	221 ml 30 g 50 ml 10 g 11,4 μM	pH 5,6 25 ± 1 ^{0}C Φωτοπερίοδος 16 h	7 ημέρες
Γ΄ Μεταφοράς	6/7/2007	Άλατα MS Σουκρόζη Stock βιταμινών Άγαρ IAA	221 ml 30 g 50 ml 10 g 11,4 μM	pH 5,6 25 ± 1 ^{0}C Φωτοπερίοδος 16 h	7 ημέρες

MS = Murashige & Skoog, IAA = Ινδολο-3-ακετυλικό οξύ, GA_3 = γιβεριλλικό οξύ, BAP=βενζυλαδενίνη

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Πίνακας 11 Σύσταση πυκνών διαλυμάτων ιστοκαλλιέργειας (stock solutions) των Murasinge και Skoog

Απόθεμα αλάτων		Χημική ουσία	Συγκέντρωση (mgr/l)	Πυκνότητα
Μακροστοιχεία	Stock 1	$CaCl_2\ 2H_2O$	440	X 10
	Stock 2	NH_4NO_3 KNO_3 $MgSO_4\ 7H_2O$ KH_2PO_4	1650 1900 370 170	X 10
Μικροστοιχεία	Stock 3	$FeSO_4\ 7H_2O$ Na 2 EDTA	27,8 37,23	X 100
	Stock 4	KI H_3BO_3 $MnSO_4\ H_2O$ $ZnSO_4\ 7H_2O$ $Na_2MoO_4\ 2\ H_2O$	0,83 6,2 22,3 8,6 0,25	X 100
	Stock 5	$CuSO_4\ 5H_2O$ $CoCl_2\ 6H_2O$	0,025 0,025	X 1000

Πίνακας 12 Σύσταση πυκνού διαλύματος βιταμινών ιστοκαλλιέργειας (stock solution)

	Βιταμίνη	Συγκέντρωση (mgr/l)	Πυκνότητα
Stock 6	Μυινοσιτόλη	100	X 10
	Θειαμίνη HCl	2,00	
	Νικοτινικό οξύ	0,5	
	Πυριδοξίνη	1	

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Πίνακας 13 Ρυθμιστές ανάπτυξης των φυτών που χρησιμοποιούνται στην ιστοκαλλιέργεια και χημικές ουσίες στις οποίες διαλύονται

Ρυθμιστής αύξησης	Συντομογραφία	Μοριακό βάρος	Ουσία διάλυσης
Ινδολο-3-ακετυλικό οξύ	IAA	175,2	ETOH
α-ναφθαλινοξικό οξύ	NAA	186,2	ETOH
Βενζυλαδενίνη	BAP	225,2	KOH
Ζεατίνη (αμινοπουρίνη)	ZEA	219,2	KOH
Γιβεριλινικό οξύ	GA3	346,4	KOH

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

3.4 Χαρακτηριστικά ποιότητας

Τα χαρακτηριστικά ποιότητας αξιολογήθηκαν για τις 4 ελληνικές εμπορικές ποικιλίες φακής του είδους *Lens culinaris* (**Θεσσαλία, Σάμος, Δήμητρα και Ικαρία**). Έγινε σύγκριση ως προς τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους, σε συμβατικό και οργανικό περιβάλλον.

Συνολικά στα δεδομένα εφαρμόστηκαν πολυπαραγοντικές στατιστικές αναλύσεις για τον προσδιορισμό ομοιότητας ποικιλιών και κατηγοριοποίησης των χαρακτηριστικών στο οργανικό και συμβατικό περιβάλλον και εκτίμηση των συσχετίσεων και καταγραφής των χαρακτηριστικών σε σχέση με την γενεαλογία των ποικιλιών και τα περιβάλλοντα καλλιέργειας. Συγκεκριμένα εφαρμόστηκε Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών- PCA (Principal Component Analysis), ANOVA (Ανάλυση Παραλλακτικότητας), Ανάλυση Ομαδοποίησης (Cluster Analysis) και Διαφοροποιούσα Ανάλυση (Discriminal Analysis).

3.4.1 Φυσικοχημικές ιδιότητες

Για την εκτίμηση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των σπόρων έγιναν οι παρακάτω μετρήσεις.

1. ***Πυκνότητα σπόρων***. Χρησιμοποιήθηκαν 20 gr σπόρων από κάθε ποικιλία. Αφού ζυγιστήκαν τοποθετήθηκαν σε ογκομετρικό κύλινδρο και καταγράφηκε η αύξηση του όγκου του νερού. Η πυκνότητα των σπόρων υπολογίστηκε ως gr/ml. Για το χαρακτηριστικό αυτό έγιναν 3 επαναλήψεις.

2. ***Πυκνότητα σπόρων μετά από 24ωρη ενυδάτωση***. Οι σπόροι αφού ενυδατώθηκαν για 24 ώρες επανατοποθετήθηκαν σε ογκομετρικό κύλινδρο και καταγράφηκε η αύξηση του όγκου του νερού. Έγιναν 5 επαναλήψεις.

3. ***Συντελεστής ενυδάτωσης (hydration coefficient)***. Υπολογίστηκε ως ποσοστό αύξησης της μάζας των σπόρων μετά από 24ωρη ενυδάτωση.

4. ***Συντελεστής απορρόφησης (swelling coefficient)***. Υπολογίστηκε ως ποσοστό του λόγου αύξησης του όγκου του νερού των σπόρων πριν και μετά την ενυδάτωση.

5. ***Το PH των σπόρων***. Χρησιμοποιήθηκαν 4 gr σπόρων από κάθε ποικιλία και κονιορτοποιήθηκαν. Στη συνέχεια διαλύθηκαν σε 16 ml απεσταγμένο νερό όπου

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

έγινε και η μέτρηση του PH με πεχάμετρο (Hanna Instruments : PH/EC/TDS waterproof family) και πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις.

3.4.2 Οργανοληπτική εξέταση

Με την οργανοληπτική εξέταση μπορεί να επιτευχθεί προσδιορισμός της ποιότητας των τροφίμων όπως την αντιλαμβάνεται ο καταναλωτής. Για να μπορούν να εξαχθούν αντικειμενικά αποτελέσματα από αυτή, πρέπει να ελέγχουν ορισμένες μεταβλητές. Οι μεταβλητές αυτές χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες : (α) ο έλεγχος δοκιμής, (β) ο έλεγχος προϊόντος και (γ) ο έλεγχος των ατόμων που πραγματοποιούν την εξέταση.

Ο έλεγχος της δοκιμής αφορά το περιβάλλον, το χώρο στον οποίο πραγματοποιείται η οργανοληπτική εξέταση. Καθοριστικός παράγοντας στην οργανοληπτική εξέταση είναι η ατμόσφαιρα του χώρου. Ο έλεγχος προϊόντος αφορά τον τρόπο εξέτασης του δείγματος, τα μέσα τα οποία είναι απαραίτητα για την εξέταση και την προετοιμασία των δειγμάτων. Για τον έλεγχο των ατόμων που πραγματοποίησαν την δοκιμή έπρεπε κάθε δείγμα να δοκιμάζεται την ίδια στιγμή από όλα τα άτομα, ενώ η χρονική διάρκεια της δόκιμης έπρεπε να είναι κοινή για να περιορισθούν οι διάφορες εξωτερικές αλληλεπιδράσεις καθώς και οι λανθασμένες εκτιμήσεις των ατόμων που την πραγματοποιούν.

Η οργανοληπτική εξέταση πραγματοποιήθηκε το Νοέμβριο και Δεκέμβριο του 2008. Σπόροι από κάθε ποικιλία όσον το δυνατό πιο αντιπροσωπευτικοί, υποβλήθηκαν σε βρασμό για 15 λεπτά στους 95°C. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε πλαστικά πιάτα και δόθηκαν σε 10 άτομα για εξέταση. Μετά τη δοκιμή συμπλήρωναν το έντυπο με τα προς εξέταση χαρακτηριστικά που τους δόθηκε. Οι ενότητες των χαρακτηριστικών αυτών περιλάμβανε α) την εξωτερική εμφάνιση (χρώμα και φωτεινότητα), β) την γεύση (αλμυρότητα, πικρή, στυφή, γλυκιά, χορτώδης, μεταλλική, μουχλιασμένη, όξινη, έντονη, συνεκτικότητα, αποδοχή και χυμώδης), γ) την οσμή, δ) την αφή (τρυφερότητα και σκληρότητα) και ε) την ολική εκτίμηση. Οι χαρακτηρισμοί για τα χαρακτηριστικά των παραπάνω ενοτήτων έγινε αριθμητικά με τιμές από το 1 έως το 5, οι οποίες αντιστοιχούσαν στις ενδείξεις καθόλου έντονο έως πολύ έντονο.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Πίνακας 14 Το ερωτηματολόγιο που συμπληρώθηκε από τα άτομα κατά την οργανοληπτική εξέταση των σπόρων.

Α. Εξωτερική εμφάνιση	Πολύ έντονο	Έντονο	Μέτριο	Λίγο έντονο	Καθόλου έντονο
Χρώμα					
Φωτεινότητα					
Β. Γεύση	Πολύ έντονο	Έντονο	Μέτριο	Λίγο έντονο	Καθόλου έντονο
Αλμυρότητα					
Πικρή					
Στυφή					
Γλυκιά					
Χορτώδης					
Μεταλλική					
Μουχλιασμένη					
Όξινη					
Έντονη					
Συνεκτικότητα					
Αποδοχή					
Χυμώδης					
Γ. Οσμή	Πολύ έντονο	Έντονο	Μέτριο	Λίγο έντονο	Καθόλου έντονο
Δ. Αφή	Πολύ έντονο	Έντονο	Μέτριο	Λίγο έντονο	Καθόλου έντονο
Τρυφερότητα					
Σκληρότητα					
Ε. Ολική Εκτίμηση	Πολύ έντονο	Έντονο	Μέτριο	Λίγο έντονο	Καθόλου έντονο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Αποτελέσματα In Vitro Αναγέννησης

Στον πίνακα 15 παρουσιάζονται τα υποστρώματα και οι ρυθμιστές αύξησης που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε πρωτόκολλο για αναγέννηση βλαστών και ριζών. Τα υποστρώματα έναρξης προήγαγαν την αναγέννηση βλαστών ενώ τα υποστρώματα μεταφοράς την αναγέννηση ριζών.

Πίνακας 15 Αριθμός και ποσοστό αναγεννημένων βλαστών και ριζών, των δυο πρωτοκόλλων ιστοκαλλιέργειας, στις τέσσερις ποικιλίες φακής.

Γενότυπος	Πρωτόκολλο	Υπόστρωμα Έναρξης και Ορμόνες	Υπόστρωμα Μεταφοράς και Ορμόνες	Αριθμός και ποσοστό (%) Αναγεννημένων Βλαστών		Αριθμός και ποσοστό (%) Αναγεννημένων Ριζών	
Σάμος	Cohen	MSb+IAA+GA_3+ZEA	MSb+ZEA	39	78	20	40
	Polanco & Ruiz	MSb+NAA+BAP+GA_3	MSb+ IAA	31	62	17	43
Δήμητρα	Cohen	MSb+IAA+GA_3+ZEA	MSb+ZEA	30	60	13	26
	Polanco & Ruiz	MSb+NAA+BAP+GA_3	MSb+ IAA	19	38	12	24
Θεσσαλία	Cohen	MSb+IAA+GA_3+ZEA	MSb+ZEA	26	52	10	20
	Polanco & Ruiz	MSb+NAA+BAP+GA_3	MSb+ IAA	22	44	11	22
Ικαρία	Cohen	MSb+IAA+GA_3+ZEA	MSb+ZEA	20	40	9	18
	Polanco & Ruiz	MSb+NAA+BAP+GA_3	MSb+ IAA	16	32	7	14

Από τη σύγκριση των δυο πρωτοκόλλων φαίνεται ότι το πρωτόκολλο του Cohen είχε καλύτερα ποσοστά βλαστογένεσης για όλες τις ποικιλίες. Ιδιαίτερα για τις ποικιλίες Σάμος και Δήμητρα φάνηκε ότι είχαν καλύτερη αντίδραση στο πρωτόκολλο αυτό σε σχέση με την Θεσσαλία και την Ικαρία, οι οποίες είχαν παρόμοια ποσοστά

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

βλαστογένεσης και στα δυο πρωτόκολλα. Η ποικιλία με την καλύτερη in αναγέννηση βλαστών και στα δυο πρωτοκόλλα ήταν η Σάμος με ποσοστό βλαστογένεσης 78 % στο πρωτόκολλο του Cohen και 62 % στο πρωτόκολλο των Polanco & Ruiz. Η αμέσως καλύτερη ποικιλία ήταν η Δήμητρα με ποσοστό στο πρωτόκολλο του Cohen 60 % και 38 % στο Polanco & Ruiz. Ακολουθεί η ποικιλία Θεσσαλία με παρόμοιο ποσοστό αναγέννησης βλαστών και συγκεκριμένα 52 % για το πρώτο πρωτόκολλο και 44 % για το δεύτερο. Παρατηρείται ότι η μεν Δήμητρα είχε υψηλότερο ποσοστό αναγέννησης στο πρώτο πρωτόκολλο η δε Θεσσαλία στο δεύτερο. Την μικρότερη αναγέννηση βλαστών είχε η ποικιλία Ικαρία με ποσοστά 40 και 32 % για κάθε πρωτόκολλο αντίστοιχα.

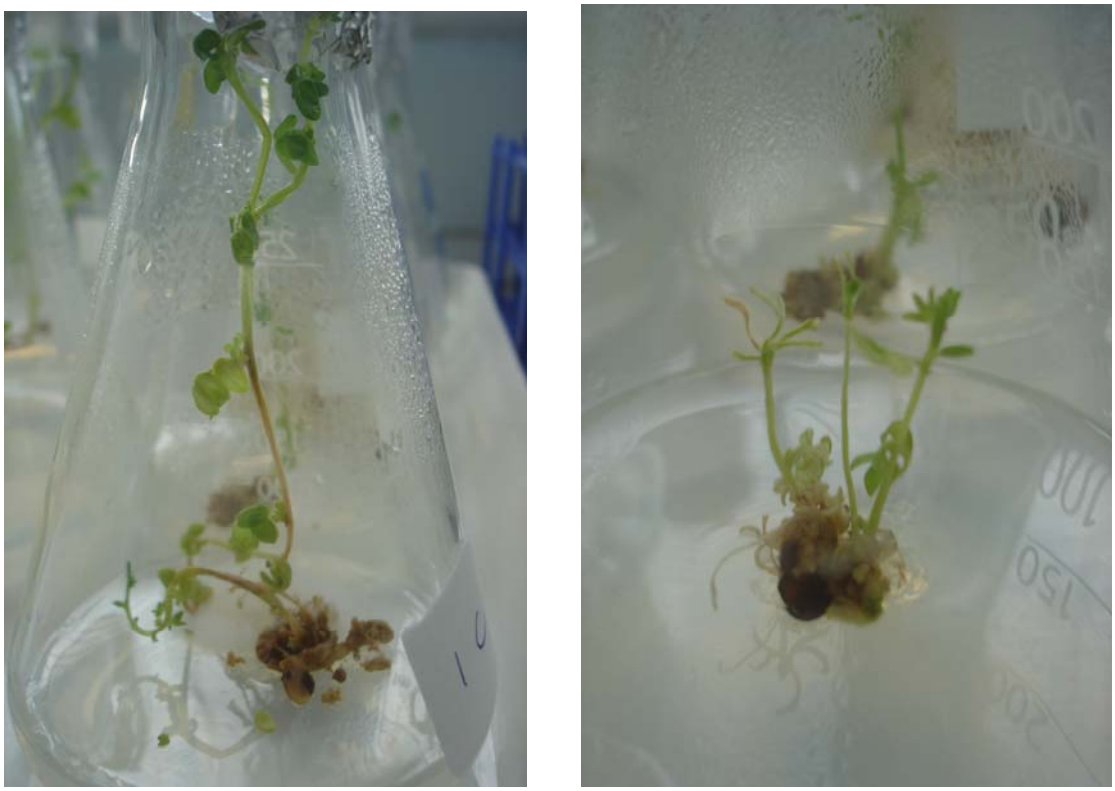
Εικόνα 11 Ιστοκαλλιέργεια εκφύτων φακής

Το ποσοστό ριζοβολίας όλων των ποικιλιών και στα δυο πρωτόκολλα ήταν μικρότερο σε σχέση με την αναγέννηση βλαστών. Και εδώ την καλύτερη αναγέννηση ριζών είχε η ποικιλία Σάμος με 40 και 43 % για κάθε πρωτόκολλο. Ακλούθησε η Δήμητρα με 26 (Cohen) και 24 % (Polanco & Ruiz), με πολύ μικρή διαφορά ακολουθεί η Θεσσαλία με 20 και 22 % και τελευταία έρχεται η Ικαρία με ποσοστό 18 και 14 % αντίστοιχα σε κάθε πρωτόκολλο. Η ποικιλία Σάμος φαίνεται ότι έχει το καλύτερο ποσοστό ριζογένεσης και μάλιστα στο πρωτόκολλο του Cohen. Οι υπόλοιπες τρεις ποικιλίες έχουν σχεδόν το ίδιο ποσοστό ριζοβολίας και στα δυο πρωτόκολλα, με λίγο καλύτερο ποσοστό στο πρωτόκολλο του Cohen.

Μια γενική παρατήρηση που έγινε για την ποικιλία Σάμος σε σχέση με τα δυο πρωτόκολλα, ήταν ότι στο μεν πρωτόκολλο του Cohen όλα τα φυτά παρήγαγαν πολύ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

μεγάλους βλαστούς χωρίς πολλαπλή αναγέννηση, ενώ πρωτόκολλο των Polanco & Ruiz παρατηρήθηκαν σχετικά μεγάλοι βλαστοί αλλά με πολλαπλή αναγέννηση. Στην ποικιλία Δήμητρα αν και το ποσοστό της βλαστογένεσης όσο ήταν υψηλό, οι παραγόμενοι βλαστοί ήταν αρκετά μικροί. Οι υπόλοιπες ποικιλίες παρήγαγαν και στα δυο πρωτόκολλα μικρούς βλαστούς.



Εικόνα 12 In vitro αναγέννηση της ποικιλίας Σάμος στο πρωτόκολλο Cohen (αριστερά) και στο πρωτόκολλο Polanco & Ruiz (δεξιά),

Η πορεία της βλαστογένεσης καταγράφηκε στις 4, 15 και 24 Ιουνίου του 2007 και η πορεία της ριζογένεσης καταγράφηκε στις 18 Ιουνίου και 1 και 12 Ιουλίου 2007 (πίνακας 16). Οι ημερομηνίες παρατήρησης βλαστών και ριζών ήταν οι ίδιες και για τα δυο πρωτόκολλα, για να γίνει σύγκριση της ταχύτητας ανάπτυξης βλαστών και ριζών ανά πρωτόκολλο. Στα διαγράμματα των εικόνων 13-14 παρατηρείται η πορεία παραγωγής βλαστών ενώ στα διαγράμματα των εικόνων 15-16 η πορεία παραγωγής ριζών για κάθε πρωτόκολλο.

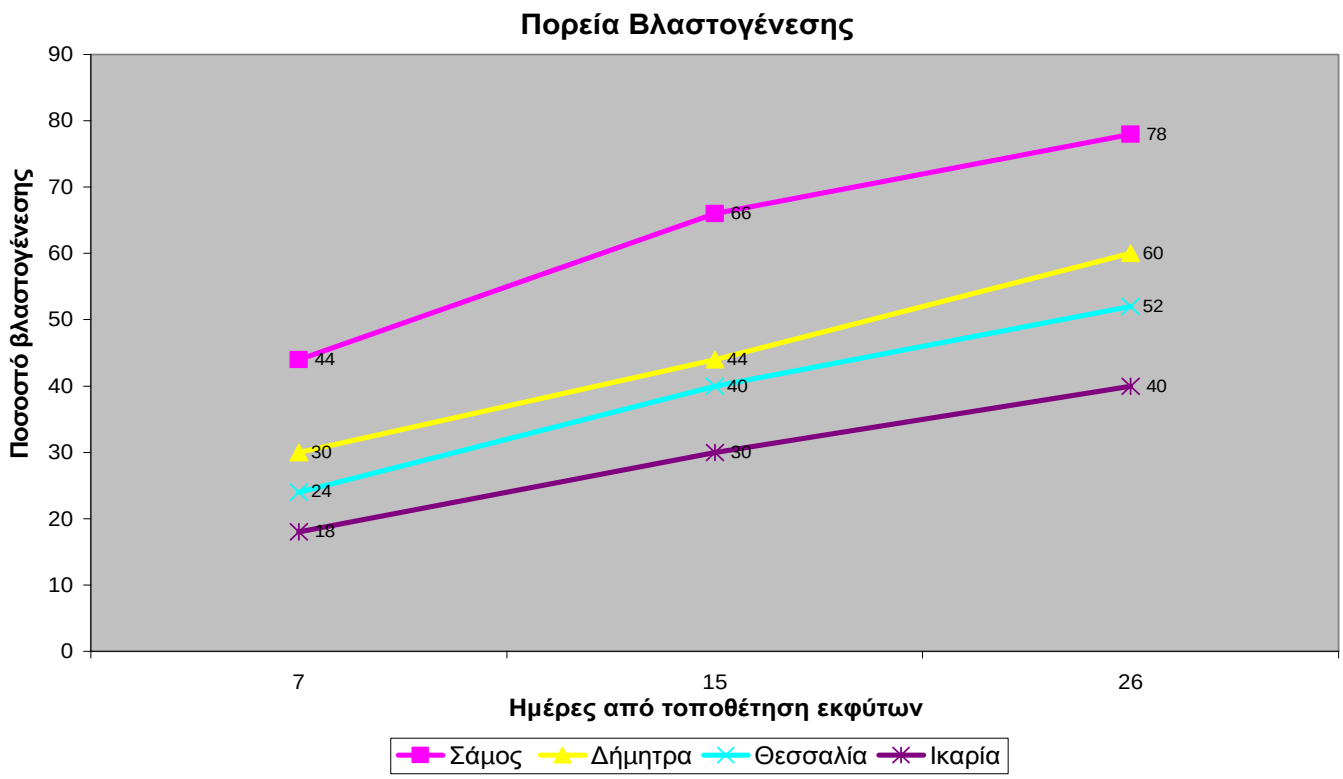
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Πίνακας 26 Πορεια του αναγεννημένων βλαστών και ριζών, των δυο πρωτοκόλλων ιστοκαλλιέργειας, στις τέσσερις ποικιλίες φακής, σε σχέση με την ημερομηνία παρατήρησης.

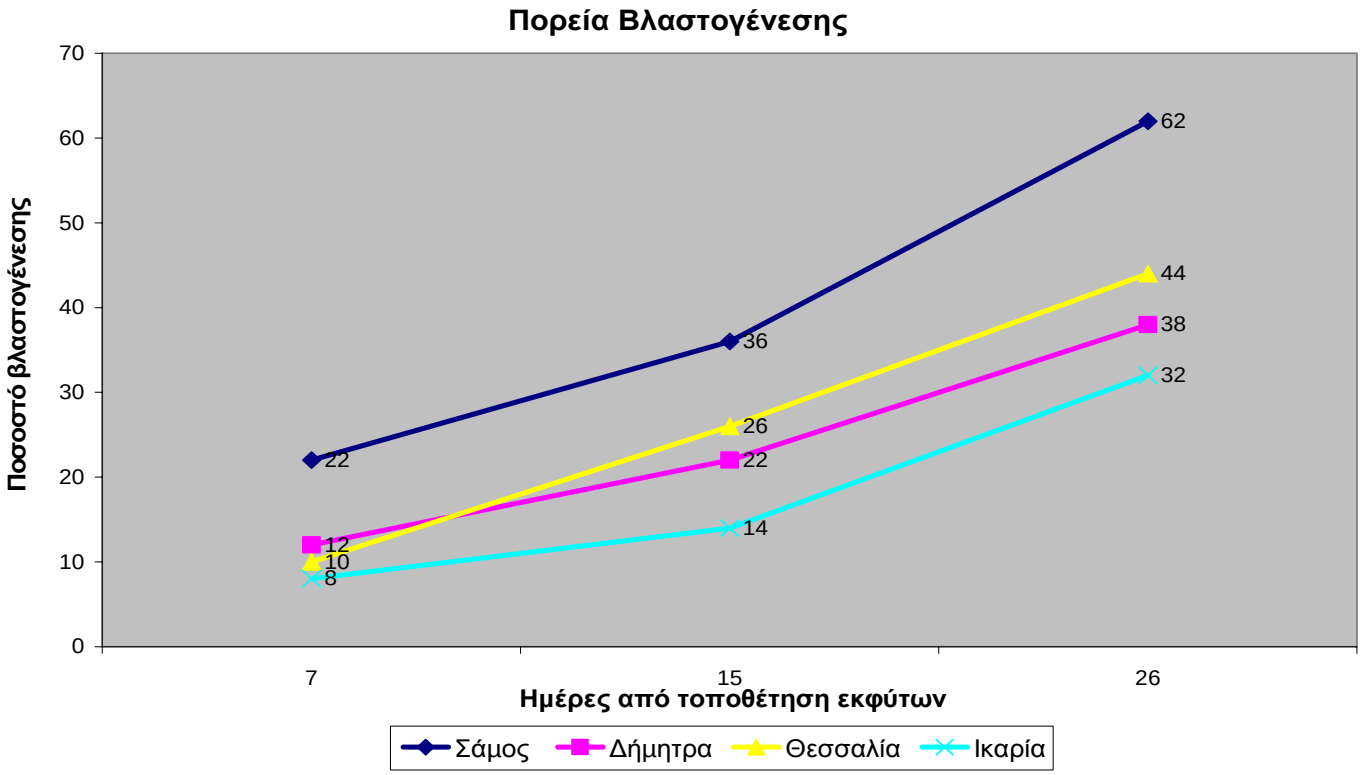
	Αριθμός βλαστών		Ημερομηνία παρατήρησης	Αριθμός ριζών		Ημερομηνία παρατήρησης
Πρωτόκολλο	**Cohen**	**Polanco & Ruiz**		**Cohen**	**Polanco & Ruiz**	
Ποικιλίες						
Σάμος	22	11	4/6/2007	13	5	18/6/2007
	33	18	15/6/2007	17	8	1/7/2007
	39	31	26/6/2007	20	17	12/7/2007
Δήμητρα	15	6	4/6/2007	6	3	18/6/2007
	22	11	15/6/2007	11	6	1/7/2007
	30	19	26/6/2007	13	12	12/7/2007
Θεσσαλία	12	5	4/6/2007	5	2	18/6/2007
	20	13	15/6/2007	7	5	1/7/2007
	26	22	26/6/2007	10	11	12/7/2007
Ικαρία	9	4	4/6/2007	4	0	18/6/2007
	15	7	15/6/2007	7	2	1/7/2007
	20	16	26/6/2007	9	7	12/7/2007

Η ταχύτητα δημιουργίας και ανάπτυξης βλαστών και ριζών στο πρωτόκολλο του Cohen ήταν πιο άμεση σε σχέση με το πρωτόκολλο των Polanco & Ruiz. Ειδικότερα οι περισσότεροι βλαστοί για το πρώτο πρωτόκολλο σχηματιστήκαν 15 ημερες από την έναρξη της ιστοκαλλιέργειας, ενώ για το δεύτερο πρωτόκολλο οι περισσότεροι βλαστοί παρατηρήθηκαν μετά από 25 ημερες. Αντίστοιχα για την δημιουργία ριζών, οι περισσότερες ρίζες του Cohen σχηματίσθηκαν ένα μήνα μετά από την έναρξη της ιστοκαλλιέργειας και 7 ημερες μετά από την μεταφορά σε υπόστρωμα με κατάλληλο για ριζογένεσης (μόνο ZEA), και για το πρωτόκολλο των Polanco & Ruiz, 40 ημερες μετά από την έναρξη ιστοκαλλιέργειας και 15 ημερες από την μεταφορά σε υπόστρωμα για ριζογένεση (μόνο IAA).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

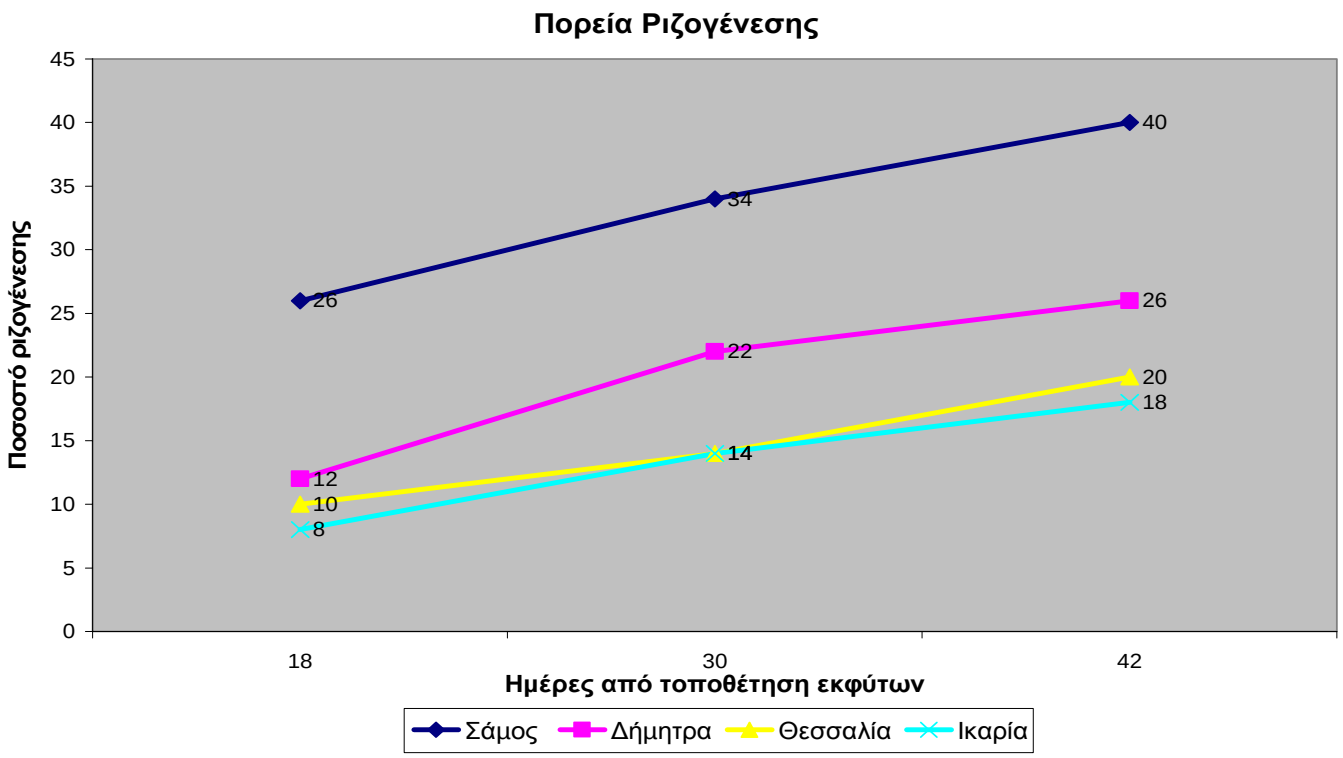


Εικόνα 13 Ποσοστό αναγέννησης βλαστών των τεσσάρων ποικιλιών φακής του πρωτοκόλλου Cohen.

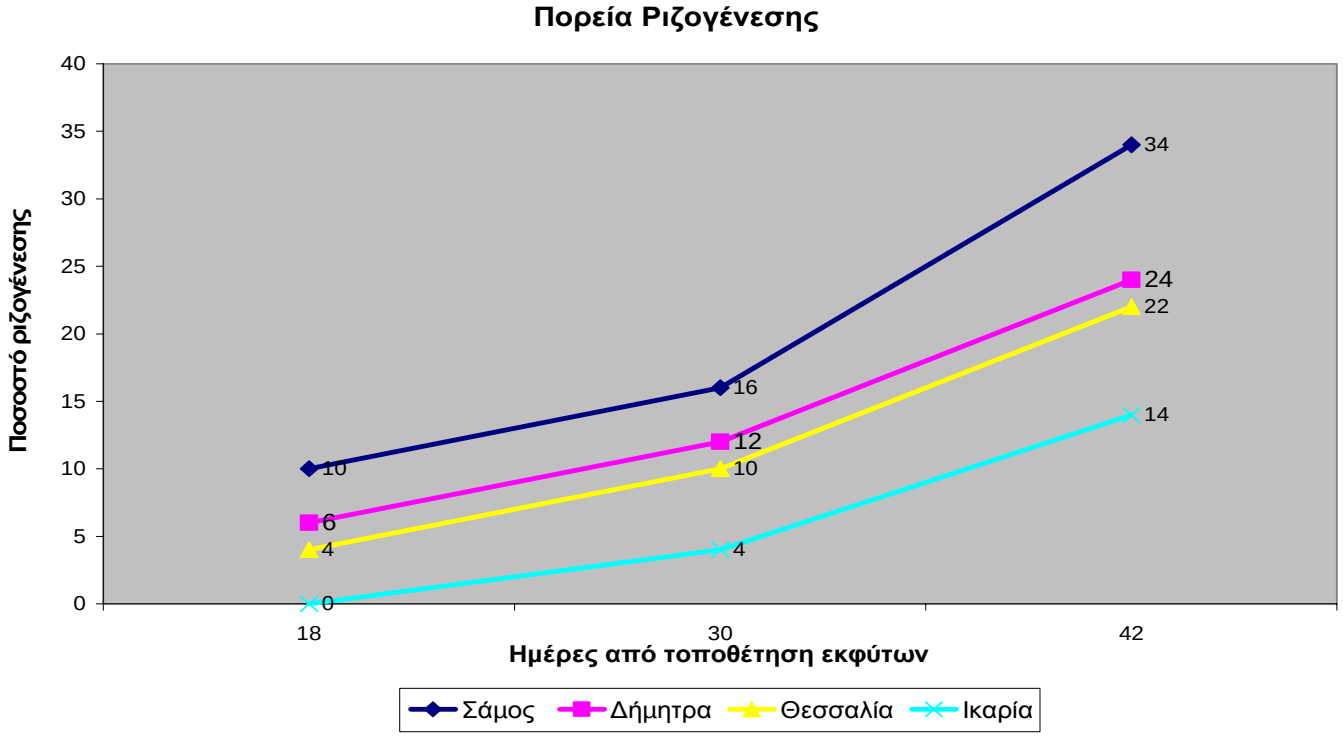


Εικόνα 14 Ποσοστό αναγέννησης βλαστών των τεσσάρων ποικιλιών φακής του πρωτοκόλλου Polanco & Ruiz.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 15 Ποσοστό αναγέννησης ριζών των τεσσάρων ποικιλιών φακής του πρωτοκόλλου Cohen.



Εικόνα 16 Ποσοστό αναγέννησης ριζών των τεσσάρων ποικιλιών φακής του πρωτοκόλλου Polanco & Ruiz

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

4.2 Αποτελέσματα Οργανοληπτικών Αναλύσεων

Τα αποτελέσματα των οργανοληπτικών αναλύσεων όσον αφορά τα χαρακτηριστικά της γεύσης για τις τέσσερεις ποικιλίες φακής (*Lens culinaris*), στο οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, καταγράφονται στον πίνακα 17. Στον πίνακα 18, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των οργανοληπτικών αναλύσεων για τα χαρακτηριστικά της εξωτερικής εμφάνισης, της οσμής, της αφής και της ολικής εκτίμησης, των τεσσάρων ποικιλιών φακής (*Lens culinaris*), για τα δυο περιβάλλοντα καλλιέργειας.

Για όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά έγινε διπαραγοντική ανάλυση παραλλακτικότητας, για να μελετηθεί η επίδραση των ποικιλιών, οι επιδράσεις της διαφορετικής καλλιεργητικής πρακτικής και οι αλληλεπιδράσεις των ποικιλιών με τα περιβάλλοντα καλλιέργειας. Έγινε ανάλυση των δεδομένων για επίπεδο σημαντικότητας 5 % και 1%.

Σύμφωνα με τα δεδομένα, παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές για κάποια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, τόσο μεταξύ των ποικιλιών, όσο μεταξύ των περιβαλλόντων καλλιέργειας. Οι συντελεστές παραλλακτικότητας βρέθηκαν αρκετά υψηλοί, γεγονός το οποίο οφείλεται στην παραλλακτικότητα των απαντήσεων από το πάνελ των δοκιμαστών.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Πίνακας 17 Αποτελέσματα μετρήσεων των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών γεύσης ποικιλιών φακής (*Lens culinaris*), σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον

a/a	Περιβάλλον	Αλμυρή	Πικρή	Στυφή	Γλυκιά	Χορτώδης	Μεταλλική	Μουχλιασμένη	Όξινη	Έντονη	Συνεκτικότητα	Αποδοχή	Χυμώδης
1	Οργανικό	2,75	1,975	2,55	2,675	2,825	2,875	2,325	2,025	3,325	3,325	3,1	2,775
2	Συμβατικό	2,675	3,175	2,875	2,25	2,85	2,55	2,825	2,375	3,2	3,125	2,75	2,45
	F test	ns	**	ns	ns	Ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	**
a/a	Ποικιλίες												
1	Δήμητρα	2,55	2,5	2,3 b	2,6a,b	2,6	2,45a	2,35	2,15	3,5	3,2	3,2a,b	2,55a
2	Σάμος	2,6	2,65	2,3a	2,2a	2,8	2,65a,b	2,75	2,3	3,2	3,35	2,75a	2,35a
3	Θεσσαλία	2,6	2,2	2,8a,b	3 b	2,9	3,1b	2,15	2,25	3,4	3,25	3,4b	3,15b
4	Ικαρία	3,1	2,5	2,95b	2,85a,b	3,15	3,15b	2,45	2,05	3,25	3	3a,b	3,2b
	M.O	2,712	2,462	2,587	2,662	2,862	2,837	2,425	2,187	3,337	3,2	3,087	2,812
	S_x	0,1128	0,0953	0,0909	0,1038	0,0868	0,0874	0,1105	0,0789	0,0928	0,125	0,0898	0,0927
	F test	ns	Ns	*	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	ΕΣΔ	0,341	-	0,274	0,313	0,262	0,264	0,333	-	-	-	0,271	0,280
	CV (%)	41,62	38,72	35,15	39,02	30,36	30,81	45,57	36,12	27,82	39,09	29,1	32,99

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Πίνακας 18 Αποτελέσματα μετρήσεων των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών εξωτερικής εμφάνισης, οσμής, αφής και ολικής εκτίμησης, ποικιλιών φακής (*Lens culinaris*), για τις τέσσερεις ποικιλίες φακής σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον

a/a	Περιβάλλον	Χρώμα	Φωτεινότητα	Οσμή	Τρυφερότητα	Σκληρότητα	Ολική Εκτίμηση
1	Οργανικό	2,9	2,675	2,95	2,45	3,875	3,25
2	Συμβατικό	3,35	2,75	2,875	2,1	4,325	2,85
	F test	**	ns	*	**	**	**
a/a	Ποικιλίες						
1	Δήμητρα	3,9 c	3,1	2,85a,b	2,15a	3,95b	3,2b
2	Σάμος	2,95 a,b	3,1	2,7a	2,25a	4,2b	3,3b
3	Θεσσαλία	3,4 b	2,6	3,35b	2,45a	3,1a	4c
4	Ικαρία	2,7a	2,55	3,4b	3,4b	4,05b	2,4a
	M.O	3,237	2,837	3,075	2,562	3,825	3,225
	S_x	0,0744	0,0878	0,0919	0,0718	0,0907	0,0656
	F test	**	ns	ns	ns	*	ns
	ΕΣΔ	0,224	-	0,278	0,217	0,274	0,198
	CV (%)	22,97	29,95	29,91	28,04	23,73	20,33

*Επίπεδο σημαντικότητας 0,05 ** Επίπεδο σημαντικότητας 0,01 %

Στον πίνακα 17, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής εξέτασης για τα χαρακτηριστικά της γεύσης, για όλες τις ποικιλίες φακής που μελετήθηκαν, για τα δυο περιβάλλοντα καλλιέργειας.

Για τις ποικιλίες, βρέθηκε ότι ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV) όλων των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών ήταν υψηλός. Για το χαρακτηριστικό στυφή γεύση των ποικιλιών, ο συντελεστής παραλλακτικότητας ήταν 35,15 %, σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05. Κανένα χαρακτηριστικό γεύσης των ποικιλιών δεν παρουσίασε διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 0,01 %. Όλα τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά γεύσης (αλμυρότητα, πικρή, γλυκιά, χορτώδης, μεταλλική, μουχλιασμένη, όξινη, έντονη, συνεκτικότητα, αποδοχή και χυμώδης) δεν είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές (ns). Από τις παραμέτρους των ποικιλιών με στατιστικώς σημαντική διαφορά, παρατηρείται ότι η ποικιλία με την πιο στυφή γεύση είναι η Ικαρία και ακολουθούν η Θεσσαλία, η Σάμος και η Δήμητρα.

Όσον αφορά την ανάλυση των δυο περιβαλλόντων καλλιέργειας (οργανικό, συμβατικό), το F test ήταν στατιστικά σημαντικό για τα χαρακτηριστικά πικρή και χυμώδης γεύση, για επίπεδο σημαντικότητας 0,01 %, και για το χαρακτηριστικό μεταλλική για επίπεδο σημαντικότητας 0,05 %. Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά δεν είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Το χαρακτηριστικό πικρή γεύση καταγράφηκε έντονο στο συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας. Αντίθετα οι παράμετροι μεταλλική και χυμώδης γεύση χαρακτήρισαν το οργανικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Στον πινάκα 18 εμφανίζονται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της εξωτερικής εμφάνισης, της οσμής, της αφής και της ολικής εκτίμησης, των τεσσάρων ποικιλιών φακής, για τα δυο περιβάλλοντα καλλιέργειας.

Για τις ποικιλίες ο συντελεστής παραλλακτικότητας ήταν υψηλός και για το χαρακτηριστικό το χρώματος ήταν 22,97 % σε επίπεδο σημαντικότητας 0,01 %. Για επίπεδο σημαντικότητας 0,05 %, ο συντελεστής παραλλακτικότητας βρέθηκε 23,73 % για το χαρακτηριστικό σκληρότητα της αφής. Τα χαρακτηριστικά φωτεινότητα, οσμή, τρυφερότητα και ολική εκτίμηση των ποικιλιών δεν παρατηρηθήκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Η ποικιλία με το πιο σκούρο χρώμα ήταν η Δήμητρα και ακολούθησαν η Θεσσαλία, η Σάμος και τελευταία η Ικαρία. Η πιο σκληρή ποικιλία ήταν η Σάμος, επακολούθησε η Ικαρία, μετά η Δήμητρα ενώ πολύ μικρότερη ήταν στην Θεσσαλία.

Στην ανάλυση των περιβαλλόντων, το F test ήταν στατιστικά σημαντικό για τα περισσότερα χαρακτηριστικά και αναλυτικά για το χρώμα, την τρυφερότητα, τη σκληρότητα και την ολική εκτίμηση σε επίπεδο σημαντικότητας 0.01 %, ενώ ήταν στατιστικά σημαντικό για το χαρακτηριστικό της οσμής σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 %. Το χαρακτηριστικό

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

φωτεινότητα δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά στα περιβάλλοντα. Στο συμβατικό περιβάλλον παρατηρήθηκε πιο σκούρο χρώμα σπόρων και λιγότερο έντονη οσμή. Για τα χαρακτηριστικά της αφής στο οργανικό περιβάλλον παρατηρήθηκε μεγαλύτερη τρυφερότητα και μικρότερη σκληρότητα των σπόρων. Η ολική εκτίμηση των ποικιλιών ήταν αυξημένη στο οργανικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Η οργανοληπτική εξέταση διαφοροποίησε τις ποικιλίες για μερικά μόνο χαρακτηριστικά, ενώ διαφοροποίησε τα περιβάλλοντα για πολύ περισσότερα χαρακτηριστικά. Οι παράμετροι της οργανοληπτικής εξέτασης παρουσίασαν ενδιαφέρουσες τιμές, πρέπει όμως να ερμηνεύονται με προσοχή δεδομένου ότι το σφάλμα, όπως προκύπτει από τις τιμές του CV, ήταν γενικά υψηλό. Με δεδομένη την κλίμακα από το 1 (καθόλου έντονο) ως το 5 (πολύ έντονο) της οργανοληπτικής εξέτασης, οι ποικιλίες και τα περιβάλλοντα αξιολογήθηκαν θετικά.

Συμπερασματικά μεγαλύτερη σταθερότητα για τις ποικιλίες παρουσιάζει το χαρακτηριστικό της ολικής εκτίμησης, το οποίο εμφανίζει το μικρότερο συντελεστή παραλλακτικότητας σε σχέση με τα υπόλοιπα υπό εξέταση χαρακτηριστικά και ακολουθούν τα χαρακτηριστικά χρώμα και σκληρότητα με μικρό και αυτά συντελεστή παραλλακτικότητας.

Στο χαρακτηριστικό της ολικής εκτίμησης παρουσιάζεται CV= 20,33 % για τις ποικιλίες, με μεγαλύτερη τάση των δοκιμαστών στην ποικιλία Θεσσαλία, ενώ παρουσιάστηκε χαμηλή εκτίμηση στην ποικιλία Ικαρία, το οποίο πιθανόν να οφείλεται στην έντονη σκληρότητα της μετά το βρασμό και στα έντονα χαρακτηριστικά γεύσης σε σχέση με τις άλλες ποικιλίες..

Στα περιβάλλοντα το F test ήταν στατιστικά σημαντικό για το χαρακτηριστικό της ολικής εκτίμησης σε επίπεδο σημαντικότητας 0,01 %, με προτίμηση των δοκιμαστών στο οργανικό περιβάλλον καλλιέργειας, το οποίο είχε και μεγαλύτερη αποδοχή και πιθανότατα ερμηνεύεται από το πιο σκούρο χρώμα, την μεγαλύτερη σκληρότητα και τη μικρή τρυφερότητα που παρουσίασε το συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

4.3 Αποτελέσματα Φυσικοχημικών Αναλύσεων

Στον πίνακα 19, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης των φυσικοχημικών παραμέτρων. Συγκεκριμένα μετρήθηκε το pH, η πυκνότητα των σπόρων η πυκνότητα των σπόρων μετά από 24ωρη ενυδάτωση, ο συντελεστής ενυδάτωσης και ο συντελεστής απορρόφησης. Τα χαρακτηριστικά μελετήθηκαν και για τις τέσσερεις ποικιλίες φακής, σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Πίνακας 19 Αποτελέσματα μετρήσεων των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών ποικιλιών φακής (*Lens culinaris*), σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον

a/a	Περιβάλλον	pH	Πυκνότητα σπόρων	Πυκνότητα σπόρων μετά από 24h	Συντελεστής Ενυδάτωσης	Συντελεστής Απορρόφησης
1	Οργανικό	6,513	1,179	1,118	1,979	2,189
2	Συμβατικό	6,549	1,174	1,121	2,118	2,224
	F test	Ns	ns	ns	ns	ns
a/a	Ποικιλίες					
1	Δήμητρα	6,477 a	1,143 a	1,112	1,862 a	2,146 a
2	Σάμος	6,503 a	1,183 b	1,120	1,986 a, b	2,154 a
3	Θεσσαλία	6,568 b	1,188 b	1,122	2,095 a, b	2,209 a
4	Ικάρια	6,577 b	1,194 b	1,125	2,251 b	2,318 b
	M.O	6,531	1,177	1,119	2,048	2,207
	S_x	0,058	0,068	0,574	0,228	0,094
	F test	*	**	ns	*	*
	ΕΣΔ	0,098	-	-	0,123	0,161
	CV (%)	2,652	0,850	1,264	33,475	12,816

Για τις ποικιλίες, οι διαφορές ήταν στατιστικώς σημαντικές για το pH, για επίπεδο σημαντικότητας 0,05 % και με συντελεστή παραλλακτικότητας (CV) 2,652 %. Το εύρος των τιμών για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό, κυμαίνονταν από 6,477 για την ποικιλία Δήμητρα έως 6,577 για την ποικιλία Ικαρία.

Όσον αφορά το χαρακτηριστικό της πυκνότητας των σπόρων (g/ml) στις ποικιλίες της φακής, οι διαφορές ήταν στατιστικώς σημαντικές για επίπεδο σημαντικότητας 0,01 % και με συντελεστή παραλλακτικότητας 0,85 %. Το εύρος των τιμών για την πυκνότητα, κυμαίνονταν από 1,143 g/ml για την ποικιλία Δήμητρα έως 1,194 g/ml για την ποικιλία Ικαρία.

Αντίθετα, η πυκνότητα των σπόρων μετά από εικοσιτετράωρη ενυδάτωση (g/ml) μεταξύ των ποικιλιών δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Ο συντελεστής παραλλακτικότητας για το χαρακτηριστικό ήταν 1,264 %. Η πυκνότητα των σπόρων μετά από εικοσιτετράωρη ενυδάτωση κυμαίνονταν από 1,112 για την ποικιλία Δήμητρα έως 1,125 g/ml για την ποικιλία Ικαρία.

Ο συντελεστής ενυδάτωσης εκτιμήθηκε μετά από παραμονή των σπόρων σε νερό για 24 ώρες και παρουσίασε συντελεστή παραλλακτικότητας 33,475 % για επίπεδο σημαντικότητας 0,05 %. Το εύρος των τιμών κυμάνθηκε από 1,862 για την ποικιλία Δήμητρα έως 2,251 για την ποικιλία Ικαρία. Η ερμηνεία του συντελεστή ενυδάτωσης είναι ότι η ποικιλία Δήμητρα αυξάνει τη μάζα της κατά 1,862 φόρες, ενώ η Ικαρία κατά 2,251φορες.

Ο συντελεστής απορρόφησης μελετήθηκε μετά από παραμονή των σπόρων σε νερό για 24 ώρες. Οι διαφορές ήταν στατιστικώς σημαντικές σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 % και CV 12,816 %. Τη μικρότερη τιμή παρουσίασε το χαρακτηριστικό στην ποικιλία Δήμητρα (2,146) και τη μεγαλύτερη στην ποικιλία Ικαρία (2,318).

Η μελέτη των φυσικοχημικών παραμέτρων σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον (F test) δεν εμφάνισε στατιστικώς σημαντικές διαφορές για κανένα χαρακτηριστικό (ns).

Συμπερασματικά οι συντελεστές παραλλακτικότητας που εμφανίζονται μεταξύ των ποικιλιών φακης, παρουσίασαν πολύ μικρές τιμές για το pH, την πυκνότητα των σπόρων και την πυκνότητα των σπόρων μετά από 24ωρη ενυδάτωση (2,652, 0,850 και 1,264 % αντίστοιχα), μέτρια τιμή (12,816 %) για το συντελεστής ενυδάτωσης και αρκετά υψηλή (33,475 %) για το συντελεστή απορρόφησης. Για κάθε φυσικοχημικό χαρακτηριστικό ανεξάρτητα με το επίπεδο σημαντικότητας, η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

μεγαλύτερη τιμή παρατηρήθηκε στην ποικιλία Ικαρία, ακολούθησε η Θεσσαλία, μετά η Σάμος ενώ η μικρότερη τιμή καταγράφηκε στην ποικιλία Δήμητρα.

Τα περισσότερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά εμφάνισαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, κατά τη σύγκριση του οργανικού με το συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, σε σχέση με τις φυσικοχημικές παραμέτρους οι οποίες δεν είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα δύο περιβάλλοντα. Αντιθέτως οι ποικιλίες είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ενώ δεν παρουσίασαν διαφορές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

4.4 Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (Principal Components Analysis-PCA)

Η ανάλυση σε κυρίες συνιστώσες έγινε για την μελέτη των οργανοληπτικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών, στο οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, αποδεικνύει ότι με δέκα κύριες συνιστώσες εξηγείται μόνο το 73,83 % της συνολικής παραλλακτικότητας (πίνακας 20), καθώς παραλλακτικότητα είναι αρκετά μεγάλη, όπως παρατηρήθηκε και από την ANOVA. Το γεγονός αυτό ερμηνεύεται λόγω της οργανοληπτικής εξέτασης που υπεισέρχεται μέσα στην ανάλυση, η οποία αυξάνει κατά πολύ τη συνολική παραλλακτικότητα.

Πίνακας 20 Ολική παραλλακτικότητα όπως πρόεκυψε από την εφαρμογή της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες PCA για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

PCA	% της μεταβολής	% άθροισμα
PC1	20,12	20,12
PC2	9,95	30,07
PC3	8,59	38,67
PC4	7,52	46,19
PC5	5,98	52,16
PC6	5,17	52,16
PC7	4,85	57,35
PC8	4,49	62,19
PC9	3,64	70,33
PC10	3,49	73,84

Στο διάγραμμα της PC1 με την PC2, για το σύνολο των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, το οποίο εξηγεί το 30,07 % της ολικής παραλλακτικότητας (εικόνα 17) φαίνεται ότι η ολική εκτίμηση των ποικιλιών για το οργανικό περιβάλλον καλλιέργειας ομαδοποιείται με

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

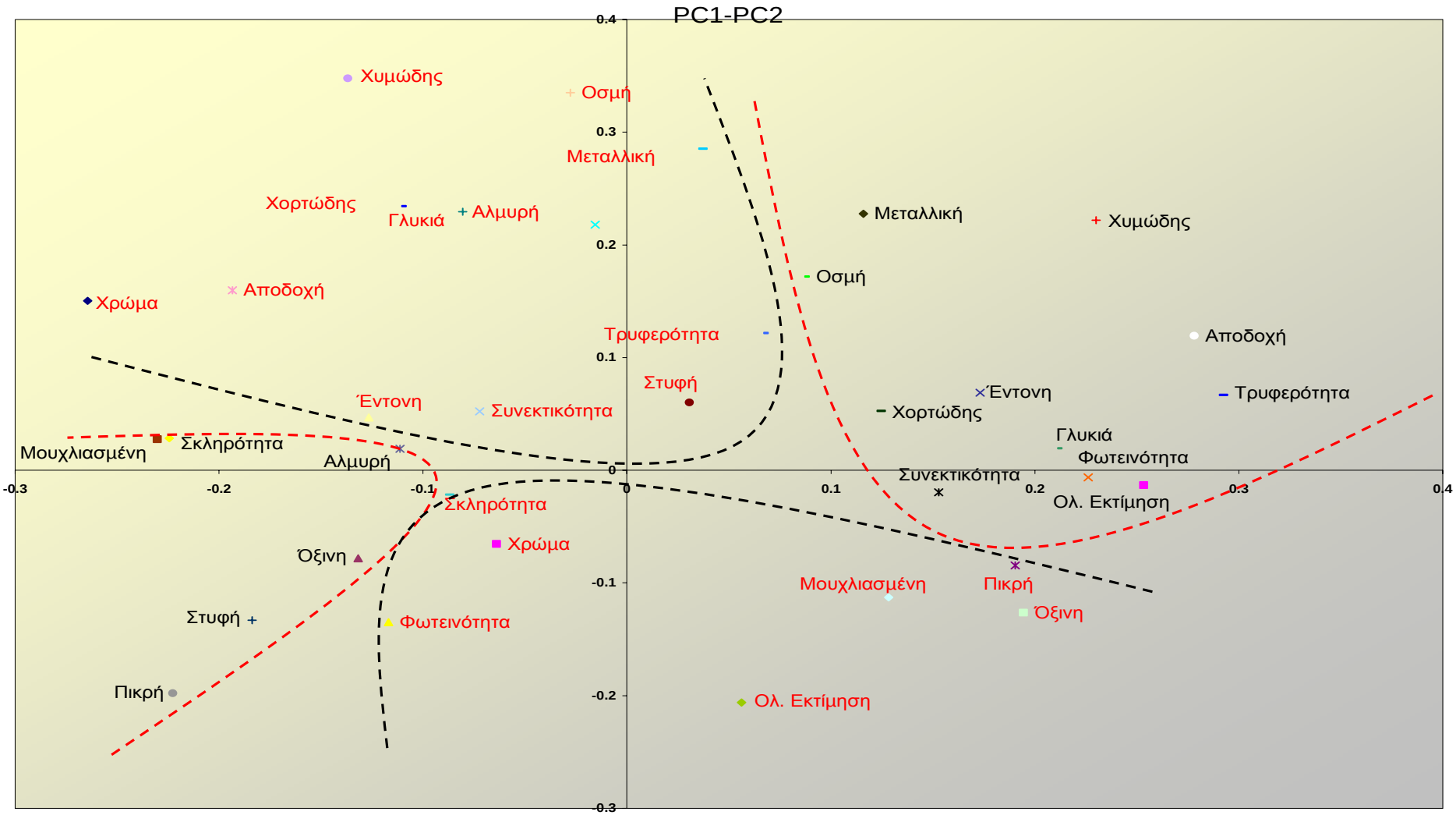
τα χαρακτηριστικά πικρή, όξινη, μουχλιασμένη, σκληρότητα, φωτεινότητα και χρώμα. Όλα τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος αυτού ομαδοποιούνται μαζί. Η ολική εκτίμηση των ποικιλιών για το συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας ομαδοποιείται με τα χαρακτηριστικά του συμβατικού περιβάλλοντος μεταλλική, χυμώδης, οσμή, αποδοχή, τρυφερότητα, έντονη, χορτώδης, γλυκιά, έντονη, φωτεινότητα και συνεκτικότητα. Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος αυτού ομαδοποιούνται μαζί.

Στο διάγραμμα της PC1 με την PC3, για το σύνολο των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, το οποίο εξηγεί το 28,71 % της ολικής παραλλακτικότητας (εικόνα 18) παρατηρείται ότι η ότι η ολική εκτίμηση των ποικιλιών για το οργανικό περιβάλλον καλλιέργειας ομαδοποιείται με τα ίδια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του διαγράμματος της PC1 με την PC2, με επιπλέον τη φωτεινότητα του οργανικού και την πικρή, όξινη και αλμυρή γεύση του συμβατικού. Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του οργανικού περιβάλλοντος με τη χορτώδης γεύση του συμβατικού ομαδοποιούνται μαζί. Η ολική εκτίμηση των ποικιλιών για το συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας ομαδοποιείται με τα ίδια χαρακτηριστικά του διαγράμματος PC1-PC2 και ομοίως οι υπόλοιπες παράμετροι του περιβάλλοντος αυτού ομαδοποιούνται όπως στο διάγραμμα της PC1 με την PC2.

Στο διάγραμμα της PC2 με την PC3, για το σύνολο των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, το οποίο εξηγεί το 18,54 % της ολικής παραλλακτικότητας (εικόνα 19), τα χαρακτηριστικά ομαδοποιούνται διαφορετικά από τα προηγούμενα. Η ολική εκτίμηση του οργανικού ομαδοποιείται με την φωτεινότητα και χρώμα. Η συνεκτικότητα, η γλυκιά, στυφή, μουχλιασμένη και η σκληρότητα ομαδοποιούνται μαζί. Η ολική εκτίμηση του συμβατικού ομαδοποιείται με την φωτεινότητα, την αλμυρή και την έντονη γεύση του περιβάλλοντος αυτού. Η στυφή, μουχλιασμένη, γλυκιά γεύση, η συνεκτικότητα και η σκληρότητα ομαδοποιούνται μαζί, ενώ αντίθετα οι άλλες παράμετροι δεν παρουσιάζουν ομαδοποίηση.

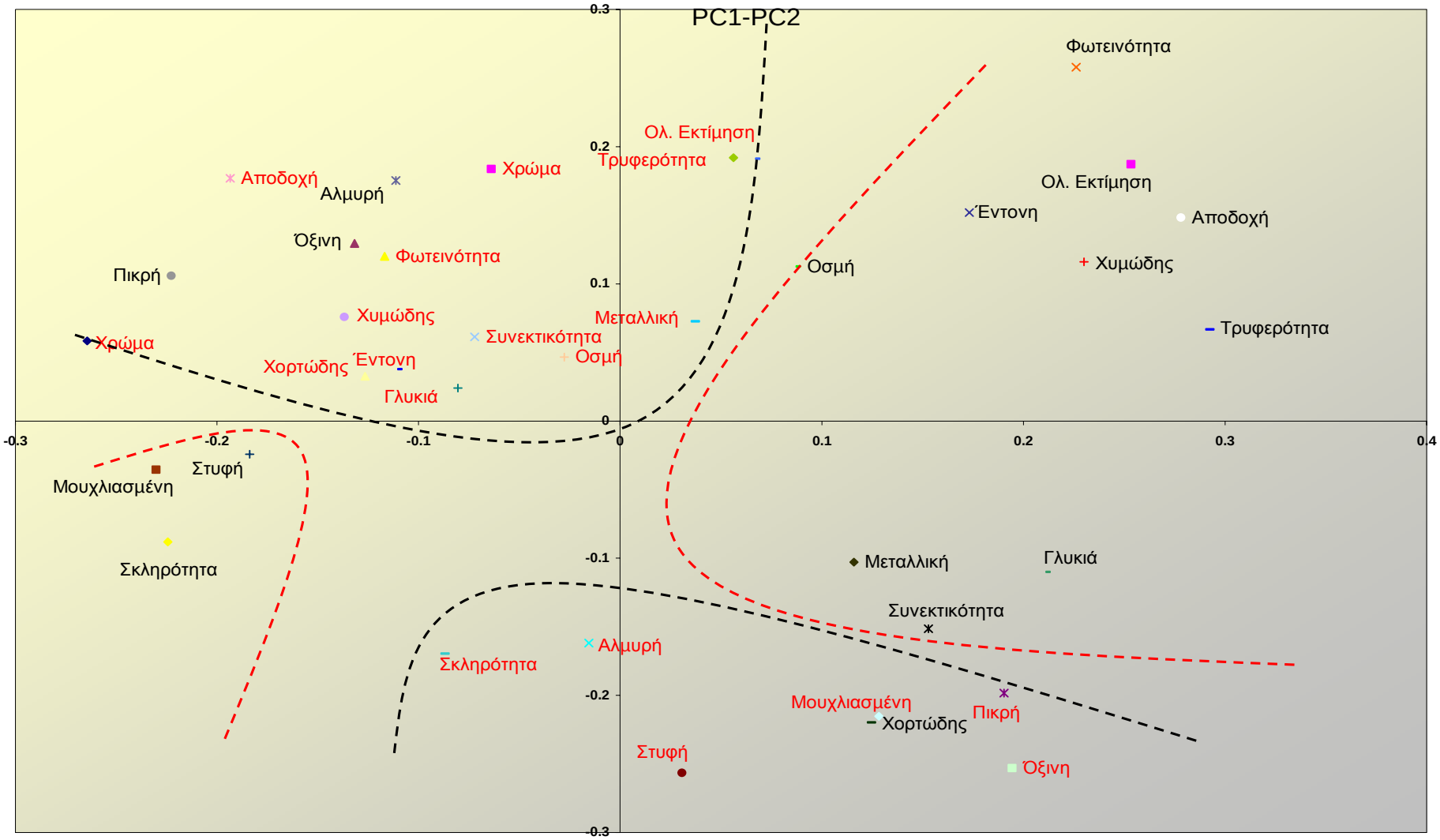
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



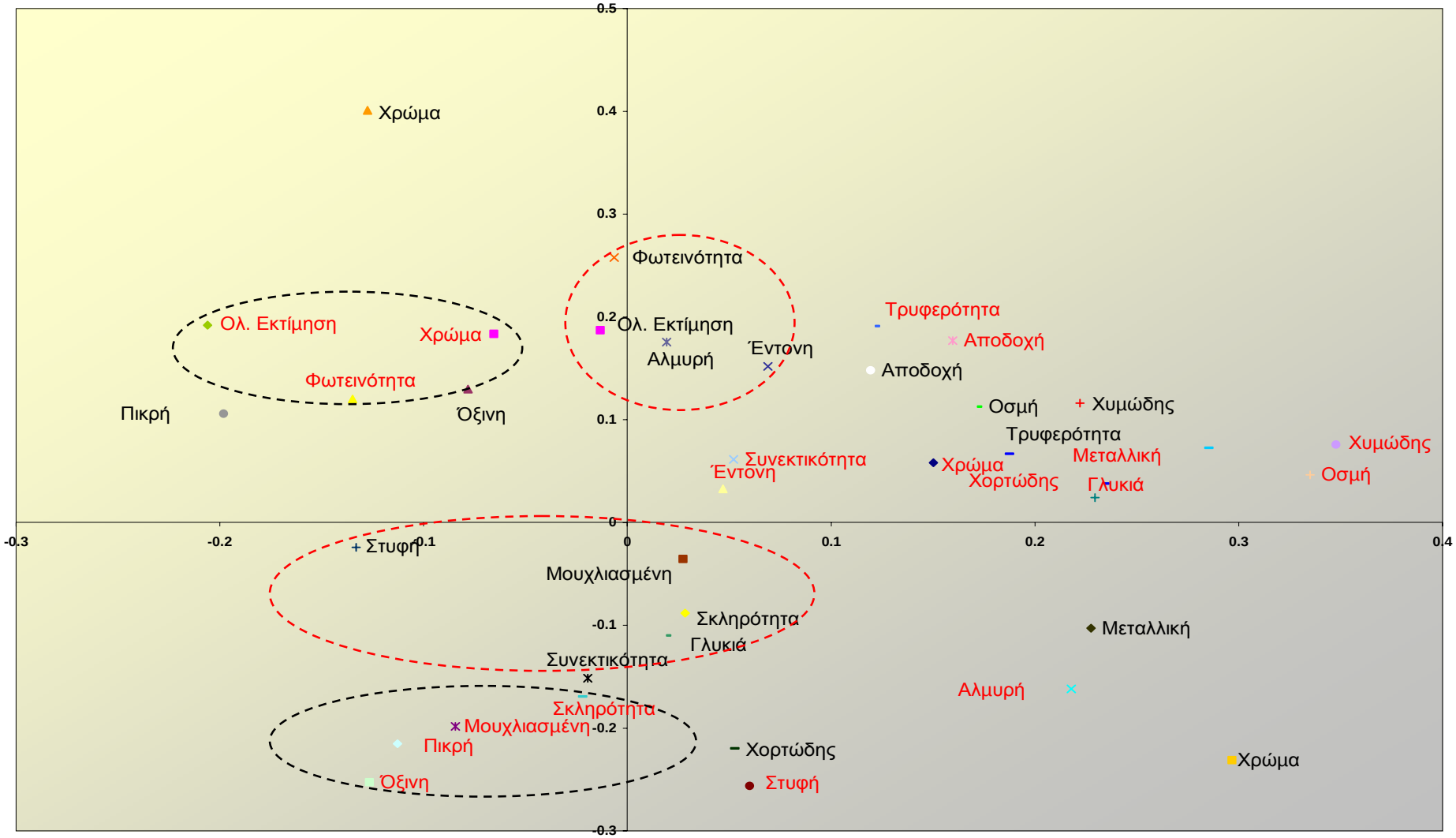
Εικόνα 17 Διάγραμμα της PC1 με την PC2, για το σύνολο των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 18 Διάγραμμα της PC1 με την PC3, για το σύνολο των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 19 Διάγραμμα της PC2 με την PC3, για το σύνολο των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Για την ανάλυση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών χρειάστηκαν 7 κύριες συνιστώσες, ώστε η ερμηνεία της ολικής μεταβολής να ανέλθει στο 99,27 % της συνολικής παραλλακτικότητας, ενώ με τρεις κύριες συνιστώσες το ποσοστό που ερμηνεύεται φτάνει το 78,12 % της ολικής παραλλακτικότητας (πίνακας 21).

Πίνακας 21 Ολική παραλλακτικότητα όπως πρόεκυψε από την εφαρμογή της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες PCA για τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά.

PCA	% της μεταβολής	% άθροισμα
PC1	42,16	42,16
PC2	23,69	65,85
PC3	12,3	78,12
PC4	7,59	85,71
PC5	6,26	91,96
PC6	5,05	97,02
PC7	2,26	99,27

Το διάγραμμα της PC1 με την PC2, για το σύνολο των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, εξηγεί το 65,84 % της ολικής παραλλακτικότητας (εικόνα 20). Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ομαδοποιούνται σε τρεις ομάδες. Ο συντελεστής ενυδάτωσης και απορρόφησης για τα δυο περιβάλλοντα, δημιουργούν μια ομάδα. Οι παράμετροι του οργανικού περιβάλλοντος, πυκνότητα και pH δημιουργούν μια ομάδα με την πυκνότητα μετά από 24 ώρες του συμβατικού περιβάλλοντος, ενώ οι αντίστοιχες παράμετροι του συμβατικού (πυκνότητα, pH) ομαδοποιούνται με την πυκνότητα μετά από 24 ώρες του οργανικού.

Το διάγραμμα της PC1 με την PC3, για το σύνολο των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών στα δυο περιβάλλοντα καλλιέργειας, εξηγεί το 54,36 % της ολικής παραλλακτικότητας (εικόνα 21), τα χαρακτηριστικά ομαδοποιούνται διαφορετικά. Ο συντελεστής ενυδάτωσης και απορρόφησης για κάθε περιβάλλον ομαδοποιούνται μαζί όπως πριν, η πυκνότητα, η πυκνότητα 24 ωρών και το pH του οργανικού

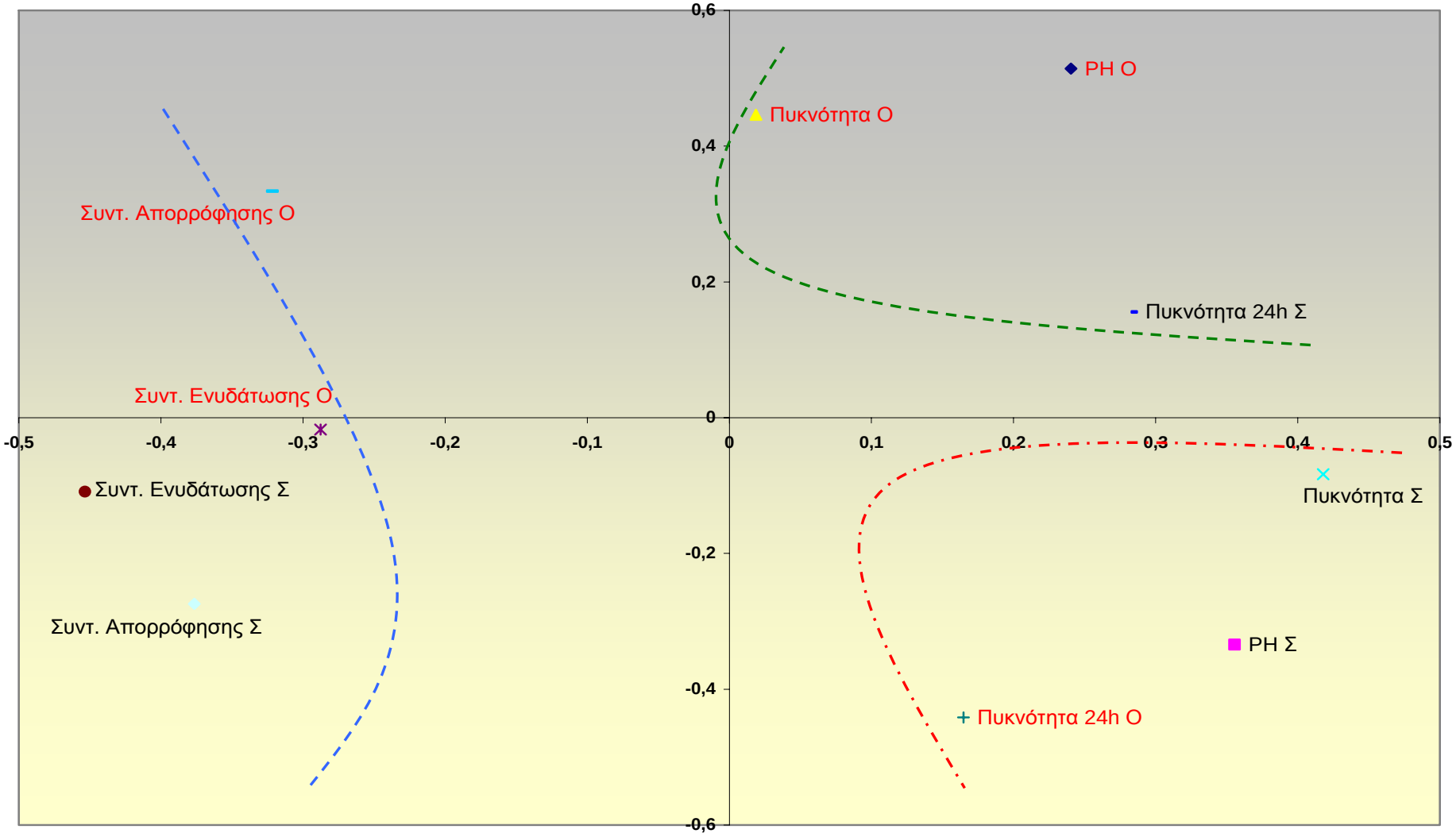
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

περιβάλλοντος δημιουργούν άλλη ομάδα και μια τρίτη δημιουργεί η πυκνότητα, η πυκνότητα 24 ωρών και το pH του συμβατικού περιβάλλοντος.

Στο διάγραμμα της PC2 με την PC3, για το σύνολο των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, το οποίο εξηγεί το 35,99 % της ολικής παραλλακτικότητας, δημιουργούνται δυο ομάδες (εικόνα 22). Στην πρώτη ομάδα είναι η πυκνότητα, η πυκνότητα 24ωρων και το pH του οργανικού με το συντελεστή απορρόφησης και ενυδάτωσης του συμβατικού και στο δεύτερο η πυκνότητα, η πυκνότητα 24ωρων και το pH του συμβατικού με το συντελεστή απορρόφησης και ενυδάτωσης του οργανικού.

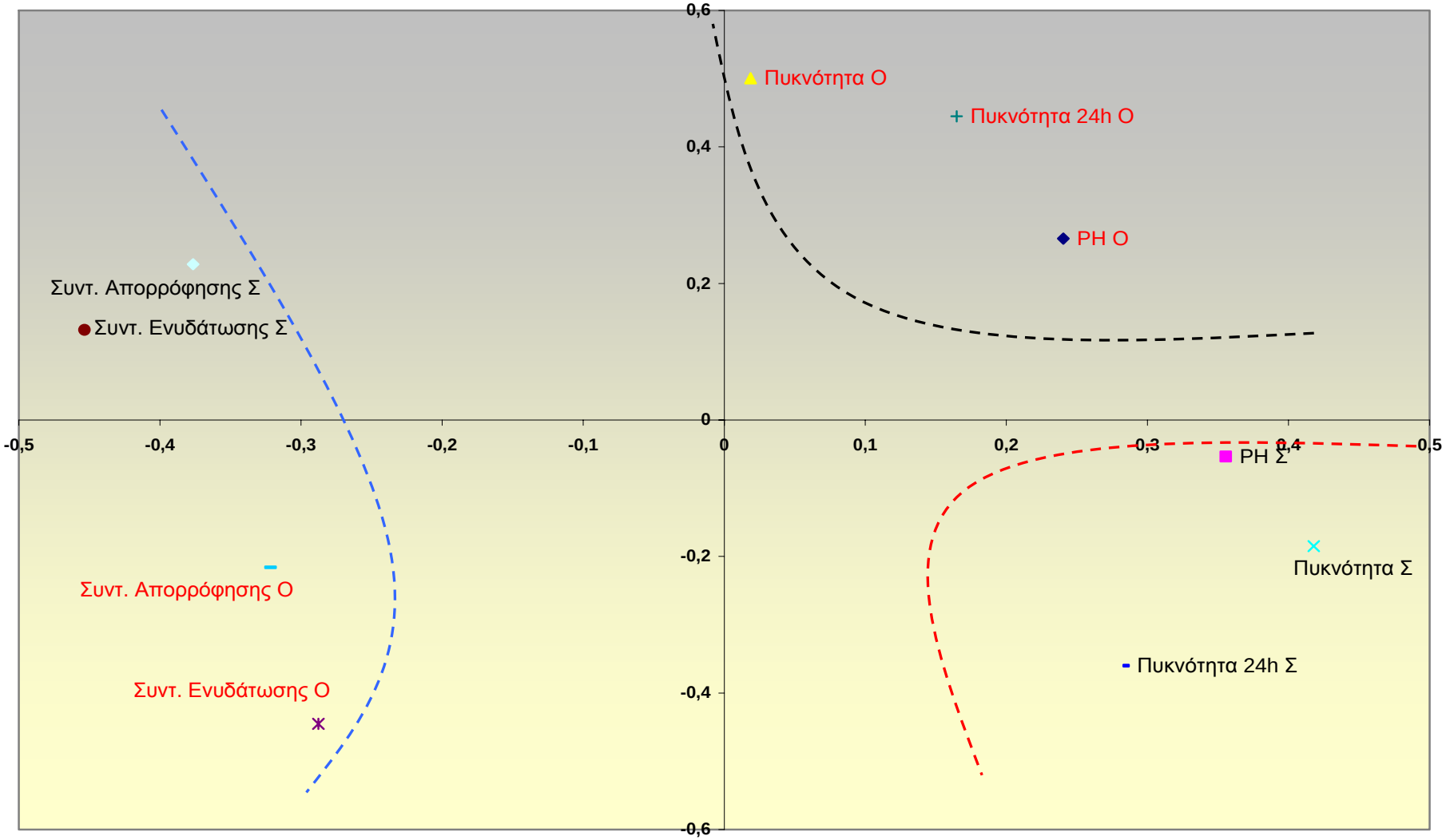
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



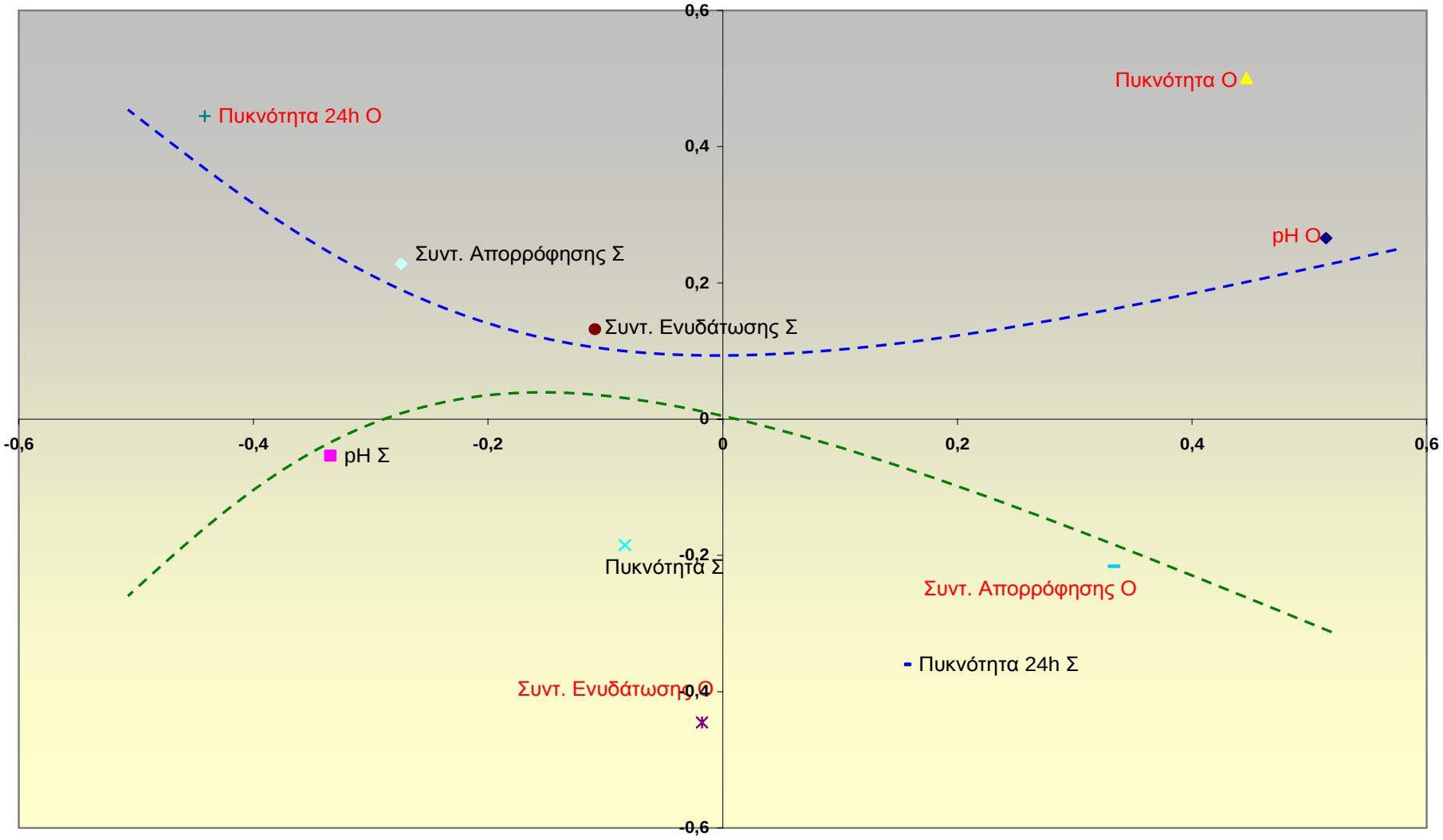
Εικόνα 20 Διάγραμμα της PC1 με την PC2, για το σύνολο των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 21 Διάγραμμα της PC2 με την PC3, για το σύνολο των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 22 Διάγραμμα της PC1 με την PC3, για το σύνολο των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Για την ανάλυση των ποικιλιών χρειάστηκαν 7 κύριες συνιστώσες, ώστε η ερμηνεία της ολικής μεταβολής να ανέλθει στο 94,45 % της συνολικής παραλλακτικότητας, ενώ με τρεις κύριες συνιστώσες το ποσοστό που ερμηνεύεται φτάνει το 56,68 % της ολικής παραλλακτικότητας (πίνακας 22).

Πίνακας 22 Ολική παραλλακτικότητα όπως πρόεκυψε από την εφαρμογή της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες PCA για τις ποικιλίες.

PCA	% της μεταβολής	% άθροισμα
PC1	22,46	22,46
PC2	19,62	42,08
PC3	14,60	56,68
PC4	11,77	68,46
PC5	10,84	79,30
PC6	8,39	87,69
PC7	6,76	94,44

Στο διάγραμμα της PC1 με την PC2, για το σύνολο των ποικιλιών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, το οποίο εξηγεί το 42,08 % της ολικής παραλλακτικότητας (εικόνα 23) φαίνεται ότι οι ποικιλίες δημιουργούν δυο ομάδες. Η πρώτη ομάδα αποτελείται από τις ποικιλίες Σάμος, Δήμητρα και Ικαρία του συμβατικού και η ποικιλία Θεσσαλία του οργανικού. Στην δεύτερη ομάδα ανήκουν οι ποικιλίες Σάμος Δήμητρα και Ικαρία του οργανικού, με τη Θεσσαλία του συμβατικού.

Το διάγραμμα της PC1 με την PC3 εξηγεί το 37, 06 5 της ολικής παραλλακτικότητας (εικόνα 24). Η ποικιλίες Σάμος, Δήμητρα και Ικαρία του συμβατικού περιβάλλοντος ομαδοποιούνται μαζί, ενώ όλες οι ποικιλίες του οργανικού (εκτός της Θεσσαλίας) δημιουργούν μια ομάδα με την Θεσσαλία του συμβατικού.

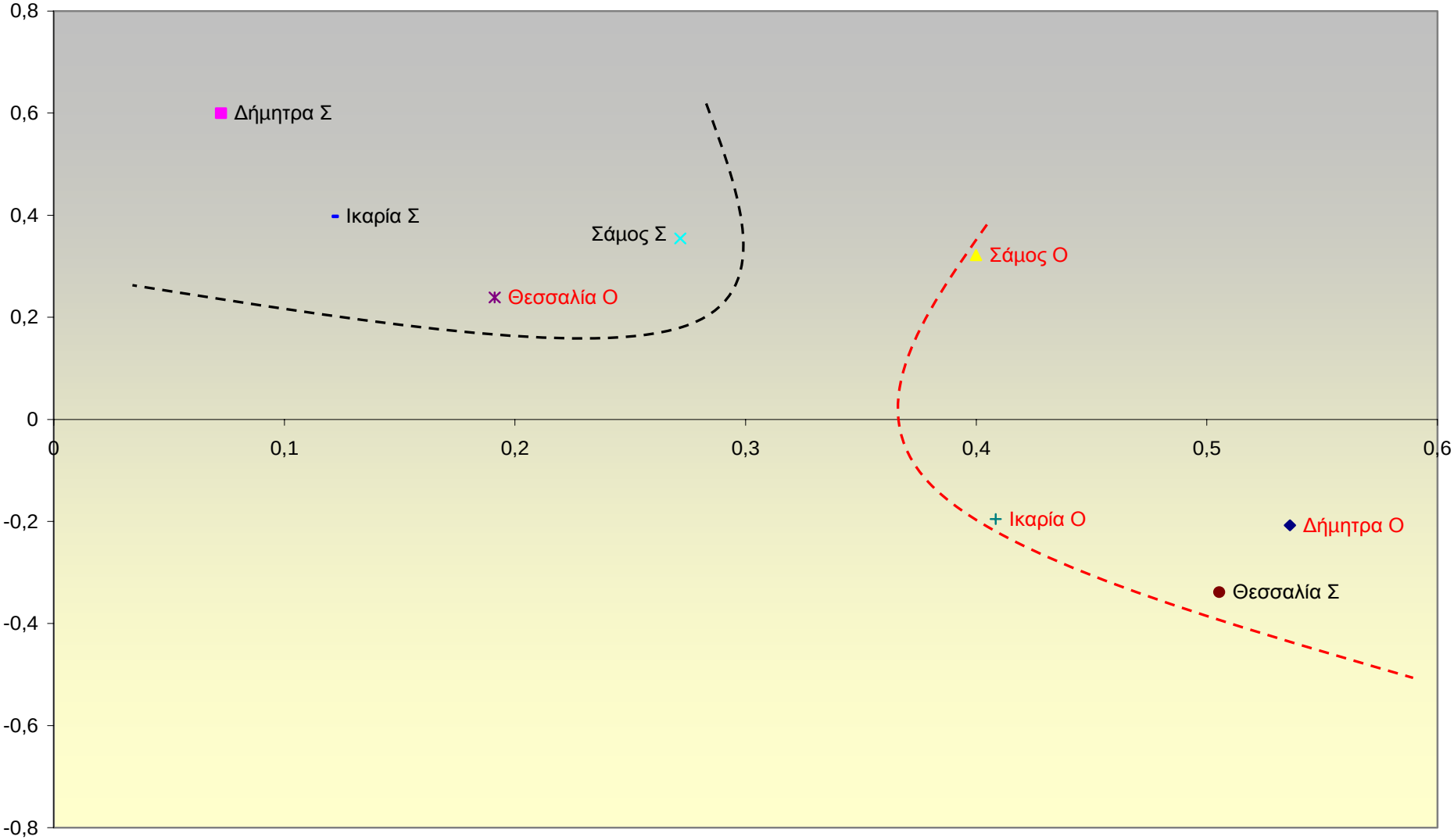
Στο διάγραμμα της PC2 με την PC3 εξηγείται το 34,42 5 της παραλλακτικότητας (εικόνα 25). Και εδώ οι ποικιλίες Σάμος, Δήμητρα και Ικαρία του συμβατικού περιβάλλοντος ομαδοποιούνται μαζί, η Σάμος με την Θεσσαλία του

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

οργανικού κάνουν άλλη ομάδα, ενώ η Δήμητρα και η Ικαρία του οργανικού ομαδοποιείται με τη Θεσσαλία του συμβατικού.

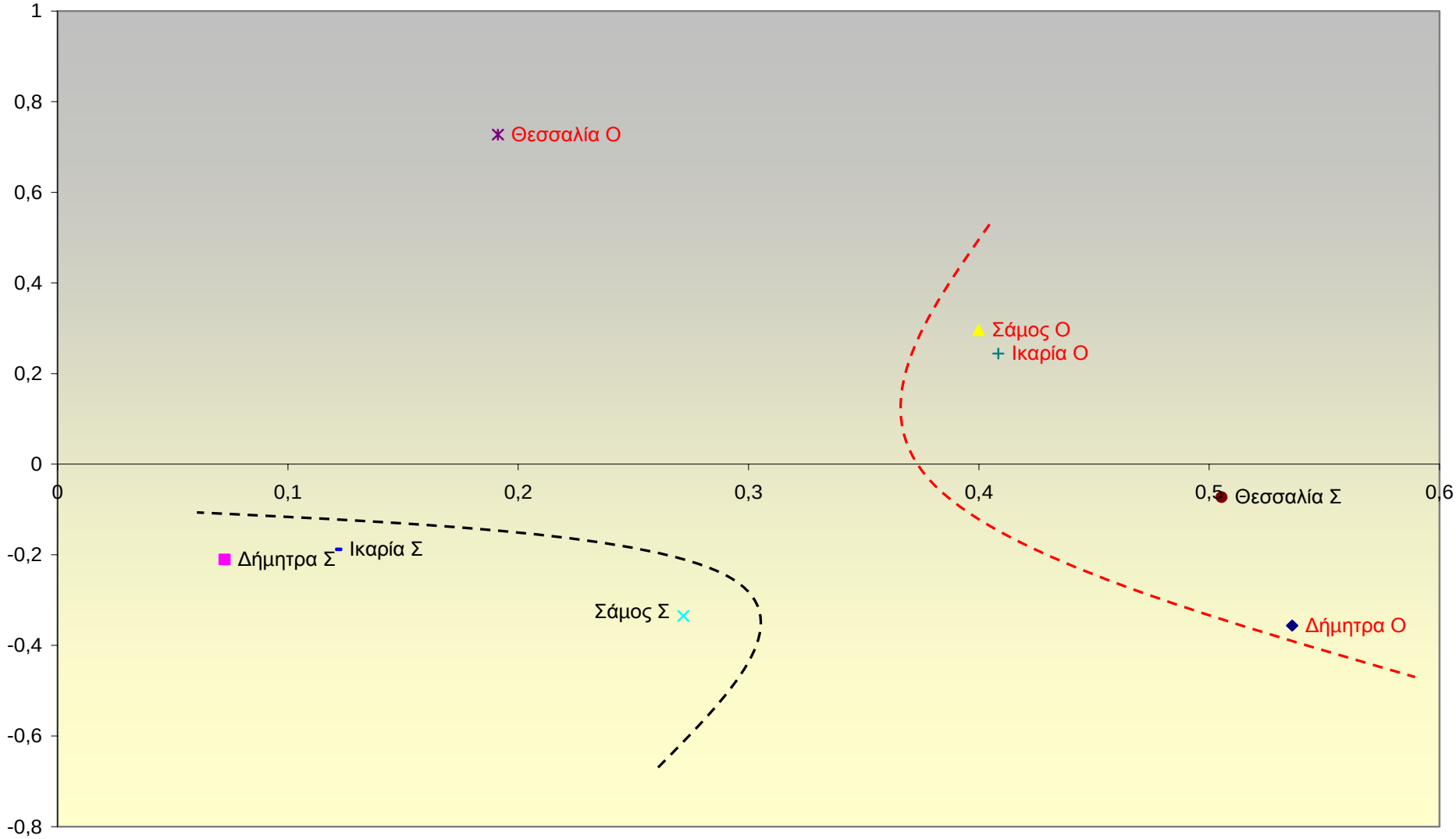
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



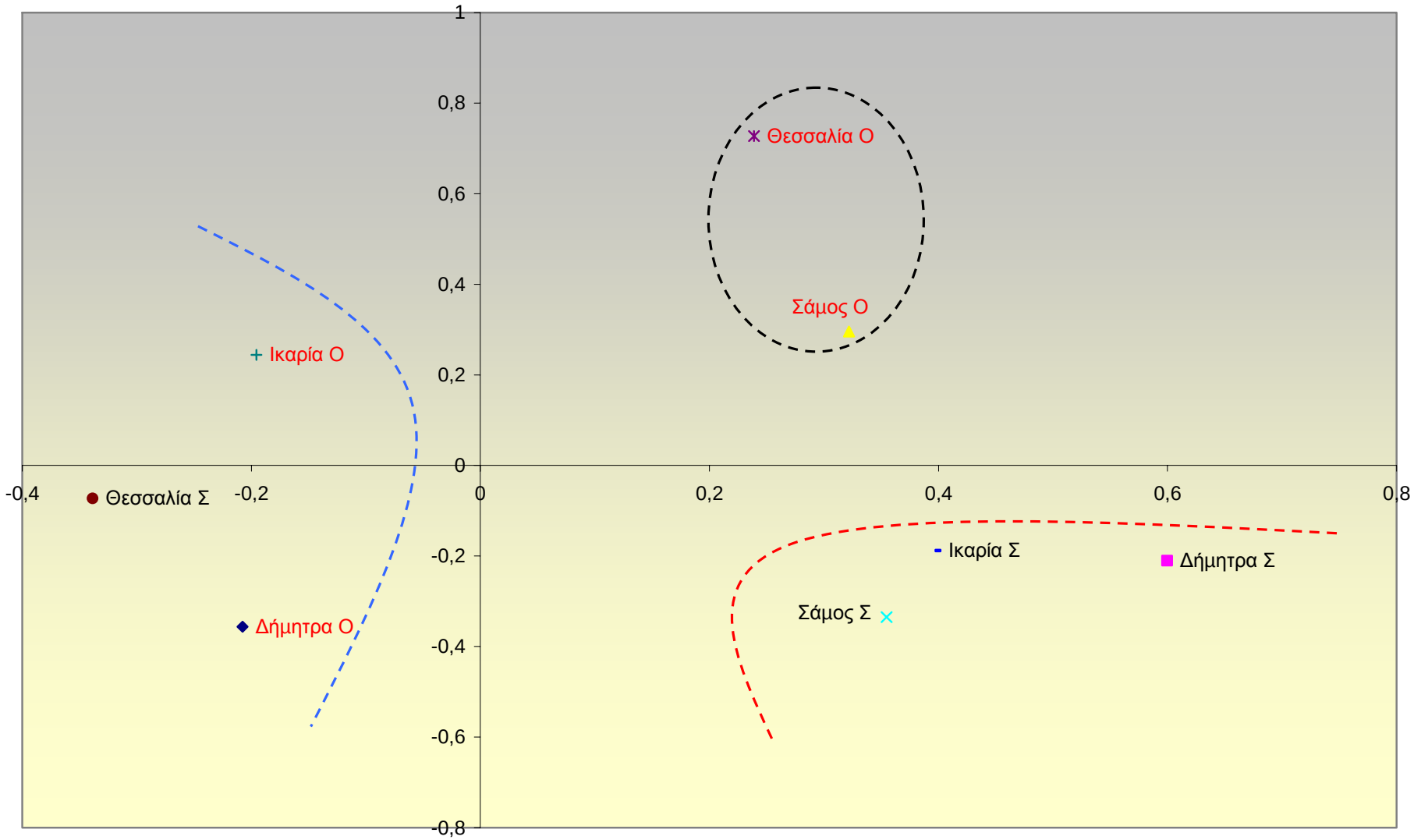
Εικόνα 23 Διάγραμμα της PC1 με την PC2, για το σύνολο των ποικιλιών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 24 Διάγραμμα της PC1 με την PC3, για το σύνολο των ποικιλιών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας

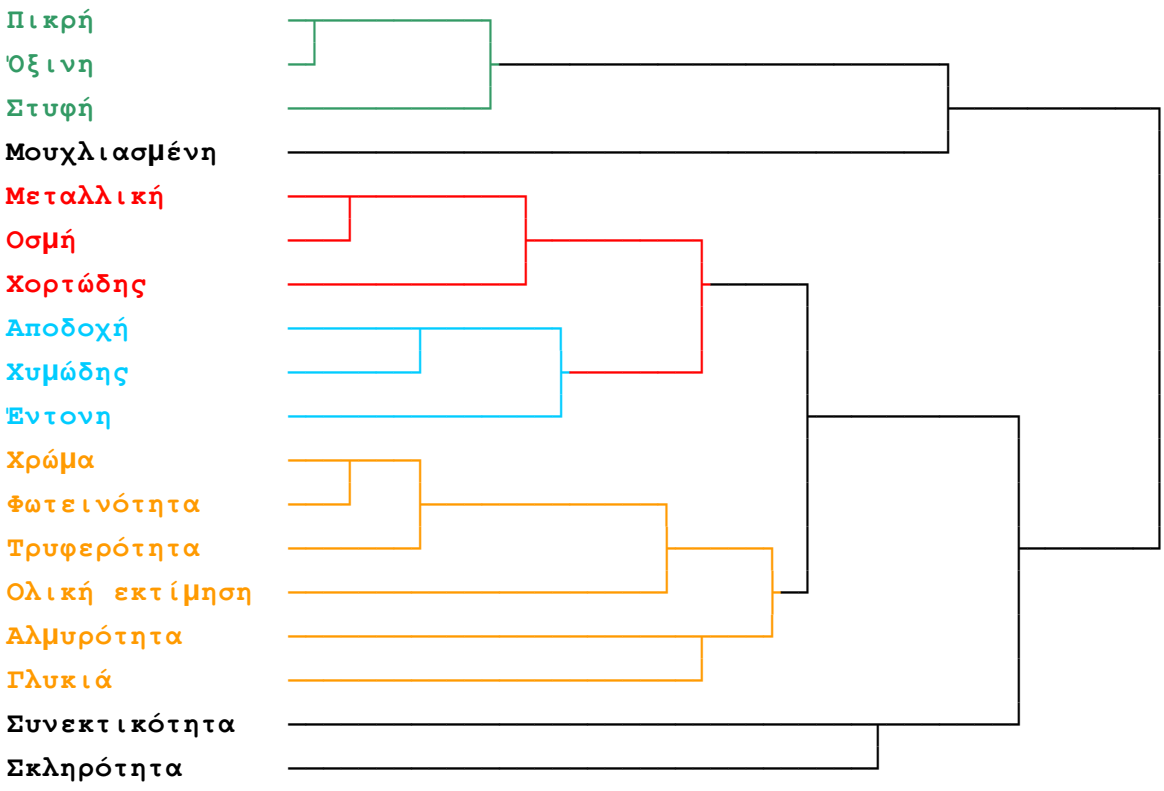
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 25 Διάγραμμα της PC2 με την PC3, για το σύνολο των ποικιλιών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας

4.5 Ανάλυση Ομαδοποίησης (Cluster Analysis)

Η ιεραρχική ανάλυση σε ομοειδή σύνολα, είχε ως αποτέλεσμα την κατασκευή ενός δενδρογράμματος για την ομαδοποίηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των ποικιλιών του οργανικού περιβάλλοντος, ενός δενδρογράμματος για την ομαδοποίηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των ποικιλιών του συμβατικού περιβάλλοντος και ενός δενδρογράμματος των ποικιλιών για τα δυο περιβάλλοντα καλλιέργειας μαζί. Επίσης έγιναν δενδρογράμματα για τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και για την ομαδοποίηση των ποικιλιών ως προς το σύνολο των χαρακτηριστικών. Η εκτίμηση του δείκτη ομοιομορφίας έγινε σε ευκλείδειες αποστάσεις και η ομαδοποίηση των χαρακτηριστικών έγινε με τον αλγόριθμο UPGMA.

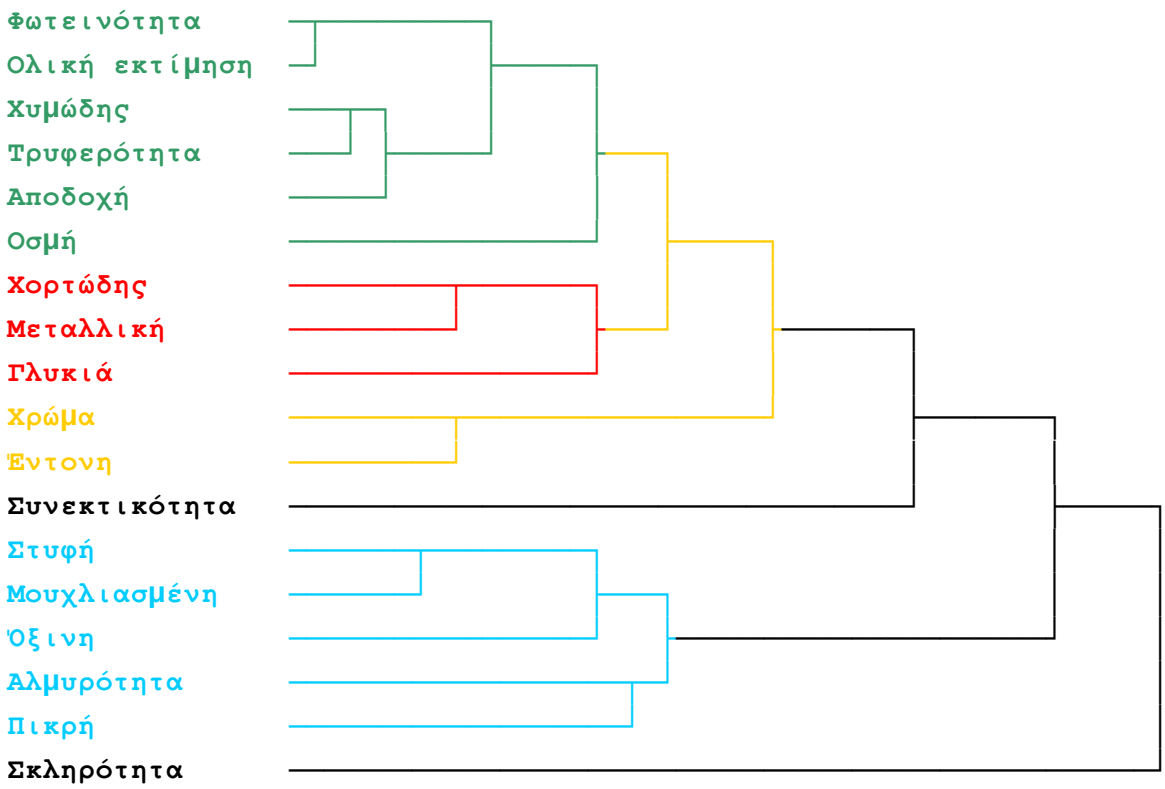


Εικόνα 26 Δενδρόγραμμα των εξεταζόμενων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών για το οργανικό περιβάλλον καλλιέργειας, σε ομοειδή σύνολα

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οργανικού περιβάλλοντος, κατατάσσονται σε δυο μεγάλα σύνολα στα οποία ομαδοποιούνται όλα τα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

χαρακτηριστικά, εκτός από την συνεκτικότητα και την σκληρότητα (εικόνα 26). Το 1° σύνολο περιλαμβάνει την πικρή, όξινη, στυφή και μουχλιασμένη γεύση. Το 2° σύνολο χωρίζεται σε δυο υποσύνολα. Το 1° υποσύνολο περιλαμβάνει δυο επιμέρους υποσύνολα. Στο 1° περιλαμβάνεται η μεταλλική, η χορτώδης γεύση και η οσμή ενώ το 2° αποτελείται από τη χυμώδη και έντονη γεύση και το χρώμα. Το 2° υποσύνολο του δεύτερου συνόλου περιλαμβάνει το χρώμα, την φωτεινότητα και την τρυφερότητα τα οποία ομαδοποιούνται με την ολική εκτίμηση και την αλμυρότητα με την σκληρότητα.

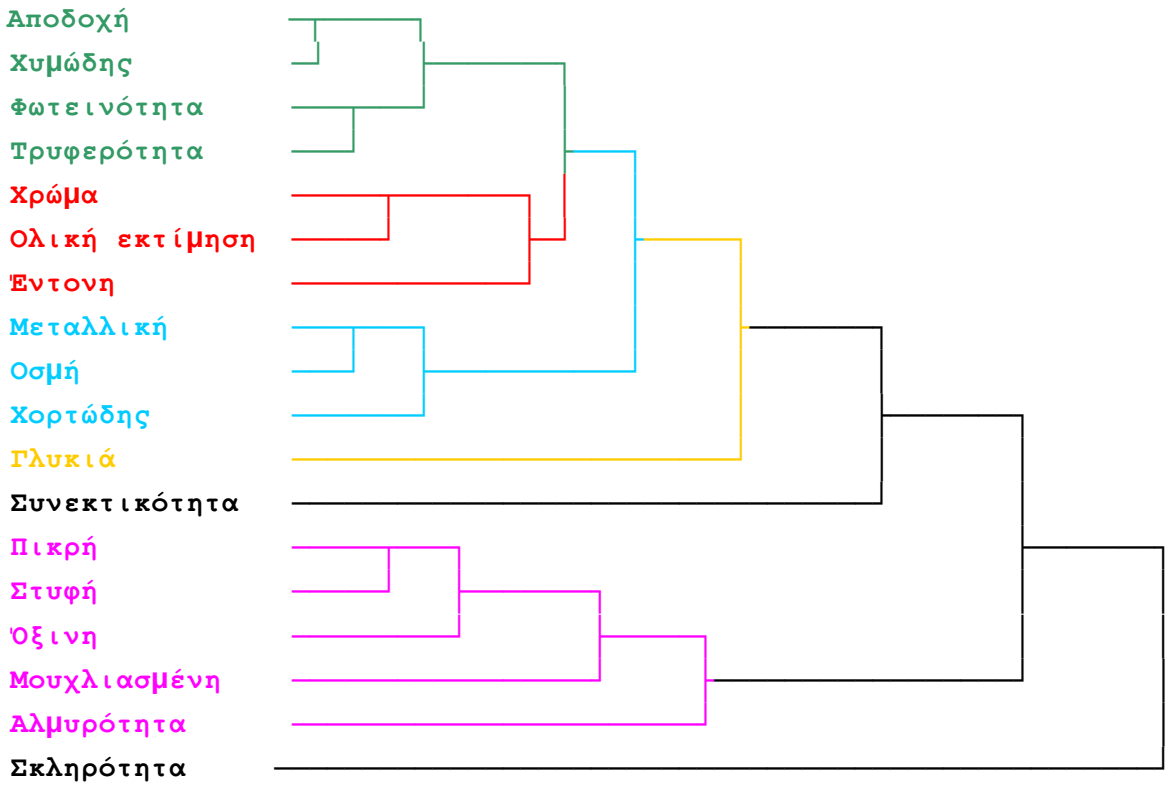


Εικόνα 27 Δενδρόγραμμα των εξεταζόμενων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών για το συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, σε ομοειδή σύνολα

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του συμβατικού περιβάλλοντος, αποτελούν ένα σύνολο με πολλά υποσύνολα (εικόνα 27). Στο 1° υποσύνολο δημιουργούνται δυο επιμέρους υποσύνολα. Στο ένα ομαδοποιείται η φωτεινότητα και η ολική εκτίμηση ενώ στο δεύτερο η αποδοχή, η τρυφερότητα και η χυμώδης γεύση. Με όλα τα χαρακτηριστικά του συνόλου αυτού ομαδοποιείται η οσμή. Το 2° υποσύνολο περιλαμβάνει την χορτώδη, μεταλλική και γλυκιά γεύση και σε άλλο υποσύνολο περιλαμβάνεται το χρώμα με την έντονη γεύση. Τα παραπάνω

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

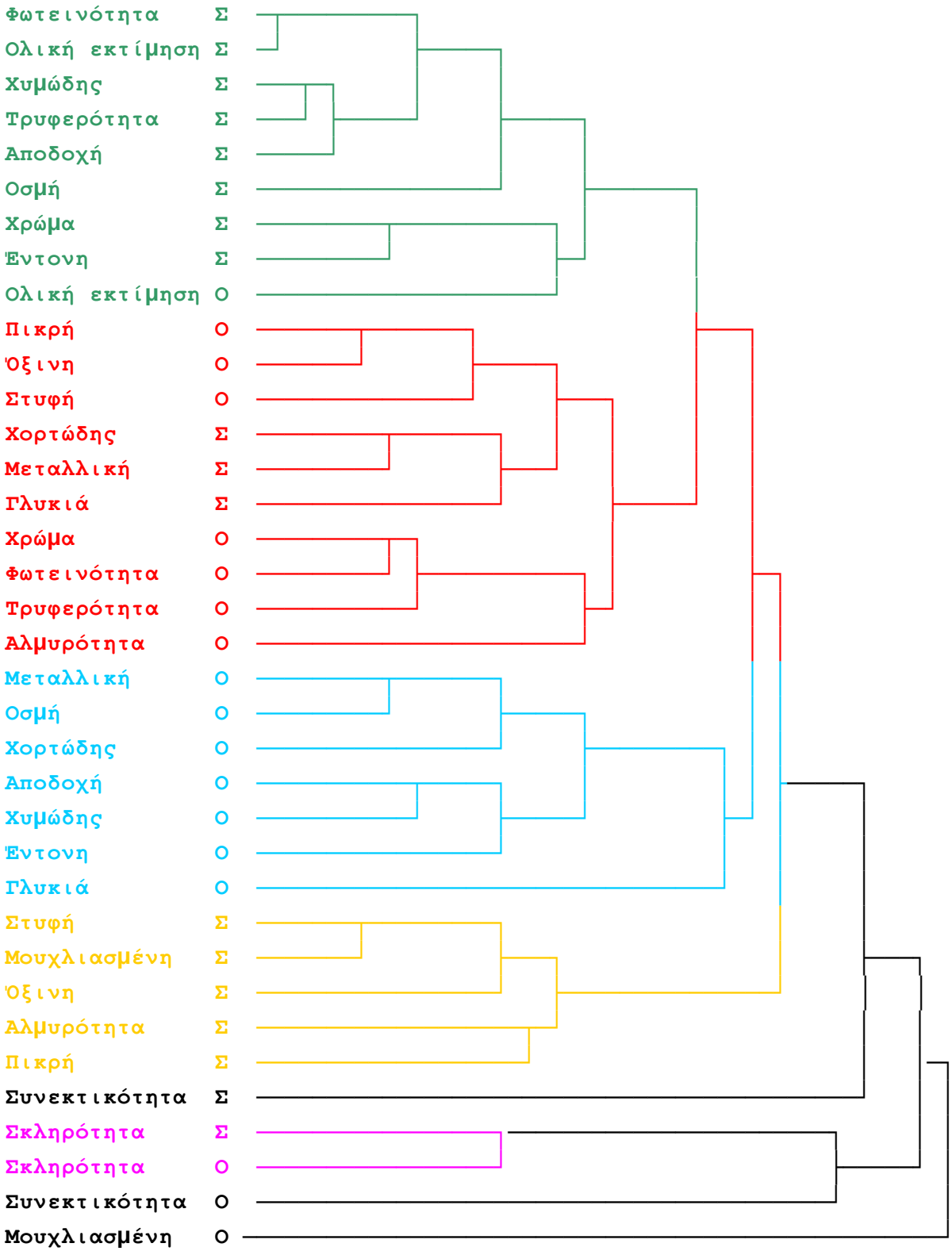
χαρακτηριστικά, ομαδοποιούνται με την συνεκτικότητα. Το τρίτο υποσύνολο αποτελείται από τα χαρακτηριστικά της γεύσης στυφή, μουχλιασμένη, όξινη, αλμυρή και πικρή. Η σκληρότητα ομαδοποιείται με όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.



Εικόνα 28 Δενδρόγραμμα των εξεταζόμενων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών για τα δυο περιβάλλοντα καλλιέργειας μαζί, σε ομοειδή σύνολα

Η ανάλυση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών για τα δυο περιβάλλοντα κατέταξε τα χαρακτηριστικά σε δυο σύνολα (εικόνα 28). Στο 1^{ο} σύνολο περιλαμβάνεται η αποδοχή και η χυμώδης γεύση μαζί με τη φωτεινότητα με την τρυφερότητα. Σε άλλο υποσύνολο περιλαμβάνεται το χρώμα, η ολική εκτίμηση και η έντονη γεύση. Στο 3^{ο} υποσύνολο ομαδοποιούνται η οσμή, η μεταλλική και η χορτώδης γεύση. Με το 1^{ο} σύνολο ομαδοποιείται η γλυκιά γεύση και η συνεκτικότητα. Η πικρή, στυφή και όξινη γεύση περιλαμβάνονται στο 2^{ο} σύνολο μαζί με την μουχλιασμένη και την αλμυρή. Όλα τα χαρακτηριστικά του δενδρογράμματος αυτού ομαδοποιούνται με την σκληρότητα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

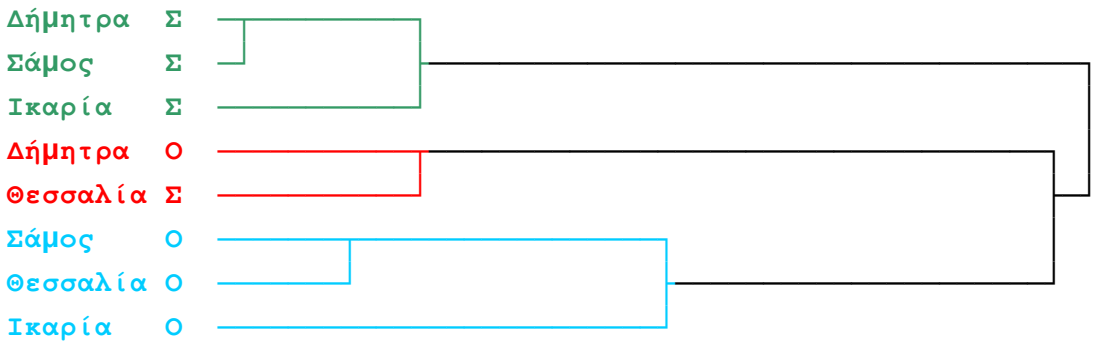


Εικόνα 29 Δενδρόγραμμα των εξεταζόμενων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών για το συμβατικό και οργανικό περιβάλλον καλλιέργειας, σε ομοειδή σύνολα

Το δενδρόγραμμα των εξεταζόμενων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών για την διάκριση του οργανικού και συμβατικού περιβάλλοντος καλλιέργειας,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

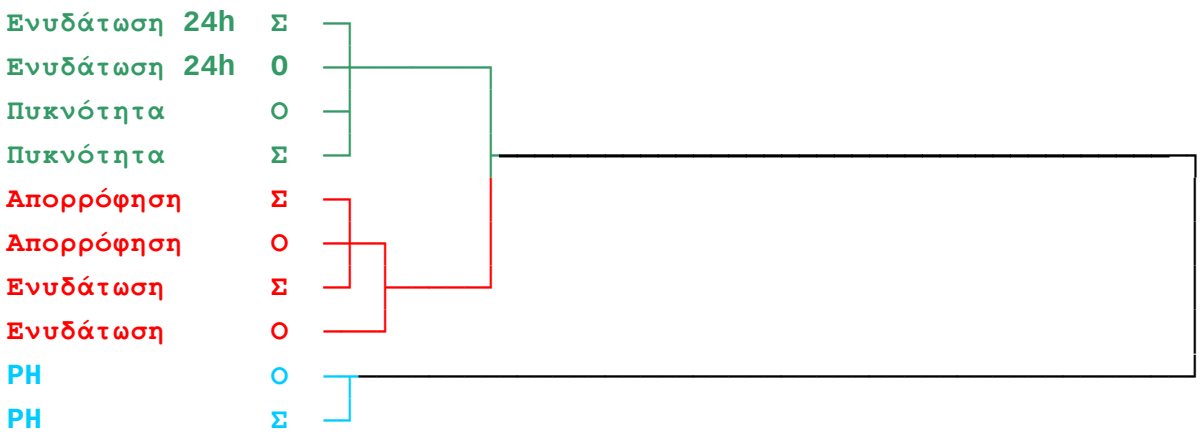
ομαδοποίησε τα χαρακτηριστικά δυο σύνολα (εικόνα 29). Στο 1^{ο} υποσύνολο περιλαμβάνονται τα χαρακτηριστικά του συμβατικού περιβάλλοντος φωτεινότητα, ολική εκτίμηση, τρυφερότητα, αποδοχή, οσμή, χρώμα και έντονη γεύση μαζί με τη ολική εκτίμηση του οργανικού περιβάλλοντος. Στο 2^{ο} υποσύνολο ομαδοποιούνται μαζί η πικρή, όξινη, στυφή γεύση, το χρώμα, η φωτεινότητα, τρυφερότητα και αλμυρή γεύση του οργανικού περιβάλλοντος με τη χορτώδης, μεταλλική και γλυκιά γεύση του συμβατικού. Το 3^{ο} υποσύνολο περιλαμβάνει χαρακτηριστικά μόνο του οργανικού περιβάλλοντος (μεταλλική, χορτώδης, χυμώδης, έντονη, γλυκιά, οσμή και αποδοχή) και το 4^{ο} υποσύνολο μόνο την στυφή, μουχλιασμένη, όξινη, πικρή και αλμυρή του συμβατικού περιβάλλοντος. Η σκληρότητα τόσο του συμβατικού όσο και του οργανικού περιβάλλοντος δημιουργούν ένα δικό τους υποσύνολο και είναι κοντά με την συνεκτικότητα του οργανικού και του συμβατικού. Το χαρακτηριστικό μουχλιασμένη γεύση του οργανικού δεν ομαδοποιείται με κανένα από τα παραπάνω χαρακτηριστικά.



Εικόνα 230 Δενδρόγραμμα των εξεταζόμενων ποικιλιών του οργανικού και συμβατικού περιβάλλοντος, ως προς το σύνολο των χαρακτηριστικών τους

Στην εικόνα 30 παρουσιάζεται το δενδρόγραμμα των τεσσάρων ποικιλιών στο οργανικό και στο συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, ως προς το σύνολο των οργανοληπτικών και φυσικοχημικών χαρακτηριστικών τους. Σύμφωνα με το παραπάνω δενδρόγραμμα οι ποικιλίες ομαδοποιούνται σε δυο σύνολα. Στο 1^{ο} σύνολο είναι η ποικιλίες Δήμητρα, Σάμος και Ικαρία του συμβατικού. Το 2^{ο} σύνολο χωρίζεται σε δυο υποσύνολα. Το 1^{ο} υποσύνολο δημιουργείται από την Σάμος, Θεσσαλία και Ικαρία του οργανικού ενώ το 2^{ο} από την Δήμητρα του οργανικού και την Θεσσαλία του συμβατικού.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247



Εικόνα 31 Δενδρόγραμμα των εξεταζόμενων φυσικοχημικών χαρακτηριστικών για το συμβατικό και οργανικό περιβάλλον καλλιέργειας, σε ομοειδή σύνολα

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά για το οργανικό και συμβατικό περιβάλλον κατατάσσονται σε δυο σύνολα (εικόνα 31). Στο 1^{ο} σύνολο είναι το pH για τα δυο περιβάλλοντα. Το 2^{ο} σύνολο περιλαμβάνει δυο υποσύνολα. Στο ένα ομαδοποιείται η ενυδάτωση και η απορρόφηση για τα δυο περιβάλλοντα και στο δεύτερο η πυκνότητα και η 24ωρη ενυδάτωση για τα δυο περιβάλλοντα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

4.4 Διαφοροποιούσα Ανάλυση (Discriminant Analysis)

Η Διαφοροποιούσα Ανάλυση μας επιτρέπει να εξετάσουμε πόσο καλά είναι δυνατόν να γίνει ο διαχωρισμός δυο ή περισσότερων ομάδων ατόμων, βασιζόμενη σε μεταβλητές που έχουν μετρηθεί στο κάθε άτομο. Στη Διαφοροποιούσα Ανάλυση προσδιορίζουμε γραμμικούς συνδυασμούς που διαχωρίζουν τις ομάδες των ατόμων. Αυτός ο γραμμικός διαχωρισμός των αρχικών μεταβλητών προσδιορίζεται έτσι ώστε να έχουμε τη μεγαλύτερη διακύμανση μεταξύ των ομάδων σε σχέση με την εντός των ομάδων διακύμανση. Δηλαδή μεγιστοποιείται ο λόγος

$$F = \frac{\text{Διακύμανση μεταξύ των ομάδων (B)}}{\text{Διακύμανση εντός των ομάδων (W)}}$$

Με τον τρόπο αυτό μελετήθηκε η διαφοροποίηση των ποικιλιών με βάση την οργανοληπτική εξέταση. Συγκεκριμένα μελετήθηκε το χαρακτηριστικό της ολικής εκτίμησης κάθε ποικιλίας και διαπιστώθηκε ποια είναι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που την επηρεάζουν, καθώς και το ποσοστό της παραλλακτικότητας που εξηγούν.

Στον πίνακα 23 φαίνονται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά από τα οποία εξαρτάται η ολική εκτίμηση για την κάθε ποικιλία τόσο στο οργανικό όσο και στο συμβατικό περιβάλλον, καθώς και το ποσοστό της παραλλακτικότητας που ερμηνεύεται.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Πίνακας 23 Πίνακας Διαφοροποιούσα Ανάλυση για τις τέσσερεις ποικιλίες φακής στο οργανικό και συμβατικό περιβάλλον με βάση την ολική εκτίμηση

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ	ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ	ΕΞΙΣΩΣΕΙΣ	ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΟΡΓΑΝΙΚΟ	ΔΗΜΗΤΡΑ	**ΟΛΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ** = + 2,221 χρώμα - 0,747 φωτεινότητα - 3,926 αλμυρότητα + 8,746 πικρή + 1,788 στυφή - 5,938 γλυκιά + 3,099 χορτώδης	**96,3 %**
	ΣΑΜΟΣ	**ΟΛΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ** = + 2,915 χρώμα + 3,448 φωτεινότητα + 3,805 αλμυρότητα - 8,330 στυφή - 0,892 γλυκιά + 8,626 χορτώδης – 0,133 μουχλιασμένη	**84,2 %**
	ΘΕΣΣΑΛΙΑ	**ΟΛΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ** = - 0,824 χρώμα + 1,324 φωτεινότητα + 0,454 αλμυρότητα - 1,301 στυφή + 2,581 γλυκιά	**76,9 %**
	ΙΚΑΡΙΑ	**ΟΛΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ** = + 0,560 χρώμα - 2,527 φωτεινότητα + 1,466 αλμυρότητα – 1,066 πικρή + 3,750 στυφή- 0,097 γλυκιά + 0,067 χορτώδης	**69,1 %**
ΣΥΜΒΑΤΙΚΟ	ΔΗΜΗΤΡΑ	**ΟΛΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ** = + 2,611 χρώμα +10,766 φωτεινότητα – 2,433 αλμυρότητα – 2,013 στυφή + 11,348 γλυκιά + 0,705 χορτώδης – 7,667 μεταλλική	**98,2 %**
	ΣΑΜΟΣ	**ΟΛΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ** = + 6,800 χρώμα + 0,275 φωτεινότητα – 0,927 αλμυρότητα – 7,956 στυφή – 0,429 γλυκιά + 5,571 χορτώδης – 2,347 μουχλιασμένη	**95,6 %**
	ΘΕΣΣΑΛΙΑ	**ΟΛΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ** = - 12,191 χρώμα + 25,185 φωτεινότητα + 2,303 αλμυρότητα + 24,364 πικρή – 12,678 στυφή + 4,790 γλυκιά + 0,520 χορτώδης + 6,699 μεταλλική	**100 %**
	ΙΚΑΡΙΑ	**ΟΛΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ** = + 6,009 χρώμα + 2,404 φωτεινότητα + 4,606 αλμυρότητα – 9,499 πικρή – 3,441 στυφή + 6,028 γλυκιά – 0,717 μεταλλική	**97,9 %**

Το μοντέλο ερμηνεύει για την ποικιλία Δήμητρα στο οργανικό περιβάλλον το 96,3 % της παραλλακτικότητας και διαπιστώνεται ότι η ολική εκτίμηση παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το χρώμα, την πικρή, τη στυφή και την χορτώδη γεύση και αρνητικά με τη φωτεινότητα, την αλμυρότητα και την γλυκιά γεύση.

Για την ποικιλία Σάμος στο οργανικό περιβάλλον ερμηνεύεται το 84,2 % της παραλλακτικότητας και υπάρχει θετική συσχέτιση της ολικής εκτίμησης με τα χαρακτηριστικά χρώμα, φωτεινότητα και αλμυρότητα και αρνητική με τη στυφή, γλυκιά, χορτώδη και μουχλιασμένη γεύση.

Το μοντέλο για την ποικιλία Θεσσαλία στο οργανικό περιβάλλον ερμηνεύει το 76,9 % της παραλλακτικότητας και παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τη φωτεινότητα, την αλμυρότητα και τη γλυκιά γεύση και αρνητική συσχέτιση με το χρώμα και τη στυφή γεύση.

Για την ποικιλία Ικαρία στο οργανικό περιβάλλον ερμηνεύεται το 69,1 % της παραλλακτικότητας και η ολική εκτίμηση συσχετίζεται θετικά με το χρώμα, την αλμυρότητα, τη στυφή και τη χορτωδης γεύση και αρνητικά με τη φωτεινότητα, την πικρή και την γλυκιά γεύση.

Στην ποικιλία Δήμητρα στο συμβατικό περιβάλλον ερμηνεύεται το 98,2 % της παραλλακτικότητας και εμφανίζεται θετική συσχέτιση της ολικής εκτίμησης με το χρώμα, τη φωτεινότητα και τη χορτωδης γεύση και αρνητική με την αλμυρότητα, τη στυφή και τη μεταλλική γεύση.

Για την ποικιλία Σάμος στο συμβατικό περιβάλλον ερμηνεύεται το 95,6 % της παραλλακτικότητας και παρουσιάζεται θετική συσχέτιση με το χρώμα, τη φωτεινότητα και την χορτώδη γεύση ενώ αρνητική με την αλμυρότητα, τη στυφή, τη γλυκιά και τη μουχλιασμένη γεύση.

Το μοντέλο για την ποικιλία Θεσσαλία στο συμβατικό περιβάλλον ερμηνεύει το 100 % της παραλλακτικότητας και παρουσιάζει θετική συσχέτιση με τη φωτεινότητα, την αλμυρότητα, την πικρή, τη γλυκιά, τη χορτωδης και τη μεταλλική γεύση και αρνητική συσχέτιση με το χρώμα και τη στυφή γεύση.

Στην ποικιλία Ικαρία στο συμβατικό περιβάλλον ερμηνεύεται το 97,9 % της παραλλακτικότητας και η ολική εκτίμηση παρουσιάζει θετική συσχέτιση με το χρώμα, τη φωτεινότητα, την αλμυρότητα και την γλυκιά γεύση και αρνητική με την πικρή, τη στυφή και τη μεταλλική γεύση.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Η ποικιλία Δήμητρα στο οργανικό περιβάλλον σχετίζεται στη γεύση με το χαρακτηριστικό πικρή το οποίο δεν εμφανίζεται στο συμβατικό περιβάλλον. Η ποικιλία Σάμος τόσο στο οργανικό και όσο και στο συμβατικό περιβάλλον συσχετίζεται με τα ίδια χαρακτηριστικά. Η ποικιλία Θεσσαλία στο συμβατικό περιβάλλον συσχετίζεται με την πικρή, χορτωδη και μεταλλική γεύση, χαρακτηριστικά τα οποία δεν σχετίζονται με τη ποικιλία αυτή στο οργανικό περιβάλλον. Η μεταλλική γεύση στην ποικιλία Ικαρία σχετίζεται με τη ολική εκτίμηση μόνο στο συμβατικό περιβάλλον.

Συμπερασματικά διαπιστώνεται ότι τα χαρακτηριστικά τα οποία ερμηνεύουν ποσοστά παραλλακτικότητας της ολικής εκτίμησης (>70 %) σε όλες τις ποικιλίες τόσο στο οργανικό όσο και στο συμβατικό περιβάλλον είναι από την εξωτερική εμφάνιση το χρώμα, η φωτεινότητα και από τα χαρακτηριστικά γεύσης η αλμυρότητα, η στυφή και η γλυκιά, χωρίς όμως να γίνεται σαφής διαχωρισμός των χαρακτηριστικών μεταξύ των δυο διαφορετικών περιβαλλόντων, αφού τα χαρακτηριστικά συναντώνται και στα δυο περιβάλλοντα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τη σύγκριση των δυο πρωτοκόλλων ιστοκαλλιέργειας φαίνεται ότι το πρωτόκολλο του Cohen είχε καλύτερα ποσοστά βλαστογένεσης για όλες τις ποικιλίες. Ιδιαίτερα για τις ποικιλίες Σάμος και Δήμητρα φάνηκε ότι είχαν καλύτερη αντίδραση στο πρωτόκολλο αυτό σε σχέση με την Θεσσαλία και την Ικαρία, οι οποίες είχαν παρόμοια ποσοστά βλαστογένεσης και στα δυο πρωτόκολλα. Παρατηρείται ότι η μεν Δήμητρα είχε υψηλότερο ποσοστό αναγέννησης στο πρωτόκολλο Cohen η δε Θεσσαλία στο πρωτόκολλο Polanco & Ruiz. Την μικρότερη αναγέννηση βλαστών είχε η ποικιλία Ικαρία. Το ποσοστό ριζοβολίας όλων των ποικιλιών και στα δυο πρωτόκολλα ήταν μικρότερο σε σχέση με την αναγέννηση βλαστών. Και εδώ την καλύτερη αναγέννηση ριζών είχε η ποικιλία Σάμος. Ακλούθησε η Δήμητρα, με πολύ μικρή διαφορά ακολουθεί η Θεσσαλία και τελευταία έρχεται η Ικαρία. Η ποικιλία Σάμος φαίνεται ότι έχει το καλύτερο ποσοστό ριζογένεσης και μάλιστα στο πρωτόκολλο του Cohen. Οι υπόλοιπες τρεις ποικιλίες έχουν σχεδόν το ίδιο ποσοστό ριζοβολίας και στα δυο πρωτόκολλα, με λίγο καλύτερο ποσοστό στο πρωτόκολλο του Cohen.

Μια γενική παρατήρηση που έγινε για την ποικιλία Σάμος σε σχέση με τα δυο πρωτόκολλα, ήταν ότι στο μεν πρωτόκολλο του Cohen όλα τα φυτά παρήγαγαν πολύ μεγάλους βλαστούς χωρίς πολλαπλή αναγέννηση, ενώ πρωτόκολλο των Polanco & Ruiz παρατηρήθηκαν σχετικά μεγάλοι βλαστοί αλλά με πολλαπλή αναγέννηση. Στην ποικιλία Δήμητρα αν και το ποσοστό της βλαστογένεσης όσο ήταν υψηλό, οι παραγόμενοι βλαστοί ήταν αρκετά μικροί. Οι υπόλοιπες ποικιλίες παρήγαγαν και στα δυο πρωτόκολλα μικρούς βλαστούς.

Η ταχύτητα δημιουργίας και ανάπτυξης βλαστών και ριζών στο πρωτόκολλο του Cohen ήταν πιο άμεση σε σχέση με το πρωτόκολλο των Polanco & Ruiz. Ειδικότερα οι περισσότεροι βλαστοί για το πρωτόκολλο Cohen σχηματιστήκαν 15 ημέρες από την έναρξη της ιστοκαλλιέργειας, ενώ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

για το πρωτόκολλο Ruiz, οι περισσότεροι βλαστοί παρατηρήθηκαν μετά από 25 ημέρες. Αντίστοιχα για την δημιουργία ριζών, οι περισσότερες ρίζες του πρωτοκόλλου Cohen σχηματίσθηκαν ένα μήνα μετά από την έναρξη της ιστοκαλλιέργειας και 7 ημέρες μετά από την μεταφορά σε υπόστρωμα με κατάλληλο για ριζογένεσης, ενώ για το πρωτόκολλο των Polanco & Ruiz, 40 ημέρες μετά από την έναρξη ιστοκαλλιέργειας και 15 ημέρες από την μεταφορά σε υπόστρωμα για ριζογένεση.

Σύμφωνα με την ανάλυση παραλλακτικότητας της οργανοληπτικής εξέτασης, παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές για κάποια χαρακτηριστικά, τόσο μεταξύ των ποικιλιών, όσο μεταξύ των περιβαλλόντων καλλιέργειας. Οι συντελεστές παραλλακτικότητας των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών βρέθηκαν αρκετά υψηλοί, γεγονός το οποίο οφείλεται στην παραλλακτικότητα των απαντήσεων από το πάνελ των δοκιμαστών. Μεγαλύτερη σταθερότητα για τις ποικιλίες παρουσιάζει το χαρακτηριστικό της ολικής εκτίμησης, το οποίο εμφανίζει το μικρότερο συντελεστή παραλλακτικότητας σε σχέση με τα υπόλοιπα υπό εξέταση χαρακτηριστικά και ακολουθούν τα χαρακτηριστικά χρώμα και σκληρότητα με μικρό και αυτά συντελεστή παραλλακτικότητας.

Η οργανοληπτική εξέταση ενώ διαφοροποίησε τις ποικιλίες για μερικά μόνο χαρακτηριστικά, ενώ διαφοροποίησε τα περιβάλλοντα για πολύ περισσότερα χαρακτηριστικά. Οι παράμετροι της οργανοληπτικής εξέτασης παρουσίασαν ενδιαφέρουσες τιμές, πρέπει όμως να ερμηνεύονται με προσοχή δεδομένου ότι το σφάλμα, όπως προκύπτει από τις τιμές του CV, ήταν γενικά υψηλό. Με δεδομένη την κλίμακα από το 1 (καθόλου έντονο) ως το 5 (πολύ έντονο) της οργανοληπτικής εξέτασης, οι ποικιλίες και τα περιβάλλοντα αξιολογήθηκαν θετικά ως προς την ολική εκτίμηση, με μεγαλύτερη να είναι η εκτίμηση για την ποικιλία Θεσσαλία, ακολουθεί η Σάμος και η Δήμητρα και τελευταία η Ικαρία.

Η ποικιλία με την πιο στυφή γεύση είναι η Ικαρία και ακολουθούν η Θεσσαλία, η Σάμος και η Δήμητρα. Όσον αφορά την ανάλυση των δυο περιβαλλόντων καλλιέργειας (οργανικό, συμβατικό), το χαρακτηριστικό πικρή γεύση καταγράφηκε έντονο στο συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας. Αντίθετα οι παράμετροι μεταλλική και χυμώδης γεύση χαρακτήρισαν το οργανικό περιβάλλον καλλιέργειας. Όσο αφορά το χρώμα, η ποικιλία με το

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

πιο σκούρο χρώμα ήταν η Δήμητρα και ακολούθησαν η Θεσσαλία, η Σάμος και τελευταία η Ικαρία. Η πιο σκληρή ποικιλία ήταν η Σάμος, επακολούθησε η Ικαρία, μετά η Δήμητρα ενώ πολύ μικρότερη ήταν στην Θεσσαλία. Στο συμβατικό περιβάλλον παρατηρήθηκε πιο σκούρο χρώμα σπόρων και λιγότερο έντονη οσμή. Για τα χαρακτηριστικά της αφής στο οργανικό περιβάλλον παρατηρήθηκε μεγαλύτερη τρυφερότητα και μικρότερη σκληρότητα των σπόρων. Η ολική εκτίμηση των ποικιλιών ήταν αυξημένη στο οργανικό περιβάλλον καλλιέργειας.

Η μελέτη των φυσικοχημικών παραμέτρων σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον (F test) δεν εμφάνισε στατιστικώς σημαντικές διαφορές για κανένα χαρακτηριστικό (ns). Οι συντελεστές παραλλακτικότητας που εμφανίζονται μεταξύ των ποικιλιών φακής, παρουσίασαν πολύ μικρές τιμές για το pH, την πυκνότητα των σπόρων και την πυκνότητα των σπόρων μετά από 24ωρη ενυδάτωση (2,652, 0,850 και 1,264 % αντίστοιχα), μέτρια τιμή (12,816 %) για το συντελεστής ενυδάτωσης και αρκετά υψηλή (33,475 %) για το συντελεστή απορρόφησης. Για κάθε φυσικοχημικό χαρακτηριστικό ανεξάρτητα με το επίπεδο σημαντικότητας, η μεγαλύτερη τιμή παρατηρήθηκε στην ποικιλία Ικαρία, ακολούθησε η Θεσσαλία, μετά η Σάμος ενώ η μικρότερη τιμή καταγράφηκε στην ποικιλία Δήμητρα.

Τα περισσότερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά εμφάνισαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, κατά τη σύγκριση του οργανικού με το συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, σε σχέση με τις φυσικοχημικές παραμέτρους οι οποίες δεν είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα δύο περιβάλλοντα. Αντιθέτως οι ποικιλίες είχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ενώ δεν παρουσίασαν διαφορές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

Η εφαρμογή πολυπαραγοντικων στατιστικών αναλύσεων διαχώρισε τις ποικιλίες, τα περιβάλλοντα και τα χαρακτηριστικά και υπέδειξε ποια από αυτά αντιπροσωπεύουν καλύτερα τις ποικιλίες. Για την ανάλυση των ποικιλιών χρειάστηκαν 7 κύριες συνιστώσες, ώστε η ερμηνεία της ολικής μεταβολής να ανέλθει στο 94,45 % της συνολικής παραλλακτικότητας και να γίνει πλήρης διαχωρισμός των ποικιλιών σε οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας. Η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες για τα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, αποδεικνύει ότι με δέκα κύριες συνιστώσες εξηγείται μόνο το 73,83 % της συνολικής παραλλακτικότητας (πίνακας 20), καθώς παραλλακτικότητα είναι αρκετά μεγάλη, όπως παρατηρήθηκε και από την ANOVA. Το γεγονός αυτό ερμηνεύεται λόγω της οργανοληπτικής εξέτασης που υπεισέρχεται μέσα στην ανάλυση, η οποία αυξάνει κατά πολύ τη συνολική παραλλακτικότητα. Τέλος, για την ανάλυση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών χρειάστηκαν 5 κύριες συνιστώσες, ώστε η ερμηνεία της ολικής μεταβολής να ανέλθει στο 91,96 % της συνολικής παραλλακτικότητας.

Με παρόμοιο τρόπο η ιεραρχική ανάλυση σε ομοειδή σύνολα διαχώρισε πολλά από τα χαρακτηριστικά των δυο περιβαλλόντων στα δυο περιβάλλοντα καλλιέργειας. Οι ποικιλίες ομαδοποιήθηκαν στο οργανικό και στο συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας, ως προς το σύνολο των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους, σε δυο σύνολα. Στο $1^{ο}$ σύνολο είναι η ποικιλίες Δήμητρα, Σάμος και Ικαρία του συμβατικού. Το $2^{ο}$ σύνολο χωρίζεται σε δυο υποσύνολα. Το $1^{ο}$ υποσύνολο δημιουργείται από την Σάμος, Θεσσαλία και Ικαρία του οργανικού ενώ το $2^{ο}$ από την Δήμητρα του οργανικού και την Θεσσαλία του συμβατικού.

Για τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τα δυο περιβάλλοντα ομαδοποιούνται μαζί και τα χαρακτηριστικά κατατάσσονται σε δυο σύνολα. Στο $1^{ο}$ σύνολο είναι το pH. Το $2^{ο}$ σύνολο περιλαμβάνει δυο υποσύνολα. Στο ένα ομαδοποιείται η ενυδάτωση και η απορρόφηση και στο δεύτερο η πυκνότητα και η 24ωρη ενυδάτωση.

Για την καλύτερη κατανόηση της συνεισφοράς κάθε μεταβλητής της οργανοληπτικής εξέτασης, πραγματοποιήθηκε διαφοροποιούσα ανάλυση στην ολική εκτίμηση των ποικιλιών για το οργανικό και συμβατικό περιβάλλον καλλιέργειας. Από την ανάλυση πρόεκυψαν σχέσεις μεταξύ της ολικής εκτίμησης με περισσότερες από μια ανεξάρτητες μεταβλητές των υπόλοιπων εξεταζόμενων ποικιλιών από την οργανοληπτική εξέταση. Το μοντέλο εξηγεί ποσοστό παραλλακτικότητας μεγαλύτερο από 70 %. Διαπιστώνεται ότι η ολική εκτίμηση αποτελεί συνάρτηση, θετική η αρνητική, του χρώματος, της φωτεινότητας, της αλμυρότητας, της πικρής, στυφής, γλυκιάς και χορτώδους, μεταλλικής και μουχλιασμένης γεύσης στα δυο περιβάλλοντα. Το χαρακτηριστικό μεταλλική εμφανίζεται μόνο σε ποικιλίες

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

του συμβατικού περιβάλλοντος. Η πικρή γεύση εμφανίζεται μόνο στην ποικιλία Ικαρία και τα δυο περιβάλλοντα και δεν εμφανίζεται σε κανένα περιβάλλον στην ποικιλία Σάμος. Η ποικιλία Σάμος είναι η μόνη ποικιλία στην οποία υπάρχει το χαρακτηριστικό μουχλιασμένη στα δυο περιβάλλοντα.

Συμπερασματικά φαίνεται ότι η εξέταση για την *in vitro* αναγέννηση των ποικιλιών κατατάσσει την Σάμο ως την καλύτερη ποικιλία. η Δήμητρα και η Θεσσαλία έχουν μέτρια αναγέννηση ενώ η Ικαρία έχει την χειρότερη ικανότητα αναγέννησης. Από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά φαίνεται ότι η Θεσσαλία είχε την μεγαλύτερη αποδοχή. Ακλούθησε η Σάμος, η Δήμητρα και τελευταία η Ικαρία. Η ποικιλία Ικαρία απορρίπτεται τόσο από το καταναλωτικό κοινό όσο και από την ικανότητα για *in vitro* αναγέννηση σε σχέση με τις υπόλοιπες τρεις ποικιλίες, ενώ η ποικιλία Σάμος φαίνεται ως η καλύτερη λόγω της πάρα πολύ καλής ικανότητας αναγέννησης και της καλής αποδοχής κατά την οργανοληπτική εξέταση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abbo S. and Ladizinsky G. (1991). Anatomical aspects of hybrid embryo abortion in the genus Lens. *L. Bot Gaz 152 (3): 316–320.*

Ahmad M, Fautrier AG, McNeil DL, Burritt DJ and Hill GD. (1995) Attempts to overcome post fertilization barrier in interspecific crosses of the genus *Lens*. *Plant Breeding 114:558–560.*

Ahmad M. and McNeil D.L. (1996). Comparison of crossability, RAPD, SDS PAGE and morphological markers for revealing genetic relationships within and among *Lens* species. *Theoretical and Applied Genetics 93: 788–793.*

Ahmad, M., A.G. Fautrier, D.L. McNeil, G.D. Hill & D.L. Burritt, 1997. *In vitro* propagation of *Lens* species and their F1 interspecific hybrids. *Plant Cell Tiss Org Cult 47 (2): 169–176.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Ahuja PS, Hadiuzzaman S, Davey MR and EC Cocking EC (1983) Prolific plant regeneration from protoplast derived tissues of *Lotus corniculatus* L. (birdsfoot trefoil). *Plant Cell Reports 2:101–104.*

Ali A. and D.L. Johnson (2008). Heritability estimates for winter hardiness in lentil under natural and controlled conditions. *Plant Breeding,* Volume 119 Issue3, Pages 283 – 285.

Ali A., D.L. Johnson and C. Stushnoff (1999). Screening lentil (*Lens culinaris*) for cold hardiness under controlled conditions. *The Journal of Agricultural Science*, 133: 313-319, Cambridge University Press.

Antunes P.L., & Sgarbieri, V.C. (1979). Influence of time and condition of storage on technological and nutritional properties of a dry bean *(Phaseolus vulgaris,* L.) variety Rosinha G2. *Journal of Food Science,* 44,1703- 1706.

Arumugahathan K, Earle E.D (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol.* 9:208-218.

Ayet G., C Burbano, C Cuadrado, M Pedrosa L M Robredo, M Muzquiz,C de la Cuadra, A Castan o and A Osagie91997). ¶Effect of Germination, under Different Environmental Conditions, on Saponins, Phytic Acid and Tannins in Lentils (Lens culinaris). *J Sci Food Agric. Volume 74 Issue 2, Pages 273 – 279*

Bajaj YPS and Dhanju MS(1979) Rescue of plants from apical meristem tips of some legumes. *Current Science 48:906–907.*

Barulina, E.I. 1930. The lentils of the USSR and other countries. *Tr. po Prikl. Bot. Genet. Sel. [Bull. Appl. Genet. & Select.]* Suppl. 40:1-319 [in Russian].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Bayaa B, Erskine W and Hamdi A (1995) Evaluation of a wild lentil collection for resistance to vascular wilt. *Genetic Resources and Crop Evolution 42: 231–235.*

Begoña Bartolomé, Isabel Estrella and T. Hernández (1997). Changes in phenolic compounds in lentils (Lens culinaris) during germination and fermentation. *European Food Research and Technology. Volume 205, Number 4. pages 290-294.*

Bejiga G., S. Tsegaye, A. Tullu & W. Erskine (1996). Quantitave evaluation of Ethiopian landraces of lentil (Lens culinaris). *Genetic Resources and Crop Evolution* 43: 293-301.

Bhatty RS (1984) Relationship between physical and chemical characters and cooking quality in lentil. *J Agric Food Chem 32: 1161–1166.*

Bhatty, R.S. (1988). Composition and quality of lentil *(Lens culinaris medik):* a review. *Canadian Institute of Food Science and Technology,* 21, *(2).* 144-160.

Bhatty, R. S., & Slinkard, A. E. (1989). Relationship between phytic acid and cooking quality in lentil. *Canadian Institute of Food Science and Technology, 22, 137–142.*

Chowdhury MA, Andrahennadi CP, Slinkard AE, Vandenberg A (2001) RAPD and SCAR markers for resistance to ascochyta blight in lentil. *Euphytica 118:331–337.*

Cohen D, Ladizinsky G, Ziv M and Muehlbauer FJ (1984) Rescue of interspecific lens hybrids by means of embryo culture. *Plant Cell, Tissue & Organ Cult 3: 343–347.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Croser JS, Lulsdorf M, Davies PA, Clarke H, Bayliss K, Mallikarjuna N, Siddique K (2006) Towards doubled haploid production on the fafaceae: progress and constraints. *Critical Reviews in Plant Science 25:139–157*.

Cubero, J.I. 1981. Origin, taxonomy and domestication. Pages 15-38 *in* Lentils (C.Webb and G. Hawtin, eds.). CAB, Farnham, UK.

Czefranove, Z. (1971) Novosti Systematischeski Vyssich Rastenii 8: 184–191.

Davey MR, Anthony P, Power JB and Lowe KC (2005) Plant protoplasts: status and biotechnological perspectives. *Biotechnology Advances 23:131–171*.

Davies Ph., Lulsdorf M. and Ahmad M. (2007). Wild relatives and biotechnological Approaches. Chapter 14.

Davies Philip A., Monika M. Luisdorf and Maqbool Ahmad (2007). Wild Relatives And Biotechnological Approaches. Chapter 17 Lensomics: Advances in Genomics and Molecular Techniques for Lentil

Davis K R (1981). Effect of processing on composition and T retahymena relative nutritive value of green and yellow peas, lentils and white pea beans. *Cereal Chem 58 454-460.*

Dhindsa KS, DR Sood, MS Chaudhary (1985). Nutritional evaluation of some varieties of lentil (Lens esculenta). *Ind. J. Nutr. Dietet. 22. 187–189.*

Duke, J.A., 1981. Handbook of legumes of world economic importance. *Plenum Press, New York. p. 52-57.*

Ellis, R.H. and T.D. Hong. 1995. The effect of cool temperatures on the germination of lentil. Pages 95-106 in Autumn sowing of lentil in the Highlands of West Asia and North Africa (J.D.H. Keatinge and I.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Küsmenoglu, eds.). *Central Research Institute for Field Crops, Ankara, Turkey.*

Erskine W., N. P. Saxena and M. C. Saxena (1993). Iron deficiency in lentil: Yield loss and geographic distribution in a germplasm collection. *Plant and Soil Volume 151, Number 2. p 249-254.*

Erskine, W., A. Hussain, M. Tahir, A. Baksh, R.H. Ellis, R.J. Summerfield and E.H. Roberts. (1994). Field evaluation of a model of photothermal flowering responses in a world lentil collection. *Theor. Appl. Genet.* 88:423-428.

Erskine, W., F.J. Muehlbauer & R.S. Short, 1990. Stages of development in lentil. *Expl Agric 26 (3): 297–302.*

Erskine, W., K. Myveci and N. Izgin. (1981). Screening a world lentil collection for cold tolerance. LENS *Newsl* 8:5-8.

Erskine, W., P.C. Williams & H. Nakkoul, 1985. Genetic and environmental variation in the seed size, protein, yield and cooking quality of lentils. *Field Crops Res. 12: 153-161.*

Erskine, W., Y. Adham and L. Holly. 1989. Geographic distribution of variation in quantitative characters in a world lentil collection. *Euphytica* 43:97-103.

Eujay I., Baum M, Powell W, Erskine W, Pehu E (1998a) A genetic linkage map of lentil (*Lens* sp.) based on RAPD and AFLP markers using recombinant inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics 97,83–89.*

FAO (1994) “FAOSTAT database” Food and Agriculture Organisation of the United Nations. http://faostat.fao.org/

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

FAO (1996) “FAOSTAT database” Food and Agriculture Organisation of the United Nations. http://faostat.fao.org/

FAO (2005) “FAOSTAT database” Food and Agriculture Organisation of the United Nations. http://faostat.fao.org/

Ferguson M., Erskine W. (2001). Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean. p:144-145

Ferguson ME, Maxted N, van Slageren M and Robertson LD (2000) A re-assessment of the taxonomy of *Lens* Mill. (Leguminosae, Papilionoideae, Vicieae). *Bot J Linnean Soc 133: 41–59.*

Ferguson, M, L.D. Robertson, B. Ford-Lloyd and H.J. Newbury (1998). Contrasting genetic variation amongst lentil landraces from different geographical origins. *Euphytica*. Volume 102, Number 2, 1998 , pp. 265-273(9)

Ferguson, M. (1998) PhD Thesis: *Studies of genetic variation within the genus lens*. School of Biological Sciences, University of Birmingham, Birmingham, UK.

Fernandez M., J C Sillero, A. Perez & D Rubiales (2008). Identification of sources of resistance to crenate broomrape (*Orobanche crenata*) in Spanish lentil (*Lens culinaris*) germplasm.. *New Phytologist, Volume 160 Issue 3, Pages 459 – 461*.

Fiala JV (2006). Transferring resistance to *Colletotrichum truncatum* from wild lentil species to cultivated lentil species (*Lens culinaris* subsp *culinaris*). MSc thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada, 131 pp.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Fleming, S. E. (1981). A study of relationships between flatus potential and carbohydrate distribution in legume seeds. *Journal of Food Science, 46, 794–798, p. 803.*

Ford R, Pang ECK, and Taylor PWJ (1999) Genetics of resistance to ascochyta blight (*Ascochyta lentils*) of lentil and identification of closely linked molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics 98:93–98*

Ford Rebecca, Barkat Mustafa, Prahbpreet Inder, Rubeena Shaikh, Michael Materne and Paul Taylor (2007). Lensomics: Advances in Genomics and molecular Techniques for Lentil Breeding and Management. *Book lentil. Pages 275-289.*

Fratini R and Ruiz ML (2002) Comparative study of different cytokinins in the induction of morphogenesis in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant 38:46–51*

Fratini R and Ruiz ML (2003) A rooting procedure for lentil (*Lens culinaris* Medik) and other hypogeous legumes (Pea, chickpea and *Lathyrus*) based on plant polarity. *Plant Cell Reports* 21:726–732.

Fratini R and Ruiz ML (2006) Interspecific hybridization in the genus *Lens* applying *in vitro* embryo rescue. *Euphytica 150: 271–280*.

Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research 50:151–158.*

Gresshoff PM (1980) *In vitro* culture of white clover: callus, suspension, protoplast culture and plant regeneration. *Bot Gaz* 141:157–164.

Gulati A, Schryer P, McHughen A (2001) Regeneration and micrografting of lentil shoots. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant 37:798–802*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Haddad N. I. and F. J. Muehlbauer (1981). Comparison of random bulk population and single-seed-descent methods for lentil breeding. *Euphytica* Volume 30, Number 3, Pages 643-651.

Haddad N. I. , T. P. Bogyo and F. J. Muehlbauer (1982). Genetic variance of six agronomic characters in three lentil (*Lens culinaris* Medic) crosses. *Euphytica* Volume 31, Number 1, pages 113-120.

Hahn, D. H., Rooney, L. W., & Earp, C. F. (1984). Tannins and phenols of sorghum. *Cereal Foods World, 29, 776–779.*

Hamdi A and Erskine W (1996) Reaction of wild species of the genus Lens to drought. *Euphytica 91:173–179.*

Hamdi A, Kósmenoglu I and Erskine W (1996) Sources of winter hardiness in wild lentil. *Genetic Resources and Crop Evolution. 43: 63–67.*

Hamdy, A., Katerji, N., Mastrorilli, M. and Ameen, A. 2002. Lentil (*Lens culinaris* Med.) Sensitivity to salinity through the water use efficiency. *Acta Hort. (ISHS) 573:311-319*

Hamwieh A, Udupa SM Choumane W, Sarker A, Dreyer F, Jung C, Baum M (2005) A genetic linkage map of *Lens* sp. based on microsatellite and AFLP markers and the localization of fusarium vascular wilt resistance. *Theoretical and Applied Genetics 110:669–677*

Helbaek, H. 1969. Plant collecting, dry-farming and irrigation agriculture in prehistoric Deh Luran. Pages 383-426 *in* Prehistory and Human Ecology of the Deh Luran Plain: An Early Village Sequence from Khuzistan (F. Hole, K.V. Flannery and J.A. Neely, eds.). Memoirs Museum Anthropology No. 1. Ann Arbor, University of Michigan, USA.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Hoffman D, Soltis D, Muehlbauer F and Ladizinsky G (1986) Isozyme Polymorphism in *Lens* (Leguminosae). *Systematic Botany 11: 392–402.*

Horneburg B. and Heiko C. Becker (2008). Crop Adaptation in On-Farm Management by Natural and Conscious Selection: A Case Study with Lentil. *Crop Sci* 48:203-212

Huang, Y.T. & Bourne, M.C. (1983). Research note. Kinetics of thermal softening of vegetables. *Journal of Texture Studies*, 14, 1-9. 576-583.

Hulse, J.H. 1990. Nature, composition and utilization of grain legumes. p.11-27. In: ICRISAT. Uses of tropical grain legumes: Proceedings of a consultants' meeting, 27-30 Mar, 1989. ICRISAT Center, India, Patancheru, A.P. 502 324. India:ICRISAT.

ICARDA. 1995. Annual Report for 1994 of the Germplasm Program: Legumes. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria.

Kay, D. 1979. Food legumes. Tropical Development and Research Institute (TPI). TPI Crop and Product Digest No. 3. p.48-71. UK.

Knuckles et al., 1982. B.E. Knuckles, D.D. Kuzmicky and A.A. Betschart, HPLC analysis of phytic acid in selected foods and biological samples. *J. Food Sci.* 49 (1982), pp. 1257–1258.

Ladizinsky G (1992) Crossability relations. *Monograph on Theoretical and Applied Genetics pp. 15–31.*

Ladizinsky G (1997) A new species of Lens from south-east Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society 123: 257–260.*

Ladizinsky G and Abbo S (1993) Cryptic speciation in *Lens culinaris*. *Genet Res & Crop Evol 40: 1–5*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Ladizinsky G, Braun D, Goshen D and Muehlbauer FJ (1984) The biological species of the genus *Lens* L. [*Lens nigricans*]. *Bot Gazette 145 (2): 253–261*.

Ladizinsky G, Cohen D and Muehlbauer FJ (1985) Hybridization in the genus *Lens* by means of embryo culture. *Theor Appl Genet 70: 97–101*.

Ladizinsky G. (1989) Ecological and genetic considerations in collecting and using wild relatives. In: Brown A.H.D,. Marshall D.R., Frankel O.H., and Williams L.T., (Eds.), The Use of Plant Genetic Resources, pp. 297. Cambridge.

Liener IE, ML Kakade - Toxic Constituents of Plant Foodstuffs, 1980

Luo JP and Jia JF (1998) Plant regeneration from callus protoplasts of the forage legume *Astragalus adsurgens* Pall. Plant Cell Reports 17:313–317.

Maher Laura, Roger Armstrong, David Connor (2003). Salt tolerant lentils – a possibility for the future? regional.org.au.

Malik KA and Saxena PK (1990) Thidiazuron induces high-frequency shoot regeneration in intact seedlings of pea (*Pisum sativum*), chickpea (*Cicer arietinum*) and lentil (*Lens culinaris*). *Aust J Plant Physiol 19:731–740.*

Marcello Duranti and Cristina Gius 1997. Legume seeds: protein content and nutritional value

McLean, L. A., Sosulski, F. W., & Youngs, C. G. (1974). Effects of nitrogen and moisture on yield and protein in field peas. *Canadian Journal of Plant Science, 54, 301–305.*

Mikhov, M (2006). Efficiency of lentil (Lens culinaris Medik.) breeding methods. *Plant genetics and breeding*. p. 237-243

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Muehlbauer F. J., W. J. Kaiser and C. J. Simon (1993). Potential for wild species in cool season food legume breeding. *Euphytica, Volume 73, pages 109-114.*

Muehlbauer FJ and McPhee KE (2005) In: Genetic resources, chromosome engineering and crop improvement, Vol. 1, Grain Legumes, Ch. 8, Lentil (*lens culinaris* Medik), pp 219–230. Eds. RJ Singh, and PP Jauhar. Taylor & Francis, Boca Raton.

Muehlbauer FJ, Cho S, Sarker A, McPhee KE, Coyne CJ, Rajesh PN and Ford R (2006). Application of biotechnology in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stress. *Euphytica 147 (1–2):149–165.*

Muehlbauer, F.J., 1996. Advances in the production of cool season legumes. *American Journal of Alternative Agriculture 11:71-76.*

Muehlbauer, F.J., J.I. Cubero and R.J. Summerfield. 1985. Lentil (Lens culinaris Medic.). p. 266-311. In: R.J. Summerfield and E.H. Roberts (eds.), Grain Legume Crops. Collins, 8 Grafton Street, London, UK.

Muehlbauer, F.J., W.J. Kaiser, S.L. Clement, and R.J. Summerfield. 1995. Production and breeding of lentil. *Advances in Agronomy.* 54:283-332.

Newell C, Growns A, McComb DJ (2006) Aeration is more important than shoot orientation when rooting lentil (*Lens culinaris* Medik.) Cv. 'Digger' microcuttings *in vitro*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant 42:197–200.*

Nguyen T, Brouwer JB, Taylor PWJ, Ford R (2001) A novel source of resistance in lentil (*Lens culinaris* ssp. *culinaris*) to ascochyta blight caused by *Ascochyta lentis*. *Australasian Plant Pathology 30:211–215.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Nozzolillo, C., & De Bezada, G. M. (1984). Browning of lentil seeds, concomitant loss of viability and the possible role of soluble tannins in both phenomena. *Canadian Journal of Plant Science, 64, 815–824.*

Ochatt SJ, Mousset-Dıclas C, and Rancillac M (2000) Fertile pea plants regenerate from protoplasts when calluses have not undergone endoreduplication. *Plant Science 156:177–183.*

Petterson, D., Sipsas, S., & Mackintosh, J. B. (1997). The chemical composition and nutritive value of Australian pulses. Canberra, Australia: Grains Research and Development Corporation.

Phan HTT, Elwood SR, Hane JK, Ford R, Materne M, Oliver RP (2006a) Extensive macrosynteny between *Medicago truncatula* and *Lens culinaris* ssp. *culinaris*. *Theoretical and Applied Genetics. DOI 10.1007/s001222-006-0455-3*

Polanco MC, Pelaez MI, Ruiz ML (1988) Factors affecting callus and shoot formation from *in vitro* cultures of *Lens culinaris* Medik. *Plant Cell Tissue and Organ Culture 15:175–182*

Polanco MC, Ruiz ML (1997) Effect of benzylaminopurine on *in vitro* and *in vivo* root development in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Plant Cell Reports 17:22–26*

Polanco MC, Ruiz ML (2001) Factors that affect plant regeneration from *in vitro* culture of immature seeds in four lentil (*Lens culinaris* Medik.) cultivars. *Plant Cell Tissue and Organ Culture 66:133–139*

Reddy et al., 1982. N.R. Reddy, S.K. Sathe and D.K. Salunke, Phytates in legumes and cereals. *Adv. Food Res.* 28 (1982), pp. 1–92.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Reddy et al., 1988. N.R. Reddy, S.K. Sathe and M.D. Pierson, Removal of phytate from great northern beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and its combined density fraction. *J. Food. Sci.* 53 (1988), p. 107.

Reddy NR, Salunke DK (1989) Fermentation. In: Salunke DK, Kadam SS (eds) CRC Handbook of world food legumes: nutritional, chemistry, processing technology and utilization, *vol. III. CRC, Boca Raton, Fla., pp 177 ± 218*

Robertson, L.D., K.B. Singh, W. Erskine and Ali M. Abd El Moneim. 1996. Useful genetic diversity in germplasm collections of food and forage legumes from West Asia and north Africa. *Germplasm Resources and Crop Evolution* 43:447-460. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Rozwadowski KL, Saxena PK and King J (1990) Isolation and culture of *Lens culinaris* Medik. *Plant Cell Tissue Organ Culture 15:175–182.*

Rubeena, R. Ford and P. W. J. Taylor (2003). ¶Construction of an intraspecific linkage map of lentil (Lens culinaris ssp. culinaris). *TAG* (Theoretical and Applied Genetics), Volume 107, Number 5, Pages773-964.

Rubeena, Taylor PWJ, Ades PK, Ford R (2006) QTL mapping of ascochyta blight (*Ascochyta lentis*) resistance in lentil (*Lens culinaris*). *Plant Breeding 125:506–512*

Rubeena., Taylor PWJ, Ford R (2003) Molecular mapping the lentil (*Lens culinaris ssp. culinaris*) genome. *Theoretical and Applied Genetics 107:910–916*

Salunkhe, D. K., & Kadam, S. S. (1989). Handbook of world food legumes, nutritional chemistry, processing technology and utilization. Boca Raton, FL: CRC Press (pp. 23–144).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Sarker A. and W. Erskine (2006). Recent progress in the ancient lentil. *The Journal of Agricultural Science*, 144:1:19-29

Sarker RH, Mustafa BM, Biswas A, Mahbub S, Nahar M, Hashem R, Hoque MI (2003) *In vitro* regeneration in lentil (*Lens culinaris* Medik.) *Plant Tissue Culture 13:155–163.*

Savage G P 1988 The composition and nutritive value of lentils (L ens culinaris). *Nutr Abst Rev (Series A) 5 319-343.*

Shrestha R., Siddique K.H.M., Turner N.C., Turner D.W., Berger J.D. (2005). Growth and seed yield of lentil (*Lens culinaris* Medikus) genotypes of West Asian and South Asian origin and crossbreds between the two under rainfed conditions in Nepal. *Australian journal of agricultural*, vol. 56, 971–981.

Solanki I.S., A.C. Kapoor and U. Singh (1999). Nutritional parameters and yield evaluation of newly developed genotypes of lentil (Lens culinaris Medik.). Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum). *Volume 54, Number 1. pp 79-87.*

¶

Sosulski FW, Garrat MC, Slinkard EA (1976) Functional properties of ten legum flours. *Can Inst Food Sci Tech 1: 66–69.*

Tabekhia M., Luh B S 1980 Effect of germination cooking and canning on phosphorus and phytate retention in dry beans. *J Food Sci 45 406-408.*

Tang, J., Sokhansanj, S., Sosulski, F.W. & Slinkard, A.E. (1990). Effect of swathing and moisture content on seed properties of laird lentil. *Canadian Journal of Plant Science*, 70, 1173-1 178.

Tang, J., Sokhansanj, S., Sosulski, F.W. & Slinkard, A.E. (1992). Effect of harvest methods on moisture content and quality of lentil seeds. *Canadian Journal of Plant Science*, 72,45 1456.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Taran B, Buchwaldt L, Tullu A, Banniza S, Warkentin TD, Vandenberg A (2003) Using molecular markers to pyramid genes for resistance to ascochyta blight and anthracnose in lentil (*Lens culinaris* Medik). *Euphytica 134:223–230.*

Thompson L U 1993 Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Foods Res Int 26 131-149.*

Tian D and Rose RJ (1999) Asymmetric somatic hybridization between the annual legumes *Medicago truncatula* and *Medicago scutellata*. Plant *Cell Reports 18:989–996.*

Tullu A, Buchwaldt T, Warkentin T, Taran B, Vandenberg A (2003) Genetics of resistance to anthracnose and identification of AFLP and RAPD markers linked to the resistance gene in PI320937 germplasm of lentil (*Lens culinaris* Medik). *Theoretical and Applied Genetics 106:428–434.*

Valverde C., J. Frías , R. Esteban (1992). Dietary Fiber in Processed Lentils. *Journal of Food Science Volume 57 Issue 5, Pages 1161 – 1163.*

Valverde C., Juana Frias, Isabel Estrella, Maria J. Gorospe, Raquel Ruiz, and Jim Bacon (1992). Effect of Processing on Some Antinutritional Factors of Lentils Concepcion.

Van Oss, AronY. and Ladizinsky G. (1997) Chloroplast DNA variation and evolution in the genus *Lens* Mill. *Theor Appl Genet 94: 452–457.*

Van Oss, Y. Aron and G. Ladizinsky (1997). Chloroplast DNA variation and evolution in the genus Lens Mill. *TAG Theoretical and Applied Genetics*. Volume 94, Numbers 3-4 : 452-457.

Varoquaux Patrick, Pierre Offant & Francoise Varoquaux (1995). Firmness, seed wholeness and water uptake during the cooking of lentils *(Lens*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

culinaris cv. *anicia)* for 'sous vide' and catering preparations. *International Journal of Food Science and Technology* (1995) 30,2 15-220

Varoquaux, P.J.A. & Nguyen The, C. (1993). Vacuum processing: a new concept for pre-cooked fruit and vegetables. *Food Science and Technology Today,* 8, (I), 42-49.

Wang Ning, James K. Daun (2006). Efects of variety and crude protein content on nutrients and anti-nutrients in lentils (Lens culinaris). *Food Chemistry 95 493–502.*

Wang, N., & Daun, J. K. (2003). Quality of Western Canadian pulse cropshttp://grainscanada.gc.ca

Williams DJ and McHughen A (1986) Plant regeneration of the legume *Lens culinaris* Medik. (lentil) *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 7: 149-153.*

Williams P.C. and U. Singh. 1988. Quality screening and evaluation in pulse breeding. p. 445-457. In: R.J. Summerfield (ed.), World Crops: Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht The Netherlands.

Williams T, Sanchez AMC and Jackson MT (1974) Studies on lentils and their variation. The taxonomy of the species. *SABRAO Journal 6, 133–145.*

Williams, P.C., R.S. Bhatty, S.S. Deshpande, L.A. Hussein and G.P. Savage. 1994. Improving nutritional quality of cool season food legumes. p. 113-129. In: F.J. Muehlbauer and W.J. Kaiser (eds.), Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Ye G, McNeil DL, Conner AJ and Hill GD (2000) Improved protocol for the multiplication of lentil hybrids without genetic change by culturing single node explants. *SABRAO J Breeding & Genet 32 (1): 13–21.*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247

Ye G, McNeil DL, Conner AJ and Hill GD (2002) Multiple shoot formation in lentil (*Lens culinaris*) seeds. *New Zealand J Crop & Hort Sci 30:1-8.*

Zohary D, Hopf M. (1988). Domestication of plants in the Old World. *J. exp. Bot.* 39: 1146-7.

Zohary D. and M. Hopf (1973). Domestication of Pulses in the Old World. *Science* Vol. 182. no. 4115, pp. 887 – 894.

Zohary D. (1972). The wild progenitor and the place of origin of the cultivated lentil: Lens culinaris. *Economic Botany. Volume 26, Number 4, pages* 326-332.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
04/06/2024 07:14:01 EEST - 18.227.89.247