

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

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

Δ.Ι.Χασιώτη

Μεταπτυχιακή Διατριβή

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΩΝ ΚΑΙ ΕΜΠΟΡΙΚΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ
ΣΚΛΗΡΟΥ ΣΙΤΑΡΙΟΥ ΜΕ ΒΑΣΗ ΑΓΡΟΝΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ
ΑΝΑΛΥΣΗ DNA ΓΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΤΟΥΣ
ΣΧΕΣΕΩΝ ΜΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΥΠΟΥ RAPDs και SSRs**



Βόλος 2006

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΩΝ ΚΑΙ ΕΜΠΟΡΙΚΩΝ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ ΣΚΛΗΡΟΥ ΣΙΤΑΡΙΟΥ
ΜΕ ΒΑΣΗ ΑΓΡΟΝΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ DNA ΓΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ
ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΤΟΥΣ ΣΧΕΣΕΩΝ ΜΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΥΠΟΥ RAPDs και SSRs**

ΕΠΙΤΡΟΠΗ

N. ΔΑΝΑΛΑΤΟΣ

(Μέλος)

Καθηγητής

A. ΜΑΥΡΟΜΑΤΗΣ

(Επιβλέπων)

Λέκτορας

A. ΧΑ

(Μέλος)

Αναπλ.Καθηγητής

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.	Ευχαριστίες.....	5
2.	Περίληψη.....	6-7
3.	Εισαγωγή.....	8-9
4.	Ανασκόπηση βιβλιογραφίας	
4.1	Καταγωγή του σκληρού σιταριού	10-12
4.2	Γωνιδίωμα του σιταριού.....	12-15
4.3	Καλλιέργεια και χρήσεις του σιταριού.....	15-17
4.4	Οικονομική σημασία και παγκόσμια παραγωγή του σκληρού σιταριού...17-20	
4.5	Η καλλιέργεια του σκληρού σιταριού στην Ελλάδα	20-21
4.6	Βελτίωση του σκληρού σιταριού.....	22
4.6.1	Βελτίωση αγρονομικών χαρακτηριστικών.....	22-32
4.6.2	Βελτίωση χαρακτηριστικών ποιότητας του σπόρου.....	33-36
4.6.3	Χρήση των παραδοσιακών ποικιλιών στη βελτίωση.....	36-40
4.7	Μέθοδοι Κλασσικής Βελτίωσης.....	40-42
4.8	Μέθοδοι Μοριακής βελτίωσης.....	42-45
4.8.1	Τύποι DNA μοριακών δεικτών.....	45-57
4.8.2	Εφαρμογές που προκύπτουν από τη χρήση των μοριακών δεικτών.....	57-63
4.8.3	Εφαρμογές συνδιασμένης χρήσης μεθόδων κλασσικής και μοριακής βελτίωσης.....	63-71
4.9	Μοριακή γενετική τροποποίηση στο σιτάρι (GMO).....	71-74
5.	Υλικά και μέθοδοι.....	
5.1	Γενετικό υλικό.....	75-95
5.2	Μέθοδος απομόνωσης DNA	95
5.3	Μοριακή γενετική ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου RAPD's.....	96
5.4	Μοριακή γενετική ανάλυση με δείκτες τύπου SSRs.....	97-98
5.5	Στατιστική ανάλυση.....	98-99
5.6	Μελέτη πρωτεϊνών	100-101
6.	Αποτελέσματα και συζήτηση.....	
6.1	Ανάλυση με μοριακούς δείκτες RAPD'S	101-103

6.2	Ανάλυση με μοριακούς δείκτες SSRs	103-106
6.3	Μελέτη φυλλογενετικών σχέσεων, διάκριση των ποικιλιών με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση και διάκριση ποικιλιών σκληρού και μαλακού σιταριού	107-116
6.4	Διάκριση ελληνικών εμπορικών και παραδοσιακών ποικιλιών.....	117-123
6.5	Διάκριση ποικιλιών με βάση ποιοτικά χαρακτηριστικά	124-129
7.	Συμπεράσματα.....	130
8.	Βιβλιογραφία	131-153
9.	Παράρτημα.....	153-158

1. ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Είναι μεγάλος ο αριθμός των ατόμων που με βοήθησαν να γράψω τη μεταπτυχιακή μου διατριβή και τους οποίους ευχαριστώ.

Ο πρώτος άνθρωπος που θα ήθελα να ευχαριστήσω είναι ο καθηγητής μου κ. Μαυρομάτης Αθανάσιος, Λέκτορας του Εργαστηρίου Γενετικής και Βελτίωσης των Φυτών τον οποίο και θέλω να ευχαριστήσω για τη βοήθειά του κατά την εκτέλεση του πειράματος και τη συγγραφή της διατριβής. Την κ. Πανάγου Μίνα, μέλος Ε.Ε.ΔΙΠ του εργαστηρίου, για τη βοήθειά της στο πρακτικό μέρος του πειράματος καθώς και τον κ.Κορκόβελο Αθανάσιο, μέλος του Εργαστηρίου για τη βοήθειά του τόσο κατά τη διάρκεια του πειράματος όσο και κατά τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων.

Ευχαριστώ ακόμα το Ινστιτούτο Σιτηρών Θεσ/νικης για την προμήθεια του γενετικού υλικού καθώς και το Χημικό Θεσ/νίκης και τον κ.Κεφαλά ,υπεύθυνο του Εργαστηρίου Διατροφής και Διαιτολογίας για την παραχώρηση των δεδομένων όσον αφορά τις αναλύσεις των πρωτεϊνών.Επίσης ευχαριστώ τους καθηγητές της τριμελούς μου επιτροπής κ. Δαναλάτο Ν. και κ. Χα Α. για τις παρατηρήσεις τους που αφορούσαν τη συγγραφή της διατριβής μου.

Τα επόμενα άτομα που θα ήθελα να ευχαριστήσω είναι τα παιδιά που γνώρισα σε αυτό το εργαστήριο καθώς και όλους τους ανθρώπους που γνώρισα στο Πανεπιστήμιο και με τον οποιοδήποτε τρόπο με έχουν βοηθήσει.

Τέλος ευχαριστώ την οικογένειά μου που όλο αυτό το διάστημα με στήριξαν τόσο ηθικά όσο και οικονομικά, όλους τους φίλους μου και ιδιαίτερα το φίλο και συνάδελφο κ. Χατζηθεοδώρου Βασίλη, υποψήφιο Διδάκτορα του Εργαστηρίου ο οποίος με παρότρυνε για να ξεκινήσω αυτή την προσπάθεια.

2.ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μελέτη των γενετικών σχέσεων μεταξύ 60 ποικιλιών σκληρού σιταριού (*Triticum turgidum* L. var *durum*) με την καταγραφή των μορφολογικών γνωρισμάτων και την ανάλυση του DNA με τη βοήθεια μοριακών δεικτών τύπου RAPD και SSR's, αποτέλεσε το αντικείμενο αυτής της εργασίας. Το φυτικό υλικό συνιστούσαν εμπορικές και πειραματικές ποικιλίες που δημιουργήθηκαν στο Ι.Σ, εισαγόμενες εμπορικές ποικιλίες διαφορετικής προέλευσης (Γαλλία, Ισπανία, Ιταλία, Αμερική, Πορτογαλία) καθώς και παραδοσιακοί τοπικοί πληθυσμοί που διατηρούνται στην Τράπεζα Γενετικού Υλικού του Υπουργείου Γεωργίας.

Για τη μοριακή γενετική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν 21 τυχαίοι εκκινητές τύπου RAPD και 13 εκκινητές μικροδορυφορικού DNA. Η απομόνωση του γενωμικού DNA έγινε από τα νεαρά φύλλα φυτών σιταριού με την τροποποιημένη CTAB μέθοδο. Οι γενετικές διαφορές και η εκτίμηση των γενετικών αποστάσεων έγινε με την παράλληλη χρήση των δεδομένων που προέκυψαν από τη χρήση των δύο τύπων δεικτών, ενώ η ομαδοποίηση τους (UPGMA και δείκτης ομοιότητας Jackard), ταυτίστηκε σχεδόν με τη γεωγραφική τους προέλευση.

Στην περίπτωση των RAPD ανιχνεύθηκαν 152 αλληλόμορφα σε 21 γενωμικές περιοχές ενώ ο αριθμός των αλληλομόρφων /περιοχή κυμάνθηκε από 3-11 με ένα μέσο όρο 7.2. Το ποσοστό των πολυμορφισμών ήταν 87,5 % με τους περισσότερους πολυμορφισμούς να εμφανίζει ο δείκτης OPC 16. Όσον αφορά τους δείκτες τύπου SSR, οι 11 από τους 13 εκκινητές ήταν πολυμορφικοί. Ο αριθμός των αλληλομόρφων /περιοχή κυμάνθηκε από 2-7 με ένα μέσο όρο 3,7 αλληλόμορφα /περιοχή. Ο μέσος όρος των πολυμορφικών περιοχών (PIC) γι αυτούς τους δείκτες εκτιμήθηκε σε 0,622.

Οι φυλλογενετικές σχέσεις μεταξύ των εξεταζόμενων ποικιλιών και η εκτίμηση των γενετικών αποστάσεων, έγινε τόσο ανεξάρτητα όσο και σε συνδιασμό των δεδομένων που προέκυψαν από τη χρήση και των δύο τύπων μοριακών δεικτών. Τα δένδρογράμματα που προέκυψαν με τη χρήση του αλγόριθμου UPGMA στην περίπτωση των RAPD και στην περίπτωση των SSR όπως και στη συνδιασμένη μέθοδο RAPD-SSR, έδειξαν ότι υπάρχει σαφής διαχωρισμός μεταξύ των ποικιλιών σκληρού σιταριού και της ποικιλίας μαλακού σιταριού Χίος, η οποία

χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας ενώ ταυτόχρονα καθορίστηκε η γενετική απόσταση μεταξύ των δύο ειδών σιταριού. Επίσης είναι δυνατός ο διαχωρισμός των ποικιλιών με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση αφού έγινε ομαδοποίηση των ιταλικών, ισπανικών και ελληνικών ποικιλιών. Επιπλέον υπάρχει σαφή διάκριση μεταξύ ελληνικών εμπορικών και παραδοσιακών ποικιλιών. Η ομαδοποίηση αυτή, πιστοποιεί τη στενή γενετική βάση των ελληνικών ποικιλιών που δημιουργήθηκαν στο Ινστιτούτο Σιτηρών αλλά και την ανεξαρτησία του γενετικού υλικού σε σχέση με τις παραδοσιακές ποικιλίες. Τέλος δεν βρέθηκε να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των μοριακών προτύπων με χαρακτηριστικά ποιότητας που σχετίζονται με την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, σε γλουτένη και με τις τιμές του δείκτη γλουτένης όπως προέκυψε από αναλύσεις δειγμάτων για το σύνολο των ποικιλιών παρόλο που τέσσερις από τους εκκινητές τύπου SSR που χρησιμοποιήθηκαν συνδέονταν με QTL που σχετίζεται με την υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.

3.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το σιτάρι είναι η σημαντικότερη καλλιέργεια των δημητριακών για την πλειοψηφία του πληθυσμού του πλανήτη. Αποτελεί τη βασικότερη τροφή για περίπου δύο δισεκατομμύρια ανθρώπους (το 36% του παγκόσμιου πληθυσμού). Από τις τροφές που καταναλώνονται συνολικά, το σιτάρι παρέχει σχεδόν το 55% των υδατανθράκων και το 20% των θερμίδων που είναι απαραίτητες για την ανθρώπινη διατροφή. Συγκεκριμένα, ο σπόρος του σιταριού περιέχει όλες τις βασικές θρεπτικές ουσίες, νερό 12%, υδατάνθρακες (60-80% κυρίως ως άμυλο), πρωτεΐνες (8-15%) ,λίπη (1,5-2%), ιχνοστοιχεία (1,5-2%), βιταμίνες (όπως η βιταμίνη Ε) και ακατέργαστες ίνες 2,2%.

Το σκληρό σιτάρι είναι ένα από τα παλαιότερα είδη που καλλιεργούνται σήμερα σε όλο τον κόσμο. Αναπτύσσεται κύρια στις κεντρικές και ανατολικές περιοχές της Νότιας Αφρικής που θεωρούνται και ως κέντρα προέλευσης του. Ανήκει στα σημαντικότερα δημητριακά της λεκάνης της Μεσογείου και μπορεί να καλλιεργηθεί σε ποικιλία περιβαλλόντων που χαρακτηρίζονται από μεγάλες κλιματικές διακυμάνσεις. Η υψηλή γονιμότητα των εδαφών και οι συνθήκες μέσης βροχόπτωσης προσφέρονται για παραγωγή σιταριού υψηλής ποιότητας που ενδιαφέρει τόσο τους παραγωγούς (η τιμή του προϊόντος διαμορφώνεται με βάση την ποιότητα) όσο και τις βιομηχανίες για την παραγωγή ζυμαρικών και άλλων παραδοσιακών προϊόντων.

Στόχος του κάθε βελτιωτή είναι να παράγει γενοτύπους βελτιωμένους ως προς κάποια χαρακτηριστικά όπως είναι η απόδοση σε σπόρο, η πρωιμότητα, η ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα, η ανθεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες, η ανθεκτικότητα στις ασθένειες και τα έντομα, η ανθεκτικότητα στην ξηρασία και η βελτίωση της ποιότητας του τελικού προϊόντος. Οι παραδοσιακές μέθοδοι αναπαραγωγής των φυτών έχουν συνεισφέρει σημαντικά στη βελτίωση αλλά είναι αργοί στη στοχοθέτηση αυτών των σύνθετων γνωρισμάτων, τα περισσότερα από τα οποία επηρεάζονται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Γι αυτό το λόγο, έχει αναπτυχθεί η μοριακή βελτίωση και η τεχνική των μοριακών δεικτών που βοηθά επικουρικά το έργο της κλασσικής βελτίωσης και τη γενετική μελέτη των ποικιλιών, την πρόιμη επιλογή και την καλύτερη οργάνωση των βελτιωτικών προγραμμάτων. Η

μελέτη της γενετικής παραλλακτικότητας και των φυλλογενετικών σχέσεων μεταξύ των ποικιλιών μπορεί να αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη στην επιλογή κατάλληλων γονέων και στον προγραμματισμό διασταυρώσεων.

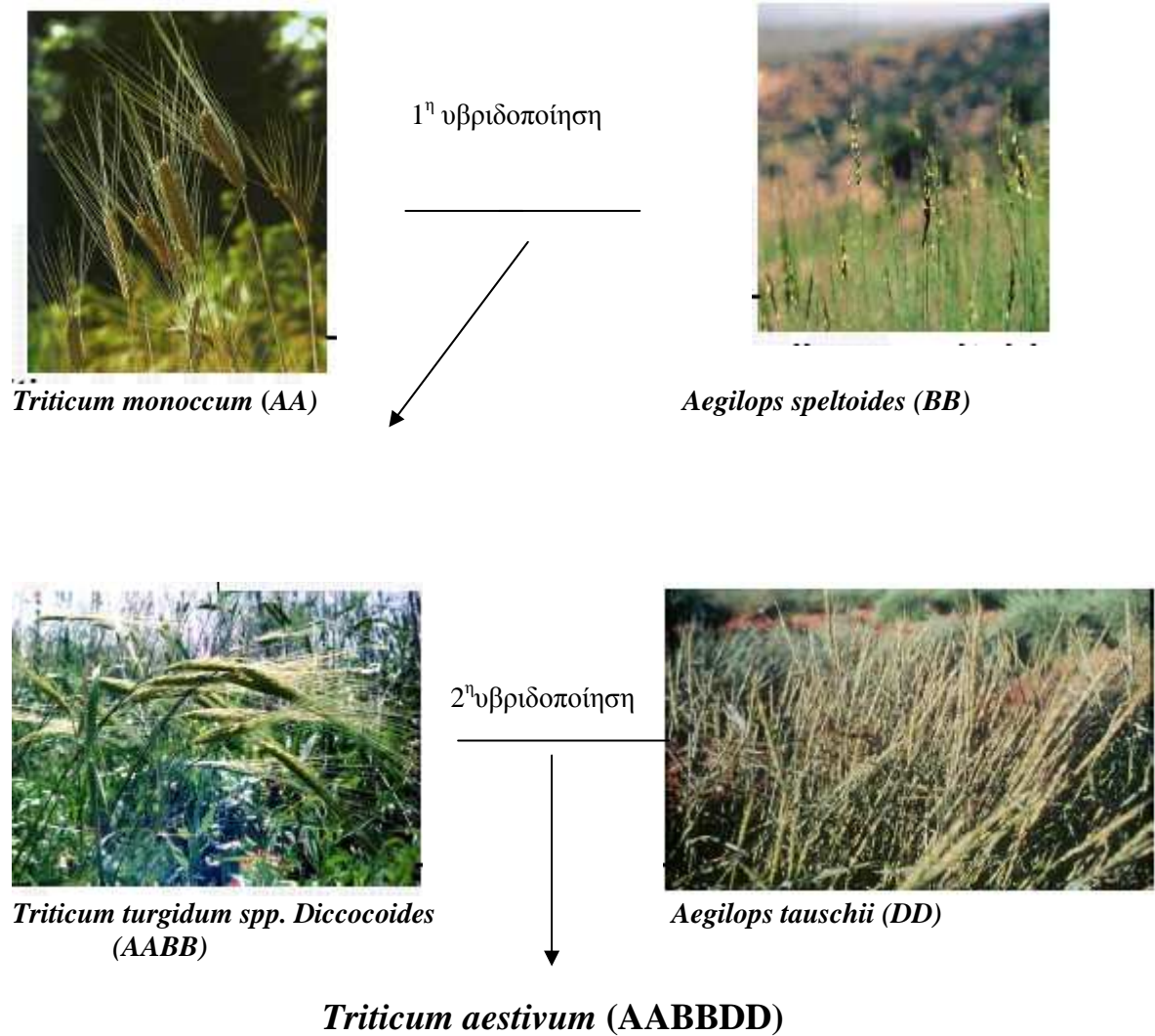
Στη παρούσα εργασία μελετήθηκαν 60 εμπορικές και παραδοσιακές ποικιλίες σκληρού σιταριού που καλλιεργούνται στην Ελλάδα και στον ευρύτερο Ευρωπαϊκό χώρο. Στόχοι της εργασίας ήταν:

- Η μελέτη των γενοτύπων και η ανίχνευση πολυμορφισμών με χρήση δεικτών τύπου RAPD και SSRs.
- Η εκτίμηση της γενετικής παραλλακτικότητας μεταξύ των γενοτύπων, η ανάπτυξη φυλλογενετικών σχέσεων και η ομαδοποίησή τους όσον αφορά τη γεωγραφική τους προέλευση.
- Η έλεγχος συγκεκριμένου QTL, που σχετίζεται με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, με τη χρήση εξειδικευμένων δεικτών τύπου SSR που συνδέονται με αυτό και η συσχέτιση των ομαδοποιήσεων που προκύπτουν με βάση τους δείκτες SSR και την περιεκτικότητα του σπόρου σε πρωτεΐνη.
- Η σύγκριση των δεικτών τύπου RAPD και SSR όσον αφορά τη διακριτική τους ικανότητα στον διαχωρισμό και στην ανάπτυξη του DNA μοριακού προτύπου των ποικιλιών σιταριού.

4. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

4.1 Καταγωγή του σκληρού σιταριού

Τα καλλιεργούμενα σιτάρια εξελίχθηκαν στη Μέση Ανατολή μέσω των επαναλαμβανόμενων υβριδισμών μεταξύ ειδών του γένους *Triticum spp.* καθώς και μεταξύ ειδών που ανήκουν σε άλλα γένη όπως είναι τα *Aegilops spp.* Αυτό επιβεβαιώνεται από ανασκαφές στην περιοχή της Γαλιλαίας, κατά τις οποίες διαπιστώνουμε ότι το 17.000 π.Χ οι άνθρωποι μάζευαν και τρέφονταν με το άγριο δίκοκκο σιτάρι. Η διαδικασία εξημέρωσης του σιταριού (εικόνα 1), ξεκίνησε πριν περίπου 10.000 χρόνια, (όταν οι άνθρωποι άρχισαν να τρέφονται και με το μονόκοκκο *T. monoccocum* στη βόρεια Συρία) και περιελάμβανε τα ακόλουθα στάδια: Αρχικά το άγριο είδος *T. boeoticum* (Einkorn) διασταυρώθηκε ελεύθερα με το *Aegilops speltoides* για να παραχθεί έτσι το *T. diccoides* (Wild Emmer), το οποίο εξημερώθηκε το 7.800 π.Χ. μέσω της επιλογής με σπόρους στην περιοχή της Δαμασκού και επεκτάθηκε στην Ελλάδα και την κεντρική Ευρώπη την εποχή του χαλκού. Οι περαιτέρω υβριδοποιήσεις με ένα άλλο είδος, το *A. squarrosa* έδωσαν το *T. dicocum* (Spelt Emmer) και πρόωρες μορφές του σκληρού σιταριού (*T. durum*). Ο μαλακός τύπος προέκυψε, όταν το καλλιεργούμενο πλέον *T. diccoides*, επαναδιασταυρώθηκε με το *A. squarrosa* στις νότιες πεδιάδες της Κασπίας. Αυτή η εξέλιξη επιταχύνθηκε λόγω του γεωγραφικού εύρους της καλλιέργειας και της ανθρώπινης επιλογής και έτσι παρήχθησαν οι πρώτες ποικιλίες του σιταριού (*T. spelta*) για την παραγωγή ψωμιού κατά την έκτη χιλιετία π.Χ. Το είδος *T. aestivum* (μαλακό σιτάρι), εμφανίστηκε περίπου το 4.000 π.Χ. από το *T. spelta* ως αποτέλεσμα της δράσης της φυσικής επιλογής.



Εικόνα 1: Διαδικασία εξημέρωσης σιταριού μέσω επαναλαμβανόμενων υβριδισμών μεταξύ ειδών του γένους *Triticum* spp. και *Aegilops* spp.
(Πηγή: <http://www.CIMMYT.org>)

Οι αλλαγές που έγιναν με την πάροδο των χιλιετιών οδήγησαν σε είδη με διαφορετικά μορφολογικά και αγρονομικά χαρακτηριστικά. Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες διαφέρουν από τους προγόνους τους σε αρκετά σημεία. Στις σημερινές ποικιλίες:

- Υπάρχει συγχρονισμός των φυτών κατά την ανθοφορία.
- Το βλαστικό στέλεχος είναι πιο κοντό για να μην λυγίζει (πλαγιάζει) και πέφτει στο έδαφος πριν τη συγκομιδή.
- Έχουν γίνει αλλαγές στη μορφή των στάχων, ώστε ο σπόρος να μην διαχωρίζεται (τινάζει) και έχουμε απώλειες παραγωγής.

Σήμερα έχει κυριαρχήσει η καλλιέργεια τεσσάρων τύπων σιταριού (**εικόνα 2**).

Einkorn : καλλιεργείται σπάνια

Emmer, Durum (tetraploid) “hard” wheat : είναι το σκληρό σιτάρι που καλλιεργείται για την παρασκευή ζυμαρικών-σιμιγδαλιού

Spelt, Bread Wheat (hexaploid) “soft” wheat : είναι το μαλακό σιτάρι που καλλιεργείται για την παρασκευή ψωμιού.



Einkorn Emmer Spelt Bread

Εικόνα 2: Τύποι καλλιεργούμενου σιταριού
(Πηγή: eeb.bio.utk.edu)

4.2 Το γονιδίωμα του σιταριού

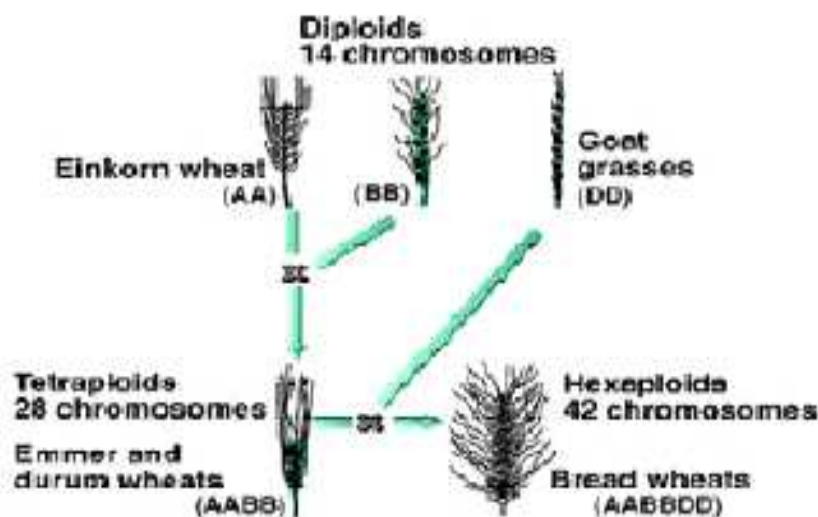
Το σιτάρι ανήκει στην οικογένεια *Poaceae* (*Gramineae*) η οποία περιλαμβάνει και άλλα σημαντικά φυτά όπως το κριθάρι (*Hordeum vulgare* L.), τη βρώμη (*Avena sativa* L.), τη σίκαλη (*Secale cereale* L.), τον αραβόσιτο (*Zea mays* L.) και το ρύζι (*Oryza sativa* L.)

Η ταξινόμηση του σιταριού έγινε για πρώτη φορά από τον *Linnaeus* το 1753. Το 1918, ο *Sakamura* παρουσίασε τον αριθμό των χρωμοσωμάτων για κάθε αναγνωρισμένο τύπο και κατάφερε να διαχωρίσει το σιτάρι σε τρεις ομάδες. Η πρώτη ομάδα περιλάμβανε τον διπλοειδή τύπο και είχε 14 χρωμοσώματα ($n=7$), η δεύτερη ομάδα τον τετραπλοειδή τύπο με 28 χρωμοσώματα ($n=14$) και η τρίτη ομάδα τον εξαπλοειδή τύπο με 42 χρωμοσώματα ($n=21$). Τα σπουδαιότερα είδη κάθε ομάδας παρουσιάζονται στον **πίνακα 1**, σύμφωνα με την ταξινόμηση που έγινε από τους *Morris and Sears*, (1967).

Πίνακας 1: Ταξινόμηση των ειδών του σιταριού (γένος *Triticum*) κατά *Morris and Sears*

Είδος	Γονιδίωμα
Διπλοειδή ($2n=2x=14$) <i>T. monococcum</i> L. <i>T. speltoides</i> Gren ex Richter <i>T. tauschii</i> (Coss). Scmall (<i>Ae. squarossa</i>)	AA BB DD
Τετραπλοειδή ($2n=4x=28$) <i>T. turgidum</i> L.var <i>dicoccoides</i> (Bowden) <i>T. durum</i> <i>T. polonicum</i> <i>T. dicoccum</i> <i>T. timopheevi</i>	AABB AABB AABB AABB AAGG
Εξαπλοειδή ($2n=6x=42$) <i>T. aestivum</i> L. Em. Thell <i>T vulgare</i> <i>T. compactum</i> <i>T. spelta</i> <i>T. sphaerococcum</i> <i>T. macha</i>	AABBDD AABBDD AABBDD AABBDD AABBDD AABBDD

Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά του, πρώτος ο *Kihara* (1924), έδωσε τη φόρμουλα (AA) για το *T.monococcum*, το (AABB) για το *T. turgidum* και το (AABBDD) για το *T. aestivum*. Αντίστοιχα η φυλλογενετική πορεία του σιταριού προέρχεται από 2 διασταυρώσεις, (a) AA x BB = AABB και (b) AABB x DD = AABBDD, (εικόνα 3) . Με την εύρεση της προέλευσης του A, B και D γονιδιώματος, προσδιορίστηκε η προέλευση του μαλακού σιταριού.



Εικόνα 3: Προέλευση του γονιδιώματος του σιταριού (Πηγή : eeb.bio.utk.edu.)

Μοριακές μελέτες (Dvorak et al., 1993; Jiang and Gill, 1994) ταυτοποίησαν το *T. urartu*, ένα βιολογικό είδος ως τον πρόγονο του (A) γονιδιώματος, του *Emmer* και του σκληρού σιταριού. Οι Morris και Sears (1967), χαρακτήρισαν το *Aegilops squarrosa* ως δότη του D γονιδιώματος του μαλακού σιταριού. Η ταυτότητα του χορηγού του B γονιδιώματος, είναι άγνωστη μέχρι σήμερα, αν και μορφολογικά, γεωγραφικά, κυτταρολογικά και μοριακά στοιχεία, έχουν χρησιμοποιηθεί για να εμπλέξουν το *Aegilops speltoides* (BB) ή ένα πολύ σχετικό είδος του, ως χορηγό του B γονιδιώματος (Riley et al., 1958, ; Dvorak and Appels 1982; Dvorak and Zhang, 1990, 1992). Οι Waines and Barnhart (1992), αφού μελέτησαν τα χρωμοσώματα, τη μειωτική ένωση και ανέλυσαν τα ισοένζυμα καταλήξαν στο συμπέρασμα ότι το γονιδίωμα του *Aegilops speltoides* δεν είναι ίδιο με το γονιδίωμα του παρόντος τετραπλοειδούς και εξαπλοειδούς σιταριού. Το παρών σενάριο για το δωρητή του (B) γονιδιώματος στο μαλακό σιτάρι περιλαμβάνει τρεις πιθανότητες:

- (i) ο πραγματικός δότης μπορεί να έχει εξαφανιστεί
- (ii) ο πραγματικός δότης μπορεί να μην έχει ακόμη ανακαλυφθεί
- (iii) περισσότερα από ένα είδη μπορεί να έχουν συμβάλει στο γονιδίωμα, το οποίο στη συνέχεια έχει τροποποιηθεί, μετά από την ενσωμάτωση στο τετραπλοειδές σιτάρι.

Όσον αφορά το μέγεθος του γονιδιώματος, γνωρίζουμε ότι το γονιδίωμα του εξαπλοειδούς σιταριού ($2n=42$, AABBDD) είναι περίπου $1,7 \times 10^{10}$ bp, αυτό σημαίνει ένα μέγεθος περίπου 100 φορές μεγαλύτερο από το γονιδίωμα της *Arabidopsis*, 40 φορές από αυτό του ρυζιού και 6 φορές από το αντίστοιχο του αραβόσιτου (Bennett and Smith, 1976; Amuruganathan and Earle, 1991). Αυτό το τεράστιο μέγεθος οφείλεται στην προέλευση του γονιδιώματος του σιταριού (Talbert et al., 1998), στην τριπλή δομή του (γονιδιώματα ABD) και στον συνυπολογισμό των εκτενών διπλασιασμών του, έτσι ώστε περισσότερο από το 85% ολόκληρου του γονιδιώματος να αποτελείται από τις επαναλαμβανόμενες, ιδιαίτερα μεθυλιωμένες ακολουθίες (Moore et al., 1993). Ο μέσος όρος χρωμοσωμάτων στο σιτάρι είναι περίπου 810 MB, 25 φορές μεγαλύτερος του μέσου όρου των χρωμοσωμάτων του ρυζιού (πίνακας 2).

Πίνακας 2: Τα χαρακτηριστικά του γονιδιώματος των δημητριακών συγκρινόμενα με το είδος *Arabidopsis thaliana*.

Είδος	Ποσότητα DNA/κύτταρο (σε picograms)	Μέγεθος γονιδιώματος (bp)	Ποσοστό (%) επαν/όμενων ακολουθιών	Μέγεθος γενετικού χάρτη (cM)	Βασικός χρωμοσωμικός αριθμός
<i>Arabidopsis thaliana</i>	0,4	0.07x10 ⁹	37	501	5
<i>Oryza sativa</i>	-	0.45x10 ⁹	58-66	1.700	12
<i>Hordeum vulgare</i>	13,4	5x10 ⁹	70-76	1.096	7
<i>Zea mays</i>	11	2,7x10 ⁹	78	1400-1500	10
<i>Triticum aestivum</i>	36,2	17x10 ⁹	83-85	3.500	7*3(ABD)

1 picogram=1pg=0,965x10⁹ bp=29Cm

Ο αριθμός των γονιδίων στα ανώτερα φυτά ποικίλλει μεταξύ 25.000 και 43.000 (*Miklos and Rubin, 1996*). Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, περίπου 30.000 γονίδια είναι υπεύθυνα για το φαινότυπο του σιταριού ενώ μερικές εκατοντάδες από αυτά έχουν προσδιοριστεί και ταξινομηθεί.

4.3 Καλλιέργεια και χρήσεις του σκληρού σιταριού

Το σιτάρι είναι ένας εδώδιμος σπόρος και αποτέλεσε αντικείμενο ανανεωμένου ενδιαφέροντος, λόγω της πολύτιμης παραγωγής και προσαρμογής του στις χαμηλές βροχοπτώσεις και τα λιγότερο παραγωγικά εδάφη. Εν τούτοις μεγαλωμένο κάτω από ένα ευρύ φάσμα κλιμάτων και εδαφών, το σιτάρι προσαρμόζεται καλύτερα σε περιοχές με βροχοπτώσεις μεταξύ 300-900 mm. Σήμερα το σκληρό σιτάρι είναι από τα σημαντικότερα δημητριακά της λεκάνης της Μεσογείου και φαίνεται ότι η καλλιέργεια του κατέχει μια ιδιαίτερη θέση (*Royo et al., 2006*) αφού μπορεί να καλλιεργηθεί σε περιβάλλοντα που χαρακτηρίζονται από μεγάλες κλιματικές διακυμάνσεις όσον αφορά την συχνότητα, την ένταση και τη διάρκεια των βροχοπτώσεων. Για την εξάπλωσή του απαιτείται η ύπαρξη ενός βιολογικού κύκλου τουλάχιστον 90 ημερών. Κύρια ζώνη καλλιέργειάς του, είναι η εύκρατη (30-60 ° B.Π.) (*Γαλανοπούλου-Σενδουκά, 2002*). Οι δύο σημαντικοί τύποι σιταριών είναι τα χειμερινά και τα εαρινά σιτάρια. Η δριμύτητα του χειμώνα

καθορίζει ποιος τύπος θα καλλιεργηθεί. Το χειμερινό σιτάρι σπέρνεται πάντα το φθινόπωρο, ενώ το εαρινό την άνοιξη, αλλά μπορεί να σπαρθεί και το φθινόπωρο, όταν οι χειμώνες είναι ήπιοι.

Η μεγαλύτερη ποσότητα από το αλεύρι που παράγεται, χρησιμοποιείται για την παρασκευή ψωμιού με τη βοήθεια ζύμης. Για να γίνει η διόγκωση του ζυμαριού είναι καλύτερα να χρησιμοποιούνται σκληρά εξαπλοειδή σιτάρια γιατί αυτά έχουν πρωτεΐνη με ειδικές ιδιότητες όσον αφορά αυτή τη χρήση. Το σιτάρι που ευδοκιμεί στα ξηρά κλίματα, είναι γενικά ο σκληρός τύπος, που έχει περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, την ισχυρή γλουτένη (ελαστική πρωτεΐνη), σε ποσοστό 11-15 %. Η κολλώδης γλουτένη του σιταριού, παγιδεύει το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) που παράγεται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και επιτρέπει στη ζύμη να αυξηθεί. Ο σκληρός τύπος του εξαπλοειδούς σιταριού παράγει το αλεύρι που είναι κατάλληλο για μπισκότα.

Το σιτάρι των υγρών περιοχών είναι μαλακότερο, με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη περίπου 8-10 % και λιγότερη γλουτένη. Ο μαλακότερος τύπος του εξαπλοειδούς σιταριού παράγει αλεύρι κατάλληλο για τα κέικ, τα κράκερ, τα μπισκότα, τις ζύμες και τα οικιακά αλεύρια. Το σκληρό τετραπλοειδές σιτάρι (*Triticum turgidum* L.), είναι επίσης σημαντικό, αν και οι μεγάλοι και πολύ σκληροί σπόροι του δίνουν αλεύρι χαμηλής γλουτένης, που είναι η κύρια πηγή για σιμιγδάλι κατάλληλο για τα ζυμαρικά, το κουσκούς, το πλιγούρι και άλλα μεσογειακά τοπικά προϊόντα (Nachit, 1992; Kovacs et al., 1993,1995).

Η βιομηχανία παραγωγής ζυμαρικών απαιτεί σιμιγδάλι υψηλής τεχνολογικής αξίας που λαμβάνεται από ποικιλίες σκληρού σιταριού οι οποίες έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και υψηλή ποιότητα σε γλουτένη. Για να διατηρηθεί αμετάβλητη η ποιότητα του σιμιγδαλιού, δεν πρέπει να γίνει πρόσμιξη με ποικιλίες κακής ποιότητας. Για να αποφευχθεί η πιθανή μίξη ή η αντικατάσταση του σπόρου στις εμπορικές συναλλαγές, ώστε να εξασφαλιστεί ο έλεγχος κατά τη διάρκεια της άλεσης και να αξιολογηθεί η ομοιομορφία και η σταθερότητα των νέων ποικιλιών για την πιστοποίηση πριν από την εμπορία, απαιτούνται νέα συστήματα ποιοτικού ελέγχου, για τον προσδιορισμό των ποικιλιών του σκληρού σιταριού.

Η σιμιγδαλοποιητική ικανότητα του σκληρού σιταριού, είναι σημαντικό χαρακτηριστικό ποιότητας. Σύμφωνα με τον ελληνικό Κώδικα Τροφίμων, τα ζυμαρικά πρέπει να παρασκευάζονται μόνο από σιμιγδάλι που προέρχεται από σκληρό σιτάρι. Το σιμιγδάλι αυτό μπορεί να περιέχει και ένα ποσοστό αλεύρου.

Στοιχεία που χαρακτηρίζουν τη σιμιγδαλοποιητική αξία του σκληρού σιταριού, είναι η απόδοση σε καθαρό σιμιγδάλι (ΚΣ), η ποσότητα του συνολικά εξαγόμενου προϊόντος της σιμιγδαλοποίησης (ΠΣ), (δηλ καθαρό σιμιγδάλι συμπεριλαμβανόμενης και ποσότητας αλεύρου), η κοκκομετρία του σιμιγδαλιού, η καθαρότητα, το χρώμα και η ικανότητά του να δίνει τελικό μεταποιητικό προϊόν με επιθυμητές ιδιότητες (αντοχή στο βρασμό κ.α.). Παρά το γεγονός ότι αυτοί οι παράμετροι μπορούν να επηρεασθούν από τις βιομηχανικές συνθήκες και το ποσοστό εξαγωγής σιμιγδαλιού, εξαρτώνται και από πλήθος άλλων παραγόντων, που επηρεάζονται από το περιβάλλον και είναι κληρονομήσιμοι σε διαφορετικό βαθμό ο καθένας.

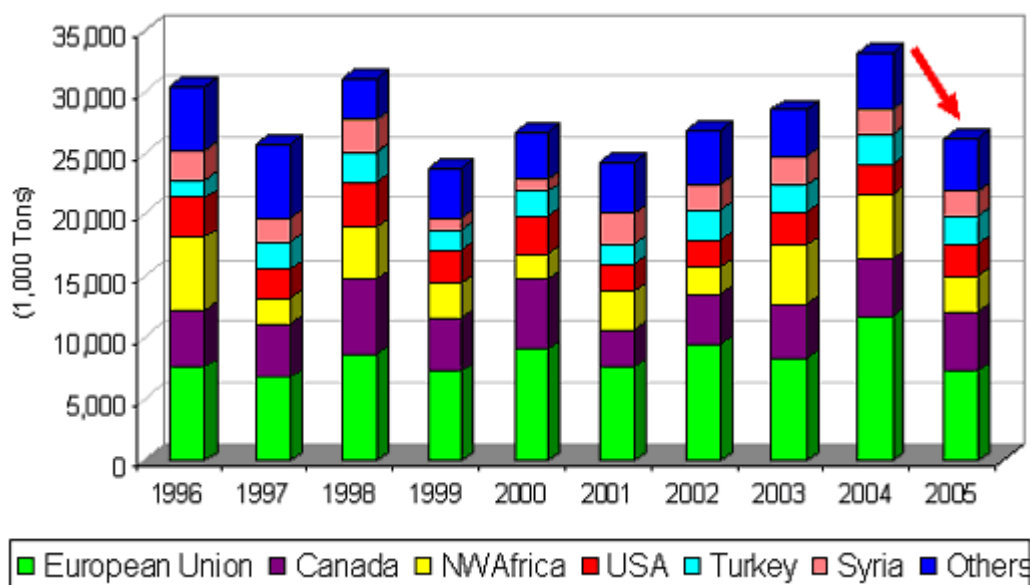
Η επίδραση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων της πρώτης ύλης στην σιμιγδαλοποίηση, αποτέλεσε αντικείμενο έρευνας για πολλούς. Αναφέρθηκε ότι η απόδοση σε σιμιγδάλι συσχετίζεται θετικά με το μέγεθος του κόκκου και το εκκατολιτρικό βάρος (*Matsuo and Dexter, 1980; Dexter et al., 1987*) και ότι η κοκκομετρία του συνδέεται με την υαλότητα του κόκκου και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (*Matsuo and Dexter, 1980; Dexter et al., 1981*). Οι *Dexter and Matsuo (1977)*, βρήκαν ότι η σπουδαιότητα του πρωτεϊνικού περιεχομένου και της σύνθεσής του, συνδέθηκαν από πολύ νωρίς με την ποιότητα των ζυμαρικών και ελέγχονται από τις ιδιότητες του σκληρού σιταριού.

Δεν υπάρχουν οικονομικά σημαντικά διπλοειδή σιτάρια που καλλιεργούνται οπουδήποτε στον κόσμο. Αν και το περισσότερο σιτάρι καλλιεργείται ως τροφή, περίπου το 10 % διατηρείται και χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή, ως σπόρος καθώς και στη βιομηχανία για την παραγωγή δευτερογενών προϊόντων όπως το άμυλο, η βύνη, η δεξτρόζη και η γλουτένη.

3.4 Οικονομική σημασία και παγκόσμια παραγωγή του σκληρού σιταριού

Το σιτάρι αποτελεί την σπουδαιότερη καλλιέργεια παγκοσμίως (με εξαίρεση την Ινδία και την Άπω Ανατολή που είναι το ρύζι και τις Η.Π.Α όπου ο αραβόσιτος αποτελεί την κυριότερη καλλιέργεια). Καλλιεργείται σε όλες τις ηπείρους εκτός της Ανταρκτικής. Οι κύριες χώρες παραγωγής σκληρού σιταριού είναι ο Καναδάς, η Η.Π.Α, η Ε.Ε., οι περιοχές της βορειοδυτικής Αφρικής, η Τουρκία, η Ρωσία, η Κίνα, η Ινδία, η Αυστραλία, η Αργεντινή και η Συρία. Η παγκόσμια παραγωγή σκληρών σιταριών το 2005/06 υπολογίζεται σε περίπου 27 εκατομμύρια τόνους (**εικόνα 4**), αρκετά πιο κάτω από αυτήν του περασμένου χρόνου που ήταν περίπου 33

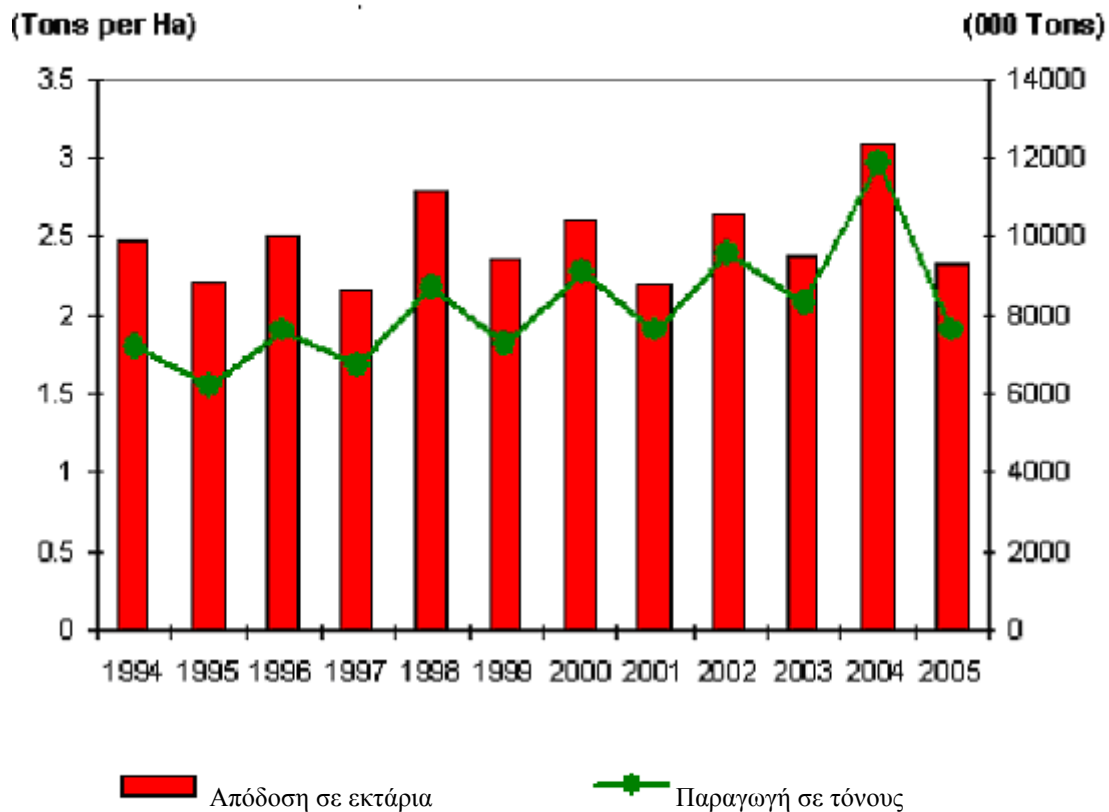
εκατομμύρια, εξαιτίας της ξηρασίας που έπληξε την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ισπανία, Πορτογαλία και Ιταλία) και τη βορειοδυτική Αφρική.



Εικόνα 4: Διαγραμματική παράσταση της παγκόσμιας παραγωγής σκληρού σιταριού κατά τις καλλιεργητικές περιόδους 1996-2005.

(Πηγή: Global Wheat and Durum Market Outlook 2005-2006)

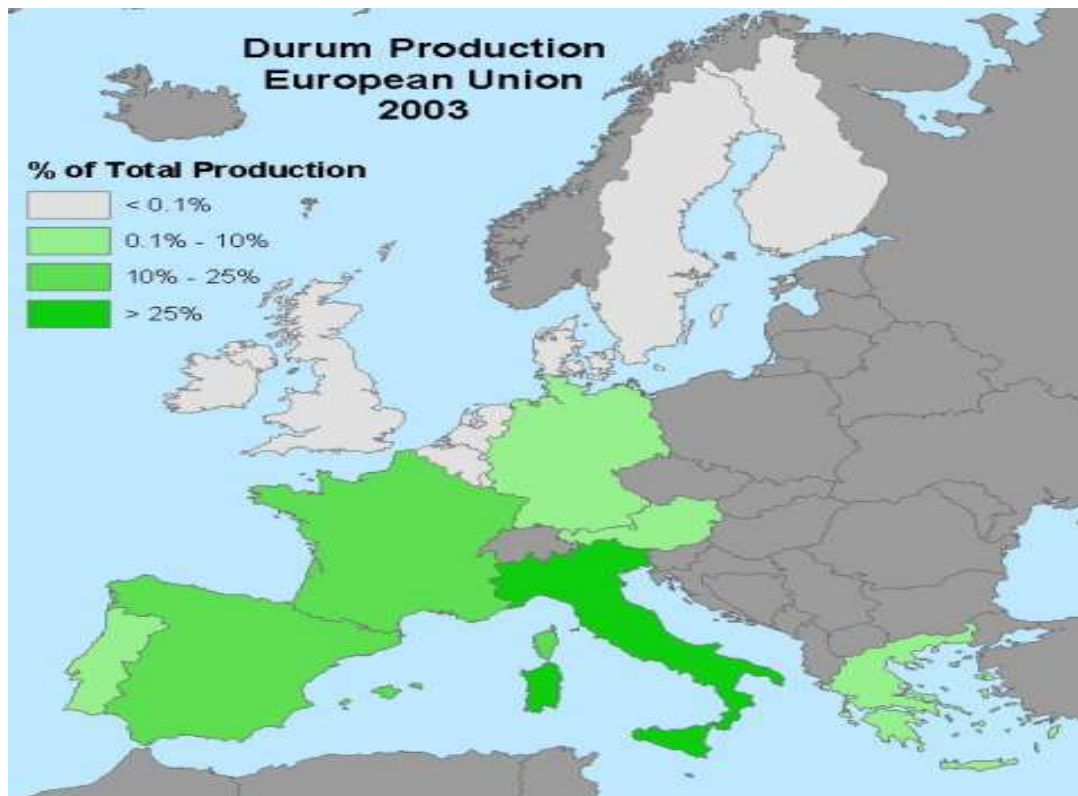
Στην **Ευρωπαϊκή Ένωση**, η παραγωγή σκληρών σιταριών το 2005 ήταν 7,3 εκατομμύρια τόνοι (28% της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής), μειωμένη κατά 38% σε σχέση με την παραγωγή του περασμένου χρόνου που ήταν 11,9 εκατομμύρια τόνοι, και 21% κάτω του μέσου όρου των τελευταίων πέντε ετών. Η καλλιεργούμενη έκταση υπολογίζεται σε 3,4 εκατομμύρια εκτάρια, μειωμένη κατά 13% σε σχέση με τον περασμένο χρόνο, και 8% κάτω του μέσου όρου των τελευταίων πέντε ετών. Αντίστοιχα η παραγωγή υπολογίζεται σε 2,2 τόνους/ εκτάριο, μειωμένη κατά 30% σε σχέση με το 2004 (**εικόνα 5**).



Εικόνα 5: Παραγωγή σκληρού σιταριού στην Ευρωπαϊκή Ένωση κατά τις καλλιεργητικές περιόδους 1994-2005.

(Πηγή: PECAD, Commodity Intelligence Report, 2005-2006)

Η Ε.Ε. είναι πρώτη στην παραγωγή σκληρού σιταριού παγκοσμίως, μπροστά από την Τουρκία, τον Καναδά και τις Η.Π.Α. Το σκληρό σιτάρι αποτελεί παραδοσιακά το 8% της συνολικής παραγωγής σιταριού της Ε.Ε. και καλλιεργείται κύρια σε τέσσερις χώρες κατά μήκος της Μεσογείου. Οι χώρες αυτές είναι η Ιταλία, η Ισπανία, η Γαλλία, και η Ελλάδα, που παράγουν περίπου το 48% ,το 22% , το 18% και το 10% αντίστοιχα, της συνολικής παραγωγής σκληρών σιταριών της Ε.Ε. Το υπόλοιπο 1-2% καλύπτεται από τις παραγωγές της Αυστρίας και της Πορτογαλίας (εικόνα 6).



Εικόνα 6: Χάρτης που απεικονίζει τις περιοχές της Ευρωπαϊκής Ένωσης στις οποίες καλλιεργούνται εκτάσεις σκληρού σιταριού για το έτος 2003.

(Πηγή: <http://www.fas.usda.gov>)

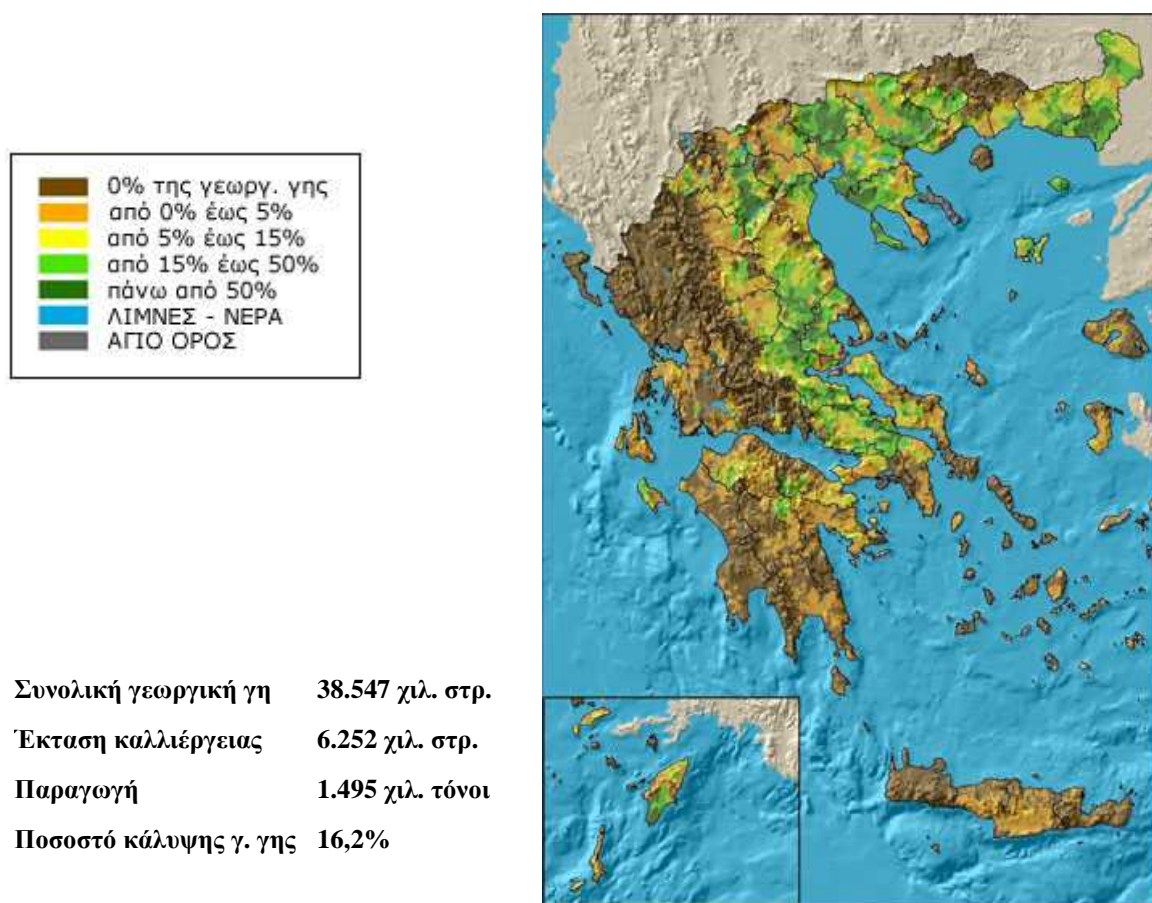
4.5 Καλλιέργεια σκληρού σιταριού στην Ελλάδα

Η χώρα μας έγινε αυτάρκης στην παραγωγή σιταριού την δεκαετία του 1950. Είχε πλεόνασμα μέχρι τα τέλη του 1970, το οποίο διατηρήθηκε μέχρι το 1984. Αλλαγές στην έκταση και την παραγωγή σιταριού προκάλεσε η αναθεώρηση της Κοινής Αγροτικής Πολιτικής (Κ.Α.Π) η οποία άρχισε να εφαρμόζεται το 1993-94. Αποτέλεσμα ήταν η παραγωγή του μαλακού σιταριού από τα 7.000.000 στρέμματα που ήταν το 1980 να πέσει στα 4.000.000 στρέμματα το 1990 ενώ αντίθετα η καλλιέργεια του σκληρού σιταριού αυξήθηκε από τα 2.870.000 στρέμματα που ήταν το 1980 στα 6.000.000 στρέμματα το 1990. Αυτή η ανατροπή όμως οδήγησε σε μείωση της απόδοσης του μαλακού σιταριού και σε υποβάθμιση της ποιότητας του σκληρού σιταριού.

Η Κ.Α.Π. αναθεωρήθηκε με την Agenda 2000-2006 και έδωσε ισχυρά κίνητρα στους παραγωγούς σκληρού σιταριού. Θέσπισε, με τον Κανονισμό 2237/2003, ειδική προμείωση ποιότητας για το σκληρό σιτάρι. Οι ποικιλίες που περιλαμβάνονται στον Κανονισμό, θα αξιολογούνται ως προς χαρακτηριστικά που

έχουν σχέση με την ποιότητα, όπως είναι η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και τα χαρακτηριστικά της, με σκοπό την επιπλέον επιδότηση του παραγωγού. Έτσι με στοιχεία του 2005, η παραγωγή σκληρού σιταριού στην Ελλάδα ήταν 550.000 τόνοι σε μια καλλιεργούμενη έκταση 5.000.000 στρεμμάτων (**εικόνα 7**).

Τα κυριότερα προβλήματα που αντιμετωπίζει η καλλιέργεια του σκληρού σιταριού στην Ελλάδα είναι ότι καταλαμβάνει ημιορεινές και ημιγόνιμες πεδινές μη αρδευόμενες εκτάσεις, από τις οποίες μόνο το 2-3% χρησιμοποιούνται για σποροπαραγωγή. Οι εκτάσεις αυτές είναι οριακές για παραγωγική αξιοποίηση από άλλες καλλιέργειες. Η συνεχή καλλιέργεια των ιδίων χωραφιών υποβαθμίζει την ποιότητα και τη δομή των εδαφών, μειώνει την οργανική ουσία, αλλάζει την οξύτητα, ευνοεί την εξάπλωση των ζιζανίων και δυσκολεύει τον έλεγχο των παθογόνων και των παρασίτων. Επιπλέον, επειδή δεν υπάρχει μεγάλη εφαρμογή της συμβολαιακής γεωργίας και σταθερότητα στις τιμές πώλησης, οι παραγωγοί είναι απρόθυμοι να προχωρήσουν στην παραγωγή ποιοτικών προϊόντων με στόχο την προμήθεια της εγχώριας μεταποίησης.



Εικόνα 7: Ο χάρτης απεικονίζει περιοχές Δημοτικών Διαμερισμάτων, στα οποία η καλλιέργεια σκληρού σιταριού καλύπτει τα παραπάνω ποσοστά γεωργικής γης.

(Πηγή: <http://www.minagric.gr>)

4.6 Βελτίωση σκληρού σιταριού

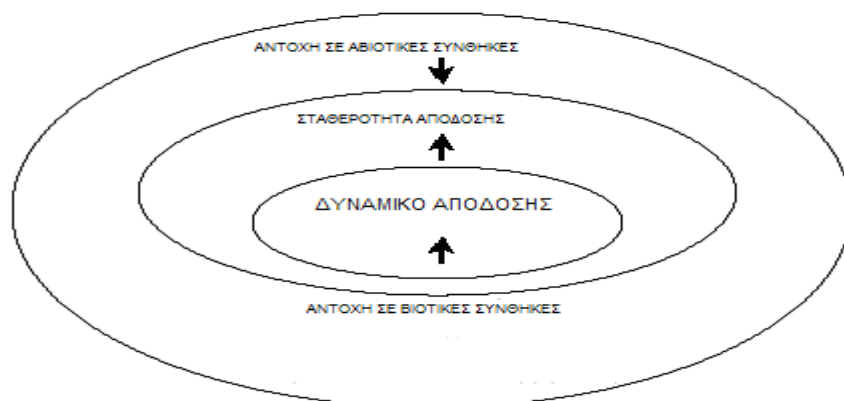
Ο τελικός σκοπός κάθε βελτιωτή, είναι η δημιουργία νέων γενотύπων, βελτιωμένων κατά ένα ή περισσότερα χαρακτηριστικά. Τα χαρακτηριστικά που θα επιλεγούν για βελτίωση εξαρτώνται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος και από την περιοχή καλλιέργειας. Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις τα χαρακτηριστικά που χρειάζονται βελτίωση είναι η απόδοση σε σπόρο, η πρωιμότητα, η ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα, η ανθεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες, η ανθεκτικότητα στις ασθένειες και τα έντομα, η ανθεκτικότητα στην ξηρασία και η βελτίωση της ποιότητας του τελικού προϊόντος.

4.6.1 Βελτίωση αγρονομικών χαρακτηριστικών

Απόδοση

Με τον όρο απόδοση εννοούμε την ποσότητα του τελικού προϊόντος καθορίζοντας ταυτόχρονα και την περιεκτικότητα του σε ξηρά ουσία. Κάθε ποικιλία έχει μια μέγιστη κληρονομούμενη δυνατότητα απόδοσης, η οποία επιτυγχάνεται μόνο όταν οι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση του γενότυπου, βρίσκονται στον κατάλληλο συνδυασμό. Επειδή οι οικολογικές απαιτήσεις μιας ποικιλίας δεν είναι πάντα γνωστές, η κληρονομούμενη ικανότητα μέγιστης απόδοσης καθορίζεται επιπλέον από την προσαρμοστικότητα (εκμετάλλευση των μεταβαλλόμενων συνθηκών εδάφους, κλίματος και καλλιέργειας) και την σταθερότητα απόδοσης.

Μέχρι το 2020, η παραγωγή του σιταριού πρέπει να αυξηθεί κατά 40% για να καλύψει τις παγκόσμιες απαιτήσεις. Σύμφωνα με τους *Borlaug and Dowsell*,(1997) εάν αυξήσουμε την ένταση της παραγωγής στα οικοσυστήματα θα οδηγηθούμε σε προσαρμογή, ενώ εάν τη μειώσουμε θα οδηγηθούμε σε εύθραυστα οικοσυστήματα. Αυτός μπορεί να είναι ο μόνος τρόπος για να διατηρήσουμε την ισορροπία μεταξύ γεωργίας και πληθυσμού. Στο μέλλον η βελτίωση θα προσανατολίζεται στο δυναμικό της απόδοσης (GYP, Genetic Yield Potential) και στη σταθερότητά της. Σκοπός είναι να διατηρηθεί η απόδοση με την ενσωμάτωση χαρακτηριστικών που θα δίνουν αντοχή στις βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Αυτό απαιτεί συνδυασμό εμπειρικών μεθόδων, τεχνολογίας, μορφολογικών και φυσιολογικών δεικτών και βιοτεχνολογικών διαδικασιών.



Εικόνα 8: Προσπάθειες βελτίωσης που έχουν σαν σκοπό να προστατέψουν το υψηλό δυναμικό απόδοσης (Pfeiffer et al., CIHEAM-Options Mediterraneennes).

Το δυναμικό της απόδοσης είναι το αποτέλεσμα της κοινής δράσης των τεσσάρων κληρονομούμενων συστατικών της που είναι: ο αριθμός των παραγωγικών φυτών /μονάδα επιφανείας, ο αριθμός των παραγωγικών στάχων / φυτό, ο αριθμός των κόκκων /στάχυ και το υψηλό βάρος 1000 κόκκων. Η πραγματική του τιμή μπορεί να προσδιοριστεί μόνο όταν ο πληθυσμός φτάσει σε ομοζυγωτία και ομοιογένεια και έχουν γίνει τα απαραίτητα πειράματα με επανάληψη στο χώρο και στο χρόνο.

Οι ποικιλίες σκληρού σιταριού έχουν παρουσιάσει στενότερες διακυμάνσεις προσαρμογής και παραγωγής στα ποικίλα περιβάλλοντα (Saini and Gautam, 1990) σε σύγκριση με αυτές του μαλακού σιταριού. Γι αυτό και η παραγωγή υψηλοαποδοτικών, καλής ποιότητας και σταθερών ποικιλιών σκληρού σιταριού είναι σημαντική. Η στρατηγική για τη βελτίωση απαιτεί διασταυρώσεις και έλεγχο των απογόνων, σε αντίξοες συνθήκες. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την υιοθέτηση κατάλληλων μεθοδολογιών βελτίωσης, που έχουν σαν σκοπό τη συσσώρευση όσο το δυνατόν περισσότερων ευνοϊκών γονιδίων για τη σταθερότητα παραγωγής και για καλύτερη ποιότητα σε ένα ενιαίο γενότυπο, αυξάνοντας το πεδίο της επιλογής ενός μεγαλύτερου αριθμού υψηλής περιεκτικότητας γενοτύπων. Θεωρητικά, τα πλεονεκτήματα στις πρόωρες γενεές διαχωρισμού, είναι καλά τεκμηριωμένα, ανεξάρτητα από τον τρόπο αναπαραγωγής (Joshi, 1979; Chander et al., 1993).

Πρωιμότητα

Η πρωιμότητα αξιολογείται με βάση το χρόνο ξεσταχυάσματος. Η περίοδος αυτή επηρεάζεται τόσο από το γενότυπο όσο και από το περιβάλλον και μπορεί να τροποποιηθεί με την κατάλληλη επιλογή. Τα πρώιμα σιτάρια μπορούν να αποφύγουν τις ζημιές από τη ζέστη, την ξηρασία και τις ασθένειες και συνήθως συγκομίζονται πριν αρχίσουν οι αντίξοες καιρικές συνθήκες (άνεμοι, ξηρασία, χαλάζι, καταιγίδες και πλημμύρες). Επιπλέον παρέχεται ένας έμμεσος τρόπος προστασίας από ασθένειες όπως η μαύρη και η κίτρινη σκωρίαση.

Ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα

Οι πιο συνηθισμένες αιτίες του πλαγιάσματος είναι η βροχή, το χαλάζι, οι ανεμοθύελλες μετά το ξεστάχυασμα και πριν την ωρίμανση και διάφορα παράσιτα. Εφόσον το φυτό πλαγιάσει πριν την ωρίμανση, ο σπόρος δεν γεμίζει καλά, δημιουργείται ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη ωιδίου και άλλων ασθενειών και είναι δύσκολη η συγκομιδή του με την θεριζοαλωνιστική μηχανή. Επειδή το πλάγιασμα εξαρτάται από πολλούς μορφολογικούς, ανατομικούς και φυσιολογικούς παράγοντες, η μελέτη της κληρονομικότητας του είναι αρκετά δύσκολη, γιατί επηρεάζεται από πολλά γονίδια και από το περιβάλλον. Από τις μέχρι τώρα μελέτες φαίνεται ότι είναι δυνατή η αύξηση της ανθεκτικότητας στο πλάγιασμα με τη διασταύρωση κατάλληλων γονέων.

Οι *Bechere et al.* (1991), υποστήριξαν ότι υπάρχουν δύο γονίδια, χωρίς φαινοτυπική δράση, τα οποία ρυθμίζουν την ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα σε ποικιλίες σκληρού σιταριού της συλλογής *Reichenbachii*. Νωρίτερα ο *Knott* (1983, 1984) ανέφερε περιπτώσεις ανθεκτικότητας στο πλάγιασμα σε ποικιλίες σκληρού σιταριού και απέδειξε ότι τα γονίδια που ήταν υπεύθυνα για τα υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας ήταν επιστατικά, έναντι αυτών με τα χαμηλά επίπεδα ανθεκτικότητας.

Ανθεκτικότητα στο τίναγμα του σπόρου

Οι ποικιλίες διαφέρουν ως προς την τάση τους να τινάζουν το σπόρο. Οι απώλειες από το τίναγμα παρατηρούνται όταν καθυστερήσει η συγκομιδή και ιδιαίτερα όταν η ωρίμανση γίνεται με ξηρό και ζεστό καιρό. Η προσπάθεια για τη δημιουργία ανθεκτικών ποικιλιών γίνεται στις περιοχές που η υγρασία κατά τη

διάρκεια του καλοκαιριού είναι χαμηλή και το σιτάρι ωριμάζει και παραμένει στο χωράφι μέχρι τη συγκομιδή, χωρίς βροχή.

Ανθεκτικότητα στις χαμηλές θερμοκρασίες

Οι ποικιλίες του σιταριού διακρίνονται σε χειμωνιάτικες, οι οποίες δεν παθαίνουν μεγάλες ζημιές από τους παγετούς μετά τη σκλήρυνσή τους και σε ανοιξιάτικες άλλες από τις οποίες είναι πολύ ευαίσθητες και άλλες τόσο ανθεκτικές που αντέχουν σε θερμοκρασίες μέχρι και 25° C υπό το μηδέν. Για να αξιολογηθούν οι ποικιλίες ως προς την ανθεκτικότητά τους, καλλιεργούνται σε διαφορετικές περιοχές υπό διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες. Έχει βρεθεί ότι η ανθεκτικότητα στο ψύχος ελέγχεται από πολλά γονίδια που βρίσκονται κύρια στα χρωμοσώματα της ομάδας 5 και στο 4B. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στον πολλαπλασιασμό της F₁ γενιάς η οποία παρόλο που είναι η πιο ευαίσθητη στο κρύο, μπορεί να δώσει μετέπειτα γενιές ανθεκτικές σε αυτές τις θερμοκρασίες.

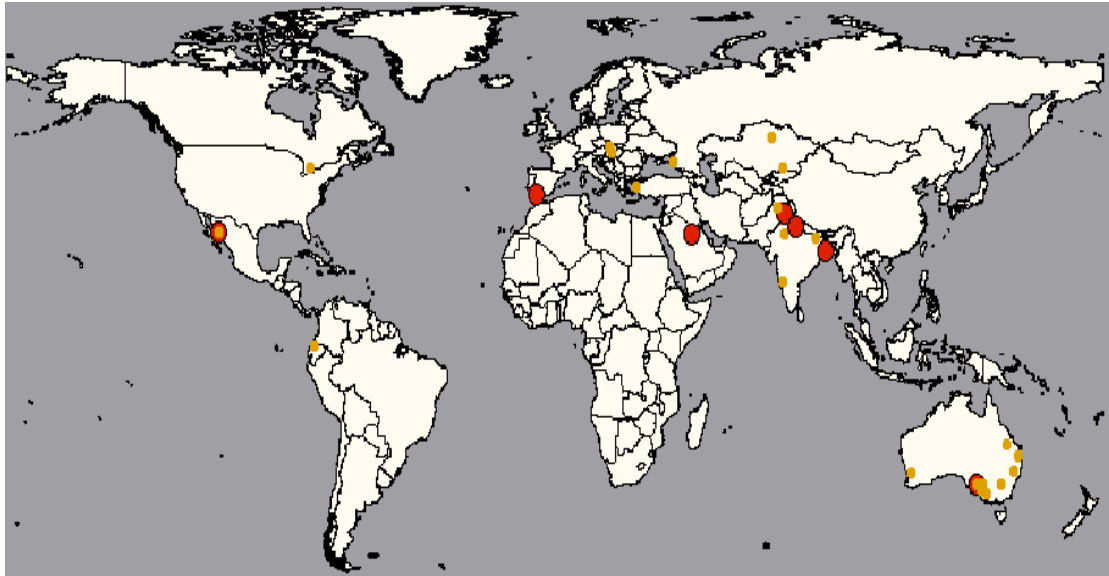
Ανθεκτικότητα στο Βόριο

Η τοξικότητα του Β, είναι ένα σημαντικό πρόβλημα σε άγονες και ημιάγονες περιοχές (εικόνα 9) και προκαλεί σημαντική μείωση στην ανάπτυξη και την απόδοση των φυτών σε πολλές χώρες (Nable *et al.*, 1997). Σύμφωνα με εδαφολογικές μελέτες που έγιναν από τους Gezgin *et al.* (2002), η συγκέντρωση του Β σε 898 εδαφικά μείγματα κυμαίνεται από 0.01 σε 63.9 mg/ kg εδάφους με μέσο όρο 2.48 mg/ kg.

Σχεδόν το 10 % των δειγμάτων στην Κεντρική Ανατολή περιέχουν πάνω από 5 mg Β/ kg εδάφους το οποίο είναι ευρέως αποδεκτό ως κριτική συγκέντρωση της τοξικότητας του Β στα φυτά (Nable *et al.*, 1997). Υπάρχουν πολλές προσεγγίσεις που σχετίζονται με την τοξικότητα του Β και τη μείωση της παραγωγής όπως αυτή που έχει σχέση με το εδαφικό προφίλ και τις οργανικές ενώσεις με τις οποίες το Β είναι ανενεργό στο χώμα (Keren and Bingham, 1985; Nable *et al.*, 1997). Αυτές οι προσεγγίσεις δεν είναι πρακτικά και οικονομικά εφικτές για εφαρμογή σε μεγάλες περιοχές. Εναλλακτικά μπορούν να παραχθούν γενότυποι ανθεκτικοί στην τοξικότητα του Β. Έχουν γίνει πολλές μελέτες αξιολόγησης με σκοπό να καθοριστεί η έκταση της γενετικής παραλλακτικότητας στο Β, σε διαφορετικά είδη φυτών όπως το σιτάρι (Paull *et al.*, 1988; Yau *et al.*, 1995; Jamjod, 1996) και το κριθάρι (Nable, 1988; Mahalakshmi *et al.*, 1995). Από τις μελέτες φάνηκε ότι υπάρχει μεγάλη παραλλακτικότητα στην αποδεκτικότητα του Β και γενότυποι με υψηλότερη τιμή

ανθεκτικότητας μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε προγράμματα βελτίωσης για την ανάπτυξη νέων ανθεκτικών ποικιλιών σε τοξικά εδάφη. Παρόλο που έχουν γίνει πολλές μελέτες ο εσωτερικός μηχανισμός δεν είναι ακόμη γνωστός. Διαφορές στην πρόσληψη από τη ρίζα, στη μεταφορά και στην τελική συγκέντρωση στους βλαστούς παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανθεκτικότητα μεταξύ των γενότυπων. Όπως αναφέρθηκε από τους *Nable et al.*, (1997), το επίπεδο του B που συγκεντρώνεται στις ρίζες δεν σχετίζεται πάντα με τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων τοξικότητας. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η μείωση στις ρίζες μέχρι ένα όριο παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη υψηλής ανθεκτικότητας ενώ σε άλλες περιπτώσεις μεγαλύτερο ρόλο παίζει ο μηχανισμός. Οι *Yau et al.* (1995), υποστήριξαν ότι το σκληρό σιτάρι είναι πολύ ευαίσθητο στην τοξικότητα του B. Σε αυτά, η γενοτυπική παραλλακτικότητα είναι πιο χαμηλή από ότι στο κριθάρι και στα μαλακά σιτάρια. Εξαιτίας της υψηλής ανθεκτικότητας είναι πιο σημαντικό να ελέγξουμε το νέο γενετικό υλικό ώστε να βρούμε ανθεκτικούς γενότυπους. Για να πετύχει ένα βελτιωτικό πρόγραμμα είναι απαραίτητο να υπάρχει γενοτυπική παραλλακτικότητα. Γι αυτό το λόγο μελετήθηκαν πολλές ποικιλίες αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις τα αποτελέσματα έδωσαν λίγους γενότυπους (*Nable et al.*, 1997).

Οι *Torun et al.* (2006), μελέτησαν στο θερμοκήπιο 70 ποικιλίες σκληρού σιταριού (*Triticum durum*) για την ανθεκτικότητα στο Βόριο. Τα φυτά αναπτύχθηκαν σε εδάφη που περιείχαν 12 mg B και έγιναν μεταχειρίσεις σε εδάφη με (+B: 25 mg/kg εδάφους) και χωρίς B (-B: 0 mg B/kg/εδάφους). 30 μέρες μετά την ανάπτυξη μαζεύτηκαν μόνο οι βλαστοί και μελετήθηκαν για τη συγκέντρωση σε B. Διαπιστώθηκε μεγάλη γενοτυπική παραλλακτικότητα όσον αφορά την ανθεκτικότητα και οφείλεται στα συμπτώματα του φύλλου και στη μείωση της παραγωγής. Μεταξύ των γενότυπων που μελετήθηκαν, η ανάπτυξη των γενότυπων Sabil-1, Stn "S", Aconhi-89 και Wadelmez-2 δεν επηρεάστηκε παρόλο που υπήρχε η τάση για αύξηση με τη μεταχείριση σε B. Η περιεκτικότητα σε ξηρά ουσία μειώθηκε με την εφαρμογή του B ιδιαίτερα στους γενότυπους Lagost-3, Dicle-74, Brachoua/134xS-61 and Gerbrach. Στην περίπτωση των Brachoua/134xS-61 and Gerbrach, η εφαρμογή του B μείωσε την ξηρά ουσία. Διαπιστώθηκε ότι οι περισσότερο ευαίσθητοι γενότυποι εμφάνισαν χαμηλότερο ποσοστό B στους βλαστούς από τους γενότυπους που είχαν υψηλότερη ανθεκτικότητα στο B.



Εικόνα 9: Παγκόσμιος χάρτης στον οποίο παριστάνονται με το έντονο χρώμα οι περιοχές που εμφανίζουν τοξικότητα στο βόριο.



Τοξικότητα σε Βόριο



Μη τοξικότητα σε Βόριο

Ανθεκτικότητα στην αλατότητα

Η αλατότητα των εδαφών είναι ένα από τα κυριότερα προβλήματα που αντιμετωπίζει η γεωργία σε άγονες και ημιάγονες περιοχές σε όλο τον κόσμο (*Epstein et al., 1980*). Σε αυτές τις περιοχές, η μη καταλληλότητα του νερού και τα θερμά και υγρά κλίματα προκαλούν υψηλές συγκεντρώσεις αλατότητας, οι οποίες περιορίζουν την παραγωγή (**εικόνα 10**). Περιοχές που δεν στραγγίζουν καλά παρουσιάζουν προβλήματα αλατότητας. Από τα 1.5×10^9 εκτάρια της παγκόσμιας καλλιεργούμενης έκτασης, το 23% έχει προβλήματα αλατότητας και το 37% έχει προβλήματα με τα νιτρικά. Θεωρείται ότι οι μισές από τις αρδευόμενες εκτάσεις, επηρεάζονται από την αλατότητα του αρδευόμενου νερού (*Francois and Maas, 1993*). Η μείωση της αλατότητας μπορεί να προέλθει με στράγγιση και χρήση νερού καλύτερης ποιότητας αλλά το κόστος είναι μεγάλο. Για να ξεπεράσουμε αυτά τα προβλήματα, θεωρείται ότι είναι καταλληλότερη μια βιολογική προσέγγιση (*Epstein et al., 1980; Kingsbury and Epstein, 1984; Azhar and McNeilly, 1989; Watanabe et al., 1992*), η οποία βασίζεται στον έλεγχο του γενετικού υλικού για την παραγωγή ανθεκτικών ποικιλιών (*Kingsbury and Epstein, 1984; Norlyn and Epstein, 1984*).



Εικόνα 10: Αγρός στον οποίο φαίνεται η μείωση της παραγωγής εξαιτίας της αλατότητας του εδάφους

(Πηγή : greengenes.cit.cornell.edu)

Οι *Noori et al. (2000)*, εκτίμησαν την ανθεκτικότητα στην αλατότητα 29 ποικιλιών του *T. durum Desf.* βασιζόμενη στη μέτρηση της ρίζας και στο μήκος του βλαστού των σποροφύτων ηλικίας 14 ημερών, που μεγάλωσαν σε συνθήκες αλατότητας (διαλύματα 100 mM NaCl). Παρατηρήθηκε ότι υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών γεγονός που επιβεβαιώνει ότι υπάρχει πιθανή διαθέσιμη παραλλακτικότητα. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και από τη μελέτη 8 συλλογών σκληρού σιταριού ως προς την επίδραση που είχε η αλατότητα στην ανάπτυξή τους (*Sunidhi and Bhandal, 1992; Boubarker, 1996*). Συγκεκριμένα ελέγχθηκαν η ζωηρότητα του φυτού και οι αποδόσεις σε μια μεγάλη συλλογή ποικιλιών (80–3000) σκληρού σιταριού (*Weltzin, 1984; Francois et al., 1986; Pecetti et al., 1995*).

Ανθεκτικότητα στις σκωριάσεις (Leaf rust)

Οι σκωριάσεις είναι ασθένειες που οφείλονται σε Βασιδομύκητες της τάξης των Uredinales. Προσβάλλουν τα στελέχη, τα φύλλα και σχεδόν όλα τα υπέργεια όργανα σχηματίζοντας χαρακτηριστικούς σωρούς σπορίων με μορφή κηλίδων ή γραμμώσεων.

Διακρίνουμε τις:

- Μαύρη σκωρίαση ή σκωρίαση του στελέχους του σιταριού (**εικόνα 11**). Οφείλεται στο μύκητα *Puccinia graminis*. Θεωρήθηκε η μεγαλύτερη ασθένεια κατά τους Ρωμαϊκούς χρόνους αλλά ο βιολογικός της κύκλος έγινε γνωστός το 1767. Προσβάλλει δευτερευόντως τα όργανα του στάχυ.
- Καστανή σκωρίαση ή σκωρίαση των φύλλων (**εικόνα 12**). Οφείλεται στο μύκητα *Puccinia recondite*. Αποτελεί την πιο διαδεδομένη ασθένεια του σιταριού και κυριαρχεί σε περιοχές όψιμης ωρίμανσης του σιταριού.
- Κίτρινη σκωρίαση ή γραμμωτή σκωρίαση. Οφείλεται στο μύκητα *Puccinia striiformis*. Εμφανίζεται στα μεγαλύτερα υψόμετρα αλλά όχι σε περιοχές που προσβάλλονται από τη μαύρη και την καστανή σκωρίαση.



Εικόνα 11: Μαύρη σκωρίαση του σιταριού
(Πηγή :greengenes.cit.cornell.edu/wpest.html)



Εικόνα 12:Καστανή σκωρίαση του σιταριού
(Πηγή:greengenes.cit.cornell.edu/wpest.html)

Ο μύκητας μπορεί να προκαλέσει ζημιά στο εξαπλοειδές σιτάρι (*Triticum aestivum* L.) και στο τετραπλοειδές σιτάρι (*T. turgidum* L. var. *durum*). Σε ορισμένες περιοχές του κόσμου το *T. triticina* πιο συχνά επηρεάζει το μαλακό σιτάρι, παρά το σκληρό σιτάρι. Στη Β. Αμερική το μαλακό σιτάρι είναι πιο ευαίσθητο σε μια νέα φυλή του μύκητα. Κάτι τέτοιο παρατηρήθηκε και στο Μεξικό, όπου ο μύκητας που δεν είχε προκαλέσει σημαντικές απώλειες στην παραγωγή μέχρι το 2001, τη χρονιά εκείνη εμφάνισε μια καινούρια φυλή, την BBG/BN, η οποία προσέβαλε την πιο

διαδεδομένη ποικιλία του Μεξικού, την Altar C84 . Η μελέτη των γονιδίων έδειξε ότι η φυλή δεν προήλθε από παλαιότερες αλλά μάλλον είχε εισαχθεί και ότι γονίδια που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα όταν υπάρχουν στο μαλακό σιτάρι, έχουν ένα μέσο όρο ζωής 3 ετών.

Ο έλεγχος της ασθένειας βασίζεται σε ανθεκτικά γονίδια που βρίσκονται είτε στα καλλιεργούμενα είδη είτε σε άγριους συγγενείς τους (*Aegilops* spp.) και αποτελεί την οικονομικότερη μέθοδο αντιμετώπισής της. Γίνεται με την αναγνώριση του γονιδίου ανθεκτικότητας στο υπάρχον γενετικό υλικό και στις καλλιεργούμενες ποικιλίες. Πρόσφατα απομονώθηκαν 46 γονίδια που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα στο *leaf rust* (*Lr*) τα οποία χαρτογραφήθηκαν σε συγκεκριμένα χρωμοσώματα (*McIntosh et al., 1998*). Από αυτά, 24 γονίδια απομονώθηκαν από το εξαπλοειδές σιτάρι και μόνο 2 από το *T. turgidum* (14a, 23).

Υπάρχει η δυνατότητα είτε να παραχθούν ποικιλίες που αποφεύγουν την αρρώστια (ενσωμάτωση χαρακτηριστικών, όπως είναι η πρωιμότητα, τα οποία καθιστούν το φυτό ικανό να ξεφύγει τη ζημιά), είτε να χρησιμοποιηθούν ανεκτικές ποικιλίες των οποίων ο χειρισμός είναι δύσκολος στα βελτιωτικά προγράμματα, είτε να γίνει εισαγωγή γονιδίων εξειδικευμένης ανθεκτικότητας.

Ανθεκτικότητα στον ιό Barley Yellow Dwarf

Παρόλο που το σκληρό σιτάρι (*Triticum durum*) είναι ευαίσθητο στον ιό του *Barley Yellow Dwarf* (BYDV), υπάρχουν λίγες πληροφορίες για ανθεκτικότητα ή ανεκτικότητα στον ιό BYDV και αυτό γιατί η αναγνώριση των συμπτωμάτων προσβολής είναι δύσκολη (*Caetano, 1984*). Τα κύρια συμπτώματα της προσβολής είναι το κιτρίνισμα, ο νανισμός, το χάσιμο αδερφιών και τα άγονα στάχυα ενώ η επιβίωσή τους εξαρτάται άμεσα από κλιματολογικούς και βιολογικούς παράγοντες. Στην περίπτωση επιλογής ανθεκτικών ποικιλιών, αυτή πρέπει να συνδυάζεται τόσο με την απόδοση όσο και με το δείκτη συγκομιδής γιατί αυτά τα κριτήρια είναι πιο αξιόπιστα.

Οι *Cheour et al.*(1989), μελέτησαν καθαρές σειρές σκληρού σιταριού και διαπίστωσαν ότι εμφάνισαν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στο BYDV από αυτήν που αναφέρεται στην περίπτωση του μαλακού σιταριού (*Qualset et al., 1973 ; Qualset et al., 1977*), κάτι που αποδεικνύει ότι η ανθεκτικότητα είναι κληρονομήσιμη και η γενετική βελτίωσή της είναι δυνατή.

Ανθεκτικότητα στη φουσαρίωση

Το *Fusarium head blight* (FHB) είναι μια καταστροφική ασθένεια για όλους τους τύπους του καλλιεργούμενου σιταριού αφού προκαλεί σημαντική μείωση της παραγωγής (εικόνα 13). Μερική αντίσταση βρέθηκε στο μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum* L.), ενώ δεν βρέθηκαν σημαντικές πηγές αντίστασης στο σκληρό (*T. turgidum* L. var. *durum*). Μια σημαντική περιοχή ανθεκτικότητας (QTL), η *Qfhs.ndsu-3AS*, βρέθηκε στο χρωμόσωμα 3A του *T. dicoccoides*, έναν άγριο συγγενή του σκληρού σιταριού.

Εικόνα 13: Σιτάρι προσβεβλημένο από φουσαρίωση
(Πηγή : greengenes.cit.cornell.edu)



Οι *Chen et al.*(2007), μελέτησαν τη γενωμική περιοχή που περιέχει το QTL με τη χρήση δεικτών EST, STS και απλούς δείκτες μικροδορυφόρων (SSR) . Ανιχνεύθηκαν 45 νέες περιοχές στο χρωμόσωμα 3A και ο χάρτης που δημιουργήθηκε αποτελείται από 55 δείκτες με γενετική απόσταση 277.2 cM. Το QTL, *Qfhs.ndsu-3AS*, τοποθετήθηκε στο εσωτερικό χρωμόσωμα στα 11.5 cM και περικλείεται από τις περιοχές , *Xfcp401* και *Xfcp397.2*. Η μέση γενετική απόσταση μεταξύ της γονιδιακής περιοχής του QTL μειώθηκε από 4.9 cM που ήταν σε προηγούμενη μελέτη, στα 3.5 cM . Συγκριτικοί χάρτες δείχνουν ότι η *Qfhs.ndsu-3AS* δεν είναι ομόλογη της *Qfhs.ndsu-3BS*, μια σημαντική περιοχή QTL που βρίσκεται στο μαλακό σιτάρι. Αυτό βοηθάει τις προσπάθειες για κλωνοποίηση της *Qfhs.ndsu-3AS* και χρήση της στη μοριακή βελτίωση με τη βοήθεια δεικτών.

Ανθεκτικότητα στην ξηρασία

Η παγκόσμια παραγωγή τροφίμων περιορίζεται πρώτιστα από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Είναι πολύ δύσκολο να βρεθούν περιοχές απαλλαγμένες από συνθήκες στρες και στις οποίες το φυτό να μπορεί να πετύχει τις μεγαλύτερες

αποδόσεις του. Οι αβιοτικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες θεωρούνται η κύρια αιτία (71%) της μείωσης των αποδόσεων (Boyer, 1982). Η ξηρασία έχει επιπτώσεις στην αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών μέσω των αλλαγών στην έκφραση του μεταβολισμού του μαλακού σιταριού και των γονιδίων του (Leopold, 1990) ,(εικόνα 14). Συνεχίζει να είναι μια πρόκληση για τους επιστήμονες και τους βελτιωτές, παρά την έρευνα δεκαετιών. Αποτελεί έναν περιοριστικό παράγοντα σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες και μια περιστασιακή αιτία απωλειών της γεωργικής παραγωγής (Ceccarelli και Grando, 1996). Η δυνατότητα των φυτών ή των ποικιλιών να αυξάνονται και να παράγουν ικανοποιητικά στις περιοχές με έλλειψη νερού, αναφέρεται ως ανθεκτικότητα στην ξηρασία.



Εικόνα 14: Φυτό σιταριού υπό συνθήκες έλλειψης νερού

(Πηγή: greengenes.cit.cornell.edu)

Δεδομένου ότι η έλλειψη του νερού είναι περιοριστικός παράγοντας στην απόδοση στις ξηρές περιοχές, μια καλύτερη γνώση και ένας έλεγχος των μηχανισμών, επιτρέπουν στις καλλιέργειες να προσαρμοστούν σε συνθήκες έλλειψης νερού και να διατηρήσουν τις διαδικασίες που περιλαμβάνονται στην αύξηση, την ανάπτυξη και την παραγωγή. Η ανάλυση των φυσιολογικών απαιτήσεων των διάφορων γενοτύπων σιταριού στην έλλειψη νερού, οδήγησε στην ανάπτυξη αποδοτικότερων κριτηρίων επιλογής. Πολλές φυσιολογικές διαδικασίες που συνδέονται με την αύξηση της παραγωγής και την εξέλιξη επηρεάζονται από την ανεπάρκεια νερού (Hsiao, 1973; Boyer and Mcpherson, 1975 ; Begg and Turner, 1976) . Για το σκοπό αυτό εξετάστηκαν, η υδατική κατάσταση του φύλλου που περιγράφει την υδατική κατάσταση του φυτού και η φωτοσύνθεση, που συνδέεται

άμεσα με την απόδοση με δεδομένο ότι η μείωσή της μπορεί να προέλθει από το κλείσιμο των στομάτων σε συνθήκες στρες νερού (Boyer, 1981).

4.6.2 Βελτίωση χαρακτηριστικών ποιότητας του σπόρου

Αλεστική ποιότητα

Επειδή το πρώτο βήμα στην κατεργασία του σιταριού είναι το άλεσμα η αλευροβιομηχανία είναι αυτή που βάζει τις πρώτες προδιαγραφές όσον αφορά την ποιότητα. Αυτό που ενδιαφέρει είναι η αλεστική ποιότητα η οποία εξαρτάται από :

- i.) **Το μέγεθος των κόκκων.** Η αλευροβιομηχανία προτιμάει μεγάλους σπόρους στους οποίους όμως δεν θα μειώνεται το υαλώδες του κόκκου, γιατί τότε χειροτερεύει δομικά το ενδοσπέρμιο. Το μέγεθος των κόκκων προσδιορίζεται με ακρίβεια με βάση το βάρος 1000 κόκκων το οποίο ελέγχεται γενετικά από ένα ή δύο γονίδια, ανάλογα με την ποικιλία.
- ii.) **Την ομοιομορφία των κόκκων.** Η ομοιομορφία των κόκκων έχει μεγάλη σημασία γιατί μειώνει τις απώλειες που προκαλούνται από την αφαίρεση του ενδοσπερμίου. Αν ο σπόρος δεν είναι ομοιόμορφος θα πρέπει να διαχωριστεί σε κλάσματα για να περάσει χωριστά από το μύλο. Κάτι τέτοιο απαιτεί χρόνο και ενέργεια. Οι μεγαλύτεροι μεγέθους σπόροι βρίσκονται στη μέση του σταχυού και στα κατώτερα ανθίδια. Επομένως αυτό που ενδιαφέρει την αλευροβιομηχανία είναι το σιτάρι που προέρχεται από παραγωγικά φυτά που προέρχονται από πολλά σταχίδια ανά στάχυ αλλά λίγα γόνιμα ανθίδια ανά σταχίδιο.
- iii.) **Τη δομή του ενδοσπερμίου.** Χαρακτηρίζεται από το υαλώδες και τη σκληρότητά του, τα οποία επηρεάζουν το ποσό της ενέργειας που χρειάζεται για την αλευροποίηση, καθώς και το ποσοστό αλεύρου που προκύπτει. Σχετίζονται με την περιεκτικότητα και την ποιότητα σε γλουτένη καθώς και με την περιεκτικότητα σε ολική πρωτεΐνη και την κατανομή της μέσα στο ενδοσπέρμιο. Γνωρίζουμε ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ του υαλώδες και της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη. Επειδή όμως τα γονίδια που ελέγχουν την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη βρίσκονται σε όλα τα χρωμοσώματα εκτός από τα 2D και 4D καταλαβαίνουμε ότι το χαρακτηριστικό αυτό προσδιορίζεται με πολυγονιδιακό τρόπο.
- iv.) **Αναλογία περικαρπίου.** Το περικάρπιο αποτελείται από την επιδερμίδα, την υποδερμίδα, τις δύο στρώσεις των επιμηκυσμένων και διαγώνιων κυττάρων

και από την επιδερμίδα του νουκέλλου σε αναλογία 9-11%. Όσο πιο μεγάλος είναι ο κόκκος τόσο μικρότερη είναι η εκατοστιαία αναλογία του περικαρπίου και τόσο μεγαλύτερη η απόδοση του σε αλεύρι.

- v.) **Χρώμα περικαρπίου και ενδοσπερμίου.** Η αλευροβιομηχανία προτιμά κόκκινα σιτάρια γιατί οτιδήποτε απομένει από το περικάρπιο περιορίζει κάπως το πολύ λευκό χρώμα του αλεύρου. Το χρώμα προσδιορίζεται από τρία κυρίαρχα γονίδια (R1,R2,R3) τα οποία δρουν αθροιστικά και βρίσκονται στα χρωμοσώματα 3D, 3A και 3 B. Όσον αφορά το χρώμα του ενδοσπερμίου, αν το σιτάρι προορίζεται για ζυμαρικά θέλουμε χρώμα βαθύ κίτρινο και όχι λευκό γιατί αυτά τα προϊόντα πωλούνται σε καλύτερη τιμή στην αγορά.
- vi.) **Το εκατολιτρικό βάρος.** Μεταβάλλεται καθώς μεταβάλλεται το μέγεθος του κόκκου, το υαλώδες, το σχήμα του κόκκου και η υφή του ενδοσπερμίου. Δεν αποτελεί ιδιότητα της ποικιλίας αλλά μια τεχνητή τιμή που επηρεάζεται από το μέγεθος των κενών μεταξύ των κόκκων του σιταριού, το οποίο εξαρτάται από περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Αρτοποιητική ικανότητα

Η αρτοποιητική ικανότητα έχει μεγάλη σημασία για τα σκληρά εξαπλοειδή σιτάρια. Η αρτοβιομηχανία προτιμά σιτάρια που δίνουν αλεύρι με μεγάλη απορροφητικότητα νερού και καρβέλι με μεγάλο όγκο, καλή γεύση και ελαστικότητα. Τα χαρακτηριστικά που μας ενδιαφέρουν για το σκοπό αυτό είναι:

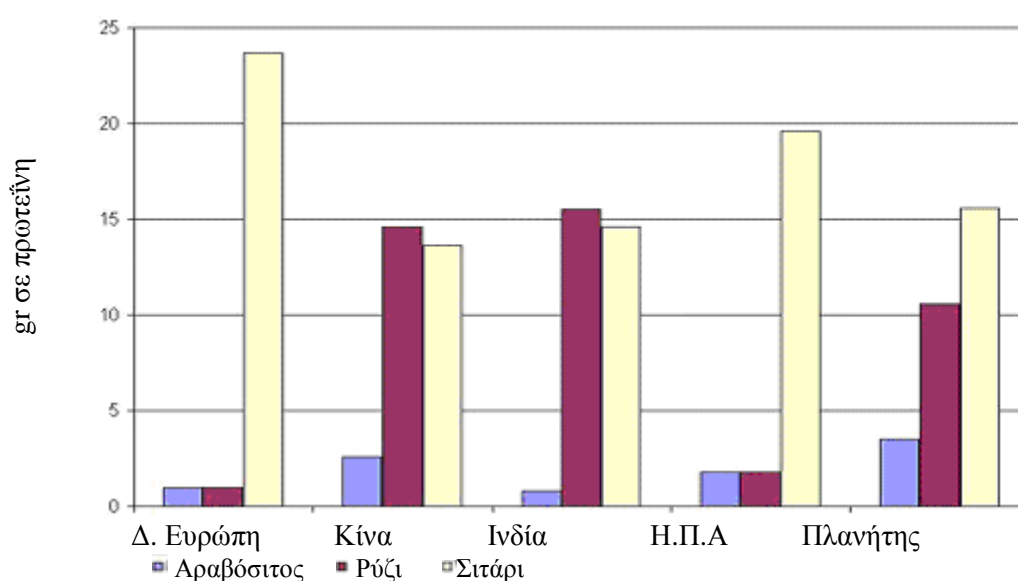
- i.) **Η ποιότητα της γλουτένης.** Καθορίζεται από τη σχέση της γλοιαδίνης που διαλύεται σε αλκοόλη και της μη διαλυτής γλουτένης. Η ελαστικότητα της γλουτένης εξαρτάται από την ποσότητα της γλοιαδίνης. Η σχέση των δύο αυτών συστατικών εξαρτάται από το γονότυπο αλλά επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό και από το περιβάλλον. Η σχέση της γλουτένης και της ολικής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη δεν είναι ξεκαθαρισμένη και οι πληροφορίες που δίνονται δεν είναι αξιόπιστες, παρόλο που η γλουτένη αποτελεί το 80% της ολικής πρωτεΐνης. Επομένως για την εξέταση της αρτοποιητικής ικανότητας ενός δείγματος πιο αξιόπιστες είναι οι ενδείξεις που αφορούν την ποιότητα και τη ποσότητα της γλουτένης. Στα σιτάρια που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή ζυμαρικών η περιεκτικότητα σε γλουτένη κυμαίνεται από 10-30%.
- ii.) **Η ποιότητα του αμύλου.** Η αρτοποιητική ικανότητα του αλεύρου επηρεάζεται από την ποιότητα του αμύλου, την περιεκτικότητα του

ενδοσπερμίου σε σάκχαρα και από την ενέργεια της αμυλάσης, των πεντοζών και άλλων ενζύμων που δρουν στο ενδοσπέρμιο.

Τα γονίδια που επηρεάζουν την αρτοποιητική ικανότητα έχουν εντοπιστεί στα χρωμοσώματα 2A,3A,4A,5A,2B,3B,4B,5B,6B,1D,2D,3D και 4D.

Πρωτεΐνη

Το σιτάρι είναι βασικό είδος για την ανθρώπινη διατροφή και καταναλώνεται καθημερινά από εκατομμύρια ανθρώπους σε όλο τον πλανήτη. Περιέχει περισσότερη πρωτεΐνη από οποιοδήποτε άλλο δημητριακό και ο αραβόσιτος είναι ο μόνος σπόρος που μπορεί να προσφέρει περισσότερη ενέργεια (**εικόνα 15**).



Εικόνα 15: Ημερήσια πρόσληψη πρωτεΐνης, σε παγκόσμιο επίπεδο, από την κατανάλωση των τριών κυριότερων σπόρων για την ανθρώπινη διατροφή, (2002) (Πηγή <http://www.gramene.org>).

Όσον αφορά την πρωτεΐνη μας ενδιαφέρουν τα εξής χαρακτηριστικά της:

- i.) **Βιολογική αξία.** Επειδή το σιτάρι είναι βασικό για την ανθρώπινη διατροφή, ενδιαφέρουν το ολικό ποσό και η σύσταση, όσον αφορά στα αμινοξέα της πρωτεΐνης.
- ii.) **Περιεκτικότητα της πρωτεΐνης.** Κυμαίνεται από 12-15 % αλλά μπορεί να φτάσει και μέχρι 22-25%. Είναι κληρονομούμενο χαρακτηριστικό αλλά επηρεάζεται και από το περιβάλλον. Η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, Grain Protein Content (GPC), είναι ένα σημαντικό οικονομικό χαρακτηριστικό στο σιτάρι γιατί καθορίζει την θρεπτική αξία και την ποιότητα του. Η συγκέντρωση και η ποιότητα της πρωτεΐνης, είναι υπεύθυνες

για την ποιότητα των παραγόμενων ζυμαρικών και κατά συνέπεια παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή (D'Egidio et al., 1990). Από την άλλη, χάρη σε αυτό το χαρακτηριστικό καταβάλλονται στους παραγωγούς μεγαλύτερες τιμές, εφόσον στόχος είναι η παραγωγή ποιοτικών ποικιλιών. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει ισχυρή σχέση μεταξύ της GPC και της ποιότητας των ζυμαρικών, της καλύτερης σταθερότητάς τους στη διάρκεια του μαγειρέματος και της ανοχής στις υψηλές θερμοκρασίες ψησίματος (Matsuo et al., 1972, 1982; Wasik, 1975; Autran et al., 1986; D'Egidio et al., 1990; Feillet and Dexter, 1996).

- iii.) **Αμινοξέα.** Στην περίπτωση της πρωτεΐνης του σιταριού δεν υπάρχουν δύο από τα απαραίτητα αμινοξέα, η λυσίνη και η μεθειονίνη. Η έλλειψη της λυσίνης προκαλεί μείωση της πεπτικότητας της πρωτεΐνης. Η περιεκτικότητα σε λυσίνη είναι κληρονομούμενο χαρακτηριστικό αλλά επηρεάζεται και από οικολογικούς παράγοντες, από διάφορες καλλιεργητικές φροντίδες και από τη λίπανση. Στόχος των βελτιωτών είναι η παραγωγή ποικιλιών με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λυσίνη. Κάτι τέτοιο είναι δύσκολο δεδομένου ότι υπάρχει μικρή παραλλακτικότητα από ποικιλία σε ποικιλία και οι δυνατότητες διασταυρώσεων για αυτό το σκοπό είναι περιορισμένες.

3.6.3 Χρήση των παραδοσιακών ποικιλιών στη βελτίωση

Οι παραδοσιακές ποικιλίες ήταν το πρώτο υλικό που αξιοποιήθηκε από τους βελτιωτές για τη δημιουργία των σύγχρονων ποικιλιών (Allard, 1960). Στην Ελλάδα οι παραδοσιακές ποικιλίες σιταριού έπαιξαν σημαντικό ρόλο στη βελτίωση. Πολλές από αυτές, χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία των ποικιλιών του Ινστιτούτου Σιτηρών της μεταπολεμικής περιόδου και συνέβαλλαν στην αυτάρκεια της χώρας σε σιτάρι (Χρηστίδης, 1963). Η αξιοποίηση παραδοσιακών ποικιλιών σιταριού που στην πραγματικότητα είναι πληθυσμοί (μίγματα καθαρών σειρών), είναι δυνατή με τη συμβατική μεθοδολογία. Τέτοιες ποικιλίες, αναμένεται να είναι πηγές γενετικής παραλλακτικότητας για επιθυμητά γονίδια που σχετίζονται, με ανθεκτικότητα σε καταπονήσεις, προσαρμοστικότητα σε ειδικές συνθήκες και ποιοτικά χαρακτηριστικά.

Ο Ζαμάνης (1983) αναφέρει ότι μόνο το 3% της καλλιεργούμενης με σκληρό σιτάρι έκτασης της Ελλάδας, χρησιμοποιεί τοπικές ποικιλίες (landraces). Σε σύγκριση

με τις σύγχρονες υψηλοαποδοτικές ποικιλίες οι οποίες αποδίδουν καλά σε ευνοϊκές συνθήκες αλλά αντιμετωπίζουν προβλήματα κατά την προσαρμογή τους σε δυσμενείς συνθήκες περιβάλλοντος, οι τοπικές ποικιλίες φαίνεται ότι προσαρμόζονται καλύτερα και είναι πιο σταθερές σε δυσμενή περιβάλλοντα, αλλά δεν αποδίδουν ικανοποιητικά σε ευνοϊκά. Θα ήταν καλό να συνδυαστεί η υψηλή απόδοση των σύγχρονων ποικιλιών, με την ανθεκτικότητα των τοπικών στις καταπονήσεις (βιοτικές και αβιοτικές) και τα ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά ποιότητας (*Boggini et al., 1990*).

Ο όρος τοπικές ποικιλίες (*landraces*) αναφέρεται σε τοπικούς πληθυσμούς, οι οποίοι δεν έχουν υποβληθεί στη συνήθη διαδικασία των βελτιωτικών προγραμμάτων από τους βελτιωτές και είναι προσαρμοσμένες, εδώ και αιώνες, σε μια περιοχή, ύστερα από φυσική επιλογή και διαχείριση των γεωργών που τις καλλιεργούν. Οι τοπικοί αυτοί πληθυσμοί αποτελούνται από μίγματα γενοτύπων με αναμενόμενη γενετική παραλλακτικότητα για διάφορα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά (*Tesemma and Bechere, 1998*).

Μια παραδοσιακή ποικιλία σιταριού, η οποία προέρχεται από μείγμα ομόζυγων γενοτύπων στα αυτογονιμοποιούμενα φυτά, παρουσιάζει σημαντική γενετική παραλλακτικότητα. Οι *Poiarkova and Blum* (1983), βρήκαν σημαντική παραλλακτικότητα όσον αφορά την ανάπτυξη και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά σε παραδοσιακές ποικιλίες σκληρού σιταριού στο Ν Ισραήλ. Οι *Pathak and Nema* (1985), ανέφεραν υψηλή παραλλακτικότητα όσον αφορά την απόδοση ποικιλιών σιταριού στην Ινδία. Ο *Negassa* (1986), κατέληξε στο ότι οι παραδοσιακές ποικιλίες της Αιθιοπίας, αποτελούν πλούσια πηγή ανθεκτικότητας σε ασθένειες και βελτίωση της παραγωγής. Οι *Yilmaz and Tahir* (1988), βρήκαν σημαντική παραλλακτικότητα σε αγρονομικά και άλλα χαρακτηριστικά σε 32 βοτανικές ποικιλίες σε συλλογή που προήλθε από την Ανατολή. Όμοια οι *Ehdaie and Waines* (1989a), ανέφεραν μέση έως υψηλή κληρονομικότητα για ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά σε καθαρές σειρές που προέρχονται από Ιρακινές ποικιλίες.

Η γενετική σύνθεση των σκληρών σιταριών που καλλιεργούνται στη λεκάνη της Μεσογείου ποικίλλει κατά ένα μεγάλο μέρος, περιλαμβάνοντας παραδοσιακές ποικιλίες, τοπικές ποικιλίες, και σύγχρονες ποικιλίες που χαρακτηρίζονται από υψηλή και ευρεία προσαρμοστικότητα όσον αφορά την παραγωγή και την ποιότητα (*Nachit et al., 1998 ; Pfeiffer et al., 2000*).

Από τις πρώτες δεκαετίες του 20 αιώνα και παρόμοια με το ότι έγινε στο μαλακό σιτάρι και το κριθάρι, ο ερχομός νέων ποικιλιών οδήγησε σε εγκατάλειψη

των τοπικά προσαρμοσμένων μη βελτιωμένων και γενετικά διαφοροποιημένων ποικιλιών. Τελευταία όμως, έχει δοθεί ιδιαίτερη σημασία στις παραδοσιακές ποικιλίες, για δύο κυρίως λόγους: την παρουσία γενετικής παραλλακτικότητας για συγκεκριμένους συνδυασμούς γονιδίων και την ταχύτητα με την οποία χάνονται λόγω της αντικατάστασής τους από εμπορικές ποικιλίες (*Esquinas and Alcazar, 1993*).

Διαπιστώθηκε ότι το σπάνιο υλικό, όπως οι τοπικές ποικιλίες που δεν καλλιεργούνται πια, αλλά είναι ακόμα διαθέσιμες στις τράπεζες γονιδίων, είναι χρήσιμο για να διευρύνει τη γενετική βάση των προγραμμάτων βελτίωσης (*Allard, 1996*).

Γενετική διάβρωση των ποικιλιών σκληρού σιταριού και μελέτη γενετικής παραλλακτικότητας

Λέγεται ότι το γενετικό υλικό των κυριότερων δημητριακών, ιδιαίτερα των αυτογονιμοποιούμενων, έχει υποστεί μια γενική μείωση της γενετικής βάσης, ως αποτέλεσμα της υψηλής πίεσης επιλογής, της επαναλαμβανόμενης χρήσης του προσαρμοσμένου γενετικού υλικού και της υιοθέτησης μεθόδων βελτίωσης που δεν ευνοούν το γενετικό επανασυνδυασμό (*Allard, 1996 ; Rosegrant et al., 1997 ; Hoisington et al., 1999*). Εντούτοις, η συζήτηση ως προς την έκταση και τις συνέπειες αυτής της μείωσης της παραλλακτικότητας είναι ακόμα ανοικτή (*LE.Buanec, 1999; Smale et al., 2001*) και απαιτούνται πιο λεπτομερή φαινοτυπικά και μοριακά στοιχεία (*Donini et al., 2000b*). Επιπλέον πρέπει να διασφαλιστεί το γενετικό κέρδος όσον αφορά τη δυνατότητα παραγωγής, την προσαρμοστικότητα και την ανοχή σε πολύπλοκες βιοτικές και αβιοτικές πιέσεις για να στηριχτεί η μελλοντική αύξηση στην ζήτηση τροφίμων (*Pfeiffer et al., 2000*).

Μεταξύ των μεσογειακών χωρών, η Ιταλία έχει την πιο μακροχρόνια παράδοση στην παραγωγή σκληρού σιταριού (*Bozzini et al., 1998*) και το γενετικό υλικό της μπορεί να θεωρηθεί σαν μια από τις πλουσιότερες και πολυτιμότερες πηγές γενετικού υλικού. Υπάρχουν ενδείξεις ότι στις προηγούμενες δεκαετίες η γενετική βάση του γενετικού υλικού των σκληρών σιταριών μπορεί να είχε διαβρωθεί (*Pecetti and Annicchiarico, 1998*), κυρίως λόγω της περιορισμένης διαφοροποίησης της τελικής χρήσης, των υψηλών απαιτήσεων των καταναλωτών όσον αφορά στην ποιότητα, στην ομοιομορφία των μεθόδων βελτίωσης που χρησιμοποιούσαν οι βελτιωτές, και στην σύνδεση με τη διάχυση σχετικά μικρού αριθμού σημαντικών γενοτύπων, με αποδεδειγμένη δυνατότητα προσαρμοστικότητας και παραγωγής. Οι

Autrique et al.,(1996) παρατήρησαν ότι ένας περιορισμένος αριθμός προγονικών γραμμών, συνέβαλε κατά ένα μεγάλο μέρος στην ανάπτυξη των σύγχρονων υλικών σκληρού σιταριού και ότι τα μοριακά αποτυπώματα από μερικούς προγόνους συνέβαλαν στην ανίχνευση της μοριακής παραλλακτικότητας.

Λόγω της σημασίας της αξιοποίησης του γενετικού υλικού σε προγράμματα βελτίωσης κρίνεται αναγκαία η αξιολόγησή του και η μελέτη της γενετικής παραλλακτικότητας σε όλες τις χώρες που παράγεται σκληρό σιτάρι.

Η πρόοδος στην ποσότητα και τη σταθερότητα της παραγωγής του σκληρού σιταριού που σημειώθηκε μέσω της βελτίωσης στη Σικελία και τη νότια Ιταλία έχει επιβραδυνθεί τις τελευταίες δεκαετίες (*Perrino and Hammer 1983; Boggini et al., 1992*). Ένας λόγος είναι η εκτενής χρήση από τους βελτιωτές μιας περιορισμένης γενετικής βάσης, η οποία οδηγεί στη χρήση ποικιλιών που διαφοροποιούνται λίγο μεταξύ τους (*Boggini et al., 1992; Pecetti and Annicchiarico, 1998*). Από τις αρχές της δεκαετίας του 70 και τουλάχιστον μέχρι τη δεκαετία του '90, οι σύγχρονες ιταλικές ποικιλίες προήλθαν συνήθως από διασταυρώσεις ποικιλιών που έγιναν στο CIMMYT, με βάση κάποιο υπόβαθρο που στηρίζεται σε παλαιές ποικιλίες (*Vallega and Zitelli 1975; Porceddu 1987; Boggini et al., 1992*). Αυτό έχει οδηγήσει στην αξιολόγηση των παλαιών γηγενών γενετικών πόρων, που χρησιμοποιήθηκαν σπάνια στο παρελθόν από τους βελτιωτές και αντιπροσωπεύουν έναν πλούτο της ποικιλομορφίας που δεν καλλιεργείται πλέον, αλλά είναι ακόμα διαθέσιμη στις τράπεζες γενετικού υλικού (*Boggini et al., 1990; Pecetti and Annicchiarico. 1998*). Συγχρόνως, έχει πραγματοποιηθεί η αξιολόγηση του εξωτικού γενετικού υλικού, ειδικά από τη λεκάνη της Μεσογείου, (*Pecetti et al.,1994 ,1996;Boggini et al.,1997*). Το εξωτικό γενετικό υλικό του σκληρού σιταριού χρησιμοποιήθηκε κατά ένα μεγάλο μέρος στο παρελθόν στην Ιταλία για άμεση χρησιμοποίηση ή και για διεύρυνση της γενετικής βάσης στα προγράμματα βελτίωσης (*Bozzini, 1970; D'Amato,1989*). Η προαναφερθείσα αξιολόγηση των εξωτικών δεξαμενών γονιδίων στις μεσογειακές περιοχές της Ιταλίας έχει αφιερωθεί κυρίως στην αγρονομική προσαρμογή. Εντούτοις, σημαντική είναι και η ποιότητα των τελικών προϊόντων.

Μια καλή πηγή γενετικής παραλλακτικότητας, έχει βρεθεί στα άγρια σιτάρια και τα συγγενικά είδη τους. Το άγριο τετραπλοειδές σιτάρι *T. turgidum L. var. dicoccoides* φαίνεται να είναι ένας υποσχόμενος δωρητής γενετικής παραλλακτικότητας για αρκετά χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένης της ανθεκτικότητας στις ασθένειες, της ανοχής στην ξηρασία, και της ποιότητας σε

πρωτεΐνη. Εντούτοις, το άγριο γενετικό υλικό περιέχει και επιθυμητά γνωρίσματα και πολλά εμπορικά μη αποδεκτά χαρακτηριστικά όπως είναι η χαμηλά απόδοση, τα ευαίσθητα στάχυα και η απόδοση ανά στάχυ.Γι αυτό το λόγο γίνεται χρήση των παραδοσιακών μεθόδων βελτίωσης (γενεαλογική, επιλογή μείγματος) στις πρώιμες γενιές, ώστε να διασταυρωθούν άγριες και καλλιεργούμενες ποικιλίες και να αξιολογηθούν οι απόγονοι για σημαντικά αγρονομικά χαρακτηριστικά με τα χαρακτηριστικά που εισάγονται. Η μέθοδος inbred backcross (*Wehrhahn and Allard, 1965; Bliss, 1982*) παράγει σειρές αναδιασταύρωσεις (BIL) που μπορούν να δοκιμαστούν πριν την επιλογή. Η εφαρμογή της επαναδιασταύρωσης για τη βελτίωση ποιοτικών χαρακτηριστικών έχει περιοριστεί κυρίως λόγω της μικρής κληρονομησιμότητας αυτών των χαρακτηριστικών και της δυσκολίας της μεταφοράς μεγάλου αριθμού γονιδίων. Σε αντίθεση με τις πιο παραδοσιακές μεθόδους βελτίωσης του σιταριού η μέθοδος της επαναδιασταύρωσης (BIL), όπως περιγράφηκε από τους *Wehrhahn and Allard (1965)*, παράγει σειρές που μπορούν να δοκιμαστούν σε διάφορα περιβάλλοντα πριν την επιλογή.

4.7 Μέθοδοι Κλασσικής Βελτίωσης

Κατά τη διάρκεια των αιώνων, το σιτάρι υπέστη μεγάλες εξελικτικές μεταβολές, με την αργή διαδικασία της φυσικής επιλογής. Οι προσπάθειες όμως του ανθρώπου για τη βελτίωση του σιταριού επιτάχυναν κατά πολύ αυτές τις διαδικασίες.

Με την κλασσική βελτίωση στο σιτάρι, οι διάφορες μέθοδοι αποβλέπουν στην δημιουργία ποικιλιών οι οποίες γενικά είναι καθαρές σειρές. Στα αυτογονιμοποιούμενα φυτά η ετεροζυγωτία μειώνεται στο μισό για κάθε γενεά αυτογονιμοποίησης και επομένως στην F5 με την F6, το γενετικό υλικό είναι πρακτικά ομοζύγωτο. Έτσι, ορισμένοι βελτιωτές θεωρούν νέες ποικιλίες, σειρές των F5 και F6 γενεών, ενώ άλλοι σειρές των F10 και F12 γενεών, ενώ υπάρχουν και περιπτώσεις που ποικιλίες θεωρούνται πιο προχωρημένες γενεές (*Στρατηλάκης, 1998*). Οι κυριότερες μέθοδοι κλασσικής βελτίωσης του σιταριού μπορούν να καταταχθούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

A. Επιλογή σε μίγματα καθαρών σειρών.

1.Επιλογή καθαρής σειράς

2.Μαζική επιλογή

B. Επιλογή σε διασπώμενο γενετικό υλικό

- 1.Γενεαλογική επιλογή
- 2.Επιλογή μίγματος
- 3.Καταγωγή από μεμονωμένους σπόρους
- 4.Αναδιασταύρωση

Η **επιλογή καθαρής σειράς (pure line breeding)** χρησιμοποιείται για την επιλογή νέων ποικιλιών από παλιές τοπικές, που έχουν διατηρηθεί από τους ίδιους τους γεωργούς, από γενιά σε γενιά. Γίνεται επιλογή ενός μεγάλου αριθμού μεμονωμένων φυτών, ακολουθεί αξιολόγηση των απογόνων τους και μετά από συγκριτικά πειράματα και επαναλήψεις, προκύπτει η νέα ποικιλία.

Η **μαζική επιλογή (mass selection)** εφαρμόζεται όταν υπάρχει διαθέσιμη γενετική παραλλακτικότητα και διαφέρει από την επιλογή καθαρής σειράς στο ότι τα φυτά που θα επιλεγούν θα συνδυαστούν σε μίγμα για να αποτελέσουν τη νέα ποικιλία. Αποτέλεσμα είναι να πάρουμε ποικιλίες που προέρχονται από πολυγενετοπικά μείγματα. Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται περιορισμένα και ιδιαίτερα στην περίπτωση που έχουμε να κάνουμε με ποσοτικά γνωρίσματα, γιατί η επιλογή των φυτών γίνεται με βάση το φαινότυπο και δεν γνωρίζουμε έως ποιο σημείο ο φαινότυπος ανταποκρίνεται στο γενότυπο και κατά πόσο η επίδραση του περιβάλλοντος θα μειώσει το αναμενόμενο αποτέλεσμα. Επιπλέον λόγω της ετερογένειας είναι δύσκολη η δημιουργία καθαρών σειρών.

Η **Γενεαλογική επιλογή (pedigree selection)** βασίζεται στην επιλογή των καλύτερων γενοτύπων με βάση τη συμπεριφορά των απογόνων τους. Εφαρμόζεται όταν έχουμε διασπώμενο υλικό και αρχίζει με οπτική φαινοτυπική επιλογή των ατομικών φυτών της F_2 γενεάς στον γενεαλογικό αγρό. Ακολουθεί αξιολόγηση των καλύτερων φυτών έως την F_5 γενεά και στη συνέχεια γίνονται συγκριτικά πειράματα αποδόσεων. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι οι σπόροι δεν αναμειγνύονται αλλά σπέρνονται σε χωριστές γραμμές και έτσι είναι γνωστή η καταγωγή της επόμενης γενιάς και η αξία του γενότυπου που αρχικά επιλέγεται φαινοτυπικά και στη συνέχεια εκτιμάται με βάση τη συμπεριφορά των απογόνων.

Η **επιλογή μίγματος (bulk)** διαφέρει από τη γενεαλογική επιλογή στο ότι τα υβρίδια διατηρούνται σε μίγμα και δεν καταγράφεται η γενεαλογία των απογόνων.

Η **μέθοδος καταγωγής από μεμονωμένους σπόρους (single seed descend)** προσπαθεί να λύσει το πρόβλημα της αδυναμίας στην επιλογή κατά τις πρώτες γενεές μιας διασταύρωσης, λόγω της επίδρασης του περιβάλλοντος αλλά και της ύπαρξης

ετεροζυγωτίας. Στην περίπτωση αυτή διατηρούμε ένα μεγάλο αριθμό σειρών μέχρι την F₅ ή F₆ γενεά, παίρνοντας 1-2 σπόρους από έναν ορισμένο αριθμό φυτών, και μετά την F₆ γενιά, εφόσον έχουμε φτάσει σε ένα βαθμό ομοζυγωτίας, αυξάνουμε την ποσότητα του σπόρου και προβαίνουμε σε πειράματα απόδοσης.

Η μέθοδος της αναδιασταύρωσης είναι κατάλληλη για τη μεταφορά συγκεκριμένων γονιδίων σε μια καλή ποικιλία, που όμως υστερεί συνήθως ποιοτικά. Πραγματοποιούνται επαναλαμβανόμενες διασταυρώσεις της ποικιλίας δέκτη, ενώ ασκείται επιλογή και για τα χαρακτηριστικά του δότη. Δεν χρειάζεται αξιολόγηση με συγκριτικά πειράματα στον αγρό γιατί το τελικό προϊόν διαφέρει από το δέκτη, μόνο ως προς το χαρακτηριστικό που κληρονομήθηκε.

4.8 Μέθοδοι Μοριακής βελτίωσης

Οι παραδοσιακές μέθοδοι αναπαραγωγής των φυτών έχουν συνεισφέρει σημαντικά στη βελτίωση, αλλά είναι αργοί στη στοχοθέτηση των σύνθετων γνωρισμάτων όπως είναι η απόδοση, η ποιότητα του σπόρου και η ανθεκτικότητα σε αβιοτικές καταπονήσεις, όπως είναι η ξηρασία. Στην παραδοσιακή βελτίωση, ο βελτιωτής κατά τη διάρκεια της επιλογής των επιθυμητών φυτών, αντιμετωπίζει τα ακόλουθα προβλήματα:

(i) Ένας μεγάλος αριθμός φυτών, πρέπει να μελετηθεί, ως προς ένα επιθυμητό γνώρισμα ταυτόχρονα με την ύπαρξη άλλων επιθυμητών χαρακτηριστικών π.χ., η παραγωγή και τα συστατικά της, η ποιότητα, η ανοχή στην ξηρασία, η ανθεκτικότητα στις ασθένειες, κ.λπ.

(ii) Πρέπει να περιμένει μέχρι την F₆ γενεά για να αρχίσει την επιλογή για ποσοτικά γνωρίσματα, για τα οποία η επιλογή στις πρώτες γενιές δεν είναι αποτελεσματική

(iii) Γίνεται πολύ δύσκολο να μελετηθεί ένα μεγάλο μέρος του πληθυσμού για ένα επιθυμητό γνώρισμα, όταν το γνώρισμα επηρεάζεται από το περιβάλλον

(iv) Επειδή μέσω του φαινοτύπου γίνονται ορατά τα διάφορα χαρακτηριστικά του φυτού, η επιλογή δεν μπορεί να γίνει στο στάδιο του σπορόφυτου και πρέπει να περιμένει μέχρι να φτάσει το φυτό στο στάδιο του ενήλικου.

(v) Είναι δύσκολο να βρεθεί γονίδιο ανθεκτικότητας, από τη στιγμή που η επιλογή ενός επιπλέον γονιδίου είναι δύσκολη.

Για να επιτευχθεί αύξηση της παραγωγής των τροφίμων, που απαιτούνται λόγω της αύξησης των πληθυσμού και των υψηλότερων προτύπων διαβίωσης που

υπάρχουν στις περισσότερες αναπτυσσόμενες χώρες, η βιοτεχνολογία δίνει νέα και ισχυρά εργαλεία στους βελτιωτές, αξιοποιώντας ταυτόχρονα τη γενετική και μοριακή βιολογία και φέρνοντας την επανάσταση στις παραδοσιακές μεθόδους βελτίωσης. Οι βιοχημικές και μοριακές τεχνικές μείωσαν τη διάρκεια των βελτιωτικών προγραμμάτων από χρόνια σε μήνες. Επίσης βελτίωσαν την ακρίβεια των διασταυρώσεων και επέτρεψαν τους βελτιωτές να παράγουν φυτά που συνδυάζουν επιθυμητά χαρακτηριστικά. Κάτι τέτοιο ήταν αδύνατο πριν την ανάπτυξη της τεχνολογίας του DNA.

Από την εποχή του *Gregor Mendel*, μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του '80, τα μορφολογικά χαρακτηριστικά ήταν οι σημαντικότεροι τύποι δεικτών που ήταν διαθέσιμοι στη γενετική χαρτογράφηση. Στη συνέχεια η ανάπτυξη της μοριακής βιολογίας οδήγησε στη δημιουργία των βιοχημικών και μοριακών δεικτών. Διακρίνουμε τους παρακάτω τύπους δεικτών:

i) Μορφολογικοί δείκτες

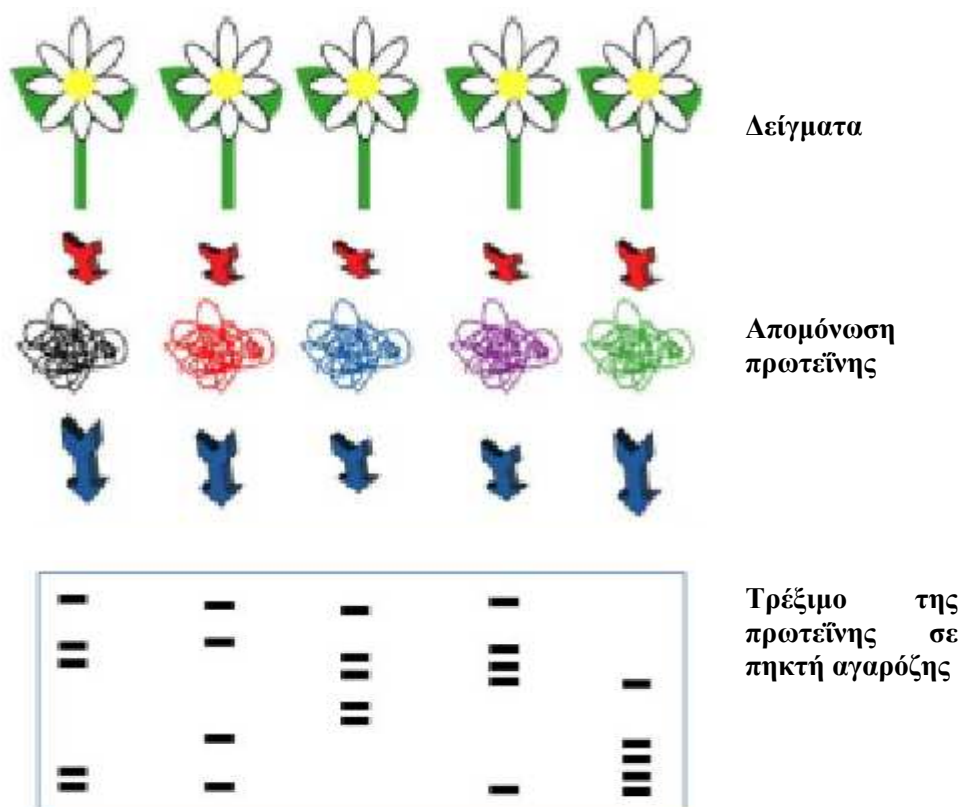
Είναι οι παραδοσιακοί δείκτες. Η επιλογή γίνεται με βάση τα εξωτερικά μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού τα οποία είναι μετρήσιμα και είναι ορατά στον βελτιωτή π.χ. ύψος φυτών. Ο φαινότυπος μας δίνει αρκετές πληροφορίες αλλά πολλοί είναι οι ανεπιθύμητοι παράγοντες που συνδέονται με τους μορφολογικούς δείκτες και μπορούν να μας οδηγήσουν σε εσφαλμένες επιλογές. Μερικοί από αυτούς είναι:

- Υπάρχει υψηλή η εξάρτηση μεταξύ αυτών των δεικτών και του περιβάλλοντος. Συχνά η ανάπτυξη του φυτού μπορεί να επηρεάσει την έκφραση αυτών των δεικτών και να οδηγήσει σε λάθος προσδιορισμό.
- Αυτά τα γνωρίσματα μεταλλάξεων έχουν συχνά και ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά, όπως είναι ο νανισμός ή ο αλβινισμός.
- Η χρησιμοποίηση τέτοιων δεικτών σε πειράματα είναι χρονοβόρα και απαιτεί εργατικό δυναμικό και μεγάλη έκταση για την εγκατάσταση των πειραμάτων.

ii) Βιοχημικοί δείκτες

Τα ισοένζυμα είναι κοινά ένζυμα που υπάρχουν στα κύτταρα των φυτών και η δράση τους βασίζεται στην διαφορετική κινητικότητα των πρωτεϊνών με την ίδια

ενζυματική λειτουργία στο πήκτωμα (εικόνα 16). Το τμήμα μετουσίωσης στα πηκτώματα (συνήθως SDS) διευκρινίζει τη δευτερογενή και τριτογενή δομή των ενζύμων. Οι πολυμορφικές διαφορές που εμφανίζονται στα επίπεδα των αμινοξέων, επιτρέπουν τον πολυμορφισμό των πεπτιδίων που ανιχνεύονται και που χρησιμοποιούνται, ως πολυμορφικοί βιοχημικοί δείκτες. Οι *Market and Moller* (1959), ήταν οι πρώτοι που περιέγραψαν τις διάφορες μορφές ζωνών που ήταν ορατές με τη βοήθεια των ισοενζύμων .



Εικόνα 16: Σύνοψη των γεγονότων που συμβαίνουν σε ένα δείγμα φυτών κατά την ανάλυση ισοενζύμων
(Πηγή: www.chembio.uoguelph.ca)

Οι βιοχημικοί δείκτες είναι ανώτεροι από τους μορφολογικούς δείκτες, δεδομένου ότι είναι γενικά ανεξάρτητοι από τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Το μόνο πρόβλημα με τη χρήση ισοενζύμων στην επιλογή με τη βοήθεια δεικτών, είναι ότι έχουν περιορισμένη κάλυψη του γονιδιώματος και επειδή οι περισσότερες εμπορικές ποικιλίες είναι συγγενείς, τα ισοένζυμα δεν δίνουν πολλούς πολυμορφισμούς.

iii) Μοριακοί δείκτες

Τα τελευταία 20 χρόνια έχουν μελετηθεί νέες πηγές δεικτών με βάση τις τεχνικές αναλύσεις σε μοριακό επίπεδο. Οι δείκτες που βασίζονται στο DNA ονομάζονται μοριακοί και μπορούν να προσδιοριστούν όχι μόνο σε επίπεδο φυτού, αλλά και σε επίπεδο ιστού ή κυττάρου. Είναι μια άμεσα ανιχνεύσιμη αλληλουχία DNA ή πρωτεϊνών, των οποίων η κληρονομικότητα μπορεί να ελεγχθεί, αφού βασίζονται στους φυσικά εμφανιζόμενους πολυμορφισμούς των ακολουθιών του DNA. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για την ανίχνευση και την ενίσχυση αυτών των πολυμορφισμών έτσι ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τα προγράμματα βελτίωσης.

Οι μοριακοί δείκτες πλεονεκτούν θεωρητικά απέναντι στους κλασσικούς (κύρια μορφολογικούς) δείκτες για τους εξής λόγους:

- Στους μοριακούς δείκτες οι γενότυποι μπορούν να προσδιοριστούν όχι μόνο σε επίπεδο φυτού αλλά και σε επίπεδο ενός ιστού ή και κυττάρου. Αντίθετα στους μορφολογικούς δείκτες οι γονότυποι προσδιορίζονται σχεδόν πάντοτε σε επίπεδο φυτού.
- Στους περισσότερους μοριακούς δείκτες απουσιάζει η επίδραση του περιβάλλοντος και η κυριαρχία. Τα αλληλόμορφα εκδηλώνονται σε ισότιμη βάση (συγκυριαρχία) και είναι εύκολη η διάκριση όλων των γονότυπων.
- Οι περισσότεροι μοριακοί δείκτες παρουσιάζουν αρκετή ποικιλομορφία (δηλαδή αρκετά διαφορετικά αλληλόμορφα) έτσι ώστε να μην χρειάζεται να τη δημιουργήσουμε τεχνητά, όπως συνήθως συμβαίνει με τους μορφολογικούς δείκτες.
- Οι μοριακοί δείκτες δεν προκαλούν ανεπιθύμητες αλλαγές στο φαινότυπο του φυτού, όπως συμβαίνει με αρκετούς μορφολογικούς δείκτες (πλειοτροπισμός).
- Οι μοριακοί δείκτες στην πλειονότητα τους ανιχνεύονται χωρίς επιστατικές αλληλεπιδράσεις. Έτσι μπορεί να επιλέγονται στον ίδιο πληθυσμό περισσότεροι από ένας μοριακοί δείκτες ταυτόχρονα .

Επειδή είναι γνωστό ότι ο πολυμορφισμός του DNA είναι πολύ μεγαλύτερος, είναι φανερό ότι η χρησιμοποίηση μοριακών δεικτών μπορεί να εφαρμοστεί και σε

πάρα πολλά φυτά και για πάρα πολλά χαρακτηριστικά ώστε να καλύψει ολόκληρο το γενετικό τους χάρτη.

4.8.1 Τύποι DNA μοριακών δεικτών

Οι μοριακοί δείκτες διακρίνονται σε δύο τύπους ανάλογα με την ανάγκη χρήσης της τεχνικής PCR.

Δείκτες που δεν χρησιμοποιούν την τεχνική της PCR

Στην κατηγορία αυτή ανήκει η RFLP ανάλυση που αποτελεί και την πρώτη τεχνολογία που αναπτύχθηκε για την ανίχνευση των πολυμορφισμών σε επίπεδο αλληλουχίας DNA.

Δείκτες RFLP (Πολυμορφισμοί Μήκους θρασμάτων εκ Περιορισμού)

Η τεχνική βασίζεται στην ηλεκτροφορητική σύγκριση διαφορών σε μήκος τμημάτων DNA, μετά από κοπή με περιοριστικά ένζυμα που προέρχονται από εφαρμογή στο σύνολο του κυτταρικού DNA. Είναι απαραίτητη η απομόνωση καθαρού DNA υψηλού μοριακού βάρους. Κατά την ανάλυση των αποτελεσμάτων γίνεται έλεγχος για παρουσία ή απουσία ζωνών DNA σε πηκτή αγαρόζης. Οι διαφορές στα προφίλ των ζωνών, αντανακλούν τις γενετικές διαφορές (εικόνα 17). Τα πλεονεκτήματα της χρήσης αυτών των δεικτών είναι ότι εμφανίζουν υψηλή επαναληψιμότητα, ότι είναι συγκυρίαρχοι δείκτες, ότι εμφανίζουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ αλληλομόρφων και ότι η όλη μέθοδος που ακολουθείται είναι απλή και αξιόπιστη. Τα μειονεκτήματα είναι ότι είναι χρονοβόρος διαδικασία, ότι το κόστος των αναλύσεων είναι υψηλό και ότι απαιτείται η χρήση ραδιενέργειας. Αν δεχτούμε ότι το γονιδίωμα των φυτών είναι γενικά αρκετά μεγάλο (περίπου 10 ζεύγη νουκλεοτιδίων), είναι φανερό ότι ένα περιοριστικό ένζυμο δημιουργεί τεράστιο αριθμό τμημάτων DNA, που είναι δύσκολο να τα ξεχωρίσει κανείς. Η πληθώρα αυτή αποφεύγεται με τη χρησιμοποίηση συγκεκριμένου ιχνηλάτη έτσι ώστε να δημιουργείται μια μικρή σειρά τμημάτων DNA. Διαφορετικοί ιχνηλάτες μπορούν να δώσουν διαφορετικά τμήματα DNA και επομένως διαφορετικούς δείκτες RFLP. Ο αριθμός των διαθέσιμων ιχνηλατών αυξάνεται συνεχώς έτσι ώστε ολόκληρο το γονιδίωμα ενός φυτού να μπορεί να χαρτογραφηθεί με τους δείκτες RFLP.

Εκτός από την επιλογή συνδεδεμένων χαρακτηριστικών και την χαρτογράφηση του είδους, οι δείκτες RFLP είναι χρήσιμοι για την διαπίστωση της

ταυτότητας και την κατοχύρωση μιας ποικιλίας. Ακόμη, είναι δυνατή η εφαρμογή τους για την ανίχνευση της καταγωγής και εξέλιξης ενός είδους όπως έχει γίνει π.χ. για την πατάτα στην οποία έχει αποκαλυφθεί ολόκληρο το φυλογενετικό δένδρο με βάση τη γενετική απόσταση των RFLP δεικτών. Τέλος οι διαφορές των RFLP μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση της σωμακλωνικής παραλλακτικότητας (Φανουράκης, 2002).

RFLPs: προελεύσεις πολυμορφισμού

A = βασικός γενότυπος

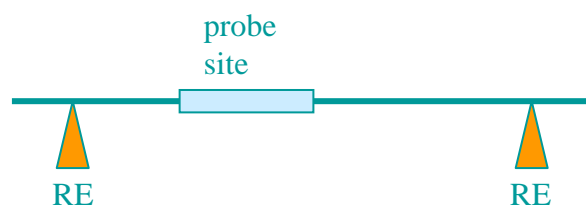
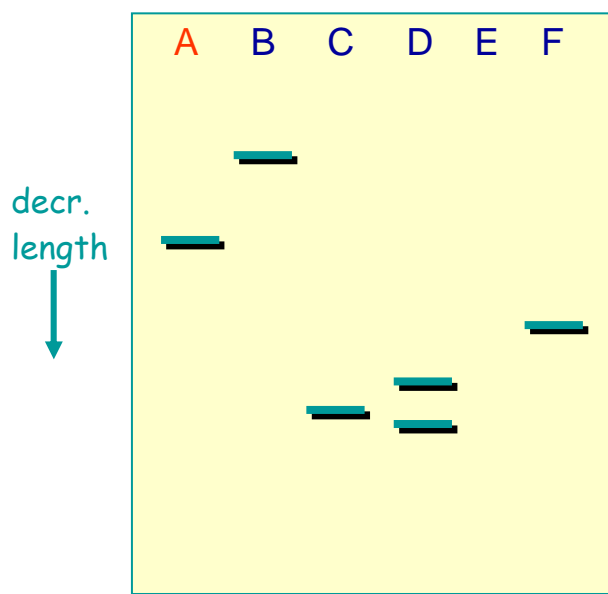
B = εισαγωγή

C = απαλοιφή

D = έκθεση νέου τμήματος DNA μεταξύ των σημείων κοπής

E = χάσιμο της περιοχής περιορισμού

F = νέες θέσεις περιορισμού έξω από τα σημεία κοπής



Εικόνα 17: Παρουσίαση τεχνικής RFLP

Δείκτες που χρησιμοποιούν την τεχνική της PCR

- *AFLP* πολλαπλασιασμός πολυμορφικών τμημάτων DNA εκ περιορισμού
- *RAPD* τυχαίως πολλαπλασιαζόμενα πολυμορφικά τμήματα DNA
- *STS* μικροδορυφόροι :

SCAR πολλαπλασιαζόμενες περιοχές DNA με γνωστή αλληλουχία

CAPS πολλαπλασιαζόμενα θραύσματα πολυμορφικής αλληλουχίας DNA

ISSR

ASAP

SPARs

Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR Polymerase Chain Reaction)

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης είναι ο *in vitro* πολλαπλασιασμός αλληλουχιών DNA με ταυτόχρονη επέκταση των δυο συμπληρωματικών αλυσίδων. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατή η παραγωγή πολυάριθμων αντιγράφων ενός μορίου DNA (λ.χ., γονιδίου) σε σύντομο χρονικό διάστημα, ακόμη και αν υπάρχει στη διάθεσή μας ένα μόνο αρχικό μόριο DNA. Με τη χρήση της PCR τεχνολογίας, το DNA μιας συγκεκριμένης περιοχής του γονιδιώματος μπορεί να πολλαπλασιαστεί δεσεκατομμύρια φορές υπό τον όρο ότι είναι γνωστή η νουκλεοτιδική της αλληλουχία. Η αλληλουχία του γονιδίου (ή του DNA θραύσματος), είναι απαραίτητη για το σχεδιασμό συνθετικών DNA ολιγονουκλεοτιδίων, τα καθένα από τα οποία είναι συμπληρωματικό με μία από τις αλυσίδες του δίκλωνου DNA. Τα ολιγονουκλεοτίδια που θα χρησιμοποιηθούν ως εκκινητές, πρέπει να δεσμεύονται σε θέσεις αντίθετες από την αλληλουχία που πρόκειται να ενισχυθεί, με άλλα λόγια καθορίζουν τα άκρα του DNA θραύσματος που πρόκειται να ενισχυθεί. Ένας πλήρης κύκλος μιας PCR αντίδρασης περιλαμβάνει τρία στάδια (**εικόνα 18**):

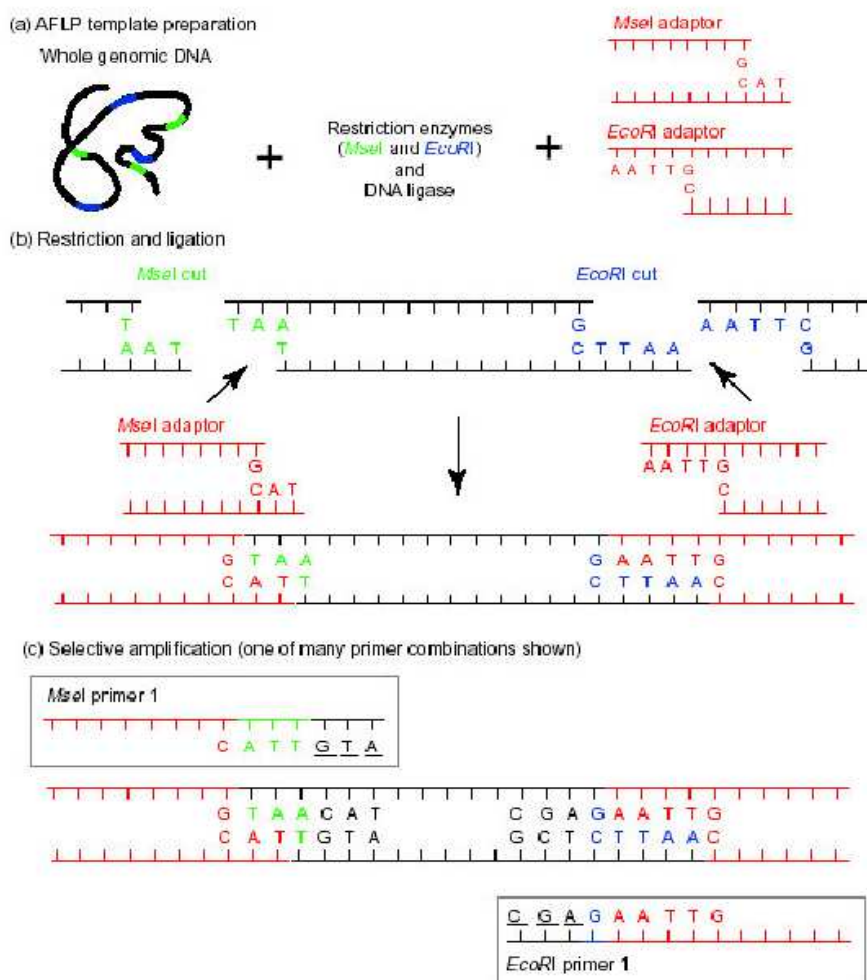
- Την αποδιάταξη του DNA (denaturation)
- Τη προσαρμογή των εκκινητήρων στο DNA εκμαγείο (annealing)
- Την επιμήκυνση με τη βοήθεια των εκκινητών (extension).

Συγκεκριμένα η διαδικασία έχει ως εξής :

- Το αρχικό δείγμα DNA που θέλουμε να το αντιγράψουμε αναμιγνύεται με δεσοξυριβονουκλεοτίδια και των 4 βάσεων, DNA πολυμεράση και ολιγονουκλεοτιδικά τμήματα (20 ζ. β) που είναι συμπληρωματικά των 3' άκρων των κλώνων του DNA που θέλουμε να αντιγράψουμε (οπότε η αλληλουχία στα άκρα πρέπει να είναι γνωστή). Αυτά τα ολιγονουκλεοτίδια παίζουν ρόλο πρωταρχικών τμημάτων, καθώς στην *in vitro* διαδικασία δεν μπορούν να συντεθούν.

- Ένας πλήρης κύκλος περιλαμβάνει επώαση του δείγματος σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες και γίνεται στις μέρες μας αυτόματα από ειδικά μηχανήματα (thermal cyclers). Ο δοκιμαστικός σωλήνας στον οποίο υπάρχει το μίγμα θερμαίνεται στους 95 ° C, ώστε να σπάσουν οι δεσμοί. Έτσι το DNA αποδιατάσσεται. Στη θερμοκρασία αυτή φυσιολογικά η DNA πολυμεράση θα έπρεπε να υφίσταται μετουσίωση. Αυτό αποφεύγεται με τη χρησιμοποίηση μιας θερμοανθεκτικής πολυμεράσης που προέρχεται από το θερμόφιλο βακτήριο *Thermus aquaticus* το οποίο επιβιώνει σε θερμοκρασία 90 ° C στις θερμοπηγές.
- Οι εκκινητές που βρίσκονται σε περίσσια, προσαρμόζονται με υβριδισμό στις συμπληρωματικές αλληλουχίες του DNA εκμαγείου, με ψύξη του δείγματος στους 50 – 60° C. Γίνεται υβριδοποίηση μεταξύ των ολιγονουκλεοτιδίων και των συμπληρωματικών ως προς αυτά άκρων των δύο κλώνων. Ακολουθεί επώαση στους 72° C για την επιμήκυνση των εκκινητών από μία θερμοανθεκτική πολυμεράση παρουσία των τεσσάρων dNTPs (στη θερμοκρασία αυτή το ένζυμο λειτουργεί άριστα.)
- Το αρχικό μόριο έχει αντιγραφεί σε δύο θυγατρικά. Καθώς η διαδικασία επαναλαμβάνεται, οι νεοσύστατοι κλώνοι με τη σειρά τους χρησιμοποιούνται ως εκμαγεία για *in vitro* σύνθεση του DNA. Μετά από μερικούς κύκλους, το προϊόν που επικρατεί είναι ένα DNA θραύσμα, το μέγεθος του οποίου αντιστοιχεί στην απόσταση μεταξύ των δύο αρχικών εκκινητών. Στη πράξη 20 με 30 κύκλοι της αντίδρασης είναι αρκετοί για την αποτελεσματική ενίσχυση του DNA θραύσματος και την παραγωγή πολλών αντιγράφων του αρχικού μορίου. Σε κάθε κύκλο που διαρκεί περίπου πέντε λεπτά η ποσότητα του DNA διπλασιάζεται. Η όλη διαδικασία κλωνοποίησης ενός DNA θραύσματος σε ένα *in vitro* σύστημα διαρκεί μερικές ώρες, σε σχέση με τις μερικές μέρες που απαιτούνται για τις *in vivo* διαδικασίες κλωνοποίησης.

Η περιοχή περιορισμού πρόκειται να χρησιμοποιηθεί ως περιοχή συνδέσεων των εκκινητών (για την ενίσχυση χρησιμοποιείται PCR). Αυτά τα ενισχυμένα τεμάχια αναλύονται σε πηκτή πολυακρυλαμίδης, η οποία παράγει τα αποτυπώματα που συγκρίνονται ως πολυμορφισμο (εικόνα 19). Αυτοί κληρονομούνται στις μενδελικές γενιές, επιτρέποντας τη χρήση τους για τον προσδιορισμό και τη χαρτογράφηση των γενετικών χαρακτηριστικών. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι πρόκειται για μια γρήγορη μεθοδολογία, κατά την οποία παράγονται υψηλά επίπεδα πολυμορφισμών, οι προκατασκευασμένες εξαρτήσεις είναι διαθέσιμες για αγορά και είναι εύχρηστες. Επίσης υπάρχει επαναληψιμότητα, τα αποτελέσματα μένουν σταθερά κατά τη διάρκεια του χρόνου και μπορούν να διατρέξουν όλο το γονιδίωμα και να εντοπίσουν τους πολυμορφισμούς. Τα μειονεκτήματα είναι ότι υπάρχουν πιθανά προβλήματα ερμηνείας, το DNA πρέπει να είναι απολύτως καθαρό, το κόστος των απαιτήσεων είναι υψηλό, και υπάρχουν τεχνικές απαιτήσεις.



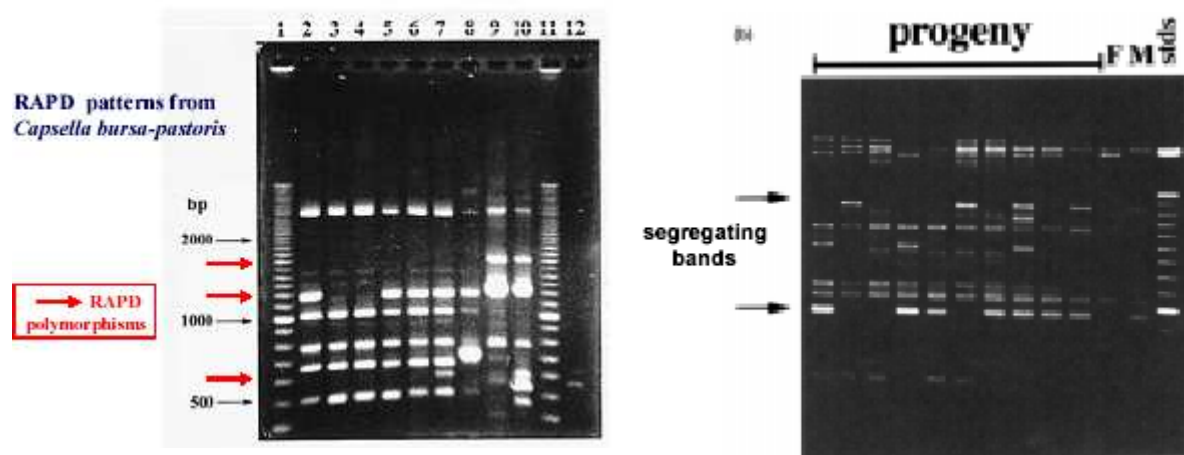
Εικόνα 19: Παρουσίαση τεχνικής AFLP
(Πηγή : www.ums.edu.my)

Τυχαίως πολλαπλασιαζόμενα πολυμορφικά τμήματα DNA (RAPD)

Η τεχνική RAPD δίδει παρόμοια αποτελέσματα με την RFLP, διαφέρει όμως από αυτήν ως προς τη διαδικασία που ακολουθεί, εφόσον χρησιμοποιεί την Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης. Είναι μια τεχνική που βασίζεται στην ενίσχυση του DNA με τυχαίους εκκινητές αλληλουχιών που περιέχουν τουλάχιστον 50% G και C, γι αυτό και είναι απαραίτητο να διατηρούνται και να βελτιστοποιούνται οι συνθήκες αντίδρασης. Παράγοντες όπως η συγκέντρωση του DNA, η συγκέντρωση του μαγνησίου, η θερμοκρασία αναδόμησης του εκκινητή και η σύνθεση των βάσεων του εκκινητή επηρεάζουν την αντίδραση γι αυτό και θα πρέπει να ελέγχονται προσεκτικά. Τα προϊόντα χωρίζονται εύκολα από τα πρότυπα ηλεκτροφόρησης και απεικονίζονται κάτω από υπεριώδη (UV) φωτισμό με τη βοήθεια βρωμιούχου αιθιδίου σε πηκτή αγαρόζης. Οι πολυμορφισμοί (εικόνα 20) οφείλονται είτε σε αλλαγές στην ακολουθία του εκκινητή η οποία αποτρέπει τη σταθερή σχέση με τον εκκινητή, είτε σε αλλαγές που επηρεάζουν το μέγεθος ή αποτρέπουν την ενίσχυση των DNA στόχων.

Οι δείκτες RAPDs συνέβαλαν στην κατασκευή χαρτών, και στην κλωνοποίηση των γονιδίων που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα σε ασθένειες (*Jones et al., 1994; Mindrinos et al., 1994; Whitham et al., 1994; Martin et al., 1991; Michelmore et al., 1991*). Εντούτοις οι δείκτες RAPDs, κληρονομούνται συνήθως κατά τρόπο κυρίαρχο, που δεν μεταβιβάζεται από έναν πληθυσμό σε άλλο (*Penner et al., 1993; Jones, 1997*).

Οι RAPDs έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για την εκτίμηση της γενετικής παραλλακτικότητας μέσα στα είδη για να δείξουν τις σχέσεις μεταξύ των πληθυσμών. Παράγοντες όπως η ταχύτητα, η αποτελεσματικότητα και η αυτοματοποίηση κάνουν τους RAPD την πιο κατάλληλη μέθοδο για την αποτελεσματική διαχείριση του γενετικού υλικού με σκοπό την εκτίμηση της παραλλακτικότητας, τον έλεγχο της γενετικής διάβρωσης και το διπλασιασμό των συλλογών του γενετικού υλικού (*Virk et al., 1995*). Από τη στιγμή που τα προγράμματα βελτίωσης εξαρτώνται από την ανάπτυξη των υβριδίων μέσω του κλασσικού υβριδισμού η γνώση της γενετικής παραλλακτικότητας του γενετικού υλικού από το οποίο προέρχονται οι γονείς είναι σημαντικό.



Εικόνα 20: RAPD πολυμορφισμοί

(Πηγή: www.biosci.ohio-state.edu)

SCARs (Πολύνες περιοχές DNA με γνωστή αλληλουχία)

Η χρησιμότητα ενός RAPD δείκτη μπορεί να αυξηθεί με την αλληλούχηση της τελικής ακολουθίας του και κατασκευάζοντας μεγαλύτερους εκκινητές για πιο εξειδικευμένη ενίσχυση των δεικτών. Τέτοιοι δείκτες είναι οι SCARs που αναγνωρίζονται από την PCR ως ζεύγος συγκεκριμένων ολιγονουκλεοτιδικών εκκινητών. Διαφορές στην αλληλουχία του DNA είναι έκδηλες από την παρουσία ή απουσία μιας μοναδικής ξεχωριστής μπάντας. Οι SCARs πλεονεκτούν έναντι των RAPD γιατί είναι πιο παραγωγικοί, μπορούν να αναπτυχθούν και χωρίς ηλεκτροφόρηση, εντοπίζουν μόνο μία θέση και είναι λιγότερο ευαίσθητοι στις συνθήκες της αντίδρασης. Παρόλο που είναι κυρίαρχοι δείκτες, μερικοί μπορούν να μετατραπούν και σε συγκυρίαρχους.

Μικροδορυφόροι (SSRs)

Οι ακολουθίες DNA με δύο, τρι- τέτρα-ή πέντα- επαναλαμβανόμενες ακολουθίες νουκλεοτιδίων περιγράφονται ως μικροδορυφόροι, ή απλές επαναλαμβανόμενες ακολουθίες ή ως μικρές επαναλαμβανόμενες ακολουθίες. Η πρώτη αναφορά για μικροδορυφόρους στα φυτά έγινε από τους *Condit και Hubbel*, (1991). Αυτοί οι δείκτες, επειδή είναι συγκυρίαρχοι και επαναλήψιμοι, είναι ιδανικοί για τη χαρτογράφηση του γονιδιώματος και για τη γενετική μελέτη των πληθυσμών (*Dayanandan et al.*, 1998).

Οι SSRs αποτελούν μια παραλλαγή της τεχνικής των RAPD, παρόλο που οι υψηλότερες θερμοκρασίες annealing σημαίνει ότι είναι πιο αυστηροί από τους

RAPDs. Υπάρχουν στη μεγαλύτερη πλειοψηφία του ευκαρυωτικού γονιδιώματος και έτσι διαφορετικός αριθμός δινουκλεοτιδίων έχει εκτιμηθεί για διαφορετικά είδη.

Σε πολλά είδη οι επαναλήψεις παράγουν πολλούς πολυμορφισμούς. Αυτό το χαρακτηριστικό κάνει τους SSRs ένα πολύ ελκυστικό δείκτη για είδη με στενή γενετική βάση όπως το σιτάρι και το κριθάρι. Αυτή η μεθοδολογία βασίζεται στη χρήση εκκινητών συμπληρωματικών με τους SSRs. Πολυμορφικές περιοχές προέρχονται από τη χρήση διαφορετικών ειδών ολιγονουκλεοτιδίων που περιέχουν απλές ακολουθίες επαναλαμβανόμενων ακολουθιών. Οι μελέτες έδειξαν την επαναληψιμότητα των προτύπων που προέρχεται από την μενδελική κληρονομία των ενισχυμένων τμημάτων πολυμορφισμού και την χρησιμότητά τους στην μελέτη των γενετικών σχέσεων. Έχει γίνει χαρτογράφηση με δείκτες SSRs στο κριθάρι και την ελαιοκράμβη. Οι *Roder et al.* (1995), *Ma et al.* (1996) και *Plaschke et al.* (1995), ερεύνησαν τη δυνατότητα των μικροδορυφορικών ακολουθιών ως γενετικοί δείκτες του εξαπλοειδούς σιταριού.

Επειδή παρουσιάζουν εξειδίκευση στο γονιδίωμα και υψηλά επίπεδα πολυμορφισμού χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή γενετικών χαρτών από 279 μικροδορυφόρους (*Roder et al.*, 1998) και για την χαρτογράφηση 65 περιοχών στο D γονιδίωμα (*Pestsova et al.*, 2000 και *Huang et al.*, 2001) του μαλακού σιταριού.

Στο σιτάρι οι μικροδορυφόροι χρησιμοποιούνται και ως δείκτες επιλογής, εξαιτίας του υψηλού επιπέδου πολυμορφισμού που παρουσιάζεται ακόμη και στις στενά συνδεδεμένες ποικιλίες (*Plaschke et al.*, 1995, *Donini et al.*, 1998) και της ομοιόμορφης κατανομής στο γονιδίωμα του σιταριού (*Roder et al.*, 1998), ενώ έχουν αποδειχθεί επίσης αξιόπιστοι και κατάλληλοι. Η αφθονία σε αλληλόμορφα που αποκαλύπτεται με τις επαναλήψεις δινουκλεοτιδίων είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για τον υπολογισμό της συγγένειας με βάση μοριακά στοιχεία. Στα αλλοπολυπλοειδή σιτάρια, στις περισσότερες περιπτώσεις οι SSRs συμπεριφέρονται ως συγκεκριμένοι δείκτες που αναφέρονται σε μια περιοχή.

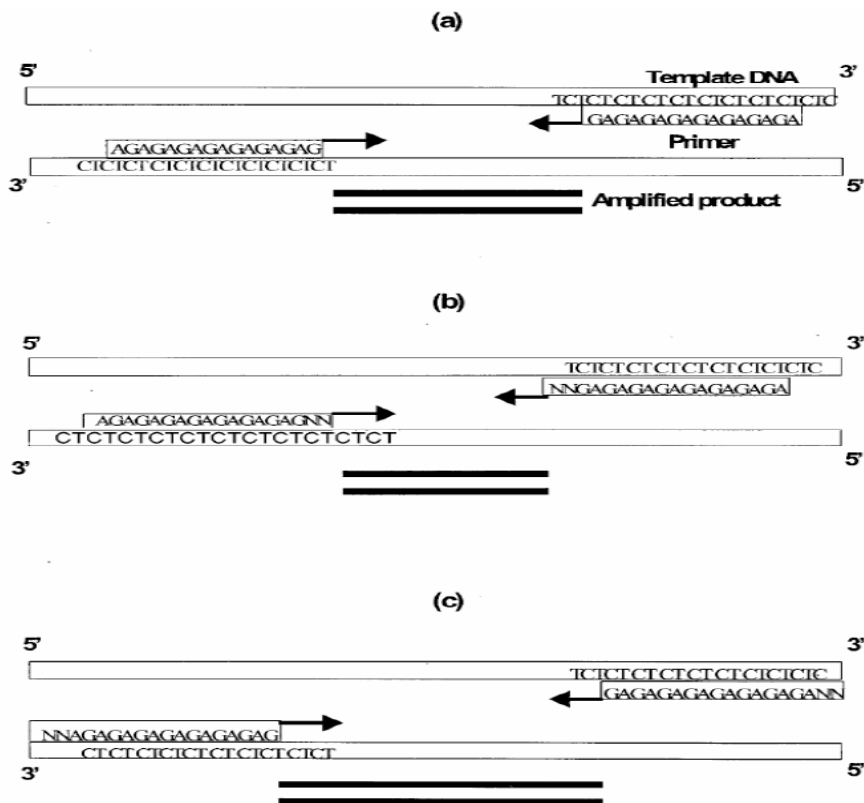
Οι δείκτες SSR μπορούν να εφαρμοστούν σε όλα τα προβλήματα της γενετικής ανάλυσης που αντιμετωπίζονται συνήθως χρησιμοποιώντας άλλους γενετικούς δείκτες (μορφολογικούς, βιοχημικούς και μοριακούς δείκτες διαφόρων κατηγοριών). Αυτοί οι δείκτες μπορούν επίσης να είναι χρήσιμοι για την επίλυση προβλημάτων επιλογής και για την αναγνώριση ποικιλιών. Θεωρητικά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάγνωση των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των ειδών, των πληθυσμών, και των ποικιλιών.

Εντούτοις, η χρήση αυτών των δεικτών (καθώς επίσης και των δεικτών άλλων τύπων) έχει δημιουργήσει πολλά ερωτήματα, επειδή επανειλημμένα αποδείχθηκε ότι διαφορετικοί τύποι δεικτών που χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες των ίδιων συνόλων ποικιλιών και ειδών, αποκάλυψαν διαφορετικές γενετικές αποστάσεις μεταξύ τους.

Δείκτες ISSR (Inter-simple sequence repeat)

Η ανάλυση με ISSR δείκτες περιλαμβάνει την ενίσχυση τμημάτων με δυο ίδιες επαναλαμβανόμενες μικροδορυφορικές περιοχές προς αντίθετη κατεύθυνση. Οι εκκινητές που χρησιμοποιούνται στην PCR είναι μικροδορυφόροι όπως και στους SSR δείκτες με δι-, τρι- τέτρα-ή πέντα- επαναλαμβανόμενες ακολουθίες νουκλεοτιδίων. Οι εκκινητές που χρησιμοποιούνται είναι πολύ μεγαλύτεροι από των RAPD, συνήθως δεκαπενταμερή ως εικοσαμερή. Έτσι επιτρέπουν την διαδοχική χρήση annealing θερμοκρασιών που οδηγούν σε μεγαλύτερη εξειδίκευση. Συνήθως τα νουκλεοτίδια είναι G, C και τα παραγόμενα προϊόντα είναι μήκους 200-2000 bp που ταξινομούνται σε ηλεκτροφόρηση αгарόζης ή και πολυακρυλαμίδης (εικόνα 22). Η μέθοδος είναι απλή, γρήγορη, δεν χρειάζεται αλληλουχήμενο γονιδίωμα, δεν απαιτεί χρωστικές και είναι κυρίαρχος και συγκυρίαρχος δείκτης (Reddy MP, Sarla N, Siddiq E., 2002).

Οι Nagaoka and Ogihara (1997), έδειξαν ότι αυτοί οι δείκτες είναι πιο πληροφοριακοί σε σύγκριση με τους RFLP και τους RAPD όσον αφορά το σιτάρι. Η χρήση των δεικτών όσον αφορά σημαντικά αγρονομικά χαρακτηριστικά μελετήθηκε πρώτα από τους Akagi *et al.* (1996), με τη βοήθεια γονιδίων που ανιχνεύθηκε στο ρύζι. Οι Kojima *et al.* (1998), μελέτησαν τη χρησιμότητα των ISSR και των RAPD δεικτών στην κατασκευή συνδετικού χάρτη στο Einkorn σιτάρι.



Εικόνα 21: ISSR δείκτης

ASAPs

Παράγουν ένα μοναδικό θραύσμα σε αυστηρές θερμοκρασίες αποδιάταξης. Το DNA εμφανίζεται μόνο στα άτομα που έχουν τα κατάλληλα αλληλόμορφα και έτσι μειώνεται η ανάγκη να διαχωριστούν τα θραύσματα DNA με ηλεκτροφόρηση. Αυτή η μέθοδος προϋποθέτει την ένωση βρωμιούχου αιθιδίου στην διπλή έλικα DNA, το οποίο ενισχύει τον φθορισμό, αλλά δεν συνδέει ελεύθερα νουκλεοτίδια στο μίγμα για την PCR. Στόχος της μεθόδου ήταν η μείωση του χρόνου εξαγωγής DNA που οδηγεί σε αύξηση της αξιοπιστίας της αντίδρασης PCR, για μεγάλη ένταση ανίχνευσης.

SPARs

Είναι ένα σύστημα που μπορεί να παράγει πολλαπλούς δείκτες ανά δοκιμή. Το σύστημα χρησιμοποιεί εκκινητές που βασίζονται σε απλές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες(SSRs).Οι τετρανουκλεοτιδικές επαναλήψεις είναι οι πιο αποτελεσματικές στην παραγωγή πολυμορφικών προτύπων με πολλαπλές μάντες. Ο βαθμός πολυμορφισμού σχετίζεται με την γενωμική ποικιλομορφία μεταξύ των δοθέντων ειδών. Παρόλο που οι πιο πολλοί SPARs είναι κυρίαρχοι δείκτες,

συγκυρίαρχοι δείκτες μπορούν να εντοπιστούν. Δεδομένου ότι πολύ μεγάλος αριθμός εκκινητών μπορεί να συντεθεί από SSRs, αυτοί οι δείκτες βρίσκουν εφαρμογή σε ένα ευρύ φάσμα φυτικών ειδών.

CAPs (Πολύνα θραύσματα πολυμορφικής αλληλουχίας DNA)

Οι δείκτες αυτοί είναι συνδυασμός PCR και RFLP. Περιλαμβάνει έναν στόχο DNA με χρήση PCR, που ακολουθείται από πέψη με ένζυμα περιορισμού. Οι δείκτες βασίζονται στις διαφορές της πέψης από τα ένζυμα περιορισμού των τμημάτων από την PCR που προέρχονται από πολυμορφισμό νουκλεοτιδίων μεταξύ δειγμάτων. Οι πολυμορφισμοί ανιχνεύονται σαν διαφορές στο μέγεθος των τμημάτων.

Είναι πολύ ευαίσθητοι για αυτό θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στα βήματα της απομόνωσης του DNA, στις συνθήκες της PCR και στον αριθμό και στην κατανομή των πολυμορφισμών. Ο πολυμορφισμός με PCR είναι πολύ πιο εύκολος από ότι ο υβριδισμός και λιγότερο χρονοβόρος. Οι CAPS δείκτες που προέρχονται από EST που είναι λειτουργικές περιοχές είναι καλύτεροι από αυτούς που προέρχονται από SSR δείκτες. Οι δείκτες αυτοί είναι συγκυρίαρχοι. Η ικανότητα να ανιχνεύουν πολυμορφισμούς είναι μικρότερη από αυτή των SSR και AFLP λόγω των αλλαγών των νουκλεοτιδίων που αλλάζουν τις θέσεις περιορισμού. Οι CAPS δείκτες είναι δυνατοί μόνο όταν οι μεταλλάξεις δημιουργούν μια θέση περιορισμού ένζυμου. Για αυτό έχουν δημιουργηθεί οι δείκτες dCAPS που εξαλείφουν τα προβλήματα με δημιουργία πολυμορφισμού που βασίζεται σε μεταλλάξεις (*Jarvis .P, Lister C., Szabo V., Dean C., 1994*).

4.8.2 Εφαρμογές που προκύπτουν από τη χρήση των μοριακών δεικτών

Εκτίμηση της παραλλακτικότητας του γενετικού υλικού

Το γενετικό υλικό που συλλέγεται είναι μια εξαιρετική πηγή για άντληση γενετικών χαρακτηριστικών, όμως η αξιολόγηση του δεν είναι πάντοτε εύκολη. Συνήθως βασίζεται σε μορφολογικά ή φυσιολογικά δεδομένα μπορούν όμως να χρησιμοποιηθούν και μοριακοί δείκτες

Στα δημητριακά, εκτενείς πληροφορίες είναι διαθέσιμες για το ρύζι, τον αραβόσιτο και το κριθάρι. Η γενετική παραλλακτικότητα στο *Triticeae* ,μελετήθηκε με τη χρησιμοποίηση μιας σειράς μοριακών δεικτών (*Gupta et al., 1999; Koebner et al., 2001*). Μεταξύ των δημητριακών έχουν μελετηθεί το κριθάρι και το μαλακό

σιτάρι με Πολ/μό Πολυμορφικών Τμημάτων DNA εκ Περιορισμού (*AFLPs*, Barrett and Kidwell, 1998) και με μικροδορυφόρους (*SSRs*, Prasad et al., 2000; Russell et al., 2000). Πρόσφατες μοριακές έρευνες έχουν γίνει στο σκληρό σιτάρι και αφορούν τη χρήση δεικτών τύπου *SSRs* για την εκτίμηση της γενετικής παραλλακτικότητας (Eujail et al., 2002; Soleimani et al., 2002).

Γενετική ταυτοποίηση των ποικιλιών (Fingerprinting) και ανάλυση των φυλλογενετικών τους σχέσεων

Με τη βοήθεια των δεικτών μπορεί να γίνει περιγραφή μιας ποικιλίας ή ενός πληθυσμού, να γίνει ανίχνευση των γενετικών διαφορών ανάμεσα σε φυτά της ίδιας ποικιλίας και να μελετηθεί η σχέση συγγένειας ή καταγωγής ανάμεσα σε φυτά του είδους ή άλλων ειδών. Η γενετική ταυτοποίηση έχει ιδιαίτερη χρησιμότητα στην προστασία νέων ποικιλιών και στον έλεγχο πιστότητας κατά την εμπορική σποροπαραγωγή. Παράλληλα με την εκτίμηση της γενετικής ομοιότητας γίνεται δυνατή η ομαδοποίηση γενετικών υλικών και η εύρεση των φυλλογενετικών τους σχέσεων.

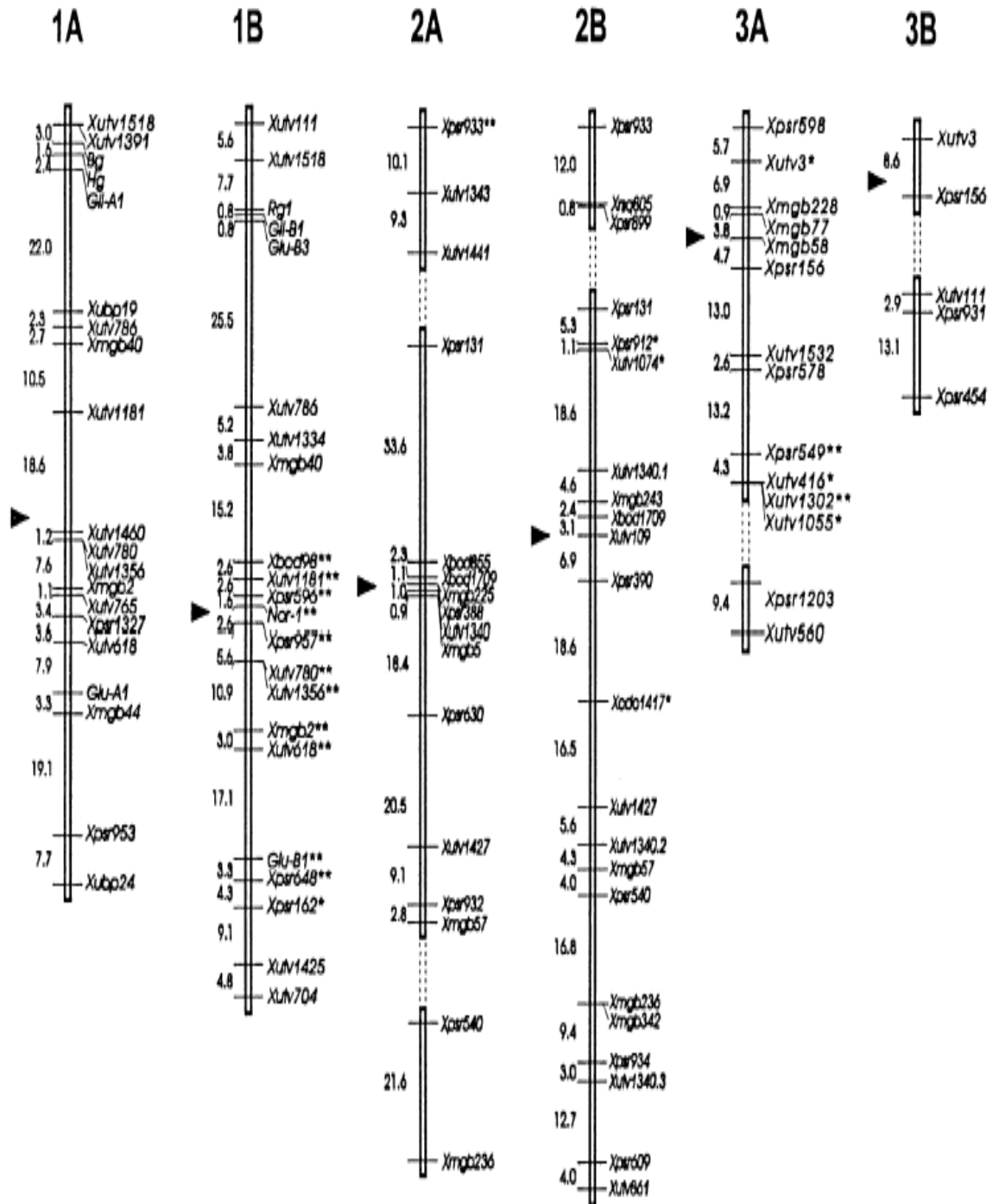
Οι γενετικές διαφορές που υπάρχουν μεταξύ των ποικιλιών ενός είδους θεωρείται ότι αντανακλώνται στις διαφορές του DNA. Έτσι οι μοριακοί δείκτες μπορούν να χρησιμοποιούνται ως κριτήριο για τη διάκριση των ποικιλιών. Η τεχνική της ανίχνευσης πολυμορφισμών με ηλεκτροφόρηση για την ταυτοποίηση των ποικιλιών είναι σήμερα εργασία ρουτίνας σε ορισμένα φυτά. Γενικά η ταυτοποίηση ποικιλιών με μοριακούς δείκτες εφαρμόστηκε σε μερικά είδη με επιτυχία, όμως παρουσιάζει προβλήματα σε αρκετά άλλα. Βασική προϋπόθεση για επιτυχή εφαρμογή της ανάλυσης είναι να υπάρχει στο είδος σημαντικός πολυμορφισμός (Ribaut, J.M. and Hoisington, D.A., 1998).

Γενετική χαρτογράφηση

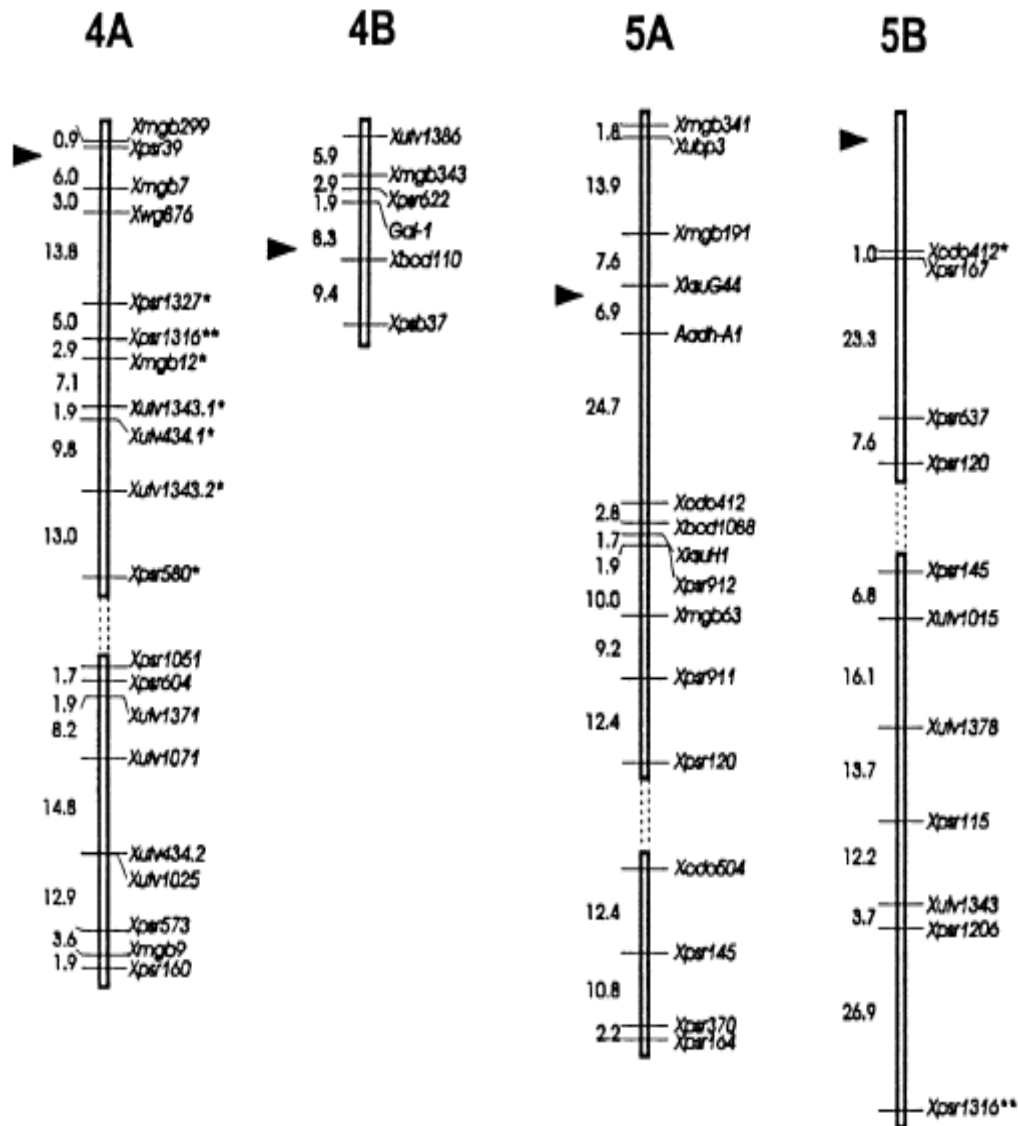
Η τεχνική της γενετικής χαρτογράφησης και ανάλυσης αναπτύχθηκε το 1911 από τους *D.H Morgan* και τον φοιτητή του *Alfred H. Sturtevant* και χρησιμοποιείται με τον ίδιο τρόπο μέχρι σήμερα, αλλά με πιο βελτιωμένες μεθόδους. Η βάση της γενετικής χαρτογράφησης είναι το φαινόμενο της ανταλλαγής των χρωμοσωμικών τμημάτων κατά τη διάρκεια της μείωσης, όπου ομόλογα τμήματα χρωμοσώμων ανταλλάσσουν την ακολουθία των γονιδίων τους. Η τάση δύο γονιδίων που εκφράζονται σε ένα χρωμόσωμα να επανασυνδέονται, χρησιμοποιείται ως μέτρηση

του συνδέσμου και της απόστασής τους σε έναν γενετικό χάρτη. Παραδείγματος χάριν, δύο γονίδια που επανασυνδυάζονται συχνά είναι μακριά σε έναν γενετικό χάρτη ενώ δύο που επανασυνδέονται σπάνια βρίσκονται πολύ στενά σε έναν γενετικό χάρτη.

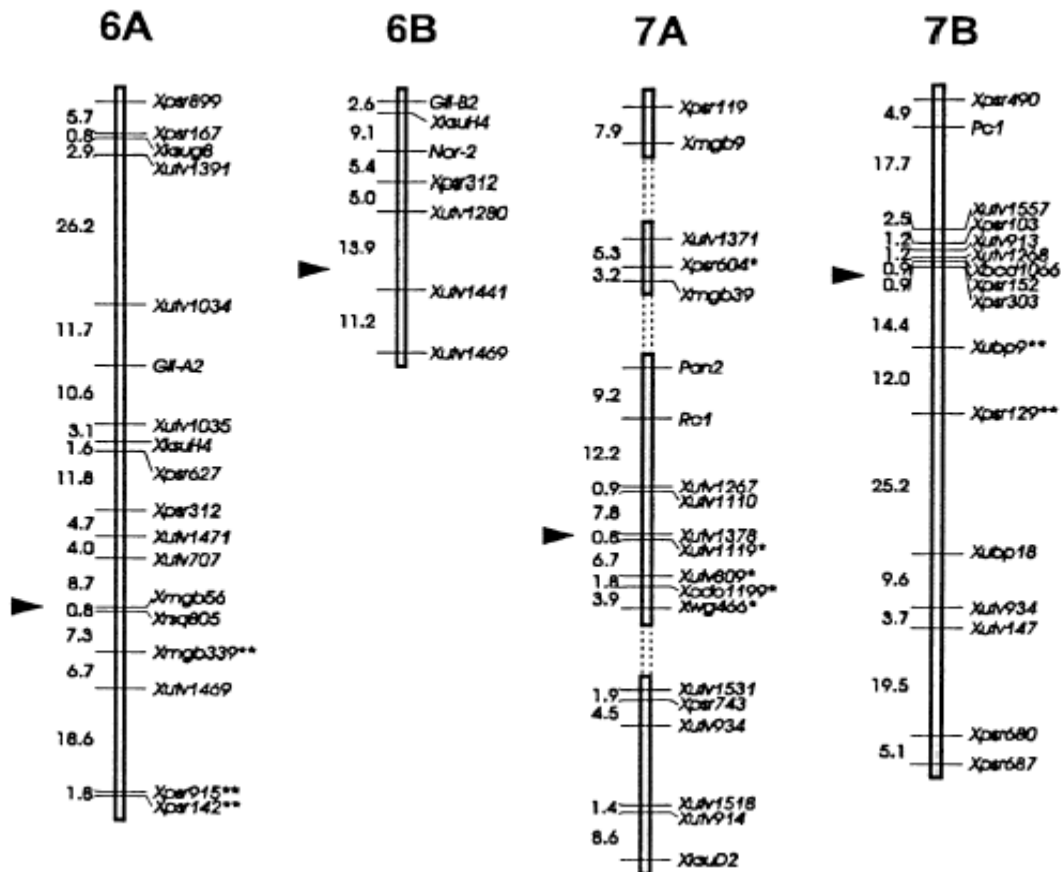
Η γενετική έρευνα για τα σημαντικά αγρονομικά και ποιοτικά γνωρίσματα σε αυτή την καλλιέργεια, έχει καθυστερήσει σημαντικά σε σχέση με τα άλλα δημητριακά, όπως το ρύζι. Η κατασκευή ενός γενετικού χάρτη μπορεί να είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για τη ικανοποιητική εξερεύνηση της γενετικής δυνατότητας στα προγράμματα βελτίωσης. Έτσι, έχουν δημιουργηθεί οι μοριακοί χάρτες πολλών ειδών και έχουν χρησιμοποιηθεί στην ποσοτική ανάλυση των επιμέρους γνωρισμάτων και στην μελέτη οργάνωσης του γονιδιώματος (*Paterson et al., 1991; Whitkus et al., 1994*). Οι RFLP, που προτάθηκαν πρώτα από τους *Botstein et al., (1980)*, έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς για να κατασκευαστούν γενετικοί χάρτες σε πολλά καλλιεργούμενα είδη (*Phillips and Vasil, 1994*). Το μαλακό σιτάρι, *Triticum aestivum (L.) Thell.*, έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας και έχουν κατασκευαστεί χάρτες βασισμένοι σε RFLPs είτε για ομάδες μη ομόλογων χρωμοσωμάτων (*Hohmann et al., 1994; Delaney et al., 1995a, b; Mickelson-Young et al., 1995; Nelson et al. 1995 a, b, c; Van Deynze et al., 1995; Gill et al., 1996; Jia et al., 1996; Marino et al., 1996*) είτε για ομάδες χρωμοσωμάτων (*Liu and Tsunewaki 1991; Anderson et al., 1992; Gale et al., 1995*). (εικόνα 22 α, 22β, 22γ).



Εικόνα 22 α : Γενετικός χάρτης του σκληρού σιταριού και απεικόνιση των χρωμοσωμάτων 1A, 1B, 2A,2B, 3A, 3B.



Εικόνα 22 β : Γενετικός χάρτης του σκληρού σιταριού και απεικόνιση των χρωμοσωμάτων 4A, 4B, 5A,5B.



Εικόνα 22 γ : Γενετικός χάρτης του σκληρού σιταριού και απεικόνιση των χρωμοσωμάτων 6A, 6B, 7A, 7B.

Εκτίμηση των γενετικών αποστάσεων (Genetic distances)

Χρησιμοποιούνται στην ποσοτικοποίηση της γενετικής παραλλακτικότητας για την ορθολογικότερη επιλογή γονέων πειραματικών υβριδίων υψηλής ετέρωσης. Αποτελούν το μέσο για να βελτιώσουμε την αποτελεσματικότητα και την ταχύτητα των βελτιωτικών προγραμμάτων.

Επιλογή γνωρισμάτων διαμέσου μοριακών δεικτών (MAS-Marker Assisted Selection)

Η διαδικασία αυτή επιτρέπει στον βελτιωτή να διακρίνει τους επιθυμητούς γενοτύπους με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια, παρακολουθώντας την παρουσία ή όχι συγκεκριμένων μοριακών δεικτών που συνδέονται στενά με το προς επιλογή γνώρισμα, χωρίς να είναι απαραίτητοι οι χρονοβόροι και πολυέξοδοι έλεγχοι θερμοκηπίου και αγρού. Οι μοριακοί δείκτες αποτελούν επίσης τον μοναδικό τρόπο συγκέντρωσης στην ίδια ποικιλία, γονιδίων διαφορετικής προέλευσης για ανθεκτικότητα σε μια συγκεκριμένη ασθένεια , όταν η φαινοτυπική έκφραση των

γονιδίων αυτών είναι ταυτόσημη και δεν επιτρέπει έτσι τη διάκριση τους από την εκτίμηση και μόνο της προσδιδόμενης ανθεκτικότητας. Η πρακτική αυτή μπορεί να οδηγήσει στην επιθυμητή απόκτηση όχι μόνο αναβαθμισμένων ποικιλιών αλλά και με σταθερότερη ανθεκτικότητα. Παράλληλα, είναι δυνατή η επιτάχυνση της ενσωμάτωσης χαρακτηριστικών σε *elite* γενοτύπους, μειώνοντας δραστικά τον αριθμό των αναδιασταυρώσεων που απαιτούνται από 5-6 σε 2-3 με την προϋπόθεση ύπαρξης εκτεταμένων χαρτών μοριακών δεικτών τόσο στις elite σειρές όσο και στις σειρές δότες του προς ενσωμάτωση πληθυσμού.

Προσδιορισμός και χαρτογράφηση των QTL

Τα *QTLs* είναι γενετικοί παράγοντες που είναι υπεύθυνοι κατά ένα μέρος για την παρατήρηση της φαινοτυπικής παραλλακτικότητας όσον αφορά ένα ποσοτικό γνώρισμα. Υποδεικνύουν μια περιοχή στο γονιδίωμα και μπορεί να περιλαμβάνουν 1 ή περισσότερα λειτουργικά γονίδια. Παρατηρείται η συσχέτιση μεταξύ χαρακτηριστικών και αναλύεται η απουσία ή παρουσία αλληλόμορφων δεικτών που έχουν χαρτογραφηθεί. Όταν φαίνεται ότι η συσχέτιση που έχει παρατηρηθεί δεν είναι αποτέλεσμα τυχαίας διαδικασίας δηλώνεται ότι ένα *QTL* ανιχνεύεται. Το μέγεθος των αλληλομόρφων επηρεάζει το αναζητούμενο *QTL*.

Πολλά *QTLs* που σχετίζονται με ένα μόνο χαρακτηριστικό συχνά βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Γνωρίζοντας τον αριθμό των *QTLs* που εξηγούν την παραλλακτικότητα των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών μαθαίνουμε τη γενετική βάση αυτού του χαρακτηριστικού. Έτσι μπορούμε για παράδειγμα να μάθουμε ότι το ύψος του φυτού ελέγχεται από πολλά γονίδια που έχουν μικρή επίδραση ή από λιγότερα γονίδια μεγαλύτερης επίδρασης.

Μια άλλη χρήση των *QTLs* είναι η ταυτοποίηση των γονιδίων που σχετίζονται με ένα χαρακτηριστικό. Μόλις βρεθεί το τμήμα του DNA που συνεισφέρει στο φαινότυπο αυτό, μπορεί να αλληλουχηθεί. Η αλληλουχία του DNA κάθε γονιδίου αυτής της περιοχής, μπορεί να συγκριθεί με μια βάση δεδομένων DNA από γονίδια των οποίων η λειτουργία είναι γνωστή.

Με βάση όλα τα παραπάνω διαπιστώνουμε ότι οι μοριακοί δείκτες βοηθούν στη χαρτογράφηση χρωμοσωμικών περιοχών που έχουν επιπτώσεις στα ποιοτικά ή ποσοτικά γνώρισμα. Πολυγονιδιακοί χαρακτήρες, οι οποίοι ήταν πολύ δύσκολο να αναλυθούν με τη χρησιμοποίηση των παραδοσιακών μεθόδων βελτίωσης, μπορεί τώρα να μελετηθούν με τη χρησιμοποίηση των μοριακών δεικτών DNA.

4.8.3 Εφαρμογές συνδιασμένης χρήσης μεθόδων κλασσικής και μοριακής βελτίωσης

Ανθεκτικότητα στην ξηρασία

Βρέθηκε ότι εξαιτίας της καλύτερης προσαρμογής τους σε άγονες και θερμές περιοχές, οι τετραπλοειδείς γενότυποι του σκληρού σιταριού θεωρούνται πιο ανθεκτικοί σε συνθήκες στρες σε σχέση με αυτούς του εξαπλοειδούς (*Percival 1974, Waines 1994*). Παρόλαυτά οι μελέτες που περιγράφουν αυτό το μηχανισμό είναι λίγες.

Ο *Percival (1974)*, υποστήριξε ότι το σκληρό σιτάρι απαιτεί υγρά και θερμά κλίματα για ικανοποιητική ανάπτυξη. Οι *Al-Hakimi and Mannoveux (1993)*, ανέφεραν ότι τα τετραπλοειδή σιτάρια όπως το *T. dicoccum* έχουν μεγάλη παραγωγή σε βιομάζα και ικανοποιητικό αριθμό αδερφιών και σταχυδίων ανά φυτό ενώ το *T. polonicum* έχει μεγάλο μίσχο, καλή παραγωγικότητα ανά στάχυ, μεγάλη μάζα ανά κέλυφος και καλή ανταπόκριση της ρίζας στην ξηρασία. Οι *Damania and Tahir (1993)*, ανέφεραν ότι υπάρχει υψηλός βαθμός ανθεκτικότητας στην ξηρασία εξαιτίας του AABB γονιδιώματος του σκληρού σιταριού.

Το πρόβλημα της ξηρασίας είναι εντονότερο στην περιοχή της νοτιοανατολικής Ευρώπης και συγκεκριμένα στην περιοχή της Σερβίας, όπου και παρατηρείται πάρα πολύ μικρή παραγωγή σιταριού σε συνδυασμό και με τον εξαιρετικά ξηρό χειμώνα. Επομένως, είναι σημαντικό να προσδιοριστούν οι πηγές αντίστασης στην ξηρασία και τις υψηλές θερμοκρασίες ώστε να συμπεριληφθούν στα τοπικά προγράμματα βελτίωσης του σιταριού. Οι μοριακοί δείκτες επιτρέπουν τον καθορισμό του απλότυπου κάθε γενοτύπου. Με τη δοκιμή της συσχέτισης της παραλλακτικότητας των αλληλομόρφων με την παραλλακτικότητα στο φαινότυπο, είναι δυνατό να προσδιοριστούν τα γνωρίσματα που σχετίζονται με την περιεκτικότητα στην ξηρασία έτσι ώστε να μπορέσουν να ενσωματωθούν αποτελεσματικότερα στις νέες ποικιλίες. Αυτό επιτεύχθηκε από τους *Quarrie et al. (2003)*, οι οποίοι μελέτησαν 96 επιλογές από την συλλογή των γενετικών πόρων σιταριού από το Institute of Field and Vegetable Crops, στο Novi Sad. Αυτά τα σιτάρια είχαν ήδη μελετηθεί για έναν μεγάλο αριθμό γνωρισμάτων, συμπεριλαμβανομένων αρκετών που συνδέονται με την ανθεκτικότητα στην ξηρασία. Τα χαρακτηριστικά αυτά συσχετίζουν την ημερομηνία της άνθησης και το ύψος του

βλαστού με τη χρήση δεικτών SSR σε περιοχές που συνδέονται στενά με γονίδια φωτοπεριοδισμού (*Ppd*) και πρόωρης άνθησης (*Vrn*) με κύριο εκπρόσωπο το γονίδιο του νανισμού, dwarfing gene (*Rht-D1*). Μια ιδιαίτερα σημαντική συσχέτιση της ημερομηνίας της άνθησης με το δείκτη SSR psp3200 βρέθηκε στο χρωμόσωμα 6D που εμφανίζεται σε μια νέα περιοχή που ρυθμίζει το χρόνο της άνθησης. Σε ένα υποσύνολο των γενοτύπων, ο δείκτης psp3071, που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6AL παρουσίασε σημαντική συσχέτιση με την παραγωγή (βάρους 1000 κόκκων) κάτω από συνθήκες ξηρασίας στη νοτιοανατολική Σερβία. Οι πληροφορίες αυτές μπορούν να αξιοποιηθούν για να κάνουμε επιλεγμένες διασταυρώσεις σε προγράμματα βελτίωσης όσον αφορά την αντοχή στην ξηρασία.

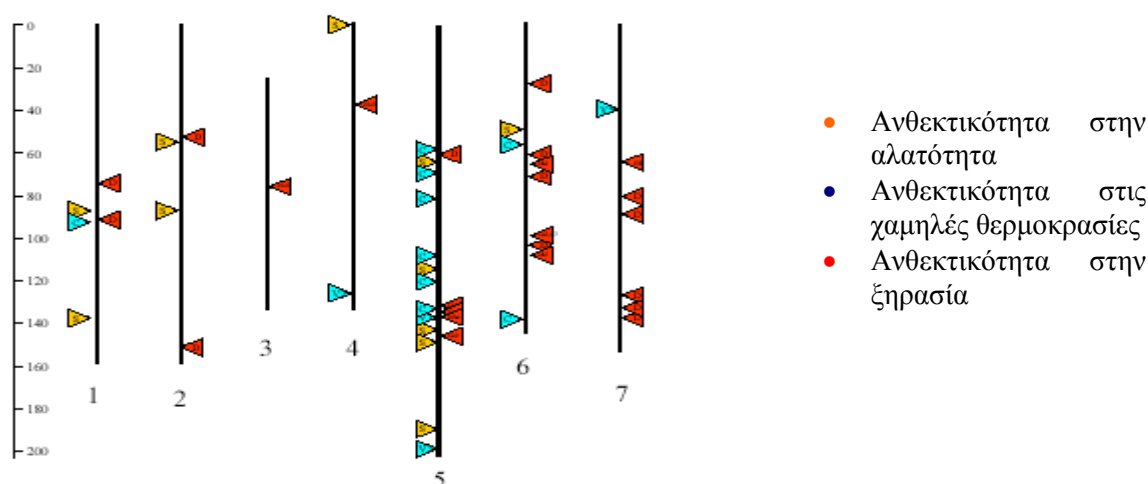
Τα τελευταία χρόνια μελέτες υποστηρίζουν ότι το νερό, η θερμοκρασία και η ανθεκτικότητα στην αλατότητα, οδήγησαν στη δημιουργία οξειδωτικών, υδροπεροξειδοτικών και υδροξειδοτικών που θεωρούνται ότι είναι οι κύριες αιτίες τραυματισμού, σε επίπεδο κυττάρου ή φυτού (*Elstner 1987; Baisak et al., 1994*). Αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η υπεροξειδωτική δισμουτάση, η ασκορβική υπεροξειδάση, η γλουταθειόνη, η καταλάση και μεταβολίτες όπως το ασκορβικό οξύ, η γλουταθειόνη, η α-τοκοφερόλη, τα φλαβονοειδή, τα καροτενοειδή κ.α συνδέονται με την ανθεκτικότητα στην ξηρασία (*Liebler et al., 1986; Elstner 1987; Larson 1988*). Αυξημένη ενεργητικότητα σε αντιοξειδωτικά ένζυμα κάτω από συνθήκες θερμοκρασιακού και υδατικού στρες αναφέρθηκαν σε πολλές μελέτες (*Matters and Scandalios, 1986; Baisak et al., 1994*). Παρόλ' αυτά έρευνες που να αναφέρονται σε παραλλακτικότητα σε επίπεδο γενετικής βάσης ή εξαιτίας του επιπέδου πλοειδίας είναι πολύ λίγες και ανεξέλεγκτες ως προς τα αποτελέσματά τους.

Οι *Badiani et al.* (1990), μελετώντας τη σχέση μεταξύ της ανθεκτικότητας στην ξηρασία και των ενζυματικών αντιοξειδωτικών συστημάτων σε είδη σταριού με διαφορετικό επίπεδο πολυπλοειδίας, διαπίστωσαν ότι δεν υπάρχει σύγκριση των αποτελεσμάτων με βάση το διαφορετικό επίπεδο πλοειδίας. Ανάλογα οι *Zhang and Kirkham* (1994), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα εξαπλοειδή σιτάρια έχουν λιγότερους αποτελεσματικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς, σε σύγκριση με τα τετραπλοειδή και τα διπλοειδή.

Οι *Royo et al.* (2004), αξιολόγησαν 25 γενοτύπους σκληρού σιταριού κάτω από συνθήκες άρδευσης και φυσικής βροχόπτωσης. Διαπίστωσαν ότι η ξηρασία προκάλεσε επιμήκυνση της ανάπτυξης της καλλιέργειας μέχρι την άνθηση κατά 3-4 μέρες. Αντίθετα ο χρόνος από τη σπορά ως την απόκτηση του μέγιστου δείκτη

φυλλικής επιφάνειας (LAI) και δείκτη πράσινης επιφάνειας (GAI) μειώθηκε εξαιτίας της ξηρασίας κατά 10%, προκαλώντας έτσι επιτάχυνση στην έναρξη γήρανσης των φυτών. Από τη στιγμή όμως που άρχιζε η γήρανση των πράσινων οργάνων ο ρυθμός γήρανσης ήταν πιο γρήγορος στις αρδευόμενες συνθήκες.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η ανθεκτικότητα στην ξηρασία, στην αλατότητα και στις χαμηλές θερμοκρασίες συνδέονται φυσιολογικά γιατί αυτά τα αποτελέσματα του στρεσαρίσματος επηρεάζουν την πρόσληψη του νερού από το φυτό. Έτσι, πολλές από τις τεχνικές εκτίμησης που χρησιμοποιήθηκαν θεωρείται ότι είναι πολλαπλά εφαρμόσιμες. Αυτό μπορεί να περιλαμβάνει οσμωτική ρύθμιση στις ρίζες που επιτρέπει τη διατήρηση του νερού μέσω των υδροφοβικών φραγμών και βελτιώνει την αποτελεσματικότητα του υδατικού δυναμικού για την γρηγορότερη κίνηση του νερού στα φυτά. Έτσι, μειώνοντας το χρόνο άνθισης μπορούμε να αποφύγουμε την ξηρασία της τελευταίας περιόδου αλλά δεν μπορούμε να βοηθήσουμε σε μια χρόνια κατάσταση αλατότητας. Βαθύτερες ρίζες μπορεί να εκμεταλλεύονται το νερό κατά τις περιόδους ξηρασίας αλλά δεν μπορούν να αντιμετωπίσουν την περίπτωση της αλατότητας. Κάποιος μπορεί να θεωρήσει ότι ο γενετικός έλεγχος είναι πολύπλοκος για να επιτύχουμε ανθεκτικότητα σε διαφορετικές συνθήκες στρες. Θεωρούμε για παράδειγμα το σιτάρι και το κριθάρι, στα οποία πολλές αναφερόμενες επιδράσεις ρυθμίζουν την ανταπόκριση στην ξηρασία, την αλατότητα και τις χαμηλές θερμοκρασίες και τις συγκεντρώνουμε σε έναν χρωμοσωμικό χάρτη (εικόνα 23). Ενώ 10 ή περισσότερα *QTL* βρίσκονται για κάθε χαρακτηριστικό πολλά το ξεπερνούν ώστε λίγες χρωμοσωμικές περιοχές να είναι ικανές να ρυθμίσουν παράγοντες που σχετίζονται με αυτά τα χαρακτηριστικά.



Εικόνα 23: QTLs που σχετίζονται με ανθεκτικότητα σε αβιοτικούς παράγοντες και χαρτογράφηση των κύριων γονιδίων σε composite Triticeae χρωμοσωμικό χάρτη.

Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη (GPC) και η ποιότητα της πρωτεΐνης είναι τα δύο σημαντικά χαρακτηριστικά που καθορίζουν την ποιότητα των ζυμαρικών και την ποιότητα αρτοποιίας. Γι αυτό και έχει δοθεί ιδιαίτερη έμφαση, όσον αφορά αυτό το γνώρισμα, στις τρέχουσες αγορές εξαγωγών (Dohlman and Hoffman, 2000) και έχει αυξηθεί το εισόδημα των καλλιεργητών σιταριού επειδή καταβάλλονται μεγαλύτερες τιμές για σιτάρια με υψηλό GPC. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει μια ισχυρή σχέση μεταξύ της GPC και της ποιότητας μαγειρέματος ζυμαρικών, της καλύτερης σταθερότητας μαγειρέματος και της ανοχής στις υψηλές θερμοκρασίες ψησίματος (Matsuo et al., 1972, 1982; Wasik, 1975; Autran et al., 1986; D'Egidio et al., 1990; Feillet & Dexter, 1996).

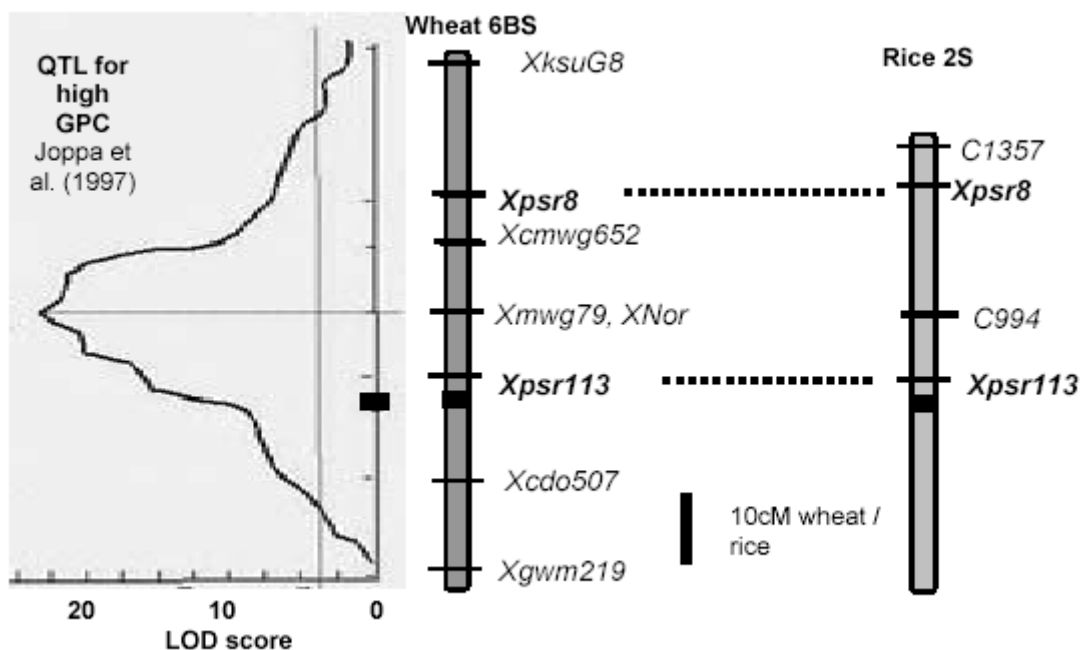
Παρά την οικονομική σημασία της, η βελτίωση της GPC με τις μεθόδους της κλασσικής βελτίωσης είναι αργή λόγω του σύνθετου γενετικού συστήματος που ελέγχει αυτό το γνώρισμα, την υψηλή επιρροή του περιβάλλοντος, και την ύπαρξη της αρνητικής συσχέτισης μεταξύ GPC και απόδοσης (Simmonds, 1995). Εντούτοις, υπάρχουν ποικιλίες που συνδυάζουν άριστες παραγωγές με υψηλά επίπεδα σε GPC (Cox et al., 1985). Οι προσπάθειες να βελτιωθεί η GPC, χωρίς επιλογή για την μειωμένη απόδοση, μπορούν να επιταχυνθούν από τον προσδιορισμό των γονιδίων που έχουν επιπτώσεις στην GPC και από την άμεση επιλογή των αλληλόμορφων γονιδίων, με θετικά αποτελέσματα.

Ένας τρόπος για να αυξήσουμε την GPC, είναι να χρησιμοποιήσουμε τα αλληλόμορφα που σχετίζονται με την υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, τα οποία προέρχονται από τους άγριους συγγενείς του σιταριού. Από τη στιγμή που αναφέρθηκε ότι υπάρχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στο *Triticum turgidum* (L.) var. *dicoccoides*, έναν τετραπλοειδή άγριο συγγενή του καλλιεργούμενου σκληρού σιταριού (Avivi, 1978), διάφοροι ερευνητές έχουν προσπαθήσει να ενσωματώσουν γονίδια αρμόδια για αυτό το γνώρισμα στο προσαρμοσμένο γενετικό υλικό.

Οι Joppa and Cantrell (1990), αξιολόγησαν ποικιλίες σκληρών σιταριών που ανήκουν στο *Triticum turgidum* (L.) var. *dicoccoides* στο Langdon (LDN). Οι ποικιλίες προήλθαν από προγράμματα βελτίωσης του κρατικού πανεπιστημίου της βόρειας Ντακότας στις αρχές της δεκαετίας του '50. Διαπιστώθηκε ότι σε αυτές τις σειρές, στα χρωμοσώματα 2A, 3A, 6A, 5B, ή 6B, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη

κυμαίνεται από 17,2 ως 17,9%, ποσοστό που είναι αρκετό υψηλότερο από αυτό άλλων σειρών. Πρότειναν τη χρήση αυτών των συνεζευγμένων γραμμών αντικατάστασης στα προγράμματα βελτίωσης σκληρών σιταριών με σκοπό να μειώσουν το linkage drag που σχετίζεται με την εισαγωγή γονιδίων από τα άγρια είδη. Σε παρόμοια μελέτη, οι *Cantrell and Joppa* (1991), ανέφεραν ότι σε γραμμές αντικατάστασης με *Triticum turgidum* (L.) var. *dicoccoides* στα χρωμοσώματα 2A, 3A και 5B, βρέθηκε ότι είχαν αύξηση του βάρους των σπόρων. Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν αργότερα από τους *Steiger et al.* (1996), οι οποίοι πέρασαν όλα τα χρωμοσώματα του *Triticum turgidum* (L.) var. *dicoccoides* σε γραμμές αντικατάστασης (LDN) στην ποικιλία σκληρού σιταριού Vic. Η επίδραση του γενοτύπου στη GPC ήταν ιδιαίτερα εμφανής στους πληθυσμούς *Triticum turgidum* (L.) var. *dicoccoides*, στα χρωμοσώματα 5B και 6B. Οι πρόσφατες μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την παρουσία ενός σημαντικού QTL για GPC στο χρωμόσωμα 6B της ίδιας σειράς *Triticum turgidum* (L.) var. *dicoccoides* (*Joppa et al.*, 1997; *Chee et al.*, 2001). Σε πρόσφατη μελέτη (*Chee et al.*, 2001), η περιοχή *Xcdo365*, εξήγησε το 72% της φαινοτυπικής παραλλακτικότητας για μια μέση αύξηση 15 g/ kg στην GPC.

Ανάλογα πειράματα έγιναν και στο Ισραήλ όπου διαπιστώθηκε ότι μια συλλογή του άγριου σιταριού, η FA15-3, είναι μια πιθανή πηγή υψηλής περιεκτικότητας αλληλομόρφων σε GPC (*Avivi*, 1978). Ανιχνεύθηκε QTL με υψηλή GPC στο χρωμόσωμα 6B της ποικιλίας 'Langdon' (*Triticum turgidum* var. *durum*, LDN). Η ανίχνευση έγινε με χρήση δεικτών RFLP, τους *Xpsr8* και *Xpsr113*, στον βραχίονα 6BS (*Joppa et al.*, 1997). Αυτοί οι δείκτες χρησιμοποιήθηκαν και στο ρύζι στο χρωμόσωμα 2 και καθορίστηκε μια περιοχή 30 cM μεταξύ των 2 ειδών (**εικόνα 24**). Χάρτες συσχέτισης στα φυτά δίνουν στοιχεία για τη διατήρηση των δεικτών και των γονιδίων μεταξύ των σχετικών γενωμάτων. Το ρύζι είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την οικογένεια των δημητριακών, γιατί το μεγαλύτερο μέρος του διπλοειδούς γονιδιώματος έχει αλληλουχηθεί. Χρησιμοποιήθηκαν πληροφορίες από το γονιδίωμα του ρυζιού και έγινε συσχέτιση με δείκτες του σιταριού στο 6B χρωμόσωμα, που σχετίζονται με QTL που ελέγχουν την υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.



Εικόνα 24 : QTL με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη
Δεξιά Γενετικός χάρτης του χρωμοσώματος 2S στο ρύζι

Ανάλογες έρευνες έδειξαν ότι άγριοι τετραπλοειδείς συγγενείς της ποικιλίας *diccoides* έχουν περιοχές ποσοτικών γνωρισμάτων (QTLs) για περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στις ομάδες των χρωμοσωμάτων 5 και 7, και στα 1AS και 1BS (Levy and Feldman, 1989) και στους βραχίονες 4BS, 5AL, 6AS, 6BS και 7BS (Blanco *et al.*, 1996).

Επειδή η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη επηρεάζεται από συνθήκες του περιβάλλοντος χρησιμοποιήθηκαν μοριακοί δείκτες που συνδέονται με περιοχές ποσοτικών γνωρισμάτων (QTL) που σχετίζονται με την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.

Οι Gonzalez *et al.* (2004), χαρτογράφησαν γονίδια που σχετίζονται με την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και την απόδοση στο χρωμόσωμα 5B του σκληρού σιταριού. Λόγω της ισχυρής περιβαλλοντικής επιρροής στη GPC, οι μοριακοί δείκτες που συνδέονται με περιοχές ποσοτικών γνωρισμάτων (QTL) έχουν επιπτώσεις στην GPC. Μελετήθηκαν πολλά ποσοτικά χαρακτηριστικά σε έναν πληθυσμό 133 ανασυνδυαζόμενων χρωμοσωμάτων σε τρεις περιοχές στη βόρεια Ντακότα. Τα χαρακτηριστικά αυτά ήταν η περιεκτικότητα σε GPC, το βάρος 1000 κόκκων, η δύναμη της γλουτένης, η ημερομηνία της άνθισης και το ύψος των φυτών. Με το συσχετισμό των φαινοτυπικών στοιχείων και των δεδομένων από τη χαρτογράφιση, προσδιορίστηκαν τρία QTL που είχαν επιπτώσεις στη GPC και ένα που είχε

επιπτώσεις στην παραγωγή. Οι γενοτυπικοί συντελεστές προσδιορισμού και για τα δύο γνωρίσματα ήταν υψηλοί.

Οι Elouafi et al. (2004), μελέτησαν τη γενετική των ποιοτικών γνωρισμάτων του σιταριού που έχουν σχέση με την άλεση, τη θέση των χρωμοσωμάτων και την αλληλεπίδραση με το περιβάλλον για να κατασκευάσουν ένα χάρτη του σιταριού και προσδιόρισαν περιοχές QTLs που είναι υπεύθυνες για ποσοτικά γνωρίσματα που έχουν σχέση με την άλεση, το βάρος του σπόρου (TW) και το βάρος 1000 κόκκων (TKW). Ο πληθυσμός αποτελούνταν από 114 ανασυνδυαζόμενες καθарές σειρές που προήλθαν από διασταυρώσεις μεταξύ των ποικιλιών Omrabi 5/ *Triticum dicoccoides* 600545// Omrabi 5. Τα χαρακτηριστικά TW και TKW αναλύθηκαν σε 18 περιβάλλοντα. Χρησιμοποιήθηκαν δείκτες (SSRs), (AFLPs), και (SSPs) οι οποίοι παρουσίασαν υψηλό επίπεδο πολυμορφισμού, μεγαλύτερο από 60%). Ο χάρτης κατασκευάστηκε με 124 SSRs, 149 AFLPs και 6 SSPs και το μήκος του κάλυψε 2,288.8 cM (8.2 cM/δείκτη). Ο χάρτης παρουσίασε υψηλή συσχέτιση με τους προηγούμενους χάρτες σιταριού, ενώ οι SSRs και AFLPs χαρτογράφησαν ομοιόμορφα το γονιδίωμα. Εντούτοις, μερικές αναδιοργανώσεις παρατηρήθηκαν. Για το TW, ανιχνεύθηκαν και δύο QTLs με επιστατική επίδραση, τα οποία προσδιορίστηκαν στις περιοχές 7AS και 6BS, και εξηγούν το 30% της συνολικής παραλλακτικότητας. Το TKW παρουσίασε σημαντική κληρονομικότητα και προσδιορίστηκαν 5 QTLs, εξηγώντας το 32% της συνολικής παραλλακτικότητας, από την οποία το 25% ήταν γενετικής φύσης και παρουσίασε αλληλεπίδραση μεταξύ του QTL και του περιβάλλοντος. Τα σημαντικότερα TKW-QTLs ήταν γύρω από την περιοχή των κεντρομερών του 6B. Και για τα δύο γνωρίσματα, τα 5 αλληλόμορφα γονίδια είχαν μια σημαντική θετική επίδραση. Αυτός ο πληθυσμός μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καθοριστεί άλλο QTLs, εφόσον είναι πιθανό οι γονείς να μεταφέρουν διαφορετικά γονίδια για τις ασθένειες και την ανοχή σε ξηρασία.

Οι Blanco et al. (2006), ασχολήθηκαν με την εισαγωγή αλληλόμορφων γονιδίων με υψηλό GPC από την ποικιλία *dicoccoides* στο γενετικό υλικό του σκληρού σιταριού με τη μέθοδο της επαναδιασταύρωσης καθαρών σειρών (BIL) και με την ταυτοποίηση με μοριακούς δείκτες αλληλομόρφων που συνδέονται με υψηλό GPC, αλλά δεν σχετίζονται με μείωση της απόδοσης. Η σειρά 3BIL-85 με υψηλό GPC και παρόμοια απόδοση σε σπόρο διασταυρώθηκε με τη *Latino*, και οι γενιές F2, F3 και F4 εκτιμήθηκαν για την GPC και την απόδοση ανά σπάδικα (GYS) σε τρεις πειραματικές δοκιμές. Ανιχνεύθηκαν 3 QTLs με επίδραση στην GPC στα

χρωμοσώματα 2AS, 6AS and 7BL, με τη βοήθεια δεικτών Xcfa2164, XP39M37(250) και Xgwm577. Η ανάλυση συσχέτισης έδειξε ότι τα τρία QTLs μπορούν να εξηγήσουν τις γενετικές διαφορές του γνωρίσματος. Η υψηλή GPC γονική γραμμή 3BIL - 85 δεν διέφερε σημαντικά από τον επαναλαμβανόμενο γονέα Latino όσον αφορά το GYS, αλλά ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ GPC και GYS είχε αρνητικές τιμές (από 0,02 - 0,28) σε κάθε δοκιμή, αν και ήταν στατιστικά σημαντικός μόνο στη F3 δοκιμή απογόνων. Κανένα συνδυασμένο QTL για GYS δεν ανιχνεύθηκε, αποκλείοντας την υπόθεση ότι τα υποθετικά QTLs για GPC ήταν έμμεσα QTLs για τη χαμηλή απόδοση καρπού. Η αρνητική απάντηση όσον αφορά την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη θα μπορούσε να οφείλεται σε: (α) ομο-θέση της απόδοσης καρπού ανά σπάδικα QTLs με μειωμένη φαινοτυπική επίδραση μη ανιχνεύσιμη από το πειραματικό σχέδιο ή τις στατιστικές διαδικασίες, ή (β) αντίθετη επίδραση πλειοτροπικών γονιδίων λόγω των σημαντικότερων βιοενεργητικών απαιτήσεων για τη σύνθεση πρώτα πρωτεϊνών και έπειτα υδατανθράκων. Η χαρτογράφηση των περιοχών με BILs μπορεί να επιτρέψει την παραγωγή ισογενικών γραμμών στις οποίες τα μεμονωμένα αποτελέσματα κάθε QTL μπορούν να εξετάζονται λεπτομερώς χωρίς να συνδέονται με παραλλακτικότητες που οφείλεται σε άλλα υποθετικά QTLs .

4.9 Μοριακή γενετική τροποποίηση στο σιτάρι (GMO)

Είναι μικρή η πρόοδος και τα πειράματα που έχουν γίνει στον τομέα της βιοτεχνολογίας για την παραγωγή γενετικά τροποποιημένου σιταριού. Ο πρώτος λόγος είναι ότι το σιτάρι είναι ένα φυτό χαμηλής αξίας, συγκρινόμενο με το βαμβάκι το ρύζι και τη σόγια, για να χρηματοδοτηθεί μια τέτοια έρευνα ενώ ο δεύτερος λόγος είναι ότι το γονιδίωμα του σιταριού είναι 10-20 φορές μεγαλύτερο από αυτό των άλλων φυτών και η βελτίωση του είναι πολύπλοκη και χρονοβόρα.

Επιτυχείς εισαγωγές ξένων γονιδίων έχουν γίνει στο μαλακό εξαπλοειδές σιτάρι (*Ceoloni, 1987; Gale and Miller, 1987*) ενώ πολύ λίγη δουλειά έχει γίνει στο σκληρό σιτάρι. Ένα σημαντικός παράγοντας περιορισμού, είναι βεβαίως η μειωμένη ανθεκτικότητα στις χρωμοσωμικές και γενετικές δυσαναλογίες που εμφανίζει ο τετραπλοειδής τύπος σε σύγκριση με τον εξαπλοειδή, όπως φαίνεται από όλη την εργασία για την ανάπτυξη και τη συντήρηση των ανευπλοειδών σκληρών σιταριών (*Joppa, 1988*).

Ένα συγκεκριμένο γονίδιο στο οποίο επικεντρώθηκε η έρευνα, περιλαμβάνει: α) το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την αποθήκευση πρωτεΐνης στο σπόρο και τοποθετείται και στους δύο βραχίονες του χρωμοσώματος 1D στο κοινό σιτάρι. Είναι το *Glu-D1* (L βραχίονας), το οποίο είναι υπεύθυνο για τα χαρακτηριστικά της ποιότητας του είδους, και κωδικοποιείται στις υψηλού μοριακού βάρους υποομάδες πρωτεΐνης (HMW) , και στα στενά συνδεδεμένα *Glu-D1* / *Glu-D3* γονίδια (S βραχίονας), τα οποία λειτουργούν ως δείκτες για τις υποομάδες γλουτένης χαμηλού μοριακού βάρους (LMW) που κωδικοποιούνται στο *Glu-D3*, β) το γονίδιο με ανθεκτικότητα στο ωίδιο (*Pm13*), που προέρχεται από το *Aegilops longissima* και έχει ήδη μεταφερθεί στο μαλακό σιτάρι δια μέσου του *ph1* ομόλογου συνδυασμού (Ceoloni et al., 1988), και γ) ένα συνδυασμό γονιδίων (*Lr19 + Yp*), αποτελούμενων από δύο στενά συνδεδεμένα γονίδια, από τα οποία το πρώτο αποδίδει ανθεκτικότητα στη σκωρίαση των φύλλων και το δεύτερο στην κίτρινη χρωματοποίηση στο αλεύρι, το οποίο προέρχεται από το είδος *Agropyron elongatum* και έχει ενσωματωθεί σε πολλές σειρές του κοινού σιταριού (Sears, 1973, 1978).

Επιστήμονες στην Αίγυπτο και συγκεκριμένα στο Cairo's Agricultural Genetic Engineering Research Institute (AGERI,) έχουν παράγει ένα ανθεκτικό στην ξηρασία σιτάρι, με τη μεταφορά ενός γονιδίου από το κριθάρι σε μια τοπική ποικιλία σιταριού. Υποστηρίζουν ότι η τεχνική τους μειώνει τον αριθμό αρδεύσεων που απαιτούνται από οκτώ σε μία, και έτσι το σιτάρι θα μπορεί να καλλιεργηθεί καλύπτοντας τις ανάγκες του σε νερό με τις βροχοπτώσεις. Με την ανάπτυξη αυτής της τεχνικής πιστεύουν ότι θα εμπορευθούν το διαγονιδιακό τους σιτάρι ως το πρώτο γενετικά τροποποιημένο προϊόν (GM) στην αιγυπτιακή αγορά.

Οι ερευνητές έδειξαν ότι με τη μεταφορά ενός γονιδίου αποκαλούμενου ως "HVA11" από το κριθάρι στο σιτάρι, τα φυτά θα μπορούσαν να ανεχτούν τα χαμηλά επίπεδα νερού για μεγαλύτερο διάστημα προτού να μαραθούν τα φύλλα τους. Το GM σιτάρι εξετάστηκε στο θερμοκήπιο και στην ύπαιθρο κατά τις περιόδους 2001-2003 και έγινε σύγκριση της αύξησης του GM σιταριού με μια τοπική ποικιλία υπό κανονικές συνθήκες βροχόπτωσης, χωρίς άρδευση. Τα GM φυτά ήταν πιο ψηλά και είχαν υψηλότερες αποδόσεις σε σχέση με τα κανονικά φυτά.

Οι *He G.Y.et al.(1999)*, χρησιμοποίησαν τον βομβαρδισμό μορίων για να μετασχηματίσουν τρεις ποικιλίες (L35, Ofanto, Sveno) και μια καθαρή σειρά (Latina x Lira) σκληρού σιταριού. Αυτές οι ποικιλίες μετασχηματίστηκαν με πλασμίδια που περιείχαν επιλεγμένους και μαρκαρισμένους δείκτες γονιδίων (*bar* και *uidA*) και με

πλασμίδια που περιείχαν ένα από τα δύο υψηλού μοριακού βάρους γονίδια υπομονάδων γλουτενίνης. Δημιουργήθηκαν δέκα ανεξάρτητες διαγενετικές γραμμές. Πέντε γραμμές εξέφρασαν είτε την υπομονάδα 1Dx5 είτε την 1Ax1 σε επίπεδα παρόμοια με εκείνα των ενδογενών υπομονάδων που κωδικοποιήθηκαν στο χρωμόσωμα 1B. Στόχος ήταν να αναπτυχθεί η απαραίτητη τεχνολογία για την γενετική τροποποίηση του φυτού και να εξεταστεί η δυνατότητα για τροποποίηση της ποιότητας με χειρισμό της σύνθεσης των υπομονάδων της HMW γλουτενίνης. Η ανάλυση έδειξε ότι η έκφραση των πρόσθετων υπομονάδων οδήγησε σε αυξανόμενη δύναμη και σταθερότητα της ζύμης. Αυτό δείχνει ότι ο μετασχηματισμός μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να τροποποιήσει την ποιότητα του σκληρού σιταριού για την κατασκευή ψωμιού και ζυμαρικών.

Η Monsanto, η αμερικανική εταιρεία που ασχολείται με την παραγωγή γενετικά τροποποιημένων σπόρων βαμβακιού, καλαμποκιού και σόγιας μετά από έρευνα 7 χρόνων εγκατέλειψε την προσπάθεια για παραγωγή φυτών σιταριού GM. Η εταιρεία απέδειξε ότι τα GM σιτάρια αυξάνουν την απόδοση από 5-15%. Οι καταναλωτές όμως, ιδιαίτερα στην Ευρώπη που αποτελεί και την μεγαλύτερη εξαγωγική αγορά για την Αμερική, αντιστέκονται στην ιδέα να φάνε ψωμί που θα προέρχεται από GM σιτάρια. Έτσι εφόσον δεν υπάρχει κέρδος προσανατολίζουν την έρευνα σε νέες καλλιέργειες.

Αυτή τη στιγμή δεν πωλείται πουθενά στον κόσμο προϊόν που να προέρχεται από γενετικά τροποποιημένο σιτάρι, ένα είδος που είναι βασικό για τη διατροφή του ανθρώπου το οποίο καταναλώνεται καθημερινά. Εφόσον υπάρχουν υπόνοιες ότι γενετικά τροποποιημένα προϊόντα μπορούν να έχουν επιπτώσεις στην υγεία μας, παρά τα πειράματα που γίνονται, δεν θα επιτραπεί η καλλιέργεια του σε εμπορική κλίμακα, ακόμα και αν επιτευχθεί η παραγωγή ποικιλιών με τα κυριότερα επιθυμητά χαρακτηριστικά, όπως είναι η ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα και τον παγετό.

Ο έλεγχος και η ταυτοποίηση των γενετικά τροποποιημένων φυτών όπως και η μελέτη της έκφρασης των γονιδίων, μπορούν να γίνουν με τη χρήση της τεχνολογίας των μικροσυστοιχειών (microarrays). Οι cDNA μικροσυστοιχίες, θεωρούνται ένα ισχυρό εργαλείο που χρησιμοποιείται για την έκφραση γονιδίων σε διαφορετικούς ιστούς ή διαφορετικά όργανα, κάτω από διαφορετικά ερεθίσματα. Μπορούν να ανιχνεύσουν ταυτόχρονα το επίπεδο έκφρασης χιλιάδων γονιδίων, δίνοντας μια γενική έκφραση της ταυτόχρονης ανάλυσης των γονιδίων σε συγκεκριμένους ιστούς, συγκεκριμένη χρονική στιγμή ή σε συγκεκριμένες συνθήκες

(Schena *et al.*, 1995). Η ανάλυση της έκφρασης των γονιδίων σε επίπεδο ιστού ή οργάνου μπορεί να αποκαλύψει γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά. Υπάρχουν συγκεκριμένες φυσιολογικές διαδικασίες σε συγκεκριμένους τύπους κυττάρων. Τα περισσότερα πειράματα που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, χρησιμοποιούν μείγμα μολυσμένων κυττάρων, που ανταποκρίνονται στην ατομικότητα των συγκεκριμένων ιστών που βρίσκονται στα φυτά. Η συγκεκριμένη έκφραση των γονιδίων στους ιστούς χάνεται όταν χρησιμοποιούμε τέτοιο μείγμα (Brandt, 2005).

Η μέθοδος των μικροσυστοιχειών εφαρμόζεται στην ανίχνευση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών. Η μέθοδος αυτή δεν απαιτεί πολύ χρόνο, κάνει δυνατή την ανίχνευση περισσότερων από ένα γονίδια συμπεριλαμβανομένων και ξένων, επιτρέπει τον εσωτερικό έλεγχο τόσο του γονιδίου αναφοράς όσο και του γονιδίου επιλογής και σταματά την αλληλουχία. Οι μικροσυστοιχίες DNA είναι ένα αναλυτικό σύστημα που επιτρέπει την ταυτόχρονη ανίχνευση πολλών ακολουθιών νουκλεϊκών οξέων (πάνω από χίλια) σε ένα δείγμα. Αυτή η τεχνολογία βασίζεται στον υβριδισμό των εκκινητών και των γονιδίων στόχων /cDNAs. Τα cDNAs ή τα προϊόντα της PCR τοποθετούνται σε ένα υγρό μέσο (π.χ. επιφάνεια γυαλιού) ως εκκινητές. Ο ανιχνευτής στη συνέχεια υβριδίζεται με τον φθορισμό των προϊόντων της PCR ή με γονίδια από GM/ ή μη GM δείγματα (λέγονται targets). Η ανάλυση με λέιζερ αποκαλύπτει την ύπαρξη υλικού που περιλαμβάνει αλληλουχίες παρόμοιες με αυτές των μικροσυστοιχειών. Αυτός ο τύπος των μικροσυστοιχειών πρωτοανακαλύφθηκε στο πανεπιστήμιο του Stanford (Schena *et al.*, 1995; Shalon *et al.*, 1996). Με την πάροδο των χρόνων λίγοι τύποι μικροσυστοιχειών DNA αναπτύχθηκαν και θεωρήθηκαν χρήσιμα εργαλεία στην γενωμική ανάλυση (Roy *et al.*, 2002). Η εφαρμογή τους επεκτείνεται στην τοξικολογία και την ασφάλεια τροφίμων, σε περιοχές των γενετικά τροποποιημένων και των τροφών με παθογόνα (Liu-Stratton *et al.*, 2004).

Υπάρχουν λίγες μελέτες για την εφαρμογή των μικροσυστοιχειών στην επίδραση των παθογόνων. Έχουν δημοσιευτεί μελέτες για την *Arabidopsis* (Narusaka *et al.*, 2003), το ρύζι (Shim *et al.*, 2004), το καλαμπόκι (Baldwin *et al.*, 1999) και το κριθάρι (Caldo *et al.*, 2004). Παρόλο που υπάρχουν δεδομένα για αυτά τα φυτά, δεν υπάρχουν για το σιτάρι.

5 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

5.1 Γενετικό υλικό

Το γενετικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία αποτελείται από εξήντα ποικιλίες σκληρού σιταριού. Η συλλογή περιλαμβάνει βελτιωμένες ελληνικές ποικιλίες (16), παραδοσιακές ελληνικές ποικιλίες (4), ποικιλίες που είναι δημιουργίες του Ινστιτούτου Σιτηρών της Θεσ/νίκης και ποικιλίες που προέρχονται από την Ιταλία (19), την Ισπανία (12), τη Γαλλία (4), την Πορτογαλία(1) και την Αμερική (1). Στην εργασία χρησιμοποιήθηκε και η ποικιλία Χίος ως μάρτυρας, η οποία είναι ποικιλία μαλακού σιταριού. Οι ποικιλίες αυτές συνδυάζουν επιθυμητά μορφολογικά και αγρονομικά χαρακτηριστικά. Πιο συγκεκριμένα διαθέτουν τα εξής χαρακτηριστικά:

ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΕΣ ΕΜΠΟΡΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

ΑΘΩΣ: Είναι ποικιλία με υψηλό στέλεχος και λευκό στάχυ με πολλά μαύρα άγανα. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα σκούρο κεχριμπαρένιο. Είναι ποικιλία πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μικρή αντοχή στο πλάγιασμα, καλή αντοχή στον παγετό, μέτρια αντοχή στους τρεις τύπους σκωριάσεων και με σταθερή απόδοση.



ANNA: Είναι ποικιλία κοντή με λευκό στάχυ. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα λευκό κεχριμπαρένιο. Είναι πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, ανθεκτική στους τρεις τύπους σκωριάσεων αλλά με σταθερή απόδοση.



ΚΑΛΛΙΘΕΑ: Είναι ποικιλία με υψηλό στέλεχος και λευκό στάχυ με πολλά λευκά άγανα. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα σκούρο κεχριμπαρένιο. Είναι πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μικρή αντοχή στο πλάγιασμα, καλή αντοχή στον παγετό, μέτρια αντοχή στους τρεις τύπους σκωριάσεων και με σταθερή απόδοση.



ΣΙΦΝΟΣ: Είναι ποικιλία κοντή με λευκό στάχυ με πολλά λευκά άγανα. Οι σπόροι είναι μεγάλοι και έχουν χρώμα ανοικτό κεχριμπαρένιο. Είναι πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, καλή αντοχή στον παγετό, μέτρια αντοχή στις σκωριάσεις εκτός από την καστανή στην οποία είναι ευπαθή και με πολύ σταθερή απόδοση.



ΣΕΛΑΣ: Είναι ποικιλία με κοντό στέλεχος και λευκό στάχυ με λευκά άγανα. Οι σπόροι είναι μεγάλοι και έχουν χρώμα ανοικτό κεχριμπαρένιο. Είναι πολύ πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, ανθεκτική στις σκωριάσεις εκτός από την καστανή στην οποία είναι ευπαθής, με μέτρια απόδοση.



ΣΚΥΡΟΣ: Είναι ποικιλία κοντή με ανοικτό κόκκινο στάχυ με πολλά ανοιχτοκόκκινα άγανα. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα ανοικτό κεχριμπαρένιο. Είναι πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, μέτρια αντοχή στις σκωριάσεις εκτός από την καστανή στην οποία είναι ευπαθής και είναι σταθερή στην απόδοση.



ΣΚΗΤΗ: Είναι ποικιλία κοντή με λευκό στάχυ με πολλά λευκά άγανα. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα ανοικτό κεχριμπαρένιο. Είναι πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, μέτρια αντοχή στους τρεις τύπους σκωριάσεων και είναι σταθερή στην απόδοση.



ΜΕΞΙΚΑΛΙ 81: Είναι ποικιλία με κοντό στέλεχος και στάχυ λευκό με πολλά λευκά άγανα. Οι σπόροι είναι μεγάλου μεγέθους και έχουν χρώμα ανοικτό κεχριμπαρένιο. Είναι πολύ πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, ανθεκτική στις σκωριάσεις εκτός από την καστανή στην οποία είναι ευπαθής και με υψηλή σταθερότητα απόδοσης.



ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ: Είναι ποικιλία κοντή με λευκό στάχυ με πολλά λευκά άγανα. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα λευκό κεχριμπαρένιο. Είναι πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μέτρια αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, ανθεκτική στους τρεις τύπους σκωριάσεων αλλά με σταθερή απόδοση.



ΑΙΑΣ: Είναι ποικιλία κοντή με λευκό στάχυ με λευκά άγανα. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα λευκό κεχριμπαρένιο. Είναι πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, ανθεκτική στους τρεις τύπους σκωριάσεων αλλά με πολύ καλή απόδοση.



ΠΟΝΤΟΣ: Είναι ποικιλία κοντή με λευκό στάχυ με πολλά λευκά άγανα. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα λευκό κεχριμπαρένιο. Είναι πολύ πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, ανθεκτική στους τρεις τύπους σκωριάσεων αλλά με πολύ καλή σταθερότητα στην απόδοση.



ΣΑΠΦΩ: Είναι ποικιλία κοντή και έχει ωχροκόκκινα στάχυα και άγανα. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα ανοικτό κεχριμπαρένιο. Είναι πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, έχει καλή αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, μέτρια αντοχή στους τρεις τύπους σκωριάσεων, και είναι σταθερή στην απόδοση.



ΣΑΝΤΑ: Είναι ποικιλία πολύ κοντή με λευκό στάχυ με πολλά μαύρα άγανα. Οι σπόροι είναι μεγάλοι και έχουν χρώμα ανοικτό κεχριμπαρένιο. Είναι ημιπρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, πολύ μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, καλή αντοχή στον παγετό, μέτρια αντοχή στους τρεις τύπους σκωριάσεων και είναι σταθερή στην απόδοση.



ΣΑΜΟΣ: Είναι ποικιλία κοντή με λευκό στάχυ με πολλά λευκά άγανα. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα ανοικτό κεχριμπαρένιο. Είναι πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, καλή αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, μέτρια αντοχή στους τρεις τύπους σκωριάσεων και είναι σταθερή στην απόδοση.



ΣΑΡΤΗ: Είναι ποικιλία κοντή με λευκό στάχυ με πολλά καστανόμαυρα άγανα. Οι σπόροι είναι μεγάλοι και έχουν χρώμα σκούρο κεχριμπαρένιο. Είναι ημιπρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, έχει πολύ καλή αντοχή στο πλάγιασμα, καλή αντοχή στον παγετό, μέτρια αντοχή στους τρεις τύπους σκωριάσεων και είναι σταθερή στην απόδοση.



ΣΥΡΟΣ: Είναι ποικιλία κοντή με ωχροκόκκινο στάχυ που φέρει πολλά μαυροκόκκινα άγανα. Οι σπόροι είναι μετρίου μεγέθους και έχουν χρώμα ανοικτό κεχριμπαρένιο. Είναι πρώιμη, με μέτριο αδέρφωμα, έχει καλή αντοχή στο πλάγιασμα, καλή αντοχή στον παγετό, μέτρια αντοχή στους τρεις τύπους σκωριάσεων και είναι σταθερή στην απόδοση.



ΠΑΛΙΕΣ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ ΣΙΤΗΡΩΝ

ΗΛΕΚΤΡΑ: Είναι ποικιλία ψηλή, μεσοόψιμη, με μικρή παραγωγικότητα.



ΣΥΜΗ: Είναι ποικιλία μέτρια ως προς το ύψος η οποία, φέρει στάχυ με μαύρα άγανα και παρουσιάζει καλό αδέρφωμα. Είναι ανθεκτική στο πλάγιασμα.



ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΕΣ ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

ΜΥΡΙΝΑ: Είναι ποικιλία ψηλή, με ανοιχτόχρωμο στάχυ και μέτριο αδέρφωμα. Εξαιτίας του ύψους της είναι ευαίσθητη στο πλάγιασμα. Είναι μεσοόψιμη και γενικά έχει χαμηλή απόδοση



ΜΑΥΡΑΓΑΝΙ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ: Είναι ποικιλία ψηλή με μέτριο αδέρφωμα. Είναι μεσοόψιμη, ανθεκτική στην ξηρασία και στις υψηλές θερμοκρασίες. Είναι ευαίσθητη στο πλάγιασμα και έχει χαμηλή απόδοση.



ΚΟΡΝΟΣ: Είναι ποικιλία ψηλή και εμφανίζει μέτριο αδέρφωμα. Είναι επιρρεπής στο πλάγιασμα αλλά ανθεκτική στην ξηρασία σε υψηλές θερμοκρασίες. Είναι όψιμη και έχει χαμηλή απόδοση.



ΛΗΜΝΟΣ: Είναι ποικιλία ψηλή και έχει στάχυ με ανοιχτόχρωμα άγανα. Έχει μέτριο αδέρφωμα και είναι ανθεκτική στην ξηρασία σε υψηλές θερμοκρασίες. Είναι ευαίσθητη στο πλάγιασμα και έχει χαμηλή απόδοση.



Σιτάρι μαλακό

ΧΙΟΣ



ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΙΤΑΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

BRONTE: Είναι ποικιλία με κοντό στέλεχος και έχει στάχυ συμπαγές με καστανά άγανα. Ο σπόρος είναι επιμήκης και έχει χρώμα λευκοκίτρινο. Παρουσιάζει μεγάλη προσαρμοστικότητα σε όλους τους τύπους των εδαφών, έχει καλή αντοχή στο πλάγιασμα και τις σκωριάσεις, είναι πολύ ανθεκτική στην ξηρασία και θεωρείται ότι είναι η πιο παραγωγική από όλες τις γνωστές ποικιλίες.



APPULO: Έχει στάχυ μεσαίου ύψους, συμπαγές, κιτρινωπό με μαύρα άγανα. Ο σπόρος είναι ωσειδής. Παρουσιάζει μέτρια αντοχή στο πλάγιασμα, καλή αντοχή στις σκωριάσεις και είναι ιδιαίτερα παραγωγική με πολύ καλά ποιοτικά χαρακτηριστικά.



CLAUDIO: Είναι ποικιλία μέτρια σε ύψος και έχει στάχυ με μαύρα άγανα. Είναι όψιμη και αντέχει στο πλάγιασμα και στις χαμηλές θερμοκρασίες. Έχει μέτρια αντοχή στις σκωριάσεις και το ωίδιο και μέτρια περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.



MERIDIANO: Είναι ποικιλία κοντή και έχει στάχυα με μαύρα άγανα. Προσαρμόζεται σε γόνιμα και φτωχά εδάφη, εμφανίζει καλό αδέρφωμα, παρουσιάζει καλή αντοχή στο πλάγιασμα και τις ασθένειες και είναι πολύ ανθεκτική στο κρύο, στην ξηρασία και τις υψηλές θερμοκρασίες. Δίνει πολύ καλή παραγωγή, με υψηλά ποιοτικά χαρακτηριστικά.



SIMETO: Είναι ποικιλία κοντή και έχει στάχυο μεγάλο, επιμήκες, συμπαγές με πολλά μαύρα άγανα. Ο σπόρος είναι μεγάλος με χαρακτηριστικό κεκριμπαρένιο χρώμα. Είναι πολύ ανθεκτική στην ξηρασία και το πλάγιασμα και εμφανίζει ικανοποιητική αντοχή στο ψύχος και μέτρα αντοχή στους τρεις τύπους σκωριάσεων. Έχει υψηλή παραγωγικότητα και καλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.



IRIDE: Είναι ποικιλία με κοντό στέλεχος και έχει στάχυο με μαύρα άγανα. Προσαρμόζεται σε γόνιμα και φτωχά εδάφη. Έχει καλή αντοχή στο πλάγιασμα, στην ξηρασία και τις υψηλές θερμοκρασίες, το κρύο και τις ασθένειες. Δίνει πολύ καλή παραγωγή.



VESUVIOS: Είναι ποικιλία μετρίου ύψους, με μεγάλο στάχυ που έχει μαύρα άγανα. Προσαρμόζεται πολύ καλά σε όλα τα εδάφη, είναι ιδιαίτερα παραγωγική και έχει πολύ καλά ποιοτικά χαρακτηριστικά.



RUSTICANO: Είναι ποικιλία κοντή, με πλούσιο αδελφωμα, που φέρει συμπαγές στάχυ με καφέ άγανα. Είναι ανθεκτική στο πλάγιασμα, το ψύχος και την ξηρασία και παρουσιάζει μέτρια ανθεκτικότητα στις σκωριάσεις. Είναι ποικιλία μεγάλης παραγωγικότητας με υψηλά ποιοτικά χαρακτηριστικά.



DUILIO: Είναι ποικιλία με κοντό στάχυ, ημισυμοαγές, με ξανθόμαυρα άγανα και επιμήκη σπόρο. Αδελφώνει πολύ καλά, έχει πολύ καλή αντοχή στο πλάγιασμα, τις ασθένειες και το ψύχος και είναι παραγωγική με σταθερή απόδοση.



LATINO: Είναι ποικιλία μεσαίου ύψους και έχει στάχυ με ελαφρώς μαύρα άγανα. Ο σπόρος είναι μεγάλος και επιμήκης. Είναι πολύ ανθεκτική στο πλάγιασμα, την ξηρασία και τις ασθένειες. Ενδείκνυται για περιοχές με όψιμες σπορές και είναι παραγωγική.



GRAZIA: Είναι ποικιλία μεσαίου ύψους με στάχυ επιμήκη με μαύρα άγανα. Έχει καλή προσαρμοστικότητα, εμφανίζει πλούσιο αδέρφωμα και είναι μεσοπρώιμη. Παρουσιάζει ανθεκτικότητα στο ψύχος και μέτρια αντοχή στο πλάγιασμα, την ξηρασία και τις σκωριάσεις. Έχει υψηλό δυναμικό παραγωγής.



CONCADORO: Είναι ποικιλία κοντή σε ύψος, με κοντό συμπαγές στάχυ με μαύρα άγανα και πολύ ισχυρό κολεό.



VITROMAX: Είναι ποικιλία με κοντό στέλεχος και έχει στάχυ συμπαγές με μαύρα άγανα. Ο σπόρος είναι ωσειδές μεγάλου μεγέθους. Είναι ανθεκτική στην ξηρασία και σε όλες τις σκωριάσεις, έχει μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα και έχει μεγάλη απόδοση.



VENTO: Είναι ποικιλία πρώιμη, μέτρια σε ύψος και έχει ανοιχτόχρωμο στάχυ με καστανά άγανα που δεν έχουν χνούδι.



QUADRATO: Είναι ποικιλία μέσου ύψους και έχει στάχυ ημισυμπαγές με μαύρα άγανα. Ο σπόρος είναι επιμήκης, μεγάλου μεγέθους και έχει έντονο κεκριμπαρένιο χρώμα. Είναι μεσοπρώιμη και εμφανίζει μεγάλη ανθεκτικότητα στις ασθένειες. Δίνει σπόρους καλής ποιότητας για την παρασκευή ζυμαρικών.



SVEVO: Έχει στάχυ μεσαίου ύψους , κιτρινωπό, με σκούρα καφέ άγανα. Ο σπόρος είναι επιμήκης και ομοιόμορφος. Είναι ποικιλία πρώιμη, με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, η οποία παρουσιάζει καλή αντοχή στο πλάγιασμα, στις σκωριάσεις και τον παγετό.



PERSEO: Είναι ποικιλία μεσαίου ύψους, με καλό αδελφωμα και στάχυ με κοκκινωπά άγανα. Εμφανίζει μέτρια ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα, το ψύχος, την ξηρασία και τις σκωριάσεις. Είναι υψηλής αποδοτικότητας με καλή περιεκτικότητα σ πρωτεΐνη.



IONIO: Είναι ποικιλία μεσαίου ύψους με πολύ μεγάλο επιμήκης στάχυ και μεγάλο σπόρο. Έχει πολύ καλή προσαρμοστικότητα σε διάφορες εδαφοκλιματικές συνθήκες, αδελφώνει έντονα και παρουσιάζει μεγάλη ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα και τις μυκητολογικές προσβολές. Συνδυάζει το υψηλό δυναμικό παραγωγής με τα καλά ποιοτικά χαρακτηριστικά.



CAPEITI: Είναι ποικιλία ψηλή, έχει ανοιχτόχρωμο άγανο και αντέχει στον παγετό.



ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΙΣΠΑΝΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

ΜΕΧΑ: Είναι ποικιλία με κοντό στέλεχος και έχει στάχυ λευκό, ημισυμπαγές, λευκό με λευκά άγανα. Ο σπόρος είναι μεγάλος και έχει ανοικτό κεχριμπαρένιο χρώμα. Είναι πρώιμη ,με μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, μέτρια αντοχή στον παγετό, είναι ανθεκτική στους τρεις τύπους σκωριάσεων και ιδιαίτερα αποδοτική.



ΥΑΒΑΡΟΣ: Είναι ποικιλία μετρίου ύψους και έχει στάχυ με μαύρα άγανα. Ο σπόρος είναι μεγάλος, επιμήκης, με καλά ποιοτικά χαρακτηριστικά. Προσαρμόζεται σε όλους τους τύπους των εδαφών, είναι πρώιμη, εμφανίζει καλό αδέρφωμα, είναι ανθεκτική στο πλάγιασμα, τις ασθένειες και τον παγετό. Δίνει υψηλές αποδόσεις ιδιαίτερα σε γόνιμα εδάφη.



CANYON: Είναι ποικιλία μεσαίου-μεγάλου ύψους με δυνατό στέλεχος και μεγάλο συμπαγή στάχυ. Παρουσιάζει πολύ καλό αδέρφωμα, έχει μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, στην ξηρασία, τις ασθένειες και γενικά όλες τις αντίξοες συνθήκες. Είναι ποικιλία πολύ αποδοτική με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.



ASTIGI: Είναι ποικιλία μεσαίου μεγέθους και έχει μεγάλα στάχυα με μαύρα άγανα. Έχει ευρεία προσαρμοστικότητα σε όλες τις περιοχές, είναι μεσοπρώιμη και είναι πολύ παραγωγική με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.



ASDRUBAL: Είναι ποικιλία μεσαίου ύψους, με μεγάλο, συμπαγή στάχυ, με κιτρινόλευκο χρώμα. Παρουσιάζει άριστο αδέρφωμα, προσαρμόζεται σε όλους τους τύπους των εδαφών, είναι μεσοπρώιμη και είναι ανθεκτική στο πλάγιασμα και τις ασθένειες. Είναι πολύ παραγωγική με υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο.



AMILCAR: Είναι ποικιλία κοντή, μέτρια σε πρωιμότητα, που έχει στάχυ κοντό, με μαύρα άγανα και ισχυρό κολεό. Το στάχυ είναι συμπαγές, δεν έχει χνούδι και έχει σχήμα πυραμιδοειδές.



CICCIO: Είναι ποικιλία με κοντό στέλεχος και έχει στάχυ μεγάλο, επιμήκης με κιτρινόλευκα άγανα. Ο σπόρος είναι επιμήκης και έχει χαρακτηριστικό κεχριμπαρένιο χρώμα. Εμφανίζει μεγάλη προσαρμοστικότητα, καλή αντοχή στις ξηροθερμικές συνθήκες και το πλάγιασμα και μέτρια αντοχή στο ψύχος και τη σκωρίαση. Είναι πολύ παραγωγική ποικιλία με υψηλής ποιότητας χαρακτηριστικά.



ARCOBALENO: Είναι ποικιλία με κοντό στέλεχος και έχει στάχυ συμπαγές, μετρίου μεγέθους, με μαύρα άγανα μέσου ύψους. Παρουσιάζει ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα, το ψύχος και τις σκωριάσεις και μέτρια αντοχή στην ξηρασία. Εμφανίζει υψηλή παραγωγικότητα, με σταθερότητα στην απόδοση και έχει άριστα τεχνολογικά χαρακτηριστικά.



ILLORA: Είναι ποικιλία ψηλή, με μεγάλο στάχυ που φέρει καστανόμαυρα άγανα. Είναι μεσοπρώιμη και παρουσιάζει ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα, το ψύχος και τις ασθένειες. Δίνει υψηλές αποδόσεις και σπόρο καλής ποιότητας.



VETRODUR: Έχει στάχυ μέτριο σε μήκος, λευκό, μέτρια συμπαγές με υπόλευκα άγανα στα οποία δεν υπάρχει χνούδι.



VITRON: Είναι ποικιλία πρώιμη, κοντή και έχει στάχυ πυραμιδοειδές, μέτρια συμπαγές, λευκό με μαύρα άγανα.



ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΓΑΛΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

COSMODUR: Είναι ποικιλία με κοντό στέλεχος και έχει στάχυ ημισυμπαγές με πολλά μακριά και λευκόχρυσά άγανα. Είναι πολύ πρώιμη, με ικανοποιητική αντοχή στην ξηρασία, στο ψύχος και τις διάφορες ασθένειες. Έχει υψηλό δυναμικό παραγωγής και δίνει πολύ καλή πρώτη ύλη για σμιγδάλι.



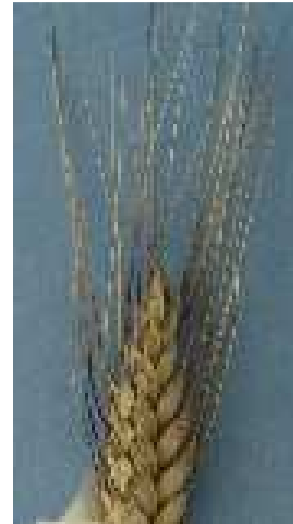
VERDI: Είναι ποικιλία μεσαίου ύψους, με γόνιμο στάχυ, η οποία αδερφώνει εύκολα. Είναι πρώιμη, προσαρμόζεται πολύ καλά σε ξηροθεμικά περιβάλλοντα, είναι πολύ ανθεκτική στο πλάγιασμα, το ψύχος και την καστανή σκωρίαση. Έχει πολύ υψηλό δυναμικό παραγωγής και πολύ καλά τεχνολογικά χαρακτηριστικά.



ARAMON: Είναι ποικιλία πρώιμη, κοντή, με συμπαγές ανοιχτόχρωμο στάχυ



TEMPRADUR: Είναι ποικιλία μεσαίου ύψους και έχει μεγάλα στάχυα που φέρουν λευκά άγανα. Παρουσιάζει μεγάλη προσαρμοστικότητα, εμφανίζει ικανοποιητική αντοχή στο ψύχος και είναι ανθεκτική στις συνηθισμένες μυκητολογικές ασθένειες. Είναι ποικιλία υψηλής παραγωγικότητας και διαθέτει χαρακτηριστικά που ικανοποιούν τις απαιτήσεις της βιομηχανίας.



ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΑΜΕΡΙΚΑΝΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

KRONOS: Είναι ποικιλία ψηλή, με μεγάλο στάχυ και άσπρα άγανα. Ο σπόρος είναι μεγάλος και έχει κίτρινο χρώμα. Είναι πρόιμη και εμφανίζει ανθεκτικότητα στο πλάγιασμα και τις ασθένειες. Έχει υψηλή περιεκτικότητα σε γλουτένη και πρωτεΐνη.



ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΠΟΡΤΟΓΑΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

ARACENA: Είναι ποικιλία πρόιμη και φέρει στάχυ με μαύρα άγανα.



5.2 Μέθοδος απομόνωσης DNA

Για την απομόνωση του DNA χρησιμοποιήθηκε η μικρομέθοδος CTAB (Doyle & Doyle, 1990). Αρχικά πάρθηκε μείγμα συνολικού βάρους 0,3 gr από ιστούς υγιών φύλλων από νεαρά φυτά που αναπτύχθηκαν σε jiffy για τους 60 γενότυπους. Οι φυτικοί ιστοί τοποθετήθηκαν σε μικροφυγοκεντρικό σωλήνα μαζί με 800μL ρυθμιστικού διαλύματος CTAB, 10μL β-μερκαπτοαιθανόλης (1%v/v) και 2μL RNA-άσης και πολτοποιήθηκαν με τη βοήθεια μικρού πλαστικού αποστειρωμένου γουδιού. Ακολούθησε αποστείρωση των διαλυμάτων σε υδατόλουτρο στους 60 °C για περίπου 20 min. Μετά την εξαγωγή έγινε απομάκρυνση των πρωτεϊνών με διάλυμα χλωροφορμίου / ισοαμλικής αλκοόλης 24/1 και ακολούθησε φυγοκέντρωση στις 10.000 στροφές για 20 min. Για την καθίζηση του DNA έγινε χρήση 2/3 του όγκου ισοπροπανόλης και 1/10 του όγκου άλατος (NH₄-acetate). Αφού έγινε φυγοκέντρωση των διαλυμάτων στις 10.000 στροφές για 15 min, μετά από την εξαγωγή τους από την κατάψυξη στην οποία παρέμειναν για 30 min, ακολούθησε καθαρισμός του DNA με διάλυμα αιθανόλης 70% και άλατος (K-acetate) 0,1 M για δύο φορές και μια φορά με καθαρή αιθανόλη. Μετά την ξήρανση των δειγμάτων σε κενό αέρος και θερμοκρασία 60 °C για 20 min έγινε διάλυση του καθαρού πλέον DNA σε 200μL διαλύματος TE και τα διαλύματα τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη για περαιτέρω χρήση.

Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός DNA

Η συγκέντρωση της ποσότητας του dsDNA σε ng/μL προσδιορίστηκε σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους/ορατού με απορρόφηση των δειγμάτων στα 260nm. Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης DNA των δειγμάτων για τους πληθυσμούς, υπολογίστηκε στα 100ng/μL. Οι παραπάνω εκτιμήσεις επιβεβαιώθηκαν και με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 0,8% με πρότυπο δείγμα DNA ως μάρτυρα.

Έγινε αραιώση των δειγμάτων με TE ώστε να έχουν όλα την ίδια αναλογία DNA και TE και χρησιμοποιήθηκε ποσότητα 30ng/μL.

5.3 Μοριακή γενετική ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου RAPD's

Κατά την μοριακή ανάλυση των γενοτύπων χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 21 δεκαμερείς εκκινητες (primers) με τυχαία νουκλεοτιδική ακολουθία, των σειρών OPA, OPB, OPC, OPE, OPN και OPO (πίνακας 3) της εταιρίας OPERON.

Πίνακας 3 : Τύπος και αλληλουχία των RAPD εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν στους 60 γενότυπους

A/A	RAPD εκκινητής	Αλληλουχία εκκινητή	A/A	RAPD εκκινητής	Αλληλουχία εκκινητή
1	OPC-03	5'-GGGGGTCTTT-3'	12	OPA-07	5'-GAAACGGGTG-3'
2	OPC-06	5'-GAACGGACTC-3'	13	OPA-08	5'-GTGACGTAGG-3'
3	OPC-07	5'-GTCCCGACGA-3'	14	OPA-17	5'-GACCGCTTGT-3'
4	OPC-08	5'-TGGACCGGTG-3'	15	OPB-08	5'-GTCCACACGG-3'
5	OPC-09	5'-CTCACCGTCC-3'	16	OPB-10	5'-CTGCTGGGAC-3'
6	OPC-11	5'-AAAGCTGCGG-3'	17	OPN-04	5'-GACCGACCCA-3'
7	OPC-14	5'-TGCGTGCTTG-3'	18	OPO-04	5'-AAGTCCGCTC-3'
8	OPC-15	5'-GACGGATCAG-3'	19	OPO-06	5'-CCACGGGAAG-3'
9	OPC-16	5'-CACACTCCAG-3'	20	OPO-12	5'-CAGTGCTGTG-3'
10	OPC-17	5'-TTCCCCCAG-3'	21	OPO-15	5'-TGGCGTCCTT-3'
11	OPE-02	5'-GGTGCGGGAA-3'			

Αντιδράσεις PCR

Η PCR αντίδραση διεξήχθη σε μίγμα 25μl όγκου το οποίο περιείχε 1x PCR buffer, 1,5mM MgCl₂, 0,2mM dNTP's, 4mM εκκινητή, 30ng γενωμικού DNA και 1U ένζυμο πολυμερισμού (*Taq* polymerase). Το πρόγραμμα της PCR που ακολουθήθηκε με τις θερμοκρασίες και τα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα είχε ως εξής: 94 °C για 6 λεπτά για την προδιάταξη του DNA, 35 κύκλοι των 94 °C για 1 λεπτό για την αποδιάταξη του DNA, 38 °C για 1 λεπτό για τον υβριδισμό των

εκκινητών, 72 °C για 1,5 λεπτά για την αντιγραφή του επιλεγμένου από τους εκκινητές τμήματος DNA και τέλος 72 °C για 7 λεπτά για την πλήρωση των αντιγραφών τους.

5.4 Μοριακή γενετική ανάλυση με δείκτες τύπου SSRs

Κατά την μοριακή ανάλυση των γενοτύπων χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 13 ζεύγη εκκινητών (primers) (πίνακας 4). Οι εκκινητές Wmc προύλθαν από το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών ενώ οι εκκινητές τύπου Xgwm επιλέχθηκαν με βάση τη βιβλιογραφία με στόχο την εύρεση QTL στο χρωμόσωμα 5B που θα σχετίζεται με την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.

Πίνακας 4 : Τύπος και αλληλουχία των 13 ζευγών εκκινητών τύπου SSR που χρησιμοποιήθηκαν στους 60 γενότυπους

A/A	SSR εκκινητής	Αλληλουχία (left)	Αλληλουχία (right)
1	Xgwm33-1A	GGA GTC ACA CTT GTT TGT GCA	CAC TGC ACA CCT AAC TAC CTG
2	Xgwm136-1A	GAC AGC ACC TTG CCC TTT G	CAT CGG CAA CAT GCT CAT C
3	Xgwm193-6B	CTT TGT GC ACCT CTC TCT CC	AAT TGT GTT GAT GAT TTG GGG
4	Xgwm361-6B	GTA ACT TGT TGC CAA AGG GG	ACA AAG TGG CAA AAG GAG ACA
5	Xgwm644-7B	GTG GGT CAA GGC CAA GG	AGG AGT AGC GTG AGG GGC
6	Wms 297	ATC GTC ACG TAT TTT GCA ATG	TGC GTA AGT CTA GCA TTT TCT
7	Wmc 256	CCA AAT CTT CGA ACA AGA ACCC	ACC GAT CGA TGG TGT ATA CTGA
8	Wms 135	TGT CAA CAT CGT TTT GAA AAGG	ACA CTG TCA ACC TGG CAA TG
9	Wmc 233	GAC GTC AAG AAT CTT CGT CGGA	ATC TGC TGA GCA GAT CGT GGTT
10	Wms 375	ATT GGC GAC TCT AGC ATA TACG	GGG ATG TCT GTT CCA TCT TAGC
11	Wmc 25	TCT GGC CAG GAT CAA TAT TACT	TAA GAT ACA TAG ATC CAA CACC
12	Wms 52	CTA TGA GGC GGA GGT TGA AG	TGC GGT GCT CTT CCA TTT
13	Wms 234	GAG TCC TGA TGT GAA GCT GTTG	CTC ATT GGG GTG TGT ACG TG

Αντιδράσεις PCR

Οι αντιδράσεις στον θερμοκυκλοποιητή ήταν τελικών όγκων 25 μL και περιείχαν 10mM Tris HCl, 50mM KCl, 1,5mM MgCl_2 , 0,2mM dNTP's, 0,4mM από τον κάθε εκκινητή, 30ng γενωμικού DNA και 1U ένζυμο πολυμερισμού (*Taq polymerase*). Το πρόγραμμα της PCR που ακολουθήθηκε με τις θερμοκρασίες και τα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα είχε ως εξής: 94 °C για 6 λεπτά για την προδιάταξη του DNA, 35 κύκλοι των 94 °C για 50 δευτερόλεπτα για την αποδιάταξη του DNA, 55 °C για 50 δευτερόλεπτα για τον υβριδισμό των εκκινητών, 72 °C για 50 δευτερόλεπτα για την αντιγραφή του επιλεγμένου DNA τμήματος από τους εκκινητές και τέλος 72 °C για 8 λεπτά για την πλήρωση των αντιγραφών τους. Ακολούθησε διαχωρισμός των προϊόντων πολ/μου σε πηκτή αγαρόζης 3% .

Ανάλυση προϊόντων της PCR

Για κάθε τύπο δεικτών έγινε ανάλυση των προϊόντων της PCR .Στα προϊόντα της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης για κάθε γενότυπο, γινόταν προσθήκη 2 μL διαλύματος φόρτωσης και ηλεκτροφορούνταν για 1 ώρα σε πηκτή αγαρόζης 1%, η οποία περιείχε 0,004% (w/v) βρωμιούχο αιθίδιο. Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης, γινόταν έκθεση της πηκτής σε υπεριώδη ακτινοβολία και φωτογραφιζόταν μετά την καταγραφή των πολυμορφισμών των δειγμάτων DNA.

5.5 Στατιστική ανάλυση

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του προγράμματος NTSYS, μετά την κωδικοποίηση των μοριακών δεδομένων. Πιο συγκεκριμένα, η παρουσία ζώνης αντιπροσωπεύτηκε με (1) και η απουσία με (0). Στη συνέχεια ο υπολογισμός της γενετικής ομοιότητας των δειγμάτων έγινε χρησιμοποιώντας τον συντελεστή του Jaccard $S_{ij}=a/(a+b+c)$ (Sneath and Sokal, 1973) και τον συντελεστή του Dice $S_{ij}=2a/(2a+b+c)$ (Nei and Li, 1979) όπου:

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

4. c: το πλήθος των πολυμορφικών τμημάτων DNA που είναι παρόντα στο δείγμα j.

Με βάση τις μήτρες γενετικής ομοιότητας, κατασκευάστηκαν δενδρογράμματα φυλογενετικής σχέσεων με την μέθοδο Neighbour joining και με την μέθοδο UPGMA. Τελικά επιλέχθηκε η μέθοδος UPGMA ως η καταλληλότερη και περισσότερο αντιπροσωπευτική για τα δεδομένα.

Στην περίπτωση των δεικτών τύπου SSR και με βάση τα δεδομένα των παραπάνω αναλύσεων εκτιμήθηκαν οι εξής παράμετροι: ο αριθμός των αλληλομόρφων ανά περιοχή (N), ο δείκτης ποικιλότητας (Diversity Indices, DI), οι πληροφορίες πολυμορφικού περιεχομένου (Polymorphism Information Content, PIC) και η πιθανότητα ταύτισης (Probability of Identity, I). Οι παράμετροι I, PIC, DI υπολογίστηκαν με βάση τις παρακάτω σχέσεις (Pasqualone et al., 1999) :

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

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

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

Οι παράμετροι PIC, DI, I εκφράζουν τον βαθμό πολυμορφισμού ενός εκκινητή και παίρνουν τιμές μεταξύ 0 και 1. Όσο περισσότερο οι PIC και DI τείνουν στην μονάδα και ο I στο μηδέν, τόσο περισσότερο πολυμορφικός είναι ένας δείκτης και επομένως έχει καλύτερη διακριτική ικανότητα.

5.6 Μελέτη πρωτεϊνών

Σε συνεργασία με το Τμήμα Διαιτολογίας και Διατροφολογίας του Τ.Ε.Ι. Θεσ/νίκης, έγινε ανάλυση του συνόλου των ποικιλιών όσον αφορά την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνη, γλουτένη και εκτίμηση του δείκτη γλουτένης. Η ανάλυση για πρωτεΐνη και γλουτένη έγινε σε 2 δείγματα και σε 4 τυχαία από κάθε γενότυπο δείγματα όσον αφορά το δείκτη γλουτένης. Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν έγινε ομαδοποίηση των ποικιλιών βάση της περιεκτικότητάς τους στα προκαθορισμένα χαρακτηριστικά. Ακολούθησε κατάταξη των ποικιλιών με βάση το

κριτήριο DUNCAN και ομαδοποίηση των μέσων όρων για να ερευνηθεί αν διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο 0,05.

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1 Ανάλυση με μοριακούς δείκτες RAPD'S

Πραγματοποιήθηκε μοριακή ανάλυση του γενώματος των 60 ελληνικών και ευρωπαϊκών ποικιλιών σκληρού σιταριού, με τη βοήθεια μοριακών δεικτών τύπου RAPD. Χρησιμοποιήθηκαν 21 δεκαμερείς εκκινητές με τυχαία νουκλεοτιδική αλληλουχία, των σειρών OPA, OPB, OPC, OPE, OPN και OPO. της εταιρίας OPERON. Όλοι οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν πολυμορφικοί. Η μοριακή ανάλυση που προέκυψε με βάση το μοριακό πρότυπο των εκκινητών, έδωσε συνολικά 152 ζώνες που αντιστοιχούν σε ίσο αριθμό περιοχών του γενώματος που πολλαπλασιάστηκαν κατά το σύνολο των αντιδράσεων της PCR (πίνακας 5). Πίνακας 5 . Σύνοψη μοριακού προτύπου των 21 εκκινητών

RAPD εκκινητής	Αλληλουχία εκκινητή	Αριθμός πολυμορφικών ζωνών	Σύνολο ζωνών που πολ/σιασε ο εκκινητής
OPC 3	5-GGGGGTCTTT-3'	8	6
OPC-06	5'-GAACGGACTC-3'	5	0
OPC 7	5-GTCCCGACGA-3'	7	3
OPC-08	5'-TGGACCGGTG-3'	5	2
OPC-09	5'-CTCACCGTCC-3'	7	7
OPC-11	5'-AAAGCTGCGG-3'	8	7
OPC-14	5'-TGCGTGCTTG-3'	8	7
OPC-15	5'-GACGGATCAG-3'	8	8
OPC-16	5'-CACACTCCAG-3'	11	10
OPC-17	5'-TTCCCCCAG-3'	3	2
OPE-02	5'-GGTGCGGAA-3'	9	8
OPA-07	5'-GAAACGGGTG-3'	6	6
OPA-08	5'-GTGACGTAGG-3'	9	9
OPA-17	5'-GACCGCTTGT-3'	7	7
OPB-08	5'-GTCCACACGG-3'	9	9
OPB-10	5'-CTGCTGGGAC-3'	7	7
OPN-04	5'-GACCGACCCA-3'	9	9
OPO-04	5'-AAGTCCGCTC-3'	7	7

OPO-06	5'-CCACGGGAAG-3'	6	6
OPO-12	5'-CAGTGCTGTG-3'	6	6
OPO-15	5'-TGGCGTCCTT-3'	7	7
Σύνολο		152	124
M.O.		7,2	5,9

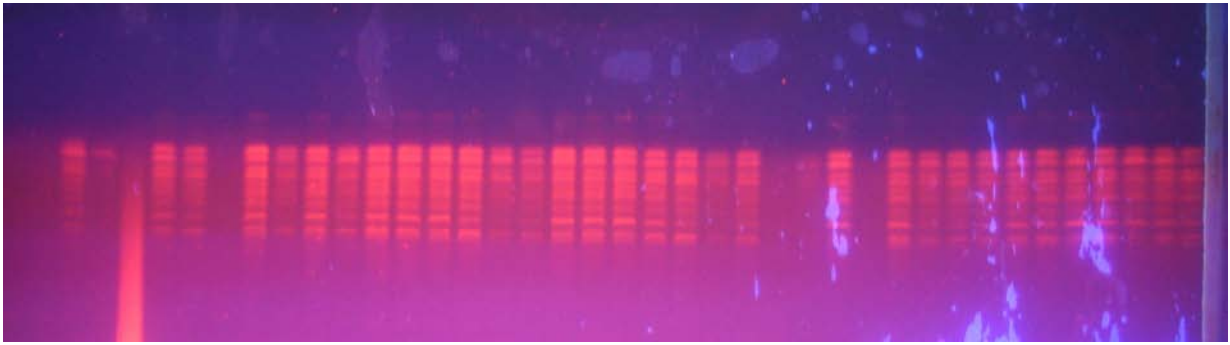
Το ποσοστό των πολυμορφισμών ήταν 87,5 % . Ο μέσος όρος των πολυμορφικών ζωνών ήταν 7,2 με το μεγαλύτερο να εμφανίζει ο OPC 16 (εικόνα 25 α) και το μικρότερο ο OPC 17 (πίνακας 5) .Έγινε κωδικοποίηση του μοριακού προτύπου και στη συνέχεια κωδικοποίηση για το σύνολο των γενοτύπων. Κατά την ηλεκτρονική επεξεργασία των δεδομένων σύμφωνα με το δυαδικό σύστημα, η παρουσία των ζωνών αντιπροσωπεύτηκε από τη μονάδα «1», ενώ η απουσία με το μηδέν «0» (εικόνες 25α, 25β, 25γ, 25δ). Με βάση τις μήτρες γενετικής ομοιότητας, κατασκευάστηκαν δένδρογράμματα φυλλογενετικής συγγένειας τόσο με τη μέθοδο Neighbourjoining όσο και με τη μέθοδο UPGMA και υπολογίσθηκαν σε κάθε περίπτωση οι συντελεστές ομοιότητας (πίνακας 6). Τελικά επιλέχθηκε η μέθοδος Jaccard /UPGMA ως η καταλληλότερη και περισσότερο αντιπροσωπευτική για τα δεδομένα του πειράματος.

Πίνακας 6 : Τιμές του συντελεστή ομοιότητας r κατά την κατασκευή των δένδρογραμμάτων συγγένειας ανάλογα με την ομαδοποίηση

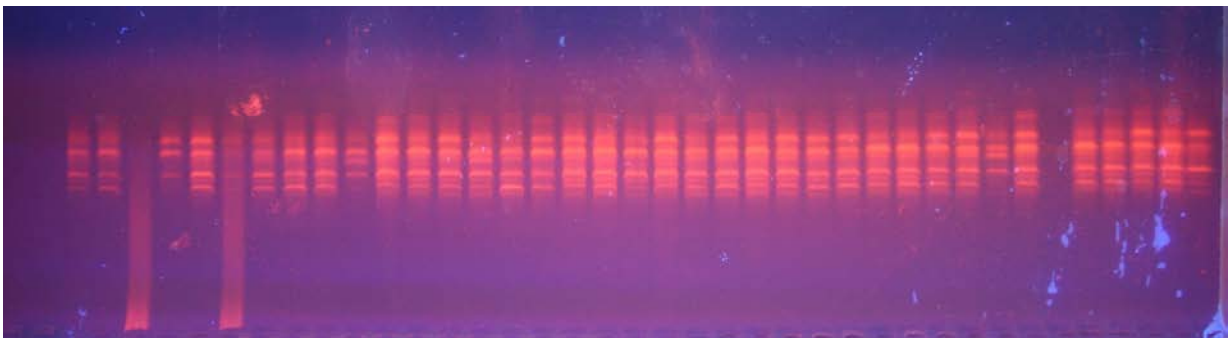
Μέθοδοι	Συντελεστής ομοιότητας r
Jaccard UPGMA	$r=0,875$
Jaccard Neighbour Join	$r=-0,591$
Dice Neighbour Join	$r=0,539$
Dice UPGMA	$r=0,861$

Στο δένδρογράμμα (εικόνα 27), παρουσιάζεται η γενετική συγγένεια για το σύνολο των εξεταζόμενων γενοτύπων. Έχοντας ως μάρτυρα σύγκρισης την ποικιλία του μαλακού σιταριού Χίος, παρατηρούμε ότι οι γενότυποι ομαδοποιούνται σε 3 κύριες ομάδες. Στην 1^η ομάδα βρίσκεται το μεγαλύτερο μέρος των ξένων ποικιλιών, ενώ στη 2^η ομάδα ομαδοποιούνται όλες οι ελληνικές ποικιλίες εκτός από το Μεξικάλι 81. Στην 3^η ομάδα υπάρχουν 5 ποικιλίες (1 Ιταλική, 3 Ισπανικές και 1 Γαλλική) οι οποίες δεν περιλαμβάνονται στην 1^η ομάδα

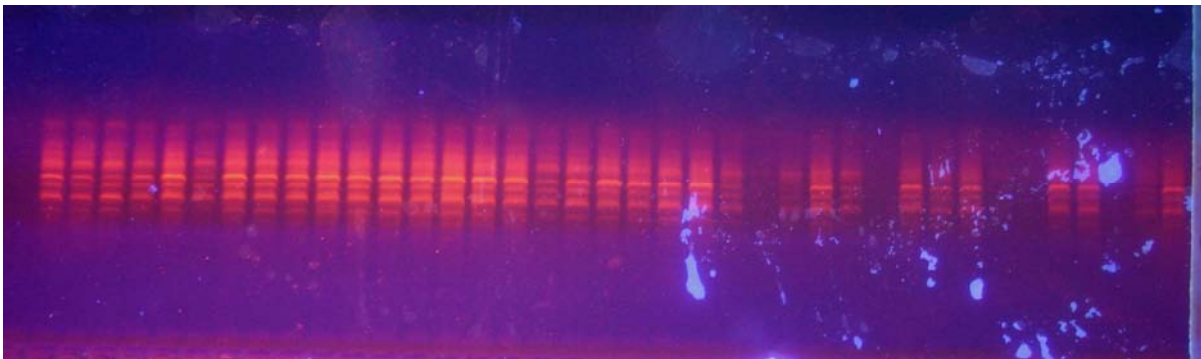
Παραδείγματα πολυμορφισμών δεικτών τύπου RAPD



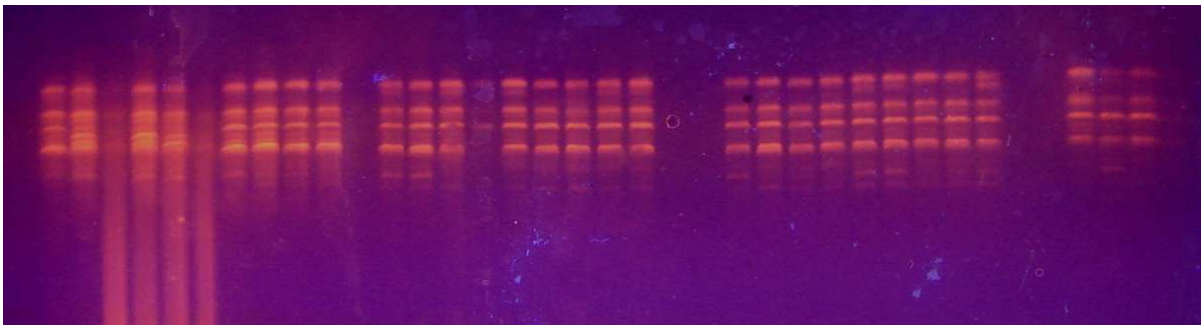
Εικόνα 25 α: Πολυμορφισμοί του εκκινητή OPC 16



Εικόνα 25 β: Πολυμορφισμοί του εκκινητή OPC 07



Εικόνα 25 γ: Πολυμορφισμοί του εκκινητή OPC 15



Εικόνα 25 δ: Πολυμορφισμοί του εκκινητή OPO 15

6.2 Ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου SSRs

Πραγματοποιήθηκε μοριακή ανάλυση του γενώματος των 60 ελληνικών και ευρωπαϊκών ποικιλιών σκληρού σιταριού, με τη βοήθεια μοριακών δεικτών τύπου SSR. Χρησιμοποιήθηκαν 13 ζεύγη εκκινητών μικροδορυφορικού DNA, 11 από τα οποία επέδειξαν πολυμορφισμούς. Ο αριθμός των αλληλομόρφων που εκτιμήθηκαν, κυμαίνονταν από 2 έως 7 με μια μέση τιμή εμφάνισης τα 3,7 (πίνακας 7). Ο υψηλός αριθμός αλληλομόρφων ανά μικροδορυφορική περιοχή δείχνει τη χρησιμότητα αυτών των δεικτών αν και σε πολλές περιπτώσεις δεν υπάρχει ευθεία συσχέτιση μεταξύ αυτού του αριθμού και της τιμής του PIC (Prasad et al, 2000).

Πίνακας 7. Εκτιμήσεις αριθμού αλληλομόρφων, Δείκτη ποικιλότητας DI, Πιθανότητα ταύτισης I, Πληροφορίες πολυμορφικού περιεχομένου PIC.

Εκκινητές SSRs	Αριθμός Αλληλομόρφων	PIC	I	DI
Wmc 25	3	0,746	0,076	0,767
Wmc 256	1			
Wms 135	3	0,141	0,735	0,144
Wms 297	1			
Wmc 233	3	0,762	0,057	0,762
Wms 52	6	0,658	0,714	0,137
Wms 234	7	0,745	0,083	0,780
Wms 375	3	0,662	0,695	0,126
Xgwm33-1A	3	0,662	0,674	0,159
Xgwm193-6B	3	0,328	0,343	0,447
Xgwm644-7B	3	0,631	0,681	0,152
Xgwm136-1A	5	0,796	0,820	0,057
Xgwm361-6B	2	0,717	0,717	0,08
M.O.	4,5	0,76	0,62	0,4

Σύμφωνα με τις τιμές PIC, DI και I, οι περισσότερο πολυμορφικοί εκκινητές ήταν οι Xgwm136-1A (εικόνα 26 α) και Wmc 25 (εικόνα 26β) ενώ οι λιγότερο πολυμορφικοί ήταν οι Xgwm193-6B και Wms 135. Με συνδυασμό των αποτελεσμάτων για το σύνολο των εκκινητών που εξετάστηκαν κατέστη εφικτή η ταυτοποίηση και ο διαχωρισμός των γενοτύπων.

Κατασκευάστηκαν δένδρογράμματα φυλλογενετικής συγγένειας τόσο με τη μέθοδο Neighbourjoining όσο και με τη μέθοδο UPGMA και υπολογίσθηκαν σε κάθε περίπτωση οι συντελεστές ομοιότητας (πίνακας 8). Τελικά επιλέχθηκε η μέθοδος

Jackard /UPGMA ως η καταλληλότερη και περισσότερο αντιπροσωπευτική για τα δεδομένα του πειράματος.

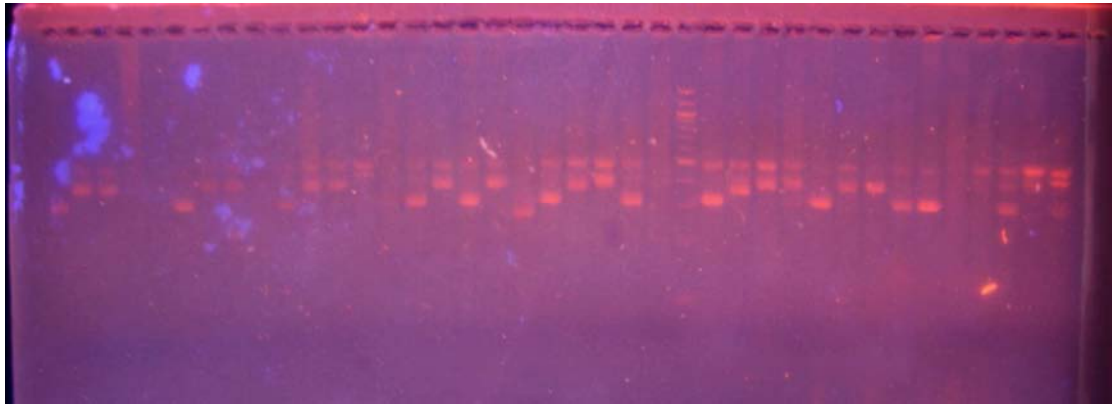
Πίνακας 8 : Τιμές του συντελεστή ομοιότητας r κατά την κατασκευή των δενδρογραμμάτων συγγένειας ανάλογα με την ομαδοποίηση

Μέθοδοι	Συντελεστής ομοιότητας r
Jaccard UPGMA	$r=0,78$
Jaccard Negbour Join	$r=-0,434$
Dice Negbour Join	$r=-0,367$
Dice UPGMA	$r=0,773$

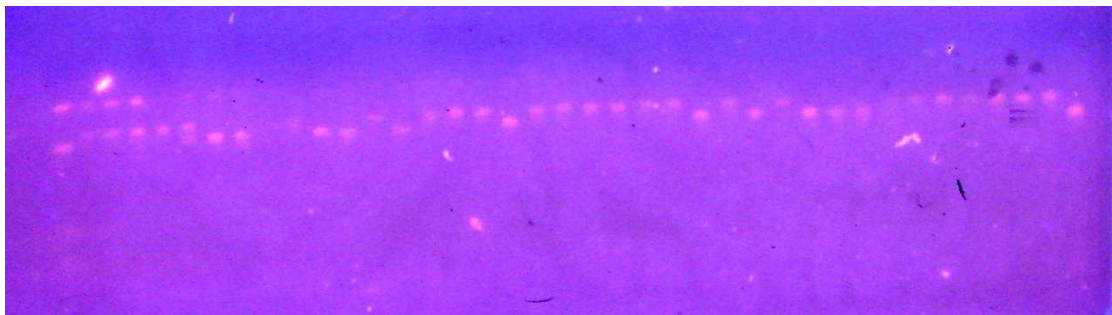
Σύμφωνα με την ομαδοποίηση κατά UPGMA, και τον δείκτη ομοιότητας κατά Jaccard, οι γενότυποι κατατάχθηκαν σε 3 ομάδες (**εικόνα 28**) οι οποίες είναι όμοιες με αυτές που δημιουργήθηκαν στην περίπτωση των RAPD μόνο που σε αυτή την περίπτωση η παραδοσιακή ποικιλία Λήμονος ανήκει στην 3^η ομάδα μαζί με δύο ισπανικές ποικιλίες.

Παρόμοια είναι και τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την συνδυασμένη μέθοδο RAPD-SSR.(**εικόνα 29**).

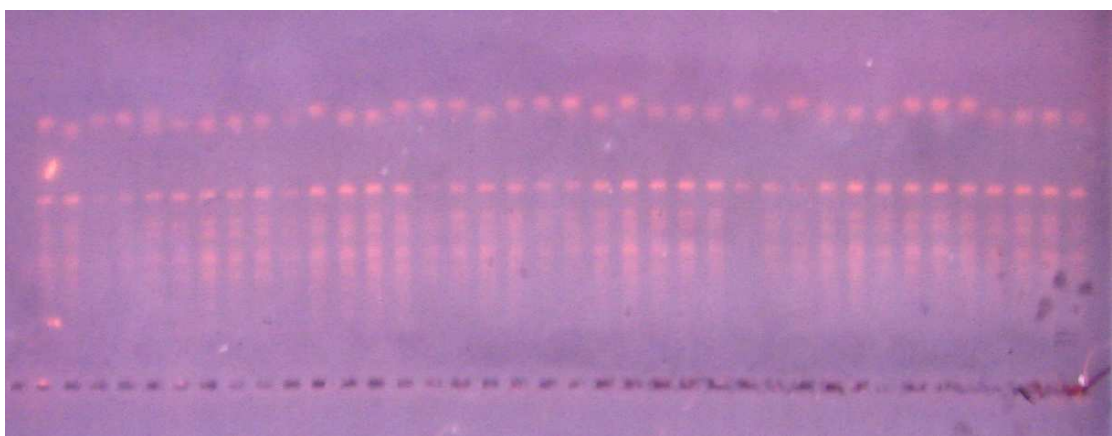
Παραδείγματα πολυμορφισμών δεικτών τύπου SSR



Εικόνα 26 α: Πολυμορφισμοί του εκκινητή Xgwm 136A



Εικόνα 26 β : Πολυμορφισμοί του εκκινητή Wmc 25



Εικόνα 26 γ: Πολυμορφισμοί του εκκινητή Wms 375

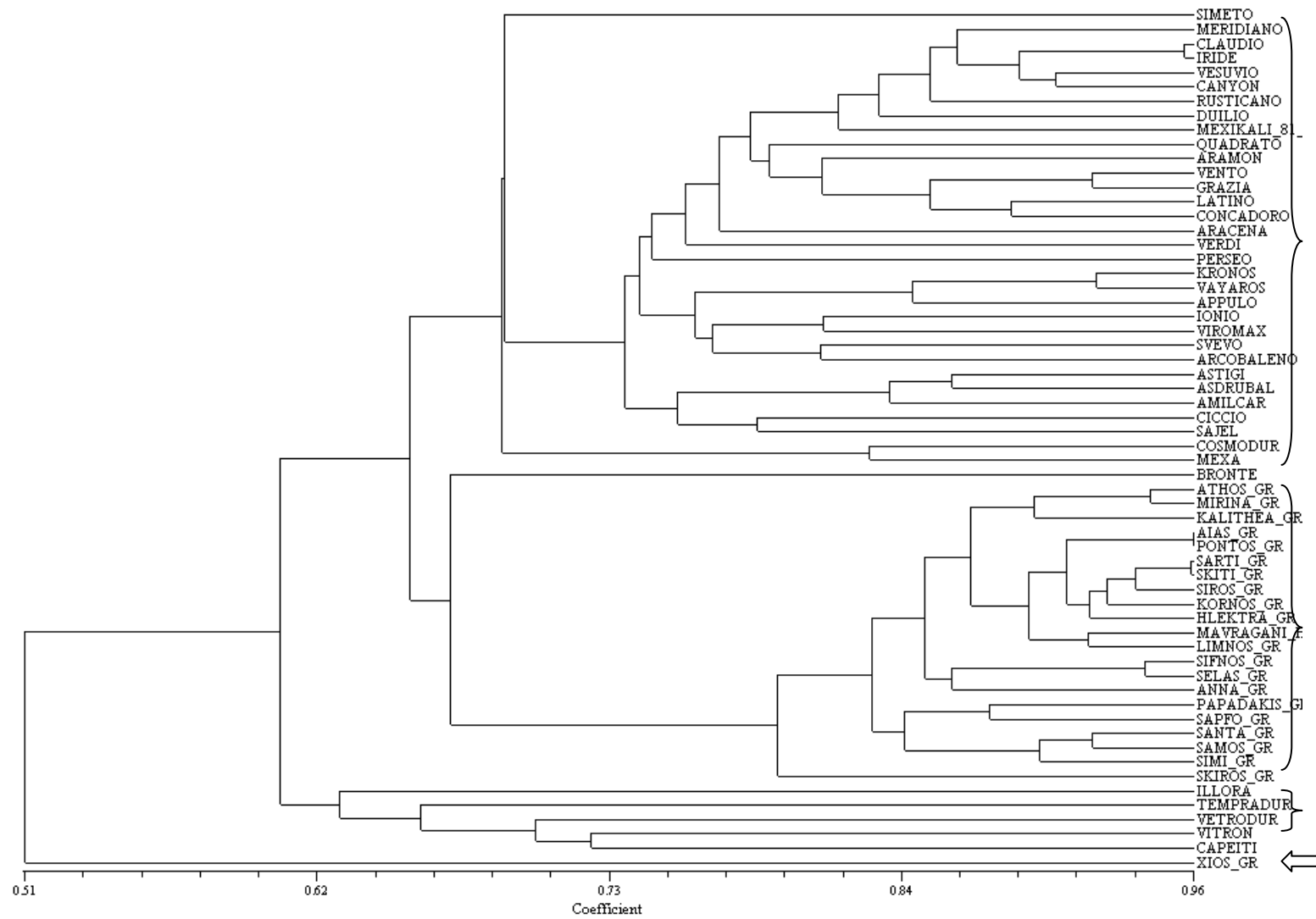
6.3 Μελέτη φυλλογενετικών σχέσεων, ομαδοποίηση των ποικιλιών με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση και διάκριση ποικιλιών σκληρού και μαλακού σιταριού.

Με τη χρησιμοποίηση της ποικιλίας μαλακού σιταριού Χίος, διαπιστώνεται η απόσταση μεταξύ των ποικιλιών σκληρού σιταριού αλλά και οι σχέσεις τους με το μαλακό σιτάρι (εικόνες 27,28,29). Πειραματικά δεδομένα πολλών ερευνητών (Zhang et al., 2006, Chabane et al.,2006), επιβεβαιώνουν τη διάκριση μεταξύ ποικιλιών σκληρού και μαλακού σιταριού.

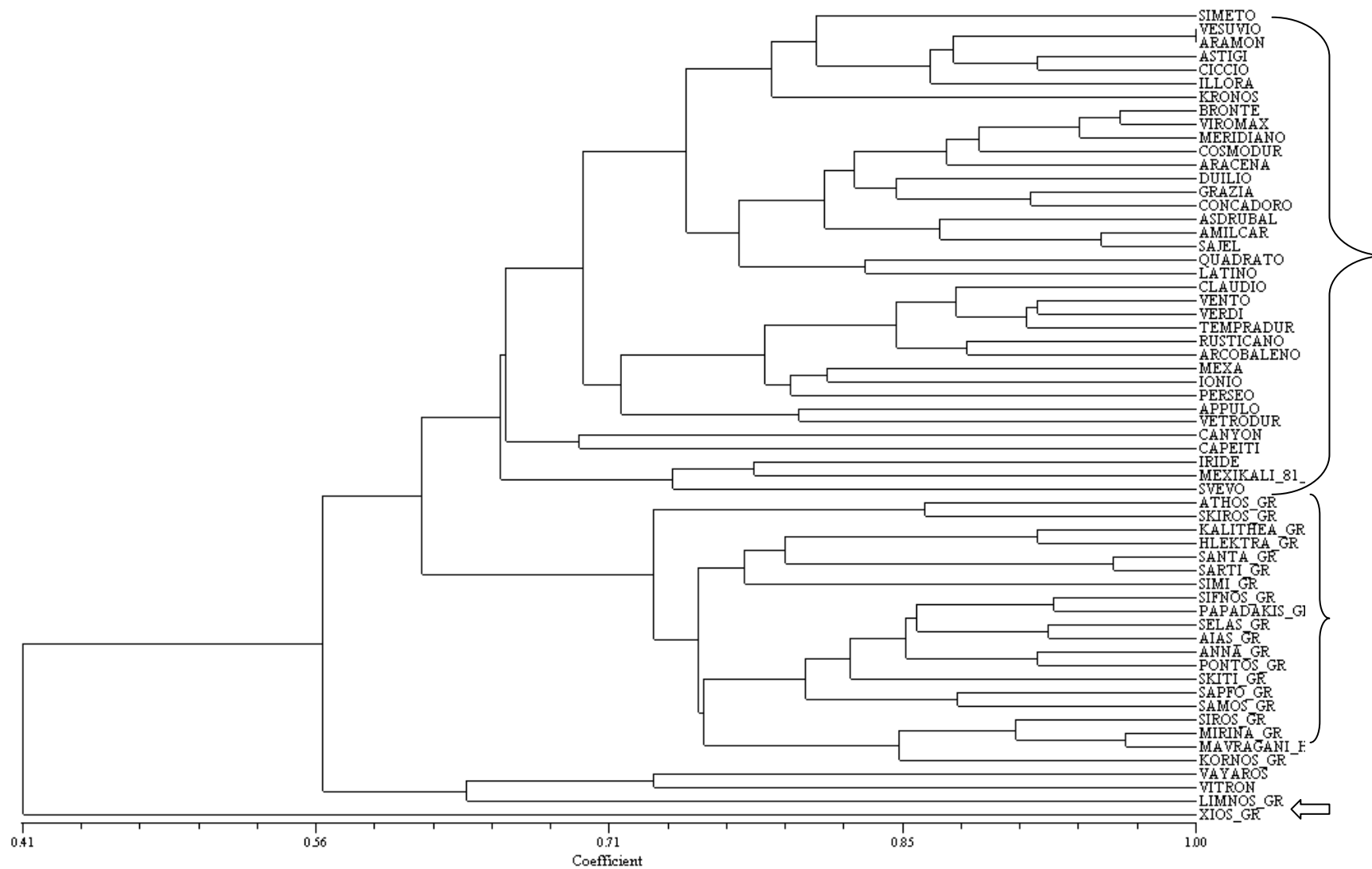
Οι Zhang et al. (2006), μελέτησαν τις γενετικές σχέσεις και τα επίπεδα παραλλακτικότητας έξι τοπικών ποικιλιών σκληρού και μαλακού σιταριού που καλλιεργούνται στο Ομάν, με τη βοήθεια 30 δεικτών τύπου SSR. Η συνολική παραλλακτικότητα γονιδίων (H_T), που υπάρχει στα τρία είδη σκληρού σιταριού (*Triticum durum* desf.) ($H_T = 0.46$) ήταν υψηλότερη απ ό,τι στις τρεις ποικιλίες μαλακού σιταριού (*Triticum aestivum* L.) ($H_T = 0.37$). Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν από μελέτες που έγιναν για ποικιλίες μαλακού σιταριού που προέρχονται από την Τουρκία και το Μεξικό. Η (G_{ST}) έδειξε ότι υπάρχει μεγαλύτερη παραλλακτικότητα εντός, παρά μεταξύ των ποικιλιών του σκληρού σιταριού ($G_{ST} = 0.30$) σε σχέση με τη σύγκρισή τους με ποικιλίες μαλακού σιταριού ($G_{ST} = 0.19$). Από το δενδρόγραμμα προέκυψε ότι υπάρχει διαχωρισμός μεταξύ των ποικιλιών σκληρού και μαλακού σιταριού, εκτός από τις περιπτώσεις μεμονωμένων ατόμων.

Όμοια οι Chabane et al. (2006), χρησιμοποίησαν μικροδορυφορικούς δείκτες EST για να μελετήσουν τη γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ ποικιλιών σκληρού και μαλακού σιταριού στο Αφγανιστάν. Χρησιμοποιήθηκαν 18 δείκτες σε ένα δείγμα 82 παραδοσιακών ποικιλιών. Ανιχνεύθηκαν 101 αλληλόμορφα, με τον αριθμό των αλληλομόρφων να κυμαίνεται από 2-13 και ένα μέσο όρο 6,31. Το ποσοστό των πολυμορφικών περιοχών ήταν 89%. Το δενδρόγραμμα που προέκυψε έδειξε πως υπάρχει πλήρη ομαδοποίηση και διάκριση των ποικιλιών σκληρού και μαλακού σιταριού.

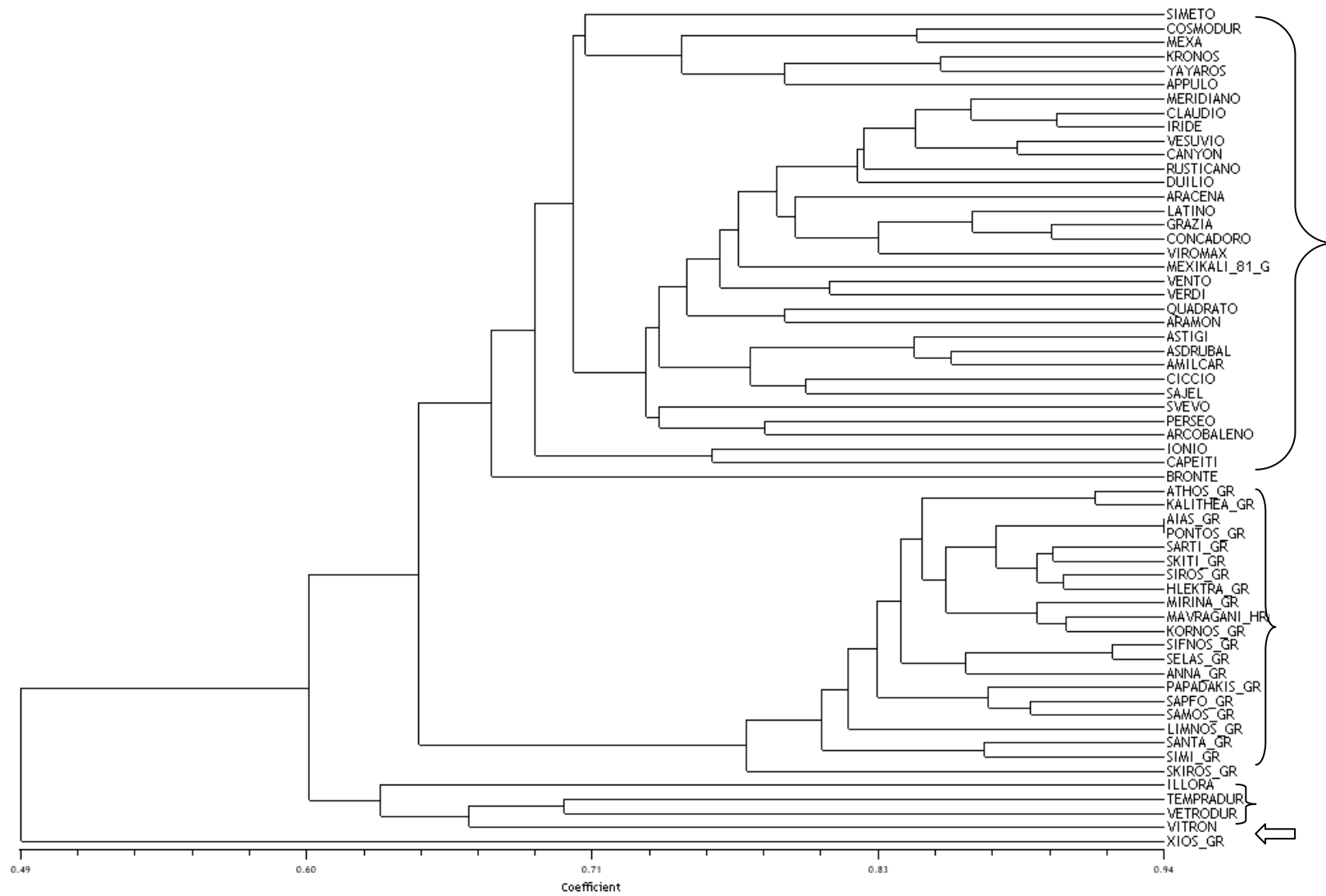
Η επιβεβαίωση των παραπάνω αποτελεσμάτων έγινε και στα πειράματά μας, στα οποία φανερώθηκε ότι υπάρχει σαφής διάκριση μεταξύ του συνόλου των ποικιλιών σκληρού σιταριού και της ποικιλίας μαλακού σιταριού στην περίπτωση που χρησιμοποιήσαμε δείκτες τύπου SSR.



Εικόνα 27 Δενδρόγραμμα φυλλογενετικών σχέσεων μεταξύ των 60 εξεταζόμενων ποικιλιών και διάκριση σε υποσύνολα όπως προέκυψε από την ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου RAPD.



Εικόνα 28 Δενδρόγραμμα φυλλογενετικών σχέσεων μεταξύ των 60 εξεταζόμενων ποικιλιών και διάκριση σε υποσύνολα όπως προέκυψε από την ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου SSR.



Εικόνα 29 Δενδρόγραμμα φυλλογενετικών σχέσεων μεταξύ των 60 εξεταζόμενων ποικιλιών και διάκριση σε υποσύνολα όπως προέκυψε από την συνδυασμένη ανάλυση με μοριακούς δείκτες RAPD- SSR.

Όσον αφορά την ομαδοποίηση με τους RAPD, έχουμε διαχωρισμό του δενδρογράμματος σε δύο κύριες ομάδες. Στην μεγαλύτερη ομάδα συγκεντρώνεται το σύνολο των Ιταλικών ποικιλιών και συγκεκριμένα στην 1^η υποομάδα υπάρχουν οι 17 από τις 19 Ιταλικές ποικιλίες. Στην 2^η υπομάδα συγκεντρώνονται οι μισές ισπανικές ποικιλίες. Παρατηρούμε ότι όσον αφορά τις γαλλικές ποικιλίες δεν κατάφερε να γίνει καμιά ομαδοποίηση (**εικόνα 30**).

Όσον αφορά την ομαδοποίηση με τους SSR, έχουμε έναν παρόμοιο διαχωρισμό του δενδρογράμματος σε δύο κύριες ομάδες. Στην περίπτωση όμως αυτή η μεγαλύτερη ομάδα, στην οποία συγκεντρώνεται το σύνολο των ιταλικών ποικιλιών διασπάται επιπλέον σε υποομάδες που καμία όμως δεν συγκεντρώνει ικανοποιητικό αριθμό ποικιλιών μιας χώρας (**εικόνα 31**).

Όσον αφορά το συνδυασμό RAPD-SSR το δενδρόγραμμα χωρίζεται σε δύο κύριες ομάδες με την ισπανική ποικιλία ILLORA να είναι ανεξαρτητοποιημένη. Στην μεγαλύτερη ομάδα συγκεντρώνεται το σύνολο των ιταλικών ποικιλιών και συγκεκριμένα στη 2^η υποομάδα συγκεντρώνονται οι 15 από τις 19 ιταλικές ποικιλίες και οι 6 από τις 12 ισπανικές ποικιλίες (**εικόνα 32**).

Από τις παραπάνω παρατηρήσεις συμπεραίνουμε ότι, όπως φαίνεται και από τα αρχικά διαγράμματα, τόσο οι RAPDs όσο και οι SSRs κατάφεραν να διαχωρίσουν τους γενοτύπους με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση, με τους δείκτες τύπου RAPDs να δίδουν καλύτερο διαχωρισμό και να ομαδοποιούν το μεγαλύτερο αριθμό των ιταλικών και των ισπανικών ποικιλιών. Με τον τρόπο αυτό διαπιστώνουμε ότι οι RAPDs έχουν υψηλότερη διακριτική ικανότητα από τους SSRs. Το γεγονός αυτό έρχεται σε αντίθεση με πολλά πειραματικά δεδομένα που αποδεικνύουν την καλύτερη διακριτική ικανότητα των δεικτών τύπου SSR στην ομαδοποίηση ποικιλιών με κοινή γεωγραφική προέλευση.

Οι Sun et al. (1998), μελέτησαν 46 γενοτύπους μαλακού σιταριού που περιελάμβαναν 7 επιλογές ενός ενδημικού εξαπλοειδούς είδους σιταριού που βρέθηκε στο Θιβέτ, 22 Κινέζικες ποικιλίες και 17 σειρές Ευρωπαϊκής προέλευσης, όσον αφορά τη γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ και εντός των ειδών. Οι συγκεκριμένοι ερευνητές χρησιμοποίησαν 32 εκκινητές τύπου RAPD, οι οποίοι ήταν πολυμορφικοί σε ποσοστό 81,3 % . Η γενετική απόσταση μεταξύ του Θιβετιανού και των ποικιλιών του Κινέζικου σιταριού ήταν χαμηλότερη από αυτή μεταξύ Θιβετιανού και των Ευρωπαϊκών σειρών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι 46 γενοτύποι ταξινομήθηκαν σε 2 ομάδες από τις οποίες η μία περιλάμβανε τα Ευρωπαϊκά σιτάρια ενώ οι άλλοι τα

Κινέζικα..Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των πειραμάτων μας από τα οποία προέκυψε διαχωρισμός μεταξύ ευρωπαϊκών και ελληνικών ποικιλιών.

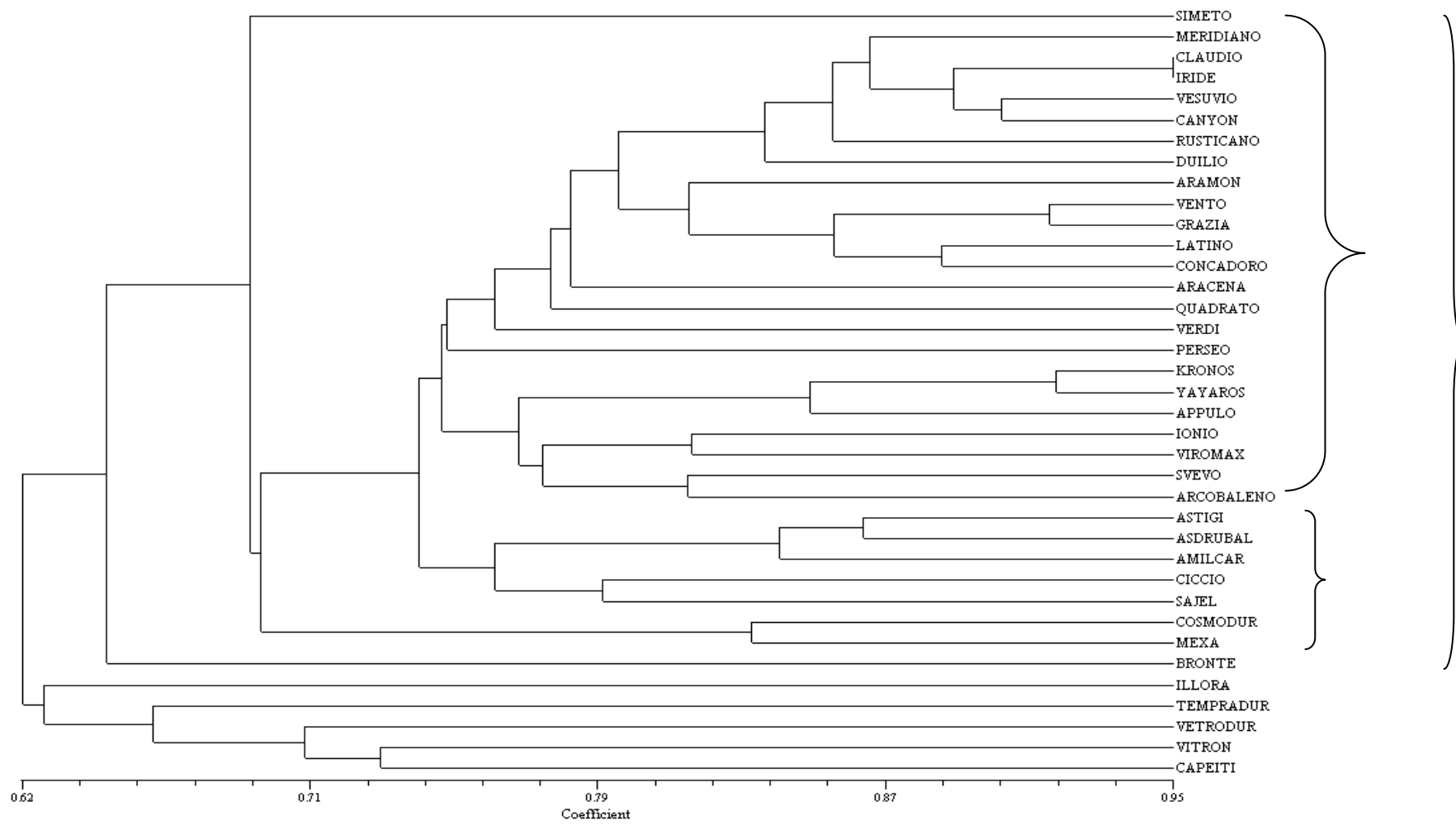
Οι Amer et al. (2001), χρησιμοποίησαν 24 δείκτες μικροδορυφόρων (WMS) για να μελετήσουν την παραλλακτικότητα μεταξύ 15 γενοτύπων σκληρού σιταριού στη Λιβύη. Στην περίπτωση αυτή οι WMS χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό 26 περιοχών που βρέθηκαν σε 20 διαφορετικά χρωμοσώματα, και ήταν ικανά για την ανίχνευση 116 αλληλομόρφων με μέσο όρο 4,5 αλληλόμορφα ανά περιοχή. Μόνο δύο δείκτες που βρέθηκαν στα 2DS και 4DL, ήταν μονομορφικοί. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το γονιδίωμα B (5,9 αλληλόμορφα γονίδια ανά περιοχή) εμφάνιζε μεγαλύτερη παραλλακτικότητα από τα A και D (4,1 και 2,7 αλληλόμορφα γονίδια ανά περιοχή, αντίστοιχα). Επιπλέον, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ένας σχετικά μικρός αριθμός εκκινητών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να διακρίνει όλους τους χρησιμοποιούμενους γενοτύπους και για να υπολογίσει τη γενετική παραλλακτικότητα. Οι τιμές γενετικής ομοιότητας μεταξύ των γενοτύπων, που υπολογίστηκαν από τα προερχόμενα WMS στοιχεία, χρησιμοποιήθηκαν για να κατασκευαστεί ένα δενδρόγραμμα το οποίο αποδεικνύει την ικανότητα των μικροδορυφόρων να ανιχνεύουν τη γενετική παραλλακτικότητα σε γενότυπους με στενή γενετική βάση. Από τις ομάδες που προέκυψαν φαίνεται η σύνδεση που υπάρχει με τη γεωγραφική προέλευση και το επίπεδο πλοειδίας μεταξύ των εξεταζόμενων γενοτύπων. Όμοια οι Ben Amer et al. (2001), έδειξαν ότι η ομαδοποίηση των συλλογών συνδέεται στενά με τη γεωγραφική προέλευση και το επίπεδο πλοειδίας του γενετικού υλικού. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματά μας σύμφωνα με τα οποία έχουμε ομαδοποίηση των ποικιλιών μας λосον αφορά τη γεωγραφική τους προέλευση με τη χρήση δεικτών τύπου SSR.

Οι Prasad et al. (2000), χρησιμοποίησαν 20 μικροδορυφόρους για να μελετήσουν 55 γενότυπους σιταριού και να εξετάσουν τη χρήση τους στην ανίχνευση πολυμορφισμών DNA, στην ταυτοποίηση γενοτύπων και στην εκτίμηση της γενετικής παραλλακτικότητας μεταξύ των γενοτύπων. Οι γενότυποι που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από 29 περιοχές που αντιπροσωπεύουν τις 6 ηπείρους. Από ένα σύνολο 115 αλληλομόρφων που ανιχνεύθηκαν σε 21 περιοχές με τη χρήση ζευγών εκκινητών μόνο 1 εκκινητής ενίσχυσε 2 περιοχές όλοι οι άλλοι ενίσχυσαν μια περιοχή. Από αυτούς, οι 17 εκκινητές αναφέρονται σε 18 περιοχές που αντιστοιχούν σε 13 διαφορετικά χρωμοσώματα (6 χρωμοσώματα στο γένωμα A, 5 στο γένωμα B

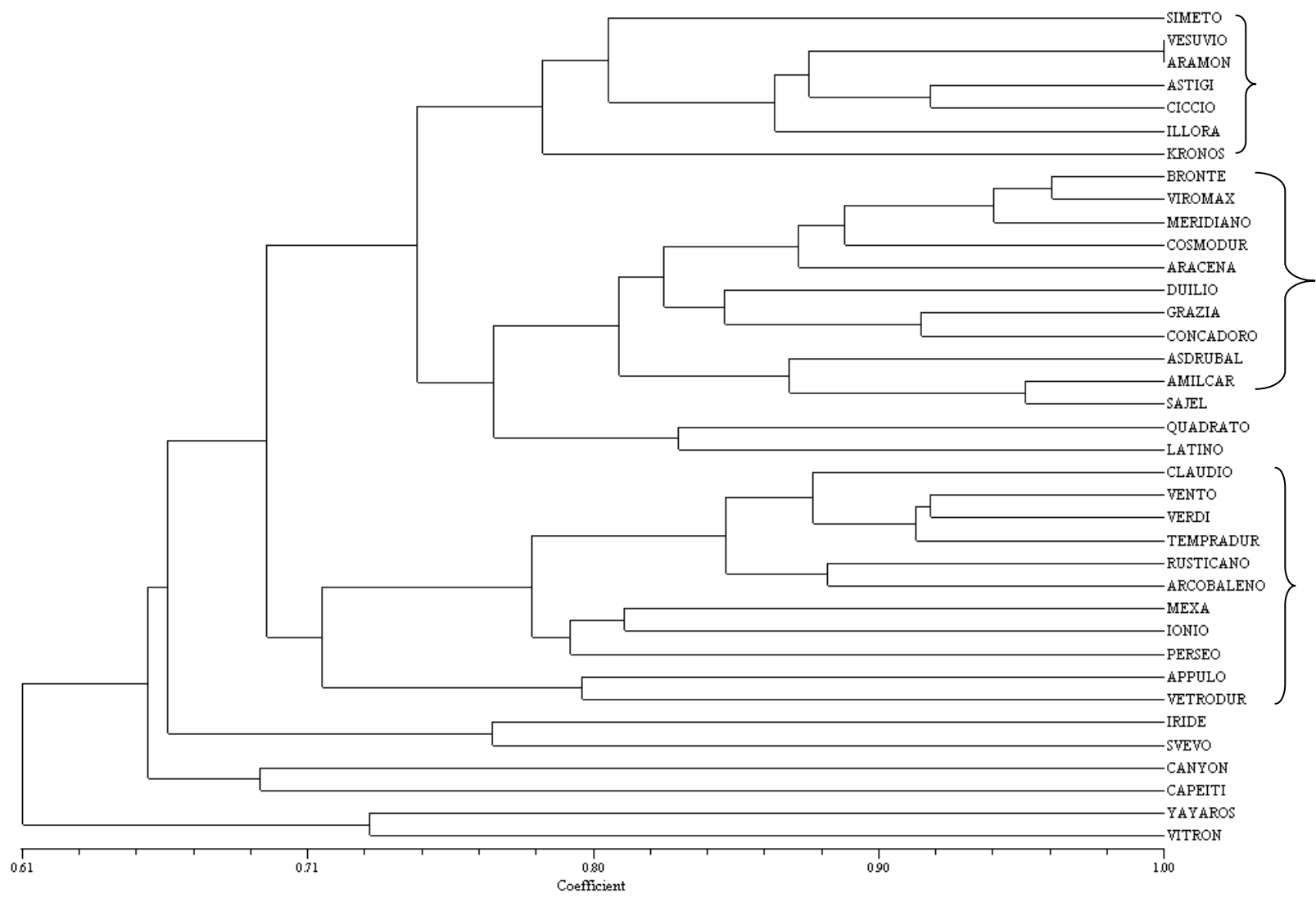
και 2 στο γένωμα D). Ο αριθμός των αλληλομόρφων /περιοχή κυμαίνεται από 1-13 με ένα μέσο όρο 7.4 αλληλόμορφα /περιοχή. Ο μέσος όρος των πολυμορφικών περιοχών (PIC) και το (MI) γι αυτούς τους δείκτες εκτιμάται σε 0.71 και 0.70. Οι μικροδορυφόροι ήταν πιο πολυμορφικοί. Ο συντελεστής γενετικής ομοιότητας (GS) για όλα τα πιθανά ζευγάρια των γενότυπων κυμάνθηκε από 0.05 σε 0.88 με μέσο όρο 0.23. Το δενδρόγραμμα που προέκυψε με τη χρήση του αλγόριθμου UPGMA, διαχωρίζει τους παραπάνω γενότυπους σε 2 κύριες ομάδες και καθέναν από αυτούς σε 2 υποομάδες. Μία από αυτές της υποομάδες αποτελείται από έναν μόνο γενότυπο που προέρχεται από την Πορτογαλία, ο οποίος είναι μοναδικός και διαχωρίζεται από τους υπόλοιπους. Από τη μελέτη του δενδρογράμματος διαπιστώνουμε ότι γενότυποι από μία ήπειρο μπορεί να υπάρχουν σε δύο υποομάδες. Αυτό δείχνει ότι γενότυποι που αναπτύσσονται σε μια συγκεκριμένη χώρα πολλές φορές έχουν στενή γενετική βάση. Σε παρόμοια συμπεράσματα καταλήξαμε με τη συνδιασμένη μέθοδο RAPD-SSR κατά την οποία διαπιστώσαμε ότι η ισπανική ποικιλία ILLORA διαχωρίστηκε από τους υπόλοιπους γενότυπους.

Σε ανάλογα συμπεράσματα κατέληξαν και οι Khlestkina et al. (2004), και Huang et al. (2002), οι οποίοι χρησιμοποίησαν δείκτες τύπου SSR και διαπίστωσαν ότι δεν υπάρχει απόλυτη ομαδοποίηση μεταξύ των ποικιλιών που προέρχονται από μια γεωγραφική περιοχή, κάτι που επιβεβαιώνεται και στην παρούσα μελέτη.

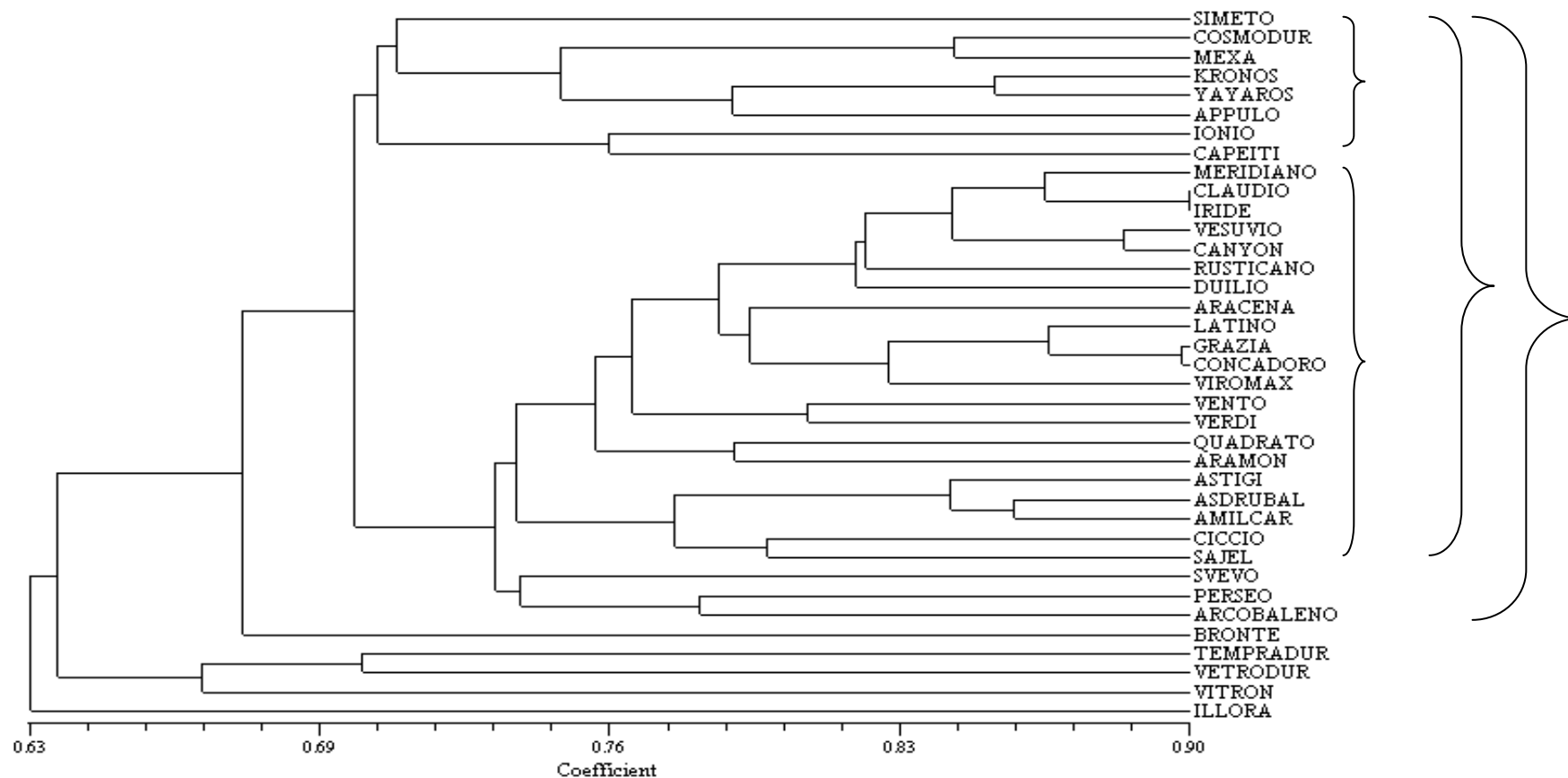
Από τα παραπάνω μπορούμε να καταλήξουμε στο συμπέρασμα ότι οι δείκτες τύπου RAPD έχουν μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα όσον αφορά είδη με μεγάλο μέγεθος γονιδιώματος όπως είναι αυτό του σιταριού. Σε συνδυασμό με το ότι είναι πιο οικονομικοί, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε μεγαλύτερη κλίμακα.



Εικόνα 30: Δενδρόγραμμα φυλλογενετικών σχέσεων μεταξύ των 37 ξένων εξεταζόμενων ποικιλιών σκληρού σιταριού και διάκριση σε υποσύνολα όπως προέκυψε από την ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου RAPD. ($r=0,79$)



Εικόνα 31: Δενδρόγραμμα φυλλογενετικών σχέσεων μεταξύ των 37 ξένων εξεταζόμενων ποικιλιών σκληρού σιταριού και διάκριση σε υποσύνολα όπως προέκυψε από την ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου SSR. ($r=0,74$)



Εικόνα 32: Δενδρόγραμμα φυλλογενετικών σχέσεων μεταξύ των 37 ξένων εξεταζόμενων ποικιλιών σκληρού σιταριού και διάκριση σε υποσύνολα όπως προέκυψε από την συνδυασμένη ανάλυση με μοριακούς δείκτες RAPD- SSR. ($r=0,79$)

6.4 Διάκριση εμπορικών και παραδοσιακών ποικιλιών

Και στις τρεις περιπτώσεις (εικόνες 33,34,35) διαπιστώνουμε ότι έγινε διάκριση μεταξύ ελληνικών βελτιωμένων εμπορικών ποικιλιών και των παραδοσιακών ποικιλιών. Στην περίπτωση των SSR και RAPD-SSR οι παραδοσιακές ποικιλίες ΜΥΡΙΝΑ, ΜΑΥΡΑΓΑΝΙ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ και ΚΟΡΝΟΣ βρίσκονται στην ίδια υποομάδα με την ΛΗΜΝΟ να ανεξαρτητοποιείται (εικόνα 34,35). Στην περίπτωση των RAPD και οι τέσσερις βρίσκονται σε μια ευρύτερη ομάδα (εικόνα35). Ιδιαίτερα στους SSR παρατηρούμε ότι και οι ποικιλίες ΗΛΕΚΤΡΑ και ΣΥΜΗ, που αποτελούν δημιουργίες του Ινστιτούτου Σιτηρών, ομαδοποιούνται. Αυτό έρχεται σε συμφωνία και με άλλα πειραματικά δεδομένα.

Οι *Medini et al.* (2005), μελέτησαν 34 ποικιλίες σκληρού σιταριού, αντιπροσωπευτικές της Τυνησίας και επτά άγρια είδη συγγενικά του σιταριού (*Triticum turgidum* L., *T. dicoccon* Schrank., *T. dicoccoides* (Körn) Schweinf., *T. araraticum* Jakubz., *T. monococcum* L., *Aegilops geniculata* Roth, and *Aegilops ventricosa* Tausch) με δείκτες AFLP και μικροδορυφόρους (SSR). Και τα δύο συστήματα δεικτών ήταν σε θέση να διακρίνουν τις ποικιλίες σκληρού σιταριού από τους άγριους συγγενείς και να βοηθήσουν στη δημιουργία αποτυπώματος για καθέναν από τους γενοτύπους που μελετήθηκαν. Εντούτοις, τα δύο συστήματα δεικτών διέφεραν στο ποσό των ανιχνευσιμών πολυμορφισμών. Οι 15 δείκτες SSR ήταν ιδιαίτερα πολύμορφικοί σε όλους τους γενοτύπους. Ο συνολικός αριθμός ενισχυμένων τμημάτων ήταν 156 και ο αριθμός των αλληλόμορφων γονιδίων ανά γεωμετρικό τόπο κυμάνθηκε από 3 έως 24 με έναν μέσο όρο 10.4. Δύο δείκτες SSR, οι Xwms47 και Xwms268, ήταν επαρκείς για να διακρίνουν και τους 34 γενοτύπους σκληρού σιταριού. Οι πέντε συνδυασμοί ζευγαριών AFLP που αναλύθηκαν, παρήγαγαν συνολικά 293 ζώνες, εκ των οποίων 31% ήταν πολυμορφικές. Η υψηλότερη τιμή (PIC) παρατηρήθηκε για τους SSRs (0.68) ενώ η υψηλότερη αξία δεικτών (MI) ήταν για τους AFLPs (7.16), κάτι που δείχνει την υψηλή παραλλακτικότητα του πρώτου και την διακριτική φύση του δεύτερου συστήματος. Για τις ποικιλίες σκληρού σιταριού, οι γενετικές τιμές ομοιότητας ποίκιλαν μεταξύ 31,3 και 81% για τους AFLPs (με έναν μέσο όρο 54,2%), και μεταξύ 3,6 και 72,7% για τους SSRs (με έναν μέσο όρο 19,9%). Ο συσχετισμός μεταξύ των δύο συστημάτων δεικτών ήταν μέτριος, με $r=0,57$, αλλά ιδιαίτερα σημαντικός. Με βάση τους δείκτες SSR, οι υψηλότερες τιμές γενετικής ομοιότητας (GS) παρατηρήθηκαν στις σύγχρονες ποικιλίες (37,3%), ενώ οι παλαιές ποικιλίες παρουσίασαν χαμηλό

επίπεδο του GS (19,9%). Οι σύγχρονες ποικιλίες παρουσίασαν χαμηλές τιμές PIC και MI. Η ανάλυση κατά UPGMA βασιζόμενη σε συνδυασμό στοιχείων των AFLP και SSR, χώρισε τα άγρια είδη σιταριού από τις ποικιλίες σκληρού σιταριού, οι οποίες διαχωρίστηκαν σε σύγχρονες και παλαιές ποικιλίες. Όμοια ήταν τα αποτελέσματα μας με τη χρήση δεικτών τύπου SSR από τα οποία φαίνεται ότι υπάρχει διάκριση μεταξύ εμπορικών και παραδοσιακών ποικιλιών.

Οι Mantzavinou et al. (2005), μελέτησαν τη γενετική παραλλακτικότητα σε 19 παραδοσιακές και 9 εμπορικές ποικιλίες σκληρού σιταριού που καλλιεργούνται στη Ελλάδα. Η μελέτη περιελάμβανε και 2 ποικιλίες μαλακού σιταριού και μία ποικιλία μονόκοκκου σιταριού. Χρησιμοποιήθηκαν 87 τυχαίοι εκκινητές τύπου RAPDs σε ένα πρωταρχικό πείραμα και 15 από αυτούς επιλέχθηκαν για το κύριο πείραμα. Η επιλογή έγινε με βάση την ποιότητα, την αξιοπιστία τους και τον αριθμό των πολυμορφισμών. Παρήχθησαν 150 ζώνες, 125 από τις οποίες (83,3 %) ήταν πολυμορφικές με μέσο όρο 10 ζώνες/ εκκινητή. Έγινε εκτίμηση της γενετικής ομοιότητας με βάση τον συντελεστή Jaccard και οι τιμές κυμάνθηκαν μεταξύ 0,15-0,97. Κατασκευάστηκε δενδρόγραμμα με βάση τις μεθόδους UPGMA και Njoin. Και στις δύο περιπτώσεις οι 26 γενότυποι του σκληρού σιταριού αποτέλεσαν μία ομάδα, ενώ στην άλλη ομάδα είχαμε 2 υποομάδες που περιλάμβαναν τις 2 ποικιλίες μαλακού σιταριού και 2 παραδοσιακές ποικιλίες σκληρού σιταριού. Σε ανάλογα συμπεράσματα καταλήξαμε με τη χρήση δεικτών τύπου SSR από τα οποία φαίνεται ότι υπάρχει και διάκριση των ελληνικών ποικιλιών σκληρού σιταριού με την ποικιλία μαλακού σιταριού Χίος, και διάκριση μεταξύ εμπορικών και παραδοσιακών ποικιλιών.

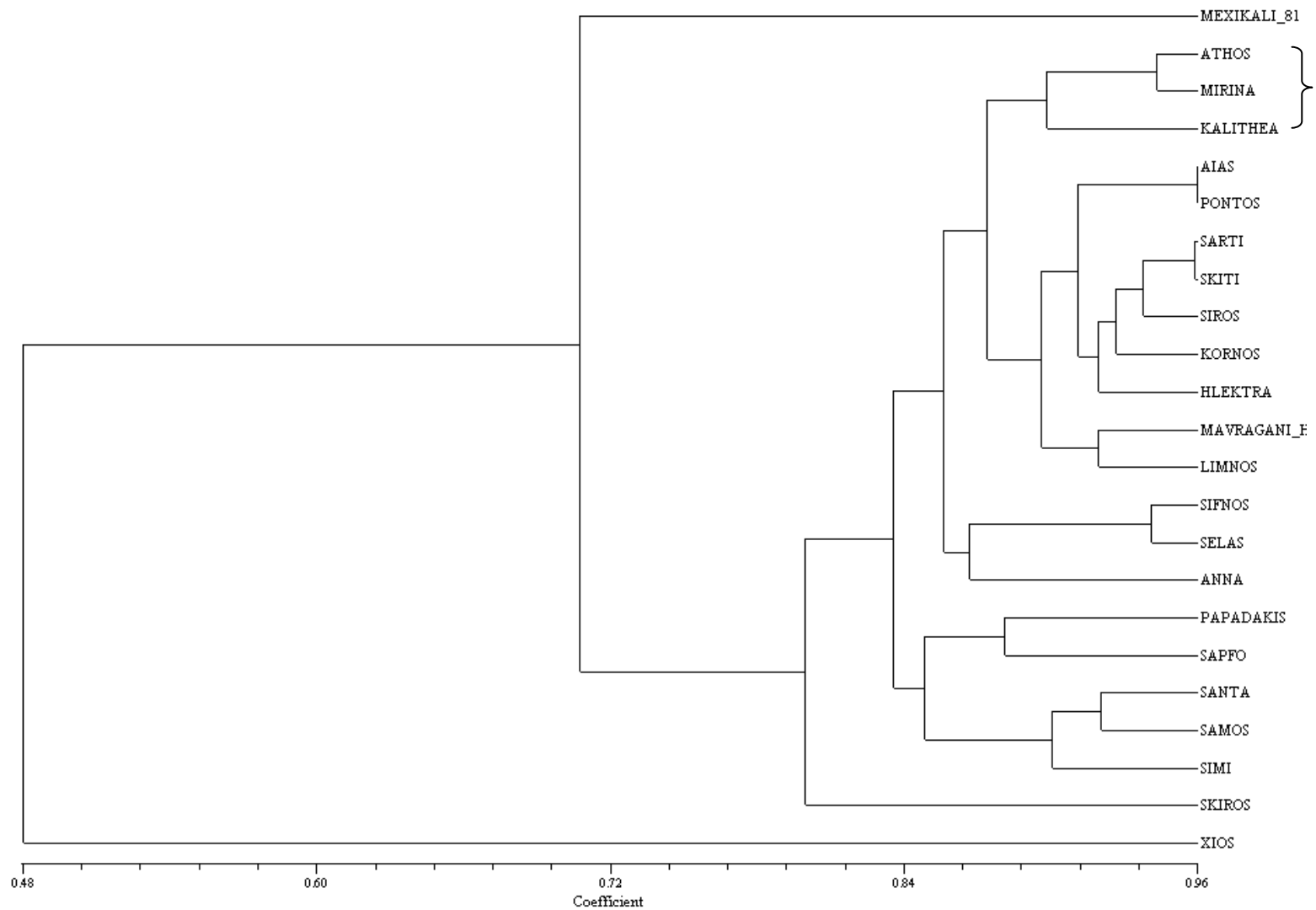
Στην περίπτωση του πειράματός μας και από τα στοιχεία που υπάρχουν όσον αφορά κάποιες από τις γενεαλογίες των ποικιλιών προέκυψε ότι οι ποικιλίες ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ, ANNA και ΣΙΦΝΟΣ έχουν κοινό γονέα (ΜΕΞΙΚΑΛΙ 81). Θα περίμενε κανείς και οι τέσσερις γενότυποι να βρίσκονται στην ίδια ομάδα. Κάτι τέτοιο όμως δεν συμβαίνει. Σε όλες τις περιπτώσεις η ποικιλία ΜΕΞΙΚΑΛΙ 81 δεν ομαδοποιείται άμεσα με τις υπόλοιπες, ενώ οι άλλες τρεις ποικιλίες και ιδιαίτερα στην περίπτωση των SSR ομαδοποιούνται και παρουσιάζουν μεγαλύτερη συγγένεια. Αυτό μπορεί να σημαίνει ότι είναι μεγαλύτερη η συμμετοχή του άλλου γονέα. Οι άλλοι γονείς είναι οι ΛΗΜΝΟΣ για τη ΣΙΦΝΟ, ΑΘΩΣ για την ΠΑΠΑΔΑΚΗ και ΣΑΝΤΑ για τη ANNA. Και με αυτούς δεν βλέπουμε κάποια ομαδοποίηση σε καμία περίπτωση. Κάτι τέτοιο δεν είναι περίεργο και μπορεί να επιβεβαιωθεί από κάποιους επιστήμονες.

Οι Kudryavtsev et al. (2003), μελέτησαν 64 ποικιλίες σκληρού σιταριού, που αντιπροσωπεύουν τις ποικιλίες που καλλιεργούνταν στην πρώην Σοβιετική Ένωση τα τελευταία 80 χρόνια. Χρησιμοποιήθηκαν εκκινητές τύπου RAPD της σειράς OPO,OPD,OPE,OPH,OPN και η γενετική ανάλυση έδωσε 6 ομάδες. Με τους RAPDs προέκυψαν 7 ομάδες. Βρέθηκε ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των δύο προσεγγίσεων στην εκτίμηση της γενετικής παραλλακτικότητας. Οι σχέσεις μεταξύ των αποτελεσμάτων της συγκέντρωσης RAPD, των συντελεστών προέλευσης και του συντελεστή συσχέτισης ήταν στατιστικά σημαντικές. Εντούτοις, ο συσχετισμός ήταν μάλλον αδύνατος ενώ η γενεαλογική ανάλυση και η μέθοδος RAPD δεν παρήγαγαν τις απολύτως ίδιες εκτιμήσεις της γενετικής παραλλακτικότητας στο σύνολο των ποικιλιών που μελετήθηκαν. Αυτό οφείλεται σε πλήθος παραγόντων. Ένας από αυτούς μπορεί να είναι το κέντρο στο οποίο δημιουργήθηκε η ποικιλία. Η ομαδοποίηση με τους RAPDs δείχνει ότι η μέθοδος δεν επιτρέπει την πλήρη διάκριση μεταξύ των ποικιλιών, γιατί αυτού του είδους οι εκκινητές αποκαλύπτουν πολυμορφισμούς που βασίζονται σε είδη και όχι σε καλλιεργούμενες ποικιλίες. Οι ποικιλίες διαφέρουν όσον αφορά τα αποτυπώματά τους αλλά γενικά οι συνδυασμοί αυτών των πληροφοριών είναι περιορισμένοι. Το σύνολο των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν δεν ήταν κατάλληλοι για τη μελέτη φυλλογενετικών σχέσεων σε επίπεδο είδους. Είτε έπρεπε να χρησιμοποιηθούν άλλοι συγκεκριμένοι εκκινητές, είτε έπρεπε να αυξηθεί ο αριθμός των εκκινητών το οποίο όμως θα ήταν χρονοβόρο και θα αύξανε το κόστος.

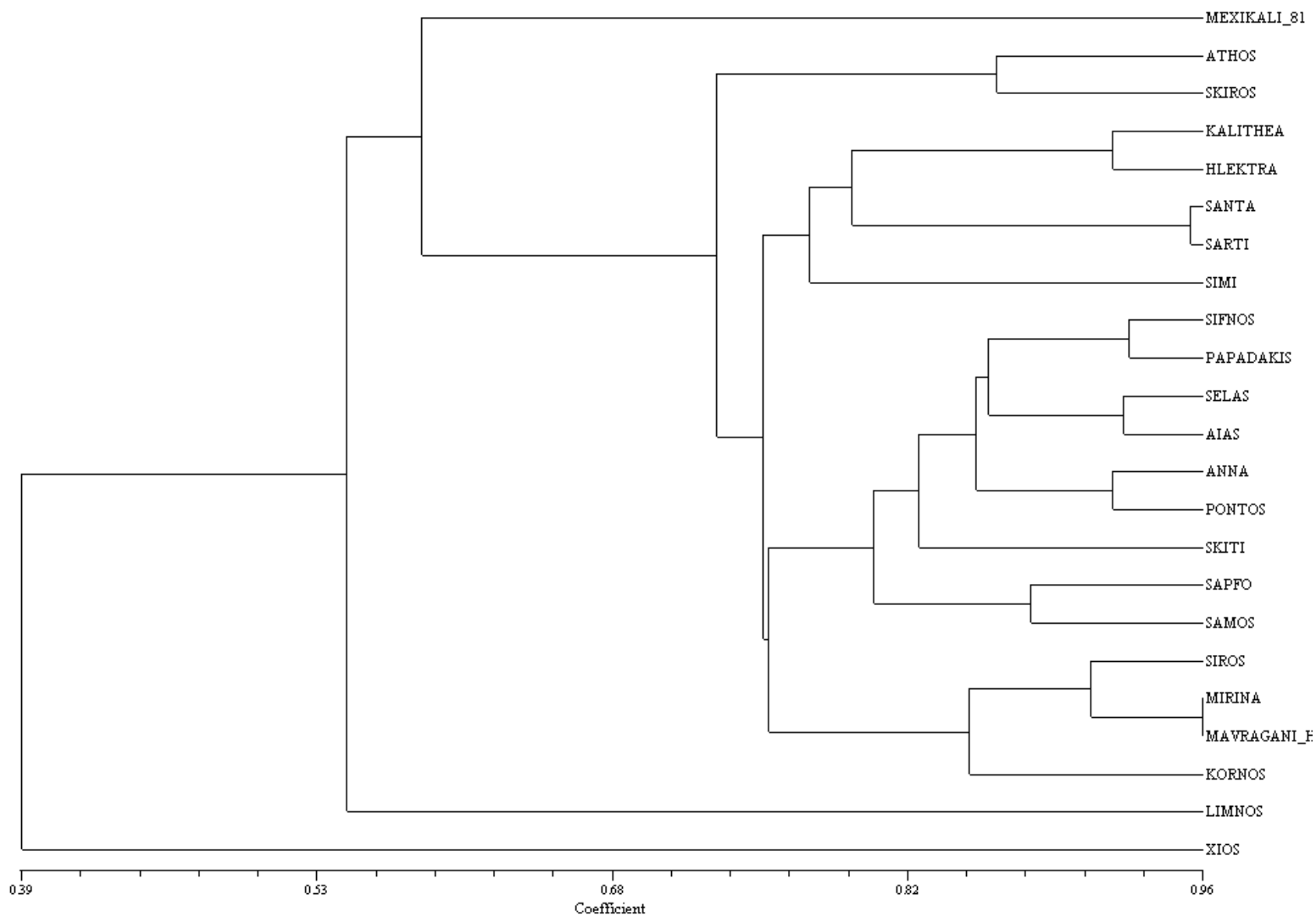
Οι Kudryavtsev et al. (2004), μελετήσανε 45 ποικιλίες σκληρού σιταριού, που καλλιεργήθηκαν στην πρώην ΕΣΣΔ και τη Ρωσία κατά τη διάρκεια των τελευταίων 80 ετών. Χρησιμοποιήθηκαν 28 δείκτες τύπου SSR . Ανιχνεύθηκαν μέχρι 13 αλληλόμορφα/ περιοχή με ένα μέσο όρο 2,7. Κάθε ποικιλία αποδεικνύεται ότι έχει έναν μοναδικό συνδυασμό αλληλόμορφων γονιδίων. Αυτό επιτρέπει στους δείκτες SSR να χρησιμοποιηθούν για να προσδιορίσουν τις ποικιλίες σκληρού σιταριού. Συγκρίθηκαν οι γενετικές αποστάσεις που προσδιορίστηκαν με τους SSR με αυτές του συντελεστή των γονέων. Με βάση τις γενεαλογίες δημιουργήθηκαν 7 ομάδες ενώ με βάση τους SSR δημιουργήθηκαν 5 ομάδες. Στις ίδιες ποικιλίες κατασκευάστηκε δενδρόγραμμα με δείκτες τύπου RAPDs και διαπιστώθηκε ότι υπήρχαν διαφορές στατιστικώς σημαντικές. Με συνδυασμό των μεθόδων RAPDs και SSR έχουμε διάκριση σε 4 ομάδες. Τα αποτελέσματα δεν συμπίπτουν με αυτά των γενεαλογιών. Η εξήγηση είναι στατιστική. Το εξεταζόμενο υλικό είναι ομοιογενές και οι διαφορές

που προκύπτουν κύρια με τους SSR και λιγότερο με τους RAPDs, εξηγούνται με τη θεωρία των πιθανοτήτων παρά με τις φυλλογενετικές σχέσεις (οι γενετικές αποστάσεις που υπολογίζονται βάσει αυτών των δεικτών δεν συσχετίζονται με την απόσταση που υπολογίζεται από το συντελεστή προέλευσης).

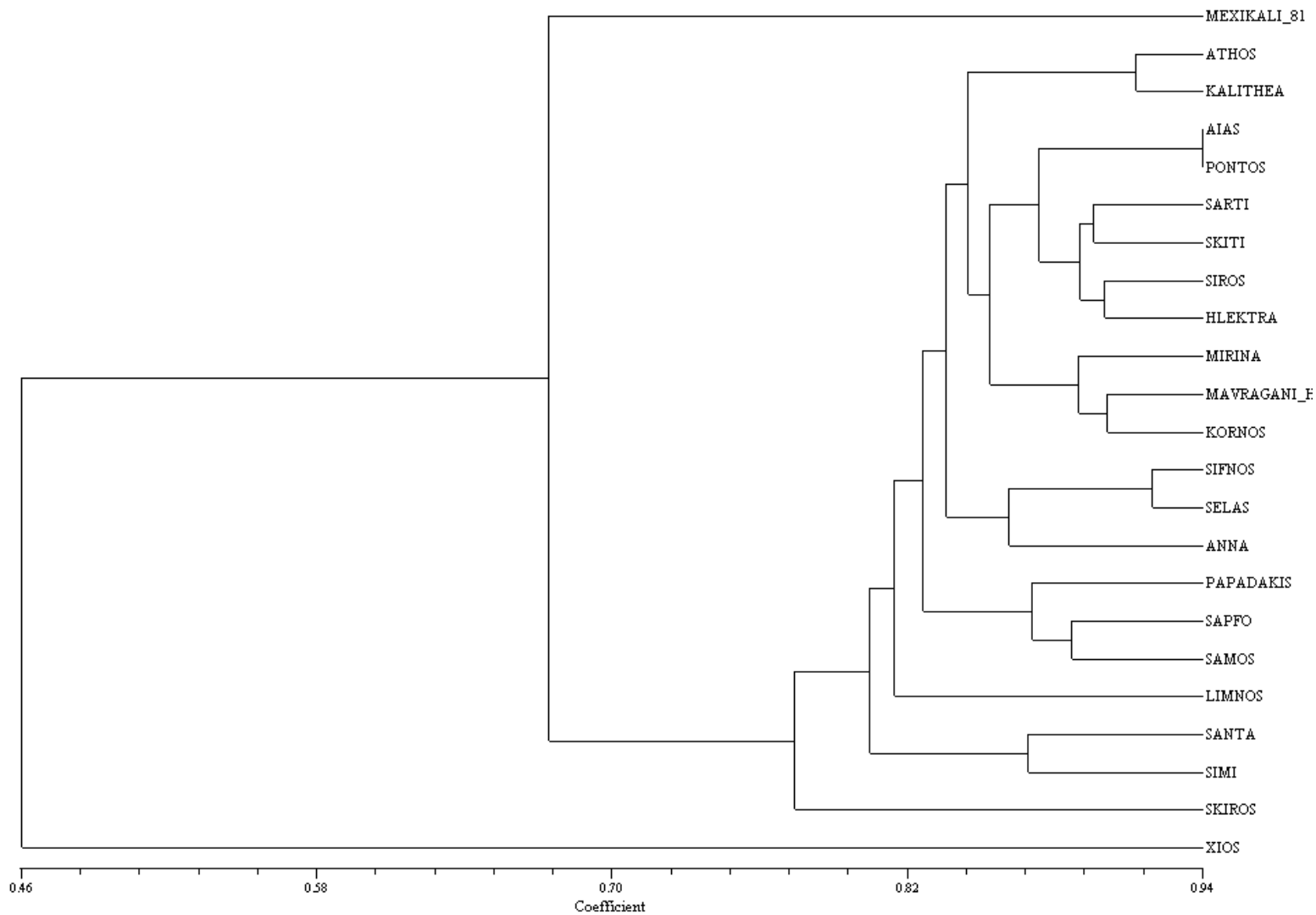
Οι Martynov et al. (2005), βασιζόμενοι στη γενεαλογική ανάλυση, μελέτησαν τη γενετική παραλλακτικότητα 78 ανοιξιάτικων ποικιλιών σκληρού σιταριού που καλλιεργούνται στη Ρωσία από το 1929–2004. Μελετήθηκαν οι χρονικές τάσεις της αλλαγής με τη χρησιμοποίηση σειρών nXm (όπου n ο αριθμός των ποικιλιών και m είναι ο αριθμός των αρχικών προγόνων) και να υπολογίσουν τους συντελεστές προέλευσης στα σύνολα ποικιλιών που καλλιεργήθηκαν όλο αυτό το διάστημα. Το παλαιό γενετικό υλικό περιελάμβανε 90 ντόπιες και παλαιές ποικιλίες, περισσότερες από τις μισές (57%) προέρχονται από την Ευρώπη, συμπεριλαμβανομένου της Ρωσίας και Ουκρανίας (45%). Οι πραγματικοί απόγονοι διαφέρουν στη συχνότητα παρουσίας από τη γενεαλογία των καλλιεργούμενων ποικιλιών. Οι ντόπιες ποικιλίες Beloturka, Sivouska, Kubanka (*T. durum* Desf.), Transbaikalian emmer, Yaroslav emmer (*T. dicoccum* Schuebl.), Poltavka (*T. aestivum* L.), και οι πραγματικοί πρόγονοι των ποικιλιών Kharkov 46, Narodnaya, και Melanopus 1932 συμμετέχουν στη γενεαλογία των περισσότερων από τις μισές ποικιλίες που καλλιεργούνται σε ποικίλα βελτιωτικά προγράμματα. Η ανάλυση της γενετικής παραλλακτικότητας που βασίζεται στα γενετικά προφίλ έδειξε ότι η γενετική ποικιλομορφία των ρωσικών σκληρών σιταριών αυξήθηκε κατά τη διάρκεια της εξεταζόμενης περιόδου. Παρόλ' αυτά παρατηρήθηκε γενετική διάβρωση του τοπικού υλικού και χάσιμο του 20% από τους προγόνους.



Εικόνα 33: Δενδρόγραμμα φυλλογενετικών σχέσεων μεταξύ των Βελτιωμένων εμπορικών και παραδοσιακών ποικιλιών σκληρού σιταριού και διάκριση σε υποσύνολα όπως προέκυψε από την ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου RAPD. ($r=0,963$)



Εικόνα 34: Δενδρόγραμμα φυλλογενετικών σχέσεων μεταξύ των ελληνικών Βελτιωμένων εμπορικών και παραδοσιακών ποικιλιών σκληρού σιταριού και διάκριση σε υποσύνολα όπως προέκυψε από την ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου SSR. ($r=0,961$)



Εικόνα 35: Δενδρόγραμμα φυλλογενετικών σχέσεων μεταξύ των Βελτιωμένων εμπορικών και παραδοσιακών ποικιλιών σκληρού σιταριού και διάκριση σε υποσύνολα όπως προέκυψε με τη συνδυασμένη ανάλυση με μοριακούς δείκτες τύπου RAPD-SSR ($r=0,967$)

6.5 Ομαδοποίηση των ποικιλιών με βάση ποιοτικά χαρακτηριστικά

Ομαδοποίηση των ποικιλιών όσον αφορά την συνολική ποσότητα σε γλουτένη

Με βάση τις μετρήσεις από το χημικό εργαστήριο του Τ.Ε.Ι.Θεσ/νίκης του τμήματος Διαιτολογίας-Διατροφολογίας (**παράρτημα**), οι ποικιλίες με βάση την ποσότητά τους σε γλουτένη διακρίνονται σε 4 ομάδες. Η υψηλότερη τιμή χαρακτηρίζει την ποικιλία άριστη (τιμή>35), την εντάσσει στην ομάδα 1 και στο δείκτη 9, ακολουθούν η ομάδα 2 με τιμές 34-35 και δείκτη 8, η ομάδα 3 με τιμές 32-33,9 και δείκτη 7, η ομάδα 4 με τιμές 30,5-32 και δείκτη 6 και η ομάδα 5 στην οποία ανήκουν ποικιλίες με τιμές <30,5 (**πίνακες 9**)

Πίνακας 9: Ποσότητα γλουτένης στο σύνολο των ποικιλιών

Ποικιλίες	Ομάδα 1 άριστη (>35)	Ομάδα 2 Πολύ καλή(34-35)	Ομάδα 3 Καλή (32-33,9)	Ομάδα 4 Μέτρια (30,5-31,9)	Ομάδα 5 Κακή <30,5
	Σάντα	Αννα	Άθως	υπόλοιπες	
Ελληνικές	Καλλιθέα	Σαπφώ	Σίφνος		
	Μαυραγάκι Ηρακλείου	Σύμη			
	Σάρτη	Αίας			
	Ηλέκτρα	Σκύρος			
		Σύρος			
		Μύρινα			
		Κόρνος			
Ιταλικές		Concadoro	Bronte	Svevo	υπόλοιπες
Ισπανικές		Vetrodur	Sajel		υπόλοιπες
Υπόλοιπες				Aracena	υπόλοιπες

Ομαδοποίηση των ποικιλιών όσον αφορά το δείκτη γλουτένης

Με βάση τις μετρήσεις από το Χημικό εργαστήριο του Τ.Ε.Ι.Θεσ/νίκης του τμήματος Διαιτολογίας-Διατροφολογίας (παράρτημα), οι ποικιλίες με βάση το δείκτη γλουτένης διακρίνονται σε 5 ομάδες. Η υψηλότερη τιμή χαρακτηρίζει την ποικιλία άριστη (τιμή>70) και την εντάσσει στην ομάδα 1, ακολουθούν η ομάδα 2 με τιμές 61-70 και δείκτη 9, η ομάδα 3 με τιμές 51-60 και δείκτη 8, η ομάδα 4 με τιμές 41-50 και δείκτη 7 και η ομάδα 5 στην οποία ανήκουν ποικιλίες με τιμές 31-40 και δείκτη 6 (πίνακες 10).

Πίνακας 10: Δείκτης γλουτένης στο σύνολο των ποικιλιών

Ποικιλίες	Ομάδα 1 άριστη (>70)	Ομάδα 2 Π.π.καλή (61-70)	Ομάδα 3 π.καλή (51-60)	Ομάδα 4 Καλή (41-50)	Ομάδα 5 Μέτρια <40
	Σέλας	Αννα		Καλλιθέα	υπόλοιπες
Ελληνικές	Μεξικάλι 81	Πόντος		Σάμος	
	Παπαδάκης	Σίφνος		Ηλέκτρα	
		Αίας		Σάντα	
		Μύρινα		Σάρτη	
				Κόρνος	
Ιταλικές	Simeto		Concadoro	Meridiano	υπόλοιπες
	Quadrato		Vitromax	Rusticano	
	Ionio		Svevo	Grazia	
Ισπανικές	Arcobaleno		Sajel	Mexa	υπόλοιπες
			Vitron	Asdrubal	
				Illora	
Υπόλοιπες		Kronos	Cosmodur	Tempradur	
			Verdi		

Ομαδοποίηση των ποικιλιών όσον αφορά την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη

Με βάση τις μετρήσεις από το Χημικό εργαστήριο του Τ.Ε.Ι.Θεσ/νίκης του τμήματος Διαιτολογίας-Διατροφολογίας (**παράρτημα**), οι ποικιλίες με βάση την περιεκτικότητα επί ξηρού σε πρωτεΐνη, έχουμε διάκριση των ποικιλιών σε 5 ομάδες. Η υψηλότερη τιμή χαρακτηρίζει την ποικιλία άριστη (τιμή>15), την εντάσσει στην ομάδα 1 και στο δείκτη 9, ακολουθούν η ομάδα 2 με τιμές 14,5-15 και δείκτη 8 και οι ποικιλίες χαρακτηρίζονται πολύ καλές, η ομάδα 3 με τιμές 13,5-14,4 και δείκτη 7, η ομάδα 4 με τιμές <13,5 (**πίνακας 11**).

Πίνακας 11: Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στο σύνολο των ποικιλιών

Ποικιλίες	Ομάδα 1 άριστη >15	Ομάδα 2 π.καλή (14,5-15)	Ομάδα 3 Καλή (13,5-14,4)	Ομάδα 4 μέτρια (<13,5)
	Άθως	Σέλας	Πόντος	Σάμος
Ελληνικές	Μεξικάλι 81	Σίφνος	Σκήτη	
	Παπαδάκης	Σάρτη	Σαπφώ	
	Καλλιθέα	Σύρος	Σάντα	
	Άννα		Σύμη	
	Αίας			
	Ηλέκτρα			
	Μύρινα			
	Μαυραγάκι Ηρακλείου			
	Σκύρος			
	Κόρνος			
Ιταλικές	Concadoro	Iride	Claudio	υπόλοιπες
	Bronte		Svevo	
Ισπανικές	Mexa	Vetrodur	Amilkar	υπόλοιπες
			Sajel	
			Arcobaleno	
			Illora	
Υπόλοιπες		Cosmodur	Aracena,Verdi	υπόλοιπες

DUNCAN TEST

Έγινε ομαδοποίηση των ελληνικών ποικιλιών με αύξουσα σειρά (από την υψηλότερη στην λιγότερο αποδοτική), όσον αφορά την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνη, την ποσότητα γλουτένης και το δείκτη γλουτένης με βάση το DUNCAN TEST (πίνακας 12).

Πίνακας 12: Ομαδοποίηση των ελληνικών ποικιλιών με βάση το DUNCAN TEST

Πρωτεΐνες %	Ποσότητα γλουτένης%	Δείκτης γλουτένης
Ηλέκτρα- Καλλιθέα (a)	Καλλιθέα (a)	Παπαδάκης (a)
Άννα- Σάρτη- Σύρος (b)	Ηλέκτρα-Σάντα- Μαυραγάνη- Σάρτη (b)	Μεξικάλι 81(b)
Μαυραγάνη- Παπαδάκης (c-cd)	Αίας – Κόρνος- Μύρινα- Σκύρος- Σύρος (c) Σύμη- Άννα (cd)	Πόντος (cd) Σίφνος,Μίρινα (cde)
Παπαδάκης- Μύρινα (cd-d)	Σύμη- Άννα (cd) Άθως- Σαπφώ- Σίφνος (d)	Σίφνος,Μίρινα (cde) Άννα (de)
Σάντα- Σκύρος-Κόρνος (e)	Σίφνος- (de) Μεξικάλι 81-Σέλας (ef)	Άννα (de) Αίας (e)
Αίας (f)	Μεξικάλι 81-Πόντος (ef-f)	Καλλιθέα (fg) Σάμος (fgh),
Σίφνος- Άθως (g-gh)	Παπαδάκης-Σάμος (g)	Σάρτη (h) Ηλέκτρα ,Κόρνος (gh)
Άθως- Σαπφώ (gh-hi)	Σκήτη (h)	Άθως ,Σαπφώ ,Σκήτη (i)
Σαπφώ- Σέλας (hi-i)		Σκύρος (j)
Σύμη (j)		Σύμη (k)
Μεξικάλι 81(k)		
Πόντος (l)		
Σάμος (m)		

Από τη μελέτη των διαγραμμάτων παρατηρούμε ότι μόνο στην περίπτωση των SSR, όσον αφορά την ποσότητα σε γλουτένη, οι υψηλοαποδοτικές βελτιωμένες ποικιλίες ΚΑΛΛΙΘΕΑ, ΗΛΕΚΤΡΑ, ΣΑΝΤΑ, ΣΑΡΤΗ ομαδοποιούνται μαζί και διαφοροποιείται η ποικιλία ΜΑΥΡΑΓΑΝΙ που ανήκει στις παραδοσιακές ποικιλίες.

Όμοια όσον αφορά το δείκτη γλουτένης, οι σύγχρονες βελτιωμένες υψηλοαποδοτικές ποικιλίες που ανήκουν στις ομάδες 1 και 2 ομαδοποιούνται μαζί εκτός από την παραδοσιακή ποικιλία ΜΥΡΙΝΑ και την εμπορική ποικιλία ΜΕΞΙΚΑΛΙ 81.

Από τη μελέτη της ομαδοποίησης των ποικιλιών κατά DUNCAN βλέπουμε ότι δεν μπορούμε να καταλήξουμε σε όμοια συμπεράσματα όσον αφορά τις ομαδοποιήσεις των ποικιλιών με βάση τα δένδρογράμματα. Το ίδιο ισχύει και για τις

ομαδοποιήσεις που προέκυψαν από τις αναλύσεις. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι δείκτες που χρησιμοποιήσαμε δεν ήταν ικανοί για να προσδιορίσουν συγκεκριμένο QTL που σχετίζεται με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη εφόσον το συγκεκριμένο γνώρισμα επηρεάζεται από συνθήκες του περιβάλλοντος και βρίσκεται σε πολλές περιοχές του χρωμοσώματος Β. Η έρευνά μας επιβεβαιώνεται και από πειραματικά δεδομένα άλλων ερευνητών.

Οι Moragues et al. (2006), μελέτησαν τη γενετική παραλλακτικότητα των υψηλού και χαμηλού μοριακού βάρους υπομονάδων γλουτενίνης του σκληρού σιταριού σε 63 παραδοσιακές ποικιλίες από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές της λεκάνης της Μεσογείου. Βρέθηκε μεγάλη παραλλακτικότητα στη σύνθεση της γλουτενίνης, με 42 υψηλούς και χαμηλού μοριακού βάρους απλότυπους γλουτενίνης, 20 συνδυασμούς αλληλόμορφων στην περιοχή HMW-GS, και 18 στην περιοχή LMW-GS. Ανίχνευση έγινε σε όλες τις περιοχές της Μεσογείου. Τα σπάνια αλληλόμορφα γονίδια βρέθηκαν στην περιοχή Glu-B1 στις υψηλές συχνότητες όπως και τα σχετικά αλληλόμορφα γονίδια με την ποιότητα του σιταριού. Ο δείκτης γενετικής παραλλακτικότητας ήταν σχετικά υψηλός (0,67) και κυμάνθηκε από 0,33-0,66. Η cluster ανάλυση έδειξε ότι υπάρχει ομαδοποίηση των γενοτύπων με βάση την προέλευση. Η χαμηλή παραλλακτικότητα μεταξύ των βουλγαρικών ποικιλιών οφείλεται στις περιορισμένες συνθήκες του περιβάλλοντος στις περιοχές της Βουλγαρίας. Η Rogers' distance coefficient για το σχέδιο κάθε περιοχής έδειξε ότι υπάρχουν δύο περιοχές γενετικού υλικού με διαφορετικά προφίλ ποιότητας και φαίνεται ότι οι περιοχές της Νοτιοδυτικής Ασίας διαφέρουν από αυτές των άλλων περιοχών της Μεσογείου.

Οι Branlard et al. (1989), μελέτησαν την παραλλακτικότητα των υποομάδων γλουτένης υψηλού μοριακού βάρους (HMW) σε 502 ποικιλίες σκληρού σιταριού (*Triticum durum*) από 23 χώρες, με τη μέθοδο sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel elec-trophoresis (SDS-PAGE). 29 είδη δεικτών έδωσαν 18 ζώνες. Αναγνωρίστηκαν 18 αλληλόμορφα με σύγκρισή της κινητικότητάς τους με εκείνα του εξαπλοειδούς σιταριού (*T. aestivum*) και *Triticum turgidum* var. *dicoccure*. Ανιχνεύθηκαν 5 καινούρια αλληλόμορφα, δύο στην περιοχή *Glu A1* και 3 στην περιοχή *Glu B1*. Έγινε σύγκριση της συχνότητας των αλληλομόρφων σε 3 είδη *T. aestivum*, *T. dicoccum* και *T. durum*. Βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ειδών όσον αφορά την κατανομή των 3 και 4 αλληλομόρφων στις γονιδιακές θέσεις *Glu A1* και *Glu B1*. Το *Glu B1c* αλληλόμορφο εμφανίζεται στα εξαπλοειδή σιτάρια

αλλά όχι στα τετραπλοειδή. Στο 83% του *T. durum* βρέθηκε το σιωπηρό αλληλόμορφο *Glu Alc* (null).

Η Λιακοπούλου (2004), μελέτησε τη σιμιγδαλοποιητική συμπεριφορά των ποικιλιών στον Ελλαδικό χώρο με σκοπό να εξετάσει τις αποδόσεις τους, όσον αφορά τα σιμιγδαλοποιημένα προϊόντα και τις σχέσεις μεταξύ των αποδόσεων αυτών και άλλων γνωρισμάτων του σκληρού σιταριού. Αναλύθηκαν 431 δείγματα από συγκομιδές του 2000,2001 και 2002. Τα δείγματα προέρχονταν από 49 ποικιλίες σκληρού σιταριού που καλλιεργούνταν σε 33 διαφορετικές περιοχές, οι οποίες κάλυπταν ένα ευρύ φάσμα περιβαλλόντων. Βρέθηκε ότι ποικιλίες με μεγάλο κόκκο παρήγαγαν παρόμοιες ποσότητες σιμιγδαλιού με ποικιλίες που είχαν μικρό κόκκο. Ο λόγος ενδοσπερμίου /πιτύρων και το ποσοστό των πιτύρων, βρέθηκαν ότι εξαρτώνται κυρίως από την ποικιλία. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και οι υαλώδεις κόκκοι είχαν θετική συσχέτιση με την παραγωγή σιμιγδαλιού και αρνητική με την παραγωγή αλεύρου. Το βάρος 1000 κόκκων (BXC), ο λόγος ενδοσπερμίου /πιτύρων και τα προϊόντα σιμιγδαλοποίησης συσχετίστηκαν θετικά μεταξύ τους , ενώ με τα πίτυρα συσχετίστηκαν αρνητικά.

Από τα παραπάνω διαπιστώνουμε ότι δεν είναι εύκολο να γίνει συσχέτιση και ομαδοποίηση ποικιλιών με βάση χαρακτηριστικά ποιότητας με τη χρήση μοριακών δεικτών, γιατί απαιτείται η χρήση εξειδικευμένων εκκινητών που να μπορούν να προσδιορίσουν συγκεκριμένη περιοχή και γιατί τα γνωρίσματα αυτά επηρεάζονται από συνθήκες του περιβάλλοντος.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Με βάση την ιεραρχική ανάλυση συστημάτων κατέστη σαφής ο διαχωρισμός και καθορίστηκε η γενετική απόσταση μεταξύ των ποικιλιών σκληρού σιταριού και της ποικιλίας μαλακού σιταριού Χίος, η οποία χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας.
- Από τη μελέτη των φυλογενετικών σχέσεων προέκυψε ότι είναι δυνατός ο διαχωρισμός των ποικιλιών με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση, αφού είχαμε ομαδοποιήσεις των ιταλικών, ισπανικών και ελληνικών ποικιλιών.
- Όσον αφορά τις ελληνικές ποικιλίες σκληρού σιταριού διαπιστώθηκε ότι υπάρχει σαφής διάκριση μεταξύ των βελτιωμένων εμπορικών ελληνικών ποικιλιών, των ποικιλιών που είναι δημιουργίες του Ινστιτούτου και των παραδοσιακών ποικιλιών. Αυτό πιστοποιεί το γεγονός ότι οι εμπορικές ποικιλίες έχουν στενή γενετική βάση και διαφέρουν από τις παραδοσιακές ποικιλίες σκληρού σιταριού.
- Δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των μοριακών προτύπων που προέκυψαν από τη χρήση δεικτών τύπου SSR και των χαρακτηριστικών ποιότητας που σχετίζονται με την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, σε γλουτένη και τις τιμές του δείκτη γλουτένης όπως προέκυψε από αναλύσεις δειγμάτων για το σύνολο των ποικιλιών. Αν και 4 από τους 11 εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν, συνδέονταν με QTL που σχετίζεται με την υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη δεν υπήρξε κοινή ομαδοποίηση των ποικιλιών, γεγονός που επιβαρύνει τον πολυγενικό χαρακτήρα του συγκεκριμένου γνωρίσματος.
- Από τη σύγκριση των δύο τύπων δεικτών διαπιστώθηκε η συσχέτιση μεταξύ των προτύπων RAPD και SSR. Η καλύτερη διακριτική ικανότητα που εμφάνισαν οι RAPDs σε σχέση με τους SSR, σε συνδυασμό με το χαμηλότερο κόστος εφαρμογής τους, ενισχύει την επιλογή χρήσης αυτών των δεικτών για μελέτη φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ εμπορικών και παραδοσιακών ποικιλιών σκληρού σιταριού.

8.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki, A. Nakamura and T. Fujimura,(1996).** A codominant DNA marker closely linked to the rice nuclear gene, *Rf-1*, identified with inter-SSR fingerprinting. *Genome* 39: 1205-1209.
- Al-Hakimi A., Mannoveux P., (1993).** Morphological traits related to drought tolerance in primitive wheats.-In: Damania, A.B.(ED):Biodiversity and wheat Improvement.
- Allard R.W., (1960).** Principles of plant breeding. John Wiley and sons,Inc.p.p.43-45 and109-114.
- Allard R.W., (1996)** .Genetic basis of the evolution of adaptedness in plants. *Euphytica* 92:1–11.
- Amer I., Andreas Borner and Marion S. Roder, (2001).** Detection of genetic diversity in Libyan wheat genotypes using wheat microsatellite markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 48: 579–585.
- Amuruganathan, E. and E. D. Earle, (1991).** Nuclear DNA content of some important plants species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 208-218.
- Anderson JA, Ogihara Y, Sorrells ME, Tanksley SD (1992)** Development of a chromosomal-arm map for wheat based on RFLP markers. *Theor Appl Genet* 83 : 1035–1043
- Autran, J.C., J. Abecassis and P. Feillet, (1986).** Statistical evaluation of different technological and biochemical tests for quality assessment in durum wheats. *Cereal Chem* 63: 390–394.
- Autrique E., Nachit M.M., Monneveux P., Tanksley S.D., Sorrells M.E., (1996).** Genetic diversity in durum wheat based on RFLPs, morphophysiological traits, and coefficient of parentage. *Crop Sci* 36:735–742.
- Avivi, L., (1978).** High grain protein content in wild tetraploid wheat *Triticum dicoccoides* Korn. In: S. Ramanujam (Ed.), Proceedings of the International Wheat Genetic Symposium, NewDelhi, India, 23–28 February 1987, Indian Society of Genetics and Plant Breeding, Indian Agriculture Research Institute, New Delhi, India,pp. 372–380.
- Avivi, L., (1978).** High protein content in wild tetraploid *Triticum dicoccoides* Korn. In: S. Ramanujam (ed) 5th Int. *Wheat Genet. Symp.*, New Delhi, India. pp. 372-380.

- Azhar, F. M. & T. McNeilly, (1989).** Heritability estimates of variation for NaCl tolerance in *Sorghum bicolor* (L.) Moench seedlings. *Euphytica* 43: 69–72.
- Badiani M., De Biasi, Colognola M.G., Artemi F., (1990).** Catalase, peroxidase and superoxide dismutase activities in seedlings submitted to increasing water deficit. *Agrichemica* 34:90-102.
- Baisak R., Rana D., Acharya P.B., Kar M., (1994).** Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress, *Plant Cell Physiol.* 35:489-495.
- Baldwin, D., Crane, V. and Rice, D., (1999).** A comparison of gel-based, nylon filter and microarray techniques to detect differential RNA expression in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2, 96–103.
- Barrett BA, Kidwell KK, (1998).** AFLP-based genetic diversity assessment among wheat cultivars from the Pacific Northwest. *Crop Sci* 38:1261–1271
- Bechere E., Smith E .L., Gough F .J. and Merkle O.W., (1991).** Genetics of stem rust resistance in the durum wheat accession 'Reichenbachii'. *Euphytica* 53 : 103-106.
- Begg J . E. and Turner N. C ., (1976).** Crop water deficits . *Adv . Agron .* 38 : 161-217.
- Bennett M.D., Smith J.B., (1976).** Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Philosophical Transaction of Royal Society*, London 274: 227-274.
- Blanco A. , R. Simeone, B. Laddomada, A. Pasqualone, A. Troccoli and N. Di Fonzo.** Variation for grain protein content and identification of QTLs by molecular markers in tetraploid wheats. *CIHAM Options Mediterraneennes*.
- Blanco A., Z R. Simeone, Z A. Gadaleta, (2006).** Detection of QTLs for grain protein content in durum wheat. *Theor Appl Genet* 112: 1195–1204.
- Blanco A., M. P. Bellomo A. Cenci, C. De Giovanni , R. D'Ovidio, E. Iacono, B. Laddomada· M. A. Pagnotta, E. Porceddu, A. Sciancalepore, R. Simeone, O. A. Tanzarella (1998).** A genetic linkage map of durum wheat. *Theor Appl Genet* 97: 721–728
- Boggini G., Annicchiarico P., Longo A. and Pecetti L., (1992).** Produttività e adattamento di nuove costituzioni di frumento duro (*Triticum durum* Desf.). *Riv. Di Agron.* 26: 482–488.
- Boggini G., Doust M.A., Annicchiarico P. and Pecetti L., (1997).** Yielding ability, yield stability, and quality of exotic durum wheat germplasm in Sicily. *Plant Breed.* 116: 541–545.

- Boggini, G., M Palumbo and F. Galeagno, (1990).** Characterization and Utilization of Sicilian Landraces of Durum Wheat in Breeding Programmes. In Srivastava, J.P. and Damania, A.B. (eds) *Wheat Geneti Resources: Meeting Diverse Needs*. pp:223-234.
- Borghi B., Corbellini M., Minoia C., Palumbo M., Fonzo N. Di and Prenzin M., (1997).** Effects of Mediterranean climate on wheat bread-making quality. *Eur. J. Agron.* 6: 145–154.
- Borlaug N.E. and Dowsell C.R., (1997).** The acid lands: One of agriculture's last frontiers. *Plant-Soil Interactions at Low pH*, Moniz, A.C. et al. (eds). *Brazilian Soil Science Society*, Brazil, pp. 5-15.
- Boubaker M., (1996).** Salt tolerance of durum wheat cultivars during germination and early seedling growth. *Agric. Medit.* 126: 32–39.
- Boyer J . S . and Mcpherson H . G., (1975).** Physiology of water deficits in cereal crops. *Adv . Agron . 27* :1-23.
- Boyer J.S., (1982).** Plant productivity and environment. *Science* 218:443-448.
- Boyer, J . S ., (1981) .** Water deficits and photosynthesis . In: T . T . Kozkowski (Ed .), *Water deficits and plant growth* . Academic Press, 154-190 .
- Bozzini A., (1970).** Genetica e miglioramento genetico dei frumenti duri. *Genet. Agr.* 24: 145–193.
- Bozzini A., Corazza L., D'Egidio M.G., Di Fonzo N., La Fiandra D., Pogna N.E., Poma I., (1998).** Durum Wheat (*Triticum turgidum* spp. durum). In: Scarascia Mugnozza GT, Pagnotta MA (eds). *Italian contribution to plant genetics and breeding*. Viterbo, Italy, 181–194.
- Brandt, S.P., (2005).** Microgenomics: gene expression analysis at the tissue-specific and single-cell levels. *J. Exp. Bot.* 56, 495–505.
- Branlard G. 1, j . C . Autran 2 and P. Monneveux (1989).** High molecular weight glutenin subunit in durum wheat (*T. durum*). *Theor Appl Genet* 78:353-358
- Breiman, A., and Graur, D., (1995).** Wheat evolution. *Israel J. Plant Sci.* 43: 85–98
- Brown P., 2004.** Monsanto abandons worldwide GM wheat project. *Guardian News and Media*.
- Caetano V.R ., (1984) .** Situation report - Brazil . In: CIMMYT. 1984 . Barley yellow dwarf (Mexico) pages: 173-174.

- Caldo, R.A., Nettleton, D. and Wise, R.P., (2004).** Interaction-dependent gene expression in *m1a*-specified response to barley powdery mildew. *Plant Cell*, 16, 2514–2528.
- Cantrell, R.G. & L.R. Joppa, (1991).** Genetic analysis of quantitative traits in wild emmer (*Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides*). *Crop Sci* 31: 645–649.
- Carrillo J.M., Vazquez J.F. and Orellana J., (1990).** Relationship between gluten strength and glutenin proteins in durum wheat cultivars. *Plant Breed.* 104: 325–333.
- Ceccarelli, S. and S. Grando., (1996).** Drought as a challenge for the breeder. *Plant Growth Regulation* 20: 149-155.
- Ceoloni C., M. Biagetti, M. Ciaffi, P. Forte & M. Pasquini, (1996).** Wheat chromosome engineering at the 4x level: the potential of different alien gene transfers into durum wheat. *Euphytica* 89: 87-97.
- Ceoloni, C., (1987).** Current methods of chromosome engineering in wheat. *Proc. EWAC Meeting, Martonvasar, Hungary*: 95-109.
- Ceoloni, C., G. Del Signore, M. Pasquini & A. Testa, (1988).** Transfer of mildew resistance from *Triticum longissimum* into wheat by induced homoeologous recombination, p. 221-226. In: T.E. Miller & R.M.D. Koebner (Eds). *Proc. 7th Int. Wheat Genet. Symp.* Cambridge, U.K.
- Chabane K., Z.O. Abdalla, Z.H. Sayed, Z.J. Valkoun, (2006).** Assessment of EST-microsatellites markers for discrimination and genetic diversity in bread and durum wheat landraces from Afghanistan. *Gene.t Resour. Crop Evol.* DOI 10.1007/s10722-006-0033-1.
- Chander, S., Srivastava R.B. and Yunus M., (1993).** Impact of intermating on population mean and genetic advance in wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell). *Cereal Res Comm* 21: 201-205.
- Chao, S.; P. J. Sharp; A. J. Worland; E. J. Warham; R. M. D. Koebner and M. D. Gale. (1989).** RFLP based genetic maps of wheat homoeologous group 7 chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 78:495-504
- Chee, P.W., E.M. Elias, J.A. Anderson & S.F. Kianian, (2001).** Evaluation of a high grain protein QTL from *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides* in an adapted durum wheat background. *Crop Sci* 41:295–301.
- Chen X., Justin D. Faris, Z ,Jinguo H., Robert W. Stack, Tika Adhikari, Elias M. Elias, Z Shahryar F. Kianian, Xiwen Cai, (2007).** Saturation and comparative

mapping of a major Fusarium head blight resistance QTL in tetraploid wheat. *Mol. Breeding* 19:113–124.

Cheour F., Comeau A . and Asselin A., (1989). Genetic variation for tolerance or resistance to barley yellow dwarf virus in durum wheat. *Euphytica* 40 : 213-220.

Condit, R. and S. P. Hubbell. (1991). Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomics. *Genome* 34: 66-71.

Cox M.C., Qualset C.O., Rains D.W., (1985). Genetic variation for nitrogen assimilation and translocation in wheat III. Nitrogen translocation in relation to grain yield and protein. *Crop Sci.* 26:737–740.

D’Amato F., (1989). The progress of Italian wheat production in the first half of the 20th century: the contribution of breeders. *Agr. Med.* 119: 157–174.

D’Egidio MG, Mariani BM, Nardi S, Novaro P, Cubadda R., (1990). Chemical and technological variables and their relationships: a predictive value equation for pasta cooking quality. *Cereal Chem.* 67:275–281.

Damania A.B., Tahir M., (1993). Heat and cold tolerance in wild relatives and primitive forms of wheat- In: Damania, , A.B.(ED):*Biodiversity and wheat Improvement* .Pp.217-224. Academic press. New York.

Dayanandan, S.; O. P. Rajora and K. S. Bawa. (1998). Isolation and characterisation of microsatellites in trembling aspen (*Populus tremuloides*). *Theor. Appl. Genet.* 96: 950-956.

Delaney D, Nasuda S, Endo TR, Gill BS and Hulbert SH (1995 a). Cytologically based physical maps of the group-2 chromosomes of wheat. *Theor Appl Genet* 81 : 245–252

Devos, K. M. and M. D. Gale. (1992). The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 84: 567-572.

Devos, K. M. and M. D. Gale. (1993). Extended genetic maps of the homoeologous group 3 chromosomes of wheat, rye and barley. *Theor. Appl. Genet.* 85: 469-652.

Dexter J. E. , and Matsuo R.R., (1977). Influence of protein content on some durum wheat quality parameters. *Can. J. Plant. Sci.*57:717-727.

Dexter J. E. , and Matsuo R.R., (1981). Effect of starchy kernels, immaturity and shrunken kernels on durum wheat quality. *Cereal Chem.*58:395-400.

Dexter J. E. , Matsuo R.R. and Martini D.G., (1987). The effect of test weight on durum wheat quality. *Cereal Foods World.*32:772-777.

- Dholakia B.B., (2001).** Molecular approaches to decipher quantitative traits governing grain quality in wheat. Plant Molecular Biology Unit, Division of Biochemical Sciences, National Chemical Laboratory, Pune (India).
- Distelfeld A. , S. Olmos, C. Uauy, A.R. Schlatter, J. Dubcovsky and T. Fahima.,** Microcolinearity between the grain protein content QTL region in wheat chromosome arm 6BS and rice chromosome 2.
- Dohlman E, Hoffman L., (2000).** The new agricultural trade negotiations: background and issues for the U.S. wheat sector. Wheat yearbook. Economic research service, USDA.
- Donini P., Law J,R,, Koebner R,M,D,, Reeves J,C,, Cooke R,J., (2000b).** Temporal trends in the diversity of UK wheats. *Theor. Appl. Genet* 100:912–917.
- Donini, P.; P. Stephenson; G. J. Bryan and R. M. D. Koebner. (1998).** The potential of microsatellites for high throughput genetic diversity assessment in wheat and barley. *Genet. Resour. Crop Evol.* 45: 415-421.
- D'Ovidio R.,O.A. Tanzarella,D. Lafiandra,E. Porceddu.** Identification of durum wheat cultivars with good and poor quality by PCR-based markers.Dipartimento di Agrobiologia e Agrochimica Universita Degli Studi Della Tuscia Viterbo Italy. *Options-Mediterraneennes.*
- Du Cros D.L., (1987).** Glutenin protein and gluten strength in durum wheat. *J. Cereal Sci.* 5: 3–12.
- Dvorak J, Appels R., (1982).** Chromosome and nucleotide sequence differentiation in genomes of polyploid *Triticum* species. *Theor. Appl. Genet.* 63: 349-360.
- Dvorak J, Terlizzi P, Zhang H-B, Resta P., (1993).** The evolution of polyploid wheats: Identification of the A genome donor species. *Genome* 36: 21-31
- Dvorak J., Zhang H.B., (1990).** Variation in repeated nucleotide sequences shed light on the phylogeny of wheat B and G genomes. *Proc Natl Acad Sci, USA* 87: 9640-9644
- Dvorak J., Zhang H.B., (1992).** Reconstruction of the phylogeny of the genus *Triticum* from variation in repeated nucleotide sequences. *Theor Appl Genet* 84: 419-429.
- Ehdaie, B. & J.G. Waines, (1989a).** Genetic variation, heritability and path-analysis in landraces of bread wheat from southwestern Iran. *Euphytica* 41: 183-190.
- Ehdaie, B. & J.G. Waines, (1989a).** Genetic variation, heritability and path-analysis in landraces of bread wheat from southwestern Iran. *Euphytica* 41: 183-190.

- Elouafi I. , M. M. Nachit, (2004).** A genetic linkage map of the Durum _ Triticum dicoccoides backcross population based on SSRs and AFLP markers, and QTL analysis for milling traits. *Theor Appl Genet* 108:401–413.
- Elstner E.F., (1987).** Metabolism of activated oxygen species-In Davies D.D.(ed): *The biochemistry of plants*. Vol II. Pp 253-315. Academic Press, San Diego.
- Epstein, E., Norlyn J.D., Rush D.W. and Kingsbury R.W., (1980).** Saline culture of crops: a genetic approach. *Science* 210: 399–404.
- Esquinas-Alcázar, J.T.,(1993).** La diversidad genética como material básico para el desarrollo agrícola. En: La Agricultura del Siglo XXI. J.I. Cubero y M.T. Moreno (coord.). Mundi-Prensa, Madrid, pp. 79-102.
- Eujail ME, Sorrells M, Baum P, Wolters W, Powell W, (2002).** Isolation of EST-derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat. *Theor Appl Genet* 10:399–407
- Ezzahiri B.** Leaf rust of durum wheats. Departement de Phytopathologie, Institut Agronomique et Vittrinaire Hassan II, B.P. 6202, Rabat-Instituts, Rabat, Maroc. *Options-Mediterraneennes*.
- Feillet, P. and J.E. Dexter, (1996).** Quality requirements of durum wheat for semolina milling and pasta production. In: J.E. Kruger, R.B. Matsuo and J.W. Dick (Ed.). *Pasta and Noddle Technology*, pp. 95–131. AACCC, St. Paul, MN, USA.
- Francois L. E., Maas E. W., Donovan T. J. and Youngs V. L., (1986).** Effect of salinity on grain yield and quality, vegetative growth, and germination of semi-dwarf and durum wheat. *Agron. J.* 78:1053.
- Francois, L. and Maas E., (1993).** Crop response and management on salt-affected soils. In: Pessaraki, M. (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*, pp. 149–181, Marcel Dekker, New York, NY.
- Gale M., (2003).** Applications of Molecular Biology and Genomics to Genetic Enhancement of Crop Tolerance to Abiotic Stress. *A Discussion Document* Food and agriculture organization of the United Nations.
- Gale MD, Akthinson MD, Chinoy CN, Harcourt RL, Jia J, Li QY, Devos KM (1995)** Genetic maps of hexaploid wheat. In: Li ZS, Xin ZY (eds) *Proc 8th Int Wheat Genet Symp*, China Agr Sciencetech Press, Beijing, pp 29–40
- Gale, M.D. & T.E. Miller, (1987).** The introduction of alien genetic variation into wheat, p. 173-210. In: EG.H. Lupton (Ed). *Wheat Breeding - Its Scientific Basis*. Chapman and Hall, London.

- Gezgin S., Dursun N., Hamurcu M., Harmankaya M., Önder M., Sade B., Topal A., Çiftçi N., Acar B. and M. Babaoglu, (2002).** Determination of Boron contents of soils in Central-Anatolia Cultivated Lands and its relationship, between soil and water characteristics. In: Boron in Plant and Animal Nutrition. 1st ed.(Ed: H. E. Goldbah). Kluwer Academic Pub. New York. pp: 391-400.
- Gill KS, Gill BS, Endo R, Boyko EV (1996).** Identification and high-density mapping of gene-rich regions in chromosome group 5 of wheat. *Genetics* 143 : 1001–1012
- Golkari S., Jeannie Gilbert, Suvira Prashar and J. Douglas Procunier, (2007).** Microarray analysis of *Fusarium graminearum* –induced wheat genes: identification of organ-specific and differentially expressed genes.*Plant Biotechnology Journal* 5, pp. 38–49.
- Gonzalez-Hernandez. J.L., E.M. Elias and S.F. Kianian, (2004).** Mapping genes for grain protein concentration and grain yield on chromosome 5B of *Triticum turgidum* (L.) var. *dicoccoides*. *Euphytica* 139: 217–225.
- Gupta, P. K.; H. S. Balyan; M. Prasad; R. K. Varshney; J. K. Roy; H. Singh and H. S. Dhaliwal.(1999a).** Molecular markers for some quality traits in wheat. In: *Proceedings of National Symposium on Frontiers of Research in Plant Sciences*. pp. 14, Dec 2-4, 1999, Calcutta, India.
- He G.Y., L. Rooke, S. Steele, F. Bekes, P. Gras, A.S. Tatham, R. Fido, P. Barcelo, P.R. Shewry and P.A. Lazzeri, (1999).** Transformation of pasta wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) with high-molecular-weight glutenin subunit genes and modification of dough functionality. *Molecular Breeding* 5: 377–386.
- Hohmann U, Endo TR, Gill KS, Gill BS (1994).** Comparison of genetic and physical maps of group-7 chromosomes from *Triticum aestivum* L.. *Mol Gen Genet* 245 : 644–653
- Hoisington D., Khairallah M., Reeves T., Ribaut J.M., Skovmand B., Taba S., Warburton M., (1999).** Plant genetic resources: what can they contribute toward increased crop productivity? *Proc Natl Acad Sci USA* 96:5937–5943.
- Hsiao T . C., (1973).** Plant responses to water stress . *Ann . Rev . Plant Physiol .* 24: 519-570.
- Huang X. Q. , A. Börner M., S. Röder, M. W. Ganal, (2002).** Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum*L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 105:699–707.

- Huang, X. Q.; M. S. Röder; E. Pestsova; A. Börner and M. W. Ganal. (2001).** Development and use of wheat microsatellite markers for the characterization of germplasm of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). In: *Plant and Animal Genome IXth Conference*, Abstract P260, January 13-17, 2001, San Diego, California, USA.
- Jamjod S., (1996).** Genetics of boron tolerance in durum wheat. Ph. D. Thesis, The University of Adelaide, South Australia. *Soil* 198: 111-115.
- Jaradat A.A.,(1991).** Levels of phenotypic variation for developmental traits in landrace genotypes of durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *Turgidum* L. conv. *durum* (Desf.) MK.) from Jordan. *Euphytica* 51: 265-271.
- Jarvis P, Lister C, Szabo V, Dean C (1994).** Integration of CAPS markers into the RFLP map generated using recombinant inbred lines of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol. Biol.* 24:685–687
- Jia J, Devos KM, Chao S, Miller TE, Reader SM, Gale MD (1996).**RFLP-based maps of homeoeologous group-6 chromosomes of wheat and their applications in the tagging of *Pm12*, a mildew resistance gene transferred from *Aegilops speltoides* to wheat. *Theor Appl Genet* 92 : 559–565
- Jiang J., Gill B.S., (1994).** Different species-specific chromosome translocations in *Triticum timopheevii* and *Triticum turgidum* support the diphyletic origin of polyploid wheats. *Chromo Research* 2: 59-64.
- Jones, C. J.; K. J. Edwards; S. Castaglione; M. O. Winfield; F. Sala; C. VandeWiel; G. Bredemeijer; B. Vosman; M. Matthes; A. Daly; R. Brettschneider; P. Bettini; M. Buiatti; E. Maestri; A. Malcevski; N. Marmioli; R. Aert; G. Volckaert; J. Rueda; R. Linacero; A. Vazquez and A. Karp. (1997).** Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Mol. Breed.* 3: 381-390.
- Jones, D. A.; C. M. Thomas; K. E. Hammond-Kosack; P. J. Balint-Kurtti and J. D. G. Jones. (1994).** Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science* 266: 789-793.
- Joppa, L. R., Du, C., Hart, G. E. and Hareland, G. A., (1997).** Mapping a QTL for tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.) using a population of chromosome lines. *Crop Sci.* 37, 1586-1589.
- Joppa, L.R. & R.G. Cantrell, 1990.** Chromosomal location of genes for grain protein content of wild tetraploid wheat. *Crop Sci* 30:1059–1064.

- Joppa, L.R., (1988).** Cytogenetics of tetraploid wheat, p. 197-202. In: T.E. Miller & R.M.D. Koebner (Eds). Proc. 7th Int. Wheat Genet. Symp., Cambridge, U.K.
- Joshi, A.B., (1979).** Breeding methodology for autogamous crops. *Indian J Genet* 39: 567-578.
- Keren R. and Bingham F.T., (1985).** Boron in water, soils and plants. *Adv. Soil Sci.* 1: 230-276.
- Khlestkina E. K , M. S. Ro der, T. T. Efremova, A. Bo rner and V. K. Shumny, (2004).** The genetic diversity of old and modern Siberian varieties of common spring wheat as determined by microsatellite markers. *Plant Breeding* 123, 122-127.
- Kihara H., (1924).** Cytologische und genetische Studein bei wichtigen Getreidearten mit besonderer Rucksicht auf das Verhalten der Chromosomen und die Sterilitat in den Bastarden. Mem Coll Sci, Kyoto Imp Univ, 1B 1-200.
- Kingsbury R.W. and Epstein E., (1984).** Selection for salt-resistant spring wheat. *Crop Sci.* 24: 310–315.
- Knott, D.R ., (1983) .** The inheritance of resistance to stem rust races 15B-1 and 56 in 'French Peace' wheat . *Can . J . Genet . Cytol .* 25 : 283-285 .
- Knott, D.R ., (1984) .** The Inheritance of resistance to race 56 of stem rust in 'Marquillo' wheat . *Can . J . Genet . Cytol .* 26 :174-176 .
- Koebner RMD, Powell W, Donini P, (2001).** The contribution of current and forthcoming DNA molecular marker technologies to wheat and barley genetics and breeding. In: Janick J (ed) *Plant breeding reviews*. John Wiley and Sons, Volume 21, pp 181–220
- Kovacs M.I.P., Howes N.K., Leslie D. and Zawistowski J., (1995).** Effect of two low molecular weight glutenin subunits on durum wheat pasta quality parameters. *Cereal Chem.* 72: 85–87.
- Kovacs M.I.P., Howes N.K., Leslie D. and Skerritt J., (1993).** The effect of high M glutenin subunit composition on the result from tests used to predict durum wheat quality. *J. Cereal Sci.* 18: 43–51.
- Kudryavtsev A. M. , S. P. Martynov, M. Broggio , and M. Buiatti, (2004).** Evaluation of Polymorphism at Microsatellite Loci of Spring Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Varieties and the Use of SSR-Based Analysis in Phylogenetic Studies. *Russian Journal of Genetics*, Vol. 40, No. 10, 2004, pp. 1102–1110. *Translated from Genetika*, Vol. 40, No. 10, 2004, pp. 1343–1351.

- Kudryavtsev A. M., S. P. Martynov, M. Broggio, and V. A. Pukhalskiy, (2003).** Relevance of RAPD Analysis for Revealing Phylogenetic Relationships between Cultivars of Durum Wheat *Triticum durum* Desf. *Russian Journal of Genetics*, Vol. 39, No. 9, 2003, pp. 1043–1051. *Translated from Genetika*, Vol. 39, No. 9, 2003, pp. 1237–1246.
- Larson R.A., (1988).** The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27:967-978.
- Le Buanec B., (1999).** Plant breeding, biodiversity and yield stability. In: ISTA Secretariat (ed) Proc 1999 World Seed Conference. Agrobios, India, pp 99–114.
- Leopold, A. C., (1990).** Coping with desiccation. In: Stress response in plants: adaptation and acclimation mechanisms. pp. 37–56. Alscher, R. G. and J. R. Cumming (Eds). New York:Wiley-Liss.
- Li W., D.-F. Zhang, Y.-M. Wei, Z.-H. Yan, and Y.-L. Zheng, (2006).** Genetic Diversity of *Triticum turgidum* L. Based on Microsatellite Markers. *Russian Journal of Genetics*, 2006, Vol. 42, No. 3, pp. 311–316.
- Liebler D.C., Kling D. S., Reedd.J., (1986).** Antioxidant protection of phospholipid bilayers by α -tocopherol. Control of α -tocopherol status and lipid peroxidation by ascorbic acid and glutathione. *J. Biol. Chem* 261:12114-12119.
- Liu YG, Tsunewaki K (1991)** Restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in wheat. II. Linkage maps of the RFLP sites in common wheat. *Jpn J Genet* 66 : 617–633
- Liu-Stratton, Y., S. Roy, and C.K. Sen., (2004).** DNA microarray technology in nutraceutical and food safety. *Toxicol Lett.* **150**: 29-42.
- Maccaferri M. , M. C. Sanguineti , P. Donini ,R. Tuberosa, (2006).** Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. *Theor Appl Genet* 107:783–797.
- Maccaferri M., Sanguineti M.C., Donini P., Porceddu E. And Tuberosa R., (2004).** A retrospective analysis of genetic diversity in durum wheat elite germplasm based on microsatellite analysis: a case of study. In: Royo C., Nachit M.N., Di Fonzo N., Araus J.L., Pfeifer W.H. and Slafer G.A. (eds), *Durum Wheat Breeding: Current Approaches and Future Strategies*. Ed. Haworth Press. New York. Available at <http://www.Haworthpress.Com/store/product.asp?sku=5290>.
- Maccaferri M., Sanguineti M.C., Donini P., Tuberosa R., (2003).** Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. *Theor Appl Genet* 107: 783-797.

- Mahalakshmi V., Yau S.K. , Ryan J, and Peacock J.M., (1995).** Boron toxicity in barley (*Hordeum vulgare*L) seedlings in relation to soil temperature. *Plant Soil* 177: 151-156.
- Mantzavinou A.,Bebeli P.J.,Kaltsikes P.J., (2005).**Estimating genetic diversity in Greek durum wheat landraces with RAPD markers.*Australian Journal of Agricultural Research* 56,1355-1364.
- Marino CL, Nelson JC, Lu YH, Sorrells ME, Leroy P, Tuleen NA,Lopes CR, Hart GE (1996)** Molecular genetic maps of the group-6 chromosomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em.Thell.) *Genome* 39 : 359–366
- Markert C. L. and F. Moller. (1959).** Chemical and biochemical techniques for varietal identification.*Seed Sci. Technol.* 1: 181-199.
- Martin, G.; J. G. K. Williams and S. D. Tanksley. (1991).** Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and nearly isogenic lines.*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 2336-2340.
- Martynov S. P.,T. V. Dobrotvorskaya and V. A. Pukhalskiy, (2005).** Analysis of Genetic Diversity of Spring Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Cultivars Released in Russia in 1929–2004. *Russian Journal of Genetics*, Vol. 41, No. 10, 2005, pp. 1113–1122. *Translated from Genetika*, Vol. 41, No. 10, 2005, pp. 1358–1368.
- Matsuo R.R. and Dexter J. E., (1980).**Relationship between some durum wheat physical characteristics and semolina milling properties. *Can. J. Plant Sci.*60:49-53.
- Matsuo, R.R., J.E. Dexter, F.G. Kosmolak and D. Leslie, (1982).** Statistical evaluation of tests for assessing spaghetti-making quality of durum wheat. *Cereal Chem* 59: 222–228.
- Matsuo, R.R., J.W. Bradley and G.N. Irvine, (1972).** Effect of protein content on the cooking quality of spaghetti. *Cereal Chem* 49:707–711.
- Matters G.L.,Scandalios J.G., (1986).**Effect of the free radical generating herbicide paraquat on the expression of superoxide dismutase (SOD) genes of maize. *Biochem. biophys. Acta* 882:29-38.
- McIntosh, R.A., Hart, G.E., Devos, K.M., Gale, M.D. and Rogers, W.J. (1998).** Catalogue of gene symbols for wheat. In: *Proc. IX Int. Wheat Genetics Symposium*, Vol. V, Saskatoon, Saskatchewan, 1998.University Extension Press, Saskatoon, pp. 267-269.

- Medini Maher , Sonia Hamza, Ahmed Rebai and Michael Baum, (2005).** Analysis of genetic diversity in Tunisian durum wheat cultivars and related wild species by SSR and AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 21–31.
- Michelmore, R. W.; I. Paran and R. V. Kesseli. (1991).** Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Nat Acad Sci* 88: 9828-9832.
- Mickelson-Young L, Endo TR, Gill BS (1995)** .A cytogenetic ladder map of the wheat homoeologous group-4 chromosomes. *Theor Appl Genet* 90 : 1007–1011
- Miklos, G. L. G. and G. M. Rubin., (1996).** The role of the genome project in determining gene function: Insights from model organisms. *Cell* 86: 521-529.
- Mindrinis, M.; F. Katagari; G. L. Yu and F. M. Ausubel. (1994).** The *A. thaliana* disease resistance gene RPS2 encodes a protein containing a nucleotide-binding site and leucine-rich repeats. *Cell* 78: 1089-1099.
- Moore, G.; S. Abbo; W. Cheung; T. Foote; M. Gale; R. Koebner; A. Leitch; I. Leitch; T. Money; P. Stancombe; M. Yano and R. Flavell., (1993).** Key features of cereal genome organization as revealed by the use of cytosine methylation-sensitive restriction endonucleases. *Genomics* 15:472-482.
- Moragues M., Jorge Zarco-Hernández, Ma Angeles Moralejo and Conxita Royo , (2006).** Genetic diversity of glutenin protein subunits composition in durum wheat landraces [*Triticum turgidum* ssp. *turgidum* convar. *durum* (Desf.) MacKey] from the Mediterranean basin. *Genetic Resources and Crop Evolution* , 53: 993–1002.
- Morris R., Sears E.R., (1967).** The cytogenetics of wheat and its relatives. In: Quisenberry KS, Reitz LP (eds) *Wheat and wheat improvement. American society of Agronomy monograph*, Madison, WI. pp 18-97.
- Nable R.O., (1988).** Resistance to boron toxicity among several barley and wheat cultivars: a preliminary examination of the resistance mechanism. *Plant Soil* 112: 45-57.
- Nable R.O., Banuelos G. S. and Paull G. J. (1997).** Boron Toxicity. *Plant Soil* 198: 111-115.
- Nachit M., Picard E., Monneveux P., Labhili M., Baum M., Rivoal R., (1998).** An international durum wheat improvement programme for the Mediterranean basin. *Cahiers-Agric* 7:510–515.

- Nachit, M. M. , (1992).** Durum wheat breeding for Mediterranean dryland of North Africa and WestAsia. In: Durum Wheats: “Challenges and Opportunities”. pp 14 –27. Rajram, S.; E. E. Saari and G. P. Hetel. (Eds). *CIMMYT*, Ciudad Obregon, Mexico.
- Narusaka, Y., Narusaka, M., Seki, M., Ishida, J., Nakashima, M., Kamiya, A., Enju, A., Sakurai, T., Satoh, M., Kobayashi, M., Tosa, Y., Park, P. and Shinozaki, K., (2003).** The cDNA microarray analysis using an *Arabidopsis* pad3 mutant reveals the expression profiles and classification of genes induced by *Alternaria brassicicola* attack.*Plant Cell Physiol.* 44, 377–387.
- Negassa, N., (1986).** Estimates of phenotypic diversity and breeding potential of Ethiopian wheats. *Hereditas* 104: 41-48.
- Negassa, N., (1986).** Estimates of phenotypic diversity and breeding potential of Ethiopian wheats. *Hereditas* 104: 41-48.
- Nei M, Li WH, (1979).**Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 76,5269-5273.
- Nelson JC, Sorrells ME, Van Deynze AE, Lu YH, Atkinson MB, Bernard M, Leroy P, Faris JD, Anderson JA (1995 c)** Molecular mapping of wheat: major genes and rearrangements in homeoeologous groups 4, 5 and 7. *Genetics* 141 : 721–731
- Nelson JC, Van Deynze AE, Autrique E, Sorrells ME, Lu YH, Merlino M, Atkinson M, Leroy P (1995 a).** Molecular mapping of wheat. Homoeologous group 2. *Genome* 38 : 516–524
- Nelson JC, Van Deynze AE, Autrique E, Sorrells ME, Lu YH, Negre S, Bernard M, Leroy P (1995 b)** Molecular mapping of wheat.Homoeologous group 3. *Genome* 38 : 525–533
- Noori S.A. Sadat and McNeilly T., (2000).** Assessment of variability in salt tolerance based on seedling growth in *Triticum durum* Desf. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47: 285–291.
- Norlyn, J.D. and Epstein E., (1984).** Variability in salt tolerance of four *Triticale* lines at germination and emergence. *Crop Sci.* 24:1090–1092.
- Olmos S. , A. Distelfeld, O. Chicaiza, A. R. Schlatter, T. Fahima, V. Echenique, J. Dubcovsky, 2003).** Precise mapping of a locus affecting grain protein content in durum wheat. *Theor. Appl. Genet.* 107:1243–1251.

- Pasqualone A., Lotti C. and Blanco A., (1999).** Identification of durum wheat cultivars and monovarietal semolinas by analysis of NA microsatellites. *Eur Food Res Technol.* 210: 144-147.
- Paterson, A. H.; S. Damon; J. D. Hewitt; D. Zamir; H. D. Rabinowitch; S. E. Lincoln; E. S. Lander and S. Tanksley. (1991).** Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: Comparison across species, generations, and environments. *Genetics* 127: 181-197.
- Pathak, N.N., & D.P. Nema, (1985).** Genetic advance in landraces of wheat. *Indian J. Agric. Sci.* 55: 478--479.
- Paul J.G., Rathjen A.J. and Cartwright B., (1988).** Genetic control of tolerance to high concentrations of soil boron in wheat. In Proc. 7th Int. *Wheat Genetics Symposium*, Cambridge. Eds. T.E. Millerand R.M.D. Koebner, pp 871-877.
- Payne P.I. and Lawrence G.J., (1983).** Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun.* 11: 29–35. Turkey. *Plant Breed.* 114: 406–412.
- Payne, P.I., Jackson, E.A. and Holt, L.M., (1984).** The association between gamma-gliadin 45 and gluten strength in durum wheat varieties. A direct causal effect or the result of genetic linkage?. *J. Cereal Sci.*, 2: 73-81.
- PECAD, Commodity Intelligence Report 2005-2006**
- Pecetti L., Doust M.A., Calcagno L., Raciti C.N. and Borggini G., (2001).** Variation of morphological and agronomical traits, and protein composition in durum wheat germplasm from eastern Europe. *Gen. Resour. Crop Evol.* 48: 608–620.
- Pecetti L., M.A. Doust, L. Calcagno, C.N. Raciti and G. Boggini, (2001).** Variation of morphological and agronomical traits, and protein composition in durum wheat germplasm from eastern Europe. *Genetic Resources and Crop Evolution* 48: 609–620.
- Pecetti L., Annicchiarico P., (1998).** Agronomic value and plant type of Italian durum wheat cultivars from different eras of breeding. *Euphytica* 99:9–15.
- Pecetti L., Boggini G. and Gorham J., (1994).** Performance of durum wheat landraces in a Mediterranean environment (eastern Sicily). *Euphytica* 80: 191–199.
- Pecetti L., Boggini G., Doust M.A. and Annicchiarico P., (1996).** Performance of durum wheat landraces from Jordan and Morocco in two Mediterranean environments (northern Syria and Sicily). *J. Genet. & Breed.* 50: 41–46.

- Pecetti, L., Annicchiarico P. and Gorham J., (1995).** Field heterogeneity of the stress affects genotypic response to salinity in durum wheat. *Cereal Res. Commun.* 23: 173–177.
- Penner, G. A.; A. Bush; R. Wise; W. Kim; L. Domier; K. Kasha; A. Laroche; G. Scoles; S. J. Molnar and G. Fedak. (1993).** Reproducibility of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis among laboratories. *PCR Methods Appl* 2: 341-345.
- Percival J., (1974).** The wheat plant: A Monograph-Redwood Burn Ltd., London.
- Perrino P. and Hammer K., (1983).** Sicilian wheat varieties. *Kulturpflanze* 31: 227–279.
- Pestsova, E.; M. W. Ganal and M. S. Röder. (2000).** Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43: 689-697.
- Pfeiffer W.H., Sayre K.D. and Reynolds M.P.** Enhancing genetic grain yield potential and yield stability in durum wheat. Wheat Program, International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Apdo. Postal 6-641, 06600 Mexico, D.F., Mexico. *Options-Mediterraneennes* .
- Pfeiffer W.H., Sayre K.D., Reynolds M.P., (2000).** Enhancing genetic grain yield potential and yield stability in durum wheat. In: Royo C, Di Fonzo N, Nachit MM, Araus JL (eds) Durum wheat improvement in the Mediterranean region: new challenges. Proc Sem Zaragoza, Spain, 12–14 April, 2000. *Options Mediterraneennes* 40:83–94.
- Phillips RL, Vasil IK (1994).** DNA-based markers in plants. Kluwer Academic Publishers, *The Netherlands*, pp 733–740
- Plaschke J, Ganal MW, Roder MS, (1995).** Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 91: 1001–1010.
- Plaschke, J.; M. W. Ganal and M. S. Röder. (1995).** Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 91: 1001-1007.
- Poiarkova, H., & A. Blum, (1983).** Landraces of wheat from the northern Negev. *Euphytica* 32: 257-271.
- Poiarkova, H., and A. Blum, (1983).** Landraces of wheat from the northern Negev. *Euphytica* 32: 257-271.

- Porceddu E., (1987).** Evoluzione varietale e problemi attuali del miglioramento genetico dei cereali vernini. *Riv. di Agron.* 21:33–54.
- Prasad M., R.K. Varshney, J.K. Roy, H.S. Balyan, P.K. Gupta, (2000).** The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theor Appl Genet* . 100:584–592.
- Prasad, M.; R. K. Varshney; J. K. Roy; H. S. Balyan and P. K. Gupta. (2000).** The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100: 584-592.
- Qualset C.O., McGuire H .E. Vogt and M .A. Topcu, (1977)** .Ethiopia as a source of resistance to the barley yellow dwarf virus in tetraploid wheat . *Crop Sci* . 17 : 527-529 .
- Qualset C.O., Williams J .C ., Topcu M.A. and Vogt H .E ., (1973)** .The barley yellow dwarf virus in wheat : importance, sources of resistance, and heritability. Proc. 4th Internal. *Wheat Genet Symp* ., Columbia, Missouri, USA . pages:465-469 .
- Quarrie S. A ., Dodig D ., Pekiç S 3, Kirby J., Kobiljski B., (2003).** Prospects for marker-assisted selection of improved drought responses in wheat. *Bulg. J. Plant Pphysiology L.*, Special Issue, 83–95.
- Reddy MP, SarlaN, Siddiq EA (2002).** Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9–17
- Ribaut, J. M.; D. A. Hoisington; J. A. Deutsch; C. Jiang and D. GonzalezdeLeon. (1996).**Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. I. flowering parameters and the anthesis-silking interval. *Theor. Appl. Genet.* 92: 905-914.
- Riley R., Unrau J., Chapman V., (1958).** Evidence on the origin of the B genome of wheat. *J. Hered.* 49: 91-98.
- Röder, M. S.; V. Korzun; K. Wendehake; J. Plaschke; M. H. Tixer; P. Leroy and M. W. Ganal. (1998).**A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007-2023.
- Rosegrant M.W., Sambilla M.A., Gerpacio R,V,, Ringler C., (1997).** Illinois World Food and Sustainable Agriculture Program Conference. Urbana-Champaign, Illinois, USA.
- Roy, S., S. Khanna, K. Bentley, P. Beffrey, and C.K. Sen. (2002).** Functional genomics: high-density oligonucleotide arrays.*Methods Enzymol.* **353**: 487-497.

- Royo C., Di Fonzo N., Nachit M.M., Araus J.L.,(2000).** Durum wheat improvement in the Mediterranean region: new challenges. Proceedings of a Seminar, Zaragoza, Spain, 12–14 April, 2000. *Options-Mediterraneennes* 40.
- Royo C.,N. Aparicio,R. Blanco and D. Villegas., (2004).**Leaf and green area development of durum wheat genotypes grown under Mediterranean conditions. *Europ. J. Agronomie.*20:419-430.
- Russell, J. R.; J. D. Fuller; M. Macaulay; B. G. Hatz; A. Jahoor; W. Powell and R. Waugh. (1997).**Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs,AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor. Appl. Genet.* 95: 714-722.
- Saghai-Maroo MA, Soliman KM,Jorgensen RA,Allard RW ,(1984).** Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 81,8014-8018.
- Saini D.P. and Gautam P.L., (1990).** Notes on G x E analysis in segregating populations of durum wheat. *Indian J Genet* 50: 199-201.
- Sairam R.K.,Chandrasekhar V. and Srivastava G.C., (2001).** Comparison of hexaploid and teraploid wheat cultivars and their responses to water stress. *Biologia Plantarum* 44 (1):89-94.
- Sakamura T., (1918).** Kurze Mitteilund uber die chromosomenzahlen und die Verwandtschaftsverhaltnise der *Triticum*- Arten. *Bot Mag Tokyo* 32:150-153.
- Sawahel W., (2004).** Egyptian scientists produce drought-tolerant GM wheat. Science and Development Network.
- Schena, M., D. Shalon, R.W. Davis, and P.O. Brown. (1995).**Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270: 467-470.
- Sears, E.R., (1973).** *Agropyron-wheat* transfers obtained by homoeologous pairing, p. 191-199. In: E.R. Sears & L.M.S. Sears (Eds).Proc. 4th Int. *Wheat Genet. Syrup.* Columbia, Missouri.
- Sears, E.R., (1978).** Analysis of *wheat-Agropyron* recombinant chromosomes. Proc. 8th EUCARPIA *Congress on Interspecific Hybridization in Plant Breeding*, Madrid, Spain, 1977: 63-72.
- Seropian C. and Planchon C., (1984).**Physiological resronses of six bread wheat and durum wheat genotypes to water stress. *Euphytica* 33: 757-767.

- Shalon, D., S.J. Smith, and P.O. Brown. (1996).** A DNA microarray system for analyzing complex DNA samples using two-color fluorescent probe hybridization. *Genome Res.* 6:639-645.
- Shim, K.S., Cho, S.K., Jeung, J.U., Jung, K.W., You, M.K., Ok, S.H., Chung, Y.S., Kang, K.H., Hwang, H.G., Choi, H.C., Moon, H.P. and Shin, J.S., (2004).** Identification of fungal (*Magnaporthe grisea*) stress-induced genes in wild rice (*Oryza minuta*). *Plant Cell Rep.* 22, 599–607.
- Simmonds N.W., (1995).** The relation between yield and protein in cereal grain. *J. Sci. Food Agric.* 67:309–315.
- Singh R. P., Huerta-Espino J, Pfeiffer W., Figueroa-Lopez P., (2004).** The rapid spread of rust in the region made it necessary to use chemical control. Occurrence and impact of a new leaf rust race on durum wheat in northwestern Mexico from 2001 to 2003. *Plant Dis.* 88:703-708.
- Smale M., Reynolds M.P., Warburton M., Skovmand B., Trethowan R., Singh R.P., Ortiz-Monasterio I., Crossa J., Khairallah M., Almanza M., (2001)** Dimensions of diversity in CIMMYT bread wheat from 1965 to 2000. Mexico, D.F., *CIMMYT*.
- Sneath PHA, Sokal RR, (1973)** .Numerical taxonomy.(WH Freeman and Company:San Francisco, CA).
- Soleimani VD, Soleimani BR, Baum DA, Johnson ,(2002).** AFLP and pedigree-based genetic diversity estimates in modern cultivars of durum wheat [*Triticum turgidum* L. subsp. Durum (Desf.) Husn.]. *Theor Appl Genet* 104:350–357
- Sorrells M.E., Nachit M.M., Barbosa-Neto J.F., Autrique E. and Ketata H., (1993).** Relationships among 81 Durum Genotypes based on RFLPs, Gliadins, Parentage, and Quality Traits. *Seminar on durum quality in the Mediterranean region.*
- Sun Q., Zhongfu Ni, Zhiyong Liu, Jianwei Gao & Tiecheng Huang, (1998).** Genetic relationships and diversity among Tibetan wheat, common wheat and European spelt wheat revealed by RAPD markers. *Euphytica* 99: 205–211.
- Sunidhi E. and Rhandal I.S., (1992).** Physiology of salt tolerance durum wheat. *Ind. J. Ecol.* 19: 168–167.
- Talbert, L. E.; L. Y. Smith and N. K. Blake, (1998).** More than one origin of hexaploid wheat is indicated by sequence comparison of low-copy DNA. *Genome* 41: 402-407.

- Tesemma T. and E.Bechere, (1998).** Developing elite durum wheat landraces selections (composites) for Ethiopian peasant farm use: Raising productivity while keeping diversity alive. *Euphytica* 102:323-328.
- Torun A. A, Yazici A. A., Erdem H., Cacak I., (2006).** Genotypic Variation in Tolerance to Boron Toxicity in 70 Durum Wheat Genotypes. *Turk J Agric For* 30: 49-58.
- Tzy-Li CHEN, SANJAYA, Venkatesh PRASAD, Ching-Hua LEE, Kuang-Hung LIN, Lih-Ching CHIUEH, and Ming-Tsair CHAN, 2006.** Validation of cDNA microarray as a prototype for throughput detection of GMOs. *Botanical Studies* 47: 1-11.
- USDA, Commodity Intelligence Report 2005-2006**
- Vallega J. and Zitelli G., (1975).** New high yielding Italian durum wheat varieties. In: Scarascia Mugnozza G.T (ed.), *Genetics and Breeding of Durum Wheat*. University of Bari, Bari, Italy, pp. 373–399.
- Van Deynze AE, Dubcovsky J, Gill KS, Nelson JC, Sorrells ME et al. (1995)** Molecular genetic maps for chromosome 1 in *Triticeae* species and their relation to chromosomes in rice and oats. *Genome* 38 : 47–59
- Verma S.R., Yunus M. and Sethi S.K., (1998).** Breeding for yield and quality in durum wheat. *Euphytica* 100: 15–18.
- Virk PS, Ford-Lloyd BV, Jackson TM, Newbury HJ , (1995).** Use of RAPD for the study of diversity within plant germplasm collections. *Heredity* 74: 170–179
- Waines J.G., Barnhart D., (1992).** Biosystematic research in *Aegilops* and *Triticum*. *Hereditas*. 116:207-212.
- Wasik, R.J.A.W.B., (1975).** Relation between molecular-weight distribution of endosperm proteins and spaghetti-making quality of wheats. *Cereal Chem* 52: 322–328.
- Watanabe, K., M. Tsuchiya & T. Ogo, (1992).** Growth responses of *Triticum* spp. and its allied plants to NaCl concentration in culture medium. *Jpn. J. Crop Sci.* 61: 518–526.
- Wehrhahn, C. and Allard, R., (1965).** The detection of measurement of the effects of individual genes involved in the inheritance of a quantitative character in wheat. *Genetics*, 51: 109-119.
- Weltzin E., (1984).** Resistance of durum wheat genotypes to saline drought field conditions. *RACHIS* 3: 34–36.

- Whitham, S.; S. P. Dinesh-Kumar; D. Choi; R. Hehl; C. Corr and B. Baker. (1994).** The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: similarity to Toll and interleukine-1 receptor. *Cell* 78:1101-1115.
- Whitkus R, Doebley J, Wendel JF (1994).** Nuclear DNA markers in systematics and evolution. In: Phillips RL, Vasil IK (eds) DNAbased markers in plants. Kluwer Academic Publishers, *The Netherlands*, pp 116–141
- Yau S.K., Nachit M.M., Ryan J. and Hamblin. J. ,(1995).** Phenotypic variation in boron toxicity tolerance at seedling stage in durum wheat (*Triticum durum*). *Euphytica* 83: 185-191.
- Yilmaz, B. & M. Tahir, (1988).** Genetic diversity in Ahlat wheats.In: T.E. Miller & R.M.D. Koebner (Eds): *Seventh International Wheat Genet. Symp.* Vol. 1: 181-184.
- Yilmaz, B. & M. Tahir, (1988).** Genetic diversity in Ahlat wheats.In: T.E. Miller & R.M.D. Koebner (Eds): *Seventh International Wheat Genet. Symp.* Vol. 1: 181-184.
- Zhang J.,Kirkham M.B., (1994).** Drought stress induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in wheat species.*Plant cell Physiology* 35: 785-791
- Zhang P. , S. Dreisigacker, A. Buerkert, S. Alkhanjari, A.E. Melchinger and M.L. Warburton, (2006).** Genetic diversity and relationships of wheat landraces from Oman investigated with SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 1351–1360.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αγοραστός Α.Γ., (2002).** Μελέτη παραλλακτικότητας και βελτίωση δύο τοπικών πληθυσμών και δύο ποικιλιών σκληρού σιταριού. Διδακτορική διατριβή.
- Βολιώτης Δ.Ν., (2004).** Επιλογή σε δύο πληθυσμούς σκληρού σιταριού με αξιολόγηση F₂ οικογενειών και F₂ ατομικών φυτών. Μεταπτυχιακή διατριβή.
- Γαλανοπούλου-Σενδουκά, Σ., (2002).** Ειδική Γεωργία Ι. Πανεπιστημιακές Παραδόσεις. Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Βόλος.
- Γανόπουλος Ι., (2005).**Ανασκόπηση μεθόδων δημιουργίας γενετικών χαρτών στο βαμβάκι (*Gossypium spp.*) και εφαρμογή μοριακής γενετικής ανάλυσης με χρήση δεικτών τύπου RAPDs. Πτυχιακή διατριβή.

Γεωργία Κτηνοτροφία (2005). Αφιέρωμα στα Χειμερινά Σιτηρά, Τεύχος 10/Δεκέμβριος 2005.

Γεωργική Τεχνολογία (2003).Ειδική έκδοση, Τεύχος 2

Ε.Θ.Ι.ΑΓ.Ε.-Ι.Σ., (1991). Οι Ελληνικές ποικιλίες σιτηρών και η καλλιέργειά τους. Υπουργείο Γεωργίας και Ε.Θ.Ι.Α.Γ.Ε. -Ινστιτούτο Σιτηρών. Αθήνα.

Καλτσίκης, Π., (1992). Ειδική Βελτίωση Φυτών. Εκδόσεις Σταμούλη. Πειραιάς

Λιακοπούλου Π.,(2004).Σιμιγδαλοποιητική συμπεριφορά ποικιλιών σκληρού σίτου και παράγοντες που την επηρεάζουν. Πρακτικά 10^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Ελληνικής Επιστημονικής Εταιρίας Γενετικής Βελτίωσης Φυτών. Αθήνα.

Στρατηλάκης Σ., (1998).Παραγωγική συμπεριφορά σε συνθήκες καταπονήσεως πειραματικών ποικιλιών σιταριού που δημιουργήθηκαν ακολουθώντας διαφορετική βελτιωτική μεθοδολογία και συνθήκες επιλογής (*Triticum aestivum* L. em Thell) Διδακτορική Διατριβή. Βόλος 1998.

Φανουράκης Ν., (2002). Γενετική βελτίωση φυτών. Βασικές αρχές

Χρηστίδης Γ.Β., (1963). Χειμωνιάτικα σιτηρά. Θεσ/νίκη.

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ

<http://www.gramene.org>

<http://www.fao.org>

<http://www.usda.org>

<http://www.cimmyt.org>

<http://www.museums.org.za>

<http://www.farm-direct.co.uk/farming/stockcrop/wheat>

sundoc.bibliothek.uni-halle.de/diss-online/04/04H184/t2.pdf

www.chembio.uoguelph.ca/tam/Co-op_Files/Sample%2003_Type%20II.pdf

www.mednet.gr/hsap/ap12301g.htm

www.ums.edu.my/ipb/note/SB3113_lecture_4&5_2006.pdf

<http://www.fas.usda.gov/pecad/highlights/2005/10/durum-27> oct

[2005/regionalmaps.htm](http://www.fas.usda.gov/pecad/highlights/2005/10/durum-27)

[http://www.gramene.org/Triticum Nutrition and Recipes](http://www.gramene.org/Triticum_Nutrition_and_Recipes)

eeb.bio.utk.edu/EdSchilling/lectures/lecture9slides.pdf lecture notes

9. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Ποσότητα γλουτένης

Βελτιωμένες ελληνικές ποικιλίες

Ποικιλία	% ποσότητα σε γλουτένη
ΑΘΩΣ	31,7
ΚΑΛΛΙΘΕΑ	42
ΣΙΦΝΟΣ	31,4
ΣΕΛΑΣ	30,3
ANNA	32,3
ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ	27,9
ΑΙΑΣ	33,1
ΠΟΝΤΟΣ	29,7
ΣΚΥΡΟΣ	33,4
ΣΚΗΤΗ	25,5
ΜΕΞΙΚΑΛΙ 81	30,4
ΣΑΠΦΩ	32
ΣΑΝΤΑ	38,2
ΣΑΜΟΣ	27,1
ΣΑΡΤΗ	37,4
ΣΥΡΟΣ	33,3

ΠΑΛΙΕΣ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ ΣΙΤΗΡΩΝ

Ποικιλία	% ποσότητα σε γλουτένη
ΗΛΕΚΤΡΑ	37
ΣΥΜΗ	32,8

ΝΤΟΠΙΕΣ ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Ποικιλία	% ποσότητα σε γλουτένη
ΜΥΡΙΝΑ	33,6
ΜΑΥΡΑΓΑΝΙ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ	37,1
ΚΟΡΝΟΣ	33,1
ΛΗΜΝΟΣ	

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΙΤΑΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	% ποσότητα σε γλουτένη
SIMETO	27
APPULO	29
MERIDIANO	26

CLAUDIO	28
IRIDE	26
VESUVIO	27
RUSTICANO	26
DUILIO	28
LATINO	26
GRAZIA	26
CONCADORO	35
VITROMAX	26
VENTO	27
QUADRATO	27
SVEVO	30
PERSEO	23
IONIO	25
CAPEITI	
BRONTE	32

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΙΣΠΑΝΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	% ποσότητα σε γλουτένη
MEXA	26
YAVAROS	25
CANYON	27
ASTIGI	
ASDRUBAL	30
AMILCAR	30
CICCIO	
SAJEL	32
ARCOBALENO	20
ILLORA	29
VETRODUR	35
VITRON	24

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΓΑΛΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	% ποσότητα σε γλουτένη
COSMODUR	30
VERDI	26
ARAMON	25
TEMPRADUR	27

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΑΜΕΡΙΚΑΝΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	% ποσότητα σε γλουτένη
KRONOS	24

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΠΟΡΤΟΓΑΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	% ποσότητα σε γλουτένη
ARACENA	31

Ποσότητα σε δείκτη γλουτένης

Βελτιωμένες ελληνικές ποικιλίες

Ποικιλία	Glouten index
ΑΘΩΣ	28
ΚΑΛΛΙΘΕΑ	47
ΣΙΦΝΟΣ	69
ΣΕΛΑΣ	71
ANNA	66
ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ	98
ΑΙΑΣ	30
ΠΟΝΤΟΣ	50
ΣΚΥΡΟΣ	17
ΣΚΗΤΗ	28
ΜΕΞΙΚΑΛΙ 81	76
ΣΑΠΦΩ	28
ΣΑΝΤΑ	49
ΣΑΜΟΣ	45
ΣΑΡΤΗ	41
ΣΥΡΟΣ	27

ΠΑΛΙΕΣ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ ΣΙΤΗΡΩΝ

Ποικιλία	Glouten index
ΗΛΕΚΤΡΑ	44
ΣΥΜΗ	11

ΝΤΟΠΙΕΣ ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Ποικιλία	Glouten index
ΜΥΡΙΝΑ	68
ΜΑΥΡΑΓΑΝΙ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ	9
ΚΟΡΝΟΣ	43
ΛΗΜΝΟΣ	

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΙΤΑΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	Glouten index
SIMETO	71
APPULO	9
MERIDIANO	46
CLAUDIO	32
IRIDE	39
VESUVIO	32
RUSTICANO	44
DUILIO	35
LATINO	6
GRAZIA	48
CONCADORO	51
VITROMAX	51
VENTO	7
QUADRATO	79
SVEVO	58
PERSEO	31
IONIO	83
CAPEITI	
BRONTE	30

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΙΣΠΑΝΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	Glouten index
ΜΕΧΑ	38
ΥΑΝΑΡΟΣ	8
CANYON	25
ASTIGI	
ASDRUBAL	38
AMILCAR	20
CICCIO	
SAJEL	47
ARCOBALENO	75
ILLORA	34
VETRODUR	15
VITRON	50

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΓΑΛΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	Glouten index
COSMODUR	58
VERDI	57
ARAMON	40
TEMPRADUR	49

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΑΜΕΡΙΚΑΝΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	Glouten index
KRONOS	70

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΠΟΡΤΟΓΑΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	Glouten index
ARACENA	35

Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη

Βελτιωμένες ελληνικές ποικιλίες

Ποικιλία	% επι ξηρού (Στοιχεία από Χημικό)
ΑΘΩΣ	14,71
ΚΑΛΛΙΘΕΑ	16,74
ΣΙΦΝΟΣ	14,75
ΣΕΛΑΣ	14,57
ANNA	15,65
ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ	15,31
ΑΙΑΣ	14,88
ΠΟΝΤΟΣ	13,64
ΣΚΥΡΟΣ	15,12
ΣΚΗΤΗ	13,12
ΜΕΞΙΚΑΛΙ 81	14,07
ΣΑΠΦΩ	14,61
ΣΑΝΤΑ	15,01

ΣΑΜΟΣ	13,5
ΣΑΡΤΗ	15,76
ΣΥΡΟΣ	15,7

ΠΑΛΙΕΣ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ ΣΙΤΗΡΩΝ

Ποικιλία	% επι ξηρού
ΗΛΕΚΤΡΑ	16,76
ΣΥΜΗ	14,39

ΝΤΟΠΙΕΣ ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

Ποικιλία	% επι ξηρού
ΜΥΡΙΝΑ	15,28
ΜΑΥΡΑΓΑΝΙ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ	15,42
ΚΟΡΝΟΣ	15,04
ΛΗΜΝΟΣ	

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΙΤΑΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	% επι ξηρού
SIMETO	13,11
APPULO	12,9
MERIDIANO	12,83
CLAUDIO	13,58
IRIDE	14,76
VESUVIO	13,05
RUSTICANO	13,37
DUILIO	12,54
LATINO	12,58
GRAZIA	12,68
CONCADORO	15,51
VITROMAX	12,86
VENTO	13
QUADRATO	13,03
SVEVO	13,62
PERSEO	12,37
IONIO	13,1
CAPEITI	
BRONTE	17,16

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΙΣΠΑΝΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	% επι ξηρού
MEXA	20,96
YAVAROS	13,1
CANYON	12,3
ASTIGI	
ASDRUBAL	13,1
AMILCAR	13,82
CICCIO	
SAJEL	14,27
ARCOBALENO	13,59
ILLORA	13,95
VETRODUR	14,55
VITRON	12

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΓΑΛΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	% επι ξηρού
COSMODUR	14,58
VERDI	14,14
ARAMON	12,23
TEMPRADUR	12,81

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΑΜΕΡΙΚΑΝΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	% επι ξηρού
KRONOS	11,82

ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΠΟΡΤΟΓΑΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Ποικιλία	% επι ξηρού
ARACENA	14,31

Ομαδοποίηση ελληνικών ποικιλιών κατά DUNCAN

Ομαδοποίηση των ελληνικών ποικιλιών όσον αφορά την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνη, την ποσότητα γλουτένης και το δείκτη γλουτένης με βάση το DUNCAN TEST

α/α	Ποικιλίες	Πρωτεΐνες %	Ποσότητα γλουτένης%	Δείκτης γλουτένης
1	Άθως	14,71 gh	31,7 d	28 i
2	Αίας	14,88 f	31,1 c	65 e
3	Άννα	15,65 b	32,3 cd	66 de
4	Ηλέκτρα	16,76 a	37 b	44 gh
5	Καλλιθέα	16,74 a	42 a	47 fg
6	Κόρνος	15,04 e	33,1 c	43 gh
7	Μαυραγάκι	15,42 c	37,1 b	9 k
8	Μεξικάλι 81	14,07 k	30,4 ef	76 b
9	Μύρινα	15,28 d	33,6 c	68 cde
10	Παπαδάκης	15,31 cd	27,9 g	98 a
11	Πόντος	13,64 l	29,7 f	70 cd
12	Σάμος	13,5 m	27,1 g	45 fgh
13	Σάντα	15,01 e	38,2 b	49 f
14	Σαπφώ	14,61 hi	32 d	28 i
15	Σάρτη	15,76 b	37,4 b	41 h
16	Σέλας	14,57 i	30,3 ef	71 c
17	Σίφνος	14,75 g	31,4 de	69 cde
18	Σκήτη	13,12 n	25,5 h	28 i
19	Σκύρος	15,12 e	33,4 c	17 j
20	Σύμη	14,39 j	32,8 cd	11 k
21	Σύρος	15,71 b	33,3 c	27 i