



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΥΠΟΔΟΜΩΝ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής

Εργαστήριο Αμπελολογίας

Μελέτη
της κλωνικής σύνθεσης
της ποικιλίας
Κορινθιακή Σταφίδα
και διάκριση ορισμένων
ποικιλιών αμπέλου
(*Vitis Vinifera* L.)
με τη χρήση αμπελογραφικών
και μοριακών μεθόδων

Διδακτορική διατριβή

Μαριτίνα Ε. Σταυρακάκη
Γεωπόνος MSc.

ΑΘΗΝΑ 2014



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΥΠΟΔΟΜΩΝ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΜΠΕΛΟΛΟΓΙΑΣ

**«Μελέτη της Κλωνικής Σύνθεσης της Ποικιλίας ‘Κορινθιακή Σταφίδα’
και Διάκριση Ορισμένων Ελληνικών Ποικιλιών Αμπέλου (*Vitis vinifera*
L.) με τη Χρήση Αμπελογραφικών και Μοριακών Μεθόδων»**

Διδακτορική Διατριβή

Μαριτίνα Ε. Σταυρακάκη, Γεωπόνος MSc.

ΑΘΗΝΑ 2014

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΥΠΟΔΟΜΩΝ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΜΠΕΛΟΛΟΓΙΑΣ

**«Μελέτη της Κλωνικής Σύνθεσης της Ποικιλίας ‘Κορινθιακή Σταφίδα’ και Διάκριση
Ορισμένων Ελληνικών Ποικιλιών Αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) με τη Χρήση
Αμπελογραφικών και Μοριακών Μεθόδων»**

Διδακτορική Διατριβή

Μαριτίνα Ε. Σταυρακάκη, Γεωπόνος MSc.

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

1. Μπινιάρη Αικατερίνη, Επίκουρη Καθηγήτρια Γ.Π.Α. (Επιβλέπουσα)
2. Νικολάου Νικόλαος, Καθηγητής Α.Π.Θ. (Μέλος)
3. Χατζηδημητρίου Μαριάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια Γ.Π.Α. (Μέλος)

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Μπινιάρη Αικατερίνη, Επίκουρη Καθηγήτρια Γ.Π.Α.
2. Νικολάου Νικόλαος, Καθηγητής Α.Π.Θ.
3. Χατζηδημητρίου Μαριάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια Γ.Π.Α.
4. Βέμμος Σταύρος, Αναπληρωτής Καθηγητής Γ.Π.Α.
5. Βόντας Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης
6. Ζιώζιου Ελευθερία, Επίκουρη Καθηγήτρια Α.Π.Θ.
7. Κουνδουράς Στέφανος, Επίκουρος Καθηγητής Α.Π.Θ.

Στην οικογένειά μου



“Εάν αποσυνθέσεις την Ελλάδα, στο τέλος θα δεις να σου απομένουν μια ελιά, ένα αμπέλι κι ένα καράβι. Που σημαίνει: με άλλα τόσα την ξαναφτιάχνεις”

Οδ. Ελύτης

Παρουσιάζοντας τη διατριβή αυτή που εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Αμπελολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, επιθυμώ να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν στην ολοκλήρωσή της.

Ευχαριστώ πρωτίστως την κ. Αικ. Μπινιάρη, Επ. Καθηγήτρια στο Εργαστήριο Αμπελολογίας του Γ.Π.Α., για την επίβλεψη και επιστημονική καθοδήγηση, τη συμπαράσταση, τη βοήθεια και τις πολύτιμες υποδείξεις που μου παρείχε καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και γενικότερα για τη συνεργασία που είχαμε όλα τα χρόνια της παρουσίας μου στο Γ.Π.Α.

Ευχαριστώ θερμά επίσης τον κ. Ν. Νικολάου, Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας του Α.Π.Θ. και την κ. Μ. Χατζηδημητρίου, Επ. Καθηγήτρια του Γ.Π.Α., μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, για τις υποδείξεις και την πρόθυμη όσο και ουσιαστική βοήθειά τους, καθώς και τον κ. Σ. Βέμμο, Αναπλ. Καθηγητή του Γ.Π.Α., τον κ. Ι. Βόντα, Αναπλ. Καθηγητή του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης, την κ. Ε. Ζιώζιου, Επ. Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας του Α.Π.Θ. και τον κ. Σ. Κουνδουρά, Επ. Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας του Α.Π.Θ., για την τιμή που μου έκαναν να συμμετάσχουν ως μέλη στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή και κυρίως, για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσαν για την αξιολόγηση της διατριβής μου.

Ευχαριστώ θερμά τα μέλη του Εργαστηρίου Αμπελολογίας κ.κ. Χ. Συμινή, Κ. Ζαχαράκη, Χ. Κυρίτση και Γ. Παπαδάκη και ιδιαίτερα τη συνάδελφο κ. Δ. Μπούζα για την αμέριστη ηθική και επιστημονική συμπαράσταση, τη συνεχή βοήθεια και στήριξή της.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω επίσης στον κ. Ανδρέα Κατσιώτη, Αν. Καθηγητή του Γ.Π.Α., τους φίλους και συναδέλφους κ.κ. Κ. Μπερτσουκλή, Ν. Νικολουδάκη, Α. Δρόσου και Α. Λίνο για τις πολύτιμες συμβουλές τους σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής.

Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω τη διοίκηση και τους συναδέλφους της Σ.ΚΟ.Σ. – Α.Σ.Ε. για τη βοήθειά τους κατά τη διάρκεια των παρατηρήσεων στον πειραματικό αμπελώνα στο Κορακοχώρι Ηλείας, το προσωπικό του Ινστιτούτου Αμπέλου Λυκόβρυσης για τη συνεργασία και τη βοήθειά τους, καθώς και τους αμπελουργούς Κορινθιακής Σταφίδας που βοήθησαν ουσιαστικά κατά την επισήμανση των πρέμνων.

Ευχαριστώ τον Ομότιμο Καθηγητή κ. Μ. Σταυρακάκη, τ. Διευθυντή του Εργαστηρίου Αμπελολογίας του Γ.Π.Α., για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την καθοδήγηση, τις γνώσεις και τις πολύτιμες συμβουλές που ακούραστα μου παρείχε, τόσο επιστημονικές όσο και πατρικές, σε κάθε βήμα της προσωπικής αλλά και της επιστημονικής μου ζωής.

Τέλος, ευχαριστώ τη μητέρα μου και τον αδερφό μου αλλά και τους στενούς μου φίλους για την υπομονή τους, την κατανόηση και την ένθερμη και ουσιαστική στήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια.

Περιεχόμενα

Περίληψη	1
Abstract	3
Εισαγωγή	5
Η καλλιέργεια της αμπέλου στην Ελλάδα και τον κόσμο	5
Προέλευση της αμπέλου	8
Συστηματική της αμπέλου	12
Οικογένεια <i>Vitaceae</i>	12
Γένος <i>Vitis</i>	13
Είδος <i>Vitis vinifera</i>	16
Διάκριση – Ταξινόμηση των ποικιλιών της ευρωπαϊκής αμπέλου	19
Η Αμπελογραφική μέθοδος	20
Κώδικας Αμπελογραφικής Περιγραφής	22
Βιοχημικές μέθοδοι	24
Μοριακές μέθοδοι	25
Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction – PCR)	26
Τεχνικές βασισμένες σε PCR	28
Δείκτες βασισμένοι στην PCR με τυχαίους εκκινητές	29
Τυχαία Ενισχυμένο Πολυμορφικό DNA	
Random Amplified Polymorphic DNA (RAPDs)	29
Πολυμορφισμός Μήκους Ενισχυμένων Τμημάτων (θραυσμάτων) DNA	
Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLPs)	31
Δείκτες βασισμένοι στην PCR με εξειδικευμένες στοχευμένες αλληλουχίες	34
Μικροδορυφόροι	
Microsatellites ή SSR ή STMS ή SSRP	35
Τεχνικές μη βασισμένες σε PCR	37
Πολυμορφισμός Μήκους Περιοριστικών Τμημάτων (θραυσμάτων) DNA	
Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLPs)	37
Η Κορινθιακή Σταφίδα	41
Σκοπός της εργασίας	47
Υλικά και Μέθοδοι	49
Ποικιλίες	49
Μέθοδοι	54
Αμπελογραφική περιγραφή	54
Αμπελογραφικοί χαρακτήρες	60
Νεαρή βλάστηση	60
Κορυφή νεαρής βλάστησης	60
Νεαρά φύλλα	62
Νεαρός βλαστός	62

Αναπτυγμένο φύλλο	62
Νευρώσεις	65
Οδόντες	66
Σταφυλή	66
Ράγα	67
Κληματίδα	68
Μοριακές μέθοδοι	68
Συλλογή υλικού και απομόνωση DNA	68
Συλλογή υλικού	68
Απομόνωση DNA	69
Υπολογισμός συγκέντρωσης του DNA	70
Μοριακοί δείκτες	73
AFLP	73
α. Εκκνητές	73
β. Συνθήκες Ενίσχυσης Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμέρασης (PCR)	75
γ. Ηλεκτροφόρηση	77
RAPD	78
α. Εκκνητές	78
β. Συνθήκες Ενίσχυσης Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμέρασης (PCR)	79
γ. Ηλεκτροφόρηση	80
SSR	81
α. Εκκνητές	81
β. Συνθήκες Ενίσχυσης Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμέρασης (PCR)	82
γ. Ηλεκτροφόρηση	83
Στατιστική ανάλυση	84
<i>Συντελεστής Dist</i>	84
<i>Συντελεστής Manhattan</i>	84
<i>Συντελεστής EuclidSQ</i>	84
<i>Συντελεστής Simple Matching</i>	85
<i>Συντελεστής Jaccard</i>	85
<i>Συντελεστής Dice</i>	85
<i>Συντελεστής Mantel</i>	87
Αποτελέσματα – Συζήτηση	89
A. Αμπελογραφική Περιγραφή	89
1. Βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας	89
2. Λοιπές ποικιλίες	106
B. Μοριακές Μέθοδοι	121
1. Βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας	122
RAPD	122
Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου RAPD	123
AFLP	138
Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου AFLP	139
SSR	150

Εκκινητές και ποσοτικός προσδιορισμός των ενισχυμένων προϊόντων	150
Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου SSR	152
2. Λοιπές ποικιλίες	158
RAPD	158
Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου RAPD	159
AFLP	169
Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου AFLP	170
SSR	180
Εκκινητές και ποσοτικός προσδιορισμός των ενισχυμένων προϊόντων	180
Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου SSR	181
Γ. Σύγκριση δενδρογραμμάτων	187
Συμπεράσματα	189
Βιβλιογραφία	193
Παράρτημα I	207
Κώδικας Αμπελογραφικής Περιγραφής	207
Παράρτημα II	223
Φωτογραφίες ποικιλιών	223
Παράρτημα III	261
Φωτογραφίες ηλεκτροφορημάτων	261

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία επιχειρήθηκε η μελέτη της γενετικής ποικιλομορφίας των βιότυπων της ποικιλίας Κορινθιακή Σταφίδα που απαντούν στον ελληνικό αμπελώνα και η ταυτοποίηση και διάκριση ομάδων ελληνικών ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.), κυρίως οινοποιίας.

Επίσης, επιχειρήθηκε η μελέτη αριθμού βιότυπων της ποικιλίας Λιάτικο και ανάλογου αριθμού της ποικιλίας Κορινθιακή Σταφίδα για τη διερεύνηση της υπόθεσης της προέλευσης της δεύτερης από την πρώτη μέσω του φαινομένου της μετάλλαξης.

Από τους βιότυπους της Κορινθιακής Σταφίδας μελετήθηκαν οι πλέον αντιπροσωπευτικοί των κύριων κέντρων καλλιέργειας, όπως επισημάνθηκαν στους ελληνικούς αμπελώνες. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν τρεις βιότυποι από την Αιγιάλεια, πέντε από την Κορινθία, πέντε από την Κεφαλληνία, έξι από τη Ζάκυνθο, τρεις από την Ηλεία καθώς και βιότυποι που είναι γνωστοί ως Κορινθιακή “σχιστόφυλλη”, Κορινθιακή “μεταλλαγμένη” καθώς και τρεις βιότυποι της Κορινθιακής λευκής, που θεωρείται χρωματική μετάλλαξη της Κορινθιακής Σταφίδας. Από τις ποικιλίες οινοποιίας μελετήθηκαν η ομάδα των “ασπρουδιών” (Α. Αχαΐας, Α. Ζακύνθου, Α. Σαντορίνης, Α. Μυκηνών, Α. Σπετσών), η ομάδα ποικιλιών ανατολικής προέλευσης (Εφτάκιλλο, Λαδικινό, Καρυστινό, Συρίκι, Ξερομαχαιρούδα, Σεριφιώτικο, Σταυροχιώτικο, Ερικαράς, Αρμελετούσα, Γιουρούκι, Φωκιανό) καθώς και ορισμένες ποικιλίες όπως Βόσσος, Ατσάλα, Κοκκινόρομπόλα, Ρομπόλα, Αγριογλυκάδι, Γλυκάδα άσπρη, Γλυκερήθρα, Γλυκέρη, Πλατάκι, Πετρολιανός, Ποταμίσι άσπρο, με σκοπό αφενός τη διερεύνηση του βαθμού συγγένειας μεταξύ τους και αφετέρου την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν.

Για την περιγραφή, ταυτοποίηση και διάκριση των βιότυπων και των ποικιλιών χρησιμοποιήθηκε ο συνδυασμός της αμπελογραφίας και τριών μοριακών μεθόδων (RAPD, AFLP, SSR). Η αμπελογραφική περιγραφή βασίστηκε σε 66 αμπελογραφικούς χαρακτήρες του Κώδικα Αμπελογραφικής Περιγραφής του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (OIV) και πραγματοποιήθηκε σε τέσσερις διαδοχικές καλλιεργητικές περιόδους. Από τις μοριακές μεθόδους, χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά για τη μελέτη ελληνικών ποικιλιών αμπέλου η μέθοδος AFLP, ενώ για συγκριτικούς λόγους χρησιμοποιήθηκαν και οι μέθοδοι RAPD και SSR που έχουν τύχει ευρείας εφαρμογής στη γενετική μελέτη πολλών φυτών μεταξύ των οποίων και η άμπελος. Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της αμπελογραφικής περιγραφής και των μοριακών μεθόδων χρησιμοποιήθηκαν οι συντελεστές ανομοιότητας (συσχέτισης ή απόστασης) Dist, Manhattan, EuclidSQ και οι συντελεστές ομοιότητας Simple Matching, Jaccard, Dice αντίστοιχα, βάσει των

οποίων προσδιορίστηκε ο βαθμός φαινοτυπικής διακύμανσης και βαθμός γενετικής ομοιότητας αντίστοιχα και σχηματίστηκαν τα αντίστοιχα δενδρογράμματα.

Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι: α) η Κορινθιακή Σταφίδα είναι ποικιλία πολυκλωνικής φύσης άγνωστης προέλευσης. Γενετική διαφοροποίηση παρατηρήθηκε όχι μόνο μεταξύ αλλά και εντός των ομάδων των βιότυπων που μελετήθηκαν, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για την αξιοποίηση των αποτελεσμάτων στη βελτίωση της ποικιλίας με τη μέθοδο της κλωνικής επιλογής, β) τα δεδομένα της μελέτης των βιότυπων της ποικιλίας Λιάτικο και της Κορινθιακής Σταφίδας με τη μέθοδο RAPD – PCR δεν επιβεβαιώνουν την υπόθεση ότι η Κορινθιακή Σταφίδα είναι προϊόν μετάλλαξης ενός εγγύαρκτου τύπου της ποικιλίας Λιάτικο, γ) η Κορινθιακή λευκή (πολυκλωνικής σύνθεσης και άγνωστης προέλευσης ποικιλία) διαφέρει από την Κορινθιακή Σταφίδα σε τέτοιο βαθμό που δεν επιβεβαιώνει παλαιότερη υπόθεση ότι αποτελεί χρωματική μετάλλαξη της Κορινθιακής Σταφίδας, δ) ο υψηλός βαθμός συγγένειας που προσδιορίστηκε στις ποικιλίες οινοποιίας ανατολικής προέλευσης που μελετήθηκαν, δείχνει ότι παρά τη μεγάλη διασπορά τους σε όλες σχεδόν τις αμπελουργικές περιοχές της χώρας, μάλλον έχουν κοινό κέντρο προέλευσης την ευρύτερη περιοχή του Αιγαίου. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι οι ποικιλίες Φωκιανό, Ερικαράς, Αρμελετούσα και Γιουρούκικο είναι στενά συγγενείς, έχουν κοινή προέλευση και προέκυψαν από μία γονεϊκή ποικιλία (το Φωκιανό) μέσω της συσσώρευσης μεταλλάξεων. Επίσης, οι ποικιλίες Σεριφιώτικο και Σταυροχιώτικο αποτελούν κλώνους μιας και της αυτής ποικιλίας, όπως και η Ρομπόλα με την Ατσάλα καθώς και το Καρυστινό με την Κοκκινόρομπόλα, ε) τέλος, τα δεδομένα των μοριακών αναλύσεων δείχνουν ότι τα Ασπρούδια είναι ομάδα συγγενών ποικιλιών με κοινή προέλευση και επιπλέον, με τη βοήθεια των δεικτών της μεθόδου AFLP, ομαδοποιούνται με κριτήριο την περιοχή προέλευσης.

Από τα αποτελέσματα της εργασίας προκύπτει ότι η Αμπελογραφική περιγραφή όταν στηρίζεται σε μεγάλο αριθμό αμπελογραφικών χαρακτήρων και πραγματοποιείται επί σειρά ετών είναι αποτελεσματική και αναντικατάστατη μέθοδος στη διάκριση των ποικιλιών αμπέλου. Επιπλέον, ο συνδυασμός των μεθόδων της Αμπελογραφίας και των αντίστοιχων μοριακών και κυρίως της AFLP είναι εξαιρετικά αποτελεσματικός στην ταυτοποίηση και διάκριση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου. Τέλος, τα αποτελέσματα της ερευνητικής εργασίας έδειξαν ότι ειδικά για τη γενετική μελέτη της πολυκλωνικής σύνθεσης των ποικιλιών αμπέλου, εξαιρετικά αποτελεσματικός είναι κατά κύριο λόγο ο συνδυασμός της Αμπελογραφικής περιγραφής και της AFLP ανάλυσης, ενώ για τη διάκριση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αποτελεσματικός αποδείχτηκε ο συνδυασμός της Αμπελογραφικής περιγραφής τόσο με την SSR ανάλυση όσο και με την AFLP ανάλυση.

Λέξεις κλειδιά: ποικιλία αμπέλου, Κορινθιακή Σταφίδα, *Vitis vinifera* L., αμπελογραφική περιγραφή, μοριακοί δείκτες, AFLP, SSR, RAPD

Abstract

“Study of the Clonal Synthesis of Grapevine Cultivar ‘Korinthiaki Staphis’ and Discrimination of Some Greek Grapevine Cultivars (*Vitis vinifera* L.) with the use of Ampelographic and Molecular Methods.”

The present thesis investigated the genetic diversity of the biotypes of the grapevine cultivar Korinthiaki Staphis found in the Greek vineyard as well as the identification and discrimination of groups of Greek grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.), especially cultivars used in wine production.

Also, the present study investigated a number of biotypes of the cultivar Liatiko and a similar number of biotypes of the cultivar Korinthiaki Staphis in order to examine the hypothesis of the origin of the latter by the former through the phenomenon of mutation.

From the biotypes of the cultivar Korinthiaki Staphis, the most representative ones of the main cultivation centers were studied, as identified in the Greek vineyards. Specifically, three biotypes from Aigialeia, five from Corinthia, five from Cephalonia, six from Zante, three from Ilia, as well as biotypes known as Korinthiaki “schistofilli”, Korinthiaki “mutant”, as well as three biotypes of Korinthiaki Iefki, which is considered a color mutation of Korinthiaki Staphis, were studied. From the wine grapevine cultivars, the group of “Asproudia” (A. Achaias, A. Zakynthou, A. Santorinis, A. Mikinon, A. Spetson), the group of grapevine cultivars of eastern origin (Eftakoilo, Ladikino, Karistino, Siriki, Xeromachairouda, Serifiotiko, Stavrochiotiko, Erikaras, Armeletoussa, Giouroukiko, Fokiano) as well as certain cultivars, like Vossos, Atsala, Kokkinorobola, Robola, Agrioglikadi, Glikada aspri, Glikerithra, Glikeri, Platani, Petroulianos, Potamisi aspro were studied in order to investigate both the degree of relatedness between them and assess the effectiveness of the methods used.

The combination of ampelography and of three molecular methods (RAPD, AFLP, SSR) was used for the description, identification and discrimination of the biotypes and cultivars. The Ampelographic description was based on sixty-six characters of the OIV Descriptor List and took place for four consecutive years. Of the molecular methods used, AFLP was used for the first time in order to study Greek grapevine cultivars, while the methods RAPD and SSR, which have been widely applied in the genetic study of many plants including grapevine, were used for comparative reasons. For the statistical analysis of the results of the ampelographic description and of the molecular methods, the dissimilarity (distance) coefficients Dist, Manhattan, EuclidSQ and the similarity coefficients Simple Matching, Jaccard, Dice were used respectively in order to determine the degree of phenotypic fluctuation and the degree of genetic similarity respectively generating the corresponding dendrograms.

The analysis of the results revealed the following: a) the cultivar Korinthiaki Staphis is of polyclonal nature and of unknown origin. Genetic diversity was observed not only between but also within the group of the biotypes studied, something which is particularly important for using the results in order to improve the variety with the method of clonal selection, b) the data from the study of the biotypes of the cultivars Liatiko and Korinthiaki Staphis with the method RAPD – PCR do not confirm the hypothesis that Korinthiaki Staphis is a product of mutation of a seeded type of the cultivar Liatiko, c) Korinthiaki lefki (cultivar of polyclonal composition and of unknown origin) is different from Korinthiaki Staphis to such an extent that it does not confirm an earlier hypothesis that it is a color mutation of Korinthiaki Staphis, d) the high degree of relatedness which was determined in the wine grapevine cultivars of eastern origin studied shows that despite their large dispersion in almost every viticultural region of the country, they probably have a common center of origin in the greater area of the Aegean region. Furthermore, it was found that the cultivars Fokiano, Erikaras, Armeletousa and Giouroukiko are closely related, they have a common origin, and derived from one parent variety (Fokiano) through the accumulation of mutations. Also, the cultivars Serifiotiko and Stavrochiotiko are clones of one and the same variety, as is Robola with Atsala and Karistino with Kokkinorobola, e) finally, the data from the molecular analysis show that Asproudia are a group of related varieties with a common origin and in addition, with the help of the AFLP markers, they are grouped together with the criterion of the region of origin.

The results of this study show that the ampelographic description, when based on a large number of ampelographic characters and for several consecutive years, is an effective and irreplaceable method for the discrimination of grapevine cultivars. Moreover, the combination of the methods of Ampelography and of the molecular ones, mainly the AFLP method, is extremely effective for the identification and discrimination of cultivated varieties. Finally, the results of this study showed that specifically for the genetic study of the polyclonal composition of grapevine cultivars, the combination of the Ampelographic description and the AFLP analysis is extremely effective, while for the discrimination of grapevine cultivars, the combination of Ampelographic description with both the SSR analysis and the AFLP analysis proved to be effective.

Key words: grapevine cultivar, Korinthiaki Staphis, *Vitis vinifera* L., ampelographic description, molecular markers, AFLP, SSR, RAPD

Εισαγωγή

Η καλλιέργεια της αμπέλου στην Ελλάδα και τον κόσμο

Η άμπελος η οиноφόρος (*Vitis vinifera* L.) αποτελεί το μοναδικό ευρασιατικό είδος του γένους *Vitis* της οικογένειας των Αμπελιδών (*Vitaceae*). Περιλαμβάνει έναν εξαιρετικά μεγάλο αριθμό παραγωγικών ποικιλιών που καλλιεργούνται και στις πέντε ηπείρους και συγκαταλέγεται στα πιο σημαντικά παραγωγικά φυτά με πολύ μεγάλη γεωγραφική διασπορά και οικονομική σημασία (Vivier and Pretorius 2002). Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία (ΟΙV 2012), σε παγκόσμιο επίπεδο η καλλιέργεια της αμπέλου καταλαμβάνει συνολική έκταση 75.280.000 στρ., έκταση όμως η οποία έχει μειωθεί σημαντικά σε σχέση με τη δεκαετία του 1980, όταν και ανερχόταν στα 102 εκ. στρ. περίπου. Αυτή η σημαντική μείωση οφείλεται κυρίως στη γενικότερη υποχώρηση της αμπελοκαλλιέργειας στην Ευρώπη. Αντίθετα, σημειώθηκε αύξηση των εκτάσεων των αμπελώνων της Νότιας Αμερικής, των Η.Π.Α., της Αυστραλίας και της Νέας Ζηλανδίας. Είναι χαρακτηριστικό το παράδειγμα της Χιλής όπου ο ρυθμός αύξησης της καλλιεργούμενης έκτασης μειώθηκε μεν από 12% τη δεκαετία του 1980 στο 4% το 2010, αλλά ο χιλιάδικος αμπελώνας σχεδόν διπλασιάστηκε την ίδια περίοδο (Σταυρακάκης 2013).

Ο ευρωπαϊκός αμπελώνας αποτελεί περίπου το 56% της παγκόσμιας καλλιεργούμενης αμπελουργικής έκτασης (έναντι 60-65% που κατείχε το 1980). Ακολουθούν η Ασία με 22%, η Αμερική με 15%, η Αφρική με 5% και η Ωκεανία με 2%. Το 2011, η συνολική παραγωγή σταφυλών παγκοσμίως εκτιμήθηκε από το FAOSTAT σε περίπου 70 εκατομμύρια τόνους (<http://faostat.fao.org/>). Από τη συνολική παραγωγή σταφυλών, το 70% χρησιμοποιείται για την παραγωγή οίνων, το 22% διατίθεται για επιτραπέζια κατανάλωση και περίπου το 8% σταφιδοποιείται για παραγωγή κατά κύριο λόγο της ξανθιάς (Σουλτανίνα) και της μαύρης (Κορινθιακή Σταφίδα) σταφίδας. Στον πίνακα 1 παρουσιάζεται η εξέλιξη των καλλιεργούμενων εκτάσεων και της συνολικής παραγωγής σταφυλών του παγκόσμιου αμπελώνα την τελευταία δεκαετία, ενώ στον πίνακα 2 παρουσιάζονται οι καλλιεργούμενες εκτάσεις και η συνολική παραγωγή οίνων των κυριότερων αμπελουργικών χωρών στον κόσμο.

Στον παγκόσμιο αμπελώνα, και ιδιαίτερα για την παραγωγή οίνων ποιότητας, κυρίαρχη θέση κατέχουν οι ποικιλίες Cabernet Sauvignon, Merlot, Tempranillo, Chardonnay, Syrah, Grenache, Sauvignon blanc, Pinot noir κ.ά.

Πίνακας 1. Εξέλιξη των καλλιεργούμενων εκτάσεων και της παραγωγής σταφυλών του παγκόσμιου αμπελώνα (ΟΙΥ 2012).

Έτος	Έκταση (στρ.)	Παραγωγή (τον.)
2012	75.280.000	69.100.000
2011	75.470.000	71.400.000
2010	76.450.000	68.800.000
2009	76.390.000	68.200.000
2008	77.320.000	67.400.000
2007	77.720.000	65.500.000
2006	77.970.000	67.000.000
2005	78.050.000	67.400.000
2004	78.290.000	68.100.000
2003	78.840.000	63.100.000

Πίνακας 2. Καλλιεργούμενες εκτάσεις και παραγωγή οίνου στις κυριότερες οινοπαραγωγικές χώρες (ΟΙΥ 2012).

Χώρα	Έκταση (στρ.)	Παραγωγή (τον.)
Γαλλία	8.000.000	41.422.000
Ιταλία	7.690.000	40.060.000
Ισπανία	10.180.000	30.392.000
ΗΠΑ	4.070.000	19.187.000
Κίνα	5.700.000	13.200.000
Αυστραλία	1.740.000	12.660.000
Χιλή	2.000.000	12.554.000
Αργεντινή	2.180.000	11.178.000
Ν. Αφρική	1.310.000	10.037.000
Γερμανία	1.020.000	9.012.000

Ο ελληνικός αμπελώνας έχει σήμερα έκταση 1.100.000 στρ. (πίνακας 3). Η Πελοπόννησος με την Κρήτη είναι τα παραδοσιακά αμπελουργικά διαμερίσματα με τις μεγαλύτερες εκτάσεις αμπελώνων, ενώ ακολουθούν η Δυτική Ελλάδα, η Αττική με τη Βοιωτία, η Κεντρική και η Βόρεια Ελλάδα και τέλος ο νησιώτικος αμπελώνας στο Αιγαίο και το Ιόνιο. Το 60% του ελληνικού αμπελώνα καταλαμβάνεται από ποικιλίες οиноποιίας, το 25% από ποικιλίες σταφιδοποίησης και το 15% από ποικιλίες επιτραπέζιας κατανάλωσης.

Στον ελληνικό αμπελώνα, καλλιεργούνται κατά κύριο λόγο οι γηγενείς ποικιλίες, αλλά και αρκετές ξενικές. Πιο συγκεκριμένα, από τις ελληνικές ποικιλίες που συνιστώνται σε κάθε αμπελουργικό διαμέρισμα της χώρας ξεχωρίζουν το Αγιωργίτικο, το Ξινόμαυρο, το Μοσχοφίλερο, ο Ροδίτης, το Ασύρτικο, το Αθήρι, το Σαββατιανό, η Σουλτανίνα, το Ραζακί, η Κορινθιακή Σταφίδα αλλά και πολλές άλλες. Από τις ξενικές ποικιλίες, κυρίαρχη θέση κατέχουν οι Cabernet Sauvignon, Merlot, Syrah, Chardonnay, Sauvignon blanc, Ugni blanc κ.ά.

Πίνακας 3. Έκταση του ελληνικού αμπελώνα σε στρέμματα ανά διαμέρισμα και κατηγορία ποικιλιών (Υπ.Α.Α.Τ. 2012).

Διαμέρισμα	Ποικιλίες οиноποιίας	Ποικιλίες επιτραπέζιες	Ποικιλίες σταφιδοποιίας	Σύνολο
Αν. Μακεδονίας-Θράκης	19.844,5	29.636	0	49.480,5
Κ. Μακεδονίας	47.700,2	15.736	0	63.436,2
Δ. Μακεδονίας	26.030	1.739	0	27.769
Ηπείρου	7.061	319	0	7.380
Θεσσαλίας	43.325	12.815	0	56.140
Ιονίων Νήσων	26.704,2	322	17.300	44.326,2
Δυτικής Ελλάδας	90.156	2.716	78.407	171.279
Στερεάς Ελλάδας	73.870,5	1.606	0	75.476,5
Πελοποννήσου	114.871	73.728	81.049	269.648
Αττικής	68.132,8	275	0	68.407,8
Βορείου Αιγαίου	30.421,5	1.120	0	31.541,5
Νοτίου Ελλάδας	39.017,2	1.090	0	40.107,2
Κρήτης	77.604,3	23.898	93.244	194.746,3
ΣΥΝΟΛΟ	664.738,2	165.000	270.000	1.099.738

Όπου: Υπ.Α.Α.Τ.: Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων

Προέλευση της αμπέλου

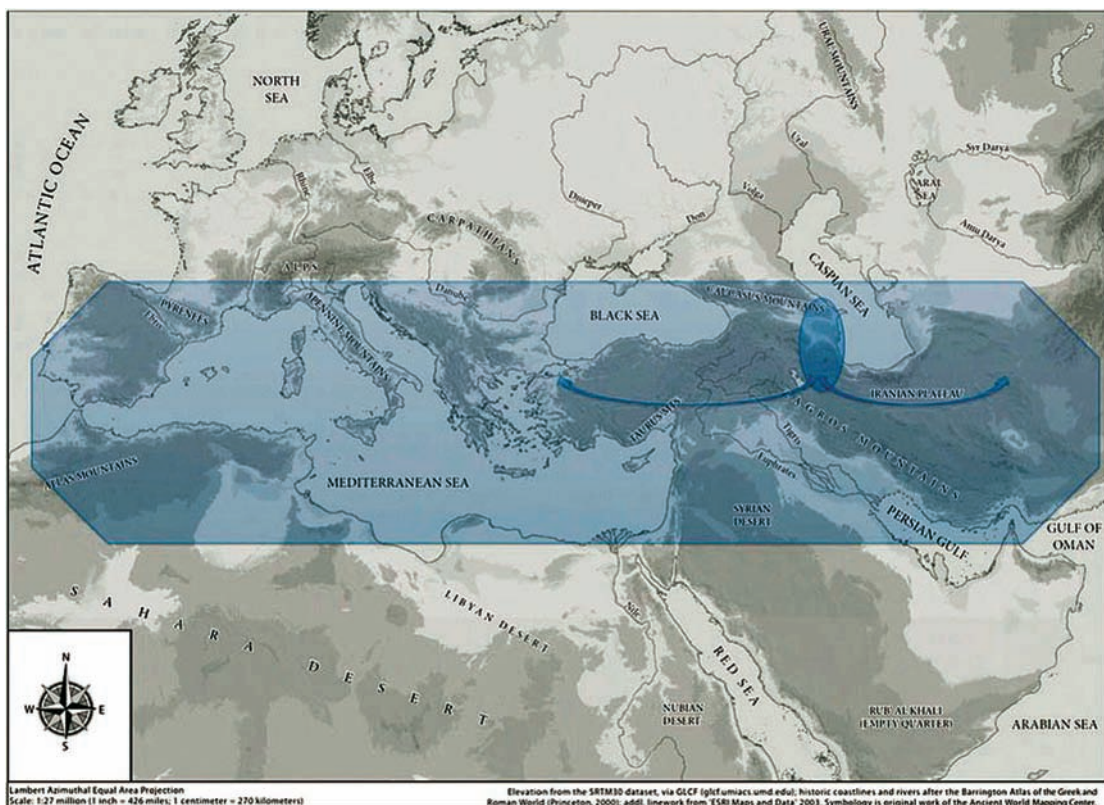
Η άμπελος η οиноφόρος (*Vitis vinifera* L.) κατά πάσα πιθανότητα εμφανίστηκε πριν από 65 εκ. χρόνια, προς το τέλος της τριτογενούς γεωλογικής περιόδου στις διάφορες περιοχές της Δυτικής Ευρώπης, της Ανατολικής Μεσογείου και της Δυτικής Ασίας, όπως τουλάχιστον συνάγεται από τα απολιθώματα που βρέθηκαν (de Saporta 1879). Κατά τη μακρά περίοδο των παγετώνων (2.000.000 – 10.000 π.Χ.) φαίνεται ότι η άμπελος κατέφυγε στις παραμεσόγειες δασώδεις περιοχές είτε στην ευρύτερη περιοχή του Καυκάσου. Με την έννοια αυτή, η οиноφόρος άμπελος στην άγρια μορφή της είναι ιθαγενής της ευρωπαϊκής ηπείρου με μεγάλη όμως γεωγραφική διασπορά, όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Σήμερα, στην Ευρώπη και την Ανατολική Ασία, από την Πορτογαλία έως την Αρμενία και το Τουρκμενιστάν και από τις βόρειες ευρωπαϊκές χώρες έως τις παραμεσόγειες απαντούν δύο μορφές της οиноφόρου αμπέλου, η άγρια (*Vitis vinifera* subsp. *silvestris* ή *sylvestris* GMEIN) και η καλλιεργούμενη (*Vitis vinifera* subsp. *vinifera* ή *sativa* DE CADOLLE). Κατά μία άποψη και με βάση τις μορφολογικές διαφορές θεωρούνται ως δύο διαφορετικά υποείδη με την άγρια οиноφόρο άμπελο να θεωρείται πρόγονος των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου (Zohary 1995), ενώ σύμφωνα με μια άλλη θεωρία αποτελούν μορφές του ίδιου είδους και οι επί μέρους διαφορές τους (μορφολογικές, βιολογικές και ανατομικές) είναι αποτέλεσμα περισσότερο της διαδικασίας εξημέρωσης από τον άνθρωπο σε μακρά πορεία ετών παρά της γεωγραφικής απομόνωσης (This et al. 2006). Κατά τον De Lattin (1939), στο τέλος της περιόδου των παγετώνων (10.000 – 8.000 π.Χ.) είχε ολοκληρωθεί η εξελικτική πορεία της ευρωπαϊκής αμπέλου στα υποείδη της άγριας οиноφόρου (*Vitis vinifera* subsp. *silvestris* ή *sylvestris* GMEIN) και της καυκασιανής οиноφόρου αμπέλου (*Vitis vinifera* subsp. *caucasica* VAVILOF), ενώ κατά τη νεολιθική περίοδο, η εικόνα της φυτογεωγραφικής διασποράς δεν διαφέρει αισθητά από τη σημερινή (Levadoux 1956). Σύμφωνα με τα παραπάνω, η άγρια οиноφόρος άμπελος αποτελεί τον αρχαιότερο βιότυπο της οиноφόρου αμπέλου που όμως δεν καλλιεργήθηκε ποτέ, ενώ οι καλλιεργούμενες ποικιλίες αμπέλου (*Vitis vinifera* subsp. *vinifera* ή *sativa* DE CADOLLE) προήλθαν στη μεγάλη πλειονότητά τους από την καυκασιανή άμπελο και αργότερα μεταφέρθηκαν στη Δυτική Ευρώπη και στον υπόλοιπο κόσμο (εικόνα 1). Προφανώς, όμως, επειδή δεν είναι γνωστό ακριβώς πότε και πώς άρχισε η διαδικασία της αρχικής εξημέρωσης, δεν μπορεί να αποκλειστεί η άποψη κατά την οποία μέρος των καλλιεργούμενων ποικιλιών στην ευρωπαϊκή ήπειρο και ιδιαίτερα στον ελλαδικό χώρο να προήλθε από την άγρια άμπελο (Λογοθέτης 1955).

Κατά τη μακρά διαδικασία εξημέρωσης σημειώθηκαν σημαντικές έως καθοριστικές αλλαγές στη βιολογία και τη φυσιολογία της αμπέλου καθώς και σε χαρακτηριστικές των επί μέρους οργάνων όπως στο μέγεθος, τη μορφή, το χρώμα και το σχήμα της σταφυλής και των ραγών, στο μέγεθος, τον αριθμό και το σχήμα των

γινάρτων, την αύξηση της περιεκτικότητας του γλεύκους σε σάκχαρα κ.ά., με πιο σημαντική ίσως τη μετατροπή των ανθέων σε λειτουργικά ερμαφρόδιτα.

Το ζήτημα της προέλευσης των ποικιλιών της οινοφόρου αμπέλου, των πιθανών γενετικών κέντρων και της γενετικής σχέσης μεταξύ των καλλιεργούμενων, σήμερα, ποικιλιών αμπέλου και των διαφόρων μορφών της άγριας αμπέλου έχει απασχολήσει συστηματικά τους επιστήμονες από όλους σχεδόν τους επιστημονικούς κλάδους, αμπελογράφους, γενετιστές, αρχαιολόγους, φυτογεωγράφους, ιστορικούς και κοινωνιολόγους. Τα αποτελέσματα των περισσότερων ερευνητικών εργασιών έχουν αποκαλύψει γενετική ετερογένεια διαφορετικού βαθμού μεταξύ των παραπάνω βιότυπων, ενώ πολύ πιθανή πλέον είναι η ύπαρξη περισσότερων του ενός γενετικών κέντρων προέλευσης και δημιουργίας των καλλιεργούμενων ποικιλιών της αμπέλου (This et al. 2001, Grassi et al. 2003).



Εικόνα 1. Γεωγραφική κατανομή της ευρωπαϊκής αμπέλου, *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*. Η εξημέρωση πιθανότατα συνέβη πρώτα στην περιοχή μεταξύ της Μαύρης και της Κασπίας Θάλασσας (μπλε περιοχή στο χάρτη). Η καλλιεργούμενη άμπελος *Vitis vinifera* subsp. *vinifera* εξαπλώθηκε προς τα ανατολικά και δυτικά (βέλη). (Map Base © 2011, Ancient World Mapping Center, www.awmc.unc.edu) (πηγή: Reisch et al. 2012).

Ανεξάρτητα από τις διαφορετικές θεωρίες και υποθέσεις τόσο για την προέλευση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου όσο και την περιοχή που

πρωτοκαλλιεργήθηκε (εξημερώθηκε), και παρά την ύπαρξη φυτών της άγριας οиноφόρου αμπέλου σε περιοχές της Δυτικής Ευρώπης, φαίνεται ότι οι περισσότεροι ερευνητές συγκλίνουν με την άποψη ότι αρχικό (πρώτο) κέντρο δημιουργίας ήταν από τη Νεολιθική περίοδο, η ευρύτερη περιοχή του Καυκάσου (This et al. 2006). Από εκεί, οι καλλιεργούμενες ποικιλίες διαδόθηκαν προς την κοιλάδα του Ιορδάνη (γύρω στο 4.000 π.Χ.) και την Αίγυπτο (γύρω στο 3.000 π.Χ.) για να φτάσουν μέχρι την Κρήτη (2.000 π.Χ.) και τις ακτές της Ιταλικής και Ισπανικής χερσονήσου (800 π.Χ.) (McGovern 2003). Από την άλλη μεριά, οι διαφορές που διαπιστώθηκαν με τη χρήση μοριακών μεθόδων ανάμεσα σε ποικιλίες από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές (ανατολικής και δυτικής προέλευσης) ενισχύουν μια διαφορετική υπόθεση, της ύπαρξης δηλαδή δύο ανεξάρτητων γενετικών κέντρων, ένα στην Εγγύς Ανατολή και ένα στη Δυτική Ευρώπη από τοπικούς πληθυσμούς της άγριας μορφής της αμπέλου ή από πολλαπλούς τόπους επιλογής και διάδοσης των γονοτύπων της άγριας μορφής της αμπέλου (Sefc et al. 2000, Arroyo-Garcia et al. 2006). Το γενετικό αυτό υλικό συνέβαλλε σημαντικά στη δημιουργία των μεταγενέστερων ποικιλιών αμπέλου. Αυτή η υπόθεση είναι συμβατή με τη θεωρία της ανατολικής προέλευσης και τη διάδοση των αμπελοουργικών και οινολογικών πρακτικών από τα ανατολικά προς τα δυτικά (Levadoux 1956, Mullins et al. 1992).

Σύμφωνα με όλες τις ενδείξεις και τα ευρήματα, ο προϊστορικός άνθρωπος χρησιμοποίησε τα άγρια σταφύλια για τη διατροφή του (Bouby et al. 2013). Το πλήθος, μάλιστα, των αρχαιολογικών ευρημάτων δείχνει ότι η οινόφορος άμπελος (στη μία ή την άλλη μορφή), και ιδιαίτερα ο οίνος, έπαιξαν σημαντικό ρόλο και κατείχαν σπουδαία θέση στις οικονομικές, θρησκευτικές και καλλιτεχνικές δραστηριότητες και εκδηλώσεις των αρχαίων πολιτισμών και γενικότερα στον τρόπο ζωής τους (Λογοθέτης 1975, Blanco 1997). Σε όλους σχεδόν τους πολιτισμούς και τις θρησκείες, ο οίνος θεωρούταν θεϊκής προέλευσης, ως το ποτό των θεών: οι Αιγύπτιοι απέδωσαν το δώρο του οίνου στον Όσιρη, οι Έλληνες στο Διόνυσο και οι Ρωμαίοι στο Βάκχο. Άλλοι μεσογειακοί λαοί θεωρούσαν ότι “ο οίνος πήγαζε από το αίμα των ανθρώπων, οι οποίοι είχαν πολεμήσει τους θεούς” (McGovern 2003).

Όσον αφορά την περιοχή και το χρόνο της πρώτης καλλιέργειας της αμπέλου στον ευρύτερο ελληνικό χώρο έχουν διατυπωθεί διάφορες απόψεις. Κατά μία άποψη, που είναι και η πλέον ισχυρή, η άμπελος καλλιεργήθηκε για πρώτη φορά στη Μινωική Κρήτη όπου μεταφέρθηκε είτε μέσω της Αιγύπτου είτε από τους Φοίνικες κατά τη μετακίνησή τους στη Δύση. Την άποψη αυτή ενίσχυσε και η θεωρία του Evans (1925) κατά την οποία οι Μινωίτες ήταν απόγονοι των Αιγυπτίων. Πρόσφατη, όμως, συγκριτική γενετική μελέτη του DNA των ανθρώπων της νεολιθικής εποχής, με εκείνο των Μινωιτών (όπως εντοπίστηκε από αρχαιολογικές έρευνες στην Ανατολική Κρήτη) και των σύγχρονων κατοίκων της Κρήτης, της Αφρικής και της Ευρώπης, έδειξε σημαντικά υψηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας μεταξύ του DNA των Μινωιτών και των σημερινών Κρητικών με εκείνο των νεολιθικών ανθρώπων. Αντίθετα, διαπιστώθηκε ότι ο βαθμός γενετικής ομοιότητας μεταξύ του DNA των Μινωιτών και

διαφόρων αφρικανικών λαών (μεταξύ των οποίων και της Αιγύπτου) είναι αισθητά χαμηλότερος. Τα τελευταία δεδομένα επιτρέπουν τη διατύπωση της άποψης ότι η Κρήτη εποίκιστηκε πριν από 8.000 – 9.000 χρόνια από τους νεολιθικούς ανθρώπους του Καυκάσου οι οποίοι και μετέφεραν μαζί τους και την άμπελο και ενισχύουν την υπόθεση για την ανατολική προέλευση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου (Hughey et al. 2013). Άλλωστε, όπως δείχνουν τα αρχαιολογικά ευρήματα τόσο η καλλιέργεια βελτιωμένων ποικιλιών αμπέλου όσο και η οινοποιητική τεχνική έφθασαν σε υψηλά επίπεδα στη μινωική Κρήτη. Κατά την υπόθεση αυτή, η καλλιέργεια της αμπέλου μεταφέρθηκε στην ηπειρωτική Ελλάδα μέσω της Νάξου, όπως αναφέρει ένας από τους πολλούς μύθους του Διονύσου.

Η καλλιέργεια της αμπέλου και η παραγωγή αμπελουργικών προϊόντων γνώρισε μεγάλη άνθηση κατά την ελληνική αρχαιότητα, όπου δημιουργήθηκε το ελληνικό πρότυπο αμπελουργίας με την καλλιέργεια βελτιωμένων ποικιλιών και τη διαμόρφωση αμπελουργικής τεχνικής που κατευθύνει στην ποιότητα και όχι στην ποσότητα (όπως για παράδειγμα το λατινικό πρότυπο που με τη συγκαλλιέργεια της αμπέλου με δένδρα κατεύθυνε στην αύξηση της ποσότητας). Πολλές αναφορές, τόσο για την άμπελο όσο και για τον οίνο, γίνονται από τους αρχαίους Έλληνες συγγραφείς: ο Όμηρος (800 π.Χ.), ο Ησίοδος (750 π.Χ.), ο Δημόκριτος (500 π.Χ.), ο Ηρόδοτος (484 – 430/420 π.Χ.), ο Ξενοφών (430 – 352 π.Χ.), ο Αριστοτέλης (384 – 322 π.Χ.), ο Θεόφραστος (372 – 287 π.Χ.) δίνουν χρήσιμες πληροφορίες για το πλήθος των ποικιλιών, τις τεχνικές καλλιέργειας, την αποξήρανση των σταφυλών για την παραγωγή σταφίδων και τις μεθόδους οινοποίησης και συντήρησης των οίνων (Σταυρακάκης 2013). Ο αριθμός των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου σύμφωνα με εκτιμήσεις ξεπερνούσε τις 100 ως αποτέλεσμα τόσο της μεταφοράς τους από την Ανατολή όσο και από τη δημιουργία νέων. Για παράδειγμα, ο Αριστοτέλης αναφέρει την Κάπνεον άμπελον, τη Μαινομένην άμπελον της Λιβύης, την Ανθηδονιάδα, την Υπερείαν και την Αλθηφιάδα άμπελον, ενώ ο Πολυδεύκης (2ος μ.Χ. αιώνας) μνημονεύει μεταξύ άλλων τις ποικιλίες Κρήσσα, Κρητική, Ροδία, Βυβλία, Λημνία, Σαμία κ.ά. (Λογοθέτης 1975).

Αξίζει να σημειωθεί ότι σημαντικός αριθμός των ποικιλιών αμπέλου που καλλιεργούνται σήμερα παγκοσμίως έχουν ευθεία αναφορά και συσχέτιση με τις καλλιεργούμενες στην ελληνική αρχαιότητα ποικιλίες αμπέλου, οι οποίες αργότερα μεταφέρθηκαν στη Νότια Ιταλία (Μεγάλη Ελλάδα) και τις άλλες δυτικές χώρες. Έλληνες και Λατίνοι συγγραφείς αναφέρουν ποικιλίες, όπως είναι η Λήμνεος άμπελος, η οποία παραπέμπει στη σημερινή ποικιλία Λημνιό ή Καλαμπάκι, και η *Allobrogica*, η οποία θεωρείται γονέας της ομάδας των *Pinots*. Κατά μία άποψη, η ποικιλία Λημνιό (όπως και η Κορινθιακή Σταφίδα) μπορεί να θεωρηθεί δημιούργημα του ελληνικού (δευτερογενούς) γενετικού κέντρου και καλλιεργήθηκε σε σημαντικές εκτάσεις στην Αττική όπου μεταφέρθηκε το 500 π.Χ. από το Μιλτιάδη μετά την κατάληψη της νήσου και προφανώς, όπως συνηθίζεται και σήμερα, δόθηκε το όνομα της περιοχής προέλευσης, δηλαδή της Λήμνου – Λημνία άμπελος (Κουράκου 2013).

Συστηματική της αμπέλου

Οικογένεια *Vitaceae*

Η οικογένεια *Vitaceae* (Lindley 1836) ή *Ampelidae* (Kunth 1821) ή *Ampellidaceae* (Lowe 1868) περιλαμβάνεται στο φύλο των *Terebinthales-Rubiales* και στην τάξη των *Rhamnales*. Η συστηματική διαίρεση της οικογένειας των αμπελιδών σε γένη παρουσιάζει σημαντικά προβλήματα. Κατά τον Planchon (1887) περιλαμβάνει 10 γένη, κατά τον Suessenguth (1953) 12 γένη, ενώ ο Galet (1988) ανεβάζει τον αριθμό των γενών που κατατάσσονται στην οικογένεια των αμπελιδών στα 18 (πίνακας 4).

Πίνακας 4. Συστηματική της οικογένειας *Vitaceae* (Galet 1988).

1	<i>Vitis</i> (Tournef.) L. (Tournefort 1700, Linné 1753)
2	<i>Cissus</i> L. (Linné 1753, Planchon 1887, Descoings 1960)
3	<i>Ampelopsis</i> (Michaux 1803, Planchon 1887)
4	<i>Pterisanthes</i> Bl. (Blume 1825)
5	<i>Tetrastigma</i> (Miq.) Planch (Miquel-Guil 1863, Planchon 1887)
6	<i>Ampelocissus</i> Planch. (Planchon 1887)
7	<i>Clematicissus</i> Planch. (Planchon 1887)
8	<i>Landukia</i> Planch. (Planchon 1887)
9	<i>Parthenocissus</i> Planch. (Planchon 1887)
10	<i>Rhoicissus</i> Planch. (Planchon 1887)
11	<i>Cayratia</i> (A.-L. Juss), Gagnep., Planch. (A.-L. de Jussie 1818, Planchon 1887, Gagnepain 1911)
12	<i>Acareosperma</i> Gagnep. (Gagnepain 1911)
13	<i>Pterocissus</i> Urb et Ekm (Urban and Ekman 1926)
14	<i>Cyphostemma</i> Planch. (Planchon 1887, Alston 1931, Descoings 1960)
15	<i>Puria</i> Nair (Nair 1974)
16	<i>Nothocissus</i> Latiff (Lattif 1982, Planchon 1887)
17	<i>Cissites</i> Heer (Heer 1868-1884)
18	<i>Paleovitis</i> Reid et Chandler (Reid and Chandler 1933)

Γένος *Vitis*

Το γένος *Vitis* δημιουργήθηκε από τον Turnefort (1700) και μελετήθηκε από τον Linné (1735, 1753). Περιλαμβάνει δύο υπο-γένη: το υπογένος *Euvitis* (*Vitis* subg. *Euvitis*, $2n=38$), στο οποίο ανήκουν τα περισσότερα είδη (ανάμεσά τους το *Vitis vinifera* L., το μοναδικό της ευρασιατικής ηπείρου και της λεκάνης της Μεσογείου) και τα διάφορα είδη της ασιατικής και βορειοαμερικανικής ηπείρου, και το υπογένος *Muscadinia* (*Vitis* subg. *Muscadinia*, $2n=40$). Εξαιτίας της διαφοράς στον αριθμό των χρωμοσωμάτων, αλλά και της αδυναμίας φυσικής διασταύρωσης των ειδών μεταξύ των δύο υπογενών, προτάθηκε το υπογένος *Muscadinia* να αποτελέσει ξεχωριστό γένος (Small 1903). Η πρόταση αυτή, αν και είναι ορθή, υιοθετήθηκε από λίγους ερευνητές, γενετιστές και αμπελογράφους (Olmo 1978, Bouquet 1980) αλλά δεν έτυχε ευρύτερης αποδοχής (Mullins et al. 1992). Παρακάτω αναφέρονται οι βασικές διαφορές των δύο υπογενών (Galet 2000, Aradhya et al. 2013).

Υπο-γένος *Euvitis*

Ο αριθμός χρωμοσωμάτων είναι $n=19$ ή $2n=38$.

Η κληματίδα φέρει διάφραγμα στον κόμβο.

Οι κόμβοι έχουν τομή κατά κανόνα ελλειψοειδή.

Το δευτερογενές ξύλο είναι μαλακό με μεγάλα αγγεία.

Η εντεριώνη είναι ασυνεχής, μαλακή και άφθονη.

Το φελλογόνο προέρχεται από το εσωτερικό τμήμα του βλαστού (από τον δευτερογενή ηθμό) και δίνει το περίδερμα, το οποίο αποκολλάται με τη μορφή μακρών λωρίδων.

Ο δευτερογενής ηθμός αναπτύσσεται κατά την έννοια της εφαπτομένης.

Τα βλαστητικά όργανα (νεαρός βλαστός, αυξανόμενη κορυφή, φύλλα) κατά κανόνα φέρουν διαφόρου τύπου τριχίδια (χνοασμό).

Τα φύλλα είναι παλαμοσχιδή με πέντε κύριες νευρώσεις.

Οι έλικες είναι δισχιδείς ή πολυσχιδείς και βρίσκονται στον κόμβο απέναντι από τα φύλλα.

Τα σταφύλια φέρουν κατά κανόνα μεγάλο αριθμό ραγών που παραμένουν στο βόστρυχο μέχρι την πλήρη ωρίμανση ή και την υπερωρίμανση.

Τα γίγαρτα έχουν σχήμα απιοειδές με καλά σχηματισμένη χάλαζα.

Ο χυμός των ραγών χαρακτηρίζεται από υψηλή συγκέντρωση σακχάρων, οξέων και άλλων οργανικών ουσιών.

Η διασταύρωση μεταξύ των ειδών του υπο-γένους είναι επιτυχής και τα υβρίδια που προκύπτουν είναι γόνιμα και παραγωγικά. Το ίδιο επιτυχής είναι και ο εμβολιασμός όχι όμως και με τα είδη του *Muscadinia*.

Υπο-γένος *Muscadinia*

Ο αριθμός των χρωμοσωμάτων είναι $n=20$ ή $2n=40$.

Η κληματίδα δεν έχει διάφραγμα στον κόμβο.

Το φελλογόνο είναι υποεπιδερμικό, το ξύλο είναι σκληρό με μεγάλα αγγεία.

Η εντεριώνη είναι συνεχής αλλά όχι σε μεγάλη ποσότητα.

Η επιδερμίδα αποκολλάται με τη μορφή πλακών.

Ο δευτερογενής ηθμός αναπτύσσεται κατά την έννοια της ακτίνας.

Τα βλαστητικά όργανα είναι πάντα λεία ή σχεδόν λεία.

Τα φύλλα είναι παλαμοσχιδή, σχεδόν πλήρη.

Οι έλικες είναι απλές, εναλλασσόμενες και φύονται στον κόμβο απέναντι από τα φύλλα.

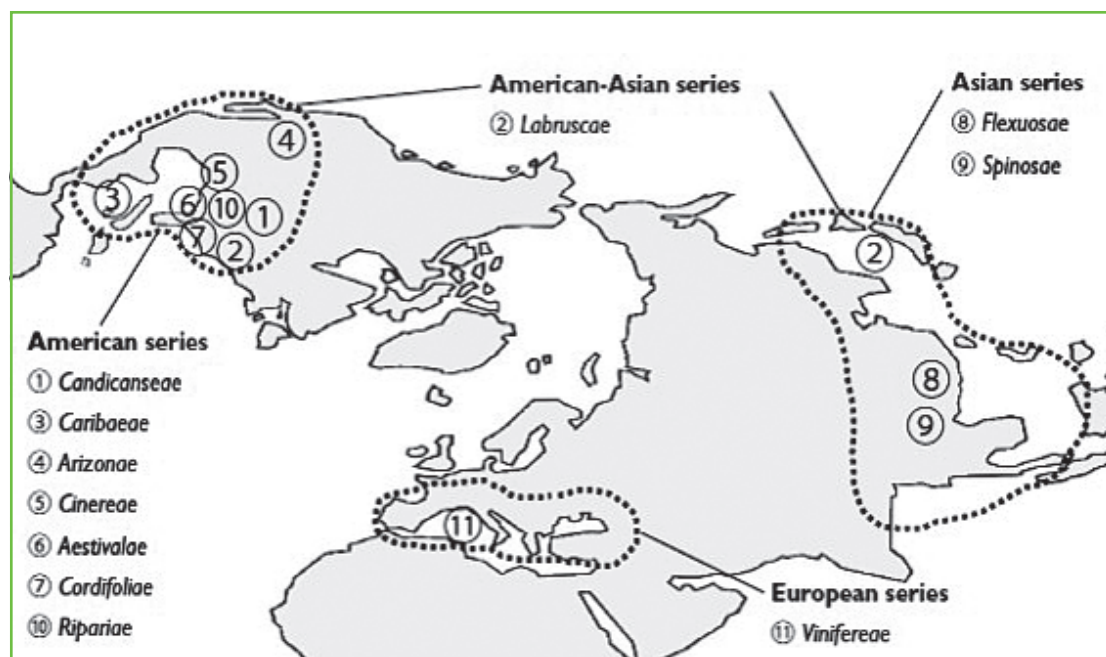
Τα σταφύλια είναι μικρά με πολύ μικρό αριθμό ραγών.

Οι ράγες είναι μικρές με λίγο χυμό και μικρή περιεκτικότητα σε σάκχαρα, ωριμάζουν ανομοιόμορφα και κατά την πλήρη ωρίμανση αποπίπτουν από τον ποδίσκο.

Τα γίγαρτα είναι σκαφοειδή με χάλαζα ωοειδή με χαρακτηριστικές πτυχώσεις.

Η διασταύρωση μεταξύ των ειδών είναι επιτυχής.

Η ριζοβόληση των μοσχευμάτων των ειδών αυτών είναι αδύνατη, επομένως ο αγενής πολλαπλασιασμός επιτυγχάνεται μόνο με παραφυάδες.



Εικόνα 2. Χάρτης γεωγραφικής διασποράς του υπογένους *Euvitis* βάσει της μορφολογικής ταξινόμησης του Galet, 1988 (πηγή: Péros et al. 2011).

Ως προς τα κέντρα δημιουργίας των ειδών του γένους *Vitis* έχουν διατυπωθεί διάφορες απόψεις. Κατά το Vanillon (1926), τα είδη του γένους *Vitis* ανήκουν σε τρία γενετικά κέντρα και συγκεκριμένα της Νότιας Ευρώπης και της Μικράς Ασίας, της

Ανατολικής Ασίας και της Βόρειας και Κεντρικής Αμερικής με το είδος *Vitis vinifera* να τοποθετείται στην ευρύτερη περιοχή της Μικράς Ασίας.

Ο αριθμός των ειδών του γένους *Vitis* (υπογένος *Euvitis*) δεν έχει ακριβώς προσδιοριστεί. Κατά μία άποψη περιλαμβάνει περισσότερα από 50 – 60 είδη από τα οποία 22 – 32 απαντούν στη βόρειο-αμερικανική ήπειρο (Rogers and Rogers 1978). Κατά τους Alleweldt and Possingham (1988) τα είδη είναι περισσότερα από 70 τα οποία χωρίζονται σε διάφορες γεωγραφικές ομάδες. Ο Galet (1988) αναγνωρίζει 62 είδη του υπογένους *Euvitis* τα οποία κατατάσσει σε 11 σειρές (εικόνα 2, πίνακας 5).

Πίνακας 5. Συστηματική του γένους *Vitis* (Galet 1988).

Σειρές	Είδη
<i>Candicansae</i>	<i>V. candicans</i> , <i>V. doaniana</i> , <i>V. Longii</i> , <i>V. voriacea</i> , <i>V. Simpsonii</i> , <i>V. Champinii</i>
<i>Labruscae</i>	<i>V. Labrusca</i> , <i>V. Coignetiae</i>
<i>Caribaeae</i>	<i>V. caribaea</i> , <i>V. Blancoii</i> , <i>V. lanata</i>
<i>Arizonae</i>	<i>V. arizonica</i> , <i>V. californica</i> , <i>V. girdiana</i> , <i>V. Treleasei</i>
<i>Cinereae</i>	<i>V. cinerea</i> , <i>V. Berlandieri</i> , <i>V. Baileyana</i> , <i>V. Bourgeana</i>
<i>Aestivalae</i>	<i>V. aestivalis</i> , <i>V. bicolor</i> , <i>V. Lincecumii</i> , <i>V. Bourquina</i> , <i>V. gigas</i> , <i>V. rufotomentosa</i>
<i>Cordifoliae</i>	<i>V. cordifolia</i> , <i>V. ilex</i> , <i>V. Helleri</i> , <i>V. monticola</i> , <i>V. rubra</i>
<i>Flexuosae</i>	<i>V. flexuosa</i> , <i>V. Thunbergii</i> , <i>V. betulifolia</i> , <i>V. reticulata</i> , <i>V. amurensis</i> , <i>V. Piasezkii</i> , <i>V. Embergeri</i> , <i>V. pentagona</i> , <i>V. chunganensis</i> , <i>V. Chungii</i> , <i>V. piloso-nerva</i> , <i>V. balansaeana</i> , <i>V. Hancockii</i> , <i>V. hexamera</i> , <i>V. pedicellata</i> , <i>V. Retordii</i> , <i>V. Seguinii</i> , <i>V. silvestrii</i> , <i>V. Tsoii</i> , <i>V. bryoniifolia</i>
<i>Spinosa</i>	<i>V. armata</i> , <i>V. Davidii</i> , <i>V. Romanetii</i>
<i>Ripariae</i>	<i>V. riparia</i> , <i>V. rupestris</i>
<i>Viniferae</i>	<i>V. vinifera</i> , <i>V. sylvestris</i>

Στο υπογένος *Muscadinia* περιλαμβάνονται 3 είδη (*Vitis rotundifolia*, *Vitis munsoniana*, *Vitis ropenoei*) (Galet 1988). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το *Vitis rotundifolia*, λόγω της αντοχής του σε εχθρούς και ασθένειες της αμπέλου και κυρίως στους νηματώδεις, ιδιότητες που το καθιστούν χρήσιμο σε προγράμματα βελτίωσης.

Τα είδη του υπογένους *Euvitis* καλλιεργούνται είτε για την παραγωγή αμπελουργικών προϊόντων (κυρίως οι ποικιλίες *Vitis vinifera* και δευτερευόντως οι ποικιλίες των αμερικανικών ειδών, για παράδειγμα το *Vitis labrusca*), είτε σε προγράμματα βελτίωσης με σκοπό την παραγωγή υποκειμένων ανθεκτικών στη ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας (*Vitis berlandieri*, *Vitis riparia* κ.ά.). Τα είδη του υπογένους *Muscadinia* θεωρούνται ενδιάμεσος κρίκος μεταξύ των ειδών του γένους *Vitis* και του γένους *Ampelopsis*, τα οποία παρουσιάζουν μορφολογικές και ανατομικές ομοιότητες.

Είδος *Vitis vinifera*

Η άμπελος η οينوφόρος (ευρωπαϊκή άμπελος, *Vitis vinifera* L.) αποτελεί το πιο σημαντικό είδος για την παραγωγική αμπελουργία. Σχεδόν όλες οι καλλιεργούμενες ποικιλίες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή οίνου, σταφίδας και επιτραπέζιων σταφυλών ανήκουν στο είδος *Vitis vinifera* L. ή είναι υβρίδια τα οποία περιλαμβάνουν το *Vitis vinifera* L. ως γεννήτορα (Reisch et al. 2012). Μετά την εισβολή της φυλλοξήρας στην Ευρώπη, σημαντικό ρόλο στην παραγωγική αμπελουργία παίζουν και τα είδη και οι ποικιλίες της Βόρειας Αμερικής που είναι ανθεκτικά στη ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας. Έτσι, κατά τη μεταφυλλοξηρική περίοδο της σύγχρονης αμπελουργίας, με κριτήριο τον προορισμό χρήσης των αμπελουργικών προϊόντων, τα είδη και οι ποικιλίες των ειδών του γένους *Vitis* κατατάσσονται σε:

- Ποικιλίες οينوποιίας, για την παραγωγή οίνων
- Ποικιλίες σταφιδοποιίας για την παραγωγή σταφίδων
- Ποικιλίες επιτραπέζιας κατανάλωσης για την παραγωγή σταφυλών προς νωπή κατανάλωση
- Ποικιλίες για την παραγωγή χυμού σταφυλής
- Ποικιλίες για την παραγωγή σταφυλών προς κονσερβοποίηση
- Ποικιλίες, είδη και υβρίδια για την παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού ανθεκτικού στη ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας (υποκείμενα αμπέλου ανθεκτικά στη ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας).

Οι πέντε πρώτες κατηγορίες αφορούν κατά κύριο λόγο ποικιλίες της ευρωπαϊκής αμπέλου (*Vitis vinifera*) αλλά και είδη της αμερικάνικης ηπείρου (*Vitis labrusca* κ.ά.). Στην έκτη κατηγορία, από τις ποικιλίες, τα είδη και τα υβρίδια που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού ανθεκτικού στη ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας, προέρχονται τα κατάλληλα υποκείμενα τα οποία εμβολιάζονται με τις ποικιλίες της ευρωπαϊκής αμπέλου (Σταυρακάκης 2010). Η κατάταξη αυτή των ποικιλιών δεν είναι απόλυτη, καθώς μια ποικιλία δύναται να είναι κατάλληλη για παραγωγή αμπελουργικών προϊόντων από περισσότερες της μιας κατηγορίας και χαρακτηρίζεται ως διπλής ή τριπλής χρήσης.

Για την προέλευση και την εμφάνιση της καλλιεργούμενης μορφής της αμπέλου έχουν διατυπωθεί, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, πολλές απόψεις. Σύμφωνα με το Levadoux (1956), τα στάδια εξέλιξης της οινοφόρου αμπέλου είναι τρία: της αυτοφυούς άγριας μορφής, των αρχαϊκού τύπου καλλιεργούμενων μορφών στη ζώνη της αυτοφυούς και των καλλιεργούμενων μορφών. Κατά τον De Lattin (1939), υπάρχουν τρία υποείδη αμπέλου με την καλλιεργούμενη μορφή να έχει προέλθει από το υποείδος *Vitis vinifera caucasica*.

Vitis vinifera sylvestris (άμπελος αγρία η οινοφόρος)

Vitis vinifera caucasica (άμπελος καυκασιανή η οινοφόρος)

Vitis vinifera sativa (καλλιεργούμενη άμπελος)

Ο Negru (1957) κατατάσσει τις ποικιλίες της οινοφόρου αμπέλου σε γεωγραφικές ομάδες (φυλές) και υποομάδες, κυριότερες των οποίων είναι η *Ποντία* (*Proles pontica*), η *Δυτική* (*Proles occidentalis*) και η *Ανατολική* (*Proles orientalis*). Στην *Ποντία* φυλή περιλαμβάνονται όλες οι παλαιές ποικιλίες αμπέλου οι οποίες χωρίζονται σε δύο υποομάδες, την *georgica* και την *balcanica*. Στην *balcanica* περιλαμβάνονται αρκετές ελληνικές ποικιλίες αμπέλου μεταξύ των οποίων και η Κορινθιακή Σταφίδα. Η *Ανατολική* φυλή διακρίνεται σε δύο υποφυλές, την *caspica*, στην οποία περιλαμβάνονται οι παλαιές ποικιλίες οινοποιίας της άγριας οινοφόρου αμπέλου και την *antasiatica*, στην οποία κατατάσσονται οι επιτραπέζιες ποικιλίες αμπέλου. Από τις ποικιλίες που και σήμερα καλλιεργούνται η ομάδα των μοσχάτων ανήκει στην *caspica*, ενώ η Σουλτανίνα στην *antasiatica*. Στη *Δυτική* φυλή κατατάσσονται οι ποικιλίες οινοποιίας της Γαλλίας, της Ιταλίας, της Γερμανίας, της Ισπανίας και της Πορτογαλίας οι οποίες καλλιεργούνται σήμερα (Σταυρακάκης 2010).

Όσον αφορά τον αριθμό των διαφορετικών παραγωγικών ποικιλιών της ευρωπαϊκής αμπέλου που καλλιεργούνται ή διατηρούνται σε αμπελογραφικές συλλογές, σήμερα, είναι εξαιρετικά μεγάλος και κατά μια εκτίμηση κυμαίνεται από 8.500 – 10.000 (Alleweldt and Dettweiler 1994). Νεότερα δεδομένα δίνουν σημαντικά χαμηλότερο αριθμό ποικιλιών, περίπου 5.000 – 7.000 (This et al. 2006). Επιπλέον, εξαιτίας της διάδοσής τους σε ολόκληρο τον κόσμο, μεγάλος είναι και ο αριθμός των συνωνύμων (το φαινόμενο κατά το οποίο μία ποικιλία έχει περισσότερα ονόματα ανάλογα με το καλλιεργητικό της κέντρο) και των ομωνύμων (το φαινόμενο κατά το οποίο διαφορετικές ποικιλίες έχουν το ίδιο όνομα). Ήδη από τις αρχές του 20ου αιώνα, έχουν καταγραφεί περισσότερα από 24.000 ονόματα ποικιλιών (Viala and Vermorel 1909). Την εκτίμηση του πραγματικού αριθμού των διαφορετικών ποικιλιών της ευρωπαϊκής αμπέλου επηρεάζει και το γεγονός της απόδοσης διαφορετικών ποικιλιών με το ίδιο όνομα που συχνά συνοδεύεται από κάποιο τοπωνύμιο ή χαρακτήρα, συνήθως των σταφυλών ή των ραγών.

Στην ύπαρξη της σημαντικής γενετικής ποικιλομορφίας που χαρακτηρίζει το είδος της ευρωπαϊκής αμπέλου και εκφράζεται με τον πολύ μεγάλο αριθμό ποικιλιών ενός και μόνου είδους, συνέβαλλαν κατά κύριο λόγο και κατά τη μακροαίωνα ιστορία της, τρεις κύριοι παράγοντες και συγκεκριμένα η εγγενής μέθοδος αναπαραγωγής

(φυσικές και τεχνητές διασταυρώσεις), ο αγενής (με μόσχευμα και εμβολιασμό) πολλαπλασιασμός και οι μεταλλάξεις. Θα πρέπει να τονιστεί ότι οι φυσικές διασταυρώσεις έλαβαν χώρα σε μεγάλη έκταση εξαιτίας της μακράιωνης καλλιέργειας της αμπέλου και επειδή η άμπελος χαρακτηρίζεται από μεγάλο αριθμό χρωμοσωμάτων και υψηλό βαθμό ετεροζυγωτίας, συνέβαλλε σημαντικά στη δημιουργία νέων ποικιλιών. Γενετική μελέτη έδειξε ότι οι περισσότερες ελληνικές ποικιλίες είναι απλά ή πολλαπλά υβρίδια άλλων ποικιλιών (Loukas et al. 1983).

Εξαιτίας του υψηλού αυτού βαθμού ετεροζυγωτίας που χαρακτηρίζει την άμπελο, νέοι γονότυποι παράγονται με τη μέθοδο της διασταύρωσης οι οποίοι διαφέρουν γενετικά, φυσιολογικά και μορφολογικά με τους γεννήτορες. Μοναδικός τρόπος αξιοποίησης στην παραγωγική αμπελοργία των νέων επιθυμητών γονότυπων είναι ο αγενής πολλαπλασιασμός τους μετά από τη διαδικασία αξιολόγησης των επιθυμητών χαρακτήρων. Το σύνολο των καλλιεργούμενων σήμερα ποικιλιών της ευρωπαϊκής αμπέλου προήλθε με τον αγενή πολλαπλασιασμό των επιθυμητών κλώνων και συνέβαλλε στη δημιουργία ομοιογενών παραγωγικών αμπελώνων.

Οι σωματικές μεταλλάξεις συνέβαλλαν σημαντικά στην αύξηση του αριθμού των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου και μάλιστα μερικές από τις πλέον διαδεδομένες ποικιλίες, όπως η Σουλτανίνα και η Κορινθιακή Σταφίδα, θεωρούνται προϊόντα σωματικών μεταλλάξεων. Αν και οι σωματικές μεταλλάξεις στην άμπελο συσσωρεύονται με βραδύ ρυθμό, εντούτοις η για χιλιετίες καλλιέργεια των ποικιλιών αποτελεί σημαντικό παράγοντα γονοτυπικής και φαινοτυπικής διακύμανσης. Στο γεγονός αυτό, δηλαδή στη μακράιωνη καλλιέργεια ορισμένων ποικιλιών όπως είναι για παράδειγμα η Σουλτανίνα, η Κορινθιακή Σταφίδα και το Pinot noir, οφείλεται η διαφοροποίηση και όχι σε κάποια ενδογενή τάση της ποικιλίας προς μετάλλαξη (This et al. 2006).

Όπως αναφέρθηκε, στις μεταλλάξεις φαίνεται ότι οφείλεται και η πιο σημαντική αλλαγή που σημειώθηκε κατά την εξημέρωση της αμπέλου, η οποία κατέστησε λειτουργικά ερμαφρόδιτα τα άνθη της αμπέλου και συνέβαλλε στην ταχύτατη εξάπλωση της καλλιέργειάς της (Doazan and Rives 1967). Με τον αγενή με μόσχευμα εμβολιασμό της αμπέλου είναι δυνατή η διαιώνιση των επιθυμητών χαρακτήρων όπως προκύπτουν μέσω των μεταλλάξεων και η δημιουργία με αυτό τον τρόπο νέων καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου.

Οι ελληνικές ποικιλίες αμπέλου φαίνεται ότι υπερβαίνουν τις 300 χωρίς να υπολογίζονται τα συνώνυμα (της απόδοσης, δηλαδή, διαφορετικών ποικιλιών με το ίδιο όνομα) ή τα ομώνυμα (της ύπαρξης πολλών ονομάτων για μια και την αυτή ποικιλία), οι τύποι και οι παραλλαγές τους που, ούτως ή άλλως, αποτελούν και ένα από τα πιο σημαντικά προβλήματα της ελληνικής αμπελογραφίας (Κριμπάς 1938, 1943).

Διάκριση – Ταξινόμηση των ποικιλιών της ευρωπαϊκής αμπέλου

Η διάκριση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου παρουσιάζει μεγάλες δυσχέρειες εξαιτίας του πολύ μεγάλου αριθμού τους, της γεωγραφικής εξάπλωσης και της ύπαρξης των πολλών συνωνύμων για κάθε ποικιλία και αποτελεί κύριο αντικείμενο του ειδικού κλάδου της επιστήμης της Αμπελοαγωγίας, της Αμπελογραφίας.

Μέχρι πρόσφατα η ταυτοποίηση, διάκριση και ταξινόμηση των ποικιλιών αμπέλου στηριζόταν αποκλειστικά στην αμπελογραφική μέθοδο και ειδικότερα στην αμπελογραφική περιγραφή, δηλαδή στους αμπελογραφικούς χαρακτήρες των οργάνων του πρέμνου, στις ιδιότητες της ποικιλίας, στην καλλιεργητική συμπεριφορά και την οικονομική σημασία της ποικιλίας (Santiago et al. 2005, Pelengić and Rusjan 2010).

Επειδή οι αμπελογραφικοί χαρακτήρες και κυρίως οι δευτερεύοντες (για παράδειγμα το μέγεθος και το βάρος των σταφυλών και των ραγών) παρουσιάζουν φαινοτυπική διακύμανση εξαιτίας της επίδρασης του περιβάλλοντος και των καλλιεργητικών συνθηκών, είναι απαραίτητο για την αξιόπιστη αμπελογραφική περιγραφή να χρησιμοποιείται μεγάλος αριθμός παρατηρήσεων για σειρά ετών και μάλιστα σε αντιπροσωπευτικό δείγμα της ποικιλίας. Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι δυσχέρειες της διάκρισης επιτείνονται από την ύπαρξη των πολλών συνωνύμων μιας καλλιεργούμενης ποικιλίας αμπέλου ή και της απόδοσης πολλών ποικιλιών με ένα κοινό όνομα που συνοδεύεται είτε από τοπωνύμια είτε από χαρακτήρες της σταφυλής ή των ραγών. Για παράδειγμα, στην πρώτη περίπτωση η ποικιλία Σαββατιανό είναι γνωστή και ως Σταματιανό, Σακέικο, Περαιχωρίτικο, Δουμπραίνα λευκή, Τσουμπραίνα λευκή, Κουντούρα λευκή που όπως αποδείχτηκε πρόκειται περί συνωνύμων μιας και της αυτής ποικιλίας (Σταυρακάκης 1991), ενώ στη δεύτερη περίπτωση περιλαμβάνονται τα Ασπρούδια, τα Μαυρούδια κ.ά. (Σταυρακάκης 1990). Με το γενικό όνομα Ασπρούδι ή Ασπρούδα που συνοδεύεται συνήθως από κάποιο τοπωνύμιο (Α. Σαντορίνης, Α. Μυκηνών, Α. Αχαΐας κ.ά.) αναφέρονται πολλές και διαφορετικές, όπως δείχτηκε, ποικιλίες αμπέλου (Σταυρακάκης και Λουκάς 1985). Παρά τα προβλήματα αυτά, η Αμπελογραφία αποτελεί τη βασική και αναντικατάστατη επιστήμη περιγραφής, διάκρισης και αξιολόγησης των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου που, όπως θα αναλυθεί, φτάνει μέχρι το επίπεδο του κλώνου (Alba et al. 2011, Peršurić et al. 2012).

Από τη δεκαετία του 1970, οι εξελίξεις στην επιστήμη της γενετικής επέτρεψαν τη χρησιμοποίηση των βιοχημικών αρχικά και αργότερα των μοριακών μεθόδων στη μελέτη του γενετικού υλικού ειδών και ποικιλιών φυτών ως ενισχυτικά εργαλεία στην ταυτοποίησή τους. Οι βιοχημικές μέθοδοι αναφέρονται στη χρήση των ενζυμικών πολυμορφισμών οι οποίοι ανιχνεύονται ηλεκτροφορητικά. Από τη στιγμή που τα ένζυμα είναι άμεσα προϊόντα των γονιδίων, επιτρέπουν τον προσδιορισμό της

γενετικής σύνθεσης του οργανισμού. Με τις μοριακές μεθόδους, και με τη βοήθεια διαφόρων τεχνικών που αναπτύχθηκαν με την εξέλιξη της τεχνολογίας (ένζυμα περιορισμού, αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης κ.ά.), επιτυγχάνεται η απευθείας μελέτη του γενετικού υλικού του οργανισμού και όχι των προϊόντων μετάφρασής του.

Πρέπει να σημειωθεί, όμως, ότι τόσο οι βιοχημικές όσο και οι μοριακές μέθοδοι δεν μπορούν να αντικαταστήσουν τις μεθόδους της κλασικής και σύγχρονης Αμπελογραφίας και ιδίως την αμπελογραφική περιγραφή. Ο συνδυασμός, αντίθετα, της αμπελογραφικής μεθοδολογίας (Αμπελογραφική Περιγραφή, Συγκριτική Αμπελογραφία, Πειραματική Αμπελογραφία) με τις μοριακές μεθόδους μπορεί να αποβεί ο πλέον αποτελεσματικός και αξιόπιστος τρόπος για την επίλυση των προβλημάτων ταυτοποίησης και διάκρισης ιδιαίτερα προκειμένου περί συγγενικών ποικιλιών αμπέλου ή ακόμη και κλώνων αμπέλου (Tomíć et al. 2013). Για αυτό πρόσφατα, ο Διεθνής Οργανισμός Αμπέλου και Οίνου (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin – OIV), στον Κώδικας Αμπελογραφικής Περιγραφής (Κ.Α.Π.) συμπεριέλαβε ως συμπληρωματικά στοιχεία της αμπελογραφικής περιγραφής τα δεδομένα των βιοχημικών και μοριακών δοκιμών και συγκεκριμένα δεδομένα από τα ισοενζυμικά συστήματα GPI (Glucose Phosphate Isomerase) και PGM (Phospho Gluco – Mutase) καθώς και από τους μοριακούς δείκτες SSR (VVS2, VVMD5, VVMD7 κ.ά.).

Η Αμπελογραφική Μέθοδος

Οι προσπάθειες για τη διάκριση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου ανατρέχουν στο πολύ μακρινό παρελθόν. Τα ονόματα των ποικιλιών αμπέλου της ελληνικής αρχαιότητας αποτελούν ενδείξεις της χρησιμοποίησης κριτηρίων για τη διάκρισή τους, για παράδειγμα της γεωγραφικής προέλευσης ή των χαρακτήρων των σταφυλών. Τα πρώτα συστήματα που χρησιμοποιήθηκαν για τη συστηματική διάκριση και ταξινόμηση των ποικιλιών της ευρωπαϊκής αμπέλου βασίστηκαν στη συγκριτική περιγραφή των μορφολογικών χαρακτήρων όλων των επί μέρους οργάνων των πρέμνων και αποτέλεσαν τη βάση του επιστημονικού κλάδου της κλασικής Αμπελογραφίας (Κριμπάς 1938). Η σύγχρονη αμπελογραφία έχει ως αντικείμενο, εκτός από την περιγραφή με σκοπό τη διάκριση και την ταξινόμηση των ειδών και των ποικιλιών της αμπέλου, και τη μελέτη όλων των παραγόντων (περιβαλλοντικών και καλλιεργητικών) που συμβάλλουν στη φαινοτυπική διακύμανση και τέλος, στην καλλιεργητική και οικονομική αξιολόγηση των ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτήρων τους για την αξιοποίησή τους στην παραγωγική αμπελουργία.

Στην αμπελουργική πράξη και την παραγωγική αμπελουργία, είναι απαραίτητη η γνώση της ταυτότητας των ποικιλιών και για αυτό το λόγο πολλοί αμπελογράφοι και συστηματικοί ασχολήθηκαν με τον προσδιορισμό των ποικιλιών

και την ταξινόμησή τους. Μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί και προταθεί περισσότερα από 200 συστήματα αμπελογραφικής περιγραφής και ταξινόμησης των ποικιλιών αμπέλου τα οποία βασίζονται στους μορφολογικούς χαρακτήρες των διαφόρων οργάνων των πρέμνων (μορφολογική ταξινόμηση), στις μετρήσεις των οργάνων αυτών (αμπελομετρική ταξινόμηση), στα διάφορα φαινολογικά στάδια του ετήσιου κύκλου της αμπέλου (φαινολογική ταξινόμηση), στη γεωγραφική προέλευση και διασπορά των ποικιλιών (γεωγραφική ταξινόμηση) και στην ομαδοποίησή τους με βάση το φαινότυπο (φαινοτυπική ταξινόμηση) (Σταυρακάκης 2010).

Η Αμπελογραφική μεθοδολογία για την επίτευξη του σκοπού της χρησιμοποιεί την αμπελογραφική περιγραφή, τη συγκριτική αμπελογραφία και την πειραματική αμπελογραφία (Νταβίδης 1982).

Η Αμπελογραφική περιγραφή έχει ως βασικό αντικείμενο τη διάκριση και ταξινόμηση των ειδών και ποικιλιών αμπέλου και τον προσδιορισμό της ταυτότητάς τους βάσει εξωτερικών χαρακτήρων των οργάνων (μορφολογία) του πρέμνου.

Η Συγκριτική αμπελογραφία ασχολείται με τη μελέτη των προβλημάτων των συνωνύμων των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου σε διάφορους τόπους και με την έρευνα της κλωνικής σύνθεσης των πληθυσμών αυτών.

Η Πειραματική αμπελογραφία ασχολείται με την έρευνα και επίλυση των προβλημάτων προέλευσης των ποικιλιών, χρησιμοποιώντας γενετικές και φυτογεωγραφικές μεθόδους και ιστορικά δεδομένα.

Η αμπελογραφική περιγραφή διαφέρει από την κλασική βοτανική περιγραφή και ως προς το σκοπό και ως προς το περιεχόμενο και ειδικότερα σε επίπεδο ποικιλίας. Στη Βοτανική, με τον όρο *ποικιλία* νοείται συγκεκριμένη συστηματική οντότητα που περιλαμβάνει πληθυσμό ατόμων (ακόμη και στην άγρια μορφή τους) τα οποία μπορούν να διασταυρώνονται ελεύθερα μεταξύ τους, και τα οποία συνήθως προέρχονται από εγγενή πολλαπλασιασμό και παρουσιάζουν διαφορές.

Στην παραγωγική αμπελοργία, χρησιμοποιείται από τους αμπελοργούς ο όρος *ποικιλία αμπέλου* και περιλαμβάνει πληθυσμό ατόμων με περίπου όμοια βλαστητικά και παραγωγικά χαρακτηριστικά.

Στην Αμπελογραφία (και σύμφωνα και με το Διεθνή Κώδικα Ονοματολογίας των Καλλιεργούμενων Φυτών) χρησιμοποιείται ο όρος *καλλιεργούμενη ποικιλία αμπέλου* (*cultivated variety* ή *cultivar* ή *cv*). Η καλλιεργούμενη ποικιλία αμπέλου αποτελεί σύνολο ατόμων τα οποία έχουν επιλεγεί για συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, παρουσιάζουν ικανοποιητική ομοιομορφία των μορφολογικών, αμπελογραφικών και παραγωγικών χαρακτήρων τους οποίους και διατηρούν σχετικά σταθερούς, προέρχονται από περισσότερα του ενός μητρικά φυτά (κλώνους) με αγενή πολλαπλασιασμό και τα οποία ο εμπειρισμός συνένωσε σε ένα κοινό όνομα (Νταβίδης 1982). Όμως, εξαιτίας της προέλευσης τους (από περισσότερα μητρικά φυτά – κλώνους), είναι πολυκλωνικής φύσης και γι' αυτό οι καλλιεργούμενες ποικιλίες αμπέλου παρουσιάζουν γενετική και φαινοτυπική παραλλακτικότητα που

δυσχεραίνουν τόσο την επιλογή του τυπικού δείγματος όσο και την αμπελογραφική περιγραφή τους.

Για το λόγο αυτό, ο ΟΙV καθιέρωσε ως αντικείμενο της αμπελογραφικής περιγραφής τον κλώνο ποικιλίας αμπέλου. Ο κλώνος ποικιλίας αμπέλου αποτελεί σύνολο ατόμων που προήλθαν με αγενή πολλαπλασιασμό από ένα και μόνο μητρικό φυτό (ακριβέστερα από ένα οφθαλμό) και το οποίο επιλέχτηκε για συγκεκριμένους χαρακτήρες, και έχουν τον ίδιο γονότυπο. Τα άτομα – φυτά του κλώνου είναι πιστά αντίγραφα του μητρικού φυτού σε ό,τι αφορά τους μορφολογικούς, φυσιολογικούς, παραγωγικούς χαρακτήρες και διακρίνονται από ομοιομορφία και γενετική σταθερότητα και μεταξύ τους και με το μητρικό φυτό.

Στο παρελθόν, οι αμπελογραφικές περιγραφές γίνονταν σε δείγμα που λαμβανόταν αυθαίρετα από τον πληθυσμό μιας ποικιλίας (ολοτυπικό δείγμα). Στη σύγχρονη αμπελογραφία, το δείγμα επιλέγεται έτσι ώστε να είναι αντιπροσωπευτικό της φαινοτυπικής διακύμανσης των ατόμων του πληθυσμού σε συγκεκριμένο καλλιεργητικό κέντρο (μεσοτυπικό δείγμα), η οποία προκαλείται από περιβαλλοντικούς και καλλιεργητικούς παράγοντες.

Η μετάβαση από τις πολυκλωνικής σύνθεσης καλλιεργούμενες ποικιλίες αμπέλου, οι οποίες αποτελούν πληθυσμό ατόμων με μεγάλη γενετική ποικιλομορφία, στον κλώνο ποικιλίας αμπέλου αποδείχτηκε καθοριστικής σημασίας για τη σύγχρονη αμπελογραφία και την παραγωγική αμπελουργία.

Κώδικας Αμπελογραφικής Περιγραφής

Η αμπελογραφική περιγραφή των ειδών και των ποικιλιών της αμπέλου παρουσιάζει, όπως αναφέρθηκε, σημαντικές δυσχέρειες ανάλογα με τους επιμέρους αντικειμενικούς στόχους και την επιλογή των διαφόρων χαρακτήρων προς περιγραφή. Επιπλέον, η μεγάλη παραλλακτικότητα των ειδών και των ποικιλιών αμπέλου και η πολυκλωνική σύνθεση των καλλιεργούμενων ποικιλιών του είδους *vinifera* καθιστά ακόμα πιο δύσκολο το έργο των αμπελογράφων και επιβάλλει την επιλογή ενός κοινά αποδεκτού συστήματος αμπελογραφικής περιγραφής.

Στην προσπάθεια επίλυσης του συγκεκριμένου προβλήματος, και μετά από την κοινή απόφαση του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (ΟΙV), της Διεθνούς Ένωσης για την Προστασία των Νέων Ποικιλιών των Φυτών (International Union for the Protection of New Varieties of Plants – UPOV) και της Διεθνούς Επιτροπής Διατήρησης Γενετικού Υλικού (Bioversity – παλαιότερα γνωστή ως International Plant Genetic Resources Institute IPGRI), υιοθετήθηκε κοινός Κώδικας Αμπελογραφικής Περιγραφής (Κ.Α.Π.) των ειδών και των ποικιλιών της αμπέλου για την ταυτοποίηση, τη διάκριση και ταξινόμησή τους (1997). Ο διεθνής Κώδικας Αμπελογραφικής Περιγραφής (Κ.Α.Π.) περιλαμβάνει περισσότερους από 140 χαρακτήρες. Για την αμπελογραφική περιγραφή των ειδών και των ποικιλιών, και σύμφωνα με την

τελευταία έκδοση, χρησιμοποιούνται περισσότεροι από 24 χαρακτήρες, ενώ εκτός από τους μορφολογικούς και αμπελογραφικούς χαρακτήρες, ο ΟΙV εντάσσει στον Κ.Α.Π., όπως αναφέρθηκε παραπάνω, και χαρακτήρες που αναφέρονται στην αμπελομετρία, στην αντοχή σε παθογόνους οργανισμούς, σε ισοενζυμικά συστήματα και σε μοριακούς δείκτες (ΟΙV 2009).

Στον κώδικα αυτό κάθε χαρακτήρας συνοδεύεται από ένα αριθμό του ΟΙV. Η περιγραφή γίνεται με συγκεκριμένη ορολογία που αντιστοιχεί σε συγκεκριμένο αριθμό (1 – 9). Με αυτό τον τρόπο, είναι δυνατή η ψηφιοποίηση των αμπελογραφικών περιγραφών των επιμέρους χαρακτήρων και η αξιοποίησή τους σε λογισμικό σύστημα, ανεξάρτητα από το είδος των χαρακτήρων που χρησιμοποιούνται. Στον πίνακα 6 δίνονται μερικοί από τους χαρακτήρες του Κ.Α.Π. με τις αντίστοιχες τιμές.

Πίνακας 6. Μερικοί αμπελογραφικοί χαρακτήρες του Κώδικα Αμπελογραφικής Περιγραφής σύμφωνα με τον ΟΙV (2009).

Κωδικός ΟΙV	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
001	Σχήμα νεαρής κορυφής	3:κλειστό, 5:μετρίως ανοιχτό, 7:ανοιχτό
003	Ένταση ανθοκυάνης στη νεαρή κορυφή	1:απουσία, 3:αδύνατη, 5:μέτρια, 7:δυνατή, 9:πολύ δυνατή
004	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων στη νεαρή κορυφή	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
011	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων στους κόμβους	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
016	Κατανομή ελίκων στο βλαστό	1:διαλείπουσες, 2:συνεχείς
051	Χρώμα άνω επιφάνειας νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1: πράσινο, 2: κίτρινο, 3: μπρούτζινο, 4: χάλκινο-ερυθρωπό
065	Μέγεθος αναπτυγμένου φύλλου	1:πολύ μικρό, 3:μικρό, 5:μέτριο, 7:μεγάλο, 9:πολύ μεγάλο
067	Σχήμα ελάσματος	1: καρδιόσχημο, 2: σφηνοειδές, 3: πενταγωνικό, 4: κυκλικό, 5: νεφροειδές
068	Αριθμός λοβών	1:κανείς, 2:τρεις, 3:πέντε, 4:επτά, 5:περισσότεροι από επτά
072	Ανωμαλίες του ελάσματος	1: απουσία ή πολύ αδύνατη, 3: αδύνατη, 5: μέτρια, 7: δυνατή, 9: πολύ δυνατή
073	Κυματισμός ελάσματος μεταξύ κύριων και δευτερευουσών νευρώσεων	1:απουσία, 9: παρουσία

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
075	Πομφολύγωση στην άνω επιφάνεια του ελάσματος	1:απουσία, 3:αδύνατη, 5:μέτρια, 7:δυνατή, 9:πολύ δυνατή
080	Σχήμα βάσης μισχικού κόλπου	1: U, 2: σχήμα αγκύλης (I), 3: V

Βιοχημικές Μέθοδοι

Ο διαχωρισμός των πρωτεϊνών στις ισοενζυμικές τους μορφές, ο οποίος πραγματοποιείται με τις κατάλληλες ηλεκτροφορητικές τεχνικές, αποτέλεσε ένα σημαντικό τρόπο γενετικής σήμανσης, διάκρισης και ταυτοποίησης πολλών φυτικών ειδών μεταξύ των οποίων και η άμπελος. Στην άμπελο, η μέθοδος εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το 1976 από τον Wolfe, ο οποίος χρησιμοποίησε ως ηλεκτροφορητικό υλικό τον χυμό των σταφυλών, ενώ αργότερα (Σταυρακάκης 1982) χρησιμοποιήθηκε ως ηλεκτροφορητικό υλικό η γύρη. Η γύρη παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα όπως αυτά της ευχέρειας της εκχύλισης, της επαναληπτικότητας των ηλεκτροφορικών φαινοτύπων, χωρίς βέβαια να λείπουν τα μειονεκτήματα (απλοειδής χαρακτήρας, δυσχέρειες συλλογής και διατήρησης κ.ά.).

Η επιτυχής εφαρμογή της μεθόδου απαιτεί την εκπλήρωση δύο προϋποθέσεων οι οποίες αποτελούν και περιοριστικούς παράγοντες για την εφαρμογή της. Η πρώτη προϋπόθεση είναι η απουσία γενετικής ποικιλομορφίας εντός των καλλιεργούμενων ποικιλιών και ταυτόχρονα η γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των ποικιλιών. Η δεύτερη προϋπόθεση είναι η σταθερότητα των ηλεκτροφορητικών ζωνών των υπό μελέτη ιστών. Με άλλα λόγια, γίνεται λόγος για ποσοτικές και ποιοτικές αλλαγές που παρατηρούνται στο ηλεκτροφόρημα με την αύξηση και την ανάπτυξη του ατόμου ή ανάλογα με το στάδιο και τις συνθήκες ανάπτυξης των ιστών, που αποτελούν περιοριστικό παράγοντα στην εφαρμογή της μεθόδου. Οι ποιοτικές αλλαγές αναφέρονται σε εξαφάνιση ηλεκτροφορητικών ζωνών ή εμφάνιση νέων, ενώ οι ποσοτικές αλλαγές αναφέρονται στο βαθμό και την ταχύτητα αντίδρασης των αλλοζύμων, που εκφράζονται σαν διαφορές στην ένταση εμφάνισης των ηλεκτροφορητικών ζωνών. Το πρόβλημα των ποσοτικών και ποιοτικών αλλαγών μπορεί να παρακαμφθεί με τη χρήση της γύρης ως ηλεκτροφορητικού γενετικού υλικού.

Οι βιοχημικές μέθοδοι χρησιμοποιήθηκαν ευρύτατα για την ταυτοποίηση πολλών ειδών φυτών, μεταξύ των οποίων και η άμπελος. Οι ενζυμικοί πολυμορφισμοί χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη της εντός και μεταξύ των ελληνικών ποικιλιών αμπέλου γενετικής ποικιλομορφίας (Stavrakakis and Loukas 1983, Loukas et al. 1983, Σταυρακάκης και Λουκάς 1985, Σταυρακάκης 1990 και 1991), με την

πρόοδο, όμως, της τεχνολογίας, η εφαρμογή των ενζυμικών πολυμορφισμών περιορίστηκε σημαντικά κυρίως λόγω του ότι οι πρωτεΐνες – δείκτες, ως προϊόντα μετάφρασης των γονιδίων, επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες, όπως το στάδιο ανάπτυξης του φυτού.

Μοριακές μέθοδοι

Με την εξέλιξη της μοριακής βιολογίας, αναπτύχθηκε και εδραιώθηκε η χρήση των γενετικών και των μοριακών δεικτών. Οι DNA μοριακοί δείκτες αναφέρονται απευθείας στο γενετικό υλικό και βασίζονται σε διαφορές στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων (βάσεων) των μορίων DNA που περιέχονται στα κύτταρα των οργανισμών. Οι DNA μοριακοί δείκτες και οι μέθοδοι προσδιορισμού τους έχουν αποτελέσει τα τελευταία χρόνια ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για τη σύνθεση γενετικών χαρτών. Τα συστήματα και τα είδη μοριακών δεικτών είναι πολλά και η χρησιμοποίηση, ο συνδυασμός και η αποτελεσματικότητά τους εξαρτώνται αποκλειστικά από τα μέσα τα οποία έχει ο ερευνητής για το συγκεκριμένο φυτικό είδος που μελετά (Καλαντίδης κ.ά. 2009).

Η εφαρμογή των νέων αυτών μεθόδων βοήθησε ώστε να επιτευχθεί η όσο το δυνατόν πιο ακριβής ταυτοποίηση των ποικιλιών αμπέλου σε σχέση με τις βιοχημικές μεθόδους. Όπως είναι γνωστό, το DNA ενός φυτού είναι το ίδιο σε όλα τα κύτταρα, σε κάθε ιστό και σε κάθε στάδιο ανάπτυξης ενός οργανισμού. Κατ' επέκταση, και εφόσον δεν συμβεί κάποια μετάλλαξη, το DNA παραμένει αναλλοίωτο, αμετάβλητο και δεν επηρεάζεται από εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, με αποτέλεσμα να καθίσταται καταλληλότερο για τη μελέτη και τη διάκριση των ποικιλιών. Μέχρι και πριν από κάποια χρόνια, η απομόνωση του DNA από φυτικά κύτταρα ήταν μια δύσκολη διαδικασία. Σήμερα, το γενετικό υλικό μπορεί να απομονωθεί από κάθε διαθέσιμο είδος φυτικού ιστού. Ακόμα και στο φυτό της αμπέλου, στο οποίο η απομόνωση DNA παρουσίαζε σημαντικές δυσχέρειες, σήμερα λαμβάνεται με ευχέρεια γενετικό υλικό από φύλλα, κληματίδες, κ.ά. (Marsal et al. 2011).

Οι μοριακοί δείκτες είναι τυχαία επιλεγμένα τμήματα του DNA, δεν επηρεάζονται από το μορφολογικό στάδιο των ιστών και το περιβάλλον, αξιοποιούν τον πολυμορφισμό που παρουσιάζεται στην αλληλουχία των βάσεων του DNA και παρουσιάζουν συγκριτικά πλεονεκτήματα έναντι των βιοχημικών ή άλλων δεικτών (Χατζόπουλος 2001, Agarwal et al. 2008).

Οι βασικές μοριακές μέθοδοι ή τεχνικές μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες, στις τεχνικές που βασίζονται στην αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμέρασης (PCR-based techniques, όπως οι RAPD, AFLP, SSR, κ.ά.) και στις τεχνικές υβριδισμού (non PCR-based techniques, όπως οι RFLP, SSCP, κ.ά.)

Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction – PCR)

Κομβικό σημείο τόσο για την περαιτέρω εξέλιξη όσο και για την καθιέρωση των μοριακών μεθόδων ήταν η ανακάλυψη της Αλυσιδωτής Αντίδρασης της Πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction – PCR) (Mullis and Fallona 1986, Mullis et al. 1987). Η PCR είναι μια απλή, αλλά με μεγάλες πιθανότητες επιτυχίας τεχνική, η οποία ενισχύει μια επιθυμητή αλληλουχία βάσεων DNA (DNA – στόχος) εκατομμύρια φορές σε μερικές μόνο ώρες. Η όλη διαδικασία ολοκληρώνεται σε τρία στάδια, την *Αποδιάταξη (Denaturation)*, τον *Υβριδισμό ή Αναδιάταξη (Annealing)* και την *Επιμήκυνση ή Πολυμερισμό (Extension)*, τα οποία αποτελούν ένα κύκλο.

Οι κύκλοι σε μια αντίδραση PCR μπορούν να φτάσουν τους 40. Το μείγμα της αντίδρασης περιέχει δις-απιονισμένο και αποστειρωμένο νερό, ρυθμιστικό διάλυμα με χλωριούχο μαγνήσιο (MgCl₂), εκκινητές, μείγμα δεοξυνουκλεοτίδων (dNTPs) και DNA πολυμεράση.

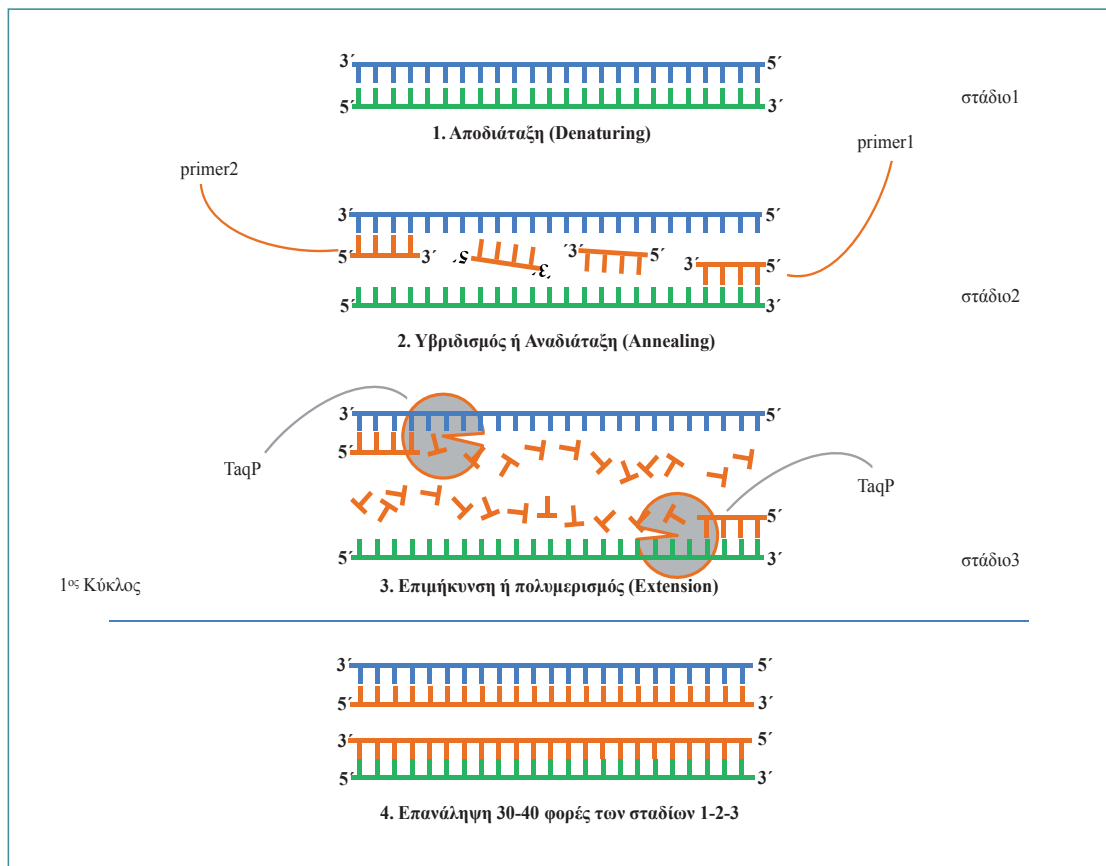
Στο πρώτο βήμα του κύκλου γίνεται αποδιάταξη του DNA που έχει απομονωθεί από το δείγμα, αυξάνοντας τη θερμοκρασία της αντίδρασης στους 94°C. Με αυτό τον τρόπο διασπώνται οι υδρογονικοί δεσμοί και απομακρύνονται οι συμπληρωματικοί κλώνοι του DNA, με αποτέλεσμα να υπάρχουν μονόκλωνες αλυσίδες DNA. Η θερμοκρασία και ο χρόνος αποδιάταξης καθορίζονται από τον συνολικό αριθμό G+C βάσεων (όσο περισσότερες G+C βάσεις, τόσο μεγαλύτερη θερμοκρασία απαιτείται) και από το συνολικό μήκος των μορίων DNA (όσο μεγαλύτερο το μήκος των μορίων DNA, τόσο περισσότερος χρόνος απαιτείται).

Στο δεύτερο βήμα, με μείωση της θερμοκρασίας επιτυγχάνεται ο υβριδισμός των εκκινητών με την αλληλουχία του DNA (καθώς οι εκκινητές αποτελούνται από διαφορετικές και μη συμπληρωματικές αλληλουχίες, δεν υβριδίζονται μεταξύ τους αλλά με τις συμπληρωματικές μονόκλωνες αλληλουχίες του DNA). Η θερμοκρασία υβριδισμού είναι πολύ σημαντική, καθώς σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες, οι εκκινητές υβριδίζονται ελάχιστα με αποτέλεσμα να έχουμε μικρή ποσότητα ενισχυμένου DNA, ενώ σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες οι εκκινητές υβριδίζονται τυχαία με αποτέλεσμα να ενισχυθούν και μη επιθυμητά τμήματα DNA. Ο υβριδισμός συνήθως γίνεται 3-5°C χαμηλότερα από την υπολογιζόμενη θερμοκρασία τήξης στην οποία οι εκκινητές διαχωρίζονται μεταξύ τους. Υπάρχουν πολλοί τύποι που υπολογίζουν τη θεωρητική θερμοκρασία τήξης, αλλά κανένας δεν είναι ακριβής για τους διάφορους εκκινητές διαφορετικών μηκών και αλληλουχιών. Η πλέον απλή και εύκολη είναι μια εμπειρική εξίσωση, γνωστή ως “The Wallace Rule” (Sambrook and Russell 2001):

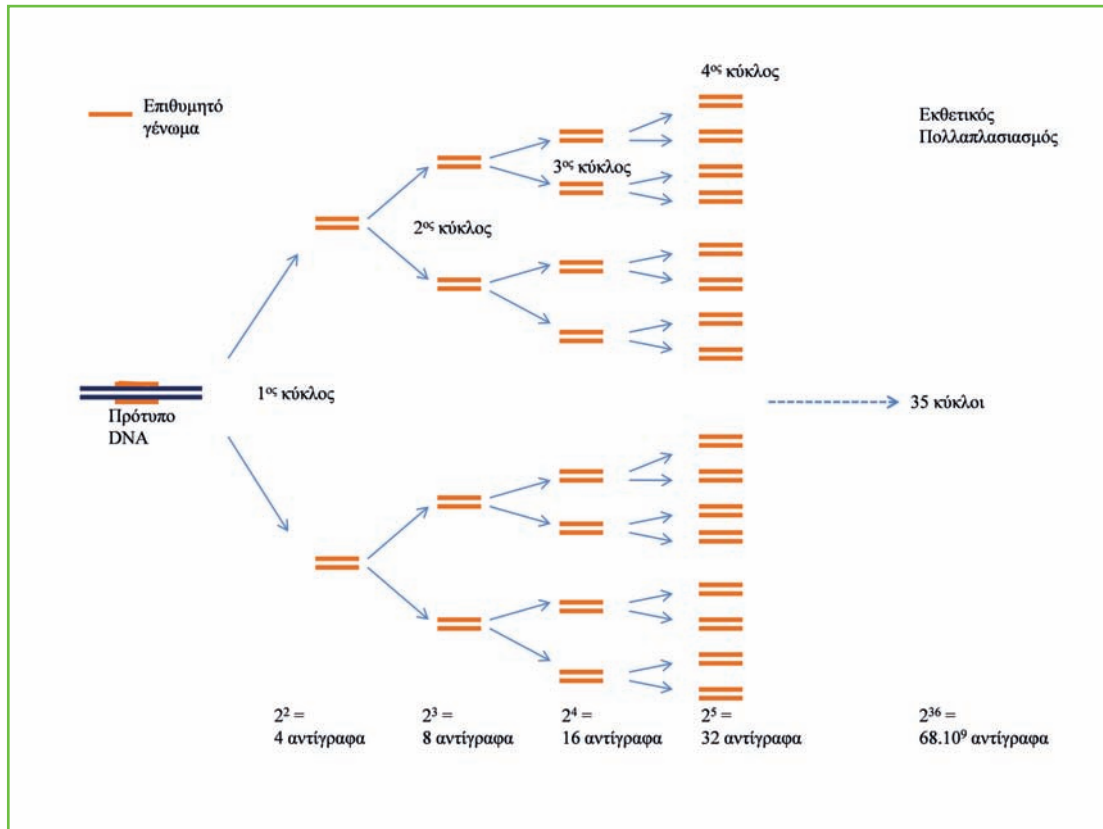
$$T_m \text{ (σε } ^\circ\text{C)} = 2(A+T) + 4(G+C)$$

όπου A+T το άθροισμα των A και T βάσεων και G+C το άθροισμα των G και C βάσεων αντίστοιχα.

Στο τρίτο και τελευταίο βήμα πραγματοποιείται η σύνθεση των συμπληρωματικών κλώνων του DNA σε θερμοκρασία 72°C. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση του ενζύμου DNA πολυμεράση που επιτρέπει τη σύνθεση του DNA με κατεύθυνση 5' προς 3' (εικόνες 3 και 4).



Εικόνα 3. Στάδια της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης.



Εικόνα 4. Εκθετικός πολλαπλασιασμός του DNA-στόχου.

Τεχνικές βασισμένες σε PCR

Μετά την ανακάλυψη της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμέρασης (PCR) και χάρη στην απλότητα και στην αποτελεσματικότητα της μεθόδου, η προσοχή στράφηκε στη δημιουργία μοριακών δεικτών οι οποίοι θα αξιοποιούσαν στο μέγιστο τις δυνατότητες της νέας τεχνολογίας. Με τη χρήση των τυχαίων εκκινητών δεν απαιτείται η εκ των προτέρων γνώση της αλληλουχίας του DNA για την PCR ανάλυση, επιτρέποντας, έτσι, την ανάπτυξη μοριακών δεικτών για πληθώρα εφαρμογών. Ταυτόχρονα, όμως, αναπτύχθηκαν και δείκτες με εξειδικευμένες στοχευμένες αλληλουχίες.

Δείκτες βασισμένοι στην PCR με τυχαίους εκκινητές

Τυχαία Ενισχυμένο Πολυμορφικό DNA Random Amplified Polymorphic DNA (RAPDs)

Η τεχνολογία για την ενίσχυση διακριτών γονιδιακών τόπων με μοναδικούς ολιγονουκλεοτιδικούς τυχαίους εκκινητές, άρχισε να χρησιμοποιείται από τους ερευνητές εκτεταμένα λόγω της απλότητας της τεχνικής και του γεγονότος ότι απαιτείται βασικός εξοπλισμός. Η μέθοδος RAPD περιεγράφηκε αρχικά από τους Williams et al. (1990)

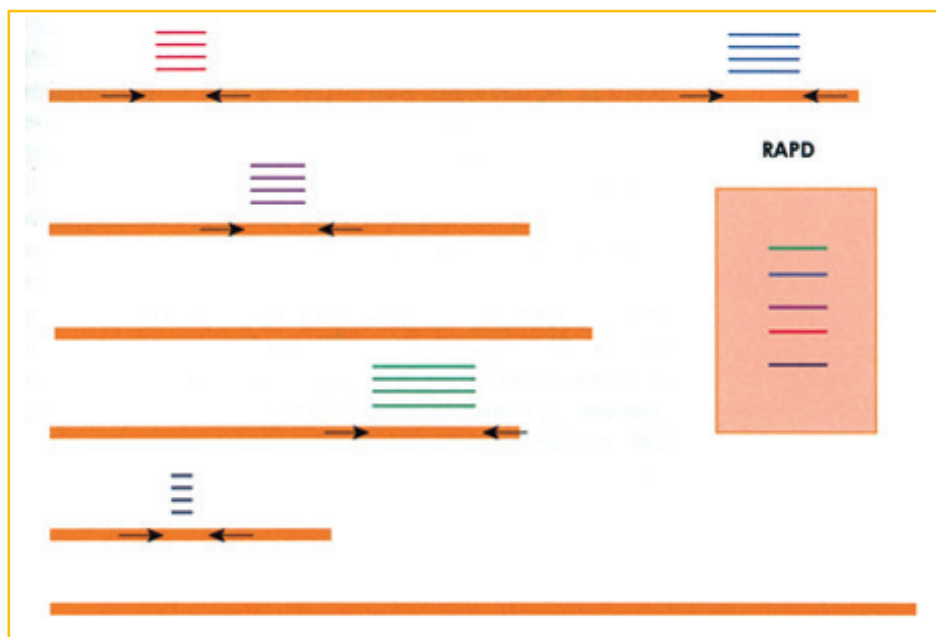
Η ενίσχυση του τυχαίου πολυμορφικού DNA, με την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (RAPD – PCR), χρησιμοποιείται ως μήτρα αντιγραφής γονιδιωματικό DNA και ένας τυχαίος εκκινητής. Κάθε εκκινητής έχει μια καθορισμένη αλληλουχία, αλλά η αλληλουχία αυτή είναι τυχαία. Έτσι, δυνητικά, υπάρχει ένας απεριόριστος αριθμός εκκινητών RAPD με συγκεκριμένες αλληλουχίες. Οι εκκινητές μπορεί να υβριδίζουν σε εκατοντάδες θέσεις μέσα στο γονιδίωμα, όμως μόνο εκείνοι που υβριδίζουν σε δύο θέσεις στις αντίθετες αλυσίδες του DNA μέσα σε 50 έως 3000 βάσεις έχουν τη δυνατότητα παραγωγής και εμφάνισης ζωνών PCR. Τα προϊόντα αυτής της αντίδρασης είναι διακριτά DNA τμήματα τα οποία διαχωρίζονται ηλεκτροφορητικά. Κάθε προϊόν από αυτή την αντίδραση PCR, προέρχεται από μία περιοχή του γονιδιώματος στην οποία εδράζονται δύο μικρού μήκους τμήματα DNA τα οποία αναγνωρίζει ο εκκινητής, βρίσκονται σε αντιπαράλληλες αλυσίδες και έχουν ικανή απόσταση μεταξύ τους, ώστε να είναι τεχνικά δυνατή η αντιγραφή του (εικόνα 5) (Καλαντίδης κ.ά. 2009).

Συνοπτικά, η μέθοδος RAPD περιλαμβάνει : α) την εξαγωγή του DNA, β) τη χρήση των εκκινητών (primers), γ) την ενίσχυση του DNA (PCR) και δ) την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε πηκτή αγαρόζης ή και πολυακρυλαμίδης μετά από χρώση συνήθως με βρωμιούχο αιθίδιο (Thomas et al. 1993).

Χρησιμοποιώντας μικρού μήκους εκκινητές (δεκαμερή) και χαμηλές θερμοκρασίες αποδιάταξης κατά την PCR, επιτυγχάνεται η τυχαία ενίσχυση τμημάτων με ευρεία διασπορά στο γονιδίωμα. Οι πολυμορφισμοί ανάμεσα σε δύο διαφορετικά γονιδιώματα, προκύπτουν από τις διαφορές στις γονιδιωματικές αλληλουχίες – στόχους των εκκινητών και γίνονται ορατοί με την παρουσία ή απουσία, κατά την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων, ζωνών RAPD. Η τεχνική αυτή επέτρεψε στους ερευνητές τον εντοπισμό νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών σε πολύ μεγάλο αριθμό γονιδιακών τόπων, με γρήγορο και αποδοτικό τρόπο.

Η μέθοδος RAPD παρουσιάζει συγκριτικά πλεονεκτήματα, όπως είναι η απλότητα εφαρμογής, η ταχύτητα, το μικρότερο κόστος εξαιτίας των οποίων χρησιμοποιείται ευρέως.

Η μέθοδος, όμως, προϋποθέτει την αυστηρή εφαρμογή του πρωτοκόλλου ώστε να διασφαλίζεται η σταθερότητα και η επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων



Εικόνα 5. Βασική αρχή ανάλυσης με RAPD. Σε έξι διαφορετικά χρωμοσώματα (κίτρινο) ένας τυχαίος εκκινητής (μαύρο βέλος) αναγνωρίζει συμπληρωματικές αλληλουχίες, σε ικανή απόσταση μεταξύ τους, για να ενισχυθούν με PCR, σε τέσσερα από αυτά. Οι ζώνες με διαφορετικό χρώμα πάνω από κάθε ζεύγος εκκινητών αντιπροσωπεύουν τμήματα ενίσχυσης διαφορετικού μεγέθους. Η ηλεκτροφορητική τους ανάλυση θα δώσει ένα χαρακτηριστικό ζωνικό πρότυπο (Καλαντίδης κ.ά. 2009).

αφού ακόμα και μικρές αλλαγές στις συγκεντρώσεις του DNA, των εκκινητών και της πολυμεράσης, αλλά και των συνθηκών ενίσχυσης του πολυμορφικού DNA, μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα (Μπινιάρη 2000). Επίσης, τα διάφορα ερευνητικά εργαστήρια χρησιμοποιούν διαφορετικές μεθοδολογίες για την απομόνωση του DNA, διαφορετικές θερμοανεκτικές DNA πολυμεράσες (από διαφορετικές εταιρείες κ.λπ.) και διαφορετικές PCR συσκευές με αποτέλεσμα να προκύπτουν μη συγκρίσιμα αποτελέσματα (Bardakci 2001).

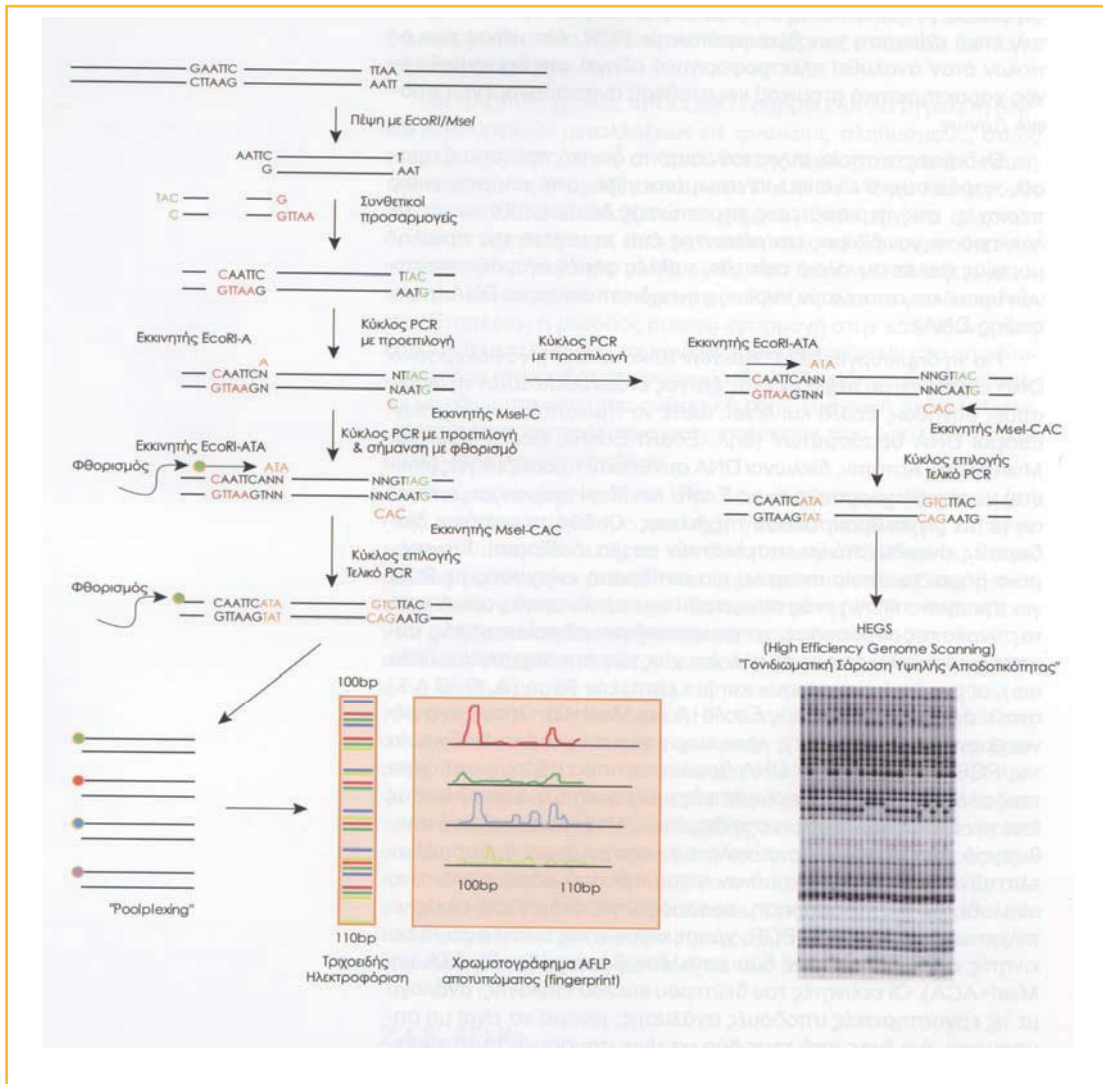
Τα RAPDs έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα σε πολύ μεγάλο αριθμό φυτικών ειδών, για την κατασκευή γενετικών χαρτών σύνδεσης, το χαρακτηρισμό ποικιλιών, την αξιολόγηση της γενετικής ποικιλομορφίας σε διαφορετικούς πληθυσμούς και είδη, αλλά και σε φυλογενετικές μελέτες ειδών, υποειδών και ποικιλιών. Έτσι, οι εφαρμογές αυτές οδήγησαν σε εξειδικευμένους δείκτες, χαρακτηριστικούς για είδη, γονιδιώματα και χρωμοσώματα, αλλά κυρίως σε μοριακούς δείκτες για τον εντοπισμό και την επιλογή επιθυμητών γονοτύπων για μια πληθώρα χαρακτηριστικών.

Ειδικότερα στην άμπελο, οι πρώτες εφαρμογές της μεθόδου ξεκίνησαν το 1993 και από τότε η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα για τη γενετική μελέτη των ειδών, των ποικιλιών και των υποκειμένων αμπέλου (Collins and Symons 1993, Jean-

Jacques et al. 1993, Grando et al. 1995, Qu et al. 1996, This et al. 1997, Shubhada et al. 2001, Ergul et al. 2002), με ικανοποιητικά αποτελέσματα. Και στην Ελλάδα, η μέθοδος εφαρμόστηκε με επιτυχία για την ταυτοποίηση και διάκριση ομάδων καλλιεργούμενων ελληνικών ποικιλιών αμπέλου (Stavrakakis et al. 1997, Stavrakakis et al. 1998, Σταυρακάκης και Μπινιάρη 1998, Σταυρακάκης κ.ά. 1999, Μπινιάρη 2000, Biniari and Stavrakakis 2013).

Πολυμορφισμός Μήκους Ενισχυμένων Τμημάτων (Θραυσμάτων) DNA Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLPs)

Ο πολυμορφισμός μήκους PCR – ενισχυμένων θραυσμάτων DNA είναι μια μέθοδος χαρτογράφησης με μοριακούς δείκτες που χρησιμοποιείται εκτεταμένα στη γενετική πληθυσμών, στη φυλογενετική, στη χαρτογράφηση σύνδεσης (linkage mapping), καθώς και στην ανάπτυξη PCR δεικτών μοναδικών γονιδιακών τόπων (single – locus PCR markers). Οι δείκτες AFLP δημιουργούνται ύστερα από πλήρη πέψη ολικού γονιδιωματικού DNA με ένζυμα περιορισμού και την επιλεκτική ενίσχυση των θραυσμάτων με PCR, ένα μέρος των οποίων όταν αναλυθεί ηλεκτροφορητικά οδηγεί στη δημιουργία ενός χαρακτηριστικά ατομικού και σταθερά αναπαραγόμενου προτύπου ζωνών. Κατά μια έννοια, η μέθοδος AFLP αποτελεί ένα συνδυασμό των μεθόδων RAPD και RFLP, αφού βασίζεται στην επιλεκτική ενίσχυση μιας υποομάδας τμημάτων DNA που έχουν παραχθεί με την πέψη του γονιδιωματικού DNA από ένζυμα περιορισμού. Με αυτό τον τρόπο, οι πολυμορφισμοί ταυτοποιούνται με μεγάλη αποτελεσματικότητα λόγω των διαφορών που προκύπτουν στο μέγεθος των ενισχυμένων τμημάτων με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης (Vos et al. 1995), και τελευταία σε αυτόματους αναλυτές γονιδιώματος (genetic analyzer). Η μεθοδολογία αυτή επιτρέπει την ταυτόχρονη ενίσχυση πολλών περιορισμένων τμημάτων DNA σε μια αντίδραση PCR.



Εικόνα 6. Διαγραμματική απεικόνιση της τεχνικής AFLP (Καλαντίδης κ.ά. 2009).

Συνοπτικά, για τη δημιουργία AFLP δεικτών (εικόνα 6), γονιδιωματικό DNA υπόκειται σε πέψη με ένα ζεύγος ενδονουκλεασών περιορισμού, συνήθως EcoRI και MseI, ώστε να προκύπτουν τρεις πληθυσμοί DNA θραυσμάτων (δηλαδή EcoRI – EcoRI, EcoRI – MseI και MseI – MseI). Στη συνέχεια, δίκλωνοι DNA συνθετικοί προσαρμογείς (adaptors ή linkers) με συμπληρωματικά άκρα EcoRI και MseI ενώνονται με λιγάση με το μίγμα θραυσμάτων της πέψης. Οι δύο παραπάνω διαδικασίες είναι δυνατό να επιτελεστούν σε μία αντίδραση. Στο επόμενο βήμα, το οποίο αποτελεί μια αντίδραση ενίσχυσης με PCR για την προ-επιλογή ενός συγκεκριμένου πληθυσμού μορίων από το σύνολο της αντίδρασης, χρησιμοποιούνται ειδικοί εκκινητές, συμπληρωματικοί ως προς τις αλληλουχίες των προσαρμογέων, οι οποίοι όμως φέρουν και μια επιπλέον βάση (A, G, C ή T) στο 3' άκρο τους (συνήθως EcoRI+A και MseI+C). Οι συγκεκριμένοι εκκινητές προεπιλογής “pre-ampl primers” κατά τη διαδικασία της PCR θα ενισχύσουν DNA θραύσματα που φέρουν στα άκρα τους αλληλουχίες συμπληρωματικές των εκκινητών ελαττώνοντας

έτσι τον αριθμό των μορίων στο περίπου 1/16 του συνολικού πληθυσμού. Στη συνέχεια, το σύνολο των ενισχυμένων θραυσμάτων ελαττώνεται περαιτέρω σε ένα υποπληθυσμό μορίων ικανό να αναλυθεί με ηλεκτροφόρηση, εφαρμόζοντας ακόμη ένα κύκλο επιλεκτικής ενίσχυσης με PCR, χρησιμοποιώντας αυτή τη φορά εκκινητές οι οποίοι φέρουν δύο επιπλέον βάσεις (EcoRI+ATA και MseI+ACA). Οι εκκινητές του δεύτερου κύκλου επιλογής, ανάλογα με τις εργαστηριακές υποδομές ανάλυσης, μπορεί να είναι μη σημασμένοι, ή ο ένας από τους δύο να είναι σημασμένος με φθορισμό. Στην πρώτη περίπτωση ακολουθείται ανάλυση τύπου HEGS (High Efficiency Genome Scanning) σε μη – αποδιατακτικές πηκτές πολυακρυλαμίδης και ερμηνεία των αποτελεσμάτων ύστερα από χρώση με νιτρικό άργυρο (silver staining) ή κάποια φθορίζουσα χρωστική. Στη δεύτερη περίπτωση, ο ένας από τους δύο εκκινητές (EcoRI+ATA) είναι σημασμένος με μια φθορίζουσα χρωστική (fluorophore), ώστε όλες οι DNA αλυσίδες που συντίθεται με αυτό τον εκκινητή να είναι αντίστοιχα σημασμένες (δηλαδή η μία αλυσίδα από τα θραύσματα EcoRI – MseI και οι δύο αλυσίδες από τα θραύσματα EcoRI – EcoRI). Χρησιμοποιώντας διαφορετικούς συνδυασμούς εκκινητών με διαφορετικές πρόσθετες βάσεις επιλογής μπορούν να συντεθούν εναλλακτικοί υποπληθυσμοί γονιδιακών τόπων. Για κάθε δείγμα που αναλύεται, μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικοί EcoRI+3βάσεις εκκινητές με διαφορετικές σε κάθε περίπτωση φθορίζουσες χρωστικές σήμανσης, κάτι που διευκολύνει και επιτρέπει την ταυτόχρονη ανάλυση με τριχοειδή ηλεκτροφόρηση (capillary electrophoresis) σύμμεικτων PCR – ενισχυμένων πληθυσμών (pools) (Καλαντίδης κ.ά. 2009).

Ο αριθμός των δεικτών AFLP που παράγονται με την τεχνική των AFLPs είναι μεγαλύτερος από αυτούς που παράγονται από τις άλλες τεχνικές που χρησιμοποιούν την PCR (σε σχέση για παράδειγμα με τα RAPDs). Η ικανότητα ταυτόχρονης ανάλυσης μεγάλου αριθμού πολυμορφικών τόπων (loci), δηλαδή ο αριθμός των πολυμορφικών τόπων που αναλύονται ανά πείραμα με ένα μόνο συνδυασμό εκκινητών σε μια ηλεκτροφόρηση, επιβεβαιώνει την υψηλή αξία της τεχνικής σε σύγκριση με άλλες μεθόδους ανάλυσης. Τα αποτελέσματα της μεθόδου μπορεί να είναι επαναλήψιμα, όμως ολόκληρη η διαδικασία είναι σχετικά δύσκολη, με σχετικά υψηλό κόστος και απαιτεί μεγάλη ποσότητα γονιδιωματικού DNA καλής ποιότητας (Χατζόπουλος 2001).

Η μέθοδος AFLP έχει χρησιμοποιηθεί στην άμπελο με ιδιαίτερη επιτυχία τόσο για την ταυτοποίηση και διάκριση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου και τον προσδιορισμό του βαθμού γενετικής ομοιότητας όσο και κυρίως για τη μελέτη της εντός της ποικιλίας γενετικής ποικιλομορφίας και τη διάκριση των κλώνων στις πολυκλωνικές ποικιλίες και τα υποκείμενα αμπέλου (Vignani et al. 2002, Imazio et al. 2002, Fanizza et al. 2005, Blaiçh et al. 2007, Stenkamp et al. 2009, Alba et al. 2011, Anhalt et al. 2011, Meneghetti et al. 2012, Shinde et al. 2013).

Δείκτες βασισμένοι στην PCR με εξειδικευμένες στοχευμένες αλληλουχίες

Στο γονιδίωμα των ευκαρυωτικών οργανισμών, εκτός από το ρυθμιστικό DNA που είναι απαραίτητο για τη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων, διακρίνονται αλληλουχίες οι οποίες επαναλαμβάνονται σε περισσότερα από ένα αντίγραφα. Αυτές οι αλληλουχίες ονομάζονται *επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες*, βρίσκονται τυχαία διασκορπισμένες στο γονιδίωμα των περισσότερων οργανισμών, μεταξύ των οποίων και των φυτών (Wang et al. 1994). Το επαναλαμβανόμενο DNA μπορεί να διακριθεί σε τρεις κατηγορίες (Tautz 1993): το δορυφορικό DNA (satellite DNA), τους μινιδορυφόρους (minisatellites) και τους μικροδορυφόρους (microsatellites) ή απλές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (simple sequence repeats). Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον, σε ό,τι αφορά τη γενετική μελέτη των διαφόρων οργανισμών, παρουσιάζουν οι μικροδορυφόροι.

Οι μικροδορυφόροι ερευνήθηκαν για το κατά πόσο μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως sequence-tagged site (STS)–μοριακοί δείκτες για να προσδιοριστεί η δυνατότητα γενετικής ανάλυσης του γονιδιώματος των φυτών, συμπεριλαμβανομένου και του φυτού της αμπέλου (Thomas and Scott 1993, Thomas et al. 1998).

Με τον όρο STS (στα ελληνικά έχει αποδοθεί με τον όρο μικροπινακίδες αλληλουχιών) περιγράφονται τμήματα DNA 200 – 500 βάσεων τα οποία έχουν αντιγραφεί και εντοπιστεί με PCR, παρουσία του συνόλου του γονιδιωματικού υπόβαθρου στο οποίο ανήκουν (δηλαδή έχουν ενισχυθεί από γονιδιωματικό DNA) και η θέση τους στο γονιδίωμα έχει ήδη χαρτογραφεί. Το πλεονέκτημα των STS σε σχέση με άλλους δείκτες χαρτογράφησης είναι ότι ο τρόπος ελέγχου της παρουσίας τους μπορεί να περιγραφεί πλήρως ως πληροφορία σε μια βάση δεδομένων. Με αυτό τον τρόπο, ο κάθε ενδιαφερόμενος αναζητά το STS στη βάση δεδομένων, συνθέτει τους συγκεκριμένους εκκινητές και ενισχύει με PCR το συγκεκριμένο STS από γονιδιωματικό DNA, σύμφωνα με τις συνθήκες που περιγράφονται στην καταχώρηση της βάσης. Η διαδικασία αυτή οδηγεί σε ένα απλό και επαναλήψιμο ζωνικό πρότυπο μετά από ηλεκτροφόρηση. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι δείκτες STS είναι συνυπερέχοντες, επιτρέποντας έτσι τη διάκριση των ετεροζυγωτών από τους δύο ομοζυγώτες (Καλαντίδης κ.ά. 2009).

Μικροδορυφόροι

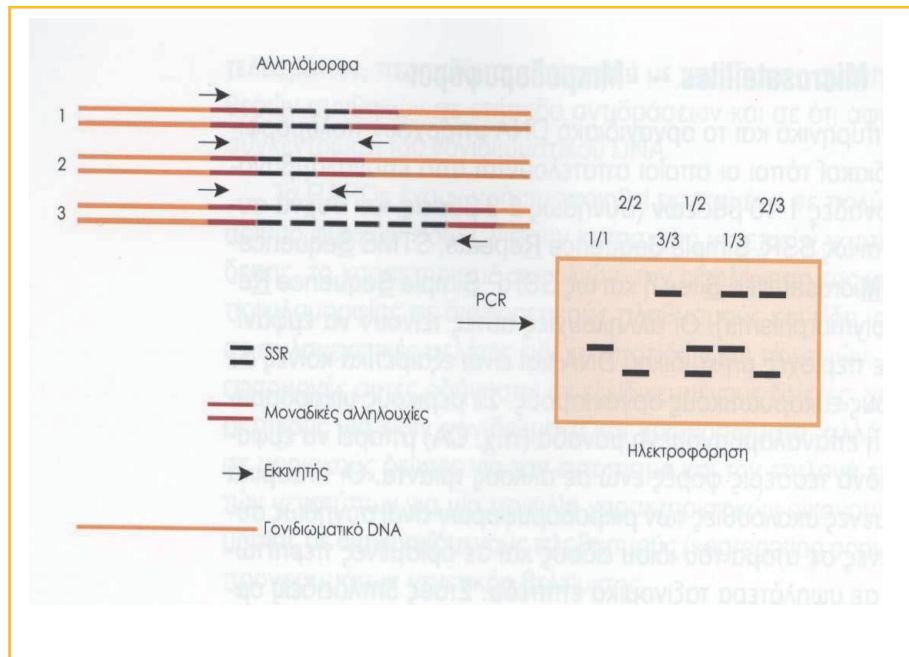
Microsatellites ή Simple Sequence Repeats (SSR) ή Sequence-Tagged Microsatellites Sites (STMS) ή Simple Sequence Repeats Polymorphisms (SSRP)

Στο πυρηνικό και οργανιδιακό DNA υπάρχουν πολυμορφικοί γονιδιακοί τόποι οι οποίοι αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες μονάδες 1-10 βάσεων (συνήθως 2-3 βάσεις). Οι αλληλουχίες αυτές τείνουν να εμφανίζονται σε περιοχές μη-κωδικού DNA και είναι κοινές σε όλους τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Σε μερικούς μικροδορυφόρους η επαναλαμβανόμενη μονάδα (π.χ. CA) μπορεί να εμφανίζεται μόνο τέσσερις φορές ενώ σε άλλους τριάντα.

Οι μικροδορυφόροι αποτελούν σημαντικούς γενετικούς δείκτες διότι: α) οι διαφορές στον αριθμό των επαναλήψεων έχουν σαν αποτέλεσμα πολλαπλά αλληλόμορφα για ένα γονιδιακό τόπο, β) κληρονομούνται με μενδελιακό τρόπο, γ) χαρακτηρίζονται από επαναληψιμότητα. Ο γενικά υψηλός βαθμός ετεροζυγωτίας και μετάλλαξης τους εξασφαλίζει και αντίστοιχα υψηλό βαθμό πολυμορφισμού και επομένως αποτελούν χρήσιμο εργαλείο για τη γενετική μελέτη.

Ο πιο κοινός τρόπος για την ανίχνευση των μικροδορυφόρων είναι με χρησιμοποίηση εκκινητών που είναι μοναδικοί για ένα γονιδιακό τόπο και διαθέτουν συμπληρωματική αλληλουχία από την άλλη πλευρά της επανάληψης (εικόνα 7). Έτσι, για κάθε διαφορετικό άτομο του είδους θα ταιριάζει ένα και μοναδικό ζευγάρι εκκινητών και θα παράγει προϊόντα διαφορετικού μεγέθους για κάθε διαφορετικό μήκος επανάληψης που περιέχει ο μικροδορυφόρος (Καλαντίδης κ.ά. 2009).

Οι μικροδορυφόροι έχουν χρησιμοποιηθεί για τη γενετική μελέτη πολλών φυτών καθώς και στην άμπελο. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί και μικροδορυφορικοί δείκτες από διάφορους ερευνητές (Bowers et al. 1996 και 1999, Sefc et al. 1999, This et al. 2004, Merdinoglu et al. 2005). Πρώτος ο Thomas ανακάλυψε τη χρήση του επαναλαμβανόμενου DNA για την ταυτοποίηση ποικιλιών αμπέλου (Thomas et al. 1993), ενώ αργότερα εργασίες έδειξαν ότι και στο φυτό της αμπέλου τα μικροδορυφορικά αλληλόμορφα μπορούν να κληρονομηθούν κατά τον συγκυρίαρχο μενδελιακό τρόπο, επιτρέποντας την επιβεβαίωση ή την απόρριψη υποτιθέμενων γονέων μιας ποικιλίας, εξετάζοντας το μικροδορυφορικό προφίλ τους (Sefc 2001). Ταυτόχρονα, η μελέτη των γενετικών σχέσεων (π.χ. γονεϊκή ποικιλία) και η δημιουργία γενεαλογικών δέντρων μεταξύ των ποικιλιών έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τους ερευνητές και οι μικροδορυφόροι αποτελούν χρήσιμο εργαλείο προς αυτή την κατεύθυνση (Thomas et al. 1994, Bowers and Meredith 1997, Sefc et al. 1998, Bowers et al. 1999, Boursiquot et al. 2009).



Εικόνα 7. Γενικό σχήμα ανίχνευσης μικροδορυφόρων από γονιδιωματικό DNA (Καλαντίδης κ.ά. 2009).

Εξαιτίας της υψηλής διακριτικής ικανότητας της μικροδορυφορικής ανάλυσης, η εύρεση δύο ταυτόσημων γονοτύπων δύο διαφορετικών ατόμων αποτελεί απόδειξη ότι τα άτομα αυτά ανήκουν στην ίδια ποικιλία. Συνεπώς, η μικροδορυφορική ανάλυση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προσδιοριστεί η ταυτότητα μιας ποικιλίας, αλλά και για να ταυτοποιηθεί μια άγνωστη ποικιλία συγκρίνοντας το γονότυπό της με αναφερόμενους γονότυπους από γνωστές βάσεις δεδομένων.

Επιπλέον, η μικροδορυφορική ανάλυση μπορεί να εφαρμοστεί και για την επιβεβαίωση και τον προσδιορισμό συνωνύμων (Sefc 2001), ενώ με επιτυχία πλέον μπορεί να γίνει διάκριση και ταυτοποίηση όχι μόνο σε επίπεδο ποικιλιών αμπέλου (Botta et al. 1995, Giannetto et al. 2010, Stajner et al. 2011, De Lorenzis et al. 2013), αλλά και σε επίπεδο κλώνων ποικιλιών (Meneghetti et al. 2012 και 2013, Shinde et al. 2013). Και στην Ελλάδα έχουν πραγματοποιηθεί ερευνητικές εργασίες με τη χρήση των μικροδορυφόρων με σκοπό τη διάκριση ελληνικών ποικιλιών αμπέλου (Αναγνωστόπουλος 2003, Αβαγιαννέλη 2005, Σταυρακάκη 2008).

Τεχνικές μη βασισμένες σε PCR

Πολυμορφισμός Μήκους Περιοριστικών Τμημάτων (θραυσμάτων) DNA Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLPs)

Η μέθοδος RFLP ανιχνεύει πολυμορφισμούς στο DNA με τη χρησιμοποίηση ενζύμων περιορισμού τα οποία προκαλούν την πέψη του DNA και στη συνέχεια, γίνεται υβριδισμός των παραγόμενων DNA προϊόντων με τους κατάλληλους ανιχνευτές. Η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση ποικιλιών, τον προσδιορισμό του τύπου καταγωγής ενός συγκεκριμένου φυτού (είδος ή ποικιλία) καθώς και για την ανάπτυξη δεικτών για τη χαρτογράφηση του γενετικού υλικού.

Οι δείκτες RFLP ήταν από τους πρώτους γενετικούς δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν σε μελέτες σύνδεσης γονιδιακών τόπων. Οι δείκτες αυτοί είναι το αποτέλεσμα μεταλλάξεων οι οποίες δημιουργούν (ή και καταστρέφουν) στο γονιδίωμα αλληλουχίες στόχους για τις ενδονουκλεάσες περιορισμού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία ανάμεσα στα άτομα του ίδιου πληθυσμού σε σχέση με το μήκος των θραυσμάτων DNA που προκύπτουν από πανομοιότυπες περιοχές του γονιδιώματος. Ο πολυμορφισμός μπορεί να προκύπτει ως αποτέλεσμα είτε λόγω αύξησης της απόστασης ανάμεσα σε δύο γειτονικές αλληλουχίες – στόχους (του ενζύμου περιορισμού) εξαιτίας ένθεσης (ζώνες υψηλότερου και χαμηλότερου μοριακού βάρους), είτε λόγω μετάλλαξης στον ένα οικότυπο της αλληλουχίας – στόχου (μία αντί για δύο ζώνες) (Καλαντίδης κ.ά. 2009).

Η πέψη του DNA γίνεται, όπως αναφέρθηκε, από ένζυμα περιορισμού τα οποία δρουν πάνω στο DNA ενός οργανισμού (περιοριστικές ενδονουκλεάσες) αναγνωρίζοντας συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA. Τα κομμάτια που προκύπτουν από τη δράση των περιοριστικών ενδονουκλεασών τοποθετούνται για ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης ή πολυακρυλαμίδης. Ακολουθεί μεταφορά των παραπάνω μορίων σε φίλτρα τα οποία υβριδίζουν με σημασμένους ανιχνευτές κατά Southern, οι οποίοι είναι ομόλογοι με την αλληλουχία που μελετάται. Ο υβριδισμός αυτός επιτρέπει την ανίχνευση τυχόν διαφορών στις αλληλουχίες του DNA, ανιχνεύοντας ουσιαστικά διαφορές στο μήκος των κομματιών του DNA.

Συνοπτικά, η μέθοδος RFLP περιλαμβάνει: α) την εξαγωγή του DNA από φυτικά κύτταρα χρησιμοποιώντας υγρό άζωτο για την αποδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος, β) τη χρήση των περιοριστικών ενζύμων που αναγνωρίζουν και κόβουν τις συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA, η κατανομή των οποίων είναι εντελώς τυχαία κατά μήκος του γονιδιώματος, γ) την ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης ή πολυακρυλαμίδης και την εν συνεχεία χρώση του πηγματος με βρωμιούχο αιθίδιο ώστε να είναι ορατό υπό ακτινοβολία UV μικρού μήκους κύματος, δ) τη μεταφορά των κομματιών του DNA από το gel (πήγμα ή πηκτή) σε νάιλον μεμβράνη και την εν

συνεχία σήμανσή τους με ραδιενεργούς ανιχνευτές (Southern blotting) και τέλος, ε) τον υβριδισμό.

Οι δείκτες RFLP είναι σχετικά αρκετά πολυμορφικοί, κληρονομούνται με συγκυρίαρχο τρόπο και έχουν υψηλό ρυθμό επαναληψιμότητας. Εξαιτίας της παρουσίας τους σε όλο το γονιδίωμα, της υψηλής τους κληρονομικότητας και της εξειδίκευσης του γονιδιακού τους τόπου, κατέχουν υψηλή θέση ανάμεσα στους άλλους δείκτες. Η συγκεκριμένη μέθοδος, όμως, δε χρησιμοποιείται πλέον ευρέως, καθώς είναι αρκετά χρονοβόρα και απαιτεί ακριβώς και ραδιενεργά (τοξικά) υλικά (Agarwal et al. 2008). Προϋποθέτει, επίσης, μεγάλη ποσότητα διαθέσιμου γονιδιωματικού DNA καλής ποιότητας και αρκετούς συνδυασμούς ανιχνευτή και ενζύμου περιορισμού ώστε να βρεθεί πολυμορφισμός που να μπορεί να αξιοποιηθεί (Reisch et al. 1998). Επιπλέον, το γεγονός ότι είναι αναγκαία η πρότερη γνώση της αλληλουχίας του DNA που αναζητείται (έτσι ώστε να δημιουργηθούν ευκρινή προϊόντα για τη δημιουργία μιας cDNA ή μιας γενωματικής βιβλιοθήκης, είχε ως αποτέλεσμα να αυξηθεί η πολυπλοκότητα της μεθόδου (Μπινιάρη 2000) και οδήγησε σε μια περιορισμένη εφαρμογή της και σε ό,τι αφορά τη διάκριση ποικιλιών αμπέλου (Bourquin et al. 1995, Bowers and Meredith 1996).

Πρόσφατα, έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται νέοι μοριακοί δείκτες μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται οι Σημειακοί Νουκλεοτιδικοί Πολυμορφισμοί (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs), ο Πολυμορφισμός Κομμένων Ενισχυμένων Αλληλουχιών (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences, CAPS), ο Τυχαία Ενισχυμένος Πολυμορφισμός Μικροδορυφόρων (Random Amplified Microsatellite Polymorphism, RAMP) και η μοριακή τεχνική SCAR (Sequence Characterized Amplified Region). Οι τελευταίες μοριακές τεχνικές (CAPS, RAMP, SCAR) ουσιαστικά αποτελούν συνδυασμό των ήδη υπάρχουσών μοριακών μεθόδων. Σε αυτή την κατεύθυνση κινείται και η μοριακή τεχνική REMAP (Retrotransposon – microsatellite amplified polymorphism), η οποία έχει εφαρμοστεί και στο φυτό της αμπέλου με ικανοποιητικά αποτελέσματα (D' Onofrio et al. 2010, Castro et al. 2011), αλλά και η μοριακή τεχνική SRAP (Sequence-specific amplified polymorphism (Guo et al. 2012).

Σε κάθε περίπτωση, η επιλογή της μοριακής μεθόδου θα πρέπει να εξασφαλίζει αξιοπιστία, ευκολία στην ανάλυση, στατιστική επεξεργασία και να αποκαλύπτει πολυμορφισμούς.

Στους επόμενους πίνακες 7 και 8 παρουσιάζονται ενδεικτικά οι βασικές μοριακές μέθοδοι και η αξιολόγηση και σύγκρισή τους ως προς ορισμένες παραμέτρους σύμφωνα με τους Agarwal et al. 2008 και Sharma et al. 2008.

Πίνακας 7. Σύγκριση βασικών μοριακών μεθόδων ως προς συγκεκριμένες παραμέτρους (Agarwal et al. 2008).

	Αφθονία	Επαναληψιμότητα	Βαθμός Πολυμορφισμού	Εξειδίκευση Γενετικού Τύπου	Τεχνικός εξοπλισμός	Απαιτούμενη Ποσότητα DNA	Κυριότερη Εφαρμογή
RFLP	Υψηλή	Υψηλή	Μέτριος	Ναι	Υψηλός	Μεγάλη	Φυσική χαρτογράφηση
RAPD	Υψηλή	Χαμηλή	Μέτριος	Όχι	Χαμηλός	Μικρή	Σήμανση γονιδίου
SSR	Μέτρια	Μέτρια	Μέτριος	Όχι	Μέτριος	Μικρή	Γενετική ποικιλομορφία
SSCP	Χαμηλή	Μέτρια	Χαμηλός	Ναι	Μέτριος	Μικρή	SNP χαρτογράφηση
CAPS	Χαμηλή	Υψηλή	Χαμηλός	Ναι	Υψηλός	Μικρή	Ποικιλομορφία αλληλομόρφων
SCAR	Χαμηλή	Υψηλή	Μέτριος	Ναι	Μέτριος	Μικρή	Σήμανση γονιδίου και Φυσική χαρτογράφηση
AFLP	Υψηλή	Υψηλή	Μέτριος	Όχι	Μέτριος	Μέτρια	Σήμανση γονιδίου
IRAP/REMAP	Υψηλή	Υψηλή	Μέτριος	Ναι	Υψηλός	Μικρή	Γενετική ποικιλομορφία
RAMP	Μέτρια	Μέτρια	Μέτριος	Ναι	Υψηλός	Μικρή	Γενετική ποικιλομορφία

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism

RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA

SSR: Simple Sequence Repeats

SSCP: Single - strand Conformation Polymorphism

CAPS: Cleaved Amplified Polymorphic Sequences

SCAR: Sequence Characterized Amplified Region

AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism

IRAP: Inter - Retrotransposon Amplified Polymorphism

REMAP: REtrotransposon - Microsatellite Amplified Polymorphism

RAMP: Randomly Amplified Microsatellite Polymorphism

Πίνακας 8. Σύγκριση βασικών μοριακών μεθόδων για ανάλυση γονιδιώματος φυτών (Sharma et al. 2008).

	AFLP	RAPD	ISSR	Μακροσκοπική Ταυτοποίηση	Μικροσκοπική Ταυτοποίηση	Χημική Ανάλυση
Κόστος	Υψηλό	Χαμηλό	Χαμηλό	Χαμηλό	Υψηλό/Χαμηλό	Μέτριο
Χρόνος	Υψηλός	Χαμηλός	Χαμηλός	Χαμηλός	Χαμηλός	Χαμηλός
Επαναληψιμότητα	Υψηλή	Ικανοποιητική	Ικανοποιητική	Ικανοποιητική	Μέτρια	Ικανοποιητική
Ακρίβεια	Υψηλή	Ικανοποιητική	Ικανοποιητική	Ικανοποιητική	Μέτρια	Ικανοποιητική
Αρχικό υλικό	Οποιοδήποτε τμήμα, κατά προτίμηση νεαρό και φρέσκο	Οποιοδήποτε τμήμα, κατά προτίμηση νεαρό και φρέσκο	Οποιοδήποτε τμήμα, κατά προτίμηση νεαρό και φρέσκο	Ολόκληρη ρίζα, φύλλα, καρπός κ.ά.	Ολόκληρο, τεμαχισμένο ή λειοτριβημένο	Φυτικά εκχυλίσματα
Βάση Δεδομένων	Ηλεκτρονική	Ηλεκτρονική	Ηλεκτρονική	Βοτανική	Κείμενο	Κείμενο
Επίπεδο Ταυτοποίησης	Ενδοσυγκεκριμένες διαφορές	Ενδοσυγκεκριμένες διαφορές	Ενδοσυγκεκριμένες διαφορές	Ίσως όχι δυνατή σε επίπεδο είδους	Ίσως όχι δυνατή σε επίπεδο είδους	Ίσως όχι δυνατή σε επίπεδο είδους
Απαιτούμενος Αποθηκευτικός Χώρος	Μικρός	Μικρός	Μικρός	Πολύ μεγάλος	Μικρός	Μικρός
Πιθανά προβλήματα	Βλάβη στο DNA, που επηρεάζεται από δευτερογενείς μεταβολίτες	Βλάβη στο DNA, που επηρεάζεται από δευτερογενείς μεταβολίτες	Βλάβη στο DNA, που επηρεάζεται από δευτερογενείς μεταβολίτες	Απαιτεί φυτό σε συγκεκριμένο στάδιο ανάπτυξης	Έλλειψη αναφορών για σύγκριση	Εποχιακή, περιβαλλοντική και ατομική διακύμανση επηρεάζει το χημικό προφίλ

AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism

RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA

ISSR: Inter - Simple Sequence Repeats

Από τις μοριακές μεθόδους που αναφέρθηκαν παραπάνω, αρκετές έχουν χρησιμοποιηθεί τα τελευταία χρόνια στην ταυτοποίηση και διάκριση των ειδών και ποικιλιών της αμπέλου με ικανοποιητικά αποτελεσματικότητα στην παγκόσμια και την ελληνική αμπελουργία, όπως άλλωστε φαίνεται στη βιβλιογραφία. Από τις μεθόδους αυτές επιλέξαμε μετά από συγκριτική αξιολόγηση δύο (RAPD, SSR) οι οποίες ήδη έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία και στην ελληνική αμπελουργία και μία (AFLP) η οποία για πρώτη φορά χρησιμοποιείται στην χώρα μας για τη γενετική μελέτη μεγάλου αριθμού καλλιεργούμενων ελληνικών ποικιλιών αμπέλου και κυρίως της κλωνικής σύνθεσης της Κορινθιακής Σταφίδας. Επίσης, για πρώτη φορά χρησιμοποιείται ο συνδυασμός των τριών παραπάνω μοριακών μεθόδων και η αμπελογραφική περιγραφή σύμφωνα με το νέο Κ.Α.Π. του ΟΙV για τη μελέτη της εντός και της μεταξύ των ελληνικών ποικιλιών αμπέλου γενετικής ποικιλομορφίας.

Η Κορινθιακή Σταφίδα

Η Κορινθιακή Σταφίδα θεωρείται και είναι από τις πλέον παλαιές ποικιλίες του ελληνικού αμπελώνα και ειδικότερα της Πελοποννήσου και των νησιών του Ιονίου, ίσως η πρώτη καλλιέργειά της να ανατρέχει στην ελληνική αρχαιότητα. Στην ελληνική αμπελουργία, η Κορινθιακή Σταφίδα περιλαμβάνεται μεταξύ των κορυφαίων ποικιλιών αμπέλου από αμπελογραφική, αμπελουργική, κοινωνική και οικονομική πλευρά, αφού για αιώνες η μαύρη σταφίδα κυριαρχούσε στο εξαγωγικό εμπόριο της χώρας. Αν και οι περισσότεροι αμπελογράφοι συμφωνούν για την ελληνικότητα της Κορινθιακής Σταφίδας, εν τούτοις δεν υπάρχουν αρκετές αποδείξεις που να ενισχύουν την άποψη (Molon 1906) ότι η Ψιθία άμπελος (που μνημονεύονται από τον Βιργίλιο) είναι όμοια με την *Passerina nera*, δηλαδή την Κορινθιακή μαύρη. Η τεχνική της αποξηράνσης των σταφυλών και η παραγωγή σταφίδων ήταν, βέβαια, γνωστή στην αρχαιότητα και τους ιστορικούς χρόνους, όμως δεν έχει αποδειχθεί ότι η ποικιλία που περιγράφει ο Αριστοτέλης με τις μικρές ράγες που στερούνται πυρήνων, οι σταφίδες ή ασταφίδες και οι σταφυλίδες που αναφέρει ο Διοσκορίδης, οι αποξηραμένες σταφυλές που αποτέλεσαν τροφή για τους “μυρίους” κατά τον Ξενοφώντα, καθώς και ο σταφιδίτης οίνος του Ιπποκράτη, παράγονταν από την Κορινθιακή Σταφίδα.

Κατεξοχήν ποικιλία σταφιδοποιίας, η Κορινθιακή Σταφίδα διακρίνεται για τις αμπελογραφικές, φυσιολογικές και παραγωγικές ιδιαιτερότητές της. Η μακραίωνη καλλιέργειά της στην Ελλάδα (με κύρια καλλιεργητικά – παραγωγικά κέντρα τη Βορειοδυτική Πελοπόννησο, την Κεφαλληνία και τη Ζάκυνθο) συνέβαλλε στη δημιουργία πολλών συνωνύμων, τύπων, παραλλαγών και μεταλλάξεων με ξεχωριστούς μορφολογικούς και παραγωγικούς χαρακτήρες. Ο χαρακτήρας του

αγίγαρτου της ράγας στην τυπική ποικιλία και οι επιδράσεις των περιβαλλοντικών συνθηκών και της καλλιεργητικής τεχνικής καθορίζει τη διακριτή ποιότητα των σταφιδικών προϊόντων που τοποθετούν τη μαύρη σταφίδα, αιώνες τώρα, στην κορυφή του διεθνούς εμπορίου. Οι λοιποί μορφολογικοί, ανατομικοί (μικρές ράγες, λεπτός φλοιός, μαλακή σάρκα) και γλευκογραφικοί χαρακτήρες (υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα, πλούτος σε χρωστικές κ.ά.) τοποθετούν την ποικιλία σε πολύ καλή θέση μεταξύ των ποικιλιών οινοποιίας (σε συνινοποίηση με την ποικιλία Μαυροδάφνη σε ποσοστό 49% δίνει εξαιρετικούς επιδόρπιους οίνους), αλλά και των ποικιλιών επιτραπέζιας κατανάλωσης.

Ιδιαίτερη σημασία, όμως, στην παραγωγή σταφίδων ποιότητας παίζει η πολυκλωνικότητα της τυπικής ποικιλίας Κορινθιακή Σταφίδα, όπως διαμορφώθηκε στα κύρια καλλιεργητικά κέντρα της Αιγιάλειας, της Κορινθίας και των νησιών του Ιονίου αρχικά και αργότερα στη Νοτιοδυτική Πελοπόννησο. Είναι ιδιαίτερης σημασίας το γεγονός ότι μόνο στις παραπάνω αμπελουργικές περιοχές της χώρας συνιστάται η καλλιέργεια της Κορινθιακής Σταφίδας, όπου και συγκεντρώνονται τα 9/10 περίπου των εκτάσεων που καλλιεργούνται σε ολόκληρο τον κόσμο. Αλλά επίσης, είναι σημαντικό να σημειωθεί και η επίδραση των κλιματικών συνθηκών και της καλλιεργητικής τεχνικής (πάντα σε συνδυασμό με τον καλλιεργούμενο κλώνο) στους ποιοτικούς χαρακτήρες των σταφυλών και κυρίως σε αυτούς που προσδιορίζουν την ποιότητα των παραγόμενων σταφίδων (χρώμα και πάχος φλοιού, ελαστικότητα και συγκολλητικότητα, ποσοστό εγγίγαρτων ραγών, περιεκτικότητα σε σάκχαρα και οξέα κ.ά.).

Ο παραπάνω συνδυασμός καλλιεργούμενων κλώνων και εδαφοκλιματικών συνθηκών οδηγούν στην παραγωγή συγκεκριμένης ποιότητας σταφυλών και στη συνέχεια σταφίδων για κάθε καλλιεργητικό κέντρο. Με την έννοια αυτή, το τοπωνύμιο ταυτίζεται με τον ποιοτικό τύπο σταφίδας. Οι ονομασίες, επομένως, Vostitsa, Zante κ.ά., υποδηλώνουν ταυτόχρονα την περιοχή παραγωγής της μαύρης σταφίδας αλλά και την κατηγορία ποιότητας. Επειδή, δε, η καλλιεργητική τεχνική που εφαρμόζεται σε όλες τις περιοχές δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές αλλά κυρίως γιατί κατά την αποξήρανση των σταφυλών και τη μετέπειτα επεξεργασία των σταφίδων δεν χρησιμοποιούνται αλκαλικά διαλύματα ή “βελτιωτικά” του χρώματος και των λοιπών χαρακτήρων ποιότητας, οι παραγόμενες σταφίδες διατηρούν σε υψηλό ποσοστό τους ποιοτικούς χαρακτήρες των νωπών σταφυλών (Σταυρακάκης 2013).

Στην ελληνική (Κριμπάς 1943, 1944 και 1949, Νταβίδης 1982, Βλάχος 1986 κ.ά.) και διεθνή Αμπελογραφία (Guillon 1895, Viala and Vermorel 1909, Robinson et al. 2012 κ.ά.) αναφέρονται αρκετά συνώνυμα, όπως Σταφιδάμπελος, Κορινθιακή Σταφίς, Κορινθιακή, Λιανορρόγι, Μαύρη Σταφίδα, Corinthe Noir, Raisin de Corinthe (Γαλλία), Corinto nero, Passerina nera, Passula di Corinto, Alga Passera (Ιταλία), Black Corinth, Zante Currants, Currant Grape (Αγγλία, Αυστραλία, ΗΠΑ), Corinto Negro (Ισπανία) κ.ά., χρωματικές παραλλαγές και τύποι, όπως Κορινθιακή λευκή (White

Corinth, *Passerina bianca*, Corinto bianco), Κορινθιακή ρόδινη, (*Passerina rosa*), Κορινθιακή σχιστόφυλλη, Κορινθιακή ανθούσα κ.ά.

Οι πρώτες γραπτές μαρτυρίες για την Κορινθιακή Σταφίδα και την παραγωγή και εμπορία της μαύρης σταφίδας τοποθετούνται στις αρχές του 14^{ου} αιώνα, από τις οποίες η πλέον ασφαλής είναι αυτή που δίνεται από τον Pegolotti (1340) στο βιβλίο του *Pratica della mercatura*, γεγονός που δείχνει ότι η καλλιέργεια της ποικιλίας στον Ελλαδικό χώρο ήταν γνωστή πολύ νωρίτερα από την εμφάνιση της μαύρης σταφίδας στην ευρωπαϊκή αγορά. Προς το τέλος ήδη του 14^{ου} και αρχές του 15^{ου} αιώνα, η Κορινθιακή Σταφίδα κυριαρχεί στο ευρωπαϊκό εμπόριο. Όπως ήδη αναφέρθηκε, αρχικά κέντρα καλλιέργειας ήταν οι αμπελουργικές περιοχές της Αιγιάλειας και της Κορινθίας από όπου μεταφέρθηκε αρχικά στη Ζάκυνθο (περί το 1516) και αργότερα (1560) στην Κεφαλληνία (Λογοθέτης 1975). Έκτοτε, η καλλιέργεια της Κορινθιακής Σταφίδας αύξανε σε εκτάσεις και παραγωγή και επεκτάθηκε στη Δυτική Πελοπόννησο, με την Αιγιάλεια (Βοστίτσα) να παραμένει το κύριο κέντρο καλλιέργειας, παραγωγής και εξαγωγής της μαύρης σταφίδας. Σήμερα, η καλλιέργεια της Κορινθιακής Σταφίδας καταλαμβάνει στην Ελλάδα συνολική έκταση περίπου 150.000 στρ., ενώ η παραγωγή ανέρχεται σε 20.000 τόνους (Υπ.Α.Α.Τ. 2013). Από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα καλλιεργείται επίσης σε μικρές εκτάσεις στην Καλιφόρνια, την Αυστραλία κ.ά.

Ως προς την προέλευση, οι αμπελογραφικοί χαρακτήρες (όπως για παράδειγμα η παρουσία χνοώδους χνοασμού στην αυξανόμενη κορυφή του βλαστού και στην κάτω επιφάνεια των φύλλων, οι μικρές έως μέτριου μεγέθους σφαιρικές ράγες, ο λεπτός φλοιός κ.ά.) κατατάσσουν την Κορινθιακή Σταφίδα όπως και την Κορινθιακή λευκή στην *proles pontica* (ενδιάμεσης των *proles orientalis* και *occidentalis*) στην οποία ανήκουν και οι περισσότερες των ελληνικών και ιταλικών ποικιλιών αμπέλου. Αναφέρεται ακόμη ότι η Κορινθιακή Σταφίδα καθώς και άλλες ελληνικές ποικιλίες ανήκουν στην υπο-φυλή της *proles pontica*, την *balcanica* (Negrul 1938, Levadouk 1956). Την τελευταία άποψη ενισχύει ερευνητική εργασία που κατατάσσει την Κορινθιακή Σταφίδα σε ιδιαίτερη ομάδα μαζί με την Κορινθιακή λευκή, το Τσαούσι κ.ά. (Aradhya et al. 2003).

Εξαιτίας της αποκλειστικής καλλιέργειας της Κορινθιακής Σταφίδας στην Ελλάδα για πολλούς αιώνες, διατυπώθηκε η άποψη ότι είναι γηγενής του ελληνικού περιβάλλοντος και προήλθε από τοπικό πληθυσμό της άγριας αμπέλου και όχι από την καυκασιανή άμπελο (Λογοθέτης 1970). Η άποψη αυτή, της ύπαρξης δηλαδή ενός ή και περισσότερων δευτερογενών γενετικών κέντρων των ποικιλιών αμπέλου από τον ευρύτερο χώρο του Αιγαίου έως τη δυτική Ευρώπη, ενισχύεται από πρόσφατες ερευνητικές εργασίες (Grassi et al. 2003, De Andrés et al. 2012). Δεν υπάρχουν, όμως, αρκετά δεδομένα για το χρόνο δημιουργίας και εμφάνισης της Κορινθιακής Σταφίδας ούτε και για τον τρόπο δημιουργίας της, αν δηλαδή είναι προϊόν φυσικής διασταύρωσης ή αποτέλεσμα συσσώρευσης μεταλλάξεων και ποια είναι η αρχική ποικιλία. Όπως ήδη αναφέρθηκε για τις ελληνικές ποικιλίες οινοποιίας, έχει

διατυπωθεί η άποψη ότι οι περισσότερες εξ αυτών αποτελούν απλά ή πολλαπλά υβρίδια άλλων ποικιλιών (Loukas et al. 1983).

Ως προς την αρχική ποικιλία, οι απόψεις που έχουν διατυπωθεί συγκλίνουν στο γεγονός ότι η ποικιλία Λιάτικο αποτελεί τη μητρική ποικιλία από την οποία προέκυψε η Κορινθιακή Σταφίδα είτε μέσω διασταύρωσης με άλλη (άγνωστη) ποικιλία είτε μέσω του φαινομένου της μετάλλαξης. Οι δύο αυτές ποικιλίες παρουσιάζουν αξιοσημείωτες ομοιότητες σε μορφολογικούς και φυσιολογικούς αμπελογραφικούς χαρακτήρες, ως ισχυρότερη δε θεωρείται η υπόθεση ότι η Κορινθιακή Σταφίδα προέρχεται από το Λιάτικο μέσω του φαινομένου της συσώρευσης βλαστητικών μεταλλάξεων. Από τον Κριμπά (1930) επισημάνθηκε σε αμπελώνες του Ν. Ηρακλείου ένας βιότυπος της ποικιλίας Λιάτικο που χαρακτηρίζεται από την παρουσία μεταξύ των κανονικών εγγίγαρτων ραγών μεγάλου αριθμού μικρού μεγέθους και ανομοιόμορφης ωρίμανσης ραγών (παρθενοκαρπικών ή με την παρουσία υποτυπωδών γιγάρτων κενών εμβρύου) και θεωρείται ως ενδιαμέση μορφή μεταξύ των ποικιλιών Λιάτικο και Κορινθιακή Σταφίδα. Ο βιότυπος αυτός ονομάζεται Ψιλόρρωγο Λιάτικο ή Λιανορρώγι, ή Τσιμπίμπες ή Ντοντίνια) και απαντάται και σήμερα σε παλαιούς αμπελώνες. Στην παρούσα εργασία, για τη διερεύνηση της υπόθεσης αυτής πραγματοποιήσαμε προκαταρκτική μελέτη το έτος 2009 με τη χρήση των RAPDs στην οποία περιλάβαμε όλους τους πιθανούς βιότυπους της ποικιλίας Λιάτικο και αριθμό βιότυπων από την Κορινθιακή Σταφίδα. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής δεν φαίνεται να επιβεβαιώνουν την υπόθεση της προέλευσης της Κορινθιακής Σταφίδας από την ποικιλία Λιάτικο μέσω του φαινομένου της μετάλλαξης. Σε πρόσφατη ερευνητική εργασία με τη χρήση μοριακών μεθόδων (Myles et al. 2011) αναφέρεται ότι το Λιάτικο πιθανόν να αποτελεί γονεϊκή της Κορινθιακής Σταφίδας, αλλά δεν δίνονται πληροφορίες (προέλευση, αμπελογραφική περιγραφή, κ.ά.) για τα δείγματα που μελετήθηκαν ούτε ως προς το Λιάτικο ούτε κυρίως ως προς την Κορινθιακή Σταφίδα. Επιπρόσθετα, στην ίδια εργασία αναφέρεται η ποικιλία 'Stafidampelo' (χωρίς περισσότερα στοιχεία) ως πιθανή γονεϊκή της Κορινθιακής Σταφίδας. Δεν θα πρέπει όμως να συγχέεται το Stafidampelo, το οποίο ο Κριμπάς αναφέρει ως εγγίγαρτη και τελείως διαφορετική ποικιλία, με την Σταφιδάμπελο που χρησιμοποιείται ως συνώνυμο της Κορινθιακής Σταφίδας από τον Κριμπά (1943).

Όπως είναι γνωστό, μεταξύ των κύριων ποιοτικών χαρακτήρων της Κορινθιακής Σταφίδας είναι η απυρηνία και το βαθύ χρώμα του φλοιού των ραγών. Η απυρηνία των ραγών της Κορινθιακής Σταφίδας οφείλεται στο φαινόμενο της παρθενοκαρπίας, ο σχηματισμός των ραγών δηλαδή γίνεται χωρίς γονιμοποίηση (Κριμπάς 1929, Pearson 1932, Stout 1936 κ.ά.). Παρά τις διαφορετικές απόψεις, φαίνεται ότι ο σχηματισμός των αγίγαρτων ραγών στην Κορινθιακή Σταφίδα οφείλεται στον ερεθισμό που προκαλείται από την επικοινωνία και την εκβλάστηση του γυρεόκοκκου και την προβολή του γυρεοσωλήνα (εξ ερεθισμού παρθενοκαρπία) και λιγότερο στη βλαστητική παρθενοκαρπία κατά την οποία οι ράγες σχηματίζονται

χωρίς την επικονίαση (Friend 2005). Ακόμα, υπάρχει διάσταση απόψεων αν πρόκειται περί πραγματικής παρθενοκαρπίας (Staudt and Kassemeyer 1984), ενώ κατά μια άλλη άποψη η Κορινθιακή Σταφίδα είναι η μοναδική ποικιλία αμπέλου που χαρακτηρίζεται ως παρθενοκαρπική (Ledbetter and Shonnard 1991).

Ανεξάρτητα από προέλευση της Κορινθιακής Σταφίδας και τα αίτια που προκάλεσαν το σχηματισμό παρθενοκαρπικών ραγών, η Κορινθιακή Σταφίδα, ποικιλία ασφαλώς πολυκλωνικής σύνθεσης όπως όλες οι καλλιεργούμενες ποικιλίες αμπέλου, διακρίνεται από τον πολύ μεγάλο αριθμό τύπων και παραλλαγών, εξαιτίας της μακράιωνης καλλιέργειάς της, όπως απαντούν στα κυριότερα καλλιεργητικά κέντρα στην Ελλάδα. Ο πιο σπουδαίος χαρακτήρας ποιότητας που τοποθετεί την Κορινθιακή Σταφίδα στην κορυφή των ποικιλιών σταφιδοποιίας είναι η απυρηνία, γεγονός που επισημαίνεται ήδη από πολύ παλιά. Ο Χαιρέτης (1883) γράφει χαρακτηριστικά: "...Η αφάνεια του σπέρματος εις τὰς ράγας εἶναι προτέρημα ὄλως ἰδιάζον τῇ σταφιδαμπέλῳ καὶ σχετικὸν ἴσως πρὸς τὸ μέγεθος τῆς ραγὸς ἐντὸς τῆς ὁποίας ὑφίσταται ἐν λανθανούσῃ καταστάσει. Τοῦτο τεκμαίρεται ἐκ τῆς εὐρέσεως σπερμάτων εἷς τινὰς ράγας ἐνίοτε, αἵτινες, ἔνεκα φυσιολογικῶν αἰτίων, καὶ ἰδίως τῆς χαραγῆς, ἀποκτῶσι μείζονα τοῦ συνήθους ὄγκον, ἐξισούμεναι πρὸς τὰς ράγας τῶν κοινῶν σταφυλῶν, καὶ ἀποβάλλουσαι οὕτω τὸν ἰδιάζοντα τύπον τοῦ γένους αὐτῶν...".

Η ύπαρξη, επομένως, εγγίγαρτων ραγών σε μία σταφυλή ή και ολόκληρων εγγίγαρτων σταφυλών σε ένα πρέμνο ήταν γνωστή από παλιά, γεγονός που δείχνει ότι ο χαρακτήρας αυτός δεν είναι απολύτως σταθερός και επηρεάζεται από καλλιεργητικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες (Κριμπάς 1929). Κατά την αναζήτηση και επισήμανση των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας, είχαμε την ευκαιρία να εντοπίσουμε σε αμπελώνες μεγάλης ηλικίας στις αμπελουργικές περιοχές της ορεινής Αιγιάλειας (Αγία Άννα) πρέμνα που έφεραν σταφυλές με εγγίγαρτες ράγες σε ένα βραχίονα και κανονικές σταφυλές με αγίγαρτες ράγες σε δεύτερο βραχίονα (εικόνα 8). Επίσης, εντοπίστηκαν σταφυλές στις οποίες η μία κύρια διακλάδωση (βοτρύδιο) είχε εγγίγαρτες και μεγάλου μεγέθους ράγες και η άλλη διακλάδωση αγίγαρτες και μικρότερου μεγέθους ράγες, ενώ το έμβρυο των γιγάρτων ήταν μη λειτουργικό (εικόνα 9). Τα αρχικά πρέμνα ανήκουν πιθανά στον αγίγαρτο βιότυπο της "ρόδινης" Κορινθιακής Σταφίδας, γεγονός που υπαινίσσεται ότι είναι δυνατή η εμφάνιση του φαινομένου της μετάλλαξης από την αγίγαρτη στην εγγίγαρτη μορφή. Αγενής με μόσχευμα πολλαπλασιασμός των κληματίδων που έφεραν τις εγγίγαρτες σταφυλές έδωσε πρέμνα που έφεραν εγγίγαρτες σταφυλές. Τα πρέμνα αυτά αναφέρονται ως Κορινθιακή Σταφίδα "μεταλλαγμένη". Παρόμοιο φαινόμενο περιγράφεται από τους Harmon and Snyder (1936) στην Αμερική που αναφέρουν ότι επεσήμαναν σε πρέμνο του βιότυπου "Panariti" (προέρχεται από το Παναρίτι Κορινθίας και θεωρείται συνώνυμο της Κορινθιακής Σταφίδας) ένα βραχίονα που έφερε σταφυλές με εγγίγαρτες ράγες. Η παρουσία εγγίγαρτων ραγών σε ποσοστό 2-3% είναι συνήθης στους παραγωγικούς αμπελώνες της Κορινθιακής

Σταφίδας σε όλα τα καλλιεργητικά κέντρα και μάλιστα ανάλογα με την πορεία των περιβαλλοντικών συνθηκών (κυρίως θερμοκρασίας και υγρασίας κατά την περίοδο της άνθησης – γονιμοποίησης – καρπόδεσης) και της καλλιεργητικής τεχνικής (χαραγή, εφαρμογή φυτορρυθμιστικών ουσιών) τα ποσοστά αυτά αυξάνονται και ενίοτε φθάνουν το 7-8% σε ορισμένες αμπελουργικές περιοχές.



Εικόνα 8



Εικόνα 9

Όλα τα μέχρι σήμερα στοιχεία δείχνουν ότι οι αμπελουργικές περιοχές της Βόρειας Πελοποννήσου (Κορινθία, Αιγιάλεια) αποτέλεσαν τα αρχικά κέντρα καλλιέργειας και ιδιαίτερα της Αιγιάλειας, στις οποίες ο ευνοϊκός συνδυασμός του καλλιεργούμενου βιότυπου στις συγκεκριμένες περιβαλλοντικές και καλλιεργητικές συνθήκες έδινε για μακρά σειρά ετών άριστης ποιότητας σταφίδα που κατέκτησε το διεθνές εμπόριο με το όνομα Vostitsa. Ακολούθησε η επέκταση της καλλιέργειας στην Κορινθία, Ηλεία, Κεφαλληνία, Ζάκυνθο και Μεσσηνία, όπου κυρίως με την επέμβαση του ανθρώπου επελέγησαν διακριτοί βιότυποι οι οποίοι διαδόθηκαν τελικά σε όλες τις περιοχές καλλιέργειας. Σημαντικό ρόλο στην επιλογή και διάδοση επιθυμητών βιότυπων διαδραμάτισαν οι γεωπόνοι του Α.Σ.Ο. (σήμερα Σ.ΚΟ.Σ. – Α.Σ.Ε.), όπως για παράδειγμα η επιλογή και διάδοση ενός βιότυπου από την Κεφαλληνία (από το γεωπόνο Σπ. Μαυραγάνη) που αργότερα διαδόθηκε στα υπόλοιπα καλλιεργητικά κέντρα.

Στην παρούσα εργασία θεωρήσαμε ως τυπική ποικιλία της Κορινθιακής Σταφίδας το βιότυπο που καλλιεργείται στις αμπελουργικές περιοχές της Αιγιάλειας με την επισήμανση ότι εξαιτίας της μεγάλης διάδοσης του βιότυπου αυτού παρατηρείται σχετική ποικιλομορφία ιδιαίτερα στους χαρακτήρες της σταφυλής και των ραγών στα υπόλοιπα καλλιεργητικά κέντρα της Κορινθίας, της Κεφαλληνίας, της Ζακύνθου, της Ηλείας και της Μεσσηνίας. Από τις φερόμενες ως παραλλαγές της Κορινθιακής Σταφίδας, στη μελέτη συμπεριελήφθησαν οι βιότυποι Κορινθιακή λευκή, Κορινθιακή σχιστόφυλλη και Κορινθιακή εγγίγαρτη (μεταλλαγμένη). Η πρώτη είναι αγίγαρτη και διακρίνεται από το λευκό φλοιό των ραγών. Η δεύτερη είναι επίσης αγίγαρτη και χαρακτηρίζεται από φύλλα 5λοβα ή 7λοβα με βαθείς κόλπους.

Σκοπός της εργασίας

Βασικός στόχος της ερευνητικής αυτής εργασίας ήταν πρωτίστως η μελέτη και διάκριση μεταξύ αλλά και εντός όλων των βιότυπων¹ της ποικιλίας Κορινθιακή Σταφίδα που είτε καλλιεργούνται παραγωγικά είτε απαντούν σποραδικά σε αμπελώνες των κέντρων καλλιέργειας και αναφέρονται ως πιθανές παραλλαγές ή συνώνυμα. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι εκτός από το ερευνητικό, αμπελογραφικό ενδιαφέρον της ταυτοποίησης και διάκρισης όλων των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας που πραγματοποιείται για πρώτη φορά με την πλήρη αμπελογραφική περιγραφή και τις μοριακές μεθόδους, τα αποτελέσματα της εργασίας έχουν τεράστιο αμπελοκομικό ενδιαφέρον γιατί θα αποτελέσουν τη βάση για την εφαρμογή της κλωνικής επιλογής και την αξιοποίηση των επιθυμητών κατά περίπτωση κλώνων αλλά και τη διάσωση, διατήρηση και αξιοποίηση πολύτιμου γενετικού υλικού. Επίσης, με την εργασία αυτή, επιχειρήθηκε η διερεύνηση της προέλευσης της Κορινθιακής Σταφίδας και ειδικά η επιβεβαίωση ή όχι της υπόθεσης ότι η ποικιλία Λιάτικο αποτελεί γονεϊκή ποικιλία από την οποία προήλθε η Κορινθιακή Σταφίδα μέσω του φαινομένου της μετάλλαξης. Παράλληλα και συμπληρωματικά, μελετήθηκαν δύο ομάδες ελληνικών ποικιλιών αμπέλου που αναφέρονται είτε ως συγγενείς είτε ως συνώνυμα ή ακόμη ως παραλλαγές. Η πρώτη περιλαμβάνει ποικιλίες, συνώνυμα και παραλλαγές του αιγαιοπελαγίτικου αμπελώνα και η δεύτερη τις ποικιλίες που είναι γνωστές ως ασπρούδια ή ασπρούδες.

Για την παραπάνω μελέτη χρησιμοποιήθηκε, όπως αναφέρθηκε, ο συνδυασμός της πλήρους αμπελογραφικής περιγραφής σύμφωνα με τον Κ.Α.Π. του ΟΙΥ με τρεις μοριακές μεθόδους (RAPD, SSR, AFLP) εκ των οποίων η τρίτη (AFLP) χρησιμοποιείται για πρώτη φορά στην Ελλάδα σε εργασίες τέτοιου είδους, με σκοπό την αξιολόγησή τους ως προς την αποτελεσματικότητα στον προσδιορισμό της γενετικής ετερογένειας εντός και μεταξύ των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου. Ο συνδυασμός αυτός και ιδιαίτερα η επί τέσσερα χρόνια αμπελογραφική περιγραφή των βιότυπων και των ποικιλιών που μελετήθηκαν είναι αναγκαία προϋπόθεση ιδιαίτερα σε μελέτες τέτοιας έκτασης. Και αυτό γιατί η εφαρμογή ακολούθως ως ενισχυτικού εργαλείου των μοριακών μεθόδων θα αναφέρεται σε συγκεκριμένους βιότυπους επισημασμένους και αμπελογραφικά ταυτοποιημένους και όχι σε απλά πρέμνα που διατηρούνται σε αμπελογραφικές συλλογές και συχνά προκαλούν σύγχυση ως προς τη γνησιότητα της ποικιλίας

¹ Στην παρούσα διατριβή, με τον όρο βιότυπο εννοούμε το σύνολο ατόμων μιας ποικιλίας που παρουσιάζει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και ιδιότητες όπως διαμορφώνονται σε συγκεκριμένες συνθήκες. Πρακτικά, αποτελεί εν δυνάμει κλώνο ποικιλίας, που όμως δεν έχει ταυτοποιηθεί.

Υλικά και Μέθοδοι

Ποικιλίες

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, βασικός στόχος της εργασίας αυτής ήταν η μελέτη των διάφορων βιότυπων, μεταλλάξεων, παραλλαγών και συνωνύμων της ποικιλίας Κορινθιακή Σταφίδα, όπως απαντούν στα κύρια καλλιεργητικά κέντρα της χώρας, με την αμπελογραφική περιγραφή και τις μοριακές μεθόδους. Παράλληλα, με το συνδυασμό των παραπάνω μεθόδων μελετήθηκαν δύο ομάδες ποικιλιών: η πρώτη περιλαμβάνει ποικιλίες του αιγαιοπελαγίτικου αμπελώνα και η δεύτερη τα “ασπρούδια”. Επίσης, στο πλαίσιο της μελέτης αυτής, κρίθηκε σκόπιμο να διερευνηθεί με τη χρήση των RAPDs και η πιθανή προέλευση της Κορινθιακής Σταφίδας και συγκεκριμένα, αν προέκυψε από την ποικιλία Λιάτικο μέσω του φαινομένου της μετάλλαξης.

Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται οι βιότυποι της ποικιλίας Λιάτικο και της Κορινθιακής Σταφίδας και οι περιοχές δειγματοληψίας. Από την Κορινθιακή Σταφίδα επελέγησαν διάφοροι παραγωγικοί βιότυποι από τα κύρια καλλιεργητικά κέντρα και πρέμνα που διατηρούνται στις αμπελογραφικές συλλογές στις αμπελογραφικές συλλογές του Ινστιτούτου Αμπέλου Αθηνών (Λυκόβρυση) και του Εργαστηρίου Αμπελογαίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Επίσης, πάρθηκαν δείγματα από τη “μεταλλαγμένη” Κορινθιακή Σταφίδα και συγκεκριμένα ξεχωριστό δείγμα από το βραχίονα που έφερε τις εγγίγαρτες σταφυλές (κωδικός δείγματος A11 και C26) και ξεχωριστό δείγμα από το βραχίονα του πρέμνου με τις αγίγαρτες σταφυλές (κωδικός δείγματος A12 και C27), όπως περιεγράφηκαν στην Εισαγωγή. Οι βιότυποι της ποικιλίας Λιάτικο είχαν επισημανθεί και επιλεγεί από αμπελώνες της Ανατολικής Κρήτης από το Ινστιτούτο Αμπέλου Ηρακλείου και διατηρούνται στις παραπάνω αμπελογραφικές συλλογές. Οι βιότυποι της ποικιλίας Λιάτικο δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στους κύριους αμπελογραφικούς και παραγωγικούς χαρακτήρες. Διαφορές εντοπίζονται στους χαρακτήρες της σταφυλής (μέγεθος, πυκνότητα) και των ραγών, ιδιαίτερα στο βιότυπο Τσιμπίμπες, που παρουσιάζει, όπως αναφέρθηκε, κατά κανόνα μεγαλύτερο αριθμό και σημαντικά μικρότερου μεγέθους αγίγαρτες ράγες μεταξύ των κανονικών εγγίγαρτων ραγών. Η ονομασία Τσιμπίμπες πιθανόν παραπέμπει στο συνώνυμο που χρησιμοποιούνταν παλαιότερα για την Κορινθιακή Σταφίδα στα Ιόνια νησιά (τσιμπίμπο και λιανορρώγι) και θεωρείται ως ενδιάμεση μορφή μεταξύ των ποικιλιών Λιάτικο και Κορινθιακή Σταφίδα (Κριμπάς 1943, Σταυρακάκης 2010). Επίσης, οι βιότυποι από τους

αμπελώνες του Ν. Λασιθίου, (Α2, Α5, και ιδιαίτερα ο δεύτερος) παρουσιάζουν μεγαλύτερο βαθμό ανισορραγίας.

Στον Πίνακα 10 παρουσιάζονται οι βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας που μελετήθηκαν καθώς και οι περιοχές δειγματοληψίας, τα κύρια καλλιεργητικά κέντρα της Κορινθιακής Σταφίδας και τον πειραματικό αμπελώνα της Σ.ΚΟ.Σ. – Α.Σ.Ε. στο Κορακοχώρι Ηλείας. Στον πειραματικό αυτό αμπελώνα καλλιεργούνται πλέον οι αντιπροσωπευτικοί βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας κάτω από τις ίδιες εδαφοκλιματικές συνθήκες και καλλιεργητική τεχνική. Για την Κορινθιακή λευκή, τα αρχικά δείγματα πάρθηκαν από τη Ζάκυνθο και την Αιγιάλεια και από τον πειραματικό αμπελώνα στο Κορακοχώρι. Οι τυπικοί παραγωγικοί βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας με τους διακριτούς χαρακτήρες πάρθηκαν από τα καλλιεργητικά κέντρα Κορινθίας (Παναρίτι), την Αιγιάλεια (Κουνινά, Αγία Άννα κ.ά.), τη Ζάκυνθο, την Κεφαλληνία και την Ηλεία (Βροχίτσα). Ακόμα, μελετήθηκαν τέσσερις βιότυποι της “σχιστόφυλλης” Κορινθιακής Σταφίδας και τα δύο δείγματα από το βιότυπο της “μεταλλαγμένης” Κορινθιακής Σταφίδας, όπως περιεγράφηκε παραπάνω.

Από τις ποικιλίες οινοποιίας μελετήθηκαν η ομάδα των “ασπρουδιών” (Α. Αχαΐας, Α. Ζακύνθου, Α. Σαντορίνης, Α. Μυκηνών, Α. Σπετσών), η ομάδα ποικιλιών ανατολικής προέλευσης (Εφτάκοιλο, Λαδικινό, Καρυστινό, Συρίκι, Ξερομαχειρούδα, Σεριφιώτικο, Σταυροχιώτικο, Ερικαράς, Γιουρούκικο, Αρμελετούσα, Φωκιανό) καθώς και ορισμένες ποικιλίες όπως Βόσσοσ, Ατσάλα, Κοκκινόρομπόλα, Ρομπόλα, Αγριογλυκάδι, Γλυκάδα άσπρη, Γλυκερήθρα, Γλυκέρι, Πλατάκι, Πετρουλιανός, Ποταμίσι άσπρο, με σκοπό αφενός τη διερεύνηση του βαθμού συγγένειας μεταξύ τους και αφετέρου την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η ποικιλία Γλυκέρι μελετήθηκε μόνο με τις μοριακές μεθόδους. Τα δείγματα από τα πρέμνα των υπό μελέτη ποικιλιών συλλέχθηκαν από τις Αμπελογραφικές Συλλογές του Ινστιτούτου Αμπέλου στη Λυκόβρυση (Ι.Α.Λ., γ.π. 37° 58' και 23° 24') και του Εργαστηρίου Αμπελογαίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στο Βοτανικό (Γ.Π.Α., γ.π. 37° 58') όπως αναλυτικά παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

Στα “ασπρούδια” περιλαμβάνονται ποικιλίες που έχουν κοινό γνώρισμα το λευκό φλοιό των ραγών. Του κοινού ονόματος (Ασπρούδι) έπεται επιθετικός προσδιορισμός που σχετίζεται με χαρακτήρες κυρίως της σταφυλής και των ραγών (Ασπρούδι χονδρό κ.ά.) ή συνηθέστερα κάποιο τοπωνύμιο (Σαντορίνη, Ζάκυνθος κ.ά.). Κοινά χαρακτηριστικά και μάλιστα σε πρωτεύοντα αμπελογραφικά όργανα έχουν και οι ποικιλίες ανατολικής προέλευσης, όπως είναι η απουσία χνοασμού στην κορυφή της νεαρής βλάστησης και η παρουσία ανθοκυανών στα νεαρά όργανα. Για το λόγο αυτό, θεωρούνται είτε συγγενείς είτε και συνώνυμες ποικιλίες. Μεταξύ αυτών οι ποικιλίες Φωκιανό, Αρμελετούσα, Γιουρούκικο έχουν περιγραφεί ως ξεχωριστές ποικιλίες ενώ ο Ερικαράς θεωρείται συνώνυμο της ποικιλίας Φωκιανό (Κριμπάς 1943, Λογοθέτης και Βλάχος 1963). Μεταξύ των ποικιλιών που μελετήθηκαν

περιλαμβάνονται και ορισμένες των οποίων το όνομα ή συνώνυμο συνδέεται με τη μεγάλη περιεκτικότητα του χυμού σε σάκχαρα (Αγριογλυκάδι, Γλυκάδα άσπρη, Γλυκερήθρα, Γλυκέρι).

Πίνακας 9. Βιότυποι των ποικιλιών Λιάτικο και Κορινθιακή Σταφίδα που μελετήθηκαν και περιοχές δειγματοληψίας.

α/α	Κωδικός δείγματος	Ποικιλία	Περιοχή δειγματοληψίας
1	A1	Λιάτικο (προέλευσης Ηρακλείου, τσιμπίμπες)	Α.Σ. Γ.Π.Α.
2	A2	Λιάτικο (προέλευσης Σητείας)	Α.Σ. Γ.Π.Α.
3	A3	Λιάτικο (προέλευσης Ηρακλείου)	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
4	A4	Λιάτικο (προέλευσης Ηρακλείου)	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
5	A5	Λιάτικο (προέλευσης Σητείας)	Α.Σ. Γ.Π.Α.
6	A6	Λιάτικο (προέλευσης Ηρακλείου)	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
7	A7	Κορινθιακή Σταφίδα Λυκόβρυσης	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
8	A8	Κορινθιακή Σταφίδα Αιγιάλειας	Α.Σ. Γ.Π.Α.
9	A9	Κορινθιακή Σταφίδα Ζακύνθου Πρώμο	Ζάκυνθος
10	A10	Κορινθιακή Σταφίδα Κεφαλληνίας	Αιγιάλεια
11	A11	Κορινθιακή Σταφίδα Μεταλλαγμένη 1	Αιγιάλεια
12	A12	Κορινθιακή Σταφίδα Μεταλλαγμένη 2	Αιγιάλεια

Όπου: Α.Σ. Ι.Α.Λ.: Αμπελογραφική Συλλογή Ινστιτούτου Αμπέλου / ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Λυκόβρυση

Α.Σ. Γ.Π.Α.: Αμπελογραφική Συλλογή Εργαστηρίου Αμπελογαίας,

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Βοτανικός

Πίνακας 10. Βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας που μελετήθηκαν και περιοχές δειγματοληψίας.

α/α	Κωδικός δείγματος	Ποικιλία	Περιοχή δειγματοληψίας
1	C1	Τσεκλένι 1	Κορακοχώρι, Ηλεία
2	C2	Τσεκλένι 2	Κορακοχώρι, Ηλεία

α/α	Κωδικός δείγματος	Ποικιλία	Περιοχή δειγματοληψίας
3	C3	Βοστίτσα 1	Αιγιάλεια
4	C4	Βοστίτσα 2	Αιγιάλεια
5	C5	Βοστίτσα 3	Κορακοχώρι, Ηλεία
6	C6	Πύργου 1	Κορακοχώρι, Ηλεία
7	C7	Πύργου 2	Κορακοχώρι, Ηλεία
8	C8	Πύργου 3	Κορακοχώρι, Ηλεία
9	C9	Κορινθιακή Λευκή 1	Ζάκυνθος
10	C10	Κορινθιακή Λευκή 2	Κορακοχώρι, Ηλεία
11	C11	Κορινθιακή Λευκή 3	Αιγιάλεια
12	C12	Ζακύνθου Ντόπιο 1	Ζάκυνθος
13	C13	Ζακύνθου Ντόπιο 2	Κορακοχώρι, Ηλεία
14	C14	Ζακύνθου Ντόπιο 3	Κορακοχώρι, Ηλεία
15	C15	Ζακύνθου Πρώιμο 1	Ζάκυνθος
16	C16	Ζακύνθου Πρώιμο 2	Κορακοχώρι, Ηλεία
17	C17	Ζακύνθου Πρώιμο 3	Κορακοχώρι, Ηλεία
18	C18	Κεφαλληνίας 1	Κορακοχώρι, Ηλεία
19	C19	Κεφαλληνίας 2	Κορακοχώρι, Ηλεία
20	C20	Κεφαλληνίας 3	Κορακοχώρι, Ηλεία
21	C21	Κορινθίας 1	Κορακοχώρι, Ηλεία
22	C22	Κορινθίας 2	Κορακοχώρι, Ηλεία
23	C23	Κορινθίας 3	Κορακοχώρι, Ηλεία
24	C24	Κεφαλληνίας 4	Κεφαλληνία
25	C25	Κεφαλληνίας 5	Κεφαλληνία
26	C26	Κορινθιακή Μεταλλαγμένη 1	Αιγιάλεια
27	C27	Κορινθιακή Μεταλλαγμένη 2	Αιγιάλεια
28	C28	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 1	Αιγιάλεια
29	C29	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 2	Αιγιάλεια
30	C30	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 3	Βροχίτσα, Ηλεία
31	C31	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 4	Βροχίτσα, Ηλεία

Πίνακας 11. Λοιπές ποικιλίες που μελετήθηκαν και περιοχές δειγματοληψίας.

α/α	Κωδικός δείγματος	Ποικιλία	Περιοχή δειγματοληψίας
1	B1	Εφτάκοιλο	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
2	B2	Λαδικινό	Α.Σ. Γ.Π.Α.
3	B3	Καρυστινό	Α.Σ. Γ.Π.Α.
4	B4	Συρίκι	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
5	B5	Ξερομαχαιρούδα	Α.Σ. Γ.Π.Α.
6	B6	Σεριφιώτικο	Α.Σ. Γ.Π.Α.
7	B7	Σταυροχιώτικο	Α.Σ. Γ.Π.Α.
8	B8	Ερικαράς	Α.Σ. Γ.Π.Α.
9	B9	Αρμελετούσα	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
10	B10	Γιουρούκικο	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
11	B11	Φωκιανό	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
12	B12	Βόσσος	Α.Σ. Γ.Π.Α.
13	B13	Ατσάλα	Α.Σ. Γ.Π.Α.
14	B14	Κοκκινόρομπόλα	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
15	B15	Ρομπόλα	Α.Σ. Γ.Π.Α.
16	B16	Ασπρούδι Αχαΐας	Α.Σ. Γ.Π.Α.
17	B17	Ασπρούδι Ζακύνθου	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
18	B18	Ασπρούδι Σαντορίνης	Α.Σ. Γ.Π.Α.
19	B19	Ασπρούδι Μυκηνών	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
20	B20	Ασπρούδι Σπετσών	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
21	B21	Αγριογλυκάδι	Α.Σ. Γ.Π.Α.
22	B22	Γλυκάδα άσπρη	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
23	B23	Γλυκερήθρα	Α.Σ. Γ.Π.Α.
24	B24	Γλυκέρι	Α.Σ. Ι.Α.Λ.
25	B25	Πλατάνι	Α.Σ. Γ.Π.Α.
26	B26	Πετρολιανός	Α.Σ. Γ.Π.Α.
27	B27	Ποταμίσι άσπρο	Α.Σ. Ι.Α.Λ.

Μέθοδοι

Για τη μελέτη των παραπάνω ποικιλιών χρησιμοποιήθηκε συνδυαστική μεθοδολογία της αμπελογραφικής περιγραφής και τριών μοριακών μεθόδων. Σε όλες τις ποικιλίες, έγινε αμπελογραφική περιγραφή στους βασικότερους αμπελογραφικούς χαρακτήρες σύμφωνα με τον πρόσφατο επίσημο Κώδικα Αμπελογραφικής Περιγραφής του ΟΙV κατά τη διάρκεια τεσσάρων (4) καλλιεργητικών περιόδων. Ειδικά όσον αφορά τη γενετική μελέτη της πιθανής προέλευσης της Κορινθιακής Σταφίδας από την ποικιλία Λιάτικο, χρησιμοποιήθηκε η μοριακή μέθοδος RAPD με 6 εκκινητές που έδωσαν 43 ηλεκτροφορητικές ζώνες. Η απομόνωση του DNA, οι συνθήκες ενίσχυσης της PCR κ.ά. αναφέρονται παρακάτω.

Αμπελογραφική περιγραφή

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, σε όλες τις ποικιλίες που μελετήθηκαν, έγινε αμπελογραφική περιγραφή σύμφωνα με τον Κώδικα Αμπελογραφικής Περιγραφής (Κ.Α.Π.) του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (ΟΙV) (ΟΙV 2009). Για την αμπελογραφική περιγραφή, χρησιμοποιήθηκαν περισσότεροι από 60 αμπελογραφικοί χαρακτήρες οι οποίοι αναφέρονται σε χαρακτηριστικά της κορυφής της νεαρής βλάστησης, των φύλλων, των σταφυλών κ.ά. των υπό μελέτη ποικιλιών. Η αμπελογραφική περιγραφή διήρκησε 4 έτη και οι παρατηρήσεις λήφθηκαν στο προβλεπόμενο, από τον Κ.Α.Π. του ΟΙV, για καθένα από αυτά βλαστικό στάδιο. Οι χαρακτήρες που μελετήθηκαν σύμφωνα με τον Κ.Α.Π. του ΟΙV φαίνονται στον πίνακα 12, ενώ ακολουθεί ενδεικτικά σύντομη περιγραφή των σπουδαιότερων αμπελογραφικών χαρακτήρων. Οι φωτογραφίες των αμπελογραφικών χαρακτήρων είναι από το βιβλίο Αμπελογραφία (Σταυρακάκης 2010), ενώ οι φωτογραφίες των ποικιλιών που μελετήθηκαν φαίνονται στο παράρτημα II.

Πίνακας 12. Αμπελογραφικοί χαρακτήρες και βαθμολογική κλίμακα αυτών σύμφωνα με την τελευταία έκδοση του Κώδικα Αμπελογραφικής Περιγραφής του ΟΙV (ΟΙV 2009).

Κωδικός ΟΙV	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
001	Σχήμα νεαρής κορυφής	1:κλειστό, 3:μετρίως ανοιχτό, 5:ανοιχτό

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
002	Κατανομή ανθοκυάνης στη νεαρή κορυφή	1:απουσία, 2:σε κηλίδες, 3:παντού
003	Ένταση ανθοκυάνης στη νεαρή κορυφή	1:απουσία, 3:αδύνατη, 5:μέτρια, 7:δυνατή, 9:πολύ δυνατή
004	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων στη νεαρή κορυφή	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
005	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων στη νεαρή κορυφή	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
006	Κατεύθυνση βλαστού (πριν το κορυφολόγημα)	1:όρθιος, 3:ελαφρά εκτεινόμενος, 5:οριζόντιος, 7:ελαφρά κρεμαστός, 9:κρεμαστός
007	Χρώμα μεσογονατίων νωτιαίας πλευράς βλαστού	1:πράσινο, 2:πράσινο με ερυθρές ραβδώσεις, 3:ερυθρό
008	Χρώμα μεσογονατίων κοιλιακής πλευράς βλαστού	1:πράσινο, 2:πράσινο με ερυθρές ραβδώσεις, 3:ερυθρό
009	Χρώμα κόμβων νωτιαίας πλευράς βλαστού	1:πράσινο, 2:πράσινο με ερυθρές ραβδώσεις, 3:ερυθρό
010	Χρώμα κόμβων κοιλιακής πλευράς βλαστού	1:πράσινο, 2:πράσινο με ερυθρές ραβδώσεις, 3:ερυθρό
011	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων στους κόμβους	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
012	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων στα μεσογονάτια	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
013	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων στους κόμβους	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
014	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων στα μεσογονάτια	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
015-1	Κατανομή ανθοκυάνης στους οφθαλμούς	1: απουσία, 2: στη βάση, 3: πάνω από τα ¾ του οφθαλμού, 4: περίπου όλος ο οφθαλμός

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
015-2	Ένταση ανθοκυάνης στους οφθαλμούς	1:απουσία, 3:αδύνατη, 5:μέτρια, 7:δυνατή, 9:πολύ δυνατή
016	Αριθμός συνεχόμενων ελίκων στο βλαστό	1: 2 ή λιγότεροι, 2: 3 ή περισσότεροι
051	Χρώμα άνω επιφάνειας νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1: πράσινο, 2: κίτρινο, 3: μπρούτζινο, 4: χάλκινο- ερυθρωπό
053	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων του νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
054	Πυκνότητα όρθιων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων του νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
055	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων πάνω στις νευρώσεις του νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
056	Πυκνότητα όρθιων τριχιδίων πάνω στις νευρώσεις του νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
065	Μέγεθος αναπτυγμένου φύλλου	1:πολύ μικρό, 3:μικρό, 5:μέτριο, 7:μεγάλο, 9:πολύ μεγάλο
067	Σχήμα ελάσματος	1: καρδιόσχημο, 2: σφηνοειδές, 3: πενταγωνικό, 4: κυκλικό, 5: νεφροειδές
068	Αριθμός λοβών	1:κανείς, 2:τρεις, 3:πέντε, 4:επτά, 5:περισσότεροι από επτά
069	Χρώμα άνω επιφάνειας του ελάσματος	3: ανοικτό πράσινο, 5: μέτρια πράσινο, 7: σκούρο πράσινο
070	Ένταση ανθοκυάνης στις κύριες νευρώσεις της άνω επιφάνειας του ελάσματος	1:απουσία, 2: μόνο στο μισχικό σημείο, 3: μέχρι την 1 ^η διακλάδωση, 4: μέχρι τη 2 ^η διακλάδωση, 5: πέρα από τη 2 ^η διακλάδωση
071	Ένταση ανθοκυάνης στις κύριες νευρώσεις της κάτω επιφάνειας του ελάσματος	1:απουσία, 2: μόνο στο μισχικό σημείο, 3: μέχρι την 1 ^η διακλάδωση, 4: μέχρι τη 2 ^η διακλάδωση, 5: πέρα από τη 2 ^η διακλάδωση

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
072	Ανωμαλίες του ελάσματος	1: απουσία ή πολύ αδύνατη, 3: αδύνατη, 5: μέτρια, 7: δυνατή, 9: πολύ δυνατή
073	Κυματισμός ελάσματος μεταξύ κύριων και δευτερευουσών νευρώσεων	1: απουσία, 9: παρουσία
074	Προφίλ ελάσματος φύλλου σε εγκάρσια τομή	1: επίπεδο, 2: V σχήμα-υδρορορή, 3: με άκρες προς τα πάνω, 4: με άκρες προς τα κάτω, 5: κυματιστό
075	Πομφολύγωση στην άνω επιφάνεια του ελάσματος	1: απουσία, 3: αδύνατη, 5: μέτρια, 7: δυνατή, 9: πολύ δυνατή
076	Σχήμα οδόντων	1: πλευρές κοίλες, 2: πλευρές ευθείες, 3: πλευρές κυρτές, 4: μία πλευρά κυρτή και μία κοίλη, 5: ανάμικτα (και οι 2 πλευρές ευθείες γραμμές (2) και οι 2 κυρτές (3)).
077	Μέγεθος οδόντων σε σχέση με το μέγεθος του ελάσματος	1: πολύ κοντό, 3: κοντό, 5: μέτριο, 7: μακρύ, 9: πολύ μακρύ
078	Μήκος οδόντων σε σχέση με το πλάτος τους	1: πολύ κοντό, 3: κοντό, 5: μέτριο, 7: μακρύ, 9: πολύ μακρύ
079	Σχήμα μισχικού κόλπου	1: πάρα πολύ ανοικτό, 3: ανοικτό, 5: κλειστό (μόλις που αγγίζουν), 7: επικαλύπτονται, 9: μεγάλη επικάλυψη
080	Σχήμα βάσης μισχικού κόλπου	1: U, 2: σχήμα αγκύλης (I), 3: V
081-1	Οδόντας στο μισχικό κόλπο	1: απουσία, 9: παρουσία
081-2	Η βάση μισχικού κόλπου περιορίζεται από το νεύρο	1: δεν περιορίζεται, 2: από τη μία πλευρά, 3: και από τις δύο πλευρές
082	Βαθμός ανοίγματος / επικάλυψης ανώτερων κόλπων	1: ανοικτοί, 2: κλειστοί, 3: με λοβούς ελαφρά επικαλυπτόμενους, 4: με λοβούς έντονα επικαλυπτόμενους, 5: απουσία λοβών
083-1	Σχήμα βάσης ανώτερων κόλπων	1: U, 2: σχήμα αγκύλης (I) 3: V

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
083-2	Οδόντας στους ανώτερους κόλπους	1: απουσία, 9: παρουσία
084	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων της κάτω επιφάνειας του φύλλου	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
085	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων της κάτω επιφάνειας του φύλλου	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
086	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων πάνω στις κύριες νευρώσεις της κάτω επιφάνειας του φύλλου	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
087	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων πάνω στις κύριες νευρώσεις της κάτω επιφάνειας του φύλλου	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
088	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων πάνω στις κύριες νευρώσεις της άνω επιφάνειας του φύλλου	1: απουσία, 9: παρουσία
089	Πυκνότητα όρθιων τριχιδίων πάνω στις κύριες νευρώσεις της άνω επιφάνειας του φύλλου	1: απουσία, 9: παρουσία
090	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων πάνω στο μίσχο	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
091	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων πάνω στο μίσχο	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
093	Μήκος μίσχου σε σύγκριση με το μήκος της κεντρικής νεύρωσης	1:πολύ πιο κοντό, 3:πιο κοντό, 5:ίσο, 7:πιο μακρύ, 9:πολύ πιο μακρύ
094	Βάθος ανώτερων κόλπων	1: πολύ αβαθείς, 3: αβαθείς, 5: μέτριοι, 7: βαθείς, 9: πολύ βαθείς
151	Φύλο άνθους ταξιανθίας	1:αρσενικό, 2:αρσενικό-ερμαφρόδιτο, 3:ερμαφρόδιτο, 4: θηλυκό

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
204	Πυκνότητα σταφυλής	1:πολύ αραιόρραγη, 3:αραιόρραγη, 5:μέτριας πυκνότητας, 7:πυκνόρραγη, 9: πολύ πυκνόρραγη
206	Μήκος ποδίσκου σταφυλής (από το σημείο πρόσφυσης μέχρι την αρχή του κύριου σώματος της σταφυλής)	1:πολύ κοντό (έως περίπου 30 mm), 3:κοντό (περίπου 50 mm), 5:μέτριο (περίπου 70 mm), 7:μακρύ (περίπου 90 mm), 9:πολύ μακρύ (περίπου 110 mm και περισσότερο)
207	Ξυλοποίηση ποδίσκου σταφυλής	1:μόνο στη βάση, 5:έως περίπου τη μέση, 7:περισσότερο από τη μέση
208	Σχήμα σταφυλής	1: κυλινδρικό, 2: κωνικό, 3: κυλινδροκωνικό * Περιγραφή μεταξύ 3/5 κ 4/5 του μήκους της σταφυλής
209	Αριθμός πτερυγίων της πρωτογενούς σταφυλής	1: απουσία, 2: 1-2 πτερύγια, 3: 3-4 πτερύγια, 4: 5-6 πτερύγια, 5: περισσότερα από 6
222	Ομοιομορφία μεγέθους ραγών	1:ανομοιόμορφο, 2:ομοιόμορφο
223	Σχήμα ραγών	1:πεπλατυσμένο, 2: σφαιρικό, 3: ευρεία ελλειψοειδές, 4:στενά ελλειψοειδές, 5: κυλινδρικό, 6:αμβλεία ωοειδές, 7: ωοειδές, 8: αντωοειδές, 9: γαμψό, 10: σχήμα δακτύλου
225	Χρώμα φλοιού ράγας	1:κιτρινοπράσινο, 2:ρόδινο, 3:ερυθρό, 4: γκρι, 5:ερυθροϊώδες (ερυθρομέλανο), 6:κυανομέλανο
226	Ομοιομορφία χρώματος φλοιού της ράγας	1: ανομοιόμορφο, 2: ομοιόμορφο
227	Ανθηρότητα ράγας	1:απουσία ή πολύ αδύνατη, 3:αδύνατη, 5:μέτρια, 7:πυκνή, 9:πολύ πυκνή
229	Ομφαλός ράγας	1: λίγο ορατός, 2: ορατός
241	Παρουσία γιγάρτων	1: απουσία, 2: υποτυπώδης, 3: παρουσία
244	Ραβδώσεις στην οπίσθια πλευρά των γιγάρτων	1: απουσία, 9: παρουσία

Αμπελογραφικοί χαρακτήρες

ΝΕΑΡΗ ΒΛΑΣΤΗΣΗ

Οι παρατηρήσεις στη νεαρή βλάστηση μήκους 10 – 30 cm αφορούν την αυξανόμενη κορυφή, τα 6 ανώτερα νεαρά φύλλα και το νεαρό ποώδη βλαστό.

ΚΟΡΥΦΗ ΝΕΑΡΗΣ ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ

Το σχήμα, το χρώμα και ο χνοασμός της αυξανόμενης κορυφής αποτελούν τους κύριους αμπελογραφικούς χαρακτήρες της αυξανόμενης κορυφής που περιγράφονται. Οι παρατηρήσεις (σε τουλάχιστον 10 αυξανόμενες κορυφές των βλαστών του πρέμνου) πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της άνθησης.

Το σχήμα χαρακτηρίζεται ως κλειστό, μετρίως ανοιχτό, έως ανοιχτό ανάλογα με το βαθμό αποχωρισμού των νεαρών φυλλαρίων και οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνται πάνω από το πρώτο εκτυλιγμένο (ξεδιπλωμένο) νεαρό φύλλο (εικόνα 10).



Εικόνα 10. Σχήμα αυξανόμενης κορυφής

Για την περιγραφή του χρώματος, εξετάζεται η κατανομή της ανθοκυάνης, η οποία μπορεί να απουσιάζει εντελώς, να φέρεται κατά κηλίδες, ή καθολικά και η ένταση της ανθοκυάνης, που κλιμακώνεται από ανύπαρκτη ή ελάχιστη, έως πολύ δυνατή. Οι ενδιάμεσες περιπτώσεις είναι αδύνατη, μέτρια και δυνατή (Εικόνα 11). Οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνται κατά την περίοδο της άνθησης πάνω από το πρώτο εκτυλιγμένο (ξεδιπλωμένο) νεαρό φύλλο, σε 10 αυξανόμενες κορυφές, με την επισήμανση ότι στην περίπτωση της κλειστής ή μετρίως ανοικτής κορυφής, τα φύλλα πρέπει να έχουν ξεδιπλωθεί.



Εικόνα 11. Χρώμα αυξανόμενης κορυφής

Ο χνοασμός προσδιορίζεται από το είδος (έρποντα ή όρθια) και την πυκνότητα των τριχιδίων. Και στις δυο περιπτώσεις η πυκνότητα κλιμακώνεται από την παντελή απουσία τριχιδίων, μέχρι την ύπαρξη πολύ πυκνών τριχιδίων, ενώ οι ενδιάμεσες καταστάσεις είναι τα αραιά τριχίδια, μέτρια πυκνά και πυκνά τριχίδια. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ψηφιοποιημένα, σύμφωνα με τις τιμές που δίδονται από τον Κ.Α.Π. αλλά συχνά χρησιμοποιούνται και οι όροι της κλασσικής αμπελογραφίας όπως αραχνοϋφής (πολύ αραιά έρποντα τριχίδια), χνοώδης (παρουσία πυκνών ερπόντων τριχιδίων), και βαμβακώδης (παρουσία πολύ πυκνών ερπόντων τριχιδίων) χνοασμός. Αντίστοιχα, η παρουσία αραιών όρθιων τριχιδίων χαρακτηρίζεται ως μεταξώδης χνοασμός ενώ η παρουσία πυκνών όρθιων τριχιδίων ως βελουδοειδής. Όταν δε φέρει καθόλου τριχίδια, το όργανο, και στην προκειμένη περίπτωση η αυξανόμενη κορυφή, χαρακτηρίζεται λείο. Οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνται κατά την περίοδο της άνθησης πάνω από το πρώτο εκτυλιγμένο (ξεδιπλωμένο) νεαρό φύλλο, σε 10 αυξανόμενες κορυφές, με την επισήμανση ότι στην περίπτωση της κλειστής ή μετρίως ανοικτής κορυφής, τα φύλλα πρέπει να έχουν ξεδιπλωθεί (εικόνα 12).



Εικόνα 12. Χνοασμός αυξανόμενης κορυφής

ΝΕΑΡΑ ΦΥΛΛΑ

Οι παρατηρήσεις στα νεαρά φύλλα αφορούν στα έξι πρώτα φύλλα του νεαρού βλαστού. Οι παρατηρήσεις γίνονται σε 10 βλαστούς του πρέμνου και πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της άνθησης μετρώντας από το πρώτο εκτυλιγμένο (ξεδιπλωμένο) νεαρό φύλλο, με την επισήμανση ότι στην περίπτωση της κλειστής ή μετρίως ανοικτής κορυφής, τα φύλλα πρέπει να έχουν ξεδιπλωθεί. Μελετάται το χρώμα της άνω επιφάνειας των νεαρών φύλλων, το οποίο μπορεί να είναι πράσινο, πράσινο με μπρούτζινες περιοχές, κίτρινο, κίτρινο με μπρούτζινες περιοχές, χαλκοκίτρινο, χαλκόχρωο και κοκκινωπό, αλλά και το είδος του χνοασμού.

ΝΕΑΡΟΣ ΒΛΑΣΤΟΣ

Οι παρατηρήσεις στο νεαρό βλαστό πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της άνθησης, σε 10 βλαστούς του πρέμνου. Μελετάται η κατεύθυνση (κλίση) των νεαρών βλαστών. Με το κριτήριο αυτό, η βλάστηση μπορεί να χαρακτηριστεί όρθια, ημι-όρθια, οριζόντια ή πλαγιόκλαδη, ημι-έρπουσα και έρπουσα (κρεμνοκλαδής). Εξετάζεται επίσης ξεχωριστά το χρώμα των μεσογονατίων και των κόμβων στη νωτιαία και την κοιλιακή πλευρά, το οποίο μπορεί να είναι πράσινο, πράσινο με ερυθρές ραβδώσεις, ερυθρό κ.ά. Μελετάται η ένταση της ανθοκυάνης στους οφθαλμούς, ενώ ο χνοασμός εξετάζεται τόσο στα μεσογονάτια όσο και στους κόμβους. Τέλος, στο νεαρό βλαστό μελετώνται και οι έλικες, οι οποίες χαρακτηρίζονται από την κατανομή τους στο βλαστό, από το μήκος κι από το βαθμό διακλάδωσής τους. Στις ποικιλίες *vinifera* οι έλικες εμφανίζονται πάντα σε διαλείπουσα διάταξη, δηλαδή δύο κόμβοι συνεχόμενοι φέρουν έλικα, ενώ ο τρίτος δε φέρει. Ως προς το μήκος τους οι έλικες μπορούν να χαρακτηριστούν από πολύ κοντές, όταν το μήκος τους δεν ξεπερνά τα 10 cm μέχρι πολύ μακριές, όταν ξεπερνούν τα 30 cm, ενώ ως μέσο σύγκρισης χρησιμοποιείται και το μήκος της έλικας ως προς το μήκος του αντιπροσωπευτικού για κάθε ποικιλία μεσογονατίου διαστήματος.

ΑΝΑΠΤΥΓΜΕΝΟ ΦΥΛΛΟ

Οι παρατηρήσεις στο αναπτυγμένο φύλλο, λαμβάνουν χώρα κατά το χρονικό διάστημα από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό. Τα φύλλα διακρίνονται ως προς το μέγεθός τους σε μικρά, μεσαία και μεγάλα. Για το σκοπό αυτό μετράται το μήκος του φύλλου, από τον ανώτερο οδόντα ως τον κατώτερο. Το σχήμα εξαρτάται από τη σχέση του μήκους προς το πλάτος του φύλλου, από τα σχετικά μήκη των κύριων νευρώσεων, καθώς και των γωνιών που σχηματίζουν μεταξύ τους. Το σχήμα μπορεί να είναι σφηνοειδές, καρδιόσχημο, πενταγωνικό, κυκλικό ή νεφροειδές (εικόνα 13).

Το λοβώδες εξαρτάται από τον αριθμό των λοβών και των κόλπων. Έτσι, ένα φύλλο μπορεί να χαρακτηριστεί ολόκληρο όταν διακρίνεται μονάχα ο μισχικός

κόλπος και δε φέρει ανεπτυγμένους πλευρικούς κόλπους και λοβούς. Τρίκολπο – τρίλοβο, ονομάζεται όταν οι ανώτεροι κόλποι είναι καλά αναπτυγμένοι και οι κατώτεροι αβαθείς και πεντάκολπο – πεντάλοβο, όταν τόσο οι κατώτεροι όσο και οι ανώτεροι κόλποι είναι καλά αναπτυγμένοι. Ακόμα ένα φύλλο μπορεί να χαρακτηρίζεται επτάκολπο – επτάλοβο.



σφηνοειδές



καρδιόσχημο



κυκλικό



πενταγωνικό



νεφροειδές

Εικόνα 13. Σχήμα φύλλου

Μελετάται το χρώμα της άνω επιφάνειας του ελάσματος, το οποίο διαβαθμίζεται από πολύ ανοιχτό πράσινο έως πολύ σκούρο πράσινο. Επισημαίνεται ακόμα η παρουσία ή απουσία ανωμαλιών στην άνω επιφάνεια του ελάσματος, μεταξύ των νεύρων N2 και N3, καθώς και η ενδεχόμενη παρουσία και η ένταση πομφολύγωσης και μελικήρωσης. Διευκρινίζεται ότι με τον όρο πομφολύγωση αποδίδεται η ύπαρξη ανωμαλιών σαν φουσκάλες σε όλη την επιφάνεια του ελάσματος, που δίνουν στο φύλλο μια γκοφρέ όψη, ενώ ο όρος μελικήρωση χρησιμοποιείται για να αποδώσει την ύπαρξη ανωμαλιών, που έχουν τη μορφή 'δαχτυλικών αποτυπωμάτων' κοντά στο μισχικό σημείο και κατά μήκος των κεντρικών νεύρων. Τέλος, περιγράφεται και η κατατομή του φύλλου (επίπεδο, συνεστραμμένο προς τα πάνω κατά μήκος της κουρίας νεύρωσης ως 'υδρορροή', συνεστραμμένο προς τα πάνω ή προς τα κάτω) (εικόνα 14). Στην κάτω επιφάνεια του ελάσματος ενδιαφέρει ο χνοασμός, ο οποίος χαρακτηρίζεται ως προς τον τύπο των τριχιδίων και την πυκνότητά τους, όπως έχει αναφερθεί. Ο χνοασμός της κάτω επιφάνειας του φύλλου, αποτελεί χαρακτήρα ιδιαίτερης σημασίας, καθώς παρουσιάζει μεγάλη σταθερότητα και δεν παραλλάσσει έντονα από χρόνο σε χρόνο, όπως συμβαίνει με άλλους αμπελογραφικούς χαρακτήρες.



αναδιπλούμενο



κυματώδες



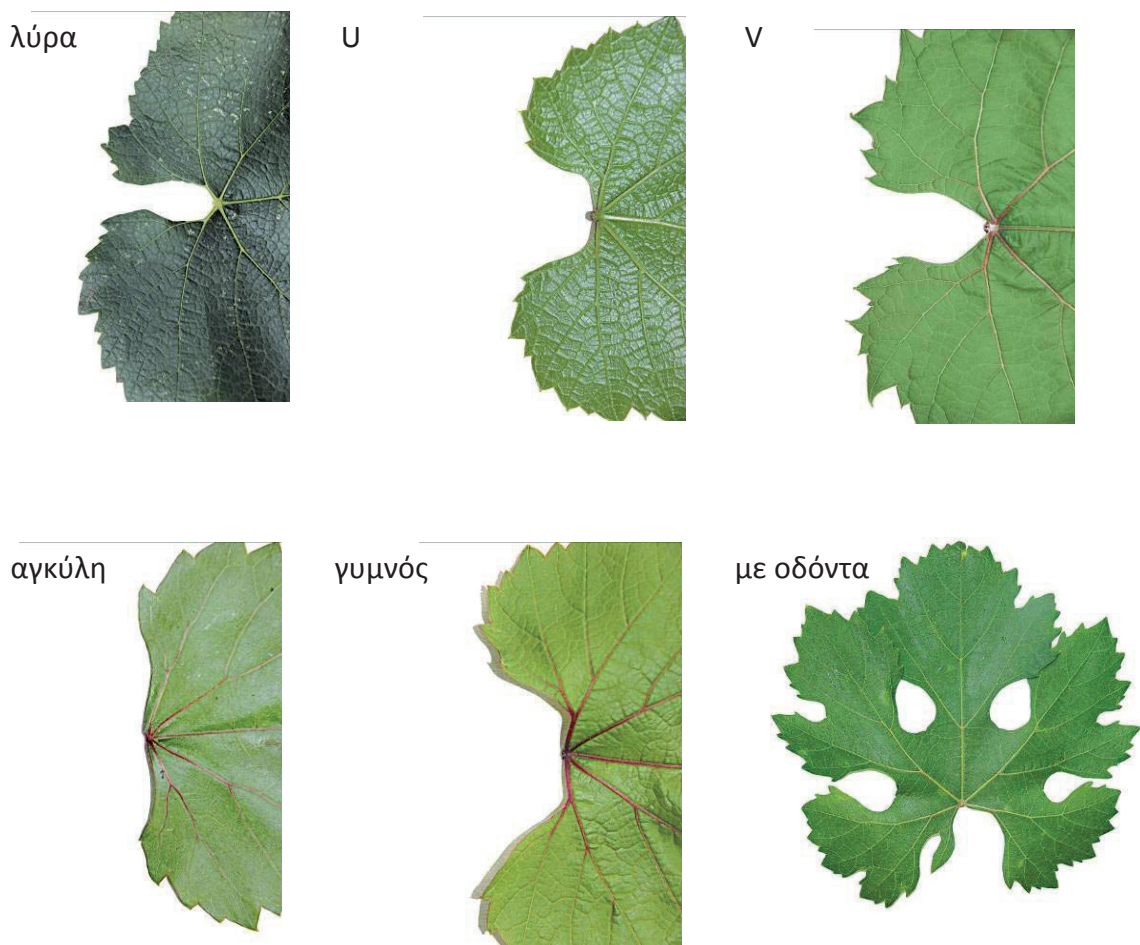
πομφολυγώδες



μελικηρώδες

Εικόνα 14. Χαρακτήρες ελάσματος φύλλου

Οι κόλποι διακρίνονται από το σχήμα, το βάθος τους και τις πιθανές ιδιαιτερότητές τους. Ο μισχικός κόλπος μπορεί να είναι ανοιχτός ή κλειστός, ανάλογα με το πόσο προσεγγίζουν μεταξύ τους ή επικαλύπτονται οι πλευρικοί λοβοί. Το σχήμα της βάσης του μισχικού κόλπου μπορεί να είναι V, σχήμα αγκύλης (ι) ή U. Επιπλέον, επισημαίνεται η ενδεχόμενη παρουσία ιδιαιτεροτήτων στο μισχικό κόλπο. Τέτοιες ιδιαιτερότητες μπορεί να είναι η παρουσία ενός ή και δύο δοντιών, καθώς και η κατάληξη σε νεύρο της βάσης του μισχικού κόλπου (εικόνα 15).



Εικόνα 15. Σχήμα μισχικού κόλπου

ΝΕΥΡΩΣΕΙΣ

Μελετάται ο χνοασμός που φέρεται στα νεύρα, καθώς και η ένταση της ανθοκυάνης των νεύρων, τόσο στην κάτω επιφάνεια, όσο και στην άνω επιφάνεια του φύλλου.

ΟΔΟΝΤΕΣ

Οι οδόντες διακρίνονται ως προς το σχήμα τους και το μέγεθός τους. Ανάλογα με το σχήμα των πλευρών τους, διακρίνονται σε οδόντες με κοίλες πλευρές, με ευθείες πλευρές, με κυρτές πλευρές, καθώς και σε οδόντες με μια πλευρά κοίλη και μια κυρτή. Το μέγεθος των οδόντων ποικίλει από πολύ μικρό έως πολύ μεγάλο. Όταν μάλιστα γίνεται αναφορά για διπλή σειρά οδόντων, νοείται η παρουσία ανισομεγεθών οδόντων στο ίδιο φύλλο. Στους οδόντες ενδιαφέρει και η σχέση μήκους και πλάτους, καθώς από αυτή καθορίζεται αν ο οδόντας θα είναι οξύς, αμβλύς, ή θα σχηματίζει ορθή γωνία.

ΣΤΑΦΥΛΗ

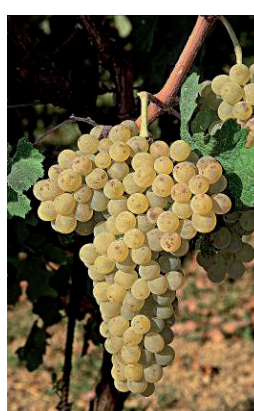
Οι παρατηρήσεις στη σταφυλή πραγματοποιούνται κατά την πλήρη ωρίμανση. Για το σκοπό αυτό επιλέγονται δέκα καρποφόροι βλαστοί, και οι παρατηρήσεις λαμβάνονται από το σύνολο των σταφυλών που φέρουν, καθώς και ο κόμβος στον οποίο εμφανίζεται η πρώτη σταφυλή. Ως κριτήριο του μεγέθους της σταφυλής επιλέγεται το μήκος της σε σχέση με το μήκος του αντίστοιχου μεσογονατίου, και με βάση αυτή χαρακτηρίζεται η σταφυλή μικρή, μέτρια, μεγάλη ή πολύ μεγάλη. Μικρή χαρακτηρίζεται η σταφυλή όταν το μήκος της δεν ξεπερνά το μισό του μήκους του αντίστοιχου μεσογονατίου, μέτρια όταν το μήκος της είναι ίσο περίπου με το μήκος του μεσογονατίου, μεγάλη όταν το μήκος της είναι ίσο με το μήκος μέχρι και δυο μεσογονατίων και πολύ μεγάλη όταν το μήκος της ξεπερνά το μήκος δυο μεσογονατίων. Επιπλέον, μελετάται το σχήμα της σταφυλής, το οποίο μπορεί να είναι κωνικό, κυλινδρικό, κυλινδροκωνικό, πτερυγωτό, ακανόνιστο (εικόνα 16).



κωνικό



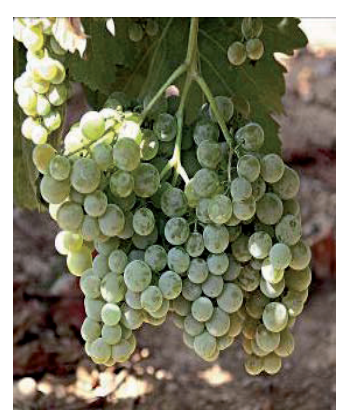
κυλινδρικό



κυλινδροκωνικό



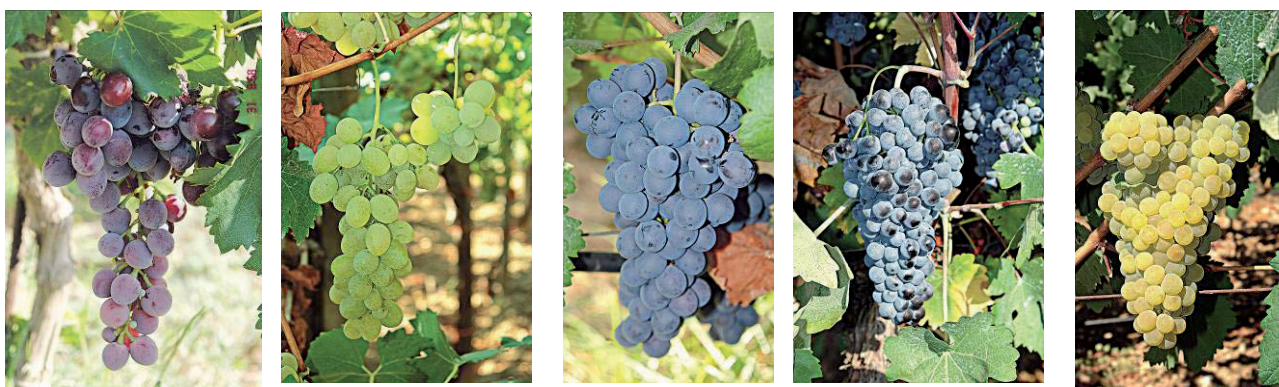
πτερυγωτό



ακανόνιστο

Εικόνα 16. Σχήμα σταφυλής

Ως προς τη πυκνότητα των ραγών, μια σταφυλή μπορεί να χαρακτηρίζεται από πολύ αραιόρραγη έως πολύ πυκνόρραγη (εικόνα 17). Σε γενικές γραμμές, αραιόρραγη χαρακτηρίζεται μια σταφυλή όταν οι ράγες της δεν ακουμπούν μεταξύ τους, μέτριας πυκνότητας ή μέτρια πυκνόρραγη όταν οι ράγες ακουμπούν μεταξύ τους χωρίς να αλλοιώνεται το σχήμα τους και πυκνόρραγη όταν οι ράγες είναι τόσο κοντά η μια στην άλλη ώστε το σχήμα τους να παραμορφώνεται.



πολύ αραιή

αραιή

κανονικής πυκνότητας

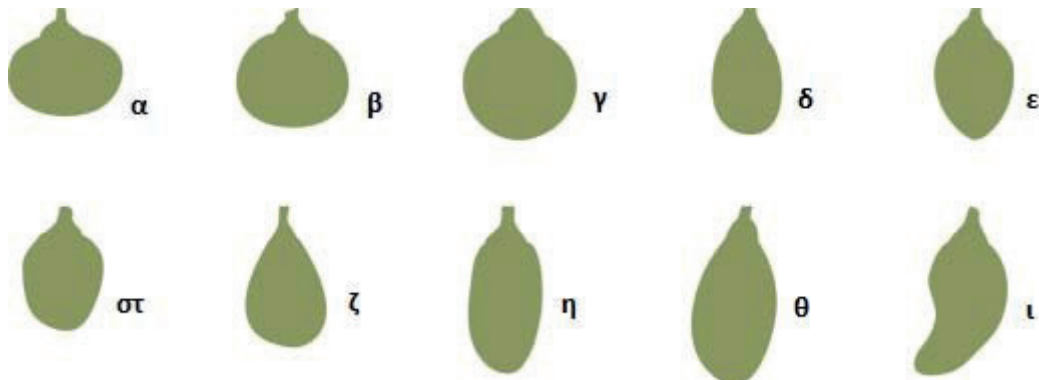
πυκνή

πολύ πυκνή

Εικόνα 17. Πυκνότητα σταφυλής

ΡΑΓΑ

Το σχήμα της ράγας προσδιορίζεται από τη σχέση μήκος προς πλάτος και στη συνέχεια, από την όψη της ράγας. Έτσι, η ράγα χαρακτηρίζεται δισκοειδής ή πεπλατυσμένη όταν ο λόγος μήκος προς πλάτος παίρνει τιμές από 0,80 έως 0,95, σφαιρική όταν ο λόγος παίρνει τιμές από 1,00 έως 1,08 και για τιμές από 1,09 και πάνω μπορεί να χαρακτηρίζεται μικρή ελλειπτική, ωοειδής, ελαφρά ωοειδής, αντρωοειδής, κυλινδρική, μακριά ελλειπτική και γαμψή (εικόνα 18).



Εικόνα 18. Σχήμα ράγας: α. πεπλατυσμένο, β. σφαιρικό, γ, δ. ελλειψοειδές, ε. αμβλεία ωοειδές, στ. ωοειδές, ζ. αντρωοειδές, η. κυλινδρικό, θ. σχήμα δακτύλου, ι. γαμψό

Ως προς το χρώμα, οι ράγες διακρίνονται σε κιτρινοπράσινες, ερυθρωπές, ερυθρο-γκρίζες, ερυθροϊώδεις, κυανομέλανες και ερυθρομέλανες. Το χρώμα των ραγών είναι ένα χαρακτηριστικό που παραλλάσσει έντονα, ιδιαίτερα στις έγχρωμες ποικιλίες, καθώς εξαρτάται από τη θερμοκρασία, από την έκθεση της σταφυλής στον ήλιο κ.ά. Εκτός από αυτό όμως, υπόκειται και στην υποκειμενική γνώμη του αμπελογράφου, καθώς τις αποχρώσεις καθέναν μπορεί να τις αντιλαμβάνεται διαφορετικά, και στη συγκεκριμένη μελέτη ο προσδιορισμός του χρώματος έγινε με εμπειρικό τρόπο.

ΚΛΗΜΑΤΙΔΑ

Οι παρατηρήσεις που αφορούν στην κληματίδα, πραγματοποιούνται από την έναρξη της φυλλόπτωσης και μετά. Στις κληματίδες, και συγκεκριμένα στο μέσο των μεσογονατίων, μελετάται το σχήμα της διατομής και το σχήμα της περιφέρειας της διατομής της κληματίδας. Το σχήμα της διατομής μπορεί να είναι κυκλικό, ελλειπτικό ή πεπλατυσμένο.

Μοριακές μέθοδοι

Από τις μοριακές μεθόδους όπως παρουσιάστηκαν αναλυτικά στην Εισαγωγή χρησιμοποιήθηκαν τρεις και συγκεκριμένα οι AFLP, RAPD και SSR οι οποίες παρουσιάζουν συγκριτικά πλεονεκτήματα για εργασίες τέτοιου είδους σε μεγάλο αριθμό φυτών μεταξύ των οποίων και η άμπελος.

Συλλογή υλικού και απομόνωση DNA

Συλλογή υλικού

Ως πειραματικό υλικό χρησιμοποιήθηκαν τα νεαρά φύλλα των κυρίων βλαστών των πρέμνων. Αρχικά, όπως αναφέρθηκε, έγινε αμπελογραφική περιγραφή και στη συνέχεια μακροσκοπικός έλεγχος της υγείας των πρέμνων, τόσο κατά την περίοδο βλάστησης όσο και κατά την πλήρη ωρίμανση του φορτίου, έτσι ώστε να επισημανθούν και τελικά να επιλεγούν υγιή και αντιπροσωπευτικά πρέμνα της κάθε ποικιλίας. Ειδικά στην περίπτωση των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας, πραγματοποιήθηκε εργαστηριακός ιολογικός έλεγχος για το καρούλιασμα των φύλλων (LR-1, LR-2), το μολυσματικό εκφυλισμό (GFIV) και τη βοθρίωση (GVA). Από

τον έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των δειγμάτων (περίπου 25%) ήταν προσβεβλημένο από τον LR-1, ενώ μικρότερα ήταν τα ποσοστά από τους GFIV (19%) και GVA (8%). Τα ιωμένα πρέμνα αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Η ηλικία των φύλλων επιδρά σημαντικά τόσο στην καθαρότητα όσο και στην ποσότητα του εξαγόμενου DNA. Μετά από σχετικές δοκιμές και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, παρατηρήθηκε ότι ο καταλληλότερος χρόνος για τη συλλογή των φύλλων είναι η περίοδος της ταχείας αύξησης των βλαστών (Lodhi et al. 1994, Μπινιάρη 2000).

Από το κάθε πρέμνο συλλέχθηκαν περισσότερα από τρία δείγματα, τα οποία και τοποθετήθηκαν σε διαφορετικές σακούλες. Αμέσως μετά τη συλλογή τους, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φορητό ψυγείο με ξηρό πάγο (-80°C περίπου) και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν και τοποθετήθηκαν σε ψυγείο βαθιάς κατάψυξης (-80°C).

Απομόνωση DNA

Η απομόνωση – εξαγωγή DNA από τους ιστούς (φύλλα) της αμπέλου παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες εξαιτίας των πολυφαινολών και πολυσακχαριτών στα κύτταρα. Για την απομόνωση του DNA εφαρμόστηκαν αρχικά διάφορα πρωτόκολλα, όπως το DNeasy Plant Mini Kit της Qiagen κ.ά. Με τις μεθόδους αυτές, απομονώθηκε DNA, όχι όμως σε ικανοποιητική ποσότητα και κυρίως καθαρότητα.

Η απομόνωση του DNA πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Thomas κ.ά. (1993), ύστερα από κάποιες τροποποιήσεις (Μπινιάρη 2000). Χρησιμοποιήθηκε 1g φύλλων από κάθε πρέμνο, το οποίο μετά τη λειοτριβήση με υγρό άζωτο, ομογενοποιήθηκε σε 12,5 mL ρυθμιστικού διαλύματος το οποίο περιείχε 0,25 M NaCl, 50 mM EDTA, 0,2 M TRIS-Cl (pH: 8,0), 0,1% v/v 2-μερκαπταιθανόλη, 2,5% w/v polyvinyl-pyrrolidone (MW 40.000) {ρυθμιστικό διάλυμα Α} (Thomas et al. 1993). Μετά τη φυγοκέντρωση στις 7.000 rpm για 10 λεπτά στους 4°C, δημιουργήθηκε ένα νουκλεϊνικό ίζημα το οποίο επαναδιαλύθηκε σε 2,5 mL ρυθμιστικού διαλύματος που περιείχε 0,5 M NaCl, 0,2 M TRIS-Cl (pH: 8,0), 50 mM EDTA, 1% v/v 2-μερκαπταιθανόλη, 2,5% w/v polyvinyl-pyrrolidone (MW 40.000), 3% sarcosyl, 20% αιθανόλη {ρυθμιστικό διάλυμα Β}. Το μείγμα αυτό επωάστηκε στους 37°C για 45 λεπτά, με συνεχή ανάδευση. Στη συνέχεια, προστέθηκε ίσος όγκος (2,5 mL) διαλύματος χλωροφορμίου/ισοαμυλικής αλκοόλης (24:1) και αναμείχθηκε με ανάδευση. Οι φάσεις διαχωρίστηκαν με φυγοκέντρωση στις 12.000 rpm για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και μετά παραλήφθηκε η υπερκείμενη υδάτινη φάση η οποία αναμείχθηκε με 1,6 mL ισοπροπανόλης (-20°C) για την κατακρήμνιση του DNA. Το DNA στις συνθήκες αυτές δημιουργεί σύμπλοκα που καθιζάνουν και απομονώνεται με γυάλινη ράβδο. Ακολούθως, διαλύθηκε σε 300 μL TE (10mM TRIS-Cl (pH: 7,4), 1mM EDTA) και προστέθηκε 1,5 μL RNase A (ελεύθερη από DNase I) συγκέντρωσης 1μg/μL και επωάστηκε στους 37°C για 20 λεπτά. Έπειτα, προστέθηκαν 150 μL οξικού αμμωνίου (7,5 M), έγινε διαχωρισμός με φυγοκέντρωση στις 14.000

rpm για 10 λεπτά (σε θερμοκρασία δωματίου) και η υπερκείμενη υδάτινη φάση μεταφέρθηκε σε νέο σωλήνα όπου και προστέθηκαν 1,6 mL ισοπροπανόλης (-20°C). Τέλος, το μείγμα αναδεύτηκε με αργό ρυθμό και το DNA που εμφανίστηκε απομακρύνθηκε με γυάλινη ράβδο και επαναδιαλύθηκε σε 200 µL TE.

Υπολογισμός συγκέντρωσης του DNA

Στη συνέχεια, μετρήθηκε η συγκέντρωση του DNA στο διάλυμα σε φασματοφωτόμετρο (HITACHI U-2001) στα 260 και στα 280 nm. Συγκεκριμένα, 10 µL δείγματος DNA διαλύθηκαν σε 1 mL dH₂O και η συγκέντρωση του DNA υπολογίστηκε σύμφωνα με τον τύπο:

$$C \text{ (συγκέντρωση)} = \text{Αραίωση} \times \text{Ένδειξη (στα 260 nm)} \times 50 \text{ µg/mL}$$

Οι συγκεντρώσεις του DNA στα δείγματα ήταν περίπου 370 ng/µL και αναλογούσε σε περίπου 80 µg DNA/g φρέσκου ιστού. Σύμφωνα με αυτές τις συγκεντρώσεις του DNA έγινε αραίωση με dH₂O έτσι ώστε οι τελικές συγκεντρώσεις να κυμαίνονται στα 30 ng/µL σε DNA για τις μεθόδους των RAPD και SSR, και στα 90ng/µL για τη μέθοδο των AFLP.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του DNA μετρήθηκε και σε φασματοφωτόμετρο NanoDrop (NanoDrop Technologies), όπου 1µL δείγματος DNA τοποθετήθηκε στην ειδική υποδοχή και στη συνέχεια, το λογισμικό υπολόγιζε τη συγκέντρωση του DNA, καθώς και την καθαρότητα του DNA.

Ο λόγος της απορρόφησης στα 260 nm προς την απορρόφηση στα 280 nm δείχνει την καθαρότητα του DNA, η οποία στα δείγματα κυμαινόταν μεταξύ 1,58 και 1,88. Οι συγκεντρώσεις και η καθαρότητα του DNA, όπως μετρήθηκαν με το φασματοφωτόμετρο NanoDrop, φαίνονται στους πίνακες 13 και 14.

Πίνακας 13. Συγκέντρωση και καθαρότητα DNA στους βιότυπους της Κορινθιακής Σταφίδας.

α/α	Κωδικός δείγματος	Ποικιλία	C (ng/ml)	Καθαρότητα DNA (260nm/280nm)
1	C1	Τσεκλένι 1	378	1,77
2	C2	Τσεκλένι 2	542,4	1,82
3	C3	Βοστίτσα 1	500,1	1,75

α/α	Κωδικός δείγματος	Ποικιλία	C (ng/ml)	Καθαρότητα DNA (260nm/280nm)
4	C4	Βοστίτσα 2	294,3	1,73
5	C5	Βοστίτσα 3	345,7	1,82
6	C6	Πύργου 1	336,5	1,75
7	C7	Πύργου 2	413,7	1,69
8	C8	Πύργου 3	487,1	1,71
9	C9	Κορινθιακή Λευκή 1	276,1	1,8
10	C10	Κορινθιακή Λευκή 2	479,4	1,85
11	C11	Κορινθιακή Λευκή 3	330	1,85
12	C12	Ζακύνθου Ντόπιο 1	303,5	1,77
13	C13	Ζακύνθου Ντόπιο 2	479,3	1,7
14	C14	Ζακύνθου Ντόπιο 3	289,9	1,77
15	C15	Ζακύνθου Πρώιμο 1	513,5	1,71
16	C16	Ζακύνθου Πρώιμο 2	359,3	1,8
17	C17	Ζακύνθου Πρώιμο 3	245,5	1,73
18	C18	Κεφαλληνίας 1	398	1,84
19	C19	Κεφαλληνίας 2	291,4	1,77
20	C20	Κεφαλληνίας 3	388,4	1,74
21	C21	Κορινθίας 3	380	1,72
22	C22	Κορινθίας 4	336,6	1,84
23	C23	Κορινθίας 5	215,2	1,75
24	C24	Κεφαλληνίας 4	422,9	1,73
25	C25	Κεφαλληνίας 5	717,1	1,63
26	C26	Κορινθιακή Εγγίγαρτη 1	196,3	1,81
27	C27	Κορινθιακή Εγγίγαρτη 2	74,6	1,71
28	C28	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 1	117,4	1,66
29	C29	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 2	315,5	1,75

α/α	Κωδικός δείγματος	Ποικιλία	C (ng/ml)	Καθαρότητα DNA (260nm/280nm)
30	C30	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 3	320	1,84
31	C31	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 4	272,1	1,75

Πίνακας 14. Συγκεντρώσεις και καθαρότητα του DNA στις λοιπές ποικιλίες.

α/α	Κωδικός δείγματος	Ποικιλία	C (ng/ml)	Καθαρότητα DNA (260nm/280nm)
1	B1	Εφτάκοιλο	1566,7	1,86
2	B2	Λαδικινό	826,1	1,86
3	B3	Καρυστινό	178,6	1,85
4	B4	Συρίκι	307,3	1,85
5	B5	Ξερομαχαιρούδα	770	1,83
6	B6	Σεριφιώτικο	1181,2	1,85
7	B7	Σταυροχιώτικο	1478,7	1,86
8	B8	Ερικαράς	834,7	1,82
9	B9	Αρμελετούσα	1223	1,85
10	B10	Γιουρούκι	861,1	1,83
11	B11	Φωκιανό	448,9	1,78
12	B12	Βόσσο	479,9	1,84
13	B13	Ατσάλα	413,6	1,8
14	B14	Κοκκινόρομπόλα	911,2	1,86
15	B15	Ρομπόλα	495,5	1,83
16	B16	Ασπρούδι Αχαΐας	323,9	1,85
17	B17	Ασπρούδι Ζακύνθου	571,1	1,82
18	B18	Ασπρούδι Σαντορίνης	1019,1	1,83
19	B19	Ασπρούδι Μυκηνών	462,6	1,83
20	B20	Ασπρούδι Σπετσών	453,2	1,86

α/α	Κωδικός δείγματος	Ποικιλία	C (ng/ml)	Καθαρότητα DNA (260nm/280nm)
21	B21	Αγριογλυκάδι	497,7	1,83
22	B22	Γλυκάδα άσπρη	859,1	1,84
23	B23	Γλυκερήθρα	464,2	1,83
24	B24	Γλυκέρι	447,9	1,82
25	B25	Πλατάνι	526,9	1,84
26	B26	Πετρολιανός	740,1	1,83
27	B27	Ποταμίσι άσπρο	390,1	1,8

Μοριακοί δείκτες

AFLP

Οι αντιδράσεις των AFLP έγιναν σύμφωνα με τους Vos et al. (1995) και ακολουθώντας τα πρωτόκολλα που συνόδευαν το AFLP® Plant Mapping Kit (AFLP Plant Mapping Protocol, Applied Biosystems 2007), με μικρές τροποποιήσεις.

α. Εκκινητές

Χρησιμοποιήθηκαν οι 64 συνδυασμοί εκκινητών που περιλαμβάνονται στο AFLP® Plant Mapping Kit (Applied Biosystems) (πίνακας 15). Οι εκκινητές αυτοί προήρθαν από όλους τους δυνατούς συνδυασμούς των οκτάδων:

- EcoRI (– Axx): –ACT, –ACA, –AAC, –ACC, –AGC, –AAG, –ACG, –AGG

Οι εκκινητές αυτοί προσαρμόζονταν στο 3' άκρο και ήταν σημασμένοι με φθορίζουσα χρωστική διαφορετικού χρώματος FAM (μπλε), JOE (πράσινο), NED (κίτρινο)

- MseI (– Cxx): –CAA, –CAC, –CAG, –CAT, –CTA, –CTC, –CTG, –CTT

Πίνακας 15. Αποτελέσματα δοκιμής των 64 συνδυασμών των εκκινητών.

Επεξήγηση συμβολισμών: **A**: υψηλός πολυμορφισμός με ικανοποιητικό ή μεγάλο αριθμό ενισχυμένων τμημάτων, **B**: μέτριος πολυμορφισμός με μέτριο αριθμό ενισχυμένων τμημάτων, **Γ**: χαμηλός ή καθόλου πολυμορφισμός με μικρό ή μηδενικό αριθμό ενισχυμένων τμημάτων.

	MseI – CAA	MseI – CAC	MseI – CAG	MseI – CAT	MseI – CTA	MseI – CTC	MseI – CTG	MseI – CTT
EcoRI – ACT	B	B	A	A	B	Γ	Γ	Γ
EcoRI – ACA	Γ	B	B	B	A	Γ	Γ	A
EcoRI – AAC	Γ	B	B	B	Γ	Γ	Γ	Γ
EcoRI – ACC	B	B	A	B	B	Γ	B	Γ
EcoRI – AGC	Γ	B	B	B	Γ	Γ	Γ	Γ
EcoRI – AAG	B	A	B	B	B	B	B	B
EcoRI – ACG	B	A	B	B	A	A	B	B
EcoRI – AGG	B	A	A	A	B	B	B	B

Μετά από τις δοκιμές των 64 παραπάνω συνδυασμών, επιλέχθηκαν να χρησιμοποιηθούν 12 ζεύγη εκκινητών, 5 για την ομάδα της Κορινθιακής Σταφίδας και των παραλλαγών της και 7 για την ομάδα των λοιπών ποικιλιών (πίνακας 16).

Πίνακας 16. Συνδυασμοί εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν.

Εκκινητής EcoRI – Axx	Εκκινητής MseI – Cxx
EcoRI – ACT	MseI – CAG
EcoRI – ACT	MseI – CAT
EcoRI – ACA	MseI – CTA
EcoRI – ACA	MseI – CTT
EcoRI – ACG	MseI – CTC
EcoRI – ACG	MseI – CTA
EcoRI – ACG	MseI – CAC
EcoRI – AAG	MseI – CAC
EcoRI – AGG	MseI – CAC

Εκκινητής	Εκκινητής
EcoRI – Axx	MseI – Cxx
EcoRI – AGG	MseI – CAG
EcoRI – AGG	MseI – CAT
EcoRI – ACC	MseI – CAG

β. Συνθήκες Ενίσχυσης Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR)

Η διαδικασία ενίσχυσης του γονιδιωματικού DNA με τη χρήση των AFLP δεικτών μπορεί να χωριστεί στα παρακάτω στάδια:

i. Πέψη – Σύνδεση (Restriction – Ligation)

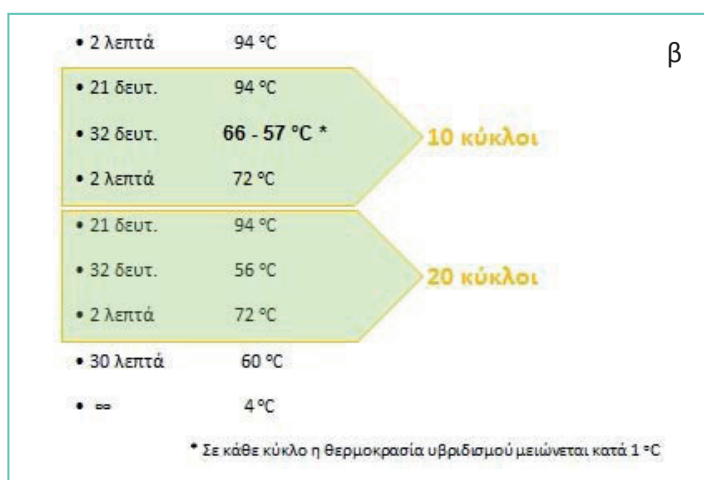
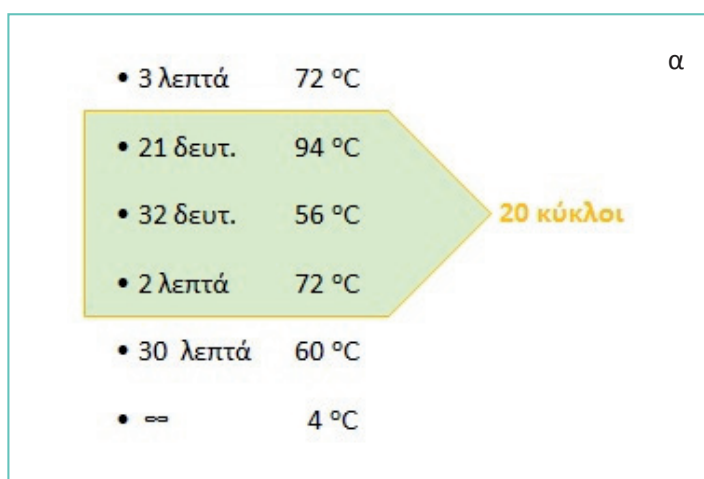
Για το στάδιο της πέψης – σύνδεσης, 500 ng γονιδιωματικού DNA επώστηκαν για 14-16 ώρες στους 20°C, παρουσία 3U (units) του ενζύμου EcoRI (5'..GAATTC..3') (New England Biolabs) και 1U του ενζύμου MseI (5'..TTAA..3') (New England Biolabs). Στο κάθε δείγμα, υπήρχαν επίσης 4U T4 DNA Ligase (New England Biolabs), 1 μL από κάθε έναν προσαρμογέα για κάθε ένζυμο (EcoRI adaptor, MseI adaptor, Applied Biosystems), ρυθμιστικό διάλυμα T4 DNA Ligase buffer, NaCl και BSA, με τελικό αντίδρασης τα 11 μL. Μετά το τέλος της επώασης, στο κάθε δείγμα προσθέτονταν 189 μL TE buffer και τα τελικά προϊόντα της πέψης – σύνδεσης αποθηκεύονταν στους -20°C.

ii. Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης Προεπιλογής ή Προεπιλεκτική Ενίσχυση (Preselective PCR)

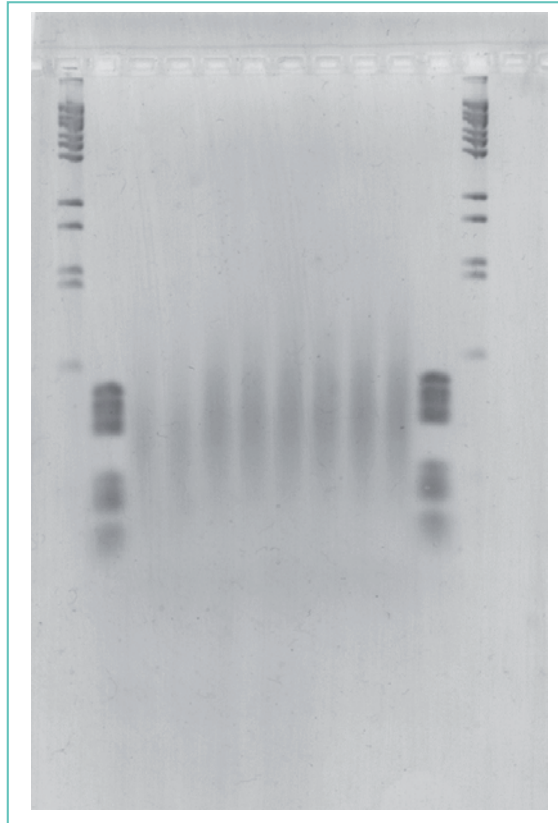
Για την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης προεπιλογής, χρησιμοποιήθηκαν 4 μL από τα αραιωμένα προϊόντα της πέψης – σύνδεσης. Για την αντίδραση, σε κάθε δείγμα προσθέτονταν 15 μL AFLP Core Mix (Applied Biosystems) και 1 μL του ζεύγους των εκκινητών προεπιλογής, (AFLP preselective primer pairs, Applied Biosystems), με τελικό όγκο αντίδρασης 20 μL. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε στον κυκλικό εναλλάκτη θερμότητας (Perkin Elmer, DNA Thermal Cycler 9600) και συνθήκες ενίσχυσης ήταν: 1 κύκλος για 3 λεπτά στους 72°C, 20 κύκλοι από 22 δευτερόλεπτα στους 94°C, 33 δευτερόλεπτα στους 56°C και 2 λεπτά στους 72°C και τέλος 1 κύκλος για 30 λεπτά στους 60°C (εικόνα 19α). Μετά το τέλος της ενίσχυσης, 10 μL από τα ενισχυμένα προϊόντα ηλεκτροφορήθηκαν σε πηκτή αγαρόζης συγκέντρωσης 1,5% σε διάλυμα TAE και η χρώση έγινε με βρωμιούχο αιθίδιο, προκειμένου να επιβεβαιωθεί ότι πραγματοποιήθηκε η ενίσχυση (να υπάρχει δηλαδή το λεγόμενο smear (εικόνα 20). Στα εναπομείναντα 10 μL του κάθε δείγματος προσθέτονταν 190 μL TE buffer και τα προϊόντα διατηρούνταν στους 4°C.

iii. Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης Επιλογής ή Επιλεκτική Ενίσχυση (Selective PCR)

Για την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης επιλογής, χρησιμοποιήθηκαν 3 μL από τα αραιωμένα προϊόντα της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης προεπιλογής. Για την αντίδραση, σε κάθε δείγμα προσθέτονταν 7,5 μL AFLP Core Mix (Applied Biosystems) και 0,5 μL από κάθε εκκινητή επιλογής (οι εκκινητές ήταν της μορφής EcoRI-Axx – MseI-Cxx, Applied Biosystems), με τελικό όγκο αντίδρασης 10 μL . Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε στον κυκλικό εναλλάκτη θερμότητας (Perkin Elmer, DNA Thermal Cycler 9600) και συνθήκες ενίσχυσης ήταν: 1 κύκλος για 2 λεπτά στους 94°C, 10 κύκλοι από 20 δευτερόλεπτα στους 94°C, 30 δευτερόλεπτα στους 66-57°C (δηλαδή, σε κάθε κύκλο η θερμοκρασία υβριδισμού μειωνόταν κατά 1°C) και 2 λεπτά στους 72°C, 20 κύκλοι από 20 δευτερόλεπτα στους 94°C, 30 δευτερόλεπτα στους 56°C και 2 λεπτά στους 72°C και τέλος 1 κύκλος για 30 λεπτά στους 60°C (εικόνα 19β). Στη συνέχεια τα δείγματα αποθηκεύονταν στους 4°C.



Εικόνα 19. Θερμοκρασιακή μεταβολή των Αλυσιδωτών Αντιδράσεων Πολυμεράσης Προεπιλογής (α) και Επιλογής (β) για τα AFLP.



Εικόνα 20. Ηλεκτροφόρημα ενισχυμένων προϊόντων σε πηκτή αγαρόζης μετά την Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης Προεπιλογής για έλεγχο παρουσίας τμημάτων στο επιθυμητό μέγεθος (100 – 1500 bp).

γ. Ηλεκτροφόρηση

Ο διαχωρισμός των ενισχυμένων προϊόντων της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης επιλογής έγινε στον αυτόματο αναλυτή γονιδιώματος (Genetic Analyzer ABI Prism 310, Applied Biosystems) με τριχοειδή ηλεκτροφόρηση (capillary electrophoresis). Η ηλεκτροφόρηση έγινε σε πολυμερές POP-4 (Applied Biosystems). Η φθορίζουσα χρωστική που περιείχαν τα προϊόντα από την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης επιλογής διαχωρίζονταν στο πολυμερές και στη συνέχεια περνούσε μέσα από μια δέσμη λέιζερ. Ένα σύστημα πρισμάτων ανέλυε την ακτινοβολία, η οποία στη συνέχεια ανιχνευόταν από μια CCD κάμερα, τόσο ως προς το χρωματισμό (ποιότητα), όσο και ως προς την ένταση (ποσότητα). Στη συνέχεια, το σήμα απεικονιζόταν σε ηλεκτροφόρημα/διάγραμμα. Η συλλογή των δεδομένων, η ανάλυσή τους, ο ποσοτικός προσδιορισμός των ενισχυμένων προϊόντων καθώς και η μετατροπή του διαγράμματος σε ό,τι αφορά την παρουσία (1) ή απουσία (0) των πολυμορφικών τμημάτων σε κάθε δείγμα γίνονταν με το λογισμικό GeneMapper v4.0 (Applied Biosystems), το οποίο τελικά έδινε εξαγωγή αρχείο μορφής excel.

Η προετοιμασία των δειγμάτων για ηλεκτροφόρηση περιλάμβανε: 1μL των προϊόντων της αλυσιδωτής πολυμεράσης επιλογής, 13 μL απιονισμένου φορμαμίδιου (για την αποδιάταξη της διπλής έλικας του DNA) και 0,5 μL Gene-Scan 500-LIZ Size Standard (Applied Biosystems). Στη συνέχεια, τα δείγματα υποβάλλονταν σε θέρμανση στους 94°C για 5 λεπτά, έτσι ώστε το φορμαμίδιο να «κρατήσει» τη διπλή έλικα του DNA αποδιαταγμένη.

Οι συνθήκες στις οποίες λειτουργούσε ο αυτόματος αναλυτής γονιδιώματος (Genetic Analyzer ABI Prism 310, Applied Biosystems) φαίνονται στον πίνακα 17.

Πίνακας 17. Συνθήκες ηλεκτροφόρησης των προϊόντων της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης Επιλογής στον Αυτόματο Αναλυτή Γονιδιώματος ABI 310 (AFLP Plant Mapping Protocol, Applied Biosystems) (ανά δείγμα).

Συνθήκες ηλεκτροφόρησης	
Αυτόματου Αναλυτή Γονιδιώματος ABI 310	
Injection time (sec)	5
Injection voltage (kV)	15
Run voltage (kV)	15
Run time (min)	28
Run temperature (°C)	60
Laser power (mWatts)	10
Μήκος Capillary (cm)	30

RAPD

α. Εκκινητές

Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για την ενίσχυση του γονιδιωματικού DNA σε όλες τις ποικιλίες ήταν τυχαία δεκαμερή ολιγονουκλεοτίδια, τα οποία προήλθαν από το Ίδρυμα Τεχνολογίας Έρευνας, Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας (ITE – IMBB) και την Operon Technologies Inc. Alameda CA, USA (OT). Κατά τη διάρκεια της εργασίας δοκιμάστηκαν διάφοροι εκκινητές εκ των οποίων επιλέχθηκαν τελικά οι δεκατρείς. Συγκεκριμένα, τέσσερις εκκινητές ήταν από το ITE – IMBB, πέντε εκκινητές από το kit F της Operon και τέσσερις εκκινητές από το kit M της Operon.

Οι εκκινητές και η αλληλουχία τους φαίνονται στον πίνακα 18.

Πίνακας 18. Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν και αλληλουχία των βάσεων.

Εκκινητής (primer)	Αλληλουχία 5' → 3'
1224	CAGGCCCTTC
1225	AGGTGACCGT
1226	CGCAGGATGG
1227	GTGTGCCCCA
OPF-02	GAGGATCCCT
OPF-04	GGTGATCAGG
OPF-05	CCGAATCCCC
OPF-09	CCAAGCTTCC
OPF-14	TGCTGCAGGT
OPM-02	ACAACGCCTC
OPM-04	GGCGGTTGTC
OPM-05	GGGAACGTGT
OPM-15	GACCTACCAC

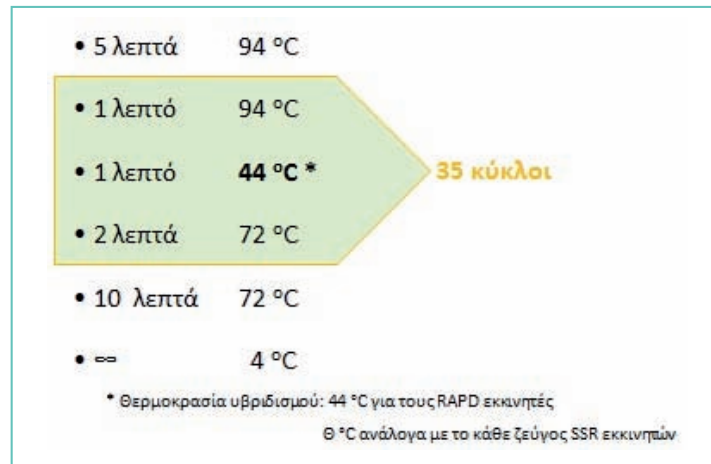
β. Συνθήκες Ενίσχυσης Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR)

Οι αντιδράσεις των RAPD έγιναν σύμφωνα με τους Williams et al. (1990), με μικρές τροποποιήσεις. Η προετοιμασία της αντίδρασης γινόταν πάντα στους 4°C και ο τελικός της όγκος ήταν 25 μL. Σε ένα σωλήνα erpendorf των 1,5 mL γινόταν το βασικό μείγμα προσθέτοντας πρώτα το δις-απιονισμένο και αποστειρωμένο νερό και το ρυθμιστικό διάλυμα Qiagen PCR Buffer 1x που περιείχε 50 mM KCl, 10 mM TRIS-HCl (pH: 8,7 στους 20°C), 15 mM MgCl₂ και (NH₄)₂SO₄. Ακολούθησε προσθήκη 200 μM από κάθε δεοξυνουκλεοτίδιο (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 50 ng εκκινητή και 1 unit *Taq* DNA πολυμεράση (Qiagen).

Το μείγμα αναμείχθηκε και μετά τη φυγοκέντρηση (14.000 rpm για 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου), μοιράστηκε σε σωλήνες erpendorf των 0,2 mL για το θερμικό εναλλάκτη. Στο κάθε δείγμα προστέθηκαν 60 ng DNA της ποικιλίας, στη συνέχεια αναδεύτηκε και φυγοκεντρήθηκε σε 14.000 rpm για 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου. Αμέσως μετά τα δείγματα τοποθετούνταν στο θερμικό εναλλάκτη (PCR) σε θερμοκρασία 94°C.

Για την ενίσχυση χρησιμοποιήθηκε ο κυκλικός εναλλάκτης θερμότητας (Perkin Elmer, DNA Thermal Cycler 9600) και οι συνθήκες ενίσχυσης ήταν: 1 κύκλος για 5

λεπτά στους 94°C, 35 κύκλοι από 1 λεπτό στους 94°C, 1 λεπτό στους 44°C , 2 λεπτά στους 72°C και τέλος 1 κύκλος για 10 λεπτά στους 72°C. Ο χρόνος που χρειαζόταν για να ενισχυθεί το DNA ήταν περίπου 4 ώρες (εικόνα 21).



Εικόνα 21. Θερμοκρασιακή μεταβολή της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης για τα RAPD και SSR.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, στο πρώτο βήμα του κύκλου γίνεται αποδιάταξη του DNA που έχει απομονωθεί από το δείγμα, αυξάνοντας τη θερμοκρασία της αντίδρασης στους 94°C. Με αυτό τον τρόπο απομακρύνονται οι συμπληρωματικοί κλώνοι του DNA. Στο δεύτερο βήμα, με μείωση της θερμοκρασίας επιτυγχάνεται ο υβριδισμός των εκκινητών με την αλληλουχία του DNA (καθώς οι εκκινητές αποτελούνται από διαφορετικές και μη συμπληρωματικές αλληλουχίες, δεν υβριδίζονται μεταξύ τους αλλά με τις συμπληρωματικές αλληλουχίες του DNA). Στο τρίτο και τελευταίο βήμα πραγματοποιείται η σύνθεση των συμπληρωματικών κλώνων του DNA σε θερμοκρασία 72°C. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση του ενζύμου DNA πολυμεράση που επιτρέπει τη σύνθεση του DNA με κατεύθυνση 5' προς 3'.

Με το πέρας της διαδικασίας, τα δείγματα αποθηκεύονταν στο ψυγείο (4°C).

γ. Ηλεκτροφόρηση

Ο διαχωρισμός των ενισχυμένων προϊόντων, 20μL από κάθε δείγμα, έγινε με οριζόντια ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης συγκέντρωσης 2%. Το ρυθμιστικό διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το TAE (40 mM Tris-acetate, 1mM EDTA, pH: 8,0) και η χρώση του DNA έγινε με βρωμιούχο αιθίδιο σε συγκέντρωση 0,5 μg/mL στην πηκτή και στο ρυθμιστικό διάλυμα. Οι διαστάσεις της πηκτής ήταν 15 cm x 20 cm και πάχους 10 mm (για τη μακί ηλεκτροφόρηση) και 15 cm x 13 cm και πάχους 10 mm

(για τη midi ηλεκτροφόρηση) και η ηλεκτροφόρηση γινόταν στα 100 Volt (maxi ηλεκτροφόρηση) και 80 Volt (midi ηλεκτροφόρηση) σταθερά με διάρκεια περίπου 3,5 ώρες. Στο τέλος, τα ηλεκτροφορήματα φωτογραφήθηκαν στο Gel Doc 1000 (Biorad) σαν εικόνες στον υπολογιστή.

SSR

α. Εκκινητές

Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για την ενίσχυση του γονιδιωματικού DNA σε όλες τις ποικιλίες ήταν ολιγονουκλεοτίδια, τα οποία προήλθαν από την Operon Technologies Inc. Europe, MGW – Biotech AG. Κατά τη διάρκεια της εργασίας δοκιμάστηκαν διάφοροι εκκινητές εκ των οποίων επιλέχθηκαν τελικά οι οκτώ. Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση 16 μικροδορυφορικών περιοχών και η αλληλουχία τους φαίνονται στον πίνακα 19.

Πίνακας 19. Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν, αλληλουχία των βάσεων, θερμοκρασία υβριδισμού και μέγεθος ενισχυμένων προϊόντων (base pairs) του κάθε εκκινητή.

Εκκινητής (primer)	Αλληλουχία 5' → 3'	Θερμοκρασία υβριδισμού	Μήκος (bp)	Εύρος μεγέθους αλληλόμορφου (bp)
VVS2 [F]	CAGCCCGTAAATGTATCCATC	53,4°C	21	129 – 155
VVS2 [R]	AAATTCAAAAATTCTAATTCAACTGG	»	25	
VVS4 [F]	CCATCAGTGATAAAACCTAATGCC	55,6°C	24	167 - 187
VVS4 [R]	CCCACCTTGCCCTTAGATGTTA	56,7°C	22	
VVMD5 [F]	CTAGAGCTACGCCAATCCAA	56,0°C	20	226 – 246
VVMD5 [R]	TATACCAAAAATCATATTCCTAAA	»	24	
VVMD7 [F]	AGAGTTGCGGAGAACAGGAT	52,0°C	20	233 – 263
VVMD7 [R]	CGAACCTTCACACGCTTGAT	»	20	
VVMD25 [F]	TTCCGTTAAAGCAAAAGAAAAGG	56,0°C	24	243 – 275
VVMD25 [R]	TTGGATTTGAAATTTATTGAGGGG	»	24	
VVMD27 [F]	GTACCAGATCTGAATACATCCGTAAGT	56,0°C	27	173 – 194
VVMD27 [R]	ACGGGTATAGAGCAAACGGTGT	»	22	

Εκκινητής (primer)	Αλληλουχία 5' → 3'	Θερμοκρασία υβριδισμού	Μήκος (bp)	Εύρος μεγέθους αλληλόμορφου (bp)
VVMD31 [F]	CAGTGGTTTTTCTTAAAGTTTCAAGG	56,0°C	26	196 – 224
VVMD31 [R]	CTCTGTGAAAGAGGAAGAGACGC	»	23	
VVMD32 [F]	TATGATTTTTTAGGGGGGTGAGG	56,0°C	23	239 – 273
VVMD32 [R]	GGAAAGATGGGATGACTCGC	»	23	

Οι εκκινητές VVS2, VVS4 σχεδιάστηκαν, αναπτύχθηκαν και χαρακτηρίστηκαν από τον Thomas et al. (1993), οι εκκινητές VVMD5, VVMD7 από τον Bowers et al. (1996) και οι εκκινητές VVMD25, VVMD27, VVMD31, VVMD32 από τον Bowers et al. (1999).

β. Συνθήκες Ενίσχυσης Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR)

Η προετοιμασία της αντίδρασης, όπως και στην περίπτωση των RAPD, γινόταν πάντα στους 4°C και ο τελικός της όγκος ήταν 25 µL. Σε ένα σωλήνα erpendorf των 1,5 mL γινόταν το βασικό μείγμα προσθέτοντας πρώτα το δισ-απιονισμένο και αποστειρωμένο νερό και το ρυθμιστικό διάλυμα Qiagen PCR Buffer 1x που περιείχε 50 mM KCl, 10 mM TRIS-HCl (pH: 8,7 στους 20°C), 15 mM MgCl₂ και (NH₄)₂SO₄. Ακολούθησε προσθήκη 200 µM από κάθε δεοξυνουκλεοσίδιο (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 100 ng από τον κάθε εκκινητή (forward και reverse) και 1 unit *Taq* DNA πολυμεράση (Qiagen).

Το μείγμα αναμείχθηκε και μετά τη φυγοκέντρηση (14.000 rpm για 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου), μοιράστηκε σε σωλήνες erpendorf των 0,2 mL για το θερμικό εναλλάκτη. Στο κάθε δείγμα προστέθηκαν 60 ng DNA της ποικιλίας, στη συνέχεια αναδεύτηκε και φυγοκεντρήθηκε σε 14.000 rpm για 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου. Αμέσως μετά τα δείγματα τοποθετούνταν στο θερμικό εναλλάκτη (PCR) σε θερμοκρασία 94°C.

Για την ενίσχυση χρησιμοποιήθηκε ο κυκλικός εναλλάκτης θερμότητας (Perkin Elmer, DNA Thermal Cycler 9600) και οι συνθήκες ενίσχυσης ήταν : 1 κύκλος για 5 λεπτά στους 94°C, 35 κύκλοι από 1 λεπτό στους 94°C, 1 λεπτό στη θερμοκρασία στην οποία υβριδίζει η κάθε φάση ζεύγους του εκκινητή, 1,5 λεπτά στους 72°C και τέλος 1 κύκλος για 10 λεπτά στους 72°C . Ο χρόνος που χρειαζόταν για να ενισχυθεί το DNA και εδώ ήταν περίπου 4 ώρες (εικόνα 21).

Όπως και στην περίπτωση των RAPD, στο πρώτο βήμα του κύκλου γίνεται αποδιάταξη του DNA που έχει απομονωθεί από το δείγμα, αυξάνοντας τη θερμοκρασία της αντίδρασης στους 94°C. Με αυτό τον τρόπο απομακρύνονται οι συμπληρωματικοί κλώνοι του DNA. Στο δεύτερο βήμα, με μείωση της θερμοκρασίας (ανάλογα με τη θερμοκρασία υβριδισμού των εκκινητών για τα SSR) επιτυγχάνεται ο

υβριδισμός των εκκινητών με την αλληλουχία του DNA (καθώς οι εκκινητές αποτελούνται από διαφορετικές και μη συμπληρωματικές αλληλουχίες, δεν υβριδίζονται μεταξύ τους αλλά με τις συμπληρωματικές αλληλουχίες του DNA). Στο τρίτο και τελευταίο βήμα πραγματοποιείται η σύνθεση των συμπληρωματικών κλώνων του DNA σε θερμοκρασία 72°C. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση του ενζύμου DNA πολυμεράση που επιτρέπει τη σύνθεση του DNA με κατεύθυνση 5' προς 3'.

Με το πέρας της διαδικασίας, τα δείγματα αποθηκεύονται στο ψυγείο (4°C).

γ. Ηλεκτροφόρηση

Ο διαχωρισμός των ενισχυμένων προϊόντων, 20μL από κάθε δείγμα έγινε με κάθετη ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης συγκέντρωσης 10% (29 acrylamide : 1 N,N'-Methylene-bis-acrylamide), 7M Urea, το ρυθμιστικό διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν το TBE (Trizma base, Boric acid, 0,5 M EDTA), 0,4% Ammonium Persulfate (10%) και 0,036% TEMED (N,N,N',N'-tetramethyl-ethylenediamine), ενώ η χρώση του DNA έγινε με δύο μεθόδους: με βρωμιούχο αιθίδιο και με νιτρικό άργυρο (Silver Stain). Οι διαστάσεις της πηκτής ήταν 13 cm x 12 cm και πάχους 2 mm και η ηλεκτροφόρηση γινόταν στα 120 Volt σταθερά με διάρκεια 6 – 7 ώρες. Στο τέλος, τα ηλεκτροφορήματα φωτογραφήθηκαν στο Gel Doc 1000 (Biorad) σαν εικόνες στον υπολογιστή.

Ειδικότερα για τα SSR, επιλέχτηκε εκτός της παραπάνω διαδικασίας, ο διαχωρισμός των ενισχυμένων προϊόντων, αλλά κυρίως ο ποσοτικός προσδιορισμός των ενισχυμένων τμημάτων να γίνει και στον αυτόματο αναλυτή γονιδιώματος (Genetic Analyzer ABI Prism 310, Applied Biosystems) με τριχοειδή ηλεκτροφόρηση (capillary electrophoresis) και το λογισμικό GeneMapper v4.0 με τη διαδικασία που περιεγράφηκε παραπάνω, στην ενότητα των AFLP δεικτών.

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με τα υπολογιστικά φύλλα Excel (Microsoft Office Suite) και το στατιστικό πρόγραμμα NTSYS-PC v.2.02i, όπως αναπτύχθηκε από τον Rohlf (Exeter Software New York, 1993, USA), αλλά και μια πιο πρόσφατη έκδοση του προγράμματος (NTSYS-PC v.2.11f, Rohlf 2000).

Για τα αμπελογραφικά δεδομένα και για τον προσδιορισμό της φαινοτυπικής συσχέτισης των ποικιλιών χρησιμοποιήθηκαν οι συντελεστές απόστασης (συσχέτισης) Dist, Manhattan και EuclidSQ.

Για τα μοριακά δεδομένα και για τον προσδιορισμό της γενετικής συγγένειας των ποικιλιών χρησιμοποιήθηκαν οι συντελεστές ομοιότητας Simple Matching (SM) και Jaccard (J), όπως περιγράφονται από τους Sneath and Sokal (1973), και ο συντελεστής ομοιότητας Dice, όπως περιγράφεται από τους Nei and Li (1979).

Συντελεστής Dist

Ο συντελεστής Dist (Average Taxonomic Distance) κάθε δυνατού ζεύγους ποικιλιών που μελετήθηκαν υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$E_{ij} = \sqrt{\sum_k \frac{1}{n} (x_{ki} - x_{kj})^2}$$

Συντελεστής Manhattan

Ο συντελεστής Manhattan (Average Manhattan Distance – City Block) κάθε δυνατού ζεύγους ποικιλιών που μελετήθηκαν υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$M_{ij} = \frac{1}{n} \sum_k \frac{1}{n} |x_{ki} - x_{kj}|$$

Συντελεστής EuclidSQ

Ο συντελεστής EuclidSQ (Euclidean Distances Squared) κάθε δυνατού ζεύγους ποικιλιών που μελετήθηκαν υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$E_{ij}^2 = \sum_k (x_{ki} - x_{kj})^2$$

Για τους συντελεστές Dist, Manhattan και EuclidSQ λαμβάνονται υπόψη και οι τιμές που λείπουν. Για ένα ζεύγος ποικιλιών i και j , μόνο οι τιμές για k χρησιμοποιούνται για τις οποίες τα σημεία y_{ki} και y_{kj} είναι και τα δύο παρόντα. Αυτό σημαίνει ότι διαφορετικά στοιχεία της μήτρας που προκύπτει μπορεί να βασίζονται σε διαφορετικά μεγέθη δειγμάτων (το οποίο εξηγεί και την έμφαση σε συντελεστές μέσου όρου).

Συντελεστής *Simple Matching*

Ο βαθμός γενετικής ομοιότητας (β.γ.ο.) κάθε δυνατού ζεύγους ποικιλιών που μελετήθηκαν υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$S_m = (a+d) / (a+b+c+d) \text{ ή } S_m = m / n$$

όπου: $a+d$ ή m ο αριθμός των κοινών ζωνών των i και j ποικιλιών,
 $a+b+c+d$ ή n ο συνολικός αριθμός των ζωνών των i και j ποικιλιών

Συντελεστής *Jaccard*

Ο βαθμός γενετικής ομοιότητας (β.γ.ο.) κάθε δυνατού ζεύγους ποικιλιών που μελετήθηκαν υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$J = a / (n-d) \text{ ή } J = a / (a+b+c)$$

όπου: a η παρουσία ηλεκτροφορητικής ζώνης των i και j ποικιλιών
 d η απουσία ηλεκτροφορητικής ζώνης των i και j ποικιλιών
 n ο συνολικός αριθμός των ζωνών των i και j ποικιλιών

Συντελεστής *Dice*

Ο βαθμός γενετικής ομοιότητας (β.γ.ο.) κάθε δυνατού ζεύγους ποικιλιών που μελετήθηκαν υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$D = 2a / (2a + b + c)$$

όπου: a η παρουσία ηλεκτροφορητικής ζώνης των i και j ποικιλιών
 $b + c$ ο συνολικός αριθμός των μη κοινών ζωνών των i και j ποικιλιών

Σχηματικά, αποτυπώνονται όλες οι δυνατές περιπτώσεις (a, b, c, d) που μπορεί να έχουν δύο ηλεκτροφορητικές ζώνες DNA για δύο ποικιλίες (i, j):

		j	
		+	-
i	+	a	b
	-	c	d

όπου: η ταυτόχρονη παρουσία μιας ζώνης DNA (σημειώνεται με 1) και για το *i* και για το *j* ορίζεται ως *a*. Ομοίως, η ταυτόχρονη απουσία μιας ζώνης DNA (σημειώνεται με 0) και για το *i* και για το *j* ορίζεται ως *d*. Η παρουσία μιας ηλεκτροφορητικής ζώνης στην *i* ποικιλία αλλά απουσία στην *j* ορίζονται ως *b* και *c* αντίστοιχα. Ο συνολικός αριθμός των ηλεκτροφορητικών ζωνών ορίζεται ως *n* ($a+b+c+d$) (Rohlf, 2000).

Με βάση τους παραπάνω συντελεστές, κατασκευάστηκαν μήτρες ομοιότητας από τις οποίες αντλήθηκαν τα στοιχεία για την ανάλυση συστάδων (cluster analysis) η οποία έγινε με τη μέθοδο UPGMA (μέθοδος μη σταθμισμένων ομάδων ανά δύο, χρησιμοποιώντας αριθμητικό μέσο - Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average) και την Ανάλυση των Κύριων Συντεταγμένων (Principal Coordinate Analysis, PCORDA) (Sneath and Sokal 1973). Η μέθοδος UPGMA χρησιμοποιείται συχνά σε μελέτες με μοριακούς δείκτες. Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιεί απευθείας το συντελεστή ομοιότητας και η ομαδοποίηση αρχίζει από τα δείγματα που είναι πιο κοντά και συνεχίζει στα υπόλοιπα. Για τις μελέτες μορφολογικών χαρακτηριστικών, εκτός της μεθόδου UPGMA, χρησιμοποιείται και η μέθοδος NJ (Neighbor-Joining Method), η οποία αναπτύχθηκε από τους Saitou and Nei (1987) και η οποία, όπως λέει και το όνομά της, κατατάσσει τα δείγματα σε ομάδες και γειτονιές.

Η Ανάλυση των Κύριων Συντεταγμένων είναι μια μέθοδος της Πολυμεταβλητής Ανάλυσης Δεδομένων (Multivariate Data Analysis). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ευρέως για να απεικονίσει τη σχέση των ατόμων σε ένα ή περισσότερους άξονες. Ο κάθε άξονας περιγράφει κάποιο ποσοστό παραλλακτικότητας. Όσο μεγαλύτερη συγγένεια υπάρχει στο υλικό, τα δεδομένα δηλαδή δεν διαφέρουν πολύ, τόσο μεγαλύτερο ποσοστό παραλλακτικότητας περιγράφει ο κάθε άξονας και συνεπώς με μικρό αριθμό αξόνων είναι εφικτό να προσδιοριστεί μεγάλο ποσοστό της παραλλακτικότητας. Η προσθήκη κάθε νέου άξονα αυξάνει το ποσοστό της παραλλακτικότητας που περιγράφεται.

Βάσει αυτών των δεδομένων, σχηματίστηκαν στη συνέχεια τα δένδρογράμματα, τα οποία και απεικονίζουν τη φαινοτυπική συσχέτιση και το βαθμό γενετικής ομοιότητας των υπό μελέτη ποικιλιών. Για τους συντελεστές Simple Matching, Jaccard και Dice, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ο βαθμός γενετικής

ομοιότητας (I) που προκύπτει με βάση τον κάθε συντελεστή κυμαίνεται από 0 (καμία κοινή ηλεκτροφορητική ζώνη) έως 1 (όλες οι ηλεκτροφορητικές ζώνες, του υπό μελέτη ζεύγους ποικιλιών, κοινές). Επομένως, μεγάλη ή μικρή τιμή του I δείχνει αντίστοιχα μεγάλο ή μικρό βαθμό γενετικής ομοιότητας. Για τους συντελεστές Dist, Manhattan και EuclidSQ, όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή του συντελεστή για δύο άτομα, τόσο μεγαλύτερη απόσταση έχουν.

Συντελεστής Mantel

Για τις συγκρίσεις των μεθόδων και των συντελεστών ομοιότητας και απόστασης, χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής του Mantel (1967), ο οποίος δίνεται από τον τύπο:

$$Z = \sum_{i < j}^n X_{ij} Y_{ij}$$

όπου X_{ij} και Y_{ij} είναι τα δεδομένα δύο μη διαγώνιων μητρώων X και Y. Κατά τη διαδικασία σύγκρισης κάθε δεδομένο της μήτρας X συγκρίνεται με το αντίστοιχο της μήτρας Y. Όσο πιο μεγάλος είναι ο συντελεστής τόσο πιο πολύ μοιάζουν οι δύο μήτρες.

Ο συντελεστής του Mantel χρησιμοποιήθηκε για να συγκριθούν και να αξιολογηθούν οι τεχνικές μεταξύ τους (μέσω της σύγκρισης των μητρώων ομοιότητας) αλλά και να εξεταστεί το κατά πόσο αντιπροσωπευτικές ήταν οι γραφικές απεικονίσεις των δεδομένων της μήτρας, με τη χρήση των συν-φαινομενολογικών συντελεστών (cophenetic values). Οι συγκεκριμένοι συντελεστές δημιουργούν μια συμμετρική μήτρα η οποία στη συνέχεια χρησιμοποιείται για τις συγκρίσεις (MxComp, NTSYS-pc) (Rohlf and Sokal 1981). Ο συντελεστής Mantel έχει τιμή από -1 έως 1 και όσο η τιμή απολύτως πλησιάζει το 1, τόσο πιο πολύ μοιάζουν δύο συγκρινόμενες μήτρες ή πιο αντιπροσωπευτική είναι η γραφική απεικόνιση ενός δενδρογράμματος.

Αποτελέσματα – Συζήτηση

A. Αμπελογραφική Περιγραφή

Στον πίνακα 20 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αμπελογραφικής περιγραφής των 31 βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας (συμπεριλαμβανομένων και των 3 βιότυπων της Κορινθιακής λευκής) και στον πίνακα 24 τα αντίστοιχα αποτελέσματα για τις 27 καλλιεργούμενες ποικιλίες αμπέλου που μελετήθηκαν σύμφωνα με τον Κώδικα Αμπελογραφικής Περιγραφής του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (OIV), καθώς και η βαθμολογική κλίμακα (σκορ) με την οποία χαρακτηρίστηκαν για το κάθε αμπελογραφικό χαρακτηριστικό.

Για τη στατιστική ανάλυση και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της αμπελογραφικής περιγραφής στο σύνολο των βιότυπων και ποικιλιών που μελετήθηκαν και για τον προσδιορισμό της εντός και της μεταξύ τους φαινοτυπικής διακύμανσης χρησιμοποιήθηκαν, όπως ήδη αναφέρθηκε, οι συντελεστές ανομοιότητας (απόστασης) Dist, Manhattan και EuclidSQ.

Με βάση το σκορ με το οποίο χαρακτηρίστηκε κάθε ποικιλία, και με τη βοήθεια των υπολογιστικών φύλλων Excel και του προγράμματος NTSYS-rc v.2.02i με τους διάφορους συντελεστές συσχέτισης, προσδιορίστηκε ο βαθμός φαινοτυπικής διακύμανσης μεταξύ όλων των δυνατών ζευγών των ποικιλιών που μελετήθηκαν από τους οποίους προέκυψαν τα αντίστοιχα δενδρογράμματα.

Επειδή, όπως διαπιστώθηκε, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των συντελεστών που χρησιμοποιήθηκαν, η ανάλυση και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της αμπελογραφικής περιγραφής στις επόμενες ενότητες θα γίνουν με βάση το συντελεστή απόστασης Dist.

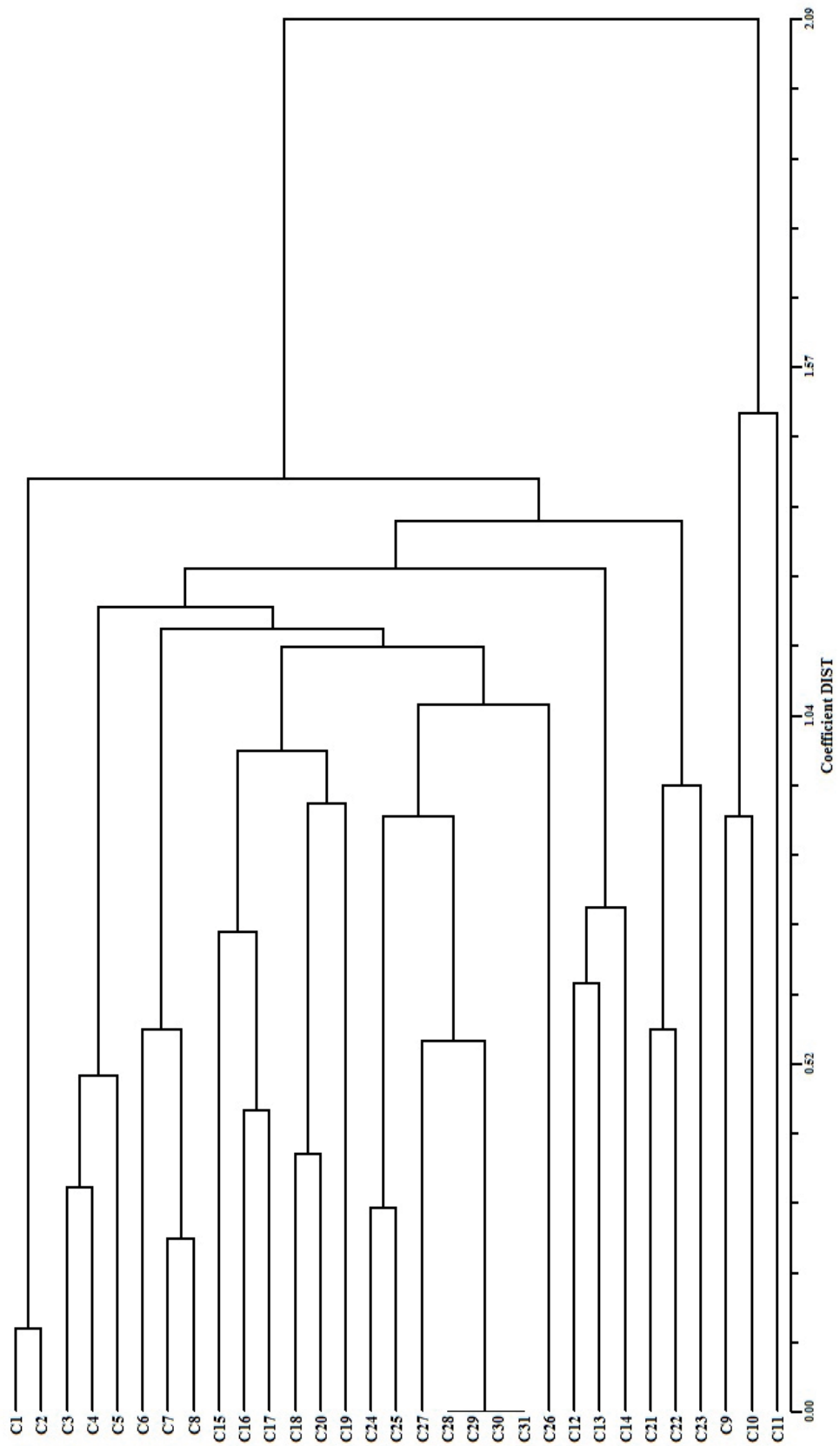
1. Βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας

Οι βαθμοί απόστασης κάθε δυνατού ζεύγους των 31 βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας που μελετήθηκαν, με βάση τους συντελεστές Dist, Manhattan, EuclidSQ δίνονται στους πίνακες 21, 22, 23 αντίστοιχα, ενώ τα δενδρογράμματα που προέκυψαν φαίνονται στις εικόνες 22, 23, 24. Στην εικόνα 25 φαίνεται το δενδρόγραμμα που παράγεται με τη μέθοδο NJ (Neighbor-Joining). Στις εικόνες 26 και 27 φαίνεται η Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 και 3 διαστάσεις αντίστοιχα, για την αμπελογραφική περιγραφή με το συντελεστή Dist.

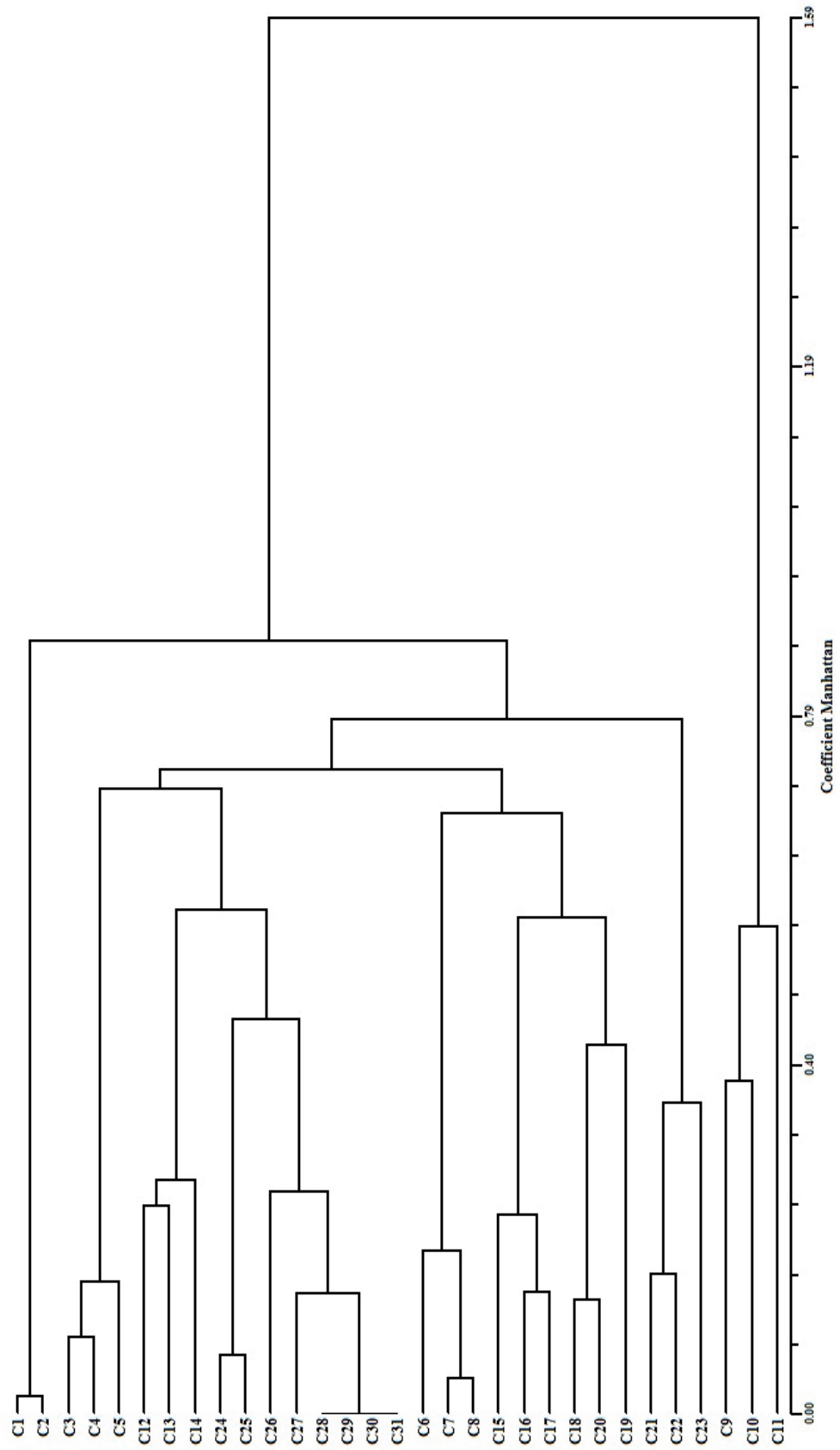
NO	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23	C24	C25	C26	C27	C28	C29	C30	C31
015-2	5	5	5	5	5	3	3	3	3	3	3	5	5	5	5	5	5	3-5	3-5	3-5	3-5	3-5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
016	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
051	4	4	4	4	4	4	4	4	1-2	1-2	1-2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
053	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
054	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
055	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	5-7	5-7	5-7	7	7	7	7	7	7	7	7
056	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
065	7	7	5	5	5	5	5-7	5	5-7	5-7	5-7	5-7	5-7	5-7	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5-7	5-7	5-7	5-7	5-7	5-7	5-7
067	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2-3	2-3	2-3	2-3
068	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4
069	7	7	7	7	7	5	5	5	3	3	3	7	7	7	5	5	5	5	7	7	7	5	5	5	5	7	7	7	7	7	7
070	1-2	1	2	2	2	3	3	3	1	2	1	2	2	2	1	1	1	2	2	2	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2
071	1-2	1-2	1-2	1-2	1-2	3	2	2	1	2	1	2	2	2	1	1	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
072	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
073	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
074	3	3	1	1	1	3	3	3	1	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
075	3	3	1-3	1-3	1-3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	5	3	1	3	1	3	3	3	3	3	3	3

AlO	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23	C24	C25	C26	C27	C28	C29	C30	C31					
091	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1					
093	3	3	3-5	3-5	5	5	5	3	3	3	7	7	7	7	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	3	3-5	3-5	3-5	3-5	3-5	3-5					
094	1-3	1-3	3	3	3	3	3-5	3-5	3-5	3-5	5-7	5-7	5-7	5-7	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3-5	3	3	3	3	3	3				
151	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3				
204	7	7	5	5	5	5	5	7	5-7	7	7-9	5-7	5-7	5	5-7	5-7	5	5-7	5	5-7	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5			
206	5-7	5-7	1-3	3	1-3	5	5	1-3	3	1-3	3	1-3	3	5	3	3	3	3	3	3-5	1-3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3			
207	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	1-5	5	1	5	1-5	1	1	1	1	1-5	1	1-5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
208	2	2	1-2	1	2	2	2	1	3	3	2	1-3	1	3	1	3	1	1	1	3	1-3	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
209	3	3	3	2	3	2	2	2	4	3	3	2	3	2	3	2	2	2-3	3-4	3	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
222	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
223	2	2	3	3	2	2	2	2	1	7	3	2	2	2	2	3	2	2-3	1-2	3	2-3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
225	2-3	2-3	5	5	5	5	5	1	1	1	5	5	5	5	5	5	2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
226	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
227	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
229	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
241	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
244	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

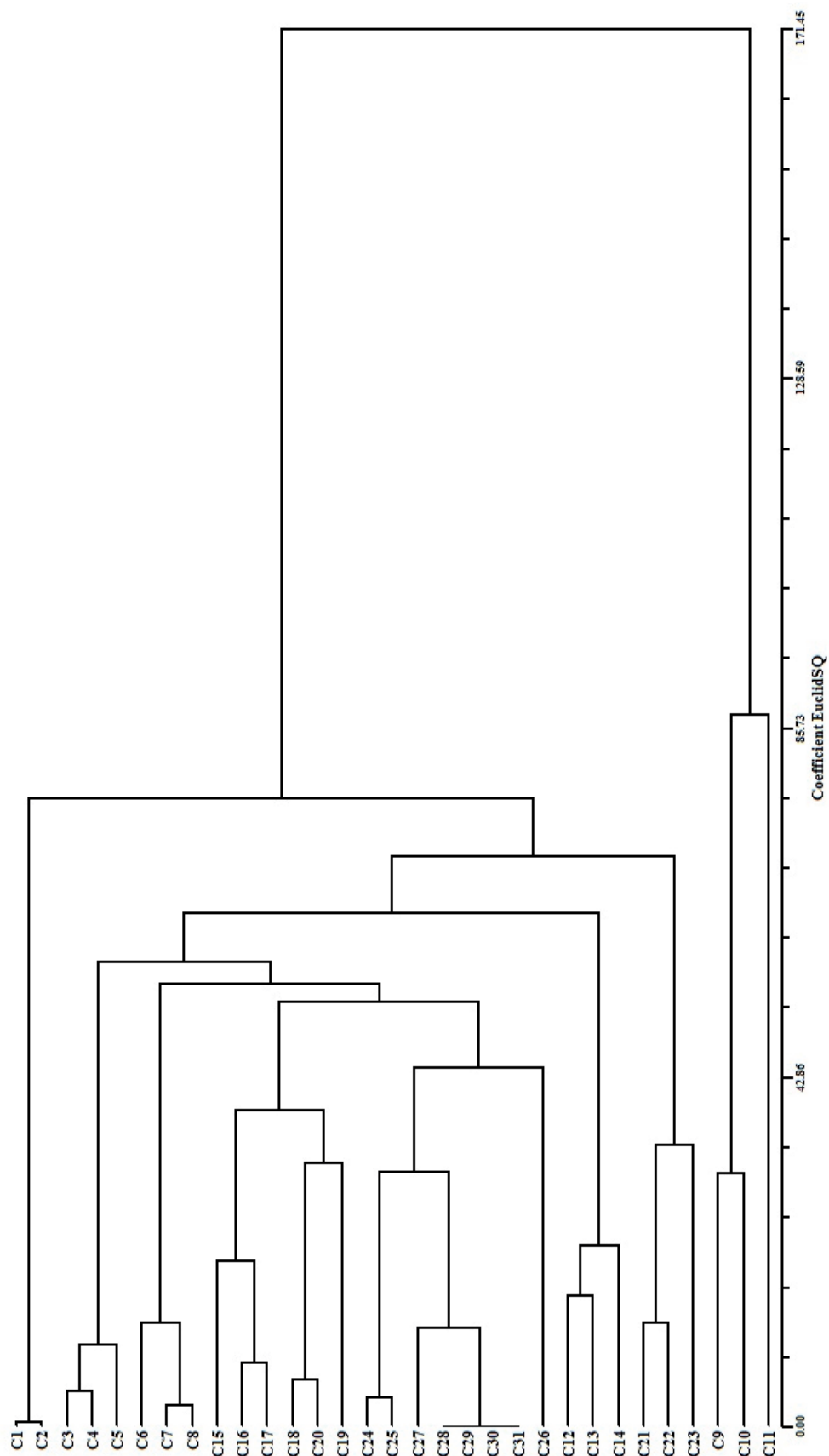
Εικ. 22. Δενδρόγραμμα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το συντελεστή Dist (URGMA).



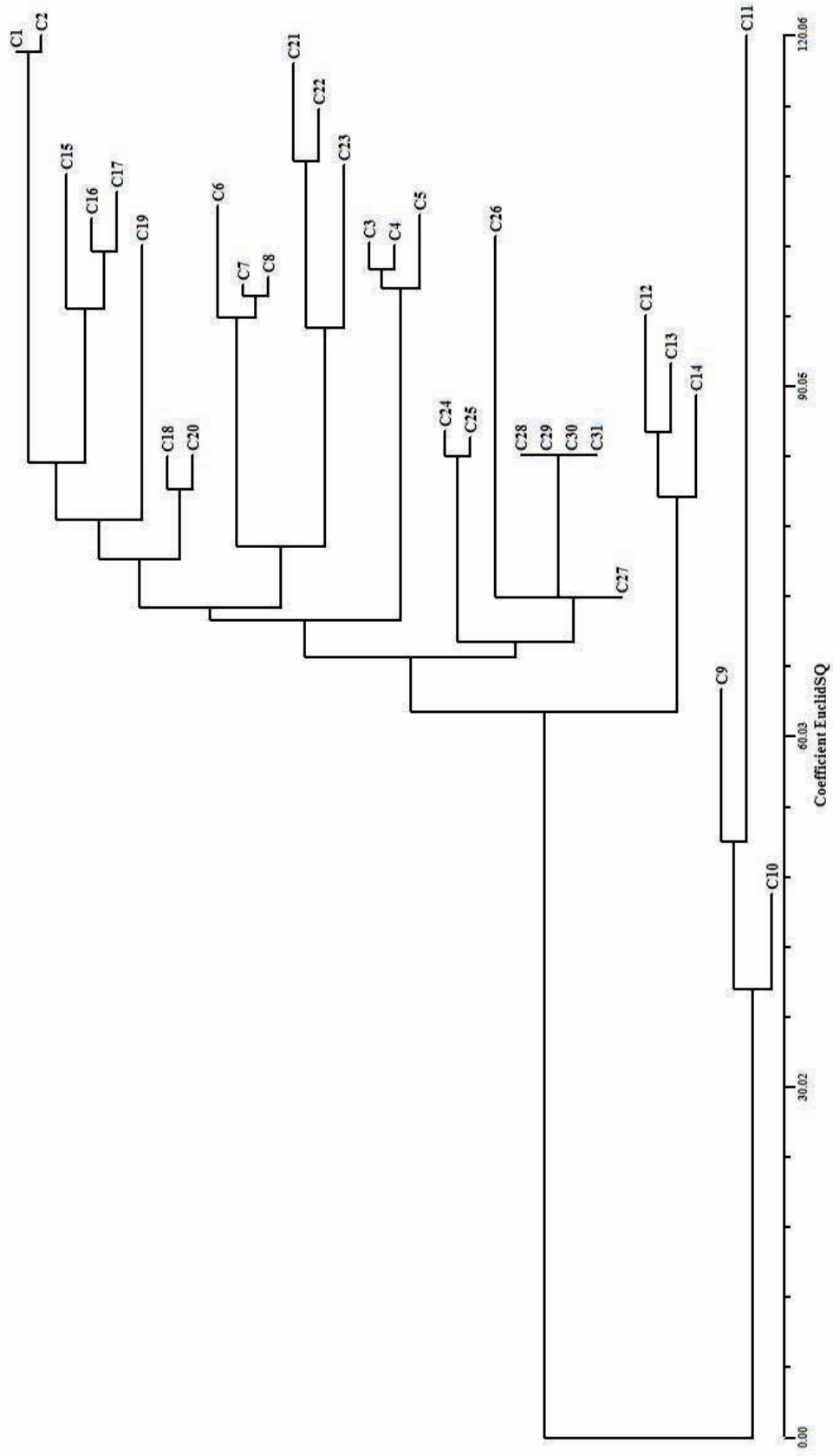
Εικ. 23. Δενδρόγραμμα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το Manhattan (URGMA).



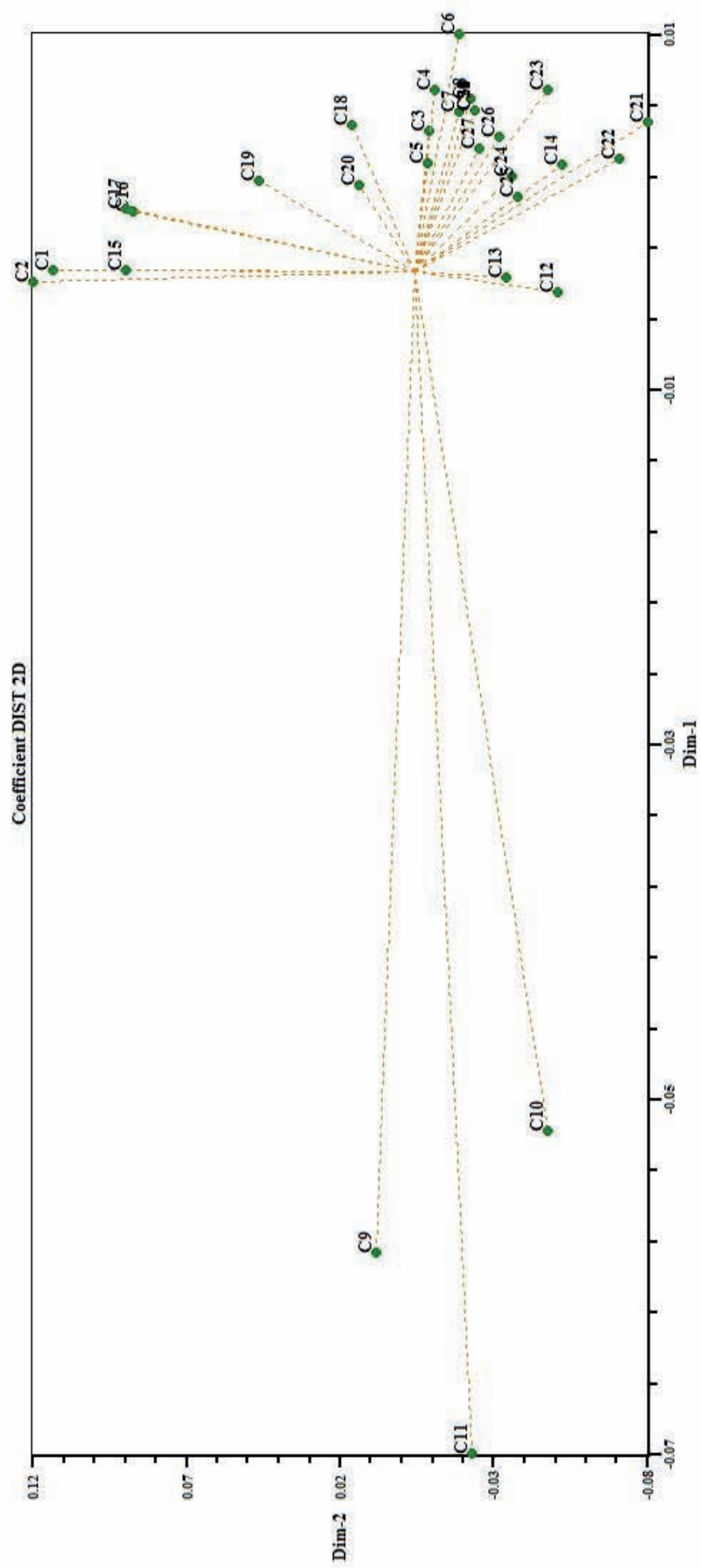
Εικ. 24. Δενδρόγραμμα των βióτυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το συντελεστή EuclidSQ (URGMA).



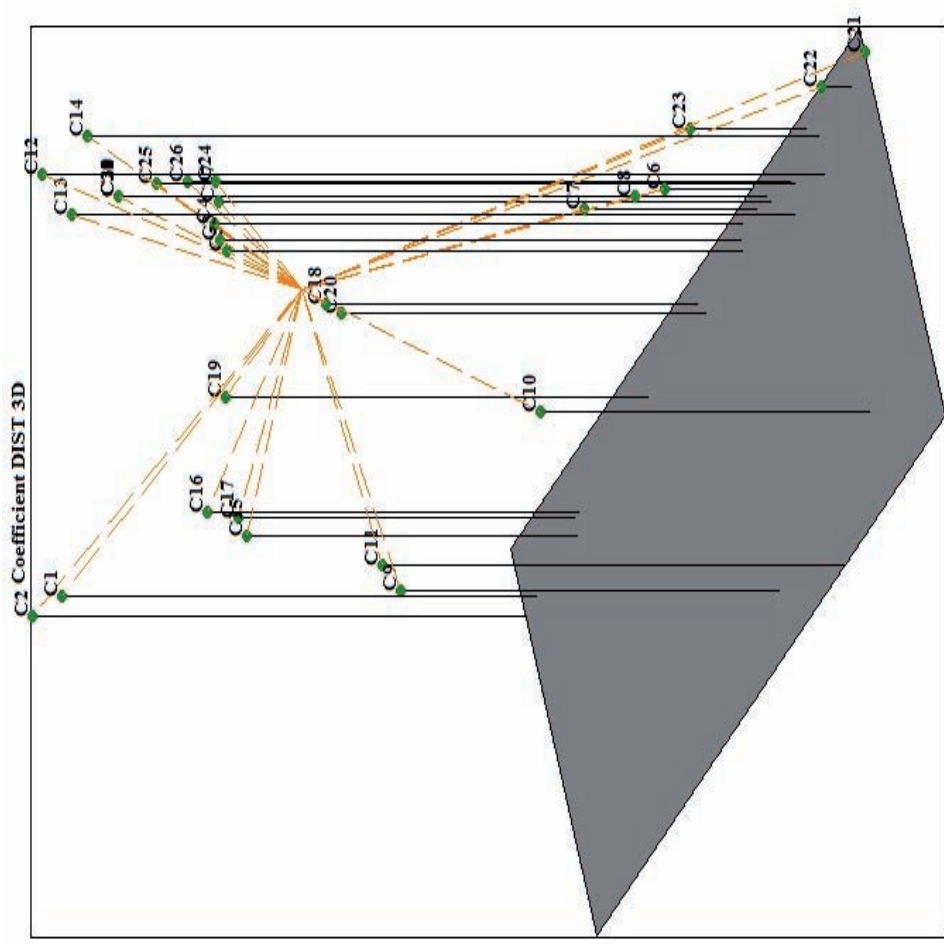
Εικ. 25. Δενδρόγραμμα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το συντελεστή EuclidSQ (NJ).



Εικ. 26. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 διαστάσεις για την αμπελογραφική περιγραφή των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με βάση το συντελεστή Dist (UPGMA).



Εικ. 27. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 3 διαστάσεις για την αμπελογραφική περιγραφή των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με βάση το συντελεστή Dist (UPGMA).



Με βάση τη βαθμολόγηση των 66 αμπελογραφικών χαρακτήρων που μελετήθηκαν και τη συγκριτική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με το συντελεστή Dist, οι βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας τοποθετούνται σε ξεχωριστό τμήμα του δενδρογράμματος (εικόνα 22) σε σχέση με τους βιότυπους της Κορινθιακής λευκής, με κάποιες διαφοροποιήσεις και ομαδοποιήσεις που οφείλονται κατά κύριο λόγο στην προέλευση και το κέντρο καλλιέργειάς τους.

Σε γενικές γραμμές και με λίγες εξαιρέσεις, οι βιότυποι του ίδιου καλλιεργητικού κέντρου παρουσιάζουν μικρές έως πολύ μικρές αποστάσεις μεταξύ τους, ενώ μεταξύ των βιότυπων διαφορετικών κέντρων οι αποστάσεις κυμαίνονται από μικρές έως πολύ μεγάλες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα οι βιότυποι C1, C2 που επελέγησαν από αμπελώνα Κορινθιακής Σταφίδας τη δεκαετία του 1920 στο κτήμα Τσεκλένι σε αμπελουργική περιοχή της Ηλείας (από όπου πήραν και το όνομά τους). Οι βιότυποι αυτοί, ενώ έχουν ομοιότητες στους περισσότερους αμπελογραφικούς χαρακτήρες με την Κορινθιακή Σταφίδα, διαφέρουν σημαντικά στο μέγεθος της σταφυλής και της ράγας και τους ποιοτικούς χαρακτήρες (χρώμα φλοιού, περιεκτικότητα σε σάκχαρα). Το μέγεθος και το βάρος της σταφυλής είναι δεκαπλάσιο εκείνης της τυπικής Κορινθιακής σταφίδας (αναφέρονται περιπτώσεις ότι το μέσο βάρος υπερβαίνει τα 1500 g), η ράγα είναι μικρού μεγέθους (ψιλόρρωγο) με ερυθρωπό έως ερυθρό-μαύρο χρώμα φλοιού και όψιμης έως πολύ όψιμης ωρίμανσης. Οι αμπελογραφικές διαφορές αυτές κατατάσσουν τους δύο αυτούς βιότυπους σε ξεχωριστό κλάδο του δενδρογράμματος. Είναι φανερό ότι οι βιότυποι αυτοί είναι, εξαιτίας των χαρακτήρων σταφυλής και ραγών, αισθητά χαμηλότερης ποιότητας, δεν συνιστάται η καλλιέργειά τους, αλλά είναι επιβεβλημένη η διατήρησή τους ως γενετικό υλικό.

Οι βιότυποι που προέρχονται από το καλλιεργητικό κέντρο της Αιγιάλειας και στην παρούσα εργασία θεωρούνται ότι ανήκουν στην τυπική ποικιλία Κορινθιακή Σταφίδα παρουσιάζουν τις μικρότερες αποστάσεις μεταξύ τους, αλλά και σχετικά τις πιο μικρές με τους περισσότερους από τους λοιπούς φαινότυπους και ιδιαίτερα με εκείνους της Κεφαλληνίας. Σχετικά χαμηλή είναι και η απόστασή τους με τους βιότυπους C28, C29, C30, C31 (Κορινθιακή Σταφίδα σχιστόφυλλη), αν και οι τελευταίοι παρουσιάζουν υψηλότερα ποσοστά εγγίγαρτων ραγών, και η καλλιέργεια τους εντοπίζεται στο ίδιο κέντρο.

Αντίθετα, η μελέτη των αποτελεσμάτων της αμπελογραφικής περιγραφής ως προς τους βιότυπους της Κορινθιακής Σταφίδας που προέρχονται από το καλλιεργητικό κέντρο της Κεφαλληνίας παρουσιάζουν σχετικά μεγαλύτερη απόσταση μεταξύ τους (πάντα σε σχέση με εκείνη μεταξύ των βιότυπων της Αιγιάλειας), ενώ ένας εξ αυτών (C19) παρουσιάζει σημαντικά μεγαλύτερη απόσταση. Προφανώς, κατά τη μεταφορά πολλαπλασιαστικού υλικού περιλήφθηκαν μοσχεύματα διαφορετικής άγνωστης προέλευσης που προκάλεσαν την παραπάνω σύγχυση. Το φαινόμενο αυτό είναι συχνό τόσο στην ελληνική όσο και στη διεθνή αμπελουργία προκειμένου περί συγγενών ή ποικιλιών που παρουσιάζουν

μορφολογικές ομοιότητες. Είναι χαρακτηριστικά τα παραδείγματα της ποικιλίας Carmenère που καλλιεργούνταν για αρκετά χρόνια στη Νότιο Αμερική ως Merlot (η Carmenère θεωρείται μητρική της Merlot).

Συγκριτικά, οι βιότυποι που προέρχονται από την Κορινθία παρουσιάζουν μικρή σχετικά απόσταση μεταξύ τους σε αντίθεση με εκείνους που προέρχονται από τη Ζάκυνθο που δείχνουν να διαφέρουν περισσότερο. Και οι δύο ομάδες βιότυπων παρουσιάζουν σχετικά μεγαλύτερη απόσταση με εκείνους της Αιγιάλειας.

Ενδιαφέροντα είναι τα αποτελέσματα από την αμπελογραφική περιγραφή της αποκαλούμενης “μεταλλαγμένης” Κορινθιακής Σταφίδας. Όπως προκύπτει από τον πίνακα 21 και το αντίστοιχο δενδρόγραμμα (εικόνα 22), το δείγμα C26 που προέρχεται από το βραχίονα και τους βλαστούς που παρουσίασαν τις εγγίγαρτες σταφυλές παρουσιάζει εξαιρετικά μικρή απόσταση από το δείγμα C27 που προέρχεται από τους βλαστούς με αγίγαρτες σταφυλές του ίδιου “μεταλλαγμένου” πρέμνου.

Τέλος, οι βιότυποι της Κορινθιακής σχιστόφυλλης (C28, C29, C30, C31) παρουσιάζουν ταυτότητα μεταξύ τους, ενώ σχετικά μικρή είναι και η απόστασή τους από τους βιότυπους της Αιγιάλειας, που άλλωστε καλλιεργούνται στην ίδια αμπελουργική περιοχή. Οι αμπελογραφικές διαφορές μεταξύ των βιότυπων αυτών εντοπίζονται στους χαρακτήρες των φύλλων και συγκεκριμένα στον αριθμό των λοβών/κόλπων, στο μέγεθος της σταφυλής και το χρώμα του φλοιού των ραγών. Τα φύλλα των βιότυπων της σχιστόφυλλης είναι πεντάλοβα (ενίοτε επτάλοβα) και συνήθως βαθύκολπα (εικόνα 28). Τέλος, τα πρέμνα του βιότυπου αυτού είναι πολύ ζωηρά και εύρωστα και συχνά παρουσιάζονται προβλήματα ανθόρροιας και μειωμένης καρπόδεσης εξαιτίας της υπερβολικής ζωηρότητας (εικόνα 29). Για τους λόγους αυτούς, η διάδοσή της έχει περιοριστεί σημαντικά αλλά αποτελεί πολύτιμο γενετικό υλικό για προγράμματα βελτίωσης.



Εικόνα 28



Εικόνα 29

Από την ανάλυση των δεδομένων της αμπελογραφικής περιγραφής και τη μελέτη του σχετικού δενδρογράμματος προκύπτει η μεγάλη απόσταση που παρατηρείται μεταξύ της Κορινθιακής λευκής και όλων των υπόλοιπων βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας που έχει ως αποτέλεσμα την τοποθέτηση και των τριών βιότυπων – δειγμάτων της Κορινθιακής λευκής που μελετήθηκαν σε ξεχωριστό κλάδο του δενδρογράμματος. Ευχερώς, επομένως, συνάγεται ότι παρά τις επί μέρους ομοιότητες σε μερικούς αμπελογραφικούς χαρακτήρες και στη φύση της απυρηνίας (και οι δύο ποικιλίες χαρακτηρίζονται ως εξ ερεθισμού παρθενοκαρπικές), η Κορινθιακή λευκή αποτελεί πολυκλωνικής φύσεως ποικιλία διαφορετική από την Κορινθιακή Σταφίδα. Η φαινοτυπική απόσταση, όπως προσδιορίστηκε από τη βαθμολόγηση των αμπελογραφικών χαρακτήρων των βιότυπων της Κορινθιακής λευκής και της Κορινθιακής Σταφίδας, είναι πολύ μεγάλη ώστε δεν επιβεβαιώνει την υπόθεση που είχε διατυπωθεί παλαιότερα ότι αποτελεί χρωματική μετάλλαξη της Κορινθιακής Σταφίδας.

Από την ανάλυση των παραπάνω αποτελεσμάτων (πίνακας 21, εικόνα 22), προκύπτει ακόμη ότι υπάρχει φαινοτυπική διακύμανση και μεταξύ των τριών βιότυπων της Κορινθιακής λευκής που μελετήθηκαν και συγκεκριμένα οι προερχόμενοι από τη Ζάκυνθο βιότυποι (C9, C10), αν και μεταξύ τους δεν διαφέρουν αισθητά, εντούτοις παρουσιάζουν σχετικά υψηλή απόσταση από το βιότυπο C11 που προέρχεται από την Αιγιάλεια. Η φαινοτυπική αυτή διακύμανση δείχνει ότι πρόκειται περί πολυκλωνικής ποικιλίας με βιότυπους – κλώνους που διαμορφώθηκαν στην πορεία των αιώνων μέσω της συσσώρευσης μεταλλάξεων.

Τα παραπάνω αποτελέσματα της αμπελογραφικής περιγραφής δείχνουν ότι η Κορινθιακή Σταφίδα παρουσιάζει ομάδες βιότυπων στα διάφορα καλλιεργητικά κέντρα που όμως διαφέρουν αμπελογραφικά και εντός της κάθε ομάδας. Το γεγονός αυτό υπαινίσσεται ότι οι βιότυποι αυτοί είναι αποτέλεσμα ανθρώπινης παρέμβασης (επιλογής) στη διάρκεια πολλών αιώνων και δεν οφείλονται σε αίτια γεωγραφικής απομόνωσης (This et al. 2006). Η ανταλλαγή και μεταφορά πολλαπλασιαστικού υλικού χωρίς προσοχή δημιούργησε αφενός τις ομάδες των βιότυπων αυτών καθώς ίσως και πολύ περισσότερων ακόμη που όμως στην πάροδο του χρόνου εξαφανίστηκαν, και αφετέρου προκάλεσε γενετική ετερογένεια εντός των ομάδων στα διάφορα καλλιεργητικά κέντρα.

Όπως γίνεται φανερό, η αμπελογραφική μέθοδος, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιείται μεγάλος αριθμός αμπελογραφικών χαρακτήρων και για τρεις ή περισσότερες καλλιεργητικές περιόδους, είναι αποτελεσματική στη διάκριση όχι μόνο των ποικιλιών, αλλά και σε ικανοποιητικό βαθμό διαφορετικών βιότυπων – πιθανών κλώνων της ίδιας ποικιλίας.

2. Λοιπές ποικιλίες

Στον πίνακα 24 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τις 27 καλλιεργούμενες ποικιλίες αμπέλου που μελετήθηκαν σύμφωνα με τον Κώδικα Αμπελογραφικής Περιγραφής του Διεθνούς Οργανισμού Αμπέλου και Οίνου (OIV), καθώς και η βαθμολογική κλίμακα (σκορ) με την οποία χαρακτηρίστηκαν για το κάθε αμπελογραφικό χαρακτηριστικό.

Ο βαθμοί απόστασης κάθε δυνατού ζεύγους των ποικιλιών που μελετήθηκαν, με βάση τους συντελεστές Dist, Manhattan, EuclidSQ δίνονται στους πίνακες 25, 26, 27 αντίστοιχα, ενώ τα παραγόμενα δενδρογράμματα φαίνονται στις εικόνες 30, 31, 32. Στην εικόνα 33 φαίνεται το δενδρογράμμα που παράγεται με τη μέθοδο NJ (Neighbor-Joining). Στις εικόνες 34 και 35 φαίνεται η Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 και 3 διαστάσεις αντίστοιχα, για την αμπελογραφική περιγραφή με το συντελεστή Dist.

Πίνακας 24. Βαθμολογική κλίμακα (σکور) των 65 αμπελογραφικών χαρακτήρων που χρησιμοποιήθηκαν για την αμπελογραφική περιγραφή (κώδικας OIV) των λοιπών ποικιλιών που μελετήθηκαν.

OIV	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B25	B26	B27		
001	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
002	2	2	1	1	2	2	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	2	
003	3	3	1	1	1	1-3	1-3	1	3	3	3	3-5	3	1	3	3	3	3	1	3	3	1	5	1-3	5	1-3	5	
004	3	3-5	3	5	3	3	3-5	1	1	1	1	3	3-5	3	3-5	3	5	3	3	3	3	5-7	3	3-5	3	3	5-7	
005	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
007	2	2	1	3	2	2	1	2	2	2	2	2	3	2	3	2	2	2	1	1	1	2	2	2	3	2	1	
008	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1	
009	2	2	1	3	2	2	1	2	2	2	2	2	3	2	3	2	1	1	1	1	1	2	2	1	2	1	1	
010	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	
011	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
012	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
013	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	3	1	3	1-3	1-3	1-3	3	1	3	1-3	1	3	1-3	5
014	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1-3	1	1-3	1	3	1-3	1-3	1-3	3	1	3	3	3	1	3-5	3
015-1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	
015-2	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1-3	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	

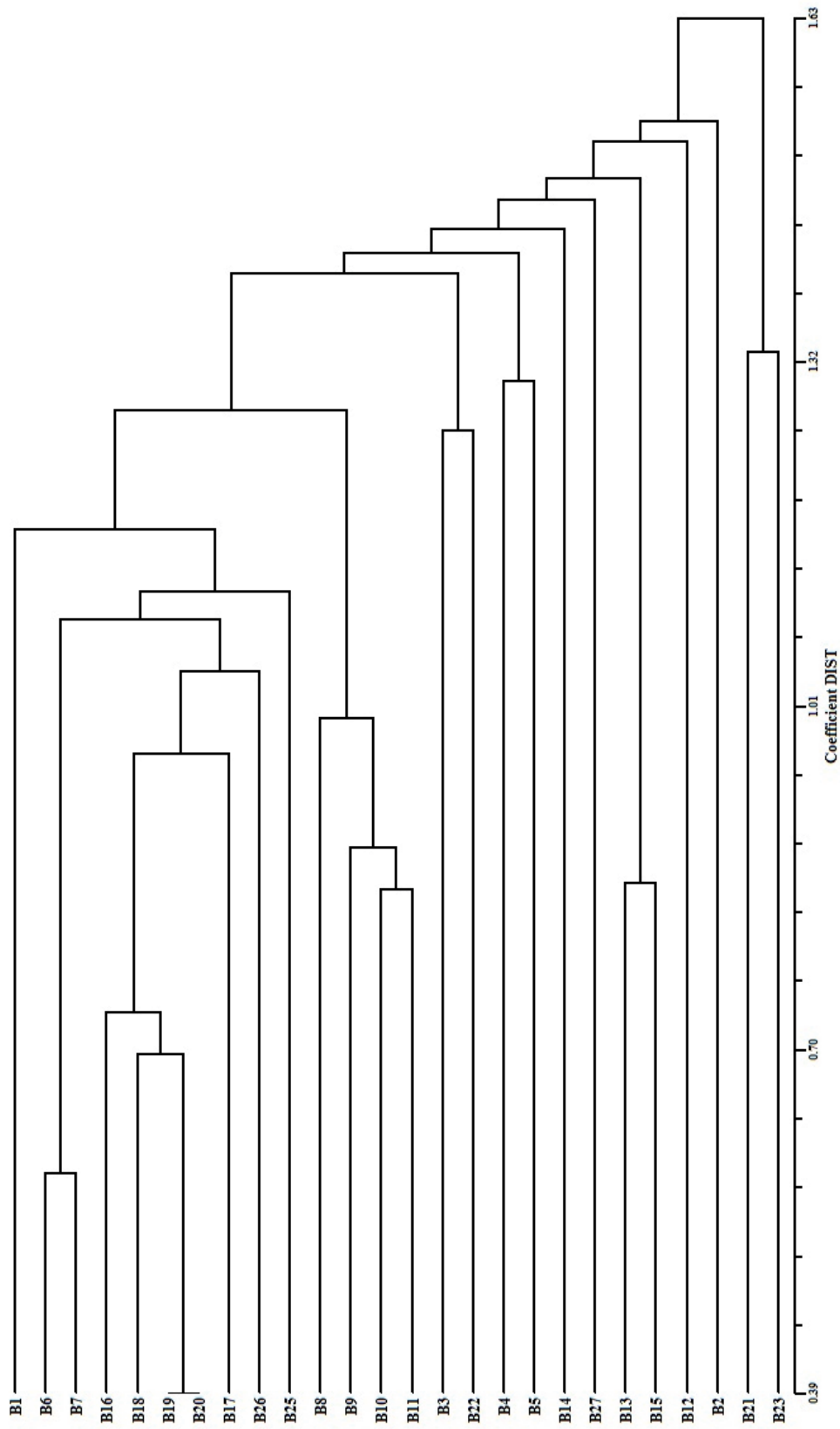
OIV	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B25	B26	B27	
016	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
051	3	3	3	4	4	4	4	4	3	3	3	3	1-2	3	1-2	3	4	4	4	4	4	4	1-2	4	3	3	1
053	1	1	3	3-5	1	3	3	3	3	1	1	3	3-5	3-5	3-5	3	3-5	3	3	3	3	1-3	3-5	3-5	1-3	5	
054	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
055	3	1	3	3	1	3	3	1	1	1	1	5	3	3	3	3	5	3	3	3	3	1-3	5	3	3	3	3-5
056	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
065	7	5	5	5-7	5	5	5	5-7	3-5	5	5-7	5	5	3-5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5-7	3-5
067	3	2	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3
068	4	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3-4	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3-4	3-4	3-4	3	3
069	5	5	5	5	5	3	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3-5	5	5-7
070	1	3	2	2	3	2	2	1	1	1	1	1	1	3	1	2	2	2	2	3	3	2	1	1	1	3	3
071	2	3	2	2	3	2	2	1	2	1	1	1	1	3	1	2	2	2	2	3	3	2	2	1	1	3	4
072	3	3	3	3	1	3	3	5	1	1	1	1-3	5	3	5	1-3	1-3	1-3	1-3	3	3	3	1-3	5	3	3	1-3
073	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
074	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
075	1	3	1	1	1	1	1	3-5	1	1	1-3	3	1	1-3	3	3	3	3	3-5	3-5	5	1	3-5	3	1	1	1
076	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	5	5	5	5	5	5
077	5	5	3	5-7	5-7	5	5	3-5	3-5	3-5	5	5	5	3	5	5	3-5	5	5	5	5	3-5	5	5	5	5-7	5

	O1V	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B25	B26	B27
078	5	5	3	5	5-7	5	5	3	3	3	3	5	5	5	3	5	5	3-5	5	5	5	3-5	5	5	5	5-7	5
079	7	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	5	5	3	3	3	5	7	3	3	3	9	5	9	3	3	3
080	3	2	2	2	1	1	1	2	3	2	3	3	3	3	1	3	2	3	2	2	2	3	2	2	2	2	1
081-1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1
081-2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
082	3	2	2	2	2	3	3	2	2	1	1	1	3	2	1	2	3	3	3	2	2	4	4	3-4	3-4	3	1
083-1	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	2	3	1	1	1	2	2	2	2	2	1	2	1	3
083-2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	9	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	1
084	3	3	1-3	1	1-3	1	1	1	1	1	1	1	3-5	3-5	3-5	3-5	3	3	3	3-5	3-5	5	3-5	5	3	3	1-3
085	1	3	1-3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
086	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3-5	3-5	3	5	1-3	3	3	3	3	5	3	5	3	1-3	1-3
087	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
088	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	9	9	9	1	1
089	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
090	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	3	1	1	1
091	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
093	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	5	3-5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
094	5	3-5	5	3-5	5	5	5	5	5	3	1-3	1-3	7	5	1-3	5	5	3-5	5	5	5-7	5-7	5	5-7	7	5-7	3

Πίν. 25. Βαθμός απόστασης των ποικιλιών που μελετήθηκαν με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το συντελεστή Dist (URGMA).

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B25	B26	B27	
B1	0,000																										
B2	1,489	0,000																									
B3	1,664	1,618	0,000																								
B4	1,498	1,635	1,336	0,000																							
B5	1,496	1,523	1,605	1,302	0,000																						
B6	1,152	1,401	1,519	1,358	1,192	0,000																					
B7	1,125	1,421	1,470	1,430	1,238	0,591	0,000																				
B8	1,129	1,494	1,398	1,375	1,533	1,163	1,129	0,000																			
B9	1,244	1,508	1,328	1,377	1,413	1,091	1,107	0,964	0,000																		
B10	1,420	1,570	1,574	1,599	1,606	1,372	1,313	1,121	0,910	0,000																	
B11	1,025	1,388	1,536	1,393	1,347	1,165	1,060	0,913	0,857	0,846	0,000																
B12	1,400	1,633	1,810	1,756	1,742	1,456	1,403	1,583	1,595	1,752	1,516	0,000															
B13	1,328	1,511	1,693	1,429	1,688	1,389	1,445	1,351	1,413	1,492	1,345	1,529	0,000														
B14	1,745	1,443	1,422	1,512	1,448	1,339	1,416	1,394	1,265	1,414	1,497	1,685	1,484	0,000													
B15	1,528	1,719	1,661	1,601	1,682	1,616	1,640	1,538	1,624	1,682	1,537	1,636	0,852	1,719	0,000												
B16	0,985	1,374	1,479	1,390	1,319	0,990	0,960	1,119	1,028	1,203	1,027	1,186	1,085	1,282	1,308	0,000											
B17	1,233	1,629	1,529	1,378	1,632	1,345	1,236	1,395	1,357	1,479	1,401	1,394	1,225	1,467	1,419	0,854	0,000										
B18	1,220	1,506	1,368	1,400	1,216	1,065	0,971	1,185	1,186	1,399	1,251	1,349	1,356	1,230	1,552	0,721	0,988	0,000									
B19	1,184	1,404	1,499	1,542	1,285	1,046	0,911	1,246	1,282	1,472	1,224	1,255	1,337	1,325	1,520	0,733	1,007	0,701	0,000								
B20	1,212	1,421	1,395	1,441	1,266	1,135	0,960	1,224	1,185	1,438	1,183	1,315	1,316	1,289	1,488	0,752	1,021	0,695	0,393	0,000							
B21	1,599	1,859	1,824	1,665	1,880	1,687	1,624	1,682	1,748	1,753	1,778	1,632	1,576	1,798	1,709	1,348	1,111	1,452	1,341	1,352	0,000						
B22	1,301	1,664	1,258	1,525	1,403	1,308	1,285	1,366	1,268	1,526	1,343	1,521	1,460	1,515	1,419	1,093	1,435	1,112	1,274	1,220	1,578	0,000					
B23	1,507	1,981	1,881	1,847	1,973	1,677	1,624	1,725	1,745	1,988	1,797	1,574	1,512	1,948	1,598	1,398	1,385	1,470	1,418	1,370	1,328	1,595	0,000				
B25	1,278	1,718	1,669	1,359	1,505	1,124	1,170	1,353	1,392	1,645	1,417	1,351	1,226	1,660	1,440	0,997	1,011	1,091	1,074	1,143	1,239	1,259	1,406	0,000			
B26	1,138	1,614	1,659	1,530	1,389	1,262	1,183	1,481	1,357	1,613	1,299	1,426	1,447	1,677	1,637	0,927	1,307	1,093	0,982	0,900	1,641	1,305	1,354	1,303	0,000		
B27	1,604	1,651	1,608	1,629	1,579	1,455	1,367	1,747	1,513	1,748	1,597	1,734	1,526	1,464	1,752	1,285	1,299	1,211	1,063	1,133	1,714	1,572	1,792	1,484	1,478	0,000	

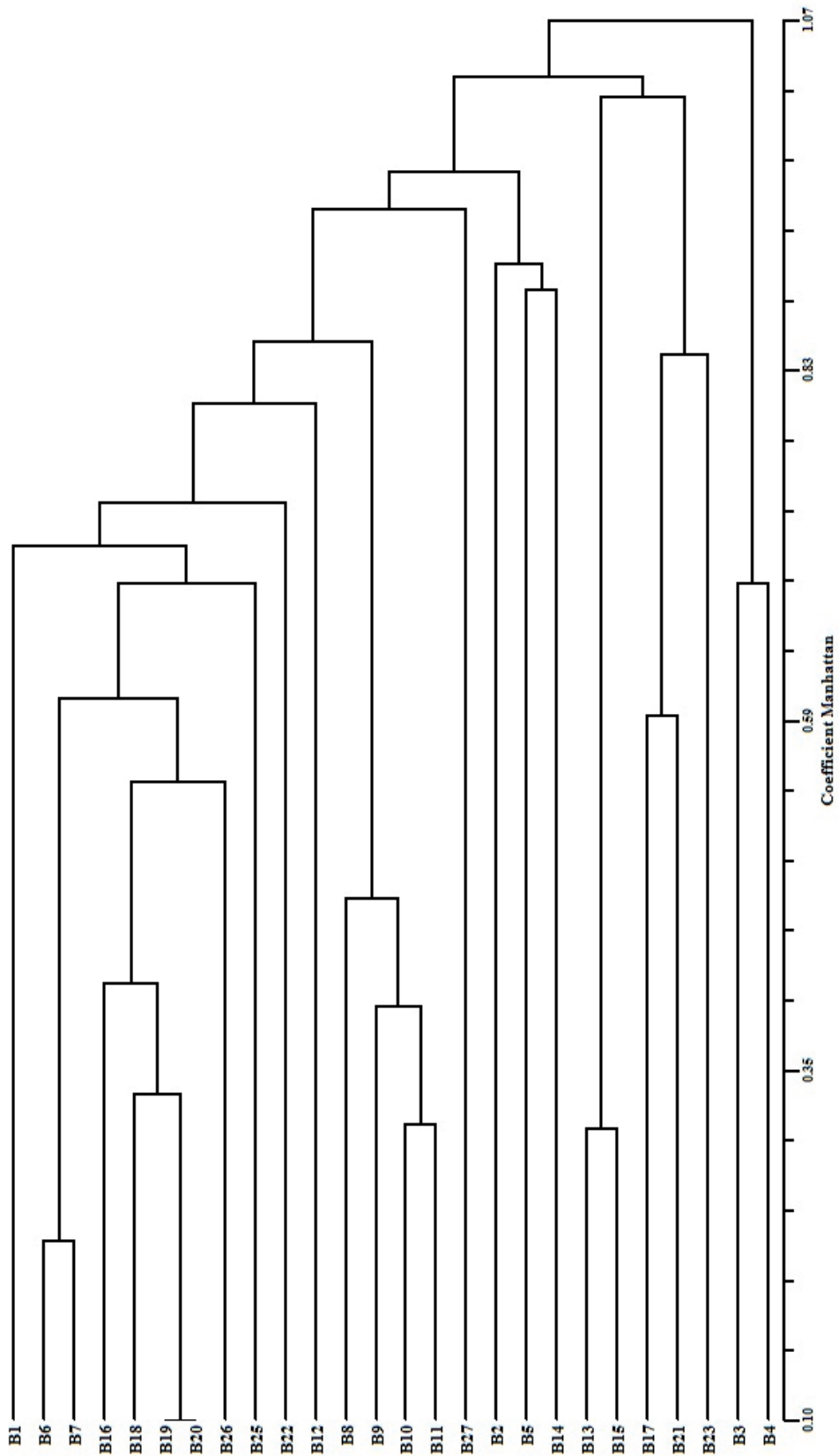
Εικ. 30. Δενδρόγραμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το συντελεστή Dist (URGMA).



Πίν. 26. Βαθμός απόστασης των ποικιλιών που μελετήθηκαν με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το συντελεστή Manhattan (URGMA).

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B25	B26	B27	
B1	0,000																										
B2	0,888	0,000																									
B3	1,171	1,052	0,000																								
B4	1,059	1,036	0,683	0,000																							
B5	1,039	0,904	1,019	0,784	0,000																						
B6	0,617	0,840	0,989	0,864	0,653	0,000																					
B7	0,654	0,878	0,928	0,899	0,771	0,229	0,000																				
B8	0,717	0,969	0,931	0,887	0,928	0,640	0,676	0,000																			
B9	0,748	0,913	0,836	0,869	0,865	0,629	0,637	0,436	0,000																		
B10	0,827	0,965	1,149	1,181	1,054	0,836	0,815	0,538	0,403	0,000																	
B11	0,602	0,802	1,126	0,956	0,836	0,672	0,597	0,423	0,380	0,310	0,000																
B12	0,788	1,071	1,376	1,384	1,221	0,873	0,849	1,026	1,042	1,116	0,867	0,000															
B13	0,881	0,992	1,223	0,952	1,220	0,915	0,953	0,903	0,985	1,002	0,869	1,016	0,000														
B14	1,173	0,905	0,979	1,058	0,886	0,890	1,015	0,959	0,859	0,949	1,027	1,211	1,086	0,000													
B15	1,061	1,158	1,200	1,123	1,243	1,142	1,123	1,069	1,184	1,173	1,009	1,078	0,307	1,362	0,000												
B16	0,505	0,803	1,046	1,054	0,937	0,535	0,514	0,740	0,651	0,745	0,635	0,603	0,706	0,867	0,847	0,000											
B17	0,769	1,108	1,167	0,970	1,241	0,928	0,816	0,979	0,963	0,998	0,985	0,888	0,788	1,115	0,929	0,437	0,000										
B18	0,819	1,028	0,867	0,956	0,818	0,619	0,523	0,802	0,832	1,006	0,897	0,826	0,861	0,863	1,049	0,351	0,576	0,000									
B19	0,783	0,884	1,023	1,112	0,858	0,616	0,467	0,846	0,865	1,043	0,795	0,710	0,781	0,926	0,969	0,433	0,658	0,319	0,000								
B20	0,787	0,888	0,918	1,007	0,854	0,721	0,522	0,851	0,789	1,048	0,799	0,815	0,785	0,850	0,973	0,437	0,662	0,343	0,105	0,000							
B21	1,052	1,356	1,410	1,215	1,463	1,164	1,113	1,184	1,260	1,234	1,283	1,129	1,086	1,368	1,246	0,838	0,592	0,991	0,818	0,823	0,000						
B22	0,804	1,168	0,832	1,103	0,918	0,788	0,767	0,898	0,824	1,048	0,884	0,940	1,033	1,053	1,010	0,560	0,968	0,598	0,802	0,726	1,053	0,000					
B23	0,988	1,481	1,443	1,404	1,541	1,187	1,075	1,201	1,252	1,464	1,269	0,972	1,016	1,553	1,050	0,893	0,867	0,952	0,907	0,831	0,816	1,019	0,000				
B25	0,845	1,236	1,276	0,988	1,132	0,720	0,750	0,996	1,022	1,153	0,958	0,780	0,787	1,240	0,975	0,592	0,648	0,613	0,582	0,687	0,759	0,826	0,879	0,000			
B26	0,666	1,085	1,141	1,096	0,900	0,800	0,718	1,005	0,869	1,093	0,867	0,892	1,056	1,073	1,259	0,487	0,862	0,654	0,575	0,470	1,131	0,785	0,826	0,840	0,000		
B27	1,111	1,167	1,197	1,207	1,064	0,856	0,734	1,235	1,001	1,195	0,977	1,156	1,036	1,042	1,286	0,825	0,887	0,749	0,587	0,691	1,237	1,092	1,317	0,953	0,968	0,000	

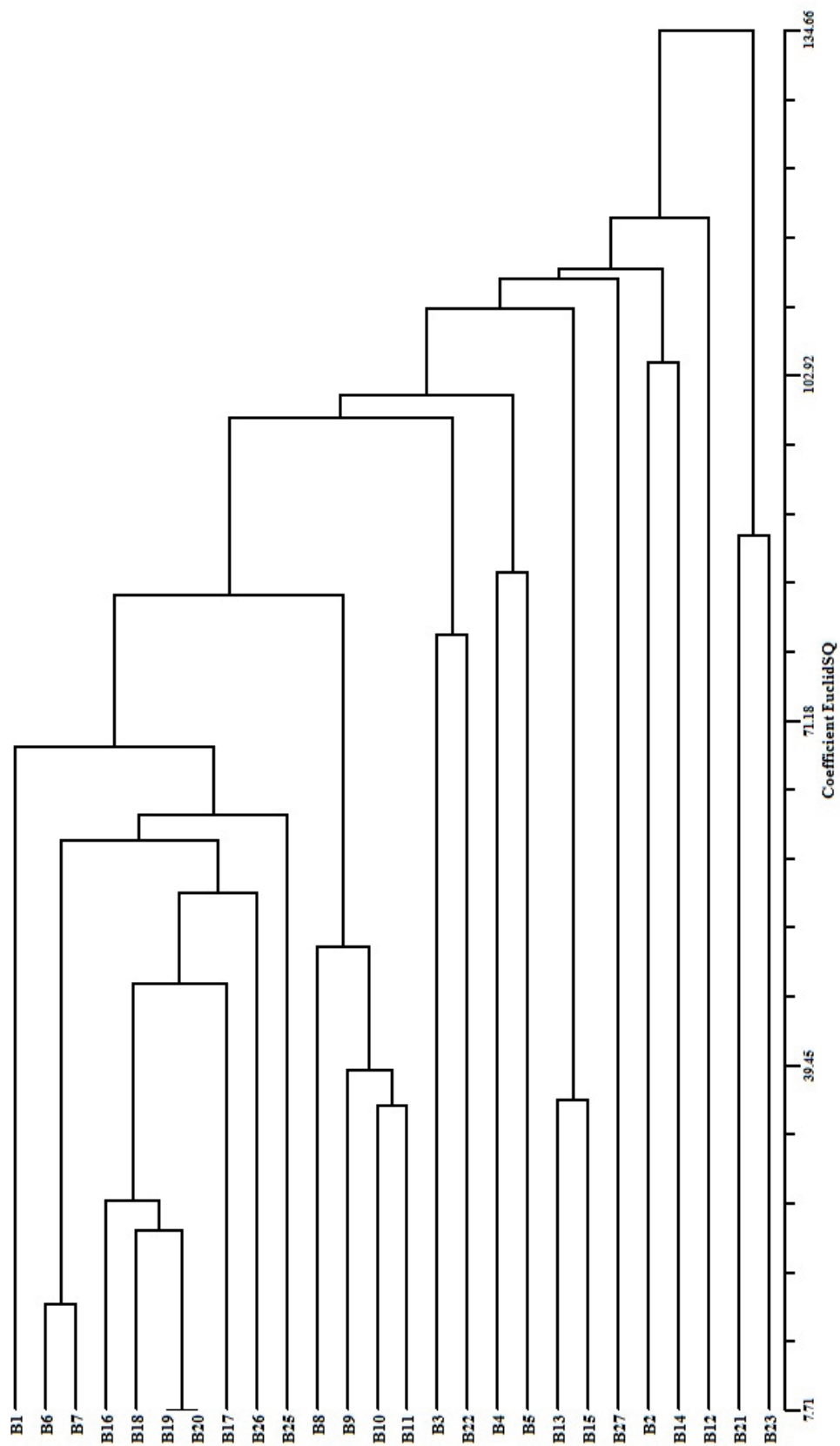
Εικ. 31. Δενδρόγραμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το Manhattan (URGMA).



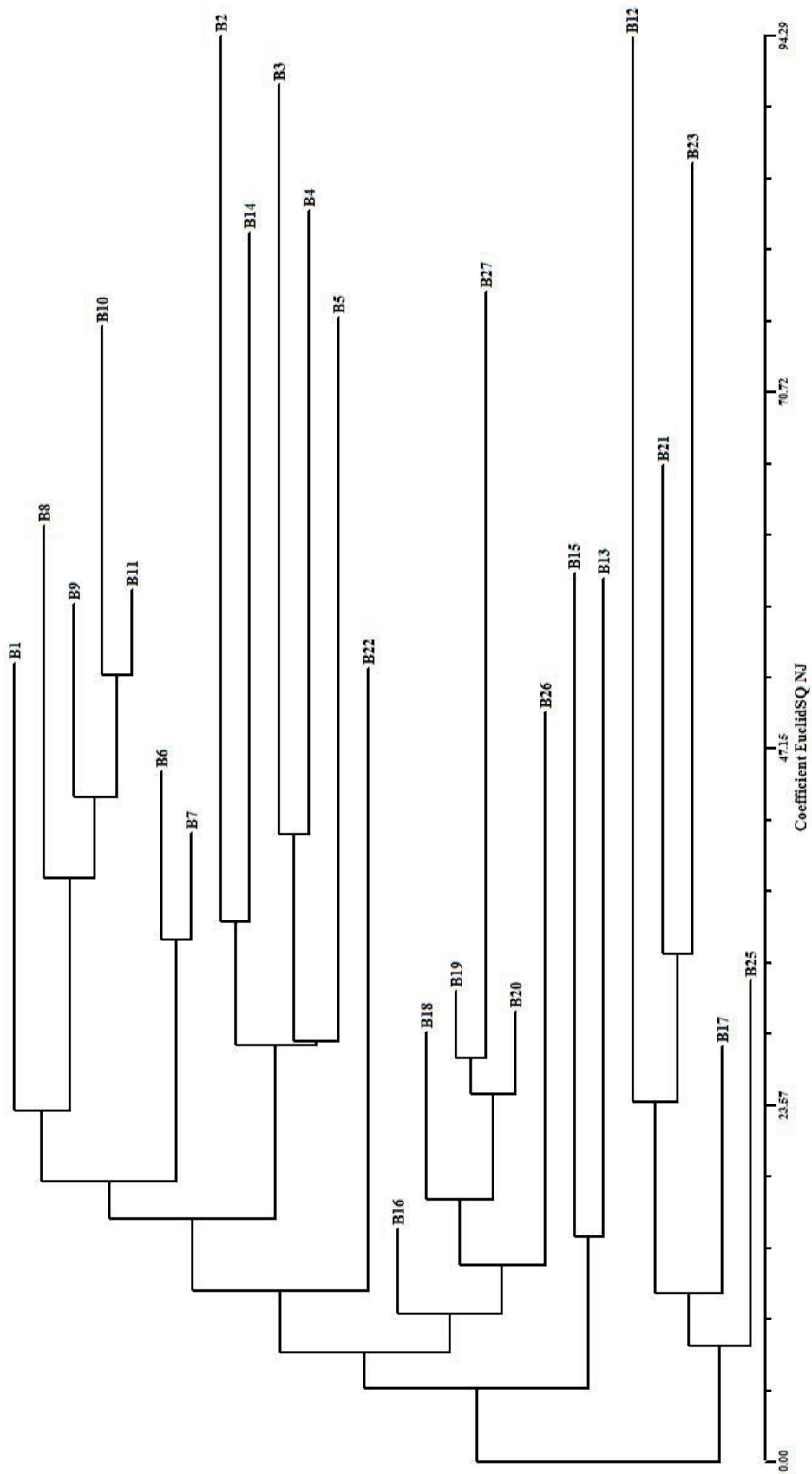
Πίν. 27. Βαθμός απόστασης των ποικιλιών που μελετήθηκαν με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το συντελεστή EuclidSQ (URGMA).

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B25	B26	B27	
B1	0.0000																										
B2	110,843	0.0000																									
B3	138,478	130,898	0.0000																								
B4	112,228	133,722	89,180	0.0000																							
B5	111,895	115,919	128,753	84,819	0.0000																						
B6	66,342	98,168	115,337	92,220	70,980	0.0000																					
B7	63,305	100,919	107,995	102,238	76,687	17,453	0.0000																				
B8	63,766	111,578	97,765	94,574	117,563	67,676	63,700	0.0000																			
B9	77,376	113,727	88,223	94,767	99,752	59,490	61,233	46,442	0.0000																		
B10	100,869	123,185	123,893	127,788	129,027	94,179	86,132	62,834	41,382	0.0000																	
B11	52,557	96,359	117,955	96,970	90,738	67,874	56,226	41,661	36,716	35,772	0.0000																
B12	98,051	133,343	163,835	154,235	151,785	106,015	98,460	125,211	127,143	153,457	114,894	0.0000															
B13	88,140	114,118	143,227	102,068	142,420	96,456	104,371	91,190	99,755	111,274	90,396	116,940	0.0000														
B14	152,252	104,097	104,153	114,340	104,819	89,596	100,293	97,124	79,951	99,955	111,984	141,890	110,070	0.0000													
B15	116,778	147,678	137,983	128,105	141,374	130,637	134,480	118,332	131,900	141,383	118,158	133,805	36,281	147,779	0.0000												
B16	48,522	94,345	109,299	96,542	87,044	49,043	46,087	62,653	52,879	72,351	52,727	70,311	58,813	82,130	85,561	0.0000											
B17	75,983	132,631	116,937	94,912	133,127	90,475	76,439	97,290	92,018	109,381	98,140	97,164	74,991	107,552	100,737	36,438	0.0000										
B18	74,425	113,415	93,587	98,023	73,930	56,728	47,139	70,225	70,282	97,879	78,256	90,936	91,926	75,677	120,445	26,012	48,820	0.0000									
B19	70,034	98,621	112,294	118,868	82,586	54,675	41,486	77,655	82,107	108,282	74,856	78,685	89,369	87,750	115,541	26,866	50,693	24,551	0.0000								
B20	73,502	100,969	97,284	103,858	80,137	64,423	46,042	74,842	70,151	103,433	70,007	86,397	86,556	83,092	110,692	28,297	52,124	24,138	7,712	0.0000							
B21	127,906	172,785	166,414	138,560	176,685	142,349	131,915	141,469	152,771	153,571	158,040	133,100	124,230	161,558	146,050	90,847	61,705	105,385	89,958	91,389	0.0000						
B22	84,595	138,384	79,113	116,306	98,361	85,554	82,598	93,318	80,375	116,457	90,152	115,641	106,641	114,723	100,693	59,733	103,007	61,850	81,118	74,425	124,509	0.0000					
B23	113,488	196,205	176,823	170,614	194,701	140,611	131,837	148,765	152,174	197,672	161,536	123,794	114,233	189,784	127,750	97,777	95,967	108,048	100,513	93,819	88,209	127,179	0.0000				
B25	81,632	147,638	139,346	92,391	113,228	63,162	68,440	91,488	96,925	135,316	100,354	91,302	75,201	137,746	103,719	49,662	51,100	59,488	57,651	65,362	76,790	79,193	98,768	0.0000			
B26	64,697	130,166	137,681	116,975	96,519	79,629	69,928	109,716	92,069	130,026	84,335	101,733	104,618	140,678	134,024	42,961	85,362	59,712	48,250	40,539	134,634	85,113	91,626	84,825	0.0000		
B27	128,693	136,291	129,242	132,654	124,724	105,849	93,488	152,653	114,404	152,754	127,542	150,360	116,445	107,180	153,430	82,537	84,331	73,284	56,516	64,227	146,813	123,541	110,035	109,177	0.0000		

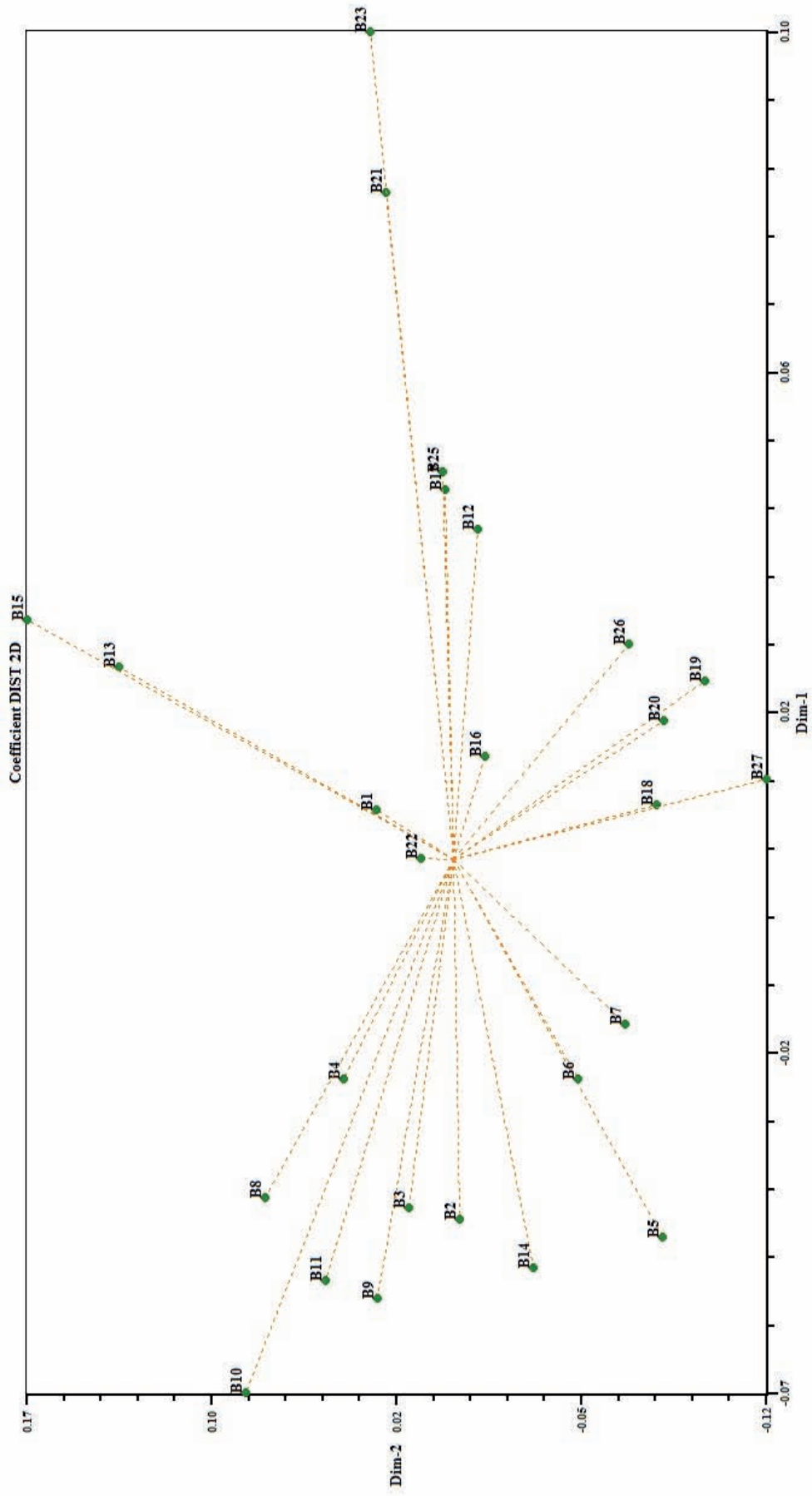
Εικ. 32. Δενδρόγραμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το συντελεστή EuclidSQ (URGMA).



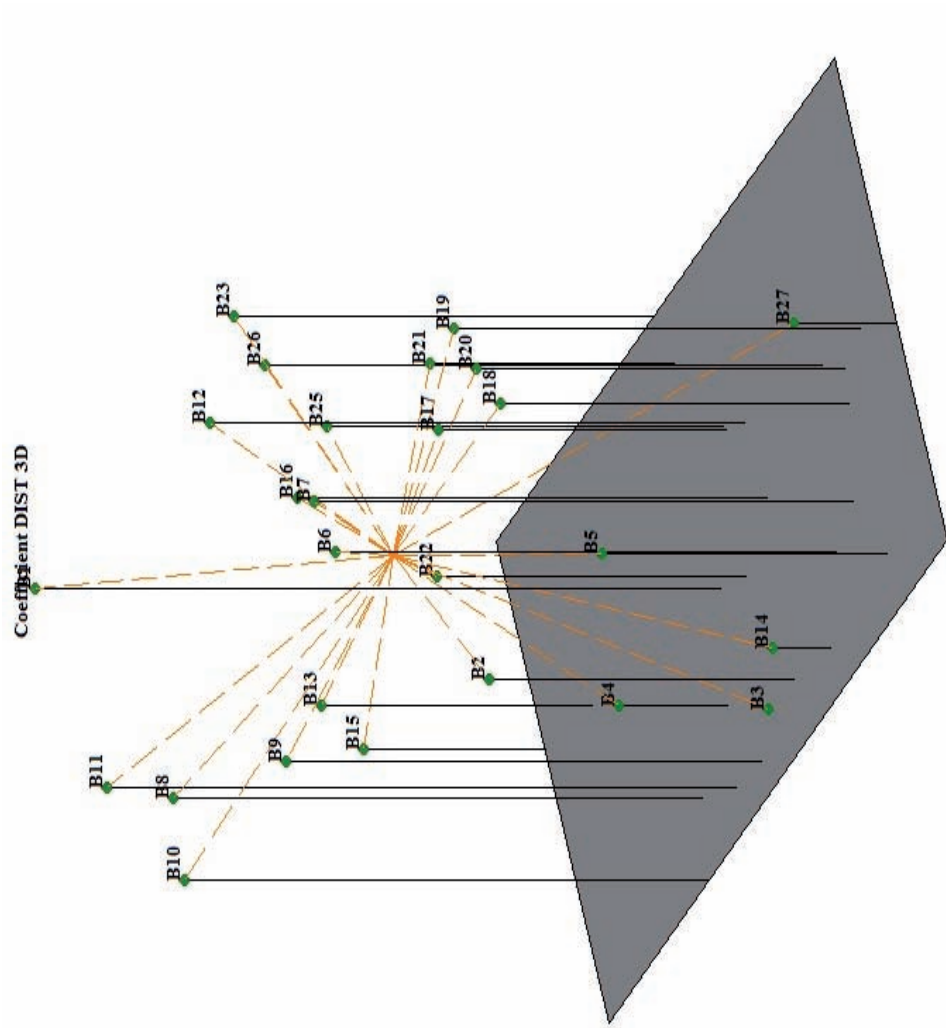
Εικ. 33. Δενδρόγραμμα των ποικλιών που μελετήθηκαν με την αμπελογραφική περιγραφή με βάση το συντελεστή EuclidSQ (NJ).



Εικ. 34. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 διαστάσεις για την αμπελογραφική περιγραφή με το συντελεστή Dist (URGMA).



Εικ. 35. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 3 διαστάσεις για την αμπελογραφική περιγραφή με το συντελεστή Dist (UPGMA).



Για την αμπελογραφική περιγραφή των λοιπών ποικιλιών χρησιμοποιήθηκαν 65 αμπελογραφικοί χαρακτήρες (πίνακας 24), ένας λιγότερο (κωδ. 006) σε σχέση με εκείνους που χρησιμοποιήθηκαν για την αμπελογραφική περιγραφή των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας. Για την ποικιλία Γλυκέρη δεν πραγματοποιήθηκε αμπελογραφική περιγραφή. Από τα δεδομένα του πίνακα 25 και του αντίστοιχου δενδρογράμματος (εικόνα 30) με βάση το συντελεστή Dist, προκύπτει ότι:

α) οι βιότυποι που μελετήθηκαν αποτελούν ξεχωριστές ποικιλίες με τη φαινοτυπική διακύμανση (απόσταση) να κυμαίνεται από 0,393, για τις ποικιλίες Ασπρούδι Μυκητών (B19) και Ασπρούδι Σπετσών (B20), έως 1,981 για τις ποικιλίες Κοκκινόρομπολα (B14), Γλυκερήθρα (B23) και Λαδικινό (B2),

β) ο μεγάλος αριθμός των αμπελογραφικών χαρακτήρων που μελετήθηκαν επέτρεψε τόσο τη διάκριση ποικιλιών όσο και την ομαδοποίηση των συγγενών ποικιλιών στο δενδρογράμμα,

γ) οι ποικιλίες Φωκιανό (B11), Γιουρούκι (B10), Αρμελετούσα (B9), Ερικάρης (B8) που αναφέρονται ως συνώνυμα ή συγγενείς ποικιλίες ομαδοποιούνται με σχετικά χαμηλή απόσταση μεταξύ τους, ενώ σχετικά μεγαλύτερη απόσταση παρουσιάζει η τελευταία ποικιλία. Η φαινοτυπική αυτή διακύμανση δείχνει ότι πρόκειται περί πολύ συγγενών ποικιλιών ή και κλώνων που πιθανά προέρχονται από μία γονεϊκή ποικιλία, δ) από τις λοιπές ανατολικής προέλευσης ποικιλίες αμπέλου μικρή απόσταση ($I=0,591$) παρουσίασαν οι ποικιλίες Σεριφιώτικο (B6) και Σταυροχιώτικο (B7), που δείχνει ότι είναι στενά συγγενείς και μάλλον προέρχονται από την ίδια γονεϊκή ποικιλία ενώ, σχετικά μεγαλύτερη απόσταση ($I=1,510$) παρουσίασαν οι ποικιλίες Συρίκι (B4) και Ξερομαχαιρούδα (B5) που τοποθετούνται στο ίδιο κλάδο του δενδρογράμματος. Αντίθετα, η ποικιλία Λαδικινό (B2) που θεωρείται ανατολικής προέλευσης (Λογοθέτης 1955) παρουσιάζει σημαντικά μεγαλύτερη απόσταση με όλες τις υπόλοιπες, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην επίδραση των εδαφοκλιματικών συνθηκών και της καλλιεργητικής τεχνικής εξαιτίας της αποκλειστικής της καλλιέργειας στην Κρήτη,

ε) η απόσταση μεταξύ των δειγμάτων των ποικιλιών με το γενικό όνομα Ασπρούδια επιτρέπει την τοποθέτησή τους στο ίδιο κλάδο του δενδρογράμματος, επομένως πρόκειται περί συγγενών αλλά διαφορετικών ποικιλιών, πλην των βιότυπων Ασπρούδι Μυκητών (B19) και Ασπρούδι Σπετσών (B20) που πρέπει να θεωρούνται στενά συγγενείς ή και κλώνοι μιας ποικιλίας. Μεγαλύτερη απόσταση παρατηρείται μεταξύ όλων των Ασπρουδιών και των ποικιλιών Πετρουλιανός, Ποταμίσι άσπρο και Πλατάκι, ενώ στον ίδιο κλάδο του δενδρογράμματος τοποθετούνται οι ποικιλίες Αγριογλυκάδι (B21) και Γλυκερήθρα (B23),

στ) η χαμηλή απόσταση ($I=0,852$) μεταξύ των ποικιλιών Ατσάλα (B13) και Ρομπόλα (B15) υπαινίσσεται ότι πρόκειται περί κλώνων μιας και της αυτής ποικιλίας με κέντρο καλλιέργειας τη Δυτική Ελλάδα, ενώ αντίθετα διαπιστώθηκε φαινοτυπική διακύμανση μεταξύ της Ρομπόλας (B15) και Κοκκινόρομπολας (B14) που η πρώτη θεωρείται χρωματική μετάλλαξη της δεύτερης (Κριμπάς 1943).

B. Μοριακές Μέθοδοι

Για τη στατιστική ανάλυση και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της γενετικής μελέτης στο σύνολο των βιότυπων και ποικιλιών που μελετήθηκαν και για τον προσδιορισμό της εντός και της μεταξύ τους γενετικής ποικιλομορφίας χρησιμοποιήθηκαν, όπως ήδη αναφέρθηκε, οι συντελεστές ομοιότητας Simple Matching (SM), Jaccard και Dice.

Με βάση την απουσία (0) ή την παρουσία (1) ηλεκτροφορητικών ζωνών και με τη βοήθεια των υπολογιστικών φύλλων Excel και του προγράμματος NTSYS-rc v.2.02i με τους διάφορους συντελεστές ομοιότητας, προσδιορίστηκε ο βαθμός γενετικής ομοιότητας μεταξύ όλων των δυνατών ζευγών των ποικιλιών που μελετήθηκαν από τους οποίους προέκυψαν τα αντίστοιχα δενδρογράμματα.

Επειδή, όπως διαπιστώθηκε, δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ των συντελεστών που χρησιμοποιήθηκαν, η ανάλυση και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των μοριακών μεθόδων στις επόμενες ενότητες θα γίνουν με βάση το συντελεστή ομοιότητας Simple Matching.

1. Βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας

RAPD

Η μοριακή αυτή μέθοδος χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία τόσο για τη διερεύνηση της γενετικής σχέσης μεταξύ των ποικιλιών Λιάτικο και Κορινθιακή Σταφίδα όσο και για την αντίστοιχη μεταξύ των 31 βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας. Στην πρώτη περίπτωση χρησιμοποιήθηκαν 6 εκκινητές που έδωσαν περισσότερες από 40 ηλεκτροφορητικές ζώνες και στη δεύτερη 7 εκκινητές με τον αριθμό των ενισχυμένων προϊόντων να ανέρχεται σε 89. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά, προσδιορίστηκαν οι βαθμοί γενετικής ομοιότητας και σχηματίστηκαν τα αντίστοιχα δενδρογράμματα.

Στον πίνακα 28 παρουσιάζεται ο αριθμός των ενισχυμένων προϊόντων (ηλεκτροφορητικές ζώνες) για κάθε ένα από τους εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας και στον πίνακα 29 τα αντίστοιχα δεδομένα για τη διερεύνηση της σχέσης των ποικιλιών Λιάτικο και Κορινθιακή Σταφίδα με τη μέθοδο RAPD. Οι εκκινητές, ανάλογα με τον πολυμορφισμό που εμφάνισαν, μπορούν να διακριθούν σε εκκινητές με υψηλό (πάνω από 15 ηλεκτροφορητικές ζώνες), μέτριο (από 10 έως 15 ηλεκτροφορητικές ζώνες) και χαμηλό πολυμορφισμό (έως 10 ηλεκτροφορητικές ζώνες).

Όπως φαίνεται, το μεγαλύτερο βαθμό πολυμορφισμού και στις δύο περιπτώσεις έδωσαν οι εκκινητές 1227, OPF-04 και OPF-09 με 16, 18, και 8-13 ηλεκτροφορητικές ζώνες αντίστοιχα.

Πίνακας 28. Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν και αριθμός των ενισχυμένων προϊόντων για τη μελέτη των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας.

Εκκινητές	Αριθμός ενισχυμένων προϊόντων
1224	11
1225	8
1227	16
OPF-04	18
OPF-09	13
OPF-14	11
OPM-15	12

Πίνακας 29. Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν και αριθμός των ενισχυμένων προϊόντων για τη μελέτη των ποικιλιών Λιάτικο και Κορινθιακή Σταφίδα.

Εκκινητές	Αριθμός ενισχυμένων προϊόντων
1225	6
OPF-05	12
OPF-09	8
OPM-02	3
OPM-04	11
OPM-05	3

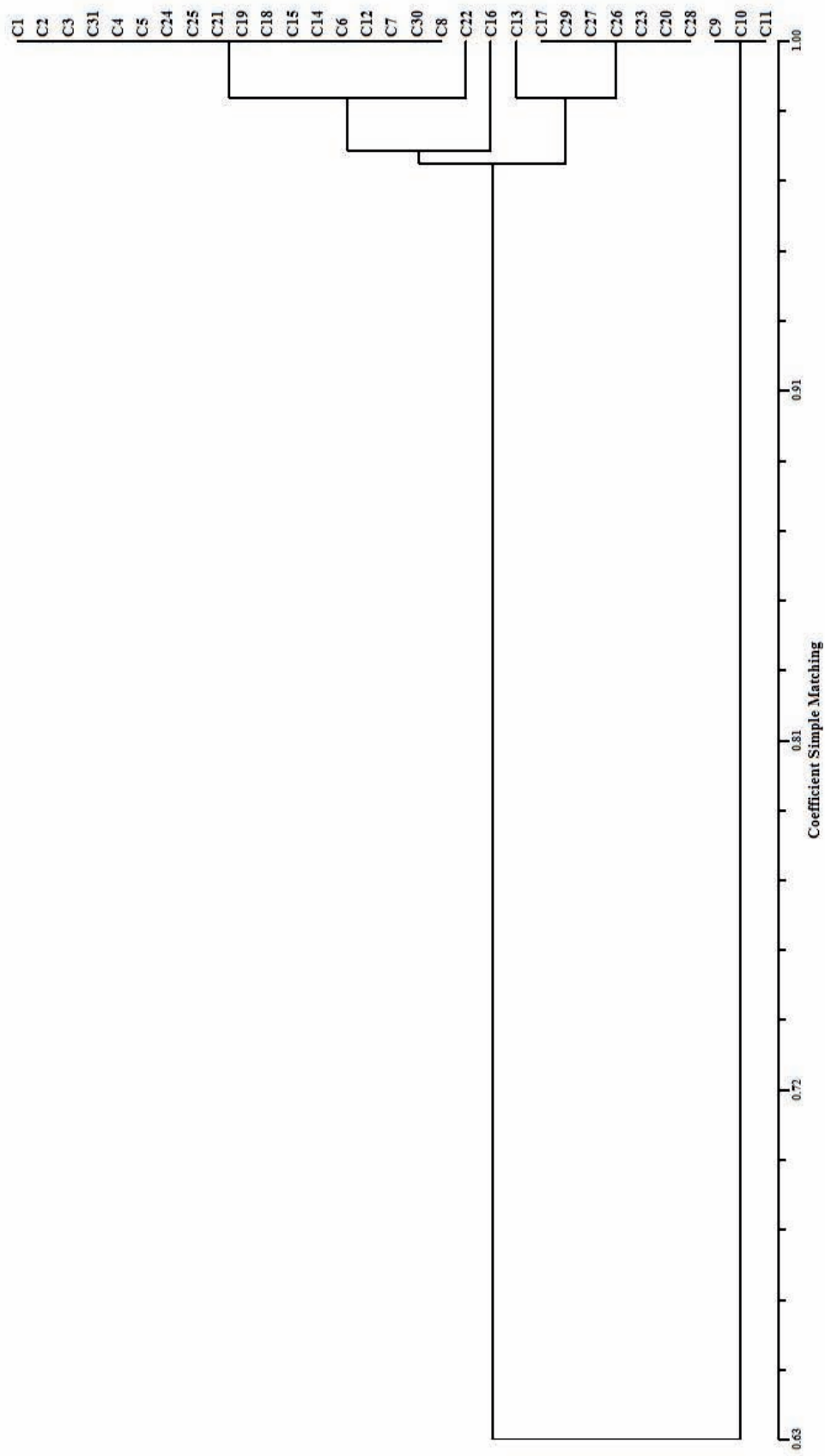
Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου RAPD

Τα ηλεκτροφορήματα όλων των παραπάνω εκκινητών φαίνονται στο παράρτημα ΙΙΙ. Για την επεξεργασία και ανάλυση των ηλεκτροφορημάτων και τον προσδιορισμό του βαθμού γενετικής ομοιότητας (I) των ποικιλιών που μελετήθηκαν χρησιμοποιήθηκαν, όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι συντελεστές Simple matching, Jaccard και Dice.

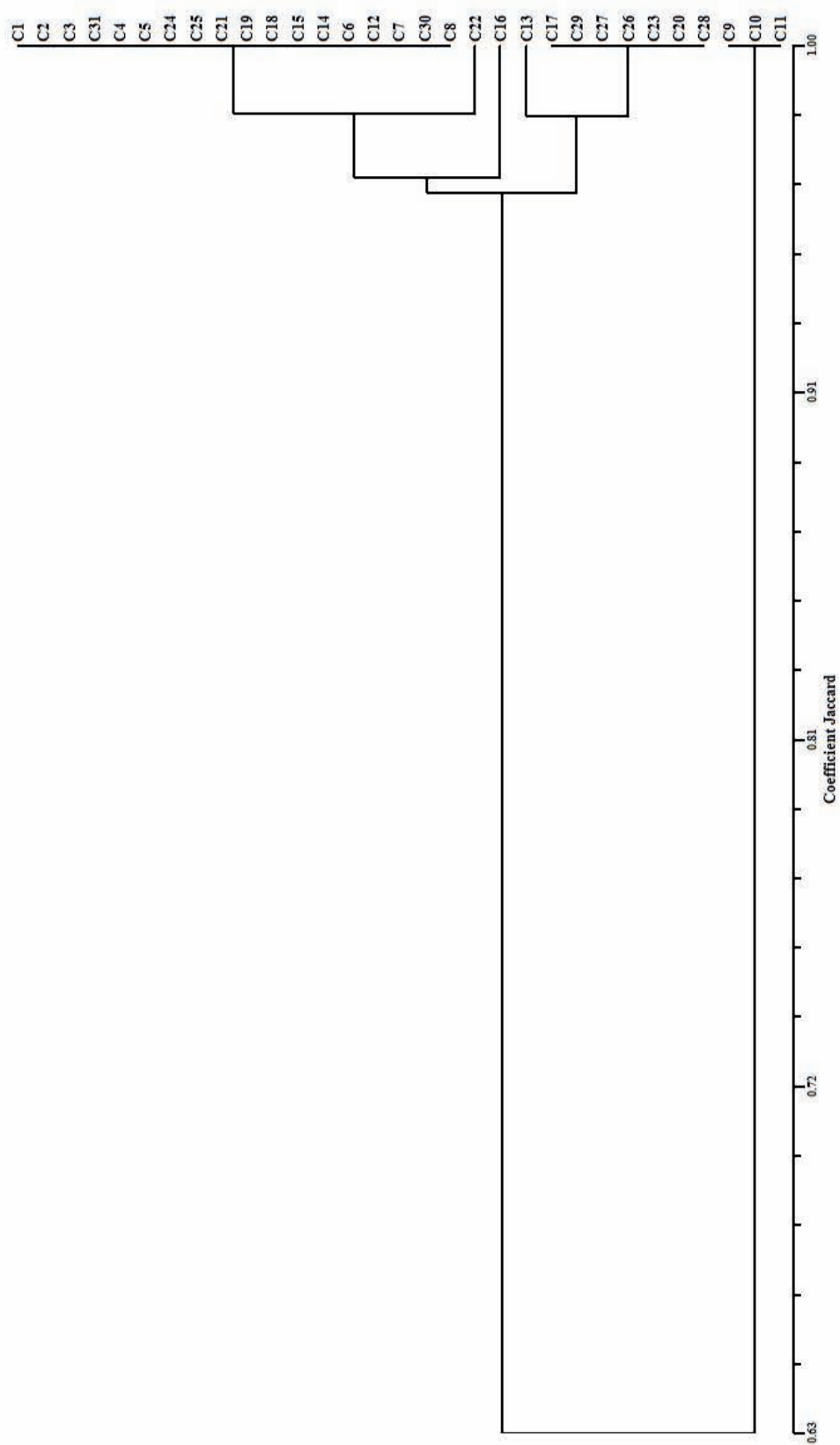
Όσον αφορά τους βιότυπους της Κορινθιακής Σταφίδας, οι βαθμοί γενετικής ομοιότητας κάθε δυνατού ζεύγους μεταξύ των 31 παραπάνω βιότυπων που μελετήθηκαν, με βάση τους συντελεστές Simple Matching, Jaccard, Dice δίνονται στους πίνακες 30, 31, 32 αντίστοιχα, ενώ τα παραγόμενα δενδρογράμματα φαίνονται στις εικόνες 36, 37, 38. Στις εικόνες 39 και 40 φαίνεται η Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 και 3 διαστάσεις αντίστοιχα, με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching.

Όσον αφορά τη μελέτη των βιότυπων των ποικιλιών Λιάτικο και Κορινθιακή Σταφίδα με βάση το συντελεστή Simple Matching, οι βαθμοί γενετικής ομοιότητας μεταξύ όλων των δυνατών ζευγών δίνονται στον πίνακα 33, το παραγόμενο διάγραμμα φαίνεται στην εικόνα 41, ενώ στις εικόνες 42 και 43 φαίνεται η Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 και 3 διαστάσεις αντίστοιχα.

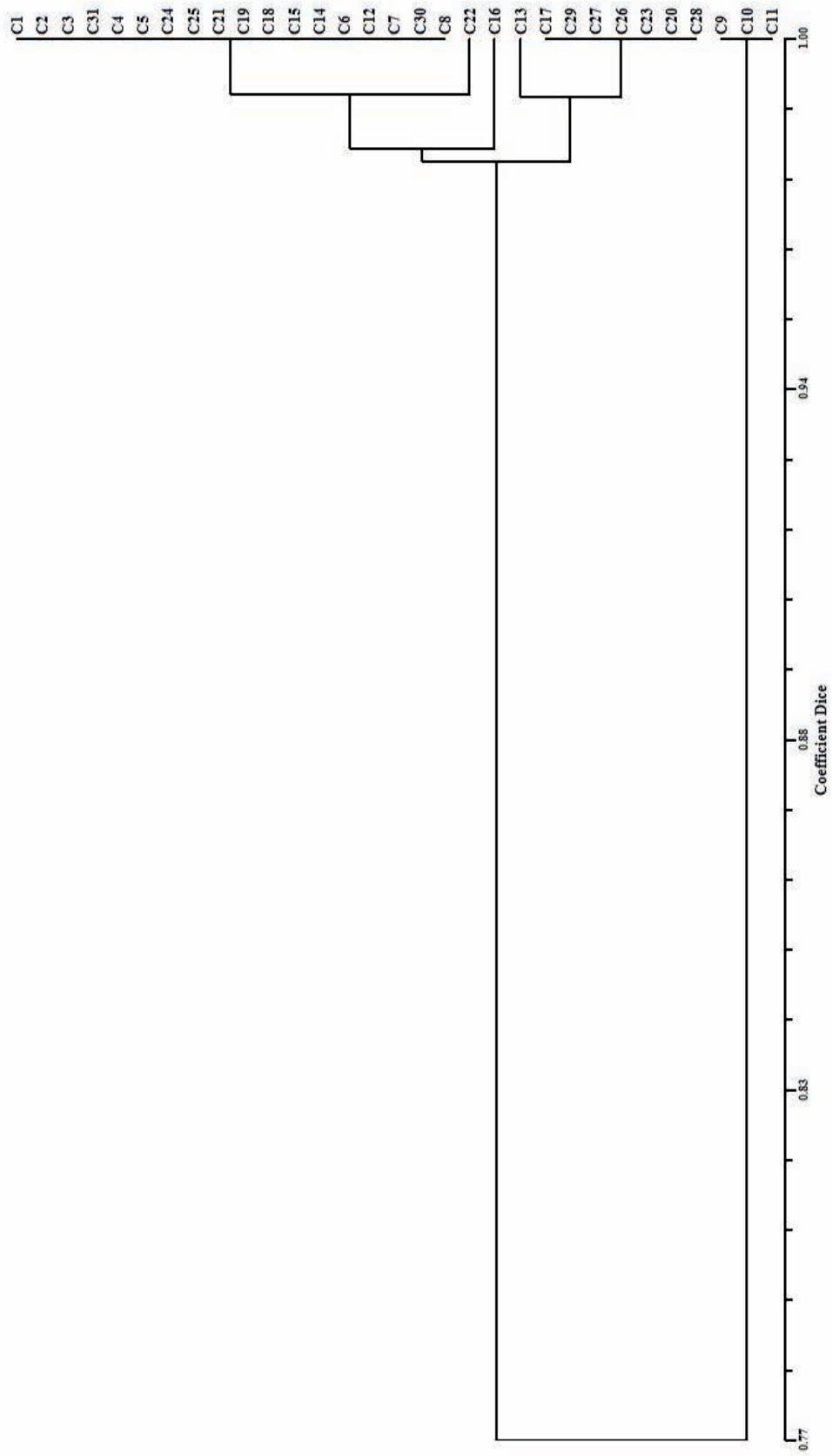
Εικ. 36. Δενδρόγραμμα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



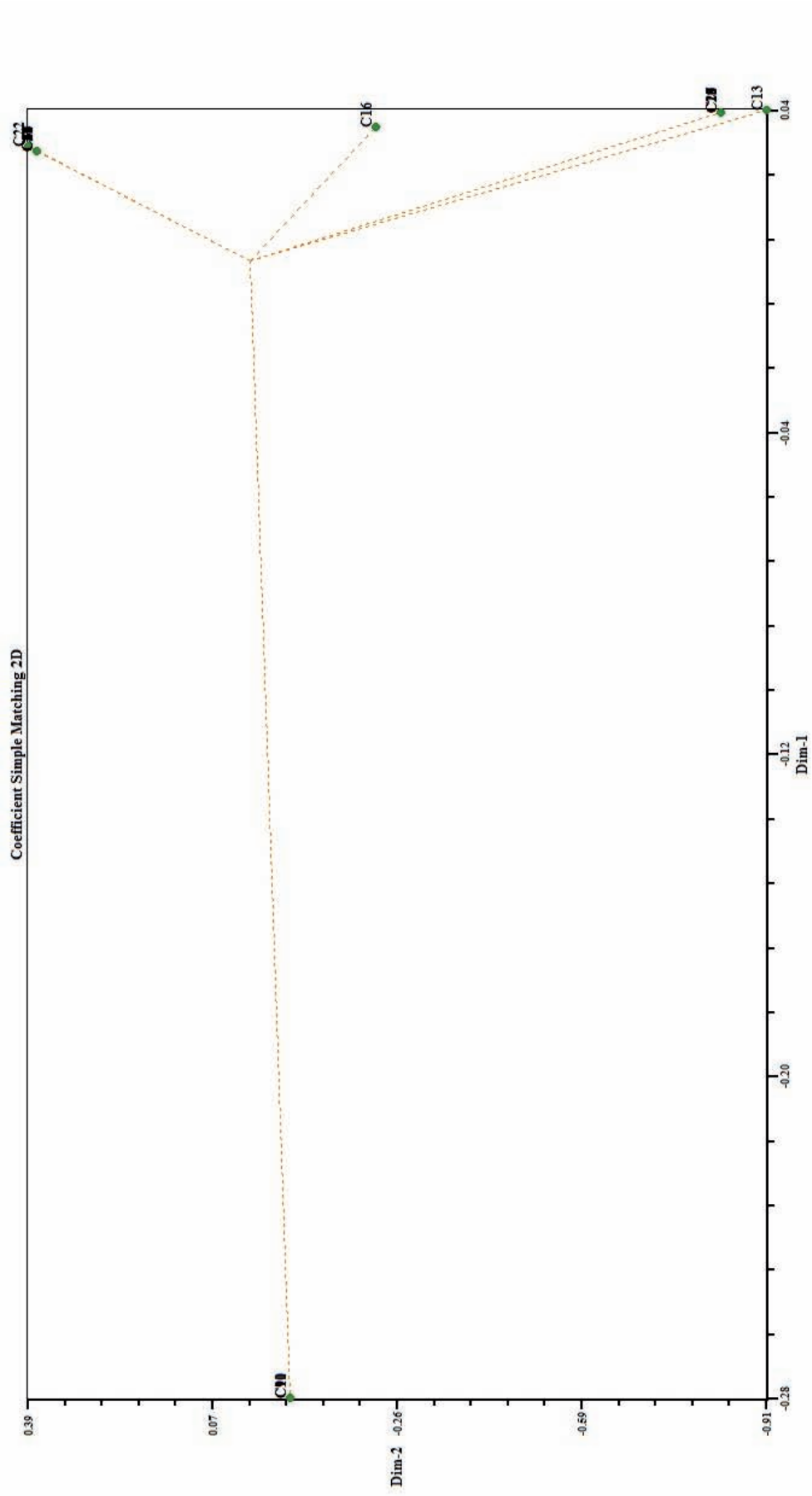
Εικ. 37. Δενδρόγραμμα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Jaccard (UPGMA).



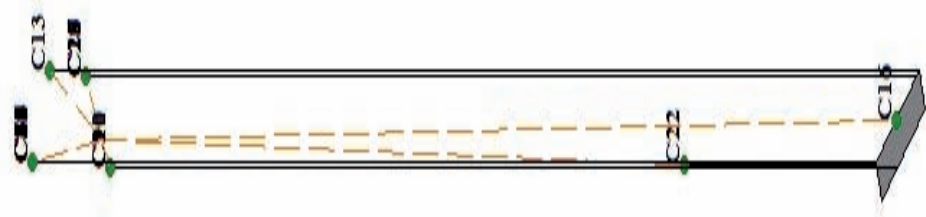
Εικ. 38. Δενδρόγραμμα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Dice (URPGMA).



Εικ. 39. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 διαστάσεις με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



Εικ. 40. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 3 διαστάσεις με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



Από τη μελέτη των παραπάνω δεδομένων (πίνακας 30, εικόνα 36) προκύπτει ότι: α) οι βιότυποι της Κορινθιακής λευκής παρουσιάζουν ταυτόσημα ηλεκτροφορήματα μεταξύ τους, αλλά διαφέρουν σημαντικά από όλους τους βιότυπους της Κορινθιακής Σταφίδας που μελετήθηκαν με το βαθμό γενετικής ομοιότητας να κυμαίνεται από $I = 0,606 - 0,636$ και κατά συνέπεια κατατάσσονται σε ξεχωριστό κλάδο του δενδρογράμματος, β) οι βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας παρουσίασαν υψηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας μεταξύ τους που κυμάνθηκε από $I = 0,955 - 1,000$. Συγκεκριμένα οι βιότυποι C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C12, C14, C15, C18, C19, C21, C24, C25, C30, C31, είχαν ταυτότητα μεταξύ τους και ομαδοποιήθηκαν στον ίδιο κλάδο του δενδρογράμματος, όπως και οι βιότυποι C17, C20, C23, C26, C27, C28, C29. Αντίθετα, μικρότερο σχετικά βαθμό γενετικής ομοιότητας παρουσίασαν οι βιότυποι C16, C13, C22, από τους οποίους οι δύο πρώτοι προέρχονται από τη Ζάκυνθο και ο τρίτος από την Κορινθία. Ενδεικτικά, ως προς την προέλευση οι βιότυποι της Αιγιάλειας, Πύργου και Κεφαλληνίας κατατάσσονται στον ίδιο κλάδο του δενδρογράμματος όπως επίσης και οι δύο βιότυποι της σχιστόφυλλης Κορινθιακής που καλλιεργούνται στην Ηλεία (Βροχίτσα). Διαφοροποιήσεις παρουσιάστηκαν μεταξύ των βιότυπων της Ζακύνθου (και στις δύο ομάδες, “ντόπιο” και “πρώιμο”), ενώ οι βιότυποι της σχιστόφυλλης και της “μεταλλαγμένης” με προέλευση την Αιγιάλεια παρουσίασαν ταυτότητα ηλεκτροφορητικών φαινοτύπων και τοποθετούνται στο ίδιο κλάδο του δενδρογράμματος. Ανάλογα αποτελέσματα έδωσε ερευνητική εργασία για τη διάκριση των συνωνύμων όπως αναφέρονται Black Currant και Manri Korinthiaki με την *Corinthe noir* σύμφωνα με τα οποία και τα τρία δείγματα παρουσίασαν ταυτότητα ηλεκτροφορημάτων για το σύνολο των 11 εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν (Ibáñez et al. 2000).

Η μέθοδος της τυχαίας ενίσχυσης του DNA με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (RAPD – PCR) χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση της γενετικής σχέσης των ποικιλιών Λιάτικο και Κορινθιακή Σταφίδα με τη μελέτη αριθμού βιοτύπων, όπως λεπτομερώς αναφέρθηκαν (πίνακας 9). Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν 6 εκκινητές με ικανοποιητικό βαθμό πολυμορφισμού (43 ηλεκτροφορητικές ζώνες) (πίνακας 29). Με βάση τα ενισχυμένα προϊόντα, προσδιορίστηκε ο βαθμός γενετικής ομοιότητας όλων των δυνατών ζευγών των βιότυπων των ποικιλιών που μελετήθηκαν (πίνακας 33). Στην εικόνα 41 παρουσιάζεται το δενδρόγραμμα που προέκυψε βάσει του βαθμού γενετικής ομοιότητας με το συντελεστή Simple Matching. Από τη συγκριτική μελέτη των δεδομένων αυτών προκύπτει ότι:

α) όλοι οι βιότυποι της ποικιλίας Λιάτικο έδειξαν εξαιρετικά υψηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας έως και ταυτότητα μεταξύ τους ($I = 0,977 - 1,000$), γεγονός που δείχνει ότι πρόκειται περί πολυκλωνικής ποικιλίας,

β) ανάλογο υψηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας ($I = 0,954 - 0,977$) παρουσίασαν οι βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας που μελετήθηκαν στην προκαταρκτική αυτή έρευνα, οι οποίοι μπορούν να θεωρηθούν ως ξεχωριστοί κλώνοι. Ενδιαφέρον

παρουσιάζει η διαπίστωση της απουσίας γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των δύο δειγμάτων (βιότυπων) που πάρθηκαν από το “μεταλλαγμένο” πρέμνο της Κορινθιακής Σταφίδας,

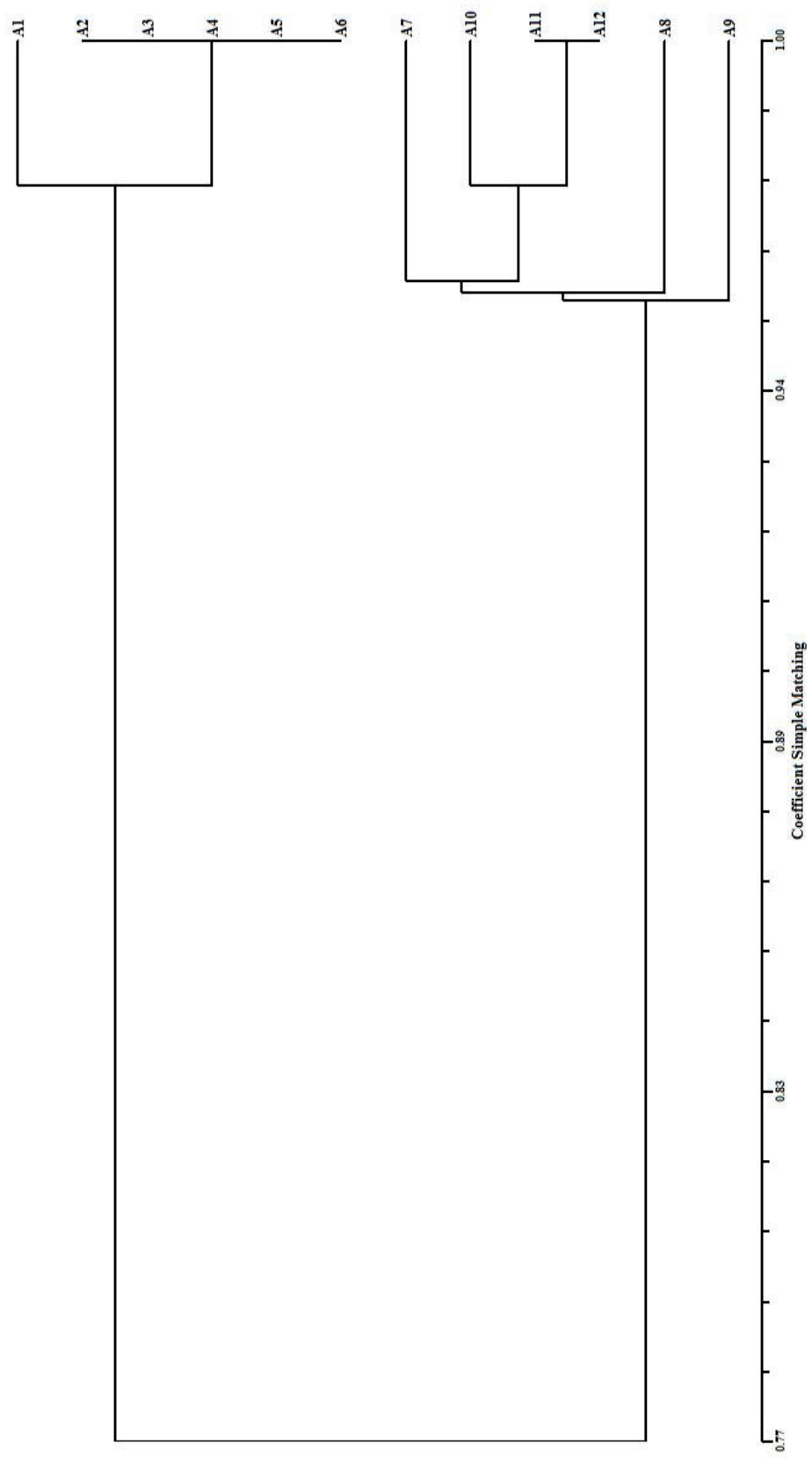
γ) αντίθετα, διαπιστώθηκε υψηλή απόσταση μεταξύ των βιότυπων της ποικιλίας Λιάτικο και εκείνων της ποικιλίας Κορινθιακή Σταφίδα ($I=0,774 - 0,791$). Ο χαμηλός αυτός βαθμός γενετικής ομοιότητας, που είναι λίγο μεγαλύτερος από το μέσο όρο ($I=0,700$) μεταξύ 50 ποικιλιών αμπέλου όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο RAPD – PCR (Μπινιάρη 2000), δείχνει ότι πρόκειται περί διαφορετικών ποικιλιών αμπέλου, και επομένως το Λιάτικο μάλλον δεν αποτελεί γονεϊκή ποικιλία από την οποία προέκυψε η Κορινθιακή Σταφίδα με τη συσσώρευση μεταλλάξεων,

δ) ο βιότυπος της ποικιλίας Λιάτικο με το όνομα Τσιμπίμπες, αν και κατατάσσεται στον ίδιο κλάδο του δενδρογράμματος, φαίνεται να διαφοροποιείται ελαφρά από τους υπόλοιπους βιότυπους του Λιάτικου, τουλάχιστον για τους εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν. Το σημαντικό, όμως, είναι ότι παρουσιάζει σχετικά χαμηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας με τον εγγίγαρτο βιότυπο της Κορινθιακής Σταφίδας ($I=0,814$). Τα παραπάνω αποτελέσματα δεν φαίνεται να επιβεβαιώνουν την υπόθεση ότι η ποικιλία Λιάτικο αποτελεί την αρχική (γονεϊκή) ποικιλία από την οποία προέκυψε η Κορινθιακή Σταφίδα μέσω βλαστητικών μεταλλάξεων ούτε και την άποψη ότι ενδιάμεσος μεταξύ των ποικιλιών αυτών είναι ο εγγίγαρτος βιότυπος Τσιμπίμπες, που διαφέρει γενετικά από τον εγγίγαρτο βιότυπο της Κορινθιακής Σταφίδας, τουλάχιστον για τα δείγματα που μελετήθηκαν. Όπως αναφέρθηκε, σε πρόσφατη ερευνητική εργασία με τη χρήση μοριακών μεθόδων (Myles et al. 2011), το Λιάτικο θεωρείται ως πιθανή γονεϊκή της Κορινθιακής Σταφίδας, αλλά δεν δίνονται πληροφορίες (προέλευση, αμπελογραφική περιγραφή, κ.ά.) για τα δείγματα που μελετήθηκαν ούτε ως προς το Λιάτικο ούτε, κυρίως, ως προς την Κορινθιακή Σταφίδα. Επιπρόσθετα, στην ίδια εργασία αναφέρεται η ποικιλία "Stafidampelo" (χωρίς περισσότερα στοιχεία) ως πιθανή γονεϊκή της Κορινθιακής Σταφίδας. Κατά τον Κριμπά (1943) το "σταφιδάμπελο" είναι μια εγγίγαρτη ποικιλία της οποίας η παρουσία εντοπιζόταν στη Δυτική Ελλάδα (Ζάκυνθο), διαφορετική από την Κορινθιακή Σταφίδα και δεν πρέπει να συγχέεται με το όνομα "Σταφιδάμπελος" που χρησιμοποιείται είτε ως επίσημη ονομασία είτε ως συνώνυμο της Κορινθιακής Σταφίδας (Κριμπάς 1943, Βλάχος 1986, κ.ά.). Έτσι, εξαιτίας της μη πλήρους γνώσης του πειραματικού υλικού που χρησιμοποιήθηκε στην παραπάνω έρευνα (Myles et al. 2011), δεν είναι ευχερής η σύγκριση των αποτελεσμάτων με εκείνα της προκαταρκτικής έρευνας που πραγματοποιήσαμε στο πλαίσιο της εργασίας αυτής.

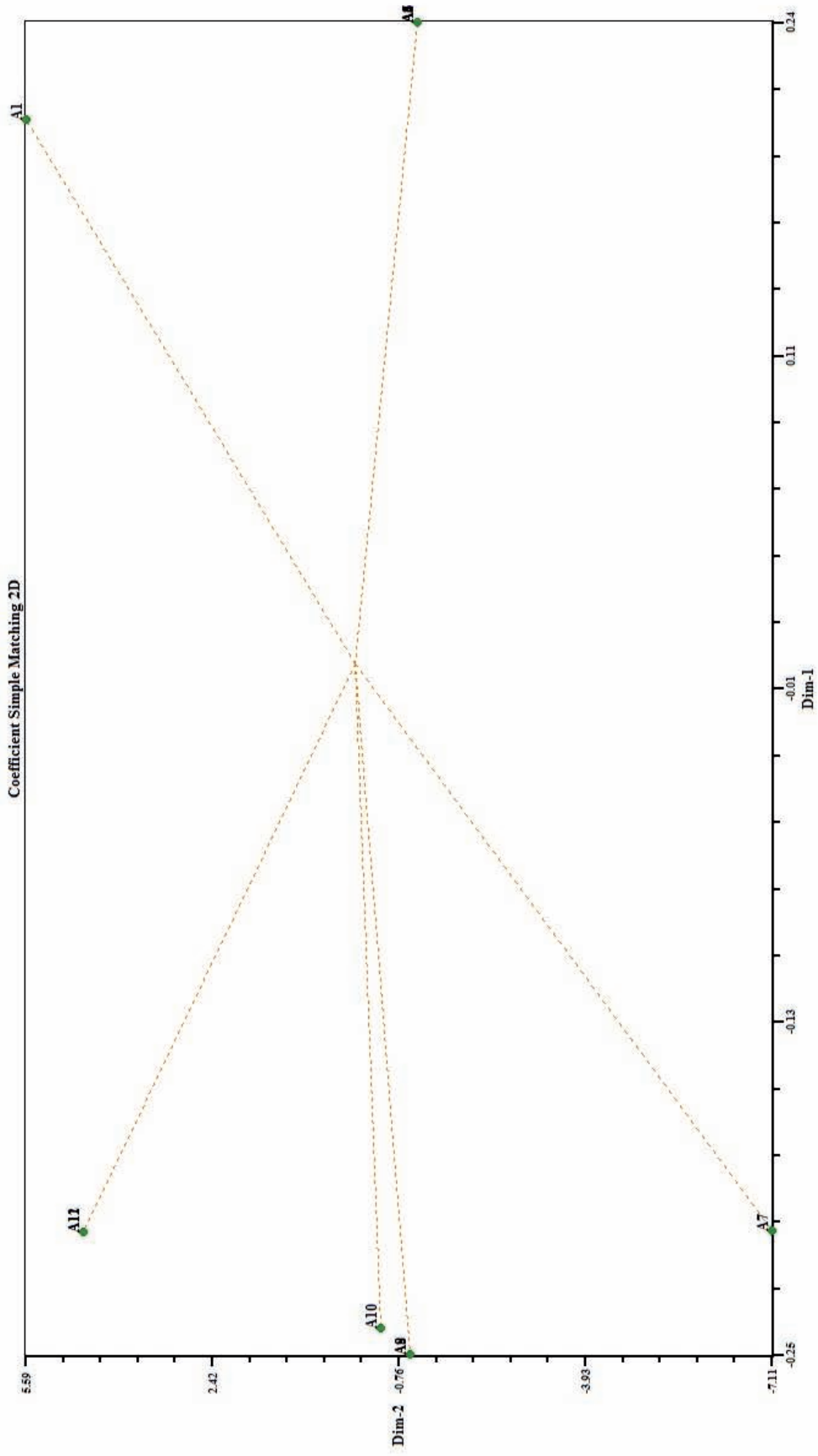
Πίν. 33. Βαθμός γενετικής ομοιότητας των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
A1	1,000											
A2	0,977	1,000										
A3	0,977	1,000	1,000									
A4	0,977	1,000	1,000	1,000								
A5	0,977	1,000	1,000	1,000	1,000							
A6	0,977	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000						
A7	0,767	0,791	0,791	0,791	0,791	0,791	1,000					
A8	0,767	0,744	0,744	0,744	0,744	0,744	0,954	1,000				
A9	0,767	0,744	0,744	0,744	0,744	0,744	0,954	0,954	1,000			
A10	0,791	0,767	0,767	0,767	0,767	0,767	0,977	0,977	0,977	1,000		
A11	0,814	0,791	0,791	0,791	0,791	0,791	0,954	0,954	0,954	0,977	1,000	
A12	0,814	0,791	0,791	0,791	0,791	0,791	0,954	0,954	0,954	0,977	1,000	1,000

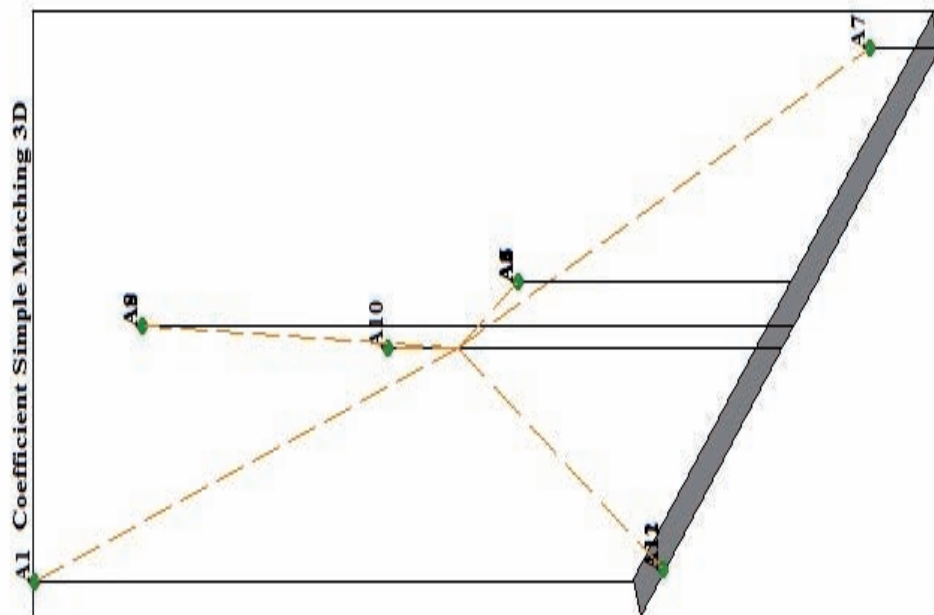
Εικ. 41. Δενδρόγραμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



Εικ. 42. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 διαστάσεις με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



Εικ. 43. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 3 διαστάσεις με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



AFLP

Όπως αναφέρθηκε, τα ενισχυμένα προϊόντα με τη μέθοδο AFLP βαθμολογήθηκαν με 0 (απουσία) και 1 (παρουσία) των ηλεκτροφορητικών ζωνών και τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα NTSys-pc. Ο βαθμός ποικιλομορφίας εκτιμήθηκε με βάση το ποσοστό των πολυμορφικών ζωνών σε σχέση με το συνολικό αριθμό των ζωνών που βαθμολογήθηκαν. Ακολούθως, προσδιορίστηκε ο βαθμός γενετικής ομοιότητας με τη χρήση των συντελεστών Simple Matching, Jaccard και Dice και τέλος κατασκευάστηκαν τα σχετικά δένδρογράμματα.

Για τη διάκριση των 31 βιοτύπων της Κορινθιακής Σταφίδας (συμπεριλαμβανομένων και των τριών της λευκής Κορινθιακής) χρησιμοποιήθηκαν 5 ζεύγη διαφορετικών εκκινητών που έδωσαν περισσότερα από 210 ενισχυμένα προϊόντα. Η διαδικασία επαναλήφθηκε δύο φορές κατά τις οποίες παρατηρήθηκε επαναληπτικότητα των ηλεκτροφορητικών ζωνών.

Στον πίνακα 34 παρουσιάζεται ο αριθμός των ενισχυμένων προϊόντων (ηλεκτροφορητικές ζώνες) για κάθε ένα από τα πέντε ζεύγη εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν για τους βιότυπους της Κορινθιακής Σταφίδας με τη μέθοδο AFLP. Οι συγκεκριμένοι συνδυασμοί αποδείχτηκαν εξαιρετικά πολυμορφικοί και αποτελεσματικοί, διαχωρίζοντας όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν.

Πίνακας 34. Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν και αριθμός των ενισχυμένων προϊόντων.

Εκκινητές	Αριθμός ενισχυμένων προϊόντων
EcoRI – ACT – MseI – Cxx	34
EcoRI – ACC – MseI – CAG	26
EcoRI – AAG – MseI – CAC	65
EcoRI – AGG – MseI – CAC	33
EcoRI – AGG – MseI – CAT	60

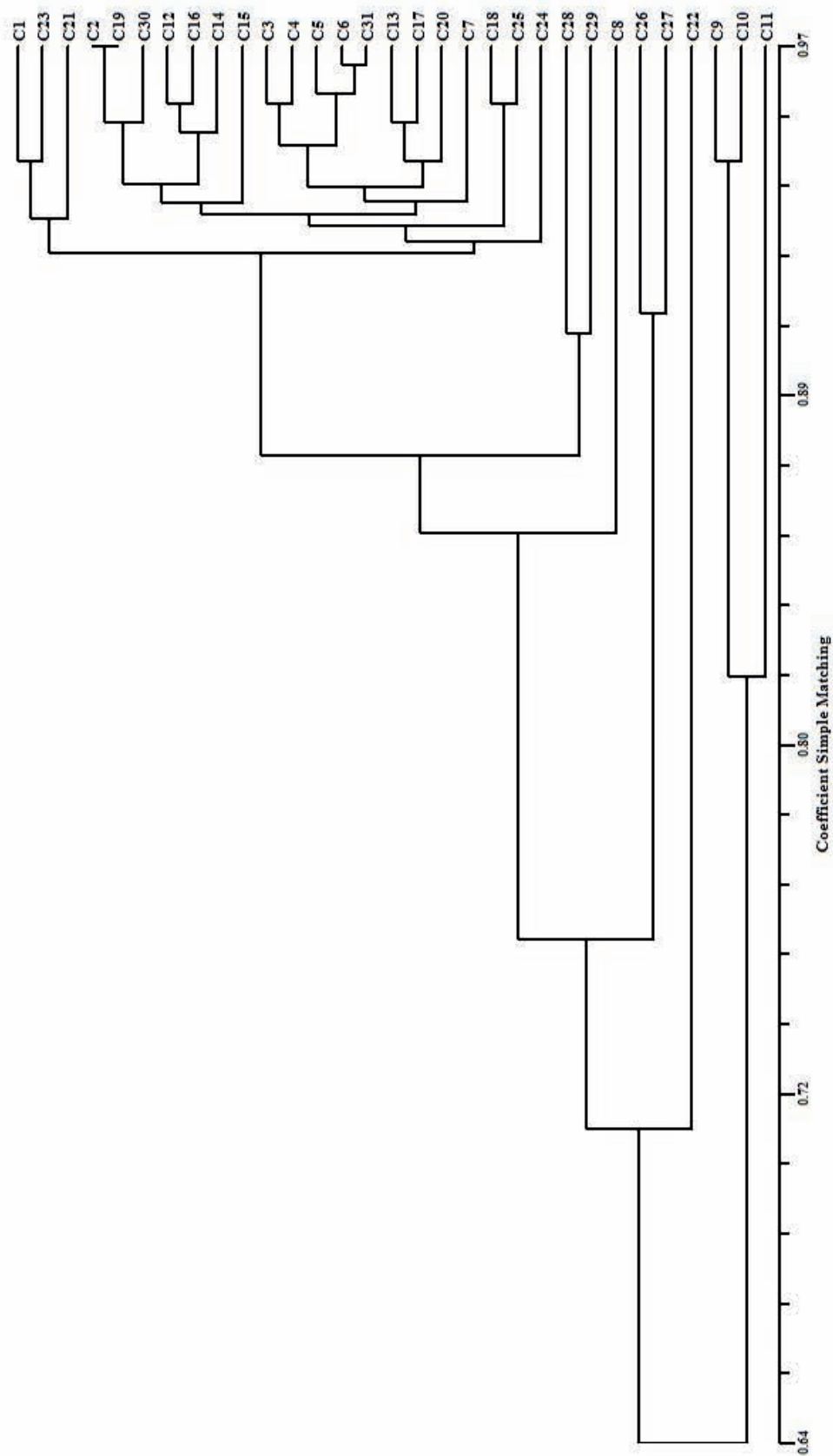
Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου AFLP

Τα ηλεκτροφορήματα των παραπάνω εκκινητών φαίνονται στο παράρτημα III. Για την επεξεργασία και ανάλυση των ηλεκτροφορημάτων και τον προσδιορισμό του βαθμού γενετικής ομοιότητας (I) μεταξύ όλων των δυνατών ζευγών των βιότυπων που μελετήθηκαν χρησιμοποιήθηκαν, όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι συντελεστές Simple Matching, Jaccard και Dice.

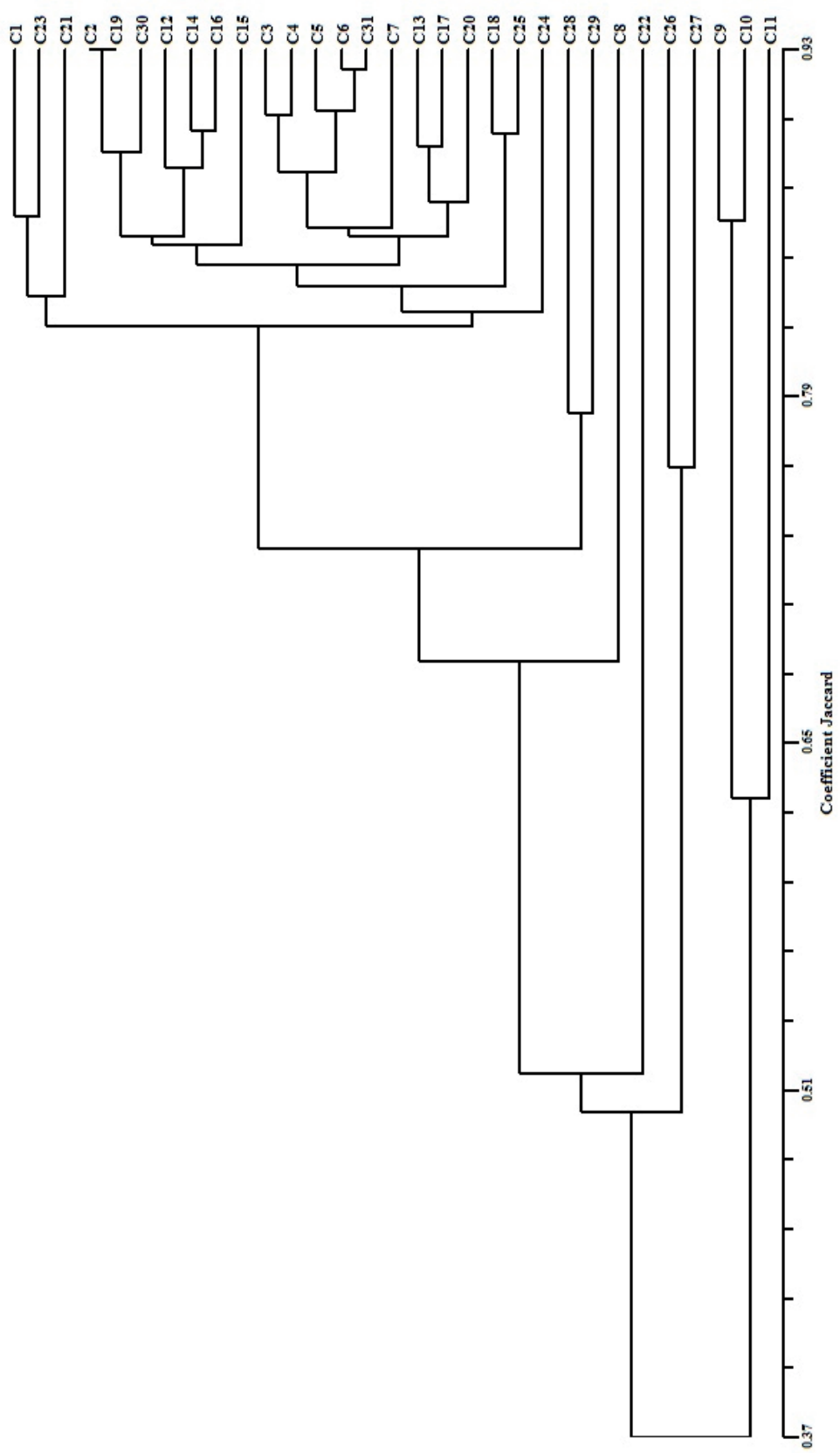
Ο βαθμοί γενετικής ομοιότητας κάθε δυνατού ζεύγους των βιότυπων που μελετήθηκαν, με βάση τους συντελεστές Simple Matching, Jaccard, Dice δίνονται στους πίνακες 35, 36, 37 αντίστοιχα, ενώ τα παραγόμενα δενδρογράμματα φαίνονται στις εικόνες 44, 45, 46.

Στις εικόνες 47 και 48 φαίνεται η Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 και 3 διαστάσεις αντίστοιχα, με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Simple Matching.

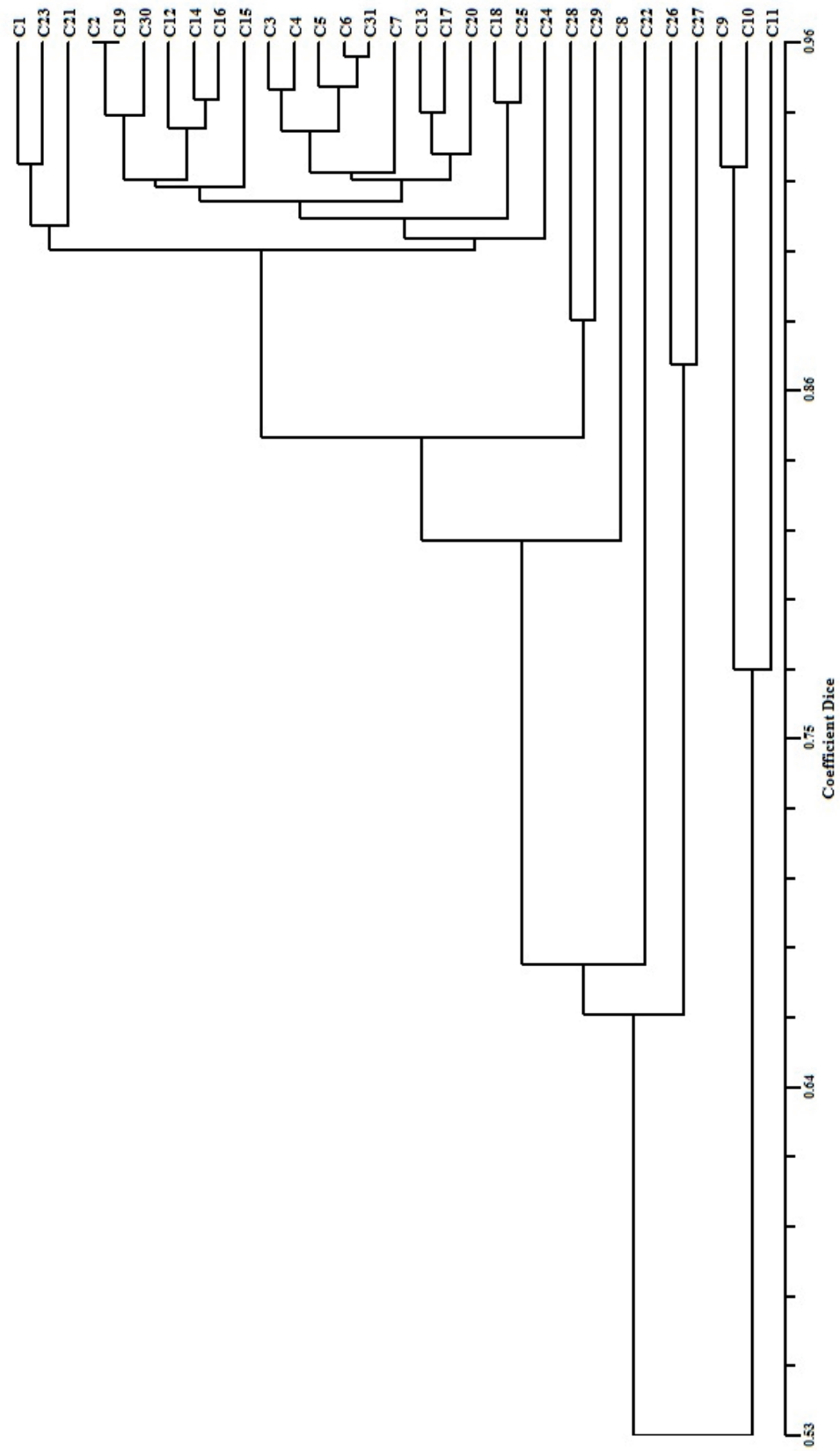
Εικ. 44. Δενδρόγραμμα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



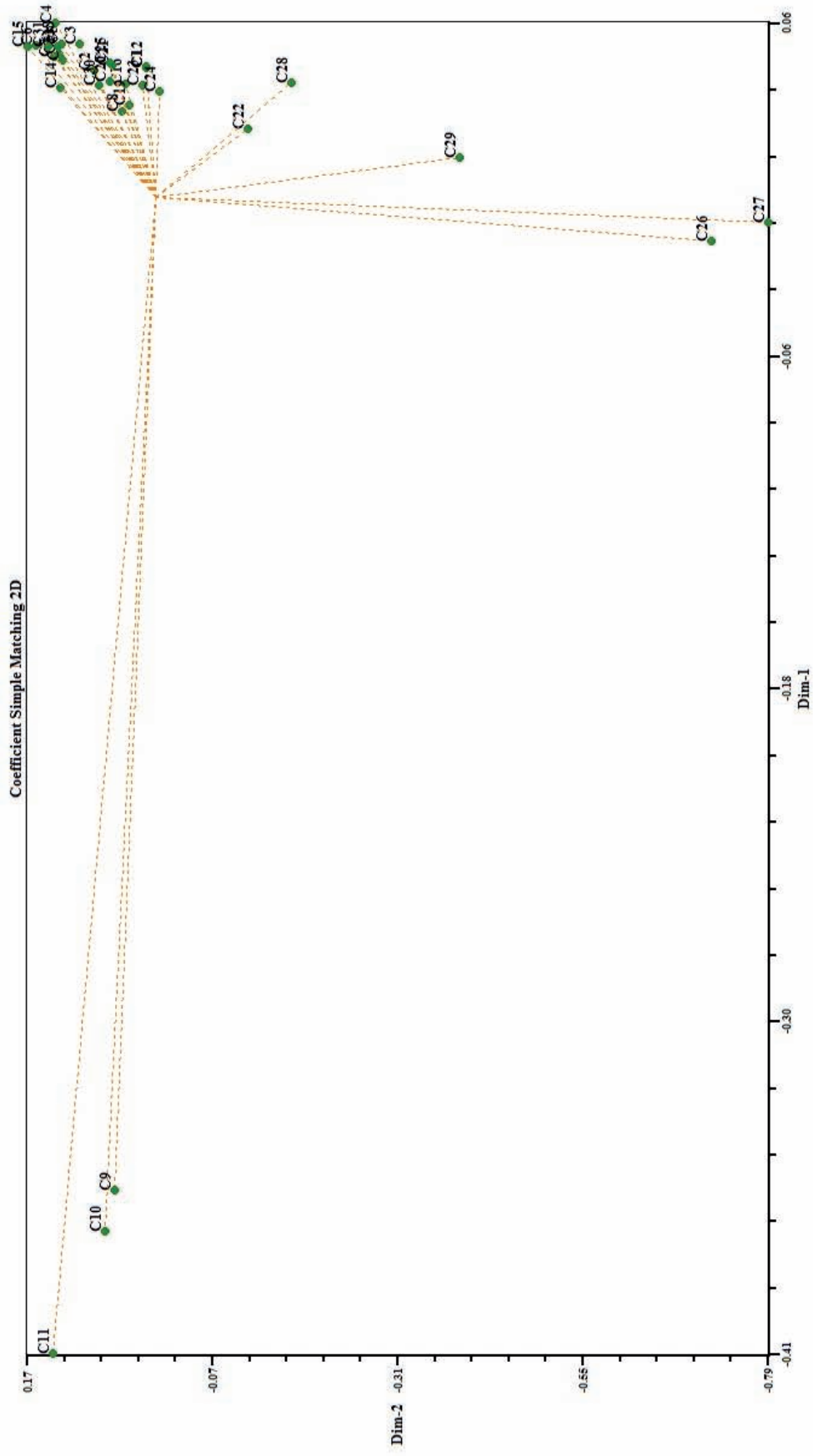
Εικ. 45. Δενδρόγραμμα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Jaccard (UPGMA).



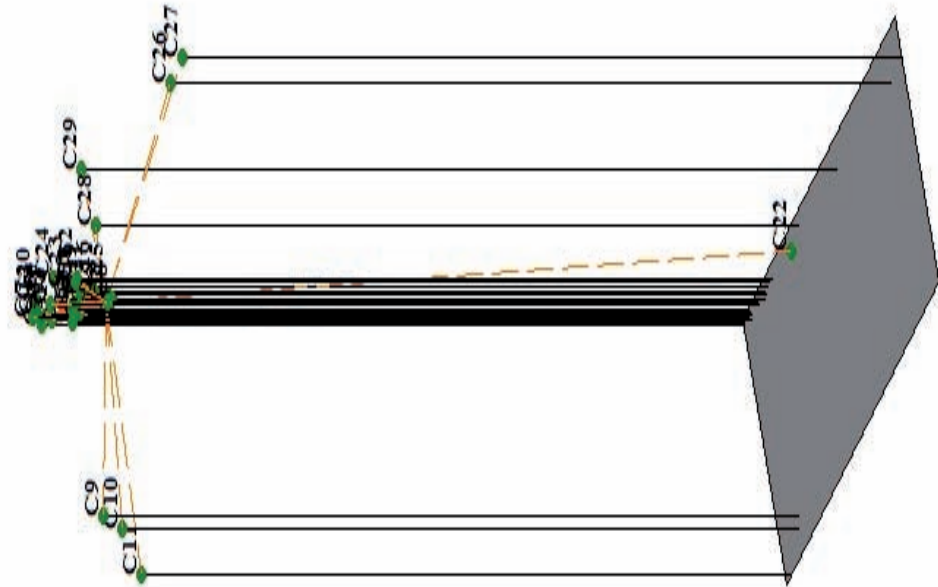
Εικ. 46. Δενδρόγραμμα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Dice (UPGMA).



Εικ. 47. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 διαστάσεις με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



Εικ. 48. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 3 διαστάσεις με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



Όπως φαίνεται (πίνακας 35, εικόνα 44) και οι 31 βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας που μελετήθηκαν έδειξαν διαφορετικούς ηλεκτροφορητικούς φαινότυπους με το βαθμό γενετικής ομοιότητας, όπως αυτός ανιχνεύεται ηλεκτροφορητικά, να κυμαίνεται από $I = 0,578 - 0,973$, με εξαίρεση το βιότυπο C22 του οποίου ο βαθμός γενετικής ομοιότητας κυμαίνεται για μεν τους λοιπούς βιότυπους της Κορινθιακής Σταφίδας από $I = 0,670 - 0,757$, για τους δε βιότυπους της Κορινθιακής λευκής από $I = 0,427 - 0,514$, και μάλλον πρόκειται περί διαφορετικής ποικιλίας, επομένως θα πρέπει να αποκλειστεί από προγράμματα κλωνικής επιλογής της Κορινθιακής Σταφίδας. Όπως δείχτηκε και από τα αποτελέσματα με τη μέθοδο RAPD, οι τρεις βιότυποι της Κορινθιακής λευκής διαφέρουν από τους υπόλοιπους βιότυπους της Κορινθιακής Σταφίδας και καταλαμβάνουν ξεχωριστό κλάδο στο δενδρόγραμμα.

Σε αντίθεση με τη μέθοδο RAPD, η μέθοδος AFLP είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική στη μελέτη της εντός της καλλιεργούμενης ποικιλίας γενετικής ποικιλομορφίας αφού τόσο οι 28 βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας όσο και οι 3 βιότυποι της Κορινθιακής λευκής παρουσίασαν διαφορετικούς ηλεκτροφορητικούς φαινότυπους.

Η διαπίστωση υψηλού βαθμού γενετικής ομοιότητας μεταξύ των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας ανεξάρτητα από τα κέντρα προέλευσης και καλλιέργειας επιβεβαιώνει τη συνεχή και για πολλούς αιώνες μεταφορά βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας από περιοχή σε περιοχή ή ακόμη την επιλογή επιθυμητών κατά περίπτωση αλλά μάλλον αποκλινόντων από την τυπική ποικιλία πρέμνων, με αποτέλεσμα βιότυποι με διαφορετικά κέντρα καλλιέργειας να καταλαμβάνουν κοντινή θέση στο δενδρόγραμμα με βιότυπους άλλων περιοχών ενώ, βιότυποι με ονόματα που υποδηλώνουν κοινό τόπο προέλευσης να παρουσιάζουν σχετικά χαμηλότερο βαθμό γενετικής ομοιότητας (για παράδειγμα οι βιότυποι από τη Ζάκυνθο). Είναι επίσης χαρακτηριστικό ότι οι βιότυποι με προέλευση την Αιγιάλεια (C3, C4, C5) παρουσιάζουν υψηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας μεταξύ τους αλλά και με βιότυπους από τις περιοχές της Ηλείας (C6, C7), της Κορινθίας (C21, C23), της Ζακύνθου (C12, C13, C14) και της Κεφαλληνίας (C19, C20, C24) που επιτρέπουν τη διατύπωση της υπόθεσης ότι ίσως είναι το αρχικό κέντρο καλλιέργειας της Κορινθιακής Σταφίδας.

Τα δεδομένα της AFLP ανάλυσης με τη διαπίστωση της γενετικής ετερογένειας εντός των ομάδων των βιότυπων ανεξάρτητα του κέντρου καλλιέργειας και δεδομένης της μικρής γεωγραφικής διασποράς της Κορινθιακής Σταφίδας, φαίνεται ότι ενισχύει την υπόθεση που διατυπώθηκε προηγουμένα, ότι δηλαδή η παρατηρούμενη γενετική ποικιλομορφία είναι αποτέλεσμα μαζικής επιλογής εξαιτίας της οποίας αυξήθηκε στο πέρασμα των χρόνων η γενετική ετερογένεια. Για παράδειγμα, ο βιότυπος “τσεκλένι” αποτελεί προϊόν μαζικής επιλογής με κύριο κριτήριο την παραγωγικότητα και το μέγεθος της σταφυλής.

Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της μεθόδου AFLP προσδιορίστηκε ο βαθμός γενετικής ομοιότητας μεταξύ των τριών βιότυπων της Κορινθιακής λευκής από όπου φαίνεται ότι οι βιότυποι C9, C10 είναι στενά συγγενείς ($I = 0,945$) και πιθανόν προέρχονται από την ίδια μητρική ποικιλία μέσω της συσσώρευσης μεταλλάξεων. Αντίθετα ο βιότυπος C11 (που προέρχεται από την Αιγιάλεια) διαφέρει σημαντικά με τους δύο προηγούμενους, επομένως πρόκειται περί διαφορετικής ποικιλίας. Όπως ήδη αναφέρθηκε, και οι τρεις βιότυποι της Κορινθιακής λευκής που μελετήθηκαν είναι αγίγαρτοι και όπως και η Κορινθιακή Σταφίδα χαρακτηρίζονται ως εξ ερεθισμού παρθενοκαρπικές ποικιλίες. Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητα των AFLP στη μελέτη της εντός της καλλιεργούμενης ποικιλίας γενετικής ποικιλομορφίας και τη διάκριση των πιθανών κλώνων. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά, οι βιότυποι C9, C10 (με βαθμό γενετικής ομοιότητας $I = 0,945$) αποτελούν κλώνους της ποικιλίας Κορινθιακή λευκή και εν δυνάμει πρόσφορο υλικό για την εφαρμογή προγράμματος κλωνικής επιλογής. Αντίθετα, ο χαμηλότερος βαθμός γενετικής ομοιότητας με το βιότυπο C11 ($I = 0,812$) δείχνει ότι πρόκειται περί διαφορετικών ποικιλιών. Σε ανάλογη ερευνητική εργασία αλλά με τη χρήση μικροδορυφόρων (SSR) επιχειρήθηκε η διερεύνηση της γενετικής σχέσης μεταξύ των ποικιλιών Κορινθιακή Σταφίδα (Black Corinth), Κορινθιακή λευκή (Corinthe blanc) και Corinto bianco (Vargas et al. 2007). Όπως αναφέρεται στην εργασία αυτή, τα δείγματα των δύο πρώτων ποικιλιών προέρχονται από την Ελλάδα (χωρίς περισσότερες πληροφορίες) και της τρίτης από την Ιταλία (χωρίς επίσης περισσότερες πληροφορίες). Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι οι τρεις ποικιλίες είναι διαφορετικές μεταξύ τους με την επισήμανση ότι η ποικιλία Corinto bianco προέρχεται από μία άλλη ποικιλία, την Pedro Ximenes, μέσω του φαινομένου της μετάλλαξης (Vargas et al. 2007).

Εκκινητές και ποσοτικός προσδιορισμός των ενισχυμένων προϊόντων

Όπως αναφέρθηκε, DNA από τους 31 βιότυπους της Κορινθιακής Σταφίδας αναλύθηκε σε πέντε μικροδορυφορικούς τόπους: VVS4 (Thomas et al. 1993), VVMD5 (Bowers et al. 1996), VVMD25, VVMD27, VVMD32 (Bowers et al. 1999).

Τα ηλεκτροφορήματα των εκκινητών από την ηλεκτροφόρηση τόσο σε πηκτή πολυακρυλαμίδης όσο στον αυτόματο αναλυτή γονιδιώματος φαίνονται στο παράρτημα III. Από την επεξεργασία και ανάλυση των ηλεκτροφορημάτων με το λογισμικό GeneMapper v4.0 προσδιορίστηκε ο ποσοτικός προσδιορισμός των ενισχυμένων προϊόντων, δηλαδή το μέγεθος των αλληλομόρφων (μήκος) που σχημάτισε ο κάθε εκκινητής (πίνακας 38).

Πίνακας 38. Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν και μέγεθος (μήκος) αλληλομόρφων (bp).

	VVS4	VVMD5	VVMD25	VVMD27	VVMD32
C1	173:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C2	173:173	235:235	248:248	176:182	269:269
C3	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C4	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C5	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C6	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C7	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C8	167:173	231:235	248:248	176:182	267:269
C9	167:173	231:235	255:255	173:176	247:261
C10	173:173	231:235	255:255	173:176	247:261
C11	173:173	231:235	255:255	173:176	247:261

	VVS4	VVMD5	VVMD25	VVMD27	VVMD32
C12	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C13	167:173	231:235	248:248	176:182	267:269
C14	167:173	231:235	248:248	176:182	267:269
C15	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C16	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C17	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C18	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C19	167:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C20	167:173	231:235	248:248	176:182	267:269
C21	173:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C22	167:173	231:235	248:248	176:182	267:269
C23	173:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C24	173:173	231:235	248:248	176:182	267:269
C25	173:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C26	173:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C27	173:173	231:235	248:248	176:176	269:269
C28	173:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C29	173:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C30	173:173	231:235	248:248	176:182	269:269
C31	173:173	231:235	248:248	176:182	269:269

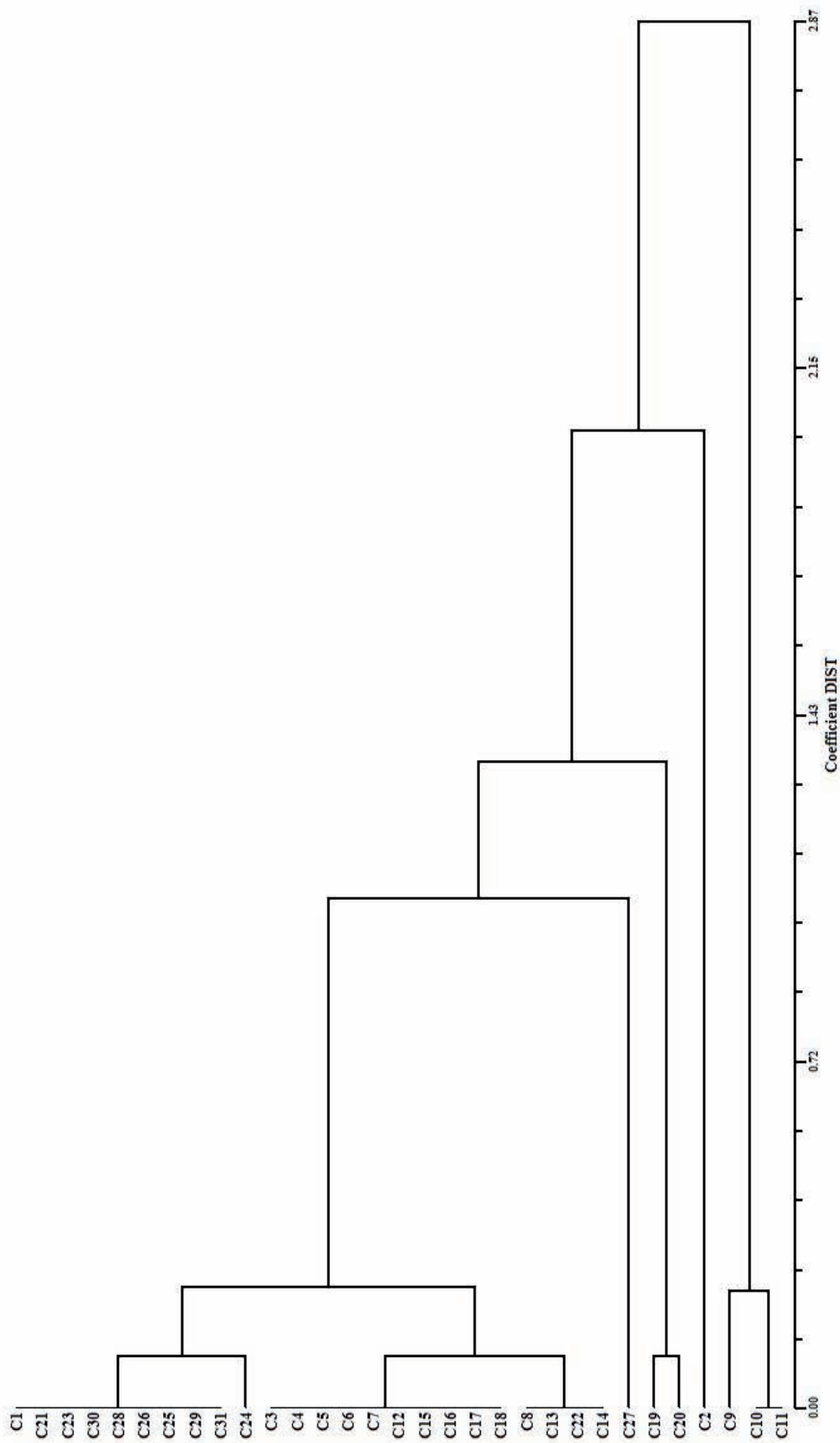
Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου SSR

Για την επεξεργασία και ανάλυση των ηλεκτροφορημάτων και τον προσδιορισμό του βαθμού γενετικής ανομοιότητας (απόστασης) (I) των βιότυπων που μελετήθηκαν χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής Dist.

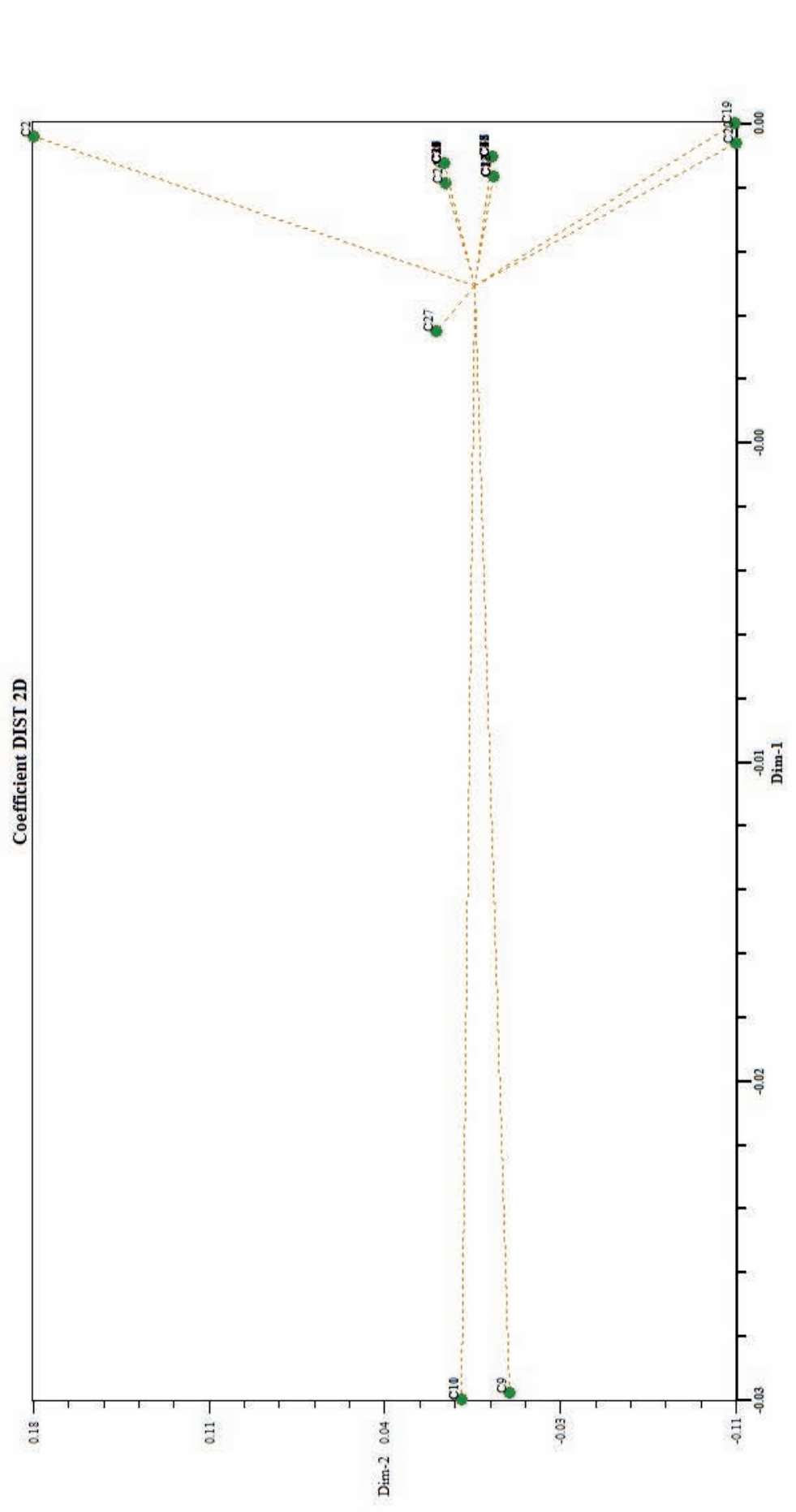
Ο βαθμός γενετικής ανομοιότητας (απόστασης) κάθε δυνατού ζεύγους των βιότυπων που μελετήθηκαν, με βάση το συντελεστή Dist δίνεται στον πίνακα 39, ενώ το παραγόμενο δενδρόγραμμα φαίνεται στην εικόνα 49.

Στις εικόνες 50 και 51 φαίνεται η Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 και 3 διαστάσεις αντίστοιχα, με τη μέθοδο SSR με βάση το συντελεστή Dist.

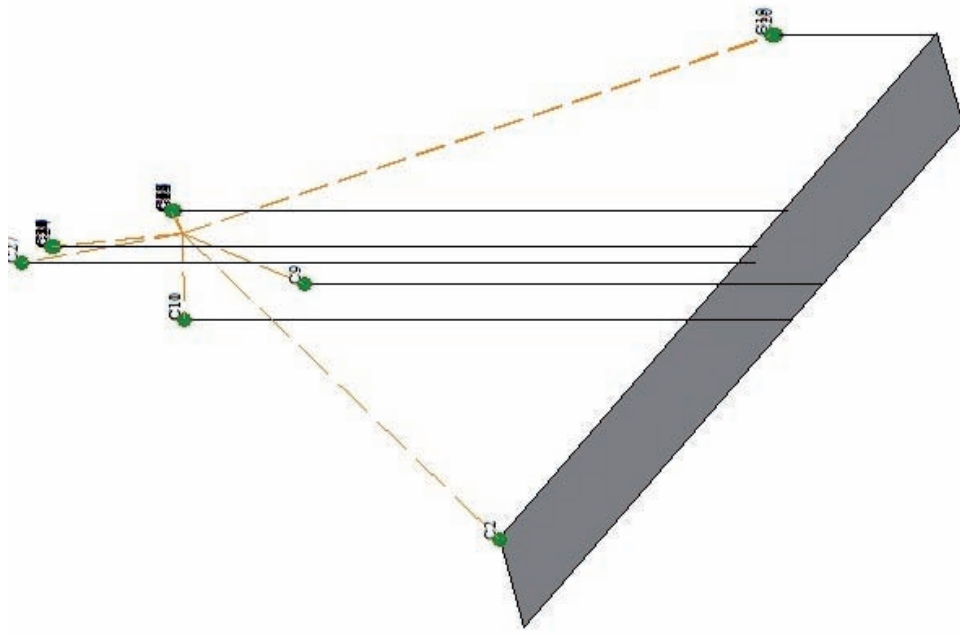
Εικ. 49. Δενδρόγραμμα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας με τη μέθοδο SSR με βάση το συντελεστή Dist (UPGMA).



Εικ. 50. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 διαστάσεις με τη μέθοδο SSR με βάση το συντελεστή Dist (UPGMA).



Εικ. 51. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 3 διαστάσεις με τη μέθοδο SSR με βάση το συντελεστή Dist (UPGMA).



Όπως φαίνεται στην εικόνα 49, οι 28 βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας τοποθετούνται σε ένα κλάδο του δενδρογράμματος (με επί μέρους κλάδους), ενώ οι 3 βιότυποι της Κορινθιακής λευκής σε ένα εντελώς ξεχωριστό κλάδο επιβεβαιώνοντας με τον τρόπο αυτό αφενός την αποτελεσματικότητα της SSR ανάλυσης στη διάκριση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου και αφετέρου, ότι οι δύο ποικιλίες είναι διαφορετικές και η Κορινθιακή λευκή δεν αποτελεί χρωματική παραλλαγή της Κορινθιακής Σταφίδας. Αντίθετα, στην πλειονότητα των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας η μοριακή αυτή μέθοδος (SSR) δεν φαίνεται να είναι αποτελεσματική αφού είτε δίνει ταυτότητα είτε πολύ χαμηλό βαθμό γενετικής ανομοιότητας. Η μικρή αυτή γενετική διαφοροποίηση που προκύπτει από τη χρήση των SSR, σε σχέση με τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την AFLP ανάλυση, δεν μπορεί να εκφράσει τις μορφολογικές διαφορές που παρατηρούνται στους βιότυπους της Κορινθιακής Σταφίδας που μελετήθηκαν. Πιθανολογείται ότι η φαινοτυπική αυτή διακύμανση θα μπορούσε να ερμηνευτεί από τη διαφορετική έκφραση ορισμένων γονιδίων που ρυθμίζονται από επιγενετικές αλλαγές.

Από τα αποτελέσματα αυτά, φαίνεται ότι η SSR ανάλυση, η οποία έχει αποδειχθεί ως μία από τις πλέον αποτελεσματικές μοριακές μεθόδους στη διάκριση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου (Bowers et al. 1999, Sefc et al. 2000, κ.ά.), δεν είναι σε θέση, τουλάχιστον στις περισσότερες των περιπτώσεων, στην αποκάλυψη της γενετικής ετερογένειας μεταξύ κλώνων μιας πολυκλωνικής ποικιλίας. Τα αποτελέσματα αυτά για τους βιότυπους της ποικιλίας Κορινθιακή Σταφίδα βρίσκονται σε συμφωνία με ανάλογες ερευνητικές εργασίες που αφορούσαν τη γενετική μελέτη της πολυκλωνικότητας ξένων ποικιλιών αμπέλου (Silvestroni et al. 1997, Regner et al. 2000, Imazio et al. 2002).

2. Λοιπές ποικιλίες

RAPD

Για τη γενετική μελέτη των λοιπών ποικιλιών με τη μέθοδο RAPD χρησιμοποιήθηκαν 5 εκκινητές που παρουσίασαν περισσότερες από 60 ηλεκτροφορητικές ζώνες. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων, προσδιορίστηκαν οι βαθμοί γενετικής ομοιότητας όπως ανιχνεύονται ηλεκτροφορητικά και κατασκευάστηκαν τα αντίστοιχα δενδρογράμματα.

Στον πίνακα 40 παρουσιάζεται ο αριθμός των ενισχυμένων προϊόντων (ηλεκτροφορητικές ζώνες) για κάθε ένα από τους εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για τις λοιπές ποικιλίες με τη μέθοδο RAPD. Οι εκκινητές, ανάλογα με τον πολυμορφισμό που εμφάνισαν, μπορούν να διακριθούν σε εκκινητές με υψηλό (πάνω από 15 ηλεκτροφορητικές ζώνες), μέτριο (από 10 έως 15 ηλεκτροφορητικές ζώνες) και χαμηλό πολυμορφισμό (έως 10 ηλεκτροφορητικές ζώνες).

Πίνακας 40. Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν και αριθμός των ενισχυμένων προϊόντων.

Εκκινητές	Αριθμός ενισχυμένων προϊόντων
1224	11
1226	16
1227	14
OPF-02	12
OPM-04	13

Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου RAPD

Τα ηλεκτροφορήματα των παραπάνω εκκινητών φαίνονται στο παράρτημα ΙΙΙ. Για την επεξεργασία και ανάλυση των ηλεκτροφορημάτων και τον προσδιορισμό του βαθμού γενετικής ομοιότητας (I) των ποικιλιών που μελετήθηκαν χρησιμοποιήθηκαν, όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι συντελεστές Simple Matching, Jaccard και Dice.

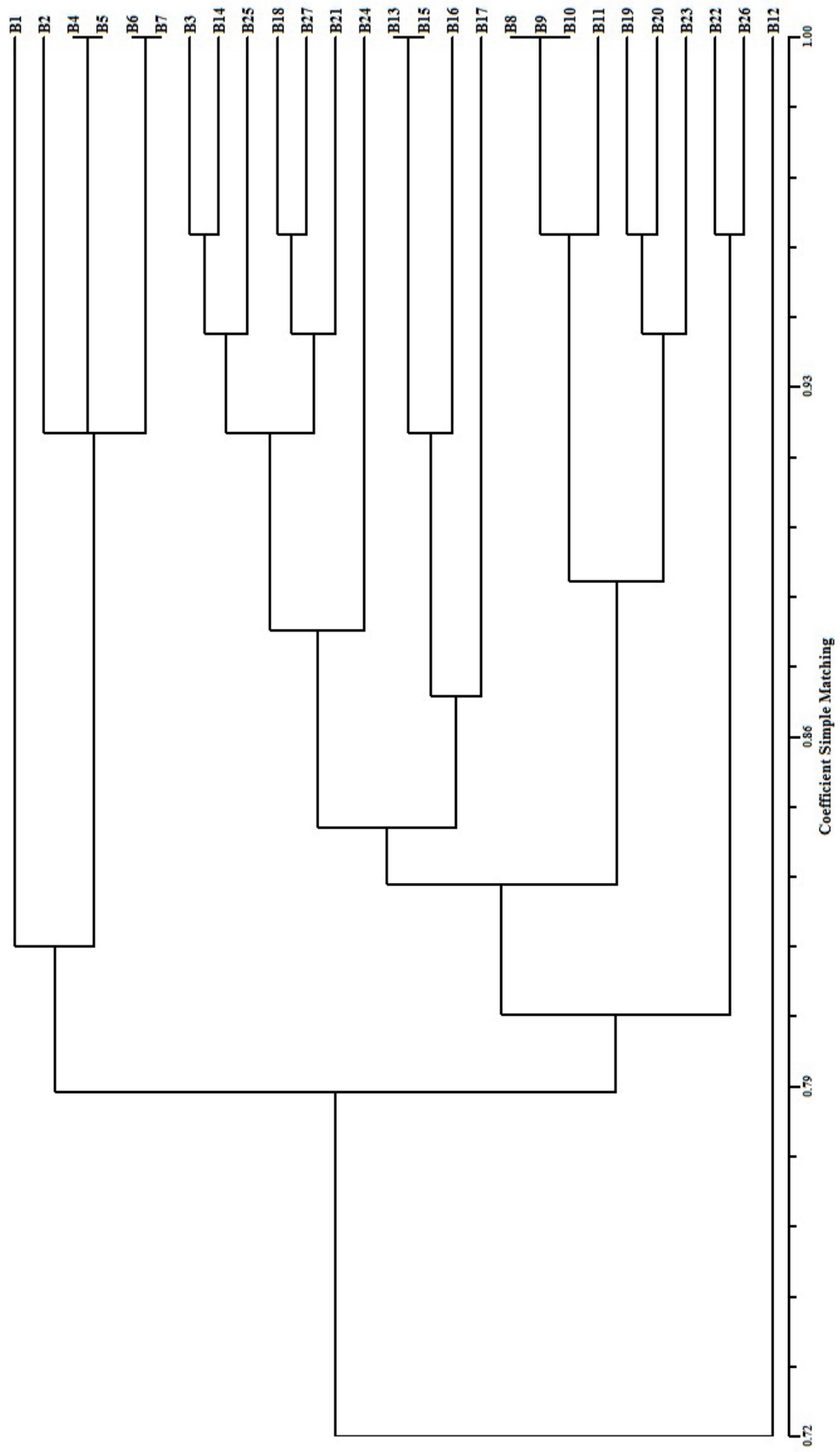
Ο βαθμοί γενετικής ομοιότητας κάθε δυνατού ζεύγους των ποικιλιών που μελετήθηκαν, με βάση τους συντελεστές Simple Matching, Jaccard, Dice δίνονται στους πίνακες 41, 42, 43 αντίστοιχα, ενώ τα παραγόμενα δενδρογράμματα φαίνονται στις εικόνες 52, 53, 54.

Στις εικόνες 55 και 56 φαίνεται η Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 και 3 διαστάσεις αντίστοιχα, με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching.

Πίν. 41. Βαθμός γενετικής ομοιότητας των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B24	B25	B26	B27	
B1	1,000																											
B2	0,880	1,000																										
B3	0,840	0,880	1,000																									
B4	0,800	0,920	0,800	1,000																								
B5	0,800	0,920	0,800	1,000	1,000																							
B6	0,800	0,920	0,800	0,920	1,000	1,000																						
B7	0,800	0,920	0,800	0,920	1,000	1,000	1,000																					
B8	0,760	0,800	0,840	0,720	0,720	0,800	0,800	1,000																				
B9	0,760	0,800	0,840	0,720	0,720	0,800	0,800	1,000	1,000																			
B10	0,760	0,800	0,840	0,720	0,720	0,800	0,800	1,000	1,000	1,000																		
B11	0,720	0,760	0,800	0,680	0,680	0,760	0,760	0,960	0,960	1,000	1,000																	
B12	0,720	0,680	0,800	0,680	0,680	0,680	0,680	0,640	0,640	0,640	0,600	1,000																
B13	0,840	0,880	0,920	0,800	0,800	0,880	0,880	0,840	0,840	0,840	0,800	0,720	1,000															
B14	0,800	0,840	0,960	0,760	0,760	0,840	0,840	0,880	0,880	0,880	0,840	0,760	0,960	1,000														
B15	0,840	0,880	0,920	0,800	0,800	0,880	0,880	0,840	0,840	0,840	0,800	0,720	1,000	0,960	1,000													
B16	0,760	0,880	0,840	0,800	0,800	0,880	0,880	0,840	0,840	0,840	0,800	0,720	0,920	0,880	0,920	1,000												
B17	0,760	0,800	0,760	0,720	0,720	0,800	0,800	0,760	0,760	0,760	0,720	0,720	0,840	0,800	0,840	0,920	1,000											
B18	0,800	0,920	0,960	0,840	0,840	0,840	0,840	0,880	0,880	0,880	0,840	0,760	0,880	0,920	0,880	0,880	0,800	1,000										
B19	0,720	0,760	0,800	0,680	0,680	0,760	0,760	0,880	0,880	0,880	0,920	0,680	0,800	0,840	0,800	0,800	0,840	1,000										
B20	0,760	0,800	0,840	0,720	0,720	0,800	0,800	0,920	0,920	0,880	0,720	0,840	0,880	0,840	0,840	0,880	0,960	1,000										
B21	0,880	0,840	0,960	0,760	0,760	0,760	0,760	0,880	0,880	0,880	0,840	0,760	0,880	0,920	0,880	0,800	0,720	0,920	0,760	0,800	1,000							
B22	0,800	0,760	0,880	0,680	0,680	0,680	0,800	0,800	0,800	0,760	0,760	0,760	0,800	0,840	0,800	0,720	0,800	0,840	0,840	0,880	0,840	1,000						
B23	0,720	0,760	0,800	0,760	0,760	0,840	0,840	0,880	0,880	0,880	0,840	0,760	0,800	0,840	0,800	0,800	0,840	0,920	0,960	0,760	0,840	1,000						
B24	0,800	0,840	0,880	0,840	0,840	0,840	0,840	0,800	0,800	0,800	0,760	0,840	0,800	0,840	0,800	0,800	0,840	0,880	0,840	0,880	0,840	0,920	1,000					
B25	0,800	0,840	0,960	0,840	0,840	0,840	0,840	0,800	0,800	0,800	0,760	0,840	0,880	0,920	0,880	0,800	0,720	0,920	0,760	0,800	0,920	0,840	0,840	0,920	1,000			
B26	0,760	0,720	0,840	0,640	0,640	0,640	0,760	0,760	0,760	0,760	0,800	0,720	0,760	0,800	0,760	0,680	0,760	0,800	0,880	0,840	0,800	0,960	0,800	0,800	0,800	1,000		
B27	0,840	0,880	0,920	0,800	0,800	0,800	0,800	0,920	0,920	0,880	0,720	0,840	0,880	0,720	0,840	0,880	0,760	0,960	0,800	0,840	0,960	0,800	0,880	0,880	0,880	0,760	1,000	

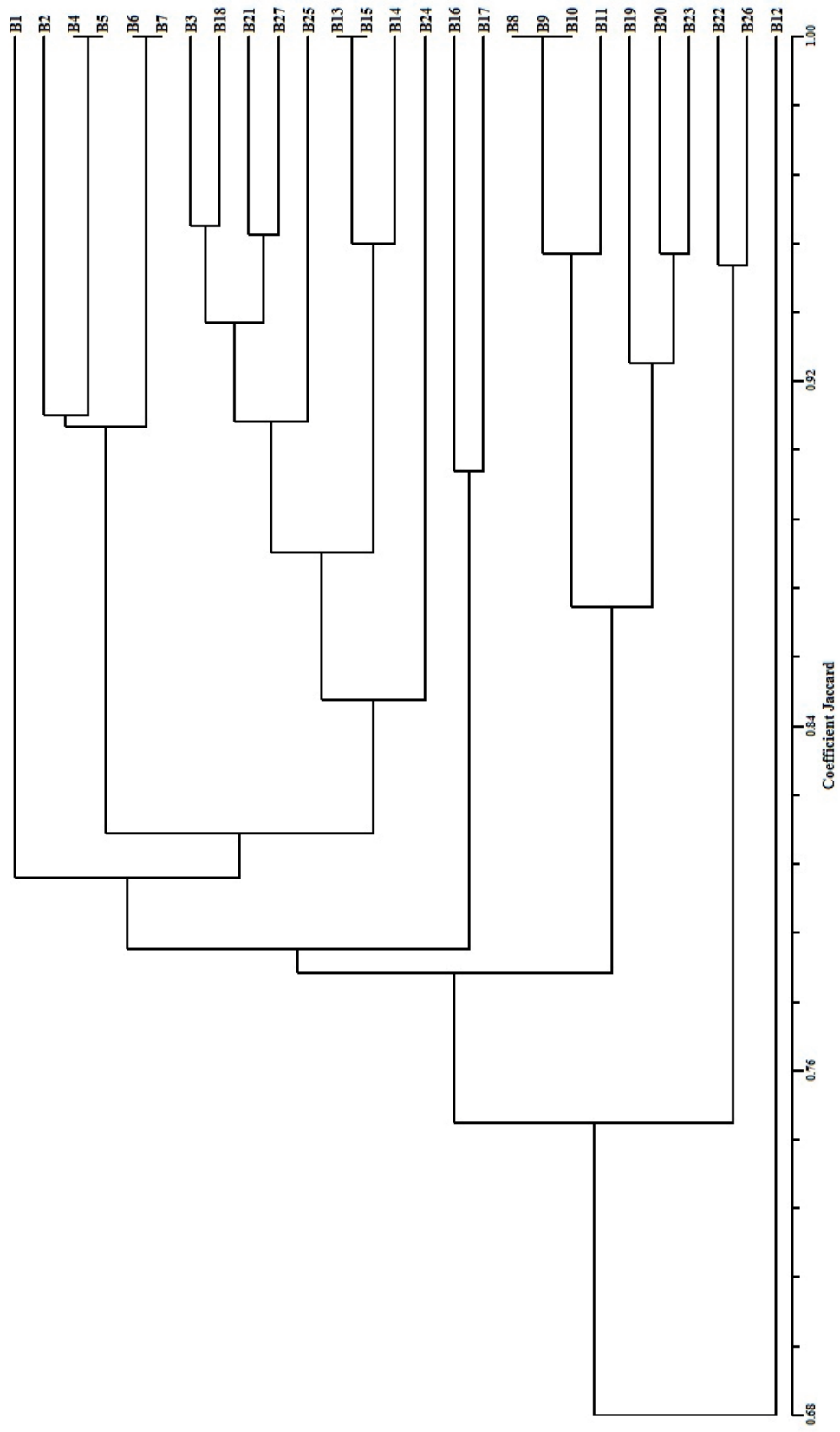
Εικ. 52. Δενδρόγραμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



Πίν. 42. Βαθμός γενετικής ομοιότητας των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Jaccard (UPGMA).

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B24	B25	B26	B27	
B1	1,000																											
B2	0,870	1,000																										
B3	0,826	0,875	1,000																									
B4	0,783	0,913	0,792	1,000																								
B5	0,783	0,913	0,792	1,000	1,000																							
B6	0,783	0,913	0,792	0,909	0,909	1,000																						
B7	0,783	0,913	0,792	0,909	0,909	1,000	1,000																					
B8	0,739	0,792	0,826	0,708	0,708	0,783	0,783	1,000																				
B9	0,739	0,792	0,826	0,708	0,708	0,783	0,783	1,000	1,000																			
B10	0,739	0,792	0,826	0,708	0,708	0,783	0,783	1,000	1,000	1,000																		
B11	0,696	0,750	0,783	0,667	0,667	0,739	0,739	0,950	0,950	0,950	1,000																	
B12	0,682	0,667	0,773	0,652	0,652	0,652	0,652	0,609	0,609	0,609	0,565	1,000																
B13	0,818	0,870	0,909	0,783	0,783	0,864	0,864	0,818	0,818	0,818	0,773	0,682	1,000															
B14	0,783	0,833	0,955	0,750	0,750	0,826	0,826	0,864	0,864	0,864	0,818	0,727	0,952	1,000														
B15	0,818	0,870	0,909	0,783	0,783	0,864	0,864	0,818	0,818	0,818	0,773	0,682	1,000	0,952	1,000													
B16	0,739	0,870	0,826	0,783	0,783	0,864	0,864	0,818	0,818	0,818	0,773	0,682	0,905	0,864	0,905	1,000												
B17	0,727	0,783	0,739	0,696	0,696	0,773	0,773	0,727	0,727	0,727	0,682	0,667	0,810	0,773	0,810	0,900	1,000											
B18	0,792	0,917	0,957	0,833	0,833	0,833	0,833	0,870	0,870	0,870	0,826	0,739	0,870	0,913	0,870	0,870	0,783	1,000										
B19	0,696	0,750	0,783	0,667	0,667	0,739	0,739	0,857	0,857	0,857	0,900	0,636	0,773	0,818	0,773	0,773	0,762	0,826	1,000									
B20	0,739	0,792	0,826	0,708	0,708	0,783	0,783	0,905	0,905	0,905	0,857	0,682	0,818	0,864	0,818	0,810	0,870	0,950	1,000									
B21	0,864	0,833	0,955	0,750	0,750	0,750	0,864	0,864	0,864	0,864	0,818	0,727	0,864	0,909	0,864	0,783	0,696	0,913	0,739	0,783	1,000							
B22	0,773	0,750	0,864	0,667	0,667	0,667	0,667	0,773	0,773	0,773	0,727	0,714	0,773	0,818	0,773	0,696	0,762	0,826	0,810	0,857	0,818	1,000						
B23	0,696	0,750	0,783	0,739	0,739	0,818	0,818	0,857	0,857	0,857	0,810	0,714	0,773	0,818	0,773	0,773	0,762	0,826	0,900	0,950	0,739	0,810	1,000					
B24	0,783	0,833	0,870	0,826	0,826	0,826	0,826	0,783	0,783	0,783	0,739	0,810	0,783	0,826	0,783	0,783	0,773	0,913	0,818	0,864	0,826	0,818	0,905	1,000				
B25	0,783	0,833	0,955	0,826	0,826	0,826	0,826	0,783	0,783	0,783	0,739	0,810	0,864	0,909	0,864	0,783	0,696	0,913	0,739	0,783	0,909	0,818	0,818	0,909	1,000			
B26	0,727	0,708	0,818	0,625	0,625	0,625	0,625	0,727	0,727	0,727	0,762	0,667	0,727	0,773	0,727	0,652	0,714	0,783	0,850	0,810	0,773	0,947	0,762	0,773	1,000			
B27	0,826	0,875	0,913	0,792	0,792	0,792	0,792	0,909	0,909	0,909	0,864	0,696	0,826	0,870	0,826	0,826	0,739	0,957	0,783	0,826	0,955	0,783	0,870	0,870	0,739	1,000		

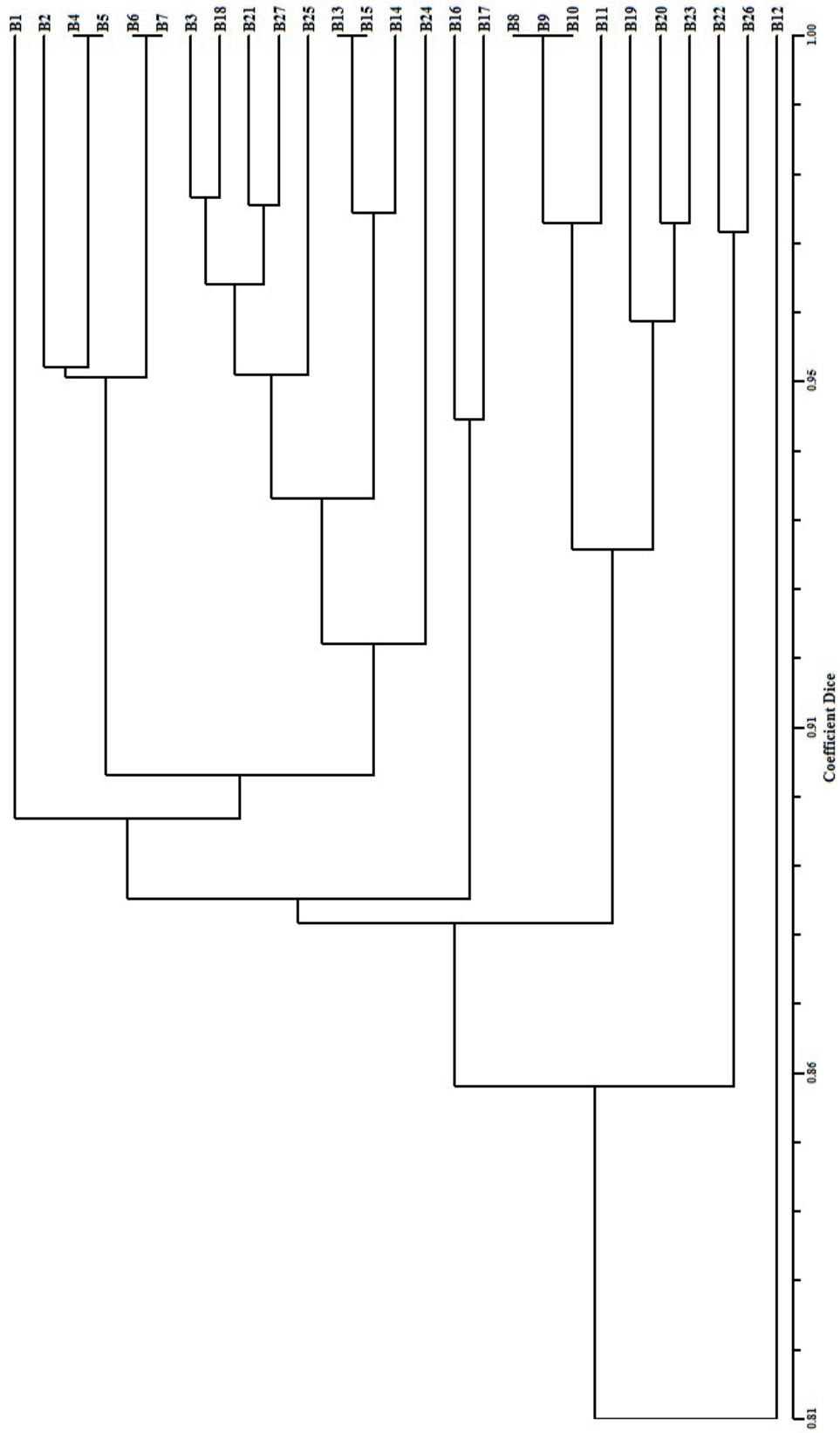
Εικ. 53. Δενδρόγραμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Jaccard (URGMA).



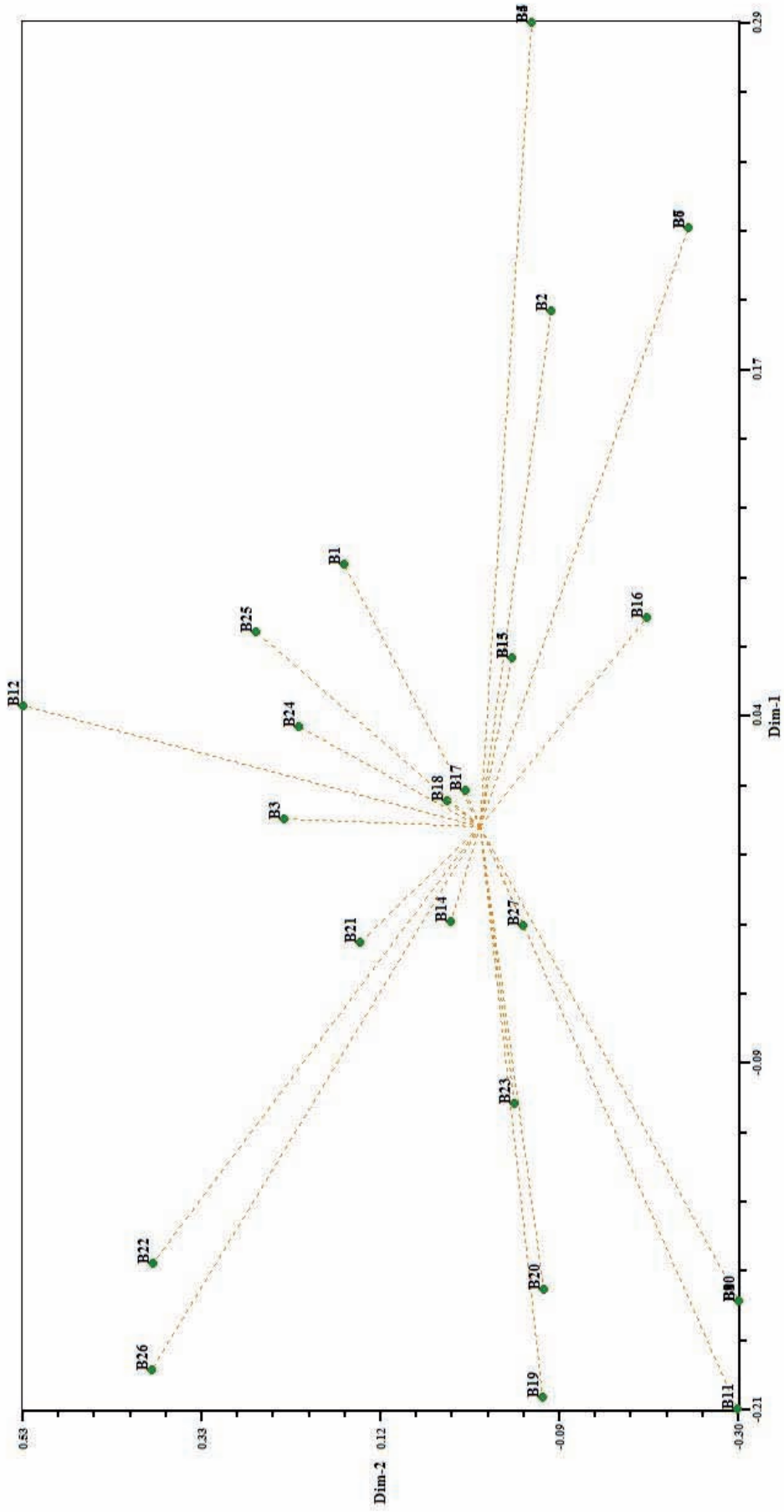
Πίν. 43. Βαθμός γενετικής ομοιότητας των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Dice (UPGMA).

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B24	B25	B26	B27				
B1	1,000																														
B2	0,930	1,000																													
B3	0,905	0,933	1,000																												
B4	0,878	0,955	0,884	1,000																											
B5	0,878	0,955	0,884	1,000	1,000																										
B6	0,878	0,955	0,884	0,952	0,952	1,000																									
B7	0,878	0,955	0,884	0,952	0,952	1,000	1,000																								
B8	0,850	0,884	0,905	0,829	0,829	0,878	0,878	1,000																							
B9	0,850	0,884	0,905	0,829	0,829	0,878	0,878	1,000	1,000																						
B10	0,850	0,884	0,905	0,829	0,829	0,878	0,878	1,000	1,000	1,000																					
B11	0,821	0,857	0,878	0,800	0,800	0,850	0,850	0,974	0,974	1,000																					
B12	0,811	0,800	0,872	0,790	0,790	0,790	0,790	0,757	0,757	0,722	1,000																				
B13	0,900	0,930	0,952	0,878	0,878	0,927	0,927	0,900	0,900	0,900	0,872	0,811	1,000																		
B14	0,878	0,909	0,977	0,857	0,857	0,905	0,905	0,927	0,927	0,927	0,900	0,842	0,976	1,000																	
B15	0,900	0,930	0,952	0,878	0,878	0,927	0,927	0,900	0,900	0,900	0,872	0,811	1,000	0,976	1,000																
B16	0,850	0,930	0,905	0,878	0,878	0,927	0,927	0,900	0,900	0,900	0,872	0,811	0,950	0,927	0,950	1,000															
B17	0,842	0,878	0,850	0,821	0,821	0,872	0,872	0,842	0,842	0,842	0,811	0,800	0,895	0,872	0,895	0,947	1,000														
B18	0,884	0,957	0,978	0,909	0,909	0,909	0,909	0,930	0,930	0,930	0,905	0,850	0,930	0,955	0,930	0,930	0,878	1,000													
B19	0,821	0,857	0,878	0,800	0,800	0,850	0,850	0,923	0,923	0,923	0,947	0,778	0,872	0,900	0,872	0,872	0,865	0,905	1,000												
B20	0,850	0,884	0,905	0,829	0,829	0,878	0,878	0,950	0,950	0,950	0,923	0,811	0,900	0,927	0,900	0,900	0,895	0,930	0,974	1,000											
B21	0,927	0,909	0,977	0,857	0,857	0,857	0,857	0,927	0,927	0,927	0,900	0,842	0,927	0,952	0,927	0,878	0,821	0,955	0,850	0,878	1,000										
B22	0,872	0,857	0,927	0,800	0,800	0,800	0,800	0,872	0,872	0,872	0,842	0,833	0,872	0,900	0,872	0,821	0,865	0,905	0,895	0,923	0,900	1,000									
B23	0,821	0,857	0,878	0,850	0,850	0,900	0,900	0,923	0,923	0,923	0,895	0,833	0,872	0,900	0,872	0,872	0,865	0,905	0,947	0,974	0,850	0,895	1,000								
B24	0,878	0,909	0,930	0,905	0,905	0,905	0,878	0,878	0,878	0,878	0,850	0,895	0,878	0,905	0,878	0,878	0,872	0,955	0,900	0,927	0,905	0,900	0,950	1,000							
B25	0,878	0,909	0,977	0,905	0,905	0,905	0,878	0,878	0,878	0,878	0,850	0,895	0,927	0,952	0,927	0,878	0,821	0,955	0,850	0,878	0,952	0,900	0,900	0,952	1,000						
B26	0,842	0,829	0,900	0,769	0,769	0,769	0,842	0,842	0,842	0,842	0,865	0,800	0,842	0,872	0,842	0,790	0,833	0,878	0,919	0,895	0,872	0,973	0,865	0,872	0,872	1,000					
B27	0,905	0,933	0,955	0,884	0,884	0,884	0,884	0,952	0,952	0,952	0,927	0,821	0,905	0,930	0,905	0,905	0,850	0,978	0,878	0,905	0,977	0,878	0,878	0,930	0,930	0,850	1,000				

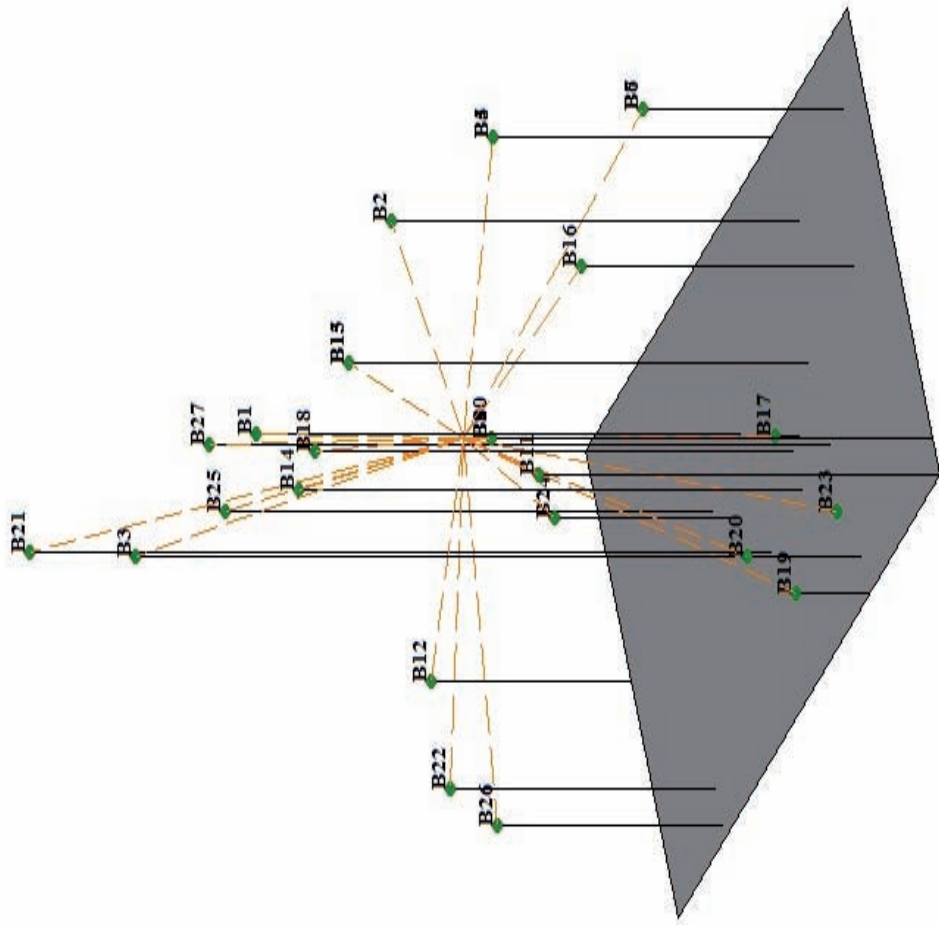
Εικ. 54. Δενδρόγραμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Dice (URGMA).



Εικ. 55. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 διαστάσεις με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



Εικ. 56. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 3 διαστάσεις με τη μέθοδο RAPD με βάση το συντελεστική Simple Matching (UPGMA).



Από τη μελέτη των παραπάνω αποτελεσμάτων (πίνακας 41, εικόνα 52), φαίνεται ότι η μέθοδος RAPD – PCR επιβεβαιώνει σε μεγάλο βαθμό τα αντίστοιχα των αμπελογραφικών παρατηρήσεων και οι φαινοτυπικές αποκλίσεις μπορούν να αποδοθούν στις περιβαλλοντικές και καλλιεργητικές συνθήκες και ακόμη σε μεταλλάξεις. Έτσι:

α) ταυτότητα ($I= 1,000$) στα ηλεκτροφορήματα παρατηρήθηκε στα ζεύγη των ποικιλιών ανατολικής προέλευσης όπως Συρίκι (B4) και Ξερομαχαιρούδα (B5), Σεριφιώτικο (B6) και Σταυροχιώτικο (B7), Ερικαράς (B8) και Αρμελετούσα (B9), Ερικαράς (B8) και Γιουρούκινο (B10), Αρμελετούσα (B9) και Γιουρούκινο (B10), ενώ εξαιρετικά υψηλό βαθμό ($I= 0,96$) είχαν οι τελευταίες τρεις ποικιλίες (B8, B9, B10) με την ποικιλία Φωκιανό (B11). Επομένως, οι ποικιλίες αυτές προέρχονται από μία γονεϊκή (πιθανότατα το Φωκιανό) με τη συσσώρευση μεταλλάξεων. Στην πραγματικότητα, πρόκειται για μια πολυκλωνική ποικιλία με κλώνους που διακρίνονται για συγκεκριμένα χαρακτηριστικά βάσει των οποίων και επελέγησαν για διάδοση. Για παράδειγμα, οι ποικιλίες Αρμελετούσα (B9) και Γιουρούκινο (B10) έχουν κοινό χαρακτήρα το μεγάλο μέγεθος της ράγας βάσει του οποίου μπορούν αφενός να περιληφθούν στις ποικιλίες επιτραπέζιας χρήσης και αφετέρου να διακριθούν από τις ποικιλίες Ερικαράς (B8) και Φωκιανό (B11) που παρουσιάζουν κοινό γνώρισμα το βαθύ χρώμα του φλοιού των ραγών (Ερι-καρας = μαύρο δαμάσκηνο). Επίσης, υψηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας με τις περισσότερες των ποικιλιών αυτών και ιδιαίτερα με τις ποικιλίες Συρίκι (B4), Ξερομαχαιρούδα (B5), Σεριφιώτικο (B6) και Σταυροχιώτικο (B7), παρουσίασε η ποικιλία Λαδικινό ($I= 0,920$) που υπαινίσσεται ότι η φαινοτυπική διακύμανση που αποτυπώθηκε κατά την αμπελογραφική περιγραφή (και ιδιαίτερα στους χαρακτήρες της σταφυλής) μπορεί, όπως αναφέρθηκε, να οφείλεται στις περιβαλλοντικές και καλλιεργητικές συνθήκες της Κρήτης (όπου αποκλειστικά καλλιεργείται) ή και σε επιγενετικούς παράγοντες,

β) ταυτότητα επίσης παρατηρήθηκε μεταξύ των ποικιλιών Ατσάλα (B13) και Ρομπόλα (B15), ενώ ο υψηλός βαθμός γενετικής ομοιότητας διαπιστώθηκε μεταξύ των παραπάνω ποικιλιών με την Κοκκινόρομπόλα (B14) και το Καρυστινό (B3) που κατά μία υπόθεση αποτελούν χρωματικές παραλλαγές τους (Κριμπάς 1943),

γ) όσον αφορά τα Ασπρούδια διαχωρίστηκαν με βάση τα αποτελέσματα σε δύο ομάδες. Στην πρώτη περιλαμβάνονται οι ποικιλίες Ασπρούδι Μυκηνών (B19) και Ασπρούδι Σπετσών (B20) με πολύ υψηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας ($I= 0,960$) και μαζί τους η ποικιλία Γλυκερήθρα (B23). Στη δεύτερη ομάδα οι ποικιλίες Ασπρούδι Αχαΐας (B16) και Ασπρούδι Ζακύνθου (B17) με $I= 0,920$, ενώ το Ασπρούδι Σαντορίνης (B18) παρουσιάζει πολύ υψηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας ($I= 0,960$) με το Ποταμίσι άσπρο (B27), το Αγριογλυκάδι (B21), το Γλυκέρι (B24) και το Πλατάνι (B25) ($I= 0,92$). Η παραπάνω ομαδοποίηση των Ασπρουδιών αντιστοιχίζεται με τα κέντρα καλλιέργειάς τους. Έτσι, το Ασπρούδι Αχαΐας και το Ασπρούδι Ζακύνθου καλλιεργούνται κατά κύριο λόγο στη Δυτική Ελλάδα, το Ασπρούδι Μυκηνών και το Ασπρούδι Σπετσών στην Ανατολική Πελοπόννησο, η ποικιλία Γλυκερήθρα κυρίως

στην Κεντρική Πελοπόννησο, ενώ το Ασπρούδι Σαντορίνης, το Αγριογλυκάδι, το Ποταμίσι άσπρο και το Πλατάνι στις Κυκλάδες. Εξαίρεση αποτελεί η ποικιλία Βόσσος (B12) που διαφοροποιείται αισθητά από όλα τα Ασπρούδια. Τα δεδομένα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με αντίστοιχα από τη χρήση βιοχημικών μεθόδων και επιβεβαιώνουν την άποψη ότι πρόκειται περί συγγενών ποικιλιών που οι περισσότερες προέκυψαν από μία γονεϊκή μέσω μεταλλάξεων (Σταυρακάκης και Λουκάς 1985).

AFLP

Όπως αναφέρθηκε, τα ενισχυμένα προϊόντα με τη μέθοδο AFLP βαθμολογήθηκαν με 0 (απουσία) και 1 (παρουσία) των ηλεκτροφορητικών ζωνών και τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα NTSys-pc. Ο βαθμός ποικιλομορφίας εκτιμήθηκε με βάση το ποσοστό των πολυμορφικών ζωνών σε σχέση με το συνολικό αριθμό των ζωνών που βαθμολογήθηκαν. Ακολουθώντας, προσδιορίστηκε ο βαθμός γενετικής ομοιότητας με τη χρήση των συντελεστών Simple Matching, Jaccard και Dice και τέλος κατασκευάστηκαν τα σχετικά δενδρογράμματα.

Για τη γενετική μελέτη των 27 ποικιλιών αμπέλου με τη μέθοδο AFLP, χρησιμοποιήθηκαν 7 ζεύγη εκκινητών που έδωσαν 471 ηλεκτροφορητικές ζώνες βάσει των οποίων προσδιορίστηκαν οι βαθμοί γενετικής ομοιότητας και σχηματίστηκαν τα αντίστοιχα δενδρογράμματα. Η διαδικασία επαναλήφθηκε δύο φορές κατά τις οποίες παρατηρήθηκε επαναληπτικότητα των ηλεκτροφορητικών ζωνών.

Στον πίνακα 44 παρουσιάζεται ο αριθμός των ενισχυμένων προϊόντων (ηλεκτροφορητικές ζώνες) για κάθε ένα από τα επτά ζεύγη εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν για τις λοιπές ποικιλίες που μελετήθηκαν με τη μέθοδο AFLP. Οι συγκεκριμένοι συνδυασμοί αποδείχτηκαν εξαιρετικά πολυμορφικοί και έδωσαν, όπως αναφέρθηκε, περισσότερα από 460 ενισχυμένα προϊόντα, διαχωρίζοντας όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν.

Πίνακας 44. Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν και αριθμός των ενισχυμένων προϊόντων.

Εκκινητές	Αριθμός ενισχυμένων προϊόντων
EcoRI – ACA – MseI – Cxx	62
EcoRI – ACA – MseI – CTT	59
EcoRI – ACT – MseI – CAG	27
EcoRI – ACG – MseI – CTA	98
EcoRI – ACG – MseI – CTC	78
EcoRI – ACG – MseI – CAC	70
EcoRI – AGG – MseI – CAC	77

Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου AFLP

Τα ηλεκτροφορήματα των παραπάνω εκκινητών φαίνονται στο παράρτημα III. Για την επεξεργασία και ανάλυση των ηλεκτροφορημάτων και τον προσδιορισμό του βαθμού γενετικής ομοιότητας (I) των ποικιλιών που μελετήθηκαν χρησιμοποιήθηκαν, όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι συντελεστές Simple Matching, Jaccard και Dice.

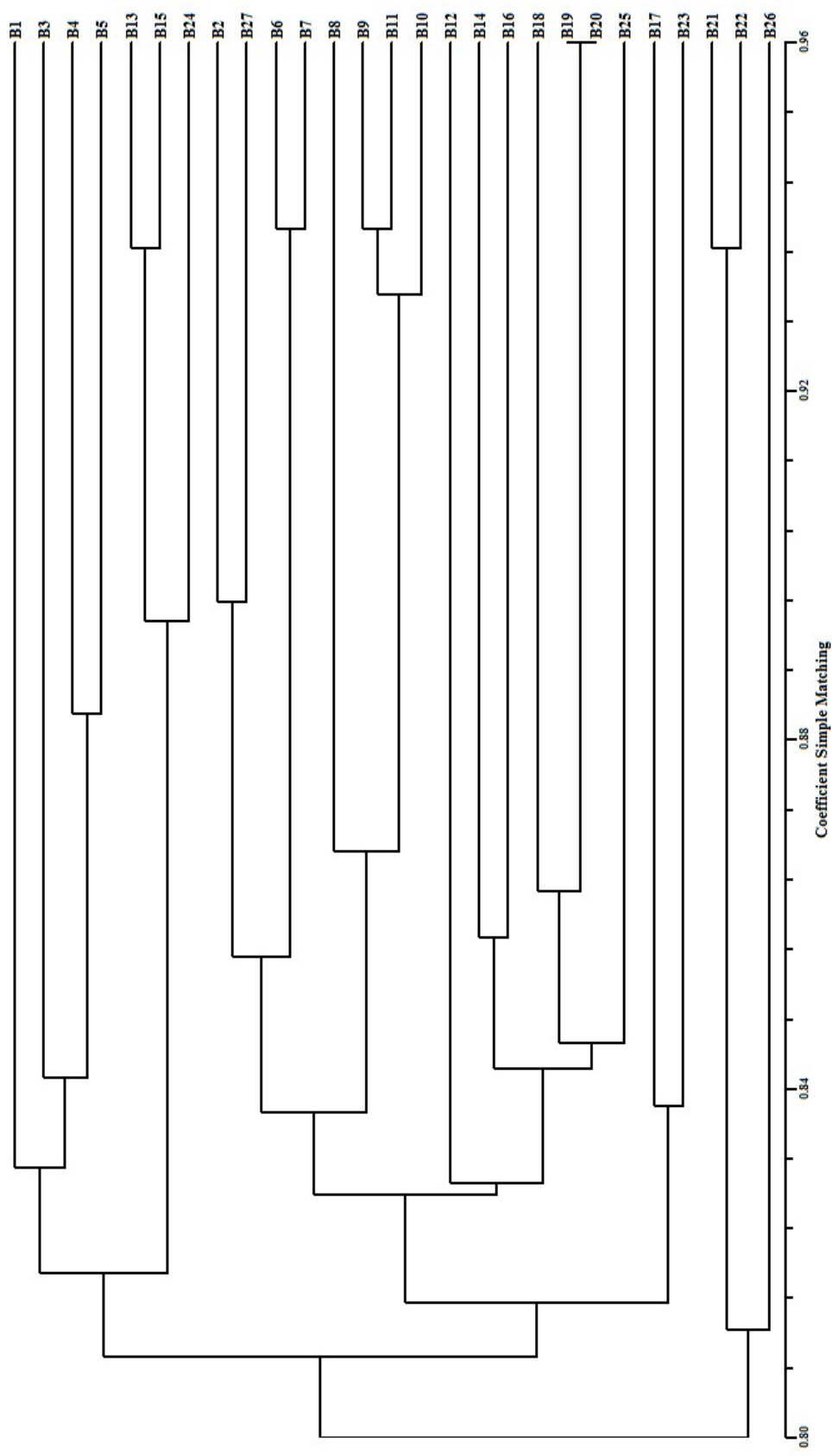
Ο βαθμοί γενετικής ομοιότητας κάθε δυνατού ζεύγους των ποικιλιών που μελετήθηκαν, με βάση τους συντελεστές Simple Matching, Jaccard, Dice δίνονται στους πίνακες 45, 46, 47 αντίστοιχα, ενώ τα παραγόμενα δενδρογράμματα φαίνονται στις εικόνες 57, 58, 59.

Στις εικόνες 60 και 61 φαίνεται η Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 και 3 διαστάσεις αντίστοιχα, με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Simple Matching.

Πίν. 45. Βαθμός γενετικής ομοιότητας των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Simple Matching (URGMA).

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B24	B25	B26	B27											
B1	1,000																																					
B2	0,783	1,000																																				
B3	0,811	0,815	1,000																																			
B4	0,805	0,809	0,820	1,000																																		
B5	0,879	0,849	0,864	0,883	1,000																																	
B6	0,824	0,837	0,834	0,820	0,868	1,000																																
B7	0,805	0,856	0,858	0,822	0,858	0,938	1,000																															
B8	0,756	0,824	0,796	0,764	0,813	0,813	0,803	1,000																														
B9	0,788	0,843	0,815	0,771	0,832	0,841	0,830	0,862	1,000																													
B10	0,777	0,841	0,822	0,773	0,839	0,826	0,837	0,873	0,930	1,000																												
B11	0,803	0,841	0,817	0,773	0,839	0,851	0,837	0,868	0,938	0,932	1,000																											
B12	0,773	0,820	0,830	0,786	0,830	0,851	0,854	0,788	0,820	0,805	0,817	1,000																										
B13	0,815	0,815	0,809	0,820	0,860	0,830	0,815	0,796	0,803	0,813	0,817	0,796	1,000																									
B14	0,813	0,826	0,811	0,779	0,837	0,828	0,817	0,798	0,856	0,828	0,854	0,815	0,824	1,000																								
B15	0,807	0,803	0,809	0,807	0,847	0,813	0,807	0,800	0,790	0,805	0,809	0,783	0,936	0,815	1,000																							
B16	0,811	0,820	0,843	0,798	0,851	0,834	0,845	0,800	0,820	0,839	0,834	0,822	0,839	0,858	0,834	1,000																						
B17	0,790	0,824	0,792	0,777	0,817	0,839	0,841	0,796	0,811	0,800	0,817	0,830	0,809	0,828	0,796	0,817	1,000																					
B18	0,798	0,828	0,813	0,790	0,839	0,826	0,811	0,800	0,837	0,809	0,813	0,843	0,805	0,849	0,800	0,860	0,834	1,000																				
B19	0,800	0,834	0,845	0,796	0,841	0,849	0,856	0,820	0,839	0,837	0,849	0,849	0,824	0,826	0,807	0,871	0,837	0,862	1,000																			
B20	0,773	0,824	0,834	0,781	0,817	0,826	0,824	0,800	0,815	0,805	0,826	0,839	0,813	0,824	0,796	0,839	0,864	0,960	1,000																			
B21	0,773	0,803	0,817	0,798	0,839	0,813	0,811	0,779	0,807	0,805	0,809	0,817	0,809	0,811	0,783	0,822	0,817	0,809	0,798	1,000																		
B22	0,786	0,794	0,805	0,781	0,826	0,800	0,790	0,771	0,798	0,796	0,788	0,800	0,805	0,790	0,771	0,817	0,783	0,817	0,794	0,788	0,936	1,000																
B23	0,777	0,794	0,792	0,777	0,813	0,822	0,811	0,792	0,798	0,809	0,813	0,779	0,822	0,786	0,800	0,800	0,839	0,792	0,832	0,834	0,779	0,779	1,000															
B24	0,803	0,794	0,813	0,798	0,847	0,813	0,811	0,775	0,820	0,826	0,826	0,792	0,907	0,828	0,881	0,856	0,813	0,805	0,820	0,805	0,805	0,813	0,830	1,000														
B25	0,788	0,813	0,815	0,783	0,832	0,841	0,847	0,811	0,822	0,841	0,828	0,811	0,803	0,822	0,803	0,854	0,824	0,841	0,860	0,837	0,824	0,815	0,832	0,807	1,000													
B26	0,796	0,783	0,828	0,767	0,811	0,815	0,809	0,769	0,783	0,803	0,798	0,790	0,815	0,805	0,786	0,815	0,790	0,807	0,813	0,794	0,811	0,815	0,794	0,798	0,826	1,000												
B27	0,786	0,896	0,817	0,786	0,830	0,868	0,862	0,839	0,862	0,851	0,868	0,817	0,843	0,845	0,826	0,839	0,843	0,875	0,860	0,813	0,800	0,817	0,830	0,832	0,820	1,000												

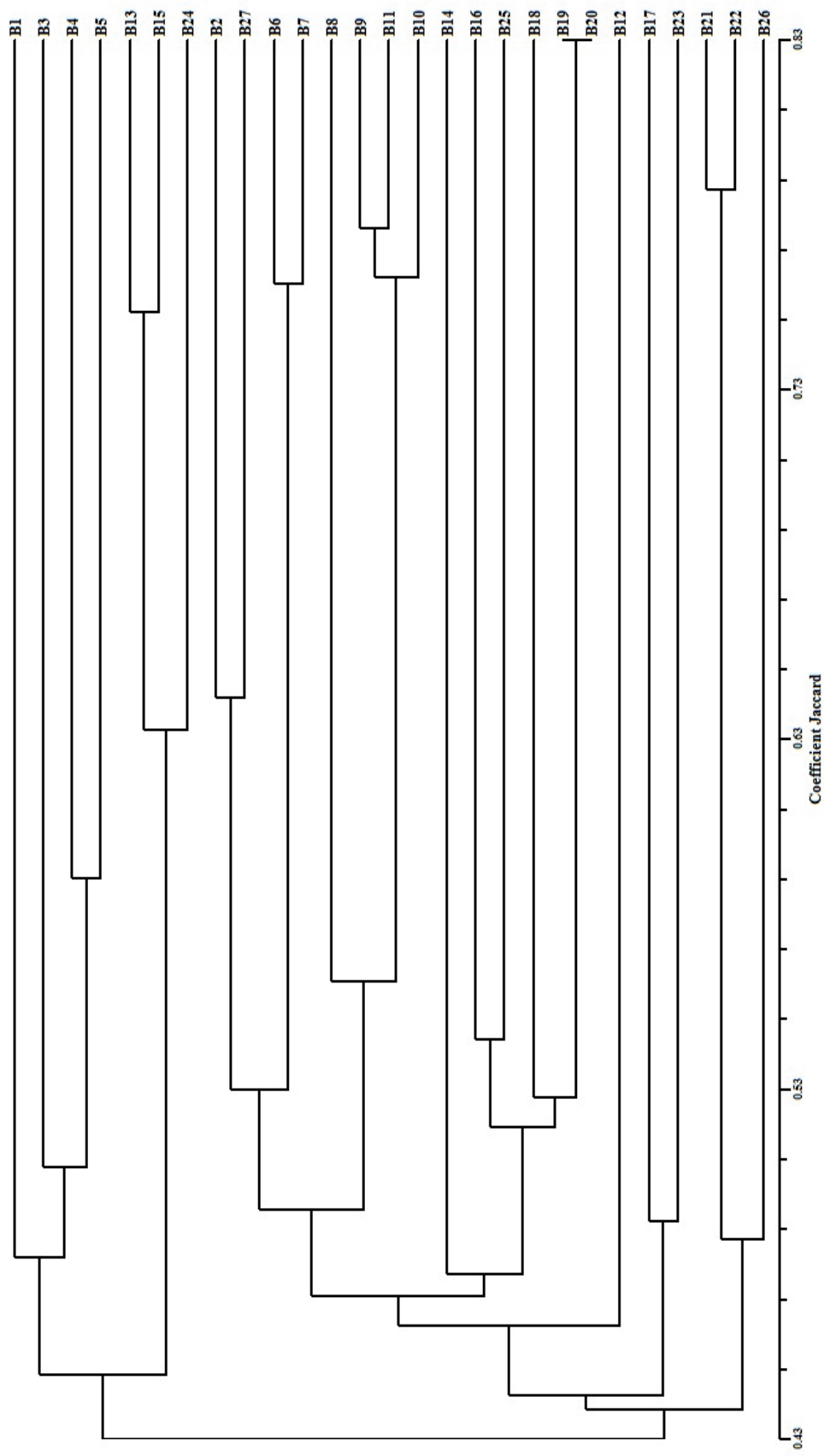
Εικ. 57. Δενδρόγραμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



Πίν. 46. Βαθμός γενετικής ομοιότητας των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Jaccard (UPGMA).

B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B24	B25	B26	B27	
B1	1,000																										
B2	0,382	1,000																									
B3	0,447	0,460	1,000																								
B4	0,421	0,434	0,465	1,000																							
B5	0,581	0,507	0,552	0,593	1,000																						
B6	0,443	0,476	0,480	0,433	0,534	1,000																					
B7	0,425	0,544	0,556	0,462	0,528	0,764	1,000																				
B8	0,303	0,447	0,396	0,319	0,397	0,397	0,400	1,000																			
B9	0,390	0,513	0,460	0,357	0,466	0,486	0,484	0,539	1,000																		
B10	0,393	0,528	0,494	0,385	0,503	0,474	0,519	0,586	0,761	1,000																	
B11	0,429	0,516	0,472	0,371	0,490	0,521	0,506	0,563	0,780	0,771	1,000																
B12	0,355	0,455	0,487	0,380	0,456	0,507	0,534	0,363	0,455	0,446	0,459	1,000															
B13	0,439	0,442	0,438	0,448	0,525	0,452	0,442	0,377	0,415	0,460	0,456	0,396	1,000														
B14	0,432	0,464	0,440	0,362	0,465	0,445	0,445	0,379	0,534	0,491	0,537	0,435	0,450	1,000													
B15	0,413	0,408	0,430	0,413	0,486	0,405	0,417	0,378	0,381	0,436	0,430	0,363	0,756	0,424	1,000												
B16	0,444	0,465	0,526	0,417	0,517	0,477	0,523	0,401	0,465	0,528	0,506	0,465	0,500	0,544	0,483	1,000											
B17	0,396	0,471	0,413	0,371	0,434	0,483	0,510	0,389	0,444	0,444	0,466	0,481	0,430	0,471	0,396	0,463	1,000										
B18	0,391	0,460	0,436	0,373	0,461	0,431	0,422	0,373	0,480	0,441	0,436	0,490	0,399	0,500	0,382	0,542	0,477	1,000									
B19	0,409	0,487	0,520	0,400	0,479	0,500	0,537	0,430	0,497	0,513	0,530	0,517	0,454	0,457	0,409	0,579	0,493	0,536	1,000								
B20	0,331	0,443	0,477	0,348	0,403	0,423	0,443	0,365	0,424	0,425	0,457	0,472	0,409	0,432	0,364	0,483	0,480	0,522	0,835	1,000							
B21	0,385	0,446	0,485	0,435	0,503	0,447	0,464	0,377	0,455	0,471	0,468	0,472	0,451	0,454	0,393	0,491	0,479	0,441	0,431	0,407	1,000						
B22	0,413	0,433	0,462	0,405	0,478	0,423	0,424	0,365	0,441	0,458	0,429	0,441	0,446	0,414	0,372	0,485	0,414	0,463	0,426	0,394	0,792	1,000					
B23	0,356	0,394	0,399	0,356	0,409	0,429	0,430	0,364	0,403	0,448	0,443	0,358	0,444	0,365	0,390	0,413	0,493	0,368	0,470	0,455	0,388	0,392	1,000				
B24	0,422	0,409	0,457	0,414	0,503	0,425	0,444	0,346	0,462	0,497	0,484	0,399	0,674	0,471	0,597	0,550	0,450	0,410	0,455	0,403	0,452	0,473	0,474	1,000			
B25	0,394	0,450	0,463	0,386	0,470	0,490	0,526	0,422	0,468	0,531	0,491	0,440	0,419	0,458	0,411	0,546	0,475	0,493	0,551	0,476	0,494	0,479	0,480	0,438	1,000		
B26	0,429	0,407	0,506	0,371	0,440	0,449	0,458	0,355	0,407	0,466	0,444	0,414	0,463	0,439	0,395	0,476	0,421	0,435	0,460	0,401	0,483	0,494	0,416	0,438	0,497	1,000	
B27	0,380	0,645	0,459	0,380	0,456	0,551	0,555	0,476	0,555	0,548	0,578	0,445	0,500	0,503	0,453	0,503	0,500	0,490	0,582	0,525	0,463	0,441	0,438	0,481	0,487	0,475	1,000

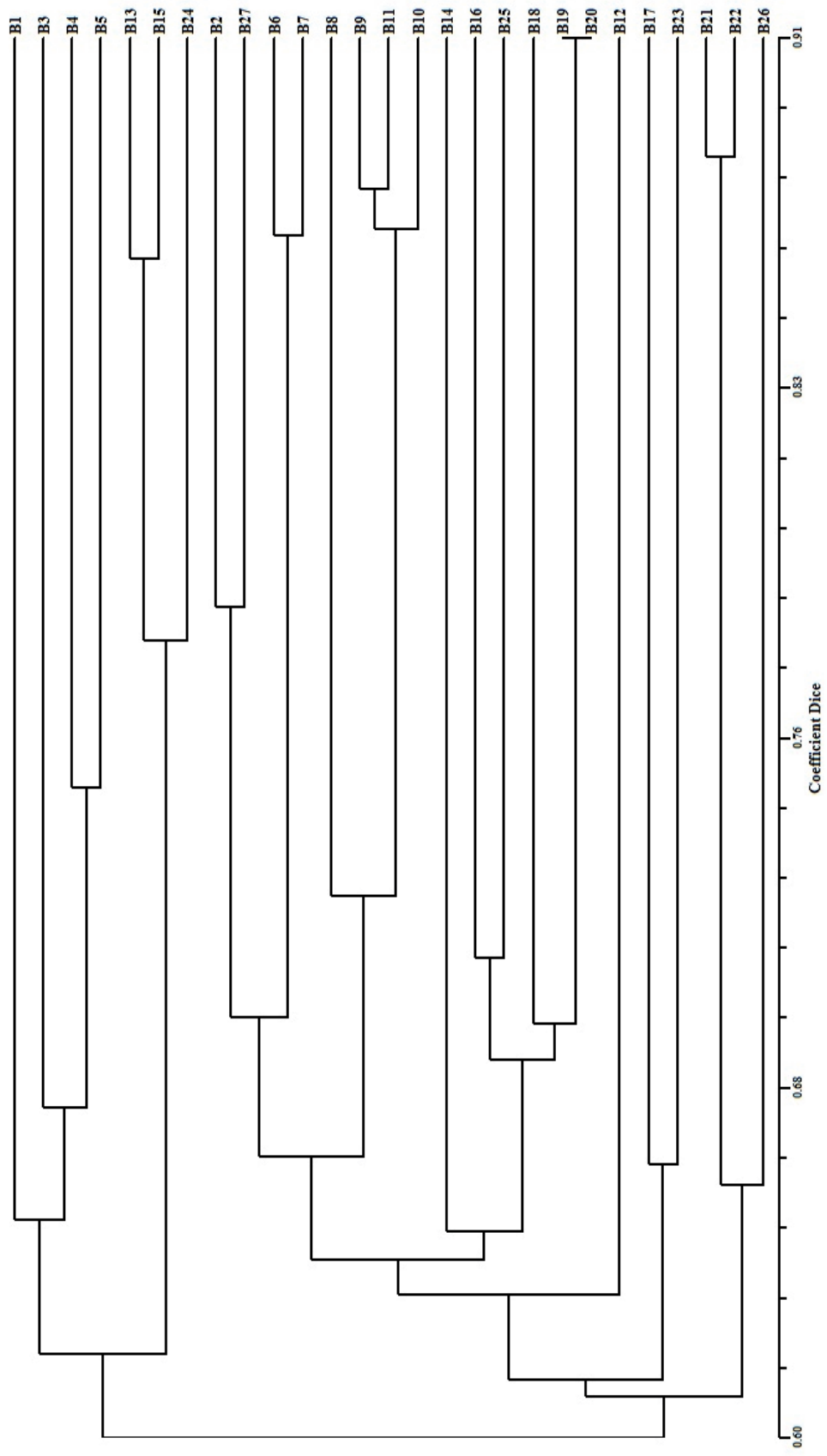
Εικ. 58. Δενδρόγραμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Jaccard (UPGMA).



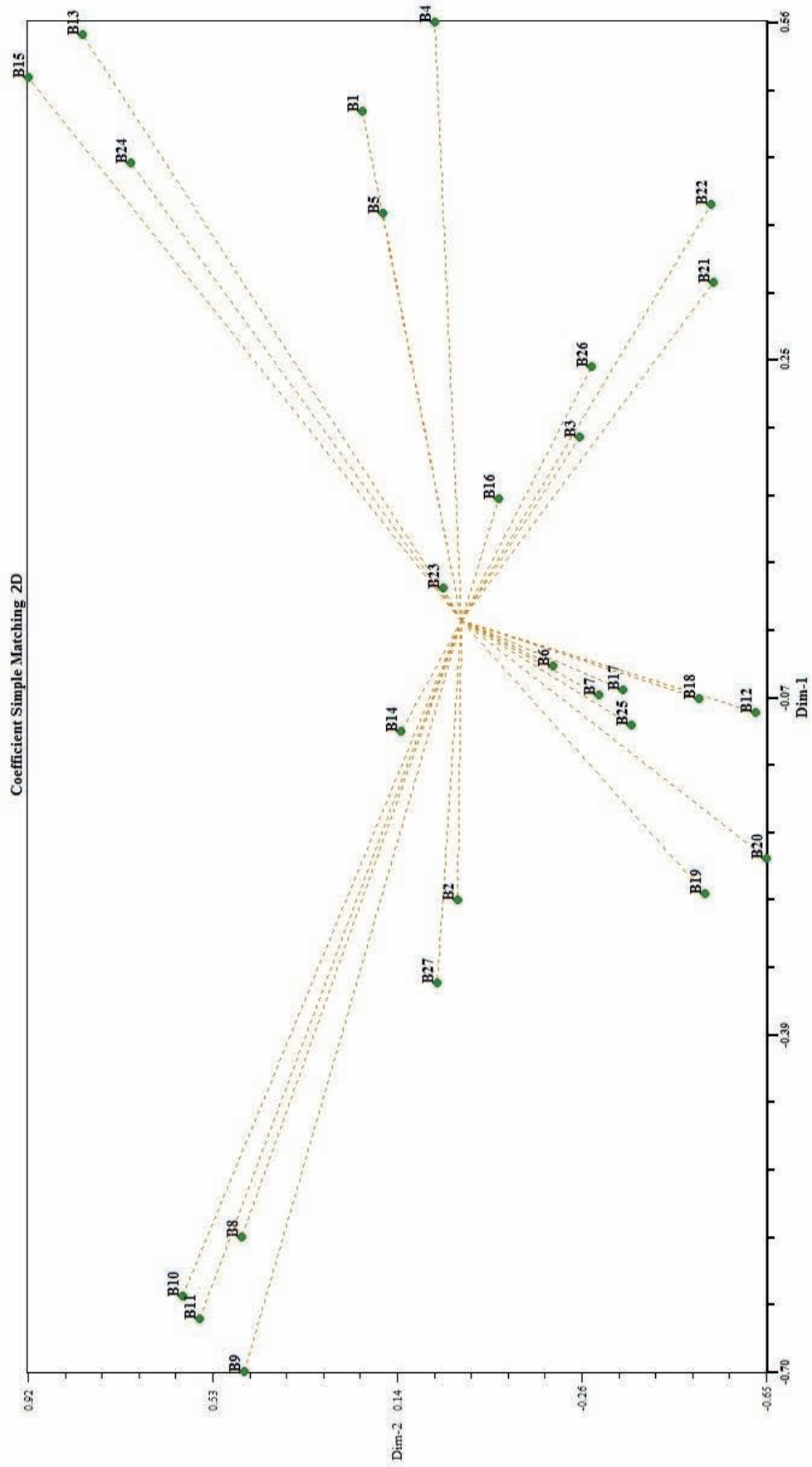
Πίν. 47. Βαθμός γενετικής ομοιότητας των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Dice (URGMA).

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B24	B25	B26	B27			
B1	1,000																													
B2	0,553	1,000																												
B3	0,618	0,630	1,000																											
B4	0,593	0,605	0,635	1,000																										
B5	0,735	0,673	0,712	0,744	1,000																									
B6	0,614	0,645	0,649	0,605	0,696	1,000																								
B7	0,597	0,704	0,715	0,632	0,691	0,866	1,000																							
B8	0,465	0,618	0,568	0,484	0,569	0,569	0,571	1,000																						
B9	0,561	0,678	0,630	0,526	0,636	0,654	0,652	0,701	1,000																					
B10	0,564	0,691	0,661	0,556	0,670	0,644	0,683	0,739	0,864	1,000																				
B11	0,610	0,613	0,650	0,585	0,667	0,622	0,647	0,551	0,613	0,638	0,626																			
B12	0,524	0,626	0,655	0,551	0,626	0,673	0,696	0,533	0,626	0,617	0,629	1,000																		
B13	0,610	0,613	0,609	0,619	0,689	0,623	0,613	0,547	0,587	0,630	0,626	0,568	1,000																	
B14	0,604	0,634	0,611	0,532	0,635	0,616	0,616	0,550	0,696	0,658	0,699	0,606	0,621	1,000																
B15	0,585	0,579	0,602	0,585	0,654	0,577	0,588	0,548	0,552	0,607	0,602	0,532	0,861	0,595	1,000															
B16	0,615	0,635	0,689	0,589	0,682	0,646	0,687	0,573	0,635	0,691	0,672	0,635	0,667	0,705	0,652	1,000														
B17	0,568	0,641	0,585	0,542	0,606	0,651	0,675	0,560	0,615	0,615	0,636	0,649	0,602	0,640	0,568	0,633	1,000													
B18	0,562	0,630	0,607	0,544	0,631	0,602	0,594	0,544	0,648	0,612	0,607	0,657	0,570	0,667	0,552	0,703	0,646	1,000												
B19	0,580	0,655	0,684	0,571	0,648	0,667	0,699	0,601	0,664	0,678	0,693	0,682	0,624	0,627	0,581	0,734	0,661	0,698	1,000											
B20	0,498	0,614	0,646	0,516	0,574	0,594	0,614	0,535	0,595	0,597	0,627	0,642	0,581	0,603	0,534	0,651	0,648	0,686	0,910	1,000										
B21	0,556	0,617	0,653	0,606	0,670	0,617	0,634	0,548	0,626	0,641	0,637	0,642	0,622	0,625	0,564	0,659	0,648	0,612	0,603	0,579	1,000									
B22	0,584	0,604	0,632	0,576	0,647	0,595	0,596	0,535	0,612	0,628	0,600	0,612	0,617	0,586	0,542	0,653	0,585	0,633	0,598	0,565	0,884	1,000								
B23	0,525	0,565	0,570	0,525	0,581	0,600	0,601	0,533	0,574	0,619	0,614	0,527	0,615	0,535	0,561	0,584	0,661	0,538	0,639	0,625	0,559	0,563	1,000							
B24	0,594	0,580	0,627	0,585	0,670	0,596	0,615	0,514	0,632	0,664	0,653	0,570	0,805	0,640	0,748	0,709	0,621	0,582	0,626	0,574	0,623	0,642	0,643	1,000						
B25	0,565	0,621	0,633	0,557	0,639	0,658	0,690	0,594	0,638	0,694	0,658	0,611	0,590	0,628	0,583	0,706	0,644	0,661	0,711	0,645	0,661	0,648	0,649	0,609	1,000					
B26	0,600	0,579	0,672	0,542	0,611	0,620	0,628	0,524	0,579	0,635	0,615	0,586	0,633	0,610	0,567	0,645	0,593	0,606	0,630	0,573	0,651	0,662	0,587	0,609	0,664	1,000				
B27	0,551	0,784	0,629	0,551	0,626	0,710	0,714	0,645	0,714	0,708	0,733	0,616	0,667	0,670	0,624	0,670	0,667	0,657	0,735	0,689	0,633	0,612	0,609	0,649	0,655	0,644	1,000			

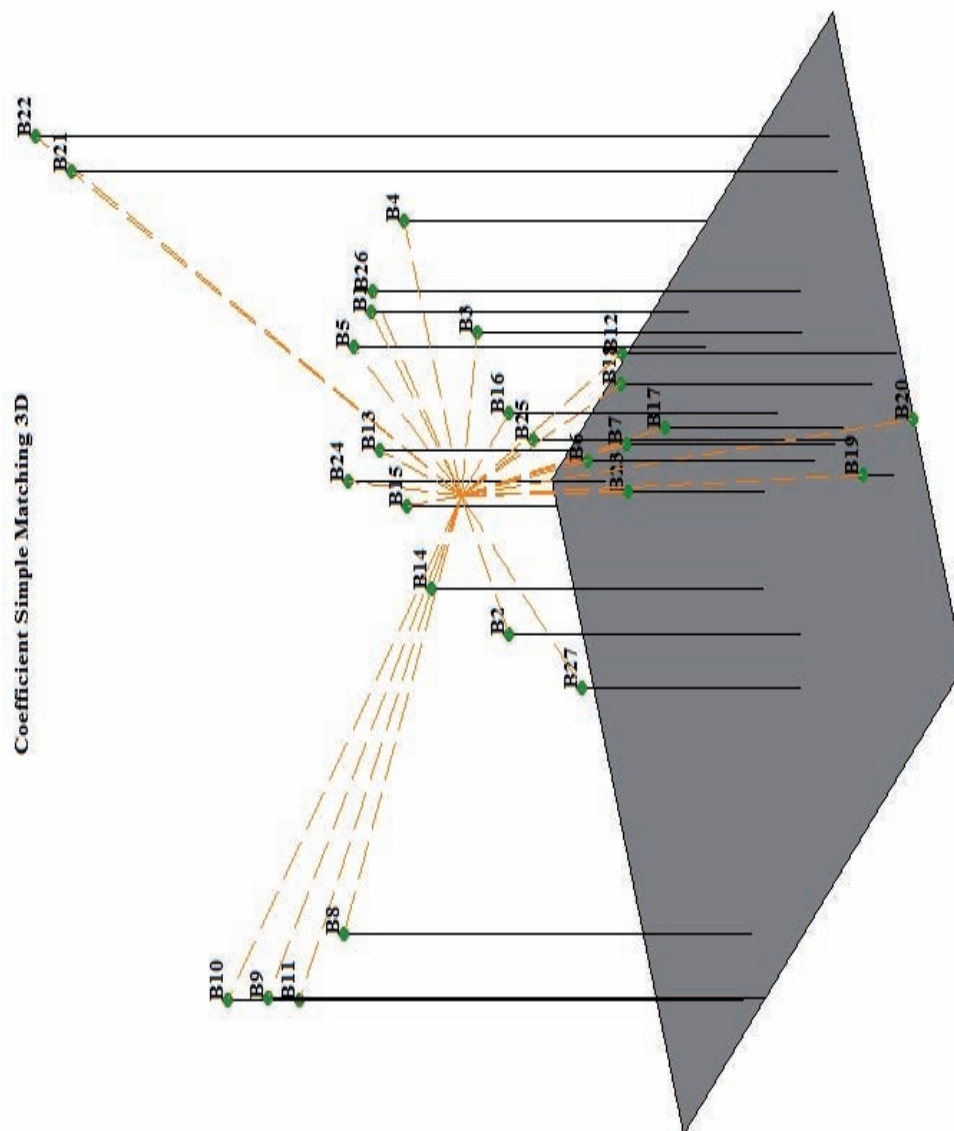
Εικ. 59. Δενδρόγραμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Dice (UPGMA).



Εικ. 60. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 διαστάσεις με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Simple Matching (URGMA).



Εικ. 61. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 3 διαστάσεις με τη μέθοδο AFLP με βάση το συντελεστή Simple Matching (UPGMA).



Τα αποτελέσματα (πίνακας 45, εικόνα 57) ενισχύουν και εδώ την άποψη για την αισθητά μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα των δεικτών AFLP στη διερεύνηση της γενετικής ποικιλομορφίας μεταξύ και εντός συγγενών ποικιλιών αμπέλου. Ειδικότερα, ενώ σε μεγάλο ποσοστό επιβεβαιώνονται τα αποτελέσματα της αμπελογραφικής περιγραφής και της μεθόδου RAPD, εν τούτοις αποκαλύπτεται μικρότερος βαθμός γενετικής ομοιότητας. Για παράδειγμα στις ποικιλίες Ατσάλα (B13) και Ρομπόλα (B15) διαπιστώνεται υψηλός βαθμός γενετικής ομοιότητας ($I=0,936$) όχι όμως και ταυτότητα, ενώ το ίδιο συμβαίνει και με τα ζεύγη των ποικιλιών Ασπρούδι Σπετσών (B20) και Ασπρούδι Μυκηνών (B19), Συρίκι (B4) και Ξερομαχειρούδα (B5), Σεριφιώτικο (B6) και Σταυροχιώτικο (B7), Ερικαράς (B8) και Αρμελετούσα (B9), Ερικαράς (B8) και Γιουρούκι (B10), Αρμελετούσα (B9) και Γιουρούκι (B10).

Η ομαδοποίηση, όμως, των ποικιλιών ανεξάρτητα από το μικρότερο βαθμό γενετικής ομοιότητας ακολουθεί τα κριτήρια που έχουν χρησιμοποιηθεί ως προς την προέλευση των ποικιλιών και τα κέντρα καλλιέργειάς τους. Επιβεβαιώνεται λοιπόν ότι:

- α) οι ποικιλίες Φωκιανό (B11), Αρμελετούσα (B9), Γιουρούκι (B10) και Ερικαράς (B8) είναι στενά συγγενείς μεταξύ τους και ότι προέρχονται από μία γονεϊκή ποικιλία (πιθανότητα το Φωκιανό) μέσω της συσσώρευσης μεταλλάξεων,
- β) το ίδιο ισχύει αλλά σε μικρότερο βαθμό για τις υπόλοιπες ποικιλίες ανατολικής προέλευσης (Συρίκι, Ξερομαχειρούδα, Εφτάκοιλο, Καρυστινό, Λαδικινό που κυμαίνεται περίπου από $I=0,800$ έως $0,880$), ενώ οι ποικιλίες Σεριφιώτικο (B6) και Σταυροχιώτικο (B7) χαρακτηρίζονται από υψηλότερο βαθμό γενετικής ομοιότητας ($I=0,938$). Επομένως τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώνουν ότι πρόκειται περί στενά συγγενών ποικιλιών ή ακόμη και κλώνων της ίδιας ποικιλίας,
- γ) με πολύ μικρές διαφοροποιήσεις τα Ασπρούδια κατατάσσονται στον ίδιο κλάδο του δενδρογράμματος επιβεβαιώνοντας την κοινή καταγωγή τους από μία γονεϊκή ποικιλία. Παράλληλα επιβεβαιώνεται ο υψηλός βαθμός γενετικής ομοιότητας μεταξύ ποικιλιών Ασπρούδι Μυκηνών και Ασπρούδι Σπετσών που αποτελούν κλώνους μιας ποικιλίας.

Εκκινητές και ποσοτικός προσδιορισμός των ενισχυμένων προϊόντων

Όπως αναφέρθηκε, DNA από τις 27 λοιπές ποικιλίες αναλύθηκε σε πέντε μικροδορυφορικούς τόπους: VVS2 (Thomas et al. 1993), VVMD7 (Bowers et al. 1996), VVMD27, VVMD31, VVMD32 (Bowers et al. 1999).

Τα ηλεκτροφορήματα των εκκινητών από την ηλεκτροφόρηση τόσο σε πηκτή πολυακρυλαμίδης όσο στον αυτόματο αναλυτή γονιδιώματος φαίνονται στο παράρτημα III. Από την επεξεργασία και ανάλυση των ηλεκτροφορημάτων με το λογισμικό GeneMapper v4.0 προσδιορίστηκε ο ποσοτικός προσδιορισμός των ενισχυμένων προϊόντων, δηλαδή το μέγεθος των αλληλομόρφων (μήκος) που σχημάτισε ο κάθε εκκινητής (πίνακας 48).

Πίνακας 48. Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν και μέγεθος (μήκος) αλληλομόρφων (bp).

	VVS2	VVMD7	VVMD27	VVMD31	VVMD32
B1	130:140	239:247	176:182	201:208	247:268
B2	137:140	239:249	176:184	208:210	266:268
B3	130:140	247:249	179:190	208:208	266:268
B4	130:140	247:249	176:176	208:210	245:268
B5	130:140	247:249	176:176	208:210	247:268
B6	140:140	239:251	176:176	208:213	266:268
B7	140:140	239:251	176:176	208:213	266:268
B8	130:140	239:243	182:190	208:208	255:255
B9	130:140	239:243	182:190	208:208	253:255
B10	130:140	239:243	182:190	208:210	253:255
B11	130:140	239:243	182:190	201:208	255:255
B12	130:130	239:247	176:190	213:220	260:268

	VVS2	VVMD7	VVMD27	VVMD31	VVMD32
B13	140:140	247:249	176:179	208:208	245:268
B14	130:132	239:251	179:186	208:208	253:268
B15	140:140	247:249	179:179	208:208	247:268
B16	132:140	249:251	179:179	210:210	245:268
B17	140:140	249:251	179:179	201:208	255:268
B18	140:140	249:251	179:179	210:213	253:268
B19	137:137	249:251	182:190	210:210	247:255
B20	137:140	249:251	182:190	210:210	250:255
B21	140:140	239:249	176:179	208:213	250:253
B22	140:140	239:249	176:179	208:213	247:253
B23	137:140	239:247	179:190	220:220	255:268
B24	137:140	239:247	176:179	201:208	266:268
B25	130:140	233:239	186:190	208:213	250:255
B26	132:132	239:239	179:186	208:213	250:255
B27	137:140	239:239	176:184	208:213	247:268

Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μεθόδου SSR

Για την επεξεργασία και ανάλυση των ηλεκτροφορημάτων και τον προσδιορισμό του βαθμού γενετικής ανομοιότητας (I) των ποικιλιών που μελετήθηκαν χρησιμοποιήθηκε, ο συντελεστής Dist.

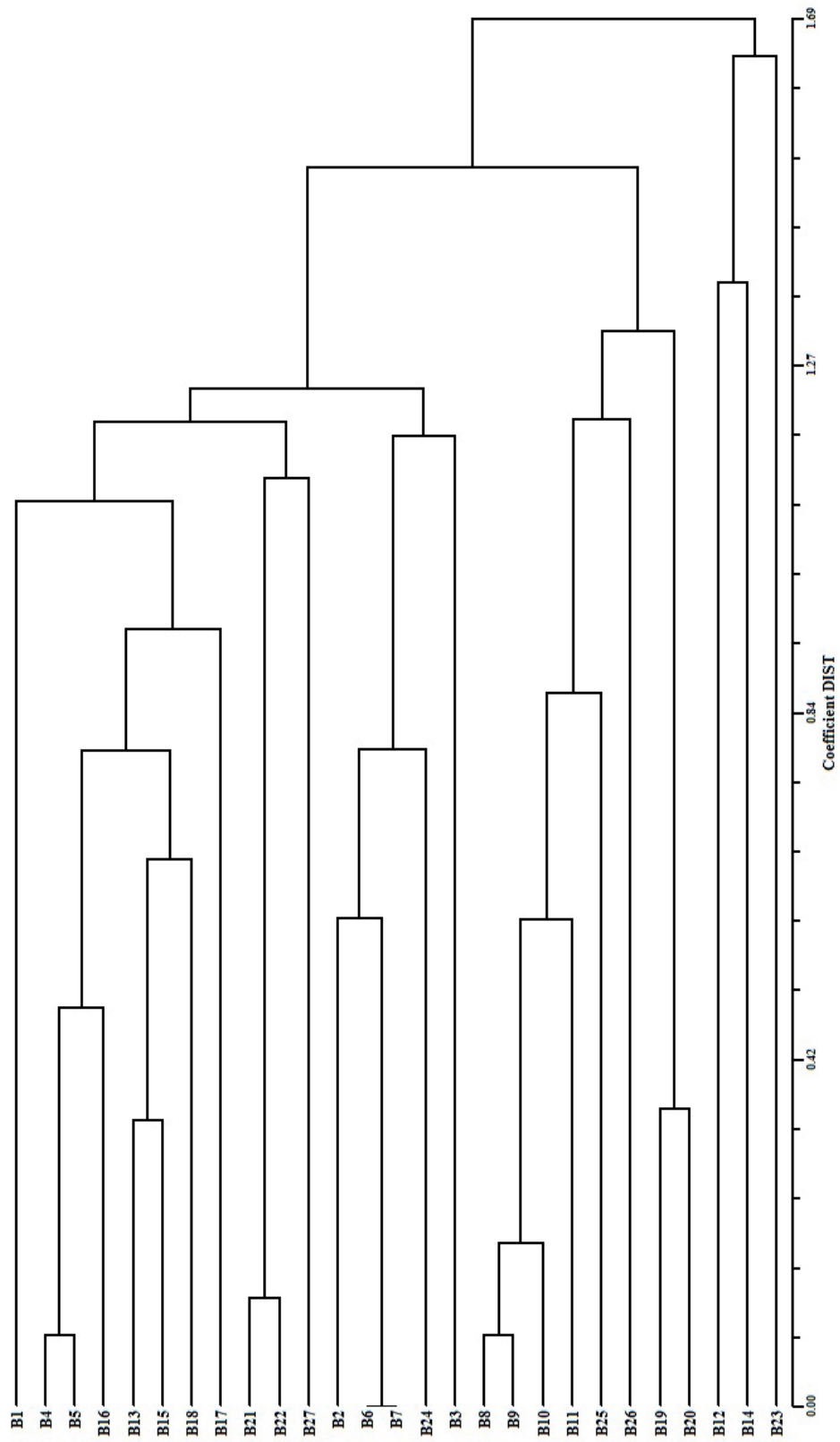
Ο βαθμός γενετικής ανομοιότητας (απόστασης) κάθε δυνατού ζεύγους των ποικιλιών που μελετήθηκαν, με βάση το συντελεστή Dist δίνεται στον πίνακα 49, ενώ το παραγόμενο δενδρόγραμμα φαίνεται στην εικόνα 62.

Στις εικόνες 63 και 64 φαίνεται η Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 και 3 διαστάσεις αντίστοιχα, με τη μέθοδο SSR με βάση το συντελεστή Dist.

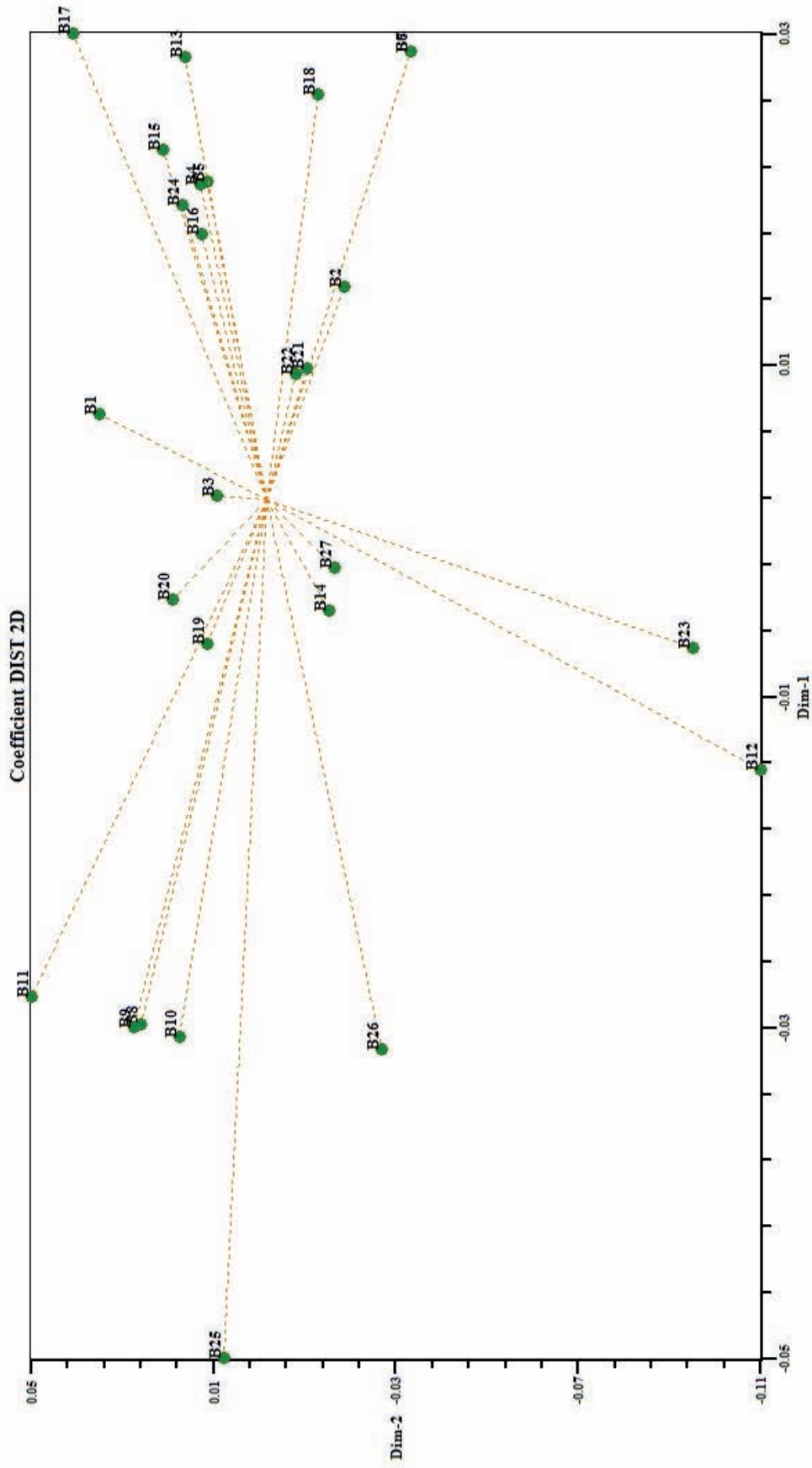
Πίν. 49. Βαθμός γενετικής ανομοιότητας των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο SSR με βάση το συντελεστή Dist (UPGMA).

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22	B23	B24	B25	B26	B27
B1	0,000																										
B2	1,162	0,000																									
B3	1,284	0,889	0,000																								
B4	0,893	1,256	1,271	0,000																							
B5	0,888	1,193	1,209	0,088	0,000																						
B6	1,405	0,594	1,329	1,319	1,259	0,000																					
B7	1,405	0,594	1,329	1,319	1,259	0,000	0,000																				
B8	1,265	1,302	1,113	1,481	1,457	1,680	1,680	0,000																			
B9	1,243	1,337	1,154	1,457	1,438	1,707	1,707	0,088	0,000																		
B10	1,258	1,324	1,169	1,445	1,426	1,665	1,665	0,209	0,189	0,000																	
B11	1,125	1,425	1,254	1,590	1,568	1,777	1,777	0,579	0,585	0,615	0,000																
B12	2,015	1,669	1,792	1,920	1,891	1,779	1,779	1,926	1,938	1,834	2,127	0,000															
B13	1,087	1,135	1,360	0,755	0,760	1,185	1,185	1,558	1,535	1,547	1,661	2,085	0,000														
B14	1,215	1,252	1,220	1,304	1,283	1,514	1,514	1,330	1,327	1,340	1,450	1,367	1,418	0,000													
B15	1,135	1,117	1,258	0,831	0,827	1,168	1,168	1,420	1,401	1,414	1,533	2,086	0,348	1,358	0,000												
B16	1,139	1,287	1,164	0,482	0,490	1,363	1,363	1,413	1,388	1,375	1,588	1,925	0,737	1,268	0,661	0,000											
B17	1,144	1,142	1,224	1,119	1,088	1,171	1,171	1,601	1,603	1,614	1,492	2,263	0,826	1,499	0,707	1,051	0,000										
B18	1,425	1,064	1,227	0,960	0,931	0,965	0,965	1,577	1,574	1,528	1,735	1,843	0,728	1,469	0,602	0,726	0,886	0,000									
B19	1,591	1,500	1,289	1,377	1,375	1,690	1,690	1,178	1,155	1,139	1,383	1,878	1,222	1,298	1,071	1,063	1,324	1,091	0,000								
B20	1,560	1,391	1,160	1,351	1,339	1,594	1,594	1,095	1,081	1,064	1,313	2,009	1,192	1,457	1,025	1,028	1,251	1,012	0,362	0,000							
B21	1,284	1,101	1,585	1,207	1,194	1,030	1,030	1,359	1,348	1,294	1,477	1,869	1,033	1,537	1,072	1,253	1,303	1,065	1,261	1,208	0,000						
B22	1,278	1,189	1,647	1,190	1,187	1,124	1,124	1,387	1,367	1,314	1,503	1,904	1,013	1,554	1,064	1,237	1,331	1,089	1,254	1,215	0,132	0,000					
B23	2,107	1,537	1,749	1,832	1,813	1,591	1,591	1,766	1,769	1,654	2,145	1,417	1,819	1,867	1,768	1,678	2,172	1,447	1,689	1,632	1,597	1,620	0,000				
B24	0,985	0,689	1,176	1,342	1,283	0,856	0,856	1,462	1,493	1,505	1,343	2,058	1,238	1,444	1,222	1,488	0,964	1,341	1,777	1,685	1,279	1,356	2,117	0,000			
B25	1,727	1,835	1,790	1,969	1,961	2,080	2,080	0,855	0,837	0,747	1,032	2,066	2,071	1,779	1,902	1,894	2,126	1,990	1,647	1,607	1,715	1,720	1,811	1,971	0,000		
B26	1,535	1,628	1,700	1,637	1,628	1,829	1,829	1,168	1,155	1,091	1,304	1,351	1,722	1,246	1,680	1,688	1,903	1,749	1,440	1,597	1,428	1,434	1,801	1,744	1,286	0,000	
B27	1,105	1,185	1,517	1,203	1,199	1,359	1,359	1,284	1,263	1,205	1,408	1,721	1,124	1,543	1,170	1,333	1,504	1,295	1,587	1,556	1,134	1,126	1,475	1,317	1,477	1,210	0,000

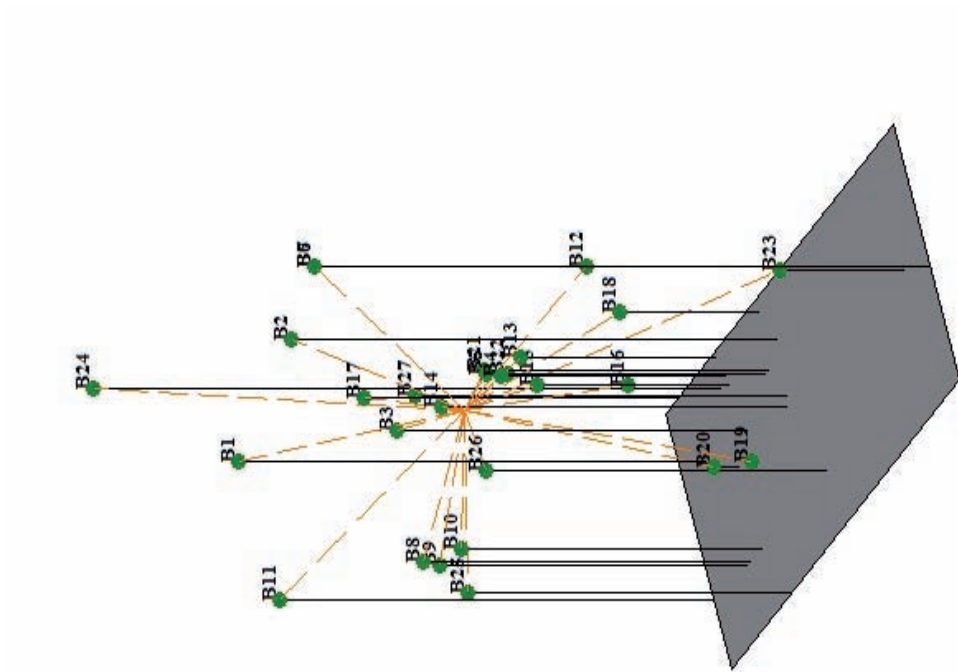
Εικ. 62. Δενδρογράμμα των ποικιλιών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο SSR με βάση το συντελεστή Dist (UPGMA).



Εικ. 63. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 2 διαστάσεις με τη μέθοδο SSR με βάση το συντελεστή Dist (UPGMA).



Εικ. 64. Ανάλυση Κύριων Συντεταγμένων για τις 3 διαστάσεις με τη μέθοδο SSR με βάση το συντελεστή Dist (UPGMA).



Όπως προκύπτει από το δενδρόγραμμα της εικόνας 62, η χρήση της SSR ανάλυσης είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική στη διάκριση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου, διαχωρίζοντας ποικιλίες όπου η μέθοδος για παράδειγμα των RAPDs, έδειχνε ταυτότητα. Βέβαια, και σε γενικές γραμμές, η συγκριτική μελέτη των δενδρογραμμάτων που προκύπτει από τη χρήση των τριών μοριακών μεθόδων (SSR, RAPD, AFLP) δεν αποκαλύπτει σημαντικές διαφορές και οι ποικιλίες τοποθετούνται στους ίδιους κλάδους του δενδρογράμματος και με τον ίδιο σχεδόν βαθμό γενετικής ομοιότητας ή ανομοιότητας. Για παράδειγμα, και προκειμένου για τις ποικιλίες Ερικαρά, Αρμελετούσα, Γιουρούκικο και Φωκιανό η μέθοδος RAPD δίνει ταυτότητα στις τρεις πρώτες και πολύ υψηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας με την τέταρτη, ενώ με τη μέθοδο SSR, προκύπτει διαχωρισμός και των τεσσάρων αλλά με τον χαμηλότερο βαθμό γενετικής ανομοιότητας μεταξύ όλων των ποικιλιών που μελετήθηκαν πλην του ζεύγους Σεριφιώτικο και Σταυροχιώτικο στις οποίες δίνει ταυτότητα. Πολύ μικρός είναι και ο βαθμός γενετικής ανομοιότητας μεταξύ των παραπάνω ποικιλιών (Σεριφιώτικο και Σταυροχιώτικο) με την ποικιλία Λαδικινό που φαίνεται να επιβεβαιώνει την υπόθεση ότι προέρχονται από κοινή ποικιλία. Από τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ακόμη ο πολύ χαμηλός βαθμός γενετικής ανομοιότητας των ποικιλιών ανατολικής προέλευσης και ιδιαίτερα της ποικιλίας Συρίκι με την ποικιλία Ξερομαχαιρούδα. Οι υπόλοιπες ποικιλίες καταλαμβάνουν την ίδια θέση στο δενδρόγραμμα επιβεβαιώνοντας τις προηγούμενες αναλύσεις και την αμπελογραφική περιγραφή. Αυτό ισχύει για τα ζεύγη ποικιλιών Ατσάλα – Ρομπόλα, Ασπρούδι Μυκηνών – Ασπρούδι Σπετσών και Αγριογλυκάδι – Γλυκάδα άσπρη.

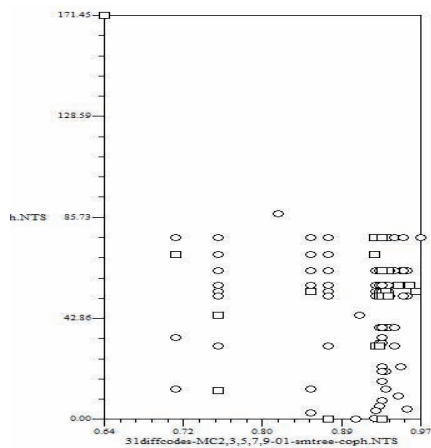
Γ. Σύγκριση δενδρογραμμάτων

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο συντελεστής του Mantel χρησιμοποιήθηκε για να συγκριθούν και να αξιολογηθούν οι τεχνικές μεταξύ τους (μέσω της σύγκρισης των μητρών ομοιότητας) αλλά και να εξεταστεί το κατά πόσο αντιπροσωπευτικές ήταν οι γραφικές απεικονίσεις των δεδομένων της μήτρας, με τη χρήση των συνφαινομενολογικών συντελεστών (corphenetic values). Ο συντελεστής Mantel έχει τιμή από -1 έως 1 και όσο η τιμή απολύτως πλησιάζει το 1, τόσο πιο πολύ μοιάζουν δύο συγκρινόμενες μήτρες ή πιο αντιπροσωπευτική είναι η γραφική απεικόνιση ενός δενδρογράμματος.

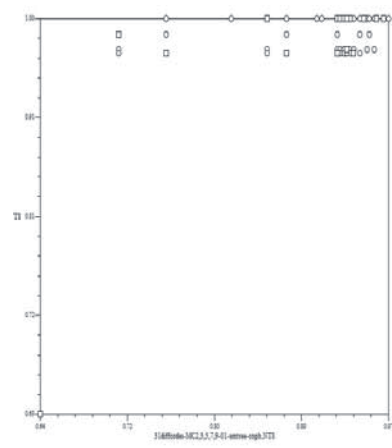
Ο συντελεστής συσχέτισης του Mantel (r) που αξιολογεί την αντιπροσωπευτικότητα των δενδρογραμμάτων τόσο μεταξύ της αμπελογραφικής περιγραφής και των μοριακών μεθόδων όσο και των μοριακών μεθόδων μεταξύ τους είναι σχετικά υψηλός για όλους τους συντελεστές που χρησιμοποιήθηκαν και κυμαίνεται σε απόλυτες τιμές από $r = 0,767$ έως $r = 0,935$. Ενδεικτικά, παρακάτω παρουσιάζονται οι συντελεστές συσχέτισης για τη σύγκριση δενδρογραμμάτων της αμπελογραφικής περιγραφής με τις μοριακές μεθόδους και των μοριακών μεθόδων μεταξύ τους (εικόνα 65).

Ο συντελεστής συσχέτισης Mantel για την αμπελογραφική περιγραφή και τη μέθοδο AFLP είναι $r = -0,935$, ενώ οι συντελεστές συσχέτισης Mantel για την αμπελογραφική περιγραφή με τις μεθόδους RAPD και SSR είναι $r = -0,910$ και $r = 0,767$ αντίστοιχα. Ο συντελεστής συσχέτισης Mantel για τις μοριακές μεθόδους AFLP και RAPD είναι $r = 0,823$, για τις μοριακές μεθόδους AFLP και SSR $r = -0,831$, ενώ ο αντίστοιχος για τις μοριακές μεθόδους RAPD και SSR είναι $r = -0,850$.

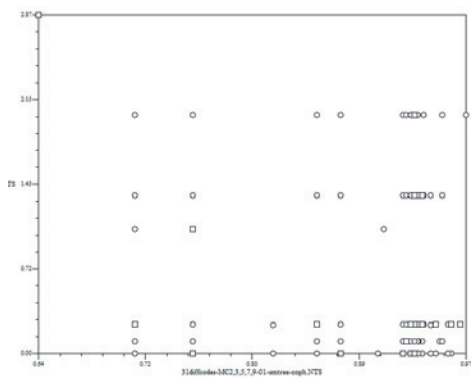
Εικ. 65. Σύγκριση δενδρογραμμάτων και συντελεστές συσχέτισης Mantel



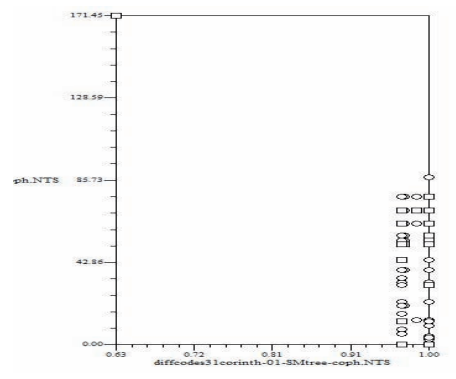
AFLP – Αμπελογραφικά ($r = -0,935$)



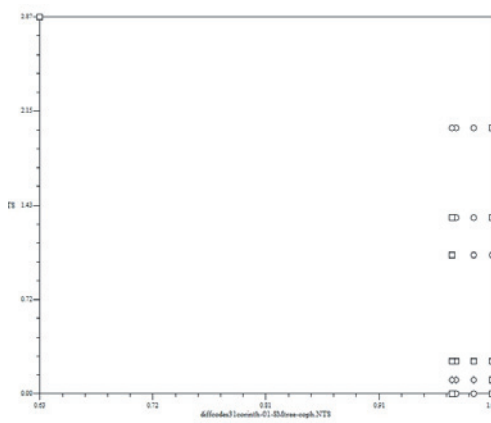
AFLP – RAPD ($r = 0,823$)



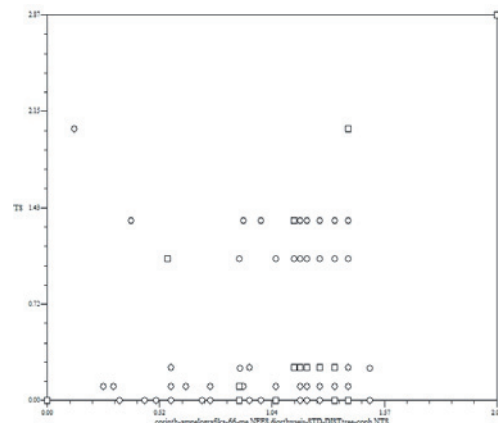
AFLP – SSR ($r = -0,831$)



RAPD – Αμπελογραφικά ($r = -0,910$)



RAPD – SSR ($r = -0,850$)



SSR – Αμπελογραφικά ($r = 0,767$)

Συμπεράσματα

Από τα αποτελέσματα της αμπελογραφικής περιγραφής και των μοριακών μεθόδων, όπως αναλυτικά παρουσιάστηκαν, προκύπτουν:

1. Η Κορινθιακή Σταφίδα, γηγενής κατά πάσα πιθανότητα ποικιλία του ελληνικού αμπελώνα, παρουσιάζει ένα πολύ μεγάλο αριθμό βιότυπων που διαφέρουν σε αμπελογραφικούς, παραγωγικούς, φυσιολογικούς χαρακτήρες, εξαιτίας της μακράιωνης καλλιέργειάς της στη Δυτική Ελλάδα, της επίδρασης περιβαλλοντικών και καλλιεργητικών παραγόντων και κυρίως της συσσώρευσης μεταλλάξεων. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά η πλήρης αμπελογραφική περιγραφή των διαφόρων βιότυπων (συνωνύμων, παραλλαγών, κλπ.) της Κορινθιακής Σταφίδας και στη συνέχεια η ταυτοποίηση και διάκριση με το συνδυασμό της αμπελογραφικής περιγραφής και των μοριακών μεθόδων. Με τον τρόπο αυτό ταυτοποιήθηκαν και διακρίθηκαν όλοι οι βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας από τα διάφορα καλλιεργητικά κέντρα και διαπιστώθηκε ότι οι αμπελογραφικές, φυσιολογικές και παραγωγικές διαφορές που παρατηρούνται στα διαφορετικά οικολογικά περιβάλλοντα οφείλονται κυρίως σε γενετικά αίτια και πρωτίστως στη συσσώρευση μεταλλάξεων. Άλλωστε, και η ίδια η αγίγαρτη Κορινθιακή Σταφίδα θεωρείται από πολλούς ερευνητές αποτέλεσμα μετάλλαξης. Η για πρώτη φορά διαπίστωση γενετικής ετερογένειας εντός της κάθε ομάδας των βιότυπων, όπως καθορίζεται από τα κέντρα καλλιέργειας ή προέλευσης ή ακόμη από φυσιολογικούς και παραγωγικούς χαρακτήρες (πρωιμότητα, παραγωγικότητα κ.ά.), δείχνει ότι οι βιότυποι είναι προϊόν μαζικής επιλογής κατά την πορεία εκατοντάδων χρόνων πρέμνων με ιδιαίτερους κατά περίπτωση χαρακτήρες που προήλθαν από μεταλλάξεις.

2. Η γενετική ποικιλομορφία που διαπιστώθηκε τόσο μεταξύ όσο και εντός των βιότυπων που μελετήθηκαν από τα διάφορα καλλιεργητικά κέντρα, δείχνει την εξαιρετικά μεγάλη γενετική πλαστικότητα της ποικιλίας Κορινθιακή Σταφίδα που μπορεί να αποτελέσει υπόβαθρο στα προγράμματα κλωνικής επιλογής ώστε να αξιοποιηθούν οι πολυτιμότεροι κλώνοι από τον κάθε βιότυπο. Για παράδειγμα, οι βιότυποι που προέρχονται από τη Ζάκυνθο (“ντόπιο” και “πρώιμο”) και εντός των οποίων διαπιστώθηκε γενετική ετερογένεια περιλαμβάνουν ιδιαίτερα αξιόλογους κλώνους και μέσω της κλωνικής επιλογής θα επιλεγούν οι καταλληλότεροι κατά περίπτωση που θα συνδυάζουν την πρωιμότητα και το βαθύτερο χρωματισμό του φλοιού. Το ίδιο ισχύει και για τους κλώνους που εν δυνάμει περιλαμβάνονται στους λοιπούς βιότυπους και ειδικά σε ορισμένους με προέλευση την Κεφαλληνία που συνδυάζουν την παραγωγικότητα με το άριστο χρώμα φλοιού και το μικρότερο

ποσοστό αγίγαρτων ραγών. Στην κατεύθυνση αυτή, τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής με τη χρήση της αμπελογραφικής περιγραφής και των μοριακών δεικτών μπορούν να αποτελέσουν, όπως αναφέρθηκε, σταθερό γενετικό υπόβαθρο και παράλληλα, να βοηθήσουν αποτελεσματικά τα προγράμματα της κλωνικής επιλογής στη διαδικασία επισήμανσης και επιλογής, στη σημαντική συντόμηση της διάρκειάς της και στο δραστικό περιορισμό του κόστους εφαρμογής, που από τη φύση της εργασίας αυτής είναι εξαιρετικά υψηλό.

3. Όσον αφορά την Κορινθιακή λευκή, οι μοριακές μέθοδοι επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα της αμπελογραφικής περιγραφής, ότι δηλαδή είναι διαφορετική ποικιλία αμπέλου και δεν αποτελεί χρωματική μετάλλαξη της Κορινθιακής Σταφίδας. Τα αποτελέσματα της συνδυασμένης εφαρμογής της αμπελογραφικής περιγραφής και των μοριακών μεθόδων έδειξαν ακόμη την εντός της τυπικής ποικιλίας γενετική διαφοροποίηση με την ύπαρξη διακριτών κλώνων και με την επισήμανση ότι ο βιότυπος της Αιγιάλειας παρουσιάζει μικρότερο βαθμό γενετικής ομοιότητας με τους υπόλοιπους.

4. Τα δεδομένα από την εργασία αυτή δείχνουν ότι ποικιλίες που καλλιεργούνται διάσπαρτα σε ολόκληρη την Ελλάδα με διαφορετικά ονόματα ή συνώνυμα και είναι ανατολικής προέλευσης (Συρίκι, Ξερομαχαιρούδα, Εφτάκοιλο, Ερικαράς, Φωκιανό Αρμελετούσα, Γιουρούκι, Λαδικινό), παρά τις επί μέρους διαφορές σε ορισμένους αμπελογραφικούς χαρακτήρες, παρουσιάζουν γενετικές ομοιότητες που ενισχύουν την υπόθεση ότι πιθανόν προέρχονται από κοινή γονεϊκή ποικιλία προερχόμενη είτε από το αρχικό γενετικό κέντρο δημιουργίας της καυκασιανής αμπέλου ή από το δευτερογενές κέντρο της ευρύτερης περιοχής του Αιγαίου μαζί με άλλες ελληνικές ποικιλίες (Λογοθέτης 1955). Για το θέμα αυτό απαιτείται περαιτέρω έρευνα που θα συμπεριλάβει πιθανούς βιότυπους της άγριας αμπέλου των καλλιεργητικών κέντρων του Αιγαίου και των ανατολικών περιοχών. Ειδικά ως προς την ομάδα Φωκιανό, Ερικαράς, Αρμελετούσα, Γιουρούκι, τόσο οι αμπελογραφικές περιγραφές όσο και οι μοριακές μέθοδοι δείχνουν ότι πρόκειται περί στενά συγγενών ποικιλιών που προέρχονται από την ίδια γονεϊκή ποικιλία. Η μεγάλη γενετική συγγένεια μεταξύ τους φαίνεται από το γεγονός ότι άλλοτε αντιμετωπίζονται ως διαφορετικές αλλά στενά συγγενείς ποικιλίες και άλλοτε ως συνώνυμες (Κριμπάς 1943, Λογοθέτης 1955, Νταβίδης 1982). Από την εργασία αυτή προκύπτει ότι πρόκειται περί κλώνων της ίδιας ποικιλίας (πιθανότατα Φωκιανό) αν και απαιτούνται περαιτέρω μελέτες. Παράλληλα, με την εργασία αυτή δείχτηκε ότι οι ποικιλίες Σταυροχιώτικο και Σεριφιώτικο αποτελούν χαρακτηριστικό παράδειγμα ποικιλιών που οφείλουν τη ονομασία τους στην περιοχή καλλιέργειας ενώ είναι πολύ στενά συγγενείς. Το ίδιο συμβαίνει και με τις ποικιλίες Ρομπόλα και Ατσάλα που αποδίδονται με διαφορετικά ονόματα ενώ πρόκειται περί πολύ στενά συγγενών ποικιλιών ή ακόμη και κλώνων της ίδιας ποικιλίας, ενώ ως συνώνυμο της ποικιλίας Ατσάλα αναφέρεται μια ποικιλία

(φερόμενη ως χρωματική μετάλλαξη της ποικιλίας Βερτζαμί), το Ασπροβέρτζαμο. Από την άλλη πλευρά, τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής έδειξαν ότι, όπως και για την περίπτωση της Κορινθιακής Σταφίδας με την Κορινθιακή λευκή, η ποικιλία Ρομπόλα δεν αποτελεί χρωματική μετάλλαξη της ποικιλίας Κοκκινορομπόλα, ενώ η τελευταία είναι συγγενής με την ποικιλία Καρυστινό.

5. Ως προς τα “Ασπρούδια”, επιβεβαιώνονται οι αμπελογραφικές περιγραφές (Κριμπάς 1943) αλλά και τα δεδομένα της βιοχημικής μεθόδου με τη χρήση των ενζυμικών πολυμορφισμών που ανιχνεύονται ηλεκτροφορητικά (Σταυρακάκης και Λουκάς 1985) ότι πρόκειται περί συγγενών ποικιλιών με κοινή προέλευση. Επιπλέον, τα αποτελέσματα της έρευνάς μας με το συνδυασμό των τριών μοριακών μεθόδων επέτρεψε την επί μέρους ομαδοποίηση των Ασπρουδιών ανάλογα με το κέντρο καλλιέργειας. Έτσι, τα Ασπρούδια Αχαΐας και Ζακύνθου δείχνουν μεγαλύτερο βαθμό γενετικής ομοιότητας μεταξύ τους σε σχέση με τα λοιπά Ασπρούδια. Το ίδιο συμβαίνει και με τα Ασπρούδια Μυκηνών, Σπετσών όπως και με τα Ασπρούδια του κυκλαδίτικου αμπελώνα. Το ίδιο ισχύει και για τις ποικιλίες που προσδιορίζονται από την υψηλή περιεκτικότητα του χυμού σε σάκχαρα Αγριογλυκάδι, Γλυκάδα άσπρη, Γλυκέρι και ιδιαίτερα μεταξύ των πρώτων.

6. Η χρήση των μοριακών μεθόδων επιβεβαιώνει στο σύνολο σχεδόν των περιπτώσεων τα δεδομένα της αμπελογραφικής περιγραφής. Από τις μοριακές μεθόδους, περισσότερο αποτελεσματική στη μελέτη προσδιορισμού της εντός των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου γενετικής ποικιλομορφίας είναι οι δείκτες της μεθόδου AFLP που εφαρμόστηκαν για πρώτη φορά στις ελληνικές ποικιλίες αμπέλου σε σχέση με τους αντίστοιχους των μικροδορυφόρων και της μεθόδου RAPD. Επίσης, η χρήση της μεθόδου AFLP υπήρξε ιδιαίτερα αποτελεσματική σε σχέση με τις μάλλον περιορισμένες δυνατότητες των δύο άλλων μοριακών μεθόδων στην ταυτοποίηση και διάκριση όλων των βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας του ελληνικού αμπελώνα, αλλά και της εντός του κάθε γονότυπου γενετικής ετερογένειας με την παρουσία κλώνων. Από τη συγκριτική αξιολόγησή τους και σε προοπτική αποτελεσματικής εφαρμογής τους στον ελληνικό αμπελώνα σε συνδυασμό με την αμπελογραφική περιγραφή προκύπτει ότι για μεν τη διάκριση των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου συνιστάται ο συνδυασμός κατά κύριο λόγο της αμπελογραφικής περιγραφής με την SSR ανάλυση και ακολούθως με τις AFLP, RAPD, ενώ για τη γενετική μελέτη της πολυκλωνικής σύνθεσης των ποικιλιών ο συνδυασμός της αμπελογραφικής περιγραφής με την AFLP ανάλυση.

Συμπερασματικά, από την παρούσα μελέτη τεκμηριώνεται ο αναντικατάστατος ρόλος της αμπελογραφικής περιγραφής και η μεγάλη αποτελεσματικότητα του συνδυασμού των μεθόδων της Αμπελογραφίας με τις μοριακές μεθόδους για την ταυτοποίηση και διάκριση των καλλιεργούμενων

ποικιλιών αμπέλου αλλά και της σημαντικής συμβολής της μεθόδου AFLP (σε σχέση με τις μεθόδους SSR και RAPD) στη μελέτη της πολυκλωνικότητας ποικιλιών αμπέλου, όπως η Κορινθιακή Σταφίδα. Τα αποτελέσματα αυτά, εκτός από το επιστημονικό και ερευνητικό ενδιαφέρον, μπορούν να έχουν άμεση εφαρμογή στην αμπελοκομική πράξη και στην εφαρμογή προγραμμάτων κλωνικής επιλογής για την ανάδειξη των πολυτιμότερων κλώνων των διαφόρων βιότυπων της Κορινθιακής Σταφίδας ή ακόμη την άντληση πολύτιμου γενετικού υλικού σε προγράμματα έρευνας και βελτίωσης σχετικά με τη γενετική βάση της απυρηνίας σε παρθενοκαρπικές ποικιλίες αμπέλου, όπως είναι η Κορινθιακή Σταφίδα και η Κορινθιακή λευκή.



Βιβλιογραφία

Agarwal, M., Shrivastava, N. and Padh, H., 2008. Advances in molecular techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep* **27**: 617 – 631.

Alba, V., Anaclerio, A., Gasparro, M., Caputo, A.R., Montemurro, C., Blanco, A. and Antonacci, D., 2011. Ampelographic and molecular characterization of Aglianico Accessions (*Vitis vinifera* L.) collected in Southern Italy. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* Vol. 32, No.2, 164 – 173.

Alleweldt, G. and Possingham, J.V., 1988. Progress in grapevine breeding. *Theor. Appl. Gen.* **75**: 669 – 673.

Alleweldt, G. and Dettweiler, E., 1994. The Genetic Resources of Vitis: World List of Grapevine Collections (2nd edition), Geilweilerhof.

Anhalt, U.C.M., Martinez, S.C., Rühl, E. and Forneck, A., 2011. Dynamic grapevine clones – an AFLP-marker study of the *Vitis vinifera* cultivar Riesling comprising 86 clones. *Tree Genetics & Genomes* **7**: 739 – 746.

Applied Biosystems, 2007. AFLP Plant Mapping Protocol. USA.

Aradhya, M.K., Dangl, G.S., Prins, B.H., Boursiquot, J.M., Walker, M.A., Meredith, C.P., and Simon, C.J., 2003. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. *Genet. Res. Camb.* **81**: 179 – 192.

Aradhya, M.K., Wang, Y., Walker, M.A., Prins, B.H., Koehmstedt, A.M., Velasco, D., Gerrath, J.M., Dangl, G.S. and Preece, J.E., 2013. Genetic diversity, structure and patterns of differentiation in the genus *Vitis*. *Plant. Syst. Evol.* **299**: 317 – 330.

Arroyo-García, R., Ruiz-García, L., Bolling, L., Ocete, R., López, M.A., Arnold, C., Ergul, A., Söylemezoflu, G., Uzun, H.I., Cabello, F., Ibáñez, J., Aradhya, M.K., Atanassov, A., Atanassov, I., Balint, S., Cenis, J.L., Costantini, L., Gorislavets, S., Grando, M.S., Klein, B.Y., McGovern, P.E., Merdinoglu, D., Pejic, I., Pelsy, F., Primikirios, N., Risovannaya, V., Roubelakis-Angelakis, K.A., Snoussi, H., Sotiri, P., Tamhankar, S., This, P., Troshin, L., Malpica, J.M., Lefort, F., Martinez-Zapater, J.M., 2006. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L., ssp sativa) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Mol. Ecol.* **15**(12): 3707 – 3714.

Αβαγιαννέλη, Β., 2005. Μελέτη των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) με την εφαρμογή μοριακών δεικτών (SSR). Μεταπτυχιακή Διατριβή. Αθήνα.

Αναγνωστόπουλος, Γ., 2003. Μελέτη των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) με την εφαρμογή μοριακών δεικτών (SSR). Μεταπτυχιακή Διατριβή. Αθήνα.

Bardakci, F., 2001. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Turk. J. Biol.* **25**: 185 – 196.

Biniari, K. and Stavrakakis, M.N., 2013. The ‘vine of Pausanias’ and the group of grape cultivars ‘Mavroudia’ of the vineyard of Peloponnese. 3rd International Symposium Ampelos 2013 ‘Trends in world vitiviniculture development’, 30-31 May 2013, Santorini island, Greece.

Blaich, R., Konradi, J., Ruhl, E. and Fomeck, A., 2007. Assessing genetic variation among Pinot noir (*Vitis vinifera* L.) clones with AFLP markers. *Am. J. Enol. Vitic.* **58**(4): 526 – 529.

Blanco, J.L., 1997. La plus vieille histoire du vin. In L’Histoire du vin, une histoire de rites (Office International de la Vigne et du Vin, eds), pp. 31 – 41, Salomon.

Botta, R., Scott, N.S., Eynard, L. and Thomas, M.R., 1995. Evaluation of microsatellite sequence-tagged site markers for characterizing *Vitis vinifera* cultivars. *Vitis* **34**(2), 99 – 102.

Bouby, L., Figueiral, I., Bouchette, A., Rovira, N., Ivorra, S., Lacombe, T., Pastor, T., Picq, S., Marival, P. and Terral, J.F., 2013. Bioarchaeological insights into the process of domestication of grapevine (*Vitis vinifera* L.) during Roman times in Southern France. *PLoS ONE* **8**(5): e63195. doi:10.1371/journal.pone.0063195

Bouquet, A., 1980. *Vitis* x *Muscadinia* hybridization: a new way in grape breeding for disease resistance in France. Proc. 3rd Int. Symp. Grape Breeding, Univ. Calif. Davis, p. 42 – 61.

Bourquin, J.C., Otten, L. and Walter, B., 1995. PCR – RFLP analysis of *Vitis*, *Ampelopsis* and *Parthenocissus* and its application to the identification of rootstocks. *Vitis* **34**(2): 103 – 108.

Boursiquot, J.M., Lacombe, T., Laucou, V., Julliard, S., Perrin, F.X., Lanier, N., Legrand, D., Meredith, C. and This, P., 2009. Parentage of Merlot and related winegrape cultivars of southwestern France: discovery of the missing link. *Aust. J. Grape Wine R.* **15**: 144 – 155.

Bowers, J.E. and Meredith, C.P., 1996. Genetic similarities among wine grape cultivars revealed by restriction fragment – length polymorphism (RFLP) analysis. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **121**(4): 620 – 624.

Bowers, J.E., Dangl, G.S., Vignani, R. and Meredith C.P., 1996. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome* **39**: 628 – 633.

Bowers, J.E. and Meredith, C.P., 1997. The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon. *Nature Genet.* **16**: 84 – 87.

Bowers, J.E., Boursiquot, J.M., This, P., Chu, K., Johansson, H. and Meredith, C., 1999. Historical Genetics: The Parentage of Chardonnay, Gamay and other wine grapes of northeastern France. *Science* Vol. 285, no. 5433 1562 – 1565.

Bowers, J.E., Dangl, G.S. and Meredith, C.P., 1999. Development and characterization of additional Microsatellite DNA markers for grape. *Am. J. Enol. Vitic.* **50**(3): 243 – 246.

Βλάχος, Μ., 1986. Αμπελογραφία. Θεσσαλονίκη.

Castro, I., D' Onofrio, C., Martin, J.P., Ortiz, J.M., De Lorenzis, G., Ferreira, V. and Pinto-Carnide, O., 2012. Effectiveness of AFLPs and Retrotransposon-based markers for the identification of Portuguese grapevine cultivars and clones. *Mol. Biotechnol.* **52**(1): 26 – 39.

Collins, G.G. and Symons, R.H., 1993. Polymorphisms in grapevine DNA detected by the RAPD – PCR technique. *Plant. Mol. Biol. Rep.* **11**: 105 – 112.

De Andrés, M.T., Benito, A., Pérez-Rivera, G., Ocete, R., Lopez, M.A., Gaforio, L., Muñoz, G., Cabello, F., Martínez Zapater, J.M. and Arroyo-García, R., 2012. Genetic diversity of wild grapevine populations in Spain and their genetic relationships with cultivated grapevines. *Mol. Ecol.* **21**(4): 800 – 816.

De Lattin, G., 1939. Über den Ursprung und die Verarbeitung der Reben. *Züchter* **11**: 217 – 225.

De Lorenzis, G., Imazio, S., Rusjan, D., Vouillamoz, J.F., Nikolaou, N., Failla, O. and Scienza, A., 2013. Genetic investigation of grapevine varieties “Ribolla Gialla” (Italy), “Rebula” (Slovenia) and “Robola” (Ionian Islands). *Scientia Horticulturae* **150**: 425 – 431.

De Saporta, G., 1879. Le monde des plantes avant l'apparition de l'homme. Masson (Paris).

D' Onofrio, C., De Lorenzis, G., Giordani, T., Natali, L., Cavallini, A. and Scalabrelli, G., 2010. Retrotransposon-based molecular markers for grapevine species and cultivars identification. *Tree Genetics & Genomes* **6**: 451 – 466.

Doazan, J.P. and Rives, M., 1967. Sur le déterminisme génétique de sexe dans le genre *Vitis*. *Ann. Amélior. Plantes* **17**: 105 – 111.

Ergul, A., Marasali, B. and Agaoglu, Y.S., 2002. Molecular discrimination and identification of some Turkish grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) by RAPD markers. *Vitis* **41**(3): 159 – 160.

Evans, A. Sir, 1925. The early Nilotic, Libyan and Egyptian relations with Minoan Crete. London Royal Anthropological Institute of Great Britain and Ireland.

Fanizza, G., Lamaj, F., Resta, P., Ricciardi L. and Savino, V., 2005. Grapevine cvs Primitivo, Zinfandel and Crljenak kastelanski: molecular analysis by AFLP. *Vitis* **44**: 147 – 148.

Friend, A.P., 2005. Fruit set and berry development in *Vitis vinifera* L. PhD thesis. Lincoln University. New Zealand.

Galet, P., 1988. Cépages et Vignobles de France. Tome I. Les Vignes Américaines, 2ème Ed. Imprimerie Charles Déhan, Montpellier, France.

Galet, P., 2000. General Viticulture, English Edition, Oenoplurimedia, Chaintré, France.

Giannetto, S., Caruana, R., La Notte, P., Costacurta, A. and Crespan, M., 2010. A Survey of Maltese Grapevine Germplasm Using SSR Markers. *Am. J. Enol. Vitic.* **61**(3): 419 – 424.

Grando, M.S., De Micheli, L., Biasetto, L. and Scienza, A., 1995. RAPD markers in wild and cultivated *Vitis vinifera*. *Vitis* **34**: 37 – 39.

Grassi, F., Labra, M., Imazio, S., Spada, A., Sgorbati, S., Scienza, A. and Sala, F., 2003. Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis. *Theor. Appl. Genet.* **107**: 1315 – 1320.

Guillon, J.M., 1895. Les cépages orientaux. G. Carre. Paris.

Guo, D., Zhang, J., Liu, C., Zhang, G., Li, M. and Zhang, Q., 2012. Genetic variability and relationships between and within grape cultivated varieties and wild species based on SRAP markers. *Tree Genetics & Genomes* **8**: 789 – 800.

Harmon, F.N. and Snyder, E., 1936. A seeded mutation of Panariti grape. *Jour. Her.* **27**: 77 – 78.

Hughey, J.R., Paschou, P., Drineas, P., Mastropaolo, D., Lotakis, D.M., Navas, P.A., Michalodimitrakis, M., Stamatoyannopoulos, J.A. and Stamatoyannopoulos, G., 2013. A European population in Minoan Bronze Age Crete. *Nature Communications* **4**: 1861, doi: 10.1038/ncomms2871

Ibáñez, J., de Andrés, M.T. and Borrego, J., 2000. Allelic variation observed at one microsatellite locus between the two synonym grape cultivars Black Currant and Mavri Corinthiaki. *Vitis* **39**(4): 173 – 174.

Imazio, S., Labra, M., Grassi, F., Winfield, M., Bardini, M. and Scienza, A., 2002. Molecular tools for clone identification: the case of the grapevine cultivar 'Traminer'. *Plant Breeding* **121**: 531 – 535.

Jean-Jacques, I., Defontaine, A. and Hallet, J.N., 1993. Characterization of *Vitis vinifera* cultivars by Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Vitis* **32**: 189 – 190.

Καλαντίδης, Κ., Μηλιώνη, Δ., Παπαδοπούλου, Κ., Ρήγας, Σ., Ρούσσης, Α., Χαραλαμπίδης, Κ. και Χατζόπουλος, Π., 2009. Αναπτυξιακή Μοριακή Βιολογία Φυτών. Εκδόσεις Έμβρυο.

Κουράκου – Δραγώνα Στ., 2013. Άμπελος και Οίνος, στον αρχαίο ελληνικό πολιτισμό. Εκδόσεις του Φοίνικα. Αθήνα.

Κριμπάς, Β.Δ., 1929. Η πήρωση των γιγάρτων της σταφιδαμπέλου. Πρακτικά της Ακαδημίας Αθηνών (Συνεδρίαση της 12 Δεκεμβρίου 1929).

Κριμπάς, Β.Δ., 1930. Η καταγωγή της σταφιδαμπέλου. Πρακτικά της Ακαδημίας Αθηνών (Συνεδρίαση της 9 Δεκεμβρίου 1930).

Κριμπάς, Β.Δ., 1938. Σύστημα ταξινόμησης των εν Ελλάδι φυομένων ποικιλιών Αμπέλου της οινοφόρου. Αθήναι.

Κριμπάς, Β.Δ., 1943. Ελληνική Αμπελογραφία, τ. 1. Αθήναι.

Κριμπάς, Β.Δ., 1944. Ελληνική Αμπελογραφία, τ. 2. Αθήναι.

Κριμπάς, Β.Δ., 1949. Ελληνική Αμπελογραφία, τ. 3. Αθήναι.

Ledbetter, C.A. and Shonnard, C.B., 1991. Berry and seed characteristics associated with stenospermy in *Vinifera* grapes. *J. Hortic. Sci. Biotech.* **66**(2): 247 – 252.

Levadoux, L., 1956. Les populations sauvages et cultivées de *Vitis vinifera* L. *Ann. Amélior. Plantes* **6**, 59 – 118.

Lindley, J., 1836. Natural System of Botany or a Systematic View of the Organisation, Natural Affinities and Geographical Distribution of the Whole Vegetable Kingdom. Together With the Uses of the Most Important Species in Medicine, the Arts and Rural or Domestic Economy. Longman, Rees, Orme, Brown, Green and Longman, London.

Linnaeus, C., 1753. *Species Plantarum*, 2 τ. Salvius, Holmiae, ανατύπωση 1957, *Carl Linnaeus: A Fascimile of the First Edition 1753*, 2 τ. Ray Society, London.

Lodhi, M.A., Ye, G.N., Weeden, N.F. and Reisch, B.I., 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and *Vitis* species. *Plant Molecular Biology Reporter* **12**(1): 6 – 13.

Loukas, M., Stavrakakis, M.N. and Krimbas, C.B., 1983. Inheritance of polymorphic isoenzymes in grape cultivars. *The Journal of Heredity* **74**: 181 – 183.

Λογοθέτης, Β.Χ., 1955. Ελληνική αμπελογραφία. *Επιστημονική Επετηρίς Γεωπονικής και Δασολογικής Σχολής Α.Π.Θ.* Θεσσαλονίκη, **3**: 1 – 28.

Λογοθέτης, Β.Χ., 1970. Η εξέλιξις της αμπέλου και της αμπελουργίας εις την Ελλάδα κατά τα αρχαιολογικά ευρήματα της περιοχής. Θεσσαλονίκη.

Λογοθέτης, Β.Χ., 1975. Συμβολή της αμπέλου και του οίνου εις τον πολιτισμό της Ελλάδος και της Ανατολικής Μεσογείου. *Επιστημονική Επετηρίς Γεωπονικής και Δασολογικής Σχολής Α.Π.Θ.* **17**: 1 – 286.

Λογοθέτης, Β.Χ. και Βλάχος, Μ., 1963. Ελληνική Αμπελογραφία. Γ'. Επετηρίς Γεωπονικής και Δασολογικής Σχολής Α.Π.Θ., τ.8: 21 – 70.

Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* **27**: 209 – 220.

Marsal, G., Baiges, I., Canals, J.M., Zamora, F. and Fort, F., 2011. A fast, efficient method for extracting DNA from leaves, stems and seeds from *Vitis vinifera* L. *Am. J. Enol. Vitic.* **62**:3: 376 – 381.

McGovern, P.E., 2003. Ancient wine: the search for the origins of viniculture. Princeton University Press. Princeton, New Jersey.

Meneghetti, S., Calò, A. and Bavaresco, L., 2012. A strategy to investigate the intravarietal genetic variability in *Vitis vinifera* L. for clones and biotypes identification and to correlate molecular profiles with morphological traits or geographic origins. *Mol. Biotechnol.* **52**: 68 – 81.

Meneghetti, S., Costacurta, A., Morreale, G. and Calò, A., 2012. Study of intra-variety genetic variability in grapevine cultivars by PCR-derived molecular markers and correlations with the geographic origins. *Mol. Biotechnol.* **50**: 72 – 85.

Meneghetti, S., Bavaresco, L., Calò, A. and Costacurta, A., 2013. Inter- and intra-variety genetic variability in *Vitis vinifera* L. The Mediterranean Genetic Code – Grapevine and Olive, Chapter 4, pp.73 – 96. <http://dx.doi.org/10.5772/52847>

Merdinoglu, D., Butterlin, G., Bevilacqua, L., Chiquet, V., Adam-Blondon, A.F. and Decroocq, S., 2005. Development and characterization of a large set of microsatellite markers in grapevine (*Vitis vinifera* L.) suitable for multiplex PCR. *Mol. Breeding.* **15**: 349 – 366.

Molon, G., 1906. Ampelografia. U. Hoepli. Milano.

Mullins, M.G., Bouquet, A. and Williams, L.E., 1992. Biology of the Grapevine. Cambridge University Press, Cambridge.

Mullis, K. and Faloona, F., 1986. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* **155**: 350 – 355.

Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. and Erlich, H., 1987. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The Polymerase Chain Reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* **51** (Pt 1): 263 – 273.

Myles, S., Boyko, A.R., Owens, C.L., Brown, P.J., Grassi, F., Aradhya, M.K., Prins, B., Reynolds, A., Chia, J.-M., Ware, D., Bustamante, C.D. and Buckler, E.S., 2011. Genetic structure and domestication history of the grape. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **108**(9): 3530 – 3535. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1009363108

Μπινιάρη, Κ., 2000. Ταυτοποίηση και έλεγχος γνησιότητας καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου με τη χρήση μοριακών μεθόδων (RAPD-PCR). Διδακτορική Διατριβή. Αθήνα.

Negrul, A.M., 1957. La vigne euro-asiatique en tant que matériel servant de point de depart à la selection. *Bulletin de l'OIV* **318**: 44 – 55.

Nei, M. and Li, W.H., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**: 5273 – 5296.

Νταβίδης, Ο.Ξ., 1982. Ελληνική Αμπελολογία (Δοκίμιον). τ Γ', Στοιχεία Αμπελογραφίας, Ανωτάτη Γεωπονική Σχολή Αθηνών, Αθήνα.

OIV, 2009. 2nd Edition of the OIV Descriptor List for grape varieties and *Vitis* species. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. <http://www.oiv.org>

Olmo, H.P., 1978. Evolution of cultivated grape varieties in California. *Annales de technologie Agricole* **27**(1): 15 – 26.

Pearson, H.M., 1932. Parthenocarpy and seedlessness in *Vitis vinifera*. *Science* **76**: 594.

Pearson, H.M., 1932. Parthenocarpy and seed abortion in *Vitis vinifera*. *Proc. Amer. Soc. Hort.* **29**: 169 – 175.

Pegolotti, F.B., 1340. La pratica della mercatura στο Allan Evans, Francesco Balducci Pegolotti: La pratica della mercatura, Cambridge (Mass.): The Mediaeval Academy of America, 1936.

Pelengić, R. and Rusjan, D., 2010. Efficacy of ampelographic and phyllometric tools for the validation of grapevine *Vitis vinifera* L. biodiversity in Slovenia. *Int. J. Food. Agr. Environ.* **8**: 563-568.

Péros, J.P., Berger, G., Portemont, A., Boursiquot, J.M. and Lacombe, T., 2011. Genetic variation and biogeography of the disjunct *Vitis* subg. *Vitis* (Vitaceae). *J. Biogeogr.* **38**: 471 – 486.

Peršurić, D., Ilak Peršurić A.S., Godena, S., Sinčić M., Petrušić, D. and Užila, Z., 2012. Ampleographic description and sanitary analysis of four Istrian grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.). *Agriculturae Conspectus Scientificus*, Vol. 77, No. 2, 113-117.

Planchon, J.E., 1887. Monographie des Ampélidées varies, στο A.F.P.P. de Candolle και C. de Candolle (εκδ.), *Monographiae Phanaerogamarum* 5, Paris, 305 – 654.

Qu, X., Lu, J. and Lamikanra, O., 1996. Genetic diversity in Muscadine and American bunch grapes based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **121**(6): 1020 – 1023.

Regner, F., Stadlbauer, A., Eisenheld, C. and Kaserer, H., 2000. Genetic relationships among Pinots and related cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.* **51**(1): 7 – 14.

Reisch, B.I., Ye, G.N., Lamboy, W.F., Weeden, N.F., Pool, R.M. and Soylemezoglu, G., 1998. Analysis of the relationship between grapevine cultivars, sports and clones via DNA fingerprinting. *Vitis* (**37**): 33 – 38.

Reisch, B.I., Owens C.L. and Cousins, P.S., 2012. Fruit Breeding. Handbook of Plant Breeding Volume 8, Chapter 7, Grape, pp. 225 – 262.

Robinson, J., Harding, J. and Voulliamoz, J., 2012. Wine grapes. A complete guide to 1.368 vine varieties, including their origins and flavours. Penguin books Ltd. London.

Rohlf, F.J., 1983. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.0.2i. Exeter Software, Setauket, N.Y.

Rohlf, F.J., 2000. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1. Exeter Software, Setauket, N.Y.

Rohlf, F.J. and Sokal, R.R., 1981. Comparing numerical taxonomic studies. *Syst. Biol.* **30**(4): 459 – 490.

Rogers, D.J. and Rogers, C.F., 1978. Systematics of North American grape species. *Am. J. Enol. Vitic.* **29**(2):73 – 78.

Saitou, N. and Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**(4): 406 – 425.

Sambrook, J. and Russell, D.W., 2001. *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*. Third Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

Santiago, J.-L., Boso, S., Martinez, M.-C., Pinto-Carnide, O., Ortiz, J.M., 2005. Ampelographic comparison of grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) grown in Northwestern Spain and Northern Portugal. *Am. J. Enol. Vitic.* **56**(3): 287 – 290.

Sefc, K.M., Steinkellner, H., Glossl, J., Kampfer, S. and Regner, F., 1998. Reconstruction of a grapevine pedigree by microsatellite analysis. *Theor. Appl. Genet.* **97**: 227 – 231.

Sefc, K.M., Regner, F., Turetschek, E., Glössl, J. and Steinkellner, H., 1999. Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. *Genome* **42**: 367 – 373.

Sefc, K.M., Lopes, M.S., Lefort, F., Botta, R., Roubelakis-Angelakis, K.A., Ibáñez, J., Pejić, I., Wagner, H.W., Glössl, J. and Steinkellner, H., 2000. Microsatellite variability in grapevine cultivars from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars. *Theor. Appl. Genet.* **100**: 498 – 505.

Sefc, K.M., Lefort, F., Grando, M.S., Scott, K.D., Steinkellner, H., and Thomas, M.R., 2001. Microsatellite markers for grapevine: A state of the art. In: *Molecular Biology and Biotechnology of Grapevine*. Edited by Roubelakis – Angelakis, K.A., Kluwer Academic Publishers. Amsterdam. pp. 433 – 463.

Sharma, A., Namdeo, A.G. and Mahadik, K.R., 2008. Molecular markers: New prospects in plant genome analysis. Review Article, *Phcog Rev*, Vol.2, Issue 3, 23 – 34.

Shinde, M.P., Upadhyay, A., Aher, L.B. and Karibasappa, G.S., 2013. Molecular marker analysis to differentiate a clonal selection of Centennial Seedless grapevine. *Afr. J. Biotechnol.* **12**(14): 1594 – 1597.

Shubhada, A.T., Patil, S.G. and Rao, V.S., 2001. Assessment of the genetic diversity of some important grape genotypes in India using RAPD markers. *Vitis* **40**(3): 157 – 161.

Silvestroni, O., Di Pietro, D., Intrieri, C., Vignani, R., Filippetti, I., Del Casino, C., Scali, M. and Cresti, M., 1997. Detection of genetic diversity among clones of cv Fortana (*Vitis vinifera* L.) by microsatellite DNA polymorphism analysis. *Vitis* **35**(3): 147 – 150.

- Small, J.K., 1903. Flora of the Southeastern United States. Pub. By Author, New York.
- Sneath, P.H. and Sokal, R.R., 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. Freeman W.H. and Company, San Francisco and London.
- Štajner, N., Rusjan, D., Korosec-Koruza, Z. and Javornik, B, 2011. Genetic characterization of old Slovenian grapevine varieties of *Vitis vinifera* L. by microsatellite genotyping. *Am. J. Enol. Vitic.* **62**(2): 250 – 255.
- Staudt, G. and Kassemeyer, H.H., 1984. Do small berries in *Vitis vinifera* originate by parthenocarpy? (Entstehen kleine Beeren bei *Vitis vinifera* durch Parthenocarpie?). *Vitis* **23**: 205 – 213.
- Stavrakakis, M.N. and Loukas, M., 1983. The between and within grape cultivars genetic variation. *Scientia Horticulturae* **19**: 321 – 334.
- Stavrakakis, M.N., Biniari, K. and Hatzopoulos, P. 1997. Identification and discrimination of eight Greek grape cultivars (*V.vinifera* L.) by Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Vitis* **36**(4): 175 – 178.
- Stavrakakis, M.N. and Biniari, K., 1998β. Genetic study of grape cultivars belonging to the Muscat family by Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Vitis* **37**(3): 119 – 122.
- Stenkamp, S.H.G., Becker, M.S., Hill, B.H.E., Blaich, R. and Fomeck, A., 2009. Clonal variation and stability assay of chimeric Pinot Meunier (*Vitis vinifera* L.) and descending sports. *Euphytica* **165**: 197 – 209.
- Stout, A.B., 1936. Seedlessness in grapes. Technical Bulletin No. 238, N.Y.S.A.E.S. (New York State Agricultural Experiment Station). Geneva N.Y.
- Suessenguth, K., 1953. *Vitaceae* in Engler-Prantl, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, 20d: 174 – 398, Dunkzer und Humblot Berlin
- Σταυρακάκης, Μ.Ν., 1982. Η χρήση ενζυμικών πολυμορφισμών στη διάκριση των ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.). Διδακτορική Διατριβή. Αθήνα.
- Σταυρακάκης, Μ.Ν., 1990. Συγκριτική μελέτη των ποικιλιών αμπέλου της ομάδας “Μαυρούδια”. *Γεωργική Έρευνα* **14**: 19-29.
- Σταυρακάκης, Μ.Ν., 1991. Συγκριτική μελέτη των συνωνύμων της ποικιλίας οиноποιίας Σαββατιανό. *Γεωργική Έρευνα* **15**: 191 – 201.

- Σταυρακάκης, Μ.Ν., 2010. Αμπελογραφία. Εκδόσεις Τροπή. Αθήνα.
- Σταυρακάκης, Μ.Ν., 2013. Αμπελουργία. Εκδόσεις Τροπή. Αθήνα.
- Σταυρακάκης, Μ.Ν. και Λουκάς, Μ., 1985. Διάκριση καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου με τη βοήθεια ενζυμικών πολυμορφισμών. *Γεωργική Έρευνα* **9**: 347 – 357.
- Σταυρακάκης, Μ.Ν. και Μπινιάρη, Κ., 1998/99. Γενετική μελέτη της ποικιλίας αμπέλου Ροδίτης με τη βοήθεια μοριακών σημαντών. *Αγροτική Έρευνα* **22**: 45 – 52.
- Σταυρακάκης, Μ.Ν., Μπινιάρη, Κ. και Σκιπητάρης, Γ., 1998/99. Μελέτη της γενετικής ποικιλομορφίας της ποικιλίας Φιλέρι (*Vitis vinifera* L.) με μοριακούς σημαντές. *Αγροτική Έρευνα* **22**: 53 – 60.
- Σταυρακάκη, Μ., 2008. Γενετική μελέτη ποικιλιών οινοποιίας (*Vitis vinifera* L.) με τη χρήση των μοριακών μεθόδων RAPDs και SSR. Μεταπτυχιακή Διατριβή. Αθήνα.
- Tautz, D., 1993. Notes on the definition and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequences. *DNA Fingerprinting: State of the Science*, Birkhäuser Basel, pp. 21 – 28.
- This, P., Cuisset, C. and Boursiquot, J.M., 1997. Development of stable RAPD markers for the identification of grapevine rootstocks and the analysis of genetic relationships. *Am. J. Enol. Vitic.* **48**(4): 492 – 501.
- This, P., Roux, C., Parra, P., Siret, R., Bourse, T., Adam, A.-F., Yvon, M., Lacombe, T., David, J., Boursiquot, J.-M., 2001. Caractérisation de la diversité d'une population de vignes sauvages du Pic Saint-Loup (Hérault) et relations avec le compartiment cultivé, *Genetic Selection Evolution*, **33**, suppl. 1, p. 289 – 304.
- This, P., Jung, A., Baccacci, P., Borrego, J. and Botta, R., 2004. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Gen.* **109**: 1448 – 1458.
- This, P., Lacombe, T. and Thomas, M.R., 2006. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends Genet.* **22**(9): 511 – 519.
- Thomas, M.R. and Scott, N.S., 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analyzed as sequence-tagged sites (STSs). *Theor. Appl. Genet.* **86**(8): 985 – 990.

Thomas, M.R., Matsumoto, S., Cain, P. and Scott, N.S., 1993. Repetitive DNA of grapevine: classes present and sequences suitable for cultivar identification. *Theor. Appl. Gen.* **86**: 173 – 180.

Thomas, M.R., Cain, P. and Scott, N.S., 1994. DNA typing of grapevines: A universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Molecular Biology* **25**: 939 – 949.

Thomas, M.R., Scott, N.S., Botta, R. and Kijas, J.M.H., 1998. Sequence-tagged site markers in grapevine and citrus. *Journal-Japanese Society for Horticultural Science* **67**: 1189 – 1192.

Tomić, L., Štajner, N. and Javornik, B., 2013. Characterization of grapevines by the use of genetic markers. In “*The Mediterranean Genetic Code – Grapevine and Olive*”, edited by Danijela Poljuha and Barbara Sladonja. Published under CC by 3.0 license, <http://dx.doi.org/10.5772/52833>.

Turnefort, J.P., 1700. Aroideae, στο *Institutions Rei Herbariae*, 1^η έκδοση, Paris, 158 – 161.

Vanilov, N.I., 1926. Studies on the origin of cultivated plants. Leningrad.

Vargas, A.M., Vélez, M.D., de Andrés, M.T., Laucou, V., Lacombe, T., Boursiquot, J.M., Borrego, J. and Ibáñez, J., 2007. Corinto blanco: a seedless mutant of Pedro Ximenes. *Am. J. Enol. Vitic.* **58**(4): 540 – 543.

Viala, P. and Vermorel, V., 1909. *Traité Général d’Ampélographie*. Maison éd. Paris, 7 volumes.

Vignani, R., Scali, M. and Masi, E., 2002. Genomic variability in *Vitis vinifera* L. “Sangiovese” assessed by microsatellite and non-radioactive AFLP test [Online]. *Electronic Journal of Biotechnology* **5**(1), 1 – 11. Available at <http://www.ejborg/content/vol5/issue1/full/2>.

Vivier, M.A. and Pretorius, I.S., 2002. Genetically tailored grapevines for the wine industry. *Trend in Biotechnology* **20**: 472 – 478.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Home, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M., 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* **23**: 4407 – 4414.

Wang, Z., Weber, J.L., Zhong, G. and Tanksley, S.D., 1994. Survey of plant short tandem DNA repeats. *Theor. Appl. Genet.* **88**: 1 – 6.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, A. and Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* **18**(22): 6531 – 6535.

Wolfe, W.H., 1976. Identification of grape varieties by isozyme banding patterns. *Am. J. Enol. Vitic.* **27**(2): 68 – 73.

Χαιρέτης, Μ.Θ., 1883. Περί σταφιδαμπέλου. Αθήναι.

Χατζόπουλος, Π., 2001. Βιοτεχνολογία Φυτών. Εκδόσεις Έμβρυο.

Zohary, D., 1995. Domestication of the Grapevine *Vitis vinifera* L. in the Near East. In the *Origins and Ancient History of Wine* (McGovern, P.E. et al. eds), pp. 23 – 30, Gordon and Breach.



Παράρτημα Ι

Κώδικας Αμπελογραφικής Περιγραφής

Πίνακας Ι. Αμπελογραφικοί χαρακτήρες και βαθμολογική κλίμακα αυτών σύμφωνα με την τελευταία έκδοση του Κώδικα Αμπελογραφικής Περιγραφής του ΟΙΥ (ΟΙΥ 2009).

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
001	Σχήμα νεαρής κορυφής	1:κλειστό, 3:μετρίως ανοιχτό, 5:ανοιχτό
002	Κατανομή ανθοκυάνης στη νεαρή κορυφή	1:απουσία, 2:σε κηλίδες, 3:παντού
003	Ένταση ανθοκυάνης στη νεαρή κορυφή	1:απουσία, 3:αδύνατη, 5:μέτρια, 7:δυνατή, 9:πολύ δυνατή
004	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων στη νεαρή κορυφή	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
005	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων στη νεαρή κορυφή	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
006	Κατεύθυνση βλαστού (πριν το κορυφολόγημα)	1:όρθιος, 3:ελαφρά εκτεινόμενος, 5:οριζόντιος, 7:ελαφρά κρεμαστός, 9:κρεμαστός
007	Χρώμα μεσογονατίων νωτιαίας πλευράς βλαστού	1:πράσινο, 2:πράσινο με ερυθρές ραβδώσεις, 3:ερυθρό
008	Χρώμα μεσογονατίων κοιλιακής πλευράς βλαστού	1:πράσινο, 2:πράσινο με ερυθρές ραβδώσεις, 3:ερυθρό
009	Χρώμα κόμβων νωτιαίας πλευράς βλαστού	1:πράσινο, 2:πράσινο με ερυθρές ραβδώσεις, 3:ερυθρό
010	Χρώμα κόμβων κοιλιακής πλευράς βλαστού	1:πράσινο, 2:πράσινο με ερυθρές ραβδώσεις, 3:ερυθρό
011	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων στους κόμβους	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
012	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων στα μεσογονάτια	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
013	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων στους κόμβους	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
014	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων στα μεσογονάτια	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
015-1	Κατανομή ανθοκυάνης στους οφθαλμούς	1: απουσία, 2: στη βάση, 3: μέχρι τα $\frac{3}{4}$ του οφθαλμού, 4: περίπου όλος ο οφθαλμός
015-2	Ένταση ανθοκυάνης στους οφθαλμούς	1:απουσία, 3:αδύνατη, 5:μέτρια, 7:δυνατή, 9:πολύ δυνατή
016	Αριθμός συνεχόμενων ελίκων στο βλαστό	1: 2 ή λιγότεροι, 2: 3 ή περισσότεροι
017	Μήκος ελίκων	1: έως 10 cm, 3: περίπου 15 cm, 5: περίπου 20 cm, 7: περίπου 25 cm, 9: περίπου 30 cm και πάνω
051	Χρώμα άνω επιφάνειας νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1: πράσινο, 2: κίτρινο, 3: μπρούτζινο, 4: χάλκινο-ερυθρωπό
053	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων του νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
054	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων του νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
055	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων πάνω στις νευρώσεις του νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
056	Πυκνότητα όρθιων τριχιδίων πάνω στις νευρώσεις του νεαρού φύλλου (4 ^ο φύλλο)	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
065	Μέγεθος αναπτυγμένου φύλλου	1:πολύ μικρό, 3:μικρό, 5:μέτριο, 7:μεγάλο, 9:πολύ μεγάλο
067	Σχήμα ελάσματος	1: καρδιόσχημο, 2: σφηνοειδές, 3: πενταγωνικό, 4: κυκλικό, 5: νεφροειδές
068	Αριθμός λοβών	1:κανείς, 2:τρεις, 3:πέντε, 4:επτά, 5:περισσότεροι από επτά

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
069	Χρώμα άνω επιφάνειας του ελάσματος	3: ανοικτό πράσινο, 5: μέτρια πράσινο, 7: σκούρο πράσινο
070	Ένταση ανθοκυάνης στις κύριες νευρώσεις της άνω επιφάνειας του ελάσματος	1:απουσία, 2: μόνο στο μισχικό σημείο, 3: μέχρι την 1 ^η διακλάδωση, 4: μέχρι τη 2 ^η διακλάδωση, 5: πέρα από τη 2 ^η διακλάδωση
071	Ένταση ανθοκυάνης στις κύριες νευρώσεις της κάτω επιφάνειας του ελάσματος	1:απουσία, 2: μόνο στο μισχικό σημείο, 3: μέχρι την 1 ^η διακλάδωση, 4: μέχρι τη 2 ^η διακλάδωση, 5: πέρα από τη 2 ^η διακλάδωση
072	Ανωμαλίες του ελάσματος	1: απουσία ή πολύ αδύνατη, 3: αδύνατη, 5: μέτρια, 7: δυνατή, 9: πολύ δυνατή
073	Κυματισμός ελάσματος μεταξύ κύριων και δευτερευουσών νευρώσεων	1:απουσία, 9: παρουσία
074	Προφίλ ελάσματος φύλλου σε εγκάρσια τομή	1:επίπεδο, 2:V σχήμα-υδρορροή, 3:με άκρες προς τα πάνω, 4:με άκρες προς τα κάτω, 5:κυματιστό
075	Πομφολύγωση στην άνω επιφάνεια του ελάσματος	1:απουσία, 3:αδύνατη, 5:μέτρια, 7:δυνατή, 9:πολύ δυνατή
076	Σχήμα οδόντων	1:πλευρές κοίλες, 2: πλευρές ευθείες, 3: πλευρές κυρτές, 4:μία πλευρά κυρτή και μία κοίλη, 5: ανάμικτα (και οι 2 πλευρές ευθείες γραμμές (2) και οι 2 κυρτές (3)).
077	Μέγεθος οδόντων σε σχέση με το μέγεθος του ελάσματος	1:πολύ κοντό, 3:κοντό, 5:μέτριο, 7:μακρύ, 9:πολύ μακρύ
078	Μήκος οδόντων σε σχέση με το πλάτος τους	1:πολύ κοντό, 3:κοντό, 5:μέτριο, 7:μακρύ, 9:πολύ μακρύ
079	Σχήμα μισχικού κόλπου	1: πάρα πολύ ανοικτός, 3: ανοικτός, 5:κλειστός (μόλις που αγγίζουν), 7: επικαλύπτονται, 9: μεγάλη επικάλυψη
080	Σχήμα βάσης μισχικού κόλπου	1: U, 2:σχήμα αγκύλης ({}), 3: V
081-1	Οδόντας στο μισχικό κόλπο	1: απουσία, 9: παρουσία
081-2	Η βάση μισχικού κόλπου περιορίζεται από το νεύρο	1: δεν περιορίζεται, 2: από τη μία πλευρά, 3: και από τις δύο πλευρές

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
082	Βαθμός ανοίγματος / επικάλυψης ανώτερων κόλπων	1:ανοιχτοί, 2:κλειστοί, 3:με λοβούς ελαφρά επικαλυπτόμενους, 4: με λοβούς έντονα επικαλυπτόμενους, 5: απουσία λοβών
083-1	Σχήμα βάσης ανώτερων κόλπων	1: U, 2:σχήμα αγκύλης ({}), 3: V
083-2	Οδόντας στους ανώτερους κόλπους	1: απουσία, 9: παρουσία
084	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων της κάτω επιφάνειας του φύλλου	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
085	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων της κάτω επιφάνειας του φύλλου	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
086	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων πάνω στις κύριες νευρώσεις της κάτω επιφάνειας του φύλλου	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
087	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων πάνω στις κύριες νευρώσεις της κάτω επιφάνειας του φύλλου	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
088	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων πάνω στις κύριες νευρώσεις της άνω επιφάνειας του φύλλου	1: απουσία, 9: παρουσία
089	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων πάνω στις κύριες νευρώσεις της άνω επιφάνειας του φύλλου	1: απουσία, 9: παρουσία
090	Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων πάνω στο μίσχο	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
091	Πυκνότητα ορθίων τριχιδίων πάνω στο μίσχο	1:απουσία, 3:αραιά, 5:μέτρια, 7:πυκνά, 9:πολύ πυκνά
093	Μήκος μίσχου σε σύγκριση με το μήκος της κεντρικής νεύρωσης	1:πολύ πιο κοντό, 3:πιο κοντό, 5:ίσο, 7: πιο μακρύ, 9:πολύ πιο μακρύ
094	Βάθος ανώτερων κόλπων	1: πολύ αβαθείς, 3: αβαθείς, 5: μέτριοι, 7: βαθείς, 9: πολύ βαθείς
101	Εγκάρσια τομή κληματίδας	1:κυκλική, 2:ελλειψοειδής, 3:πεπλατυσμένη

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
102	Περιφέρεια κληματίδας	1:ομαλή, 2:γωνιώδης, 3: πλευρώδης
103	Χρώμα κληματίδας	1:κίτρινη, 2:καστανή, 3: κοκκινίζει, 4: γκρι
104	Φακίδια	1: απουσία, 9:παρουσία
105	Όρθια τριχίδια στους κόμβους της κληματίδας	1:απουσία, 9: παρουσία
106	Όρθια τριχίδια στα μεσογονάτια διαστήματα της κληματίδας	1:απουσία, 9: παρουσία
151	Φύλο άνθους ταξιανθίας	1:αρσενικό, 2:αρσενικό-ερμαφρόδιτο, 3:ερμαφρόδιτο, 4: θηλυκό
152	Εμφάνιση 1 ^{ης} ταξιανθίας	1: έως τον 2 ^ο κόμβο, 2: 3 ^{ος} και 4 ^{ος} κόμβος, 3: από τον 5 ^ο κόμβο και μετά
153	Αριθμός ταξιανθιών ανά βλαστό	1:έως 1, 2:1,1-2 ταξιανθίες, 3:2,1-3 ταξιανθίες, 4:πάνω από 3 ταξιανθίες
155	Γονιμότητα λανθανόντων οφθαλμών (1-3 οφθαλμοί)	1: πολύ μικρή, 5: μέτρια, 9: πολύ υψηλή
202	Μήκος σταφυλής	1:πολύ κοντή (έως περίπου 80 mm), 3:κοντή (περίπου 120 mm), 5:μέτρια (περίπου 160 mm), 7:μακριά (περίπου 200 mm), 9:πολύ μακριά (περίπου 240 mm και περισσότερο)
203	Πλάτος σταφυλής	1:πολύ στενή (έως περίπου 40 mm), 3:στενή (περίπου 80 mm), 5:μέτρια (περίπου 120 mm), 7:φαρδιά (περίπου 160 mm), 9:πολύ φαρδιά (περίπου 200 mm και περισσότερο)
204	Πυκνότητα σταφυλής	1:πολύ αραιόρραγη, 3:αραιόρραγη, 5:μέτριας πυκνότητας, 7:πυκνόρραγη, 9: πολύ πυκνόρραγη
206	Μήκος ποδίσκου σταφυλής (από το σημείο πρόσφυσης μέχρι την αρχή του κύριου σώματος της σταφυλής)	1:πολύ κοντό (έως περίπου 30 mm), 3:κοντό (περίπου 50 mm), 5:μέτριο (περίπου 70 mm), 7:μακρύ (περίπου 90 mm), 9:πολύ μακρύ (περίπου 110 mm και περισσότερο)
207	Ξυλοποίηση ποδίσκου σταφυλής	1:μόνο στη βάση, 5:έως περίπου τη μέση, 7:περισσότερο από τη μέση

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
208	Σχήμα σταφυλής	1: κυλινδρικό, 2: κωνικό, 3: κυλινδροκωνικό * Περιγραφή μεταξύ 3/5 και 4/5 του μήκους της σταφυλής
209	Αριθμός πτερυγίων της πρωτογενούς σταφυλής	1: απουσία, 2: 1-2 πτερύγια, 3: 3-4 πτερύγια, 4: 5-6 πτερύγια, 5: περισσότερα από 6
220	Μήκος ράγας	1:πολύ κοντή (έως περίπου 8 mm), 3:κοντή (περίπου 13 mm), 5:μέτρια (περίπου 18 mm), 7:μακριά (περίπου 23 mm), 9:πολύ μακριά (περίπου 28 mm και περισσότερο)
221	Πλάτος ράγας	1:πολύ στενή (έως περίπου 8 mm), 3:στενή (περίπου 13 mm), 5:μέτρια (περίπου 18 mm), 7:φαρδιά (περίπου 23 mm), 9:πολύ φαρδιά (περίπου 28 mm και περισσότερο)
222	Ομοιομορφία μεγέθους ραγών	1:ανομοιόμορφο, 2:ομοιόμορφο
223	Σχήμα ραγών	1:πεπλατυσμένο, 2:σφαιρικό, 3:ευρεία ελλειψοειδές, 4:στενά ελλειψοειδές, 5: κυλινδρικό, 6:αμβλεία ωοειδές, 7: ωοειδές, 8: αντρωοειδές, 9: γαμψό, 10: σχήμα δακτύλου
225	Χρώμα φλοιού ράγας	1:κιτρινοπράσινο, 2:ρόδινο, 3:ερυθρό, 4: γκρι, 5:ερυθροϊώδες (ερυθρομέλανο), 6:κυανομέλανο
226	Ομοιομορφία χρώματος φλοιού της ράγας	1:ανομοιόμορφο, 2:ομοιόμορφο
227	Ανηρότητα ράγας	1:απουσία ή πολύ αδύνατη, 3:αδύνατη, 5:μέτρια, 7:πυκνή, 9:πολύ πυκνή
228	Πάχος φλοιού της ράγας	1:πολύ λεπτό, 3:λεπτό (περίπου 100 μ), 5:μέτριο (περίπου 175 μ) , 7:παχύ (περίπου 250 μ), 9:πολύ παχύ
229	Ομφαλός ράγας	1: λίγο ορατός, 2: ορατός
231	Ένταση ανθοκύανης στη σάρκα	1: καθόλου ή πολύ αδύνατη, 3: αδύνατη, 5: μέτρια, 7: δυνατή, 9: πολύ δυνατή
232	Χυμώδες της σάρκας	1: ελαφρά χυμώδες, 2: μέτρια χυμώδες, 3: πολύ χυμώδες

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
233	Απόδοση σε γλεύκος	3: μικρή (έως περίπου 65%), 5: μέτρια (περίπου 65-75%), 7: υψηλή (περίπου 75% και περισσότερο) * 100 g ραγών και φυγοκέντρηση στις 3000 rpm
235	Σκληρότητα της σάρκας	1: μαλακή, 2: ελαφρά σκληρή, 3: πολύ σκληρή
236	Ιδιαίτερη γεύση- άρωμα	1: κανένα, 2: μοσχάτο, 3: ξινισμένο (foxy), 4:χορτώδες, 5: άλλο
238	Μήκος ποδίσκου της ράγας	1:πολύ κοντό (έως περίπου 4 mm), 3:κοντό (περίπου 7 mm), 5:μέτριο (περίπου 10 mm), 7:μακρύ (περίπου 13 mm) , 9:πολύ μακρύ (περίπου 16 mm και περισσότερο)
240	Ευκολία απόσπασης από τον ποδίσκο	1: πολύ εύκολα, 2: εύκολα, 3: δύσκολα
241	Παρουσία γιγάρτων	1:απουσία, 2:υποτυπώδης, 3:παρουσία
242	Μήκος γιγάρτων	1: πολύ κοντό, 3: κοντό, 5: μέτριο, 7: μακρύ, 9:πολύ μακρύ
243	Βάρος γιγάρτων	1:πολύ μικρό (έως περίπου 10 mg), 3:μικρό (περίπου 25 mg), 5:μέτριο (περίπου 40 mg), 7:μεγάλο (περίπου 55 mg), 9:πολύ μεγάλο (περίπου 65 mg και περισσότερο)
244	Ραβδώσεις στην οπίσθια πλευρά των γιγάρτων	1: απουσία, 9: παρουσία
301	Χρόνος έκπτυξης λανθανόντων οφθαλμών	1:πολύ πρώιμα, 3:πρώιμα, 5:μέτρια όψιμα, 7:όψιμα, 9:πολύ όψιμα *50% των οφθαλμών στο στάδιο C κατά Baggioiini (πράσινη κορυφή)
302	Χρόνος άνθισης	1:πολύ πρώιμα, 3:πρώιμα, 5:μέτρια όψιμα, 7:όψιμα, 9:πολύ όψιμα * 50 % ανοικτά άνθη
303	Χρόνος περκασμού	1:πολύ πρώιμα, 3:πρώιμα, 5:μέτρια όψιμα, 7:όψιμα, 9:πολύ όψιμα * όταν αρχίζουν να μαλακώνουν οι ράγες (50% των πρέμνων)

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
304	Φυσιολογική ωρίμανση της ράγας	1:πολύ πρώιμα, 3:πρώιμα, 5:μέτρια όψιμα, 7:όψιμα, 9:πολύ όψιμα * Πλήρης ωρίμανση: μεγαλύτερη περιεκτικότητα των ραγών σε σάκχαρα εξαιτίας της φωτοσύνθεσης
305	Έναρξη ξυλοποίησης βλαστών	1:πολύ πρώιμα, 3:πρώιμα, 5:μέτρια όψιμα, 7:όψιμα, 9:πολύ όψιμα * εμφάνιση καφέ χρώματος στη βάση των μεσογονατίων
306	Χρωματισμός των φύλλων το φθινόπωρο	1:κίτρινα, 2:ερυθρωπά, 3:ερυθρά, 4:σκούρα ερυθρά, 5:ερυθροϊώδη
351	Ζωηρότητα βλαστών	1: πολύ αδύνατη, 3: αδύνατη, 5: μέτρια, 7: δυνατή, 9: πολύ δυνατή
352	Ανάπτυξη μεσοκαρδίων	1: καθόλου ή πολύ αδύνατη, 3: αδύνατη, 5: μέτρια, 7: δυνατή, 9: πολύ δυνατή
353	Μήκος μεσογονατίων διασημάτων	1:πολύ κοντά (έως περίπου 6cm), 3:κοντά (περίπου 9 cm), 5:μέτρια (περίπου 12 cm), 7:μακριά (περίπου 15 cm), 9:πολύ μακριά (περίπου 18 cm και περισσότερο)
354	Διάμετρος μεσογονατίων	1:πολύ μικρή (έως περίπου 5 mm), 3:μικρή (περίπου 8 mm), 5:μέτρια (περίπου 11 mm), 7:μεγάλη (περίπου 14 mm), 9:πολύ μεγάλη (περίπου 17 mm)
401	Αντοχή στη χλώρωση σιδήρου	1:πολύ μικρή, 3:μικρή, 5:μέτρια, 7:μεγάλη, 9:πολύ μεγάλη Η χλώρωση σιδήρου πρέπει να εκτιμηθεί σε εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε ασβέστιο και/ή κατά τη διάρκεια της άνοιξης σε βαριά υγρά εδάφη. Είναι σημαντικό να διευκρινίζεται αν η ποικιλία προς περιγραφή είναι εμβολιασμένη, αυτορριζή ή ως υποκείμενο. 1 = yellow leaves, more than 10 % of leaf surface with necroses, stunted shoots; 3 = mature leaves with pure yellow color, beginning necroses between main veins; 5 = pure yellow leaves with green main veins; 7 = pale green leaves with appearance of a net of fine green veins; 9 = dark green leaves

Κωδικός ΟΙΒ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
402	Αντοχή στην αλατότητα	1:πολύ μικρή, 3:μικρή, 5:μέτρια, 7:μεγάλη, 9:πολύ μεγάλη 1 = marginal necrosis, comprising the total leaf blade, causing leaf drop; 5 = ends of veins are necrotic; 9 = leaf totally green
403	Αντοχή στην ξηρασία	1:πολύ μικρή, 3:μικρή, 5:μέτρια, 7:μεγάλη, 9:πολύ μεγάλη Η εξέταση των υποκειμένων πρέπει να εκτιμηθεί μετά τον εμβολιασμό με μια V. vinifera ποικιλία. 1 = necrotic or totally dry leaf with leaf drop; 5 = yellowish leaf, 9 = leaf totally green
452	Φύλλα: Βαθμός αντοχής στον περονόσπορο	1:πολύ μικρή, 3:μικρή, 5:μέτρια, 7:μεγάλη, 9:πολύ μεγάλη
452-1	Φύλλα: Βαθμός αντοχής στον περονόσπορο (δοκιμή στο τρυβλίο)	1:πολύ μικρή, 3:μικρή, 5:μέτρια, 7:μεγάλη, 9:πολύ μεγάλη
453	Σταφυλή: Βαθμός αντοχής στον περονόσπορο	1-3: πολύ χαμηλή έως χαμηλή, 5: μέτρια, 7-9: υψηλή έως πολύ υψηλή
455	Φύλλα: Βαθμός αντοχής στο ωίδιο	1:πολύ μικρός, 3:μικρός, 5:μέτριος, 7:μεγάλος, 9:πολύ μεγάλος
455-1	Φύλλα: Βαθμός αντοχής στο ωίδιο (δοκιμή στο τρυβλίο)	1:πολύ μικρός, 3:μικρός, 5:μέτριος, 7:μεγάλος, 9:πολύ μεγάλος
456	Σταφυλή: Βαθμός αντοχής στο ωίδιο	1-3: πολύ χαμηλή έως χαμηλή, 5: μέτρια, 7-9: υψηλή έως πολύ υψηλή
458	Φύλλα: Βαθμός αντοχής στο βοτρυτή	1-3: πολύ χαμηλή έως χαμηλή, 5: μέτρια, 7-9: υψηλή έως πολύ υψηλή
458-1	Φύλλα: Βαθμός αντοχής στο βοτρυτή (εργαστηριακές αναλύσεις)	1:πολύ μικρός, 3:μικρός, 5:μέτριος, 7:μεγάλος, 9:πολύ μεγάλος
459	Σταφυλή: Βαθμός αντοχής στο βοτρυτή	3: πολύ χαμηλή έως χαμηλή, 5: μέτρια, 9: υψηλή έως πολύ υψηλή
460	Βαθμός αντοχής στην εουτύπα (εργαστηριακές αναλύσεις)	1:πολύ μικρός, 3:μικρός, 5:μέτριος, 7:μεγάλος, 9:πολύ μεγάλος

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
461	Φύλλα: Βαθμός αντοχής στη φυλλοξήρα (φυλλόβια μορφή)	1:πολύ μικρός, 3:μικρός, 5:μέτριος, 7:μεγάλος, 9:πολύ μεγάλος
462	Ρίζες: Βαθμός αντοχής στη φυλλοξήρα (ριζόβια μορφή)	1:πολύ μικρός, 3:μικρός, 5:μέτριος, 7:μεγάλος, 9:πολύ
501	Ποσοστό καρπόδεσης	1: πολύ χαμηλό (έως περίπου 10%), 3: χαμηλό (περίπου 20 %), 5: μέτριο (περίπου 40%), 7: υψηλό (περίπου 60%), 9: πολύ υψηλό (περίπου 80% και περισσότερο). Παρατήρηση περίπου 7 – 14 ημέρες μετά την άνθιση. Πρέπει να εκτιμηθεί το ποσοστό ράγες/σταφυλή σε σχέση με το νούμερο άνθη/ταξιανθία. Μέσος όρος όλων των σταφυλών από 10 βλαστούς.
502	Βάρος σταφυλής	1:πολύ μικρό (έως περίπου 100 g), 3:μικρό (περίπου 300 g), 5:μέτριο(περίπου 500 g) , 7:μεγάλο (περίπου 700 g), 9:πολύ μεγάλο (περίπου 900 g και περισσότερο)
503	Βάρος ράγας	1:πολύ μικρό (έως περίπου 1 g), 3:μικρό (περίπου 3 g), 5:μέτριο (περίπου 5 g), 7:μεγάλο (περίπου 7 g), 9:πολύ μεγάλο (περίπου 9 g και περισσότερο)
504	Απόδοση ανά m2	1:πολύ μικρή, 3:μικρή, 5:μέτρια, 7:μεγάλη, 9:πολύ μεγάλη
505	Συγκέντρωση σακχάρων του γλεύκους	1:πολύ μικρή (έως περίπου 12%), 3:μικρή (περίπου 15%), 5:μέτρια (περίπου 18%), 7:μεγάλη (περίπου 21%), 9:πολύ μεγάλη (περίπου 24% και περισσότερο)
506	Ολική οξύτητα του γλεύκους	1:πολύ μικρή (<3 g/L τρυγικό οξύ), 3:μικρή (περίπου 6 g/L τρυγικό οξύ), 5:μέτρια (περίπου 9 g/L τρυγικό οξύ), 7:μεγάλη(περίπου 12 g/L τρυγικό οξύ) , 9:πολύ μεγάλη (περίπου >15 g/L τρυγικό οξύ)
508	pH γλεύκους	3: χαμηλό, 5: μέτριο, 7: υψηλό
551	Υποκείμενο: απόδοση κληματίδων/ ha	1:πολύ μικρή, 3:μικρή, 5:μέτρια, 7:μεγάλη, 9:πολύ μεγάλη
552	Υποκείμενο: σχηματισμός κάλου	1:πολύ μικρός, 3:μικρός, 5:μέτριος, 7:μεγάλος, 9:πολύ μεγάλος

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
553	Υποκείμενο: σχηματισμός τυχαίων ριζών	1:πολύ μικρός, 3:μικρός, 5:μέτριος, 7:μεγάλος, 9:πολύ μεγάλος
601	Φύλλο: Μήκος νεύρου N1	1: πολύ κοντό (έως περίπου 75 mm), 3: κοντό (περίπου 105 mm), 5: μέτριο (περίπου 135 mm), 7: μακρύ(περίπου 165 mm), 9: πολύ μακρύ (περίπου 195 mm και περισσότερο)
602	Φύλλο: Μήκος νεύρου N2	1: πολύ κοντό (έως περίπου 65 mm), 3: κοντό (περίπου 85 mm), 5: μέτριο (περίπου 105 mm), 7: μακρύ(περίπου 125 mm), 9: πολύ μακρύ (περίπου 145 mm και περισσότερο)
603	Φύλλο: Μήκος νεύρου N3	1: πολύ κοντό (έως περίπου 35 mm), 3: κοντό (περίπου 55 mm), 5: μέτριο (περίπου 75 mm), 7: μακρύ(περίπου 95 mm), 9: πολύ μακρύ (περίπου 115 mm και περισσότερο)
604	Φύλλο: Μήκος νεύρου N4	1: πολύ κοντό (έως περίπου 15 mm), 3: κοντό (περίπου 25 mm), 5: μέτριο (περίπου 35 mm), 7: μακρύ(περίπου 45 mm), 9: πολύ μακρύ (περίπου 55 mm και περισσότερο)
605	Φύλλο: Μήκος ανώτερου κόλπου από το μισχικό σημείο	1: πολύ κοντό (έως περίπου 30 mm), 3: κοντό (περίπου 50 mm), 5: μέτριο (περίπου 70 mm), 7: μακρύ(περίπου 90 mm), 9: πολύ μακρύ (περίπου 110 mm και περισσότερο)
606	Φύλλο: Μήκος κατώτερου κόλπου από το μισχικό σημείο	1: πολύ κοντό (έως περίπου 30 mm), 3: κοντό (περίπου 45 mm), 5: μέτριο (περίπου 60 mm), 7: μακρύ(περίπου 75 mm), 9: πολύ μακρύ (περίπου 90 mm και περισσότερο)
607	Φύλλο: Γωνία μεταξύ των N1 και N2, μετρούμενο από την πρώτη διακλάδωση	1:πολύ μικρή (έως περίπου 30°), 3:μικρή (περίπου 30°- 45°) , 5:μέτρια (περίπου 46° - 55°), 7:μεγάλη (περίπου 56°- 70°), 9:πολύ μεγάλη (περίπου 70° και περισσότερο)
608	Φύλλο: Γωνία μεταξύ των N2 και N3, μετρούμενο από την πρώτη διακλάδωση	1:πολύ μικρή (έως περίπου 30°), 3:μικρή (περίπου 30°- 45°) , 5:μέτρια (περίπου 46° - 55°), 7:μεγάλη (περίπου 56°- 70°), 9:πολύ μεγάλη (περίπου 70° και περισσότερο)
609	Φύλλο: Γωνία μεταξύ των N3 και N4, μετρούμενο από την πρώτη διακλάδωση	1:πολύ μικρή (έως περίπου 30°), 3:μικρή (περίπου 30°- 45°) , 5:μέτρια (περίπου 46° - 55°), 7:μεγάλη (περίπου 56°- 70°), 9:πολύ μεγάλη (περίπου 70° και περισσότερο)

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
610	Φύλλο: Γωνία μεταξύ των Ν3 (οδόντα) και άκρη οδόντα του Ν5	1:πολύ μικρή (έως περίπου 30°), 3:μικρή (περίπου 30°- 45°) , 5:μέτρια (περίπου 46° - 55°), 7:μεγάλη (περίπου 56°- 70°), 9:πολύ μεγάλη (περίπου 70° και περισσότερο)
611	Φύλλο: Μήκος νεύρου Ν5	1: πολύ κοντό (έως περίπου 15 mm), 3: κοντό (περίπου 25 mm), 5: μέτριο (περίπου 35 mm), 7: μακρύ(περίπου 45 mm), 9: πολύ μακρύ (περίπου 55 mm και περισσότερο)
612	Φύλλο: Μήκος οδόντα του Ν2	1: πολύ κοντό (έως περίπου 6 mm), 3: κοντό (περίπου 10 mm), 5: μέτριο (περίπου 14 mm), 7: μακρύ (περίπου 18 mm), 9: πολύ μακρύ (περίπου 22 mm και περισσότερο)
613	Φύλλο: Πλάτος οδόντα του Ν2	1:πολύ στενή (έως περίπου 6 mm), 3:στενή (περίπου 10 mm), 5:μέτρια (περίπου 14 mm), 7:φαρδιά (περίπου 18 mm), 9:πολύ φαρδιά (περίπου 22 mm και περισσότερο)
614	Φύλλο: Μήκος νεύρου Ν4	1: πολύ κοντό (έως περίπου 6 mm), 3: κοντό (περίπου 10 mm), 5: μέτριο (περίπου 14 mm), 7: μακρύ(περίπου 18 mm), 9: πολύ μακρύ (περίπου 22 mm και περισσότερο)
615	Φύλλο: Πλάτος οδόντα του Ν4	1:πολύ στενό (έως περίπου 6 mm), 3:στενό (περίπου 10 mm), 5:μέτριο (περίπου 14 mm), 7:φαρδύ (περίπου 18 mm), 9:πολύ φαρδύ (περίπου 22 mm και περισσότερο)
616	Φύλλο: Αριθμός οδόντων μεταξύ του οδόντα του Ν2 και του οδόντα του Ν3	1: πολύ μικρός (έως περίπου 3), 3: μικρός (περίπου 4), 5: μέτριος (περίπου 5-6), 7: μεγάλος (περίπου 7-8), 9: πολύ μεγάλος (περίπου 9 και περισσότερο)
617	Φύλλο: Απόσταση μεταξύ του οδόντα του Ν2 και του οδόντα της πρώτης δευτερεύουσας διακλάδωσης του Ν2	1: πολύ κοντό (έως περίπου 30 mm), 3: κοντό (περίπου 30-45 mm), 5: μέτριο (περίπου 46-55 mm), 7: μακρύ(περίπου 56-70 mm), 9: πολύ μακρύ (περίπου 70 mm και περισσότερο)
618	Φύλλο: Ανοικτό/ επικάλυψη του μισχικού κόλπου	1: πολύ ανοικτός (έως περίπου 35 mm), 3: ανοικτός (περίπου 15 mm), 5: κλειστός (περίπου 15 mm), 7: επικάλυψη (περίπου 25 mm), 9: πολλή επικάλυψη (περίπου 45 mm και περισσότερο)

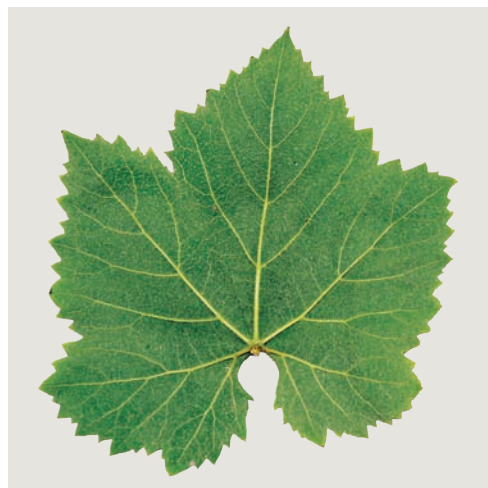
Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
701	Ισοενζυμικά συστήματα: GPI (Glucose Phosphate Isomerase)	
702	Ισοενζυμικά συστήματα: PGM (Phospho Gluco-Mutase)	
801	SSR- markers VVS2	
802	SSR- markers VVMD5	
803	SSR- markers VVMD7	
804	SSR- markers VVMD27	
805	SSR- markers VrZAG62	
806	SSR- markers VrZAG79	

Παράρτημα II

Φωτογραφίες ποικιλιών



Τσεκλένι





Βοστίτσα





Πύργου



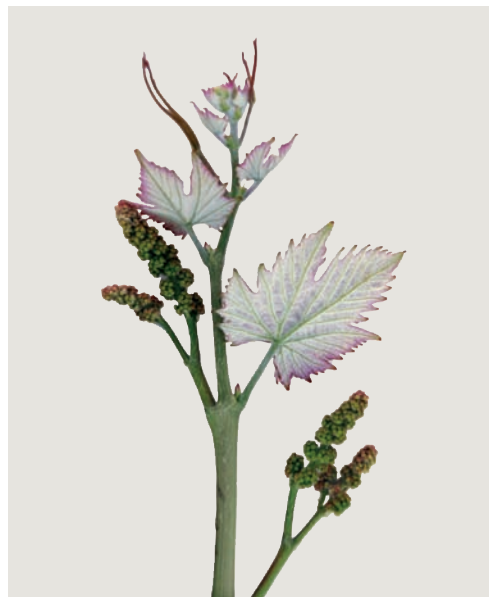


Κορινθιακή
Λευκή





Ζακύνθου
Ντόπιο





Ζακύνθου
Πρώιμο





Κεφαλληνίας



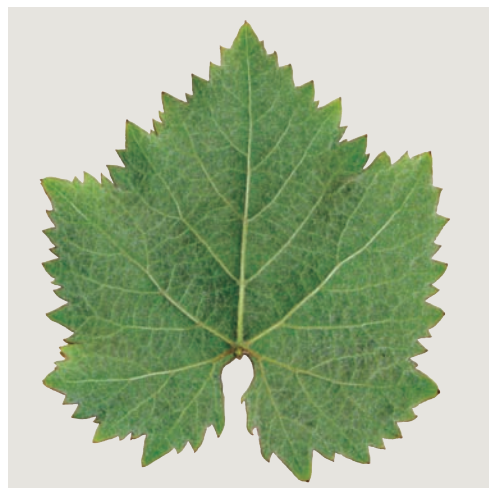


Κορινθίας





Κορινθιακή
«Μεταλλαγμένη»





Κορινθιακή
«Σχιστόφυλλος»





Εφτάκοιλο



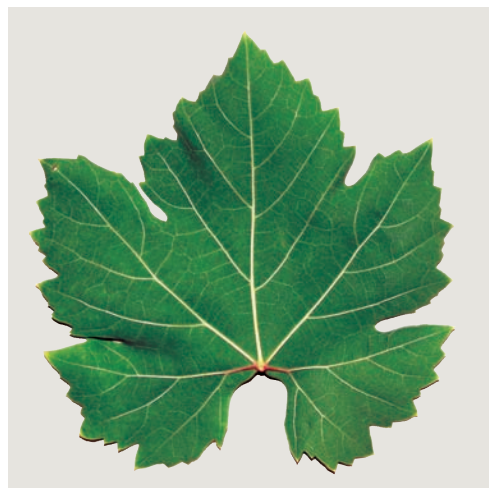
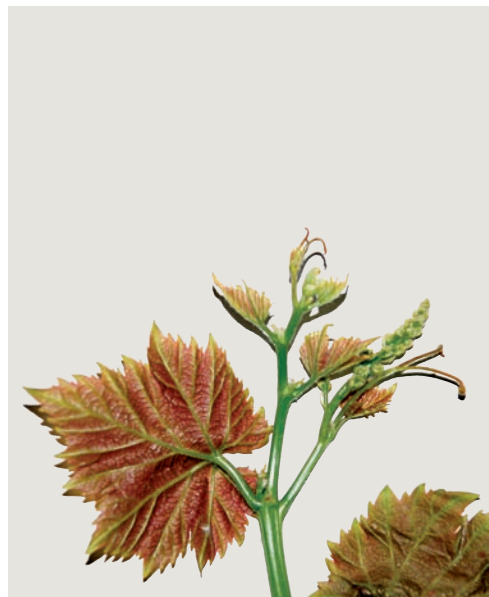


Λαδικινό



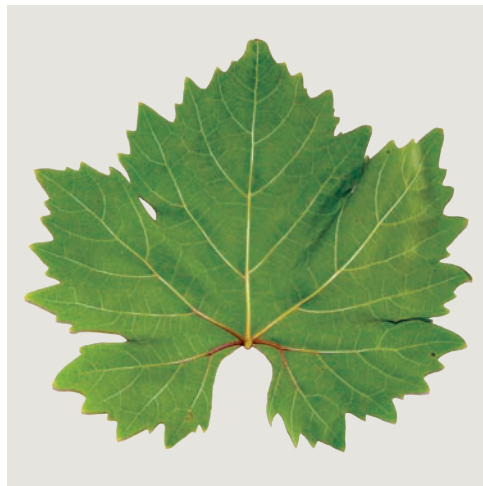


Καρυστινό





Συρίκι





Ξερομαχειρούδα



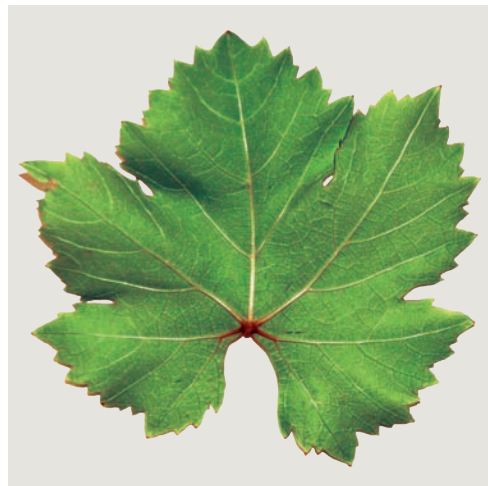


Σεριφιώτικο





Σταυροχιώτικο





Ερικαράς





Αρμελετούσα





Γιουρούκι





Φωκιανό



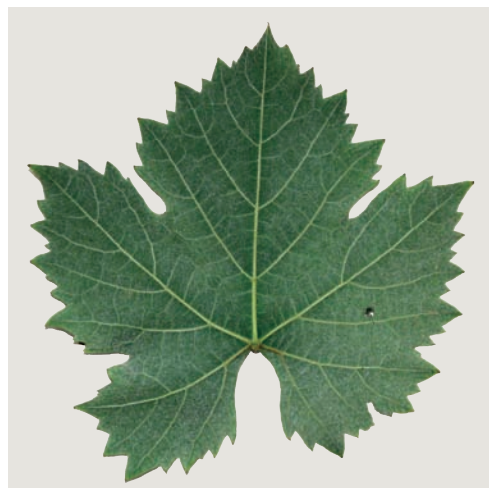


Βόσσος



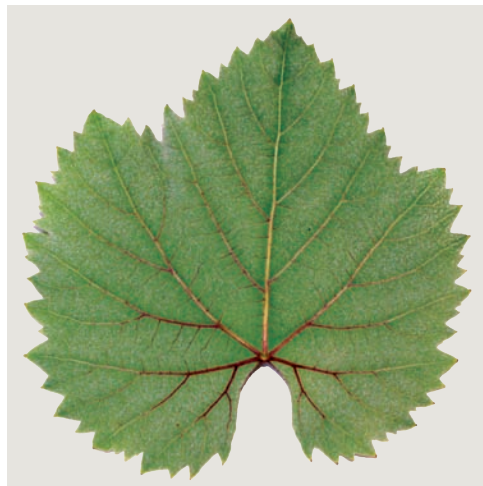


Ατσάλα





Κοκκινόρομπόλα





Ρομπόλα





Ασπρούδι
Αχαΐας





Ασπρούδι
Ζακύνθου





Ασπρούδι
Σαντορίνης



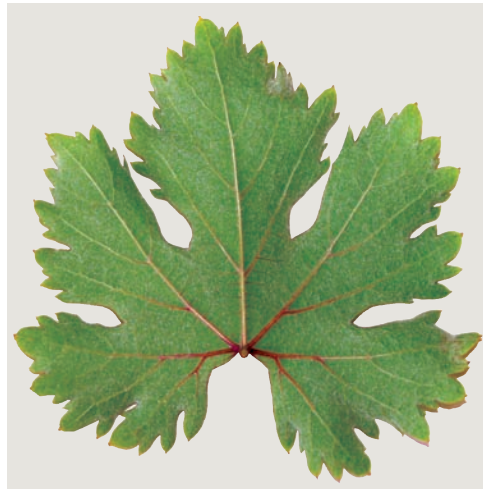


Ασπρούδι
Μυκηνών





Ασπρούδι
Σπετσών



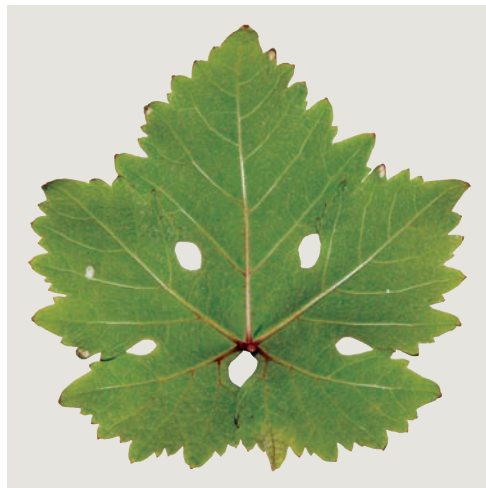
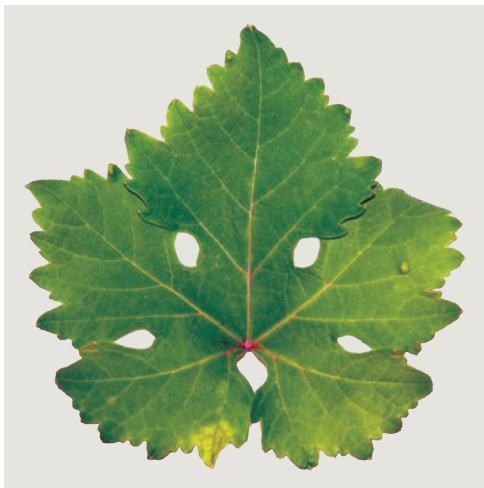


Αγριογλυκάδι





Γλυκάδα
Άσπρη





Γλυκερήθρα





Πλατάνι



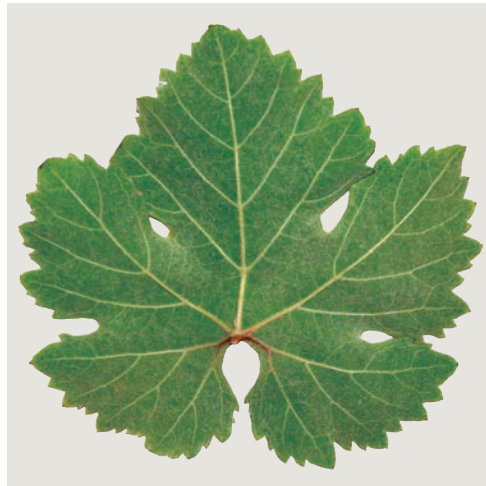


Πετρουλιανός





Ποταμίσι
Άσπρο



Παράρτημα ΙΙΙ

Φωτογραφίες ηλεκτροφορημάτων - Ενδεικτικά

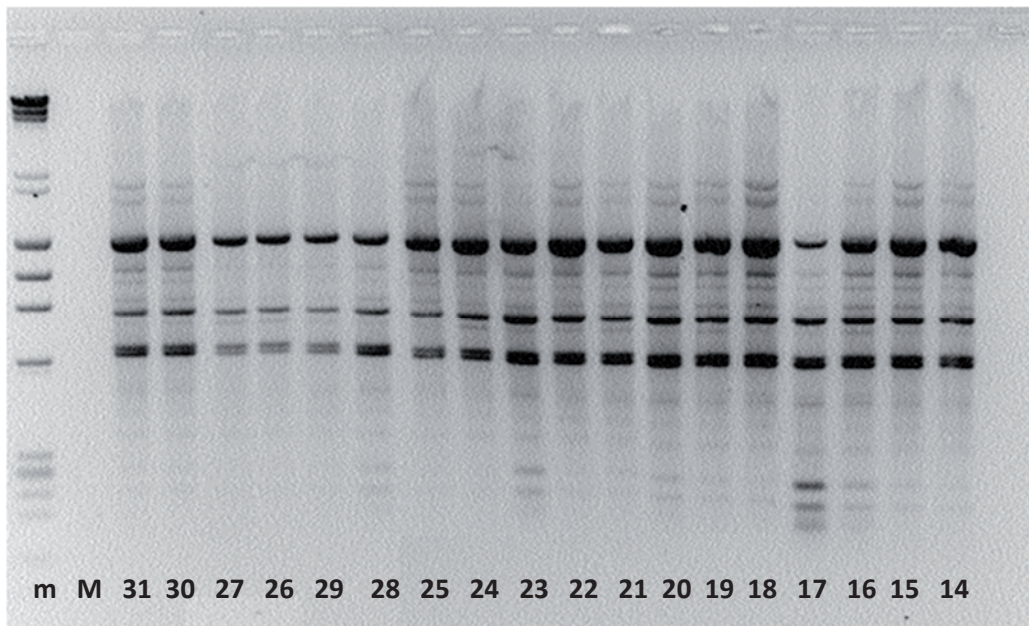
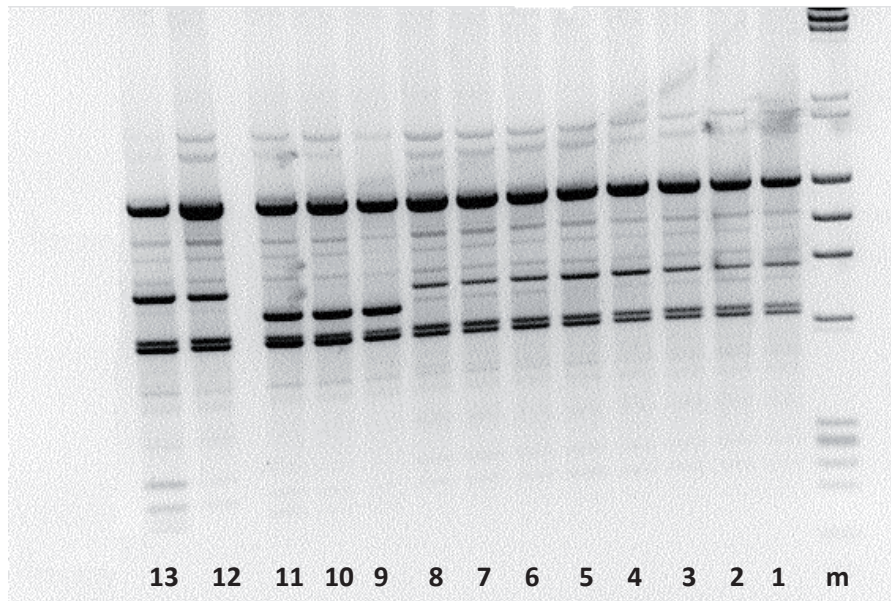
(το σύνολο των φωτογραφιών των ηλεκτροφορημάτων, για κάθε ποικιλία και για κάθε μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε, βρίσκονται στο ηλεκτρονικό αρχείο)

A. Βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας

Πίνακας ποικιλιών που μελετήθηκαν

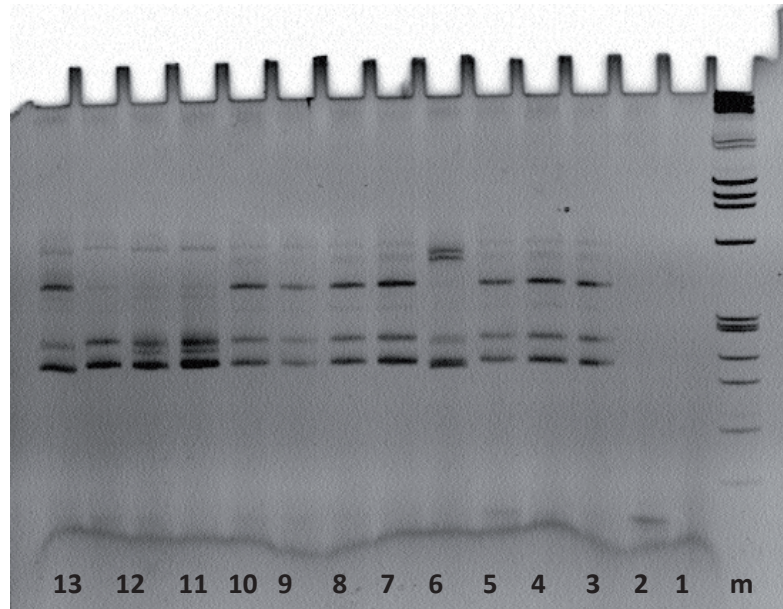
α/α	Ποικιλίες	α/α	Ποικιλίες
1	Τσεκλένι 1	17	Ζακύνθου Πρώιμο 3
2	Τσεκλένι 2	18	Κεφαλληνίας 1
3	Βοστίτσα 1	19	Κεφαλληνίας 2
4	Βοστίτσα 2	20	Κεφαλληνίας 3
5	Βοστίτσα 3	21	Κορινθίας 1
6	Πύργου 1	22	Κορινθίας 2
7	Πύργου 2	23	Κορινθίας 3
8	Πύργου 3	24	Κεφαλληνίας 4
9	Κορινθιακή Λευκή 1	25	Κεφαλληνίας 5
10	Κορινθιακή Λευκή 2	26	Κορινθιακή Μεταλλαγμένη 1
11	Κορινθιακή Λευκή 3	27	Κορινθιακή Μεταλλαγμένη 2
12	Ζακύνθου Ντόπιο 1	28	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 1
13	Ζακύνθου Ντόπιο 2	29	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 2
14	Ζακύνθου Ντόπιο 3	30	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 3
15	Ζακύνθου Πρώιμο 1	31	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 4
16	Ζακύνθου Πρώιμο 2		
M	Μάρτυρας	m	Marker

Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο RAPD σε πηκτή αγαρόζης.



Εικ. 1. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή 1224.

Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο SSR σε πηκτή πολυακρυλαμίδης (ενδεικτικά).

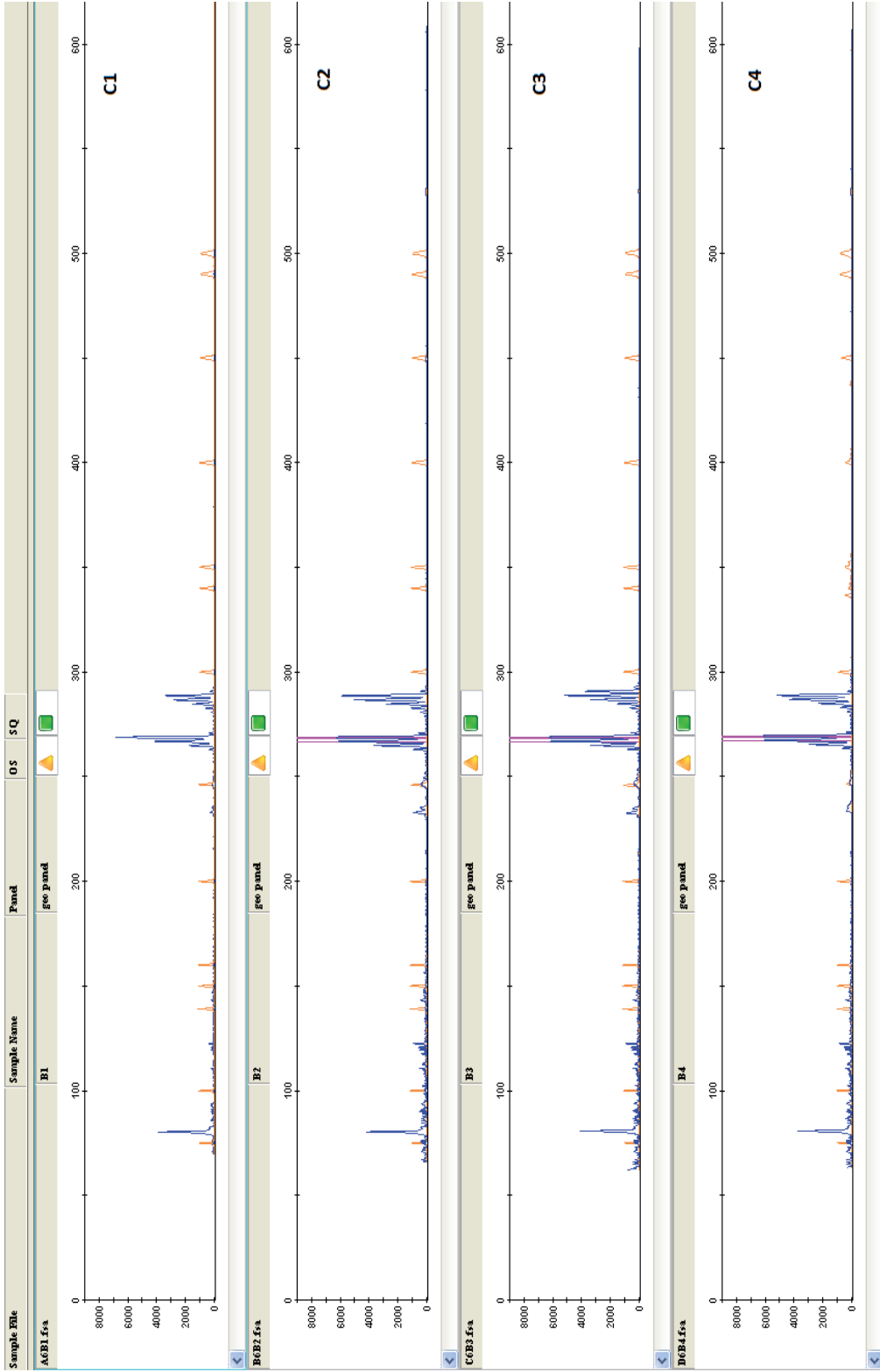


Εικ. 2. Ηλεκτροφόρημα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή VVMD25 (ενδεικτικά για επαλήθευση της αντίδρασης).

Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο SSR, όπως αυτά παρουσιάζονται από τον Αυτόματο Αναλυτή Γονιδιώματος ABI 310 (Applied Biosystems).

Η πορτοκαλί γραμμή είναι το πρότυπο μέγεθος DNA (Gene-Scan 500-LIZ Size Standard, Applied Biosystems), ενώ με το μαύρο/μπλε/κόκκινο χρώμα είναι τα ενισχυμένα τμήματα του κάθε εκκινητή, ανάλογα με τις φθορίζουσες χρωστικές.

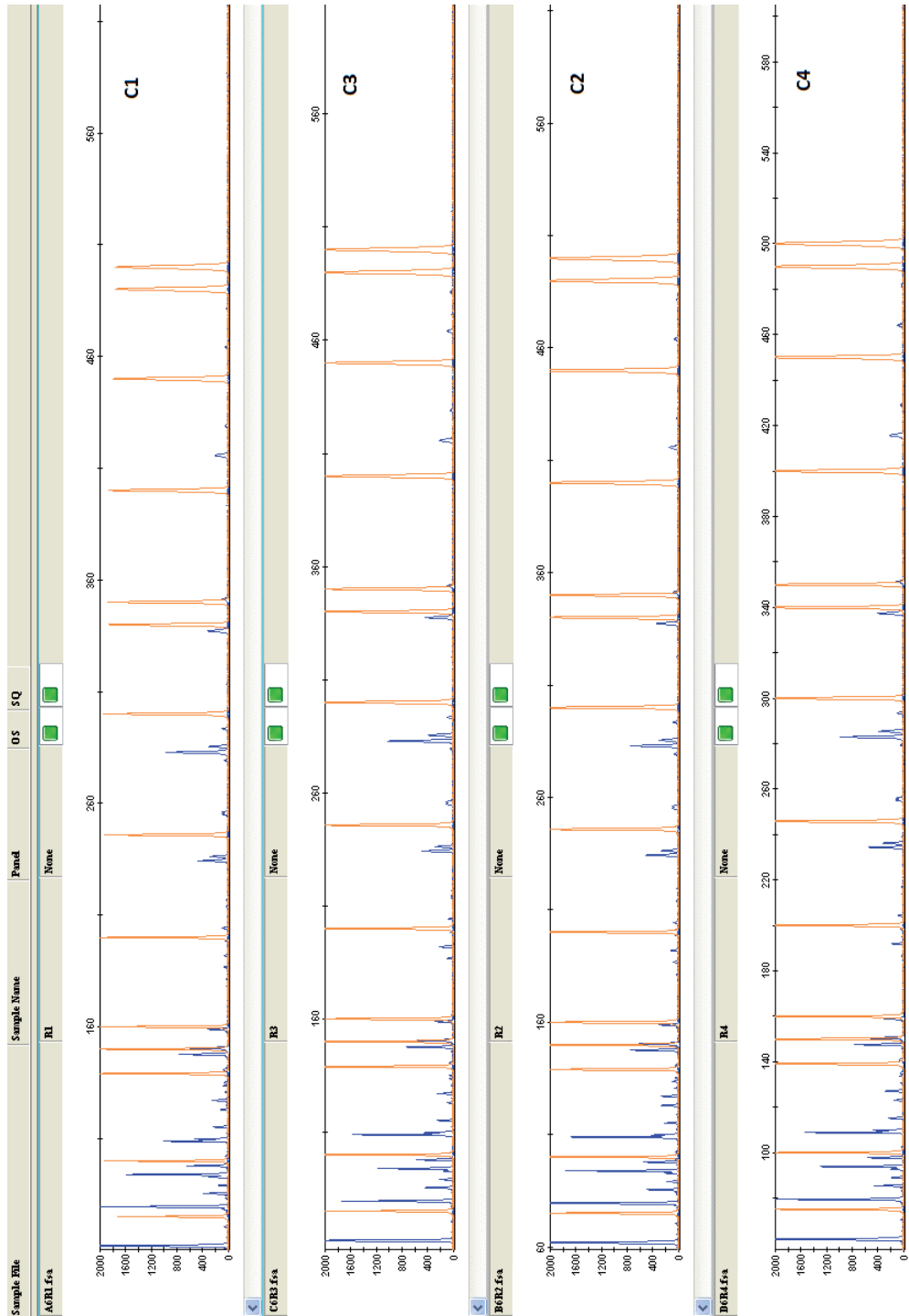
Εκκλιητής VMD32



Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο AFLP, όπως αυτά παρουσιάζονται από τον Αυτόματο Αναλυτή Γονιδιώματος ABI 310 (Applied Biosystems).

Η πορτοκαλί γραμμή είναι το πρότυπο μέγεθος DNA (Gene-Scan 500-LIZ Size Standard, Applied Biosystems), ενώ με το μπλε/μαύρο/πράσινο χρώμα είναι τα ενισχυμένα τμήματα του κάθε εκκινητή, ανάλογα με τις φθορίζουσες χρωστικές.

Εκκλινητής EcoRI – ACT – MseI – CAT

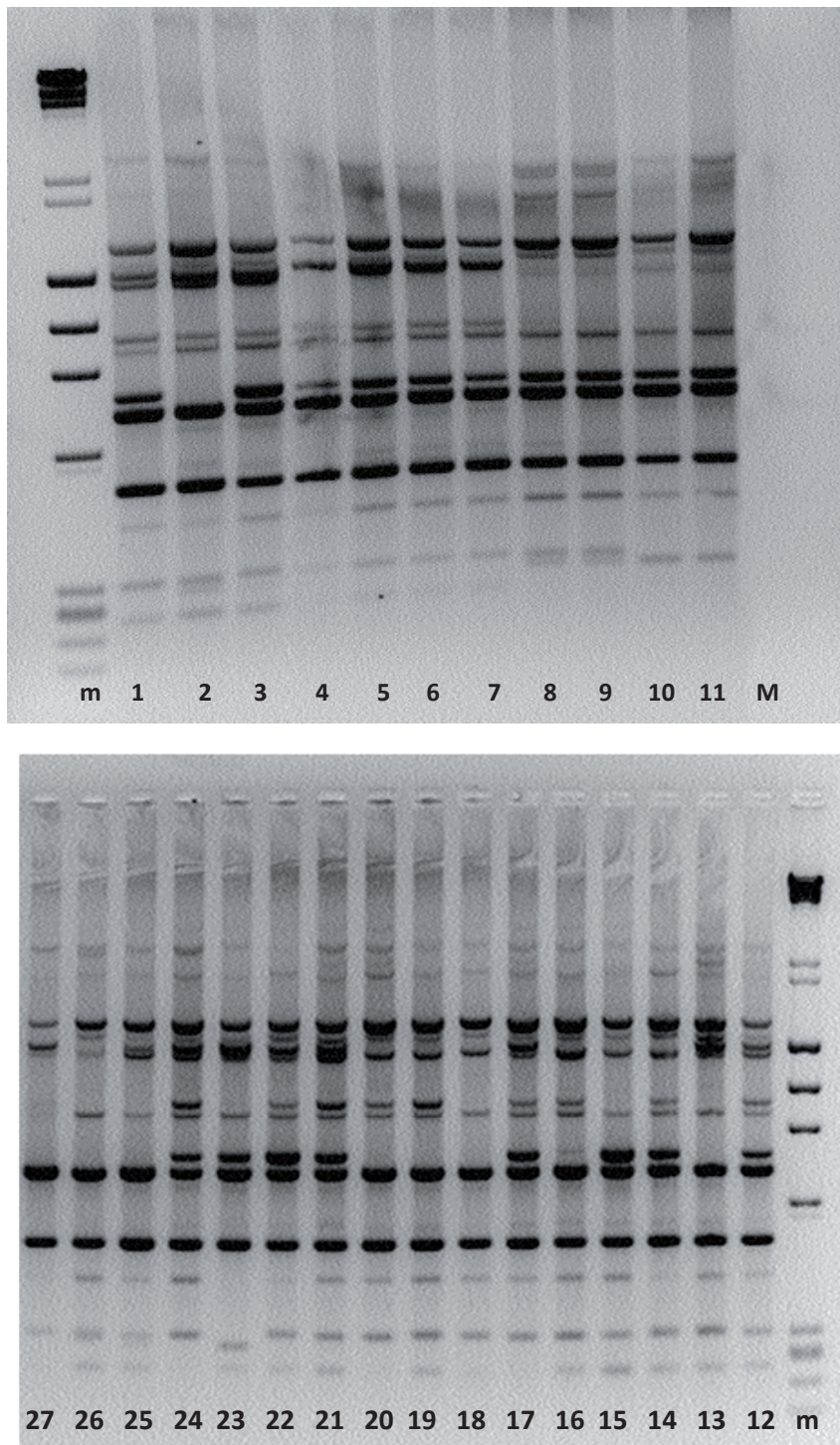


Β. Λοιπές ποικιλίες

Πίνακας ποικιλιών που μελετήθηκαν

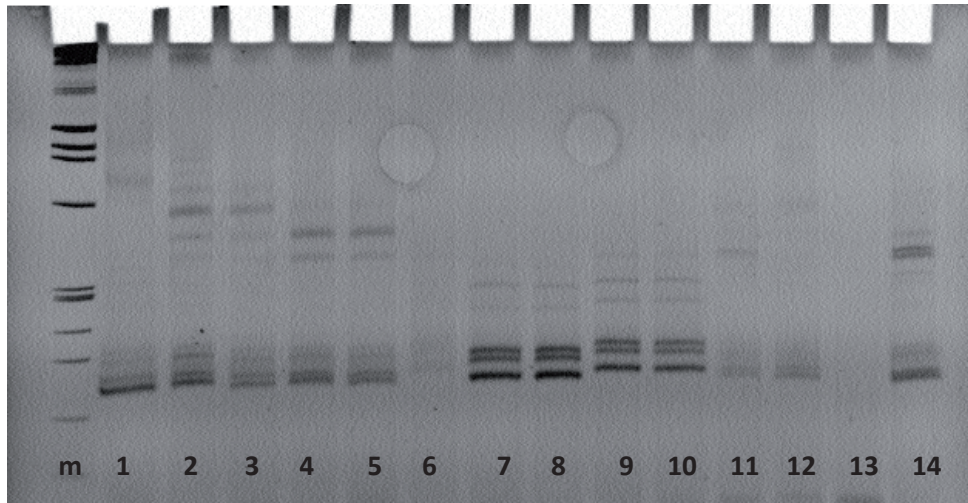
α/α	Ποικιλίες	α/α	Ποικιλίες
1	Εφτάκοιλο	15	Ρομπόλα
2	Λαδικινό	16	Ασπρούδι Αχαΐας
3	Καρυστινό	17	Ασπρούδι Ζακύνθου
4	Συρίκι	18	Ασπρούδι Σαντορίνης
5	Ξερομαχαιρούδα	19	Ασπρούδι Μυκηνών
6	Σεριφιώτικο	20	Ασπρούδι Σπετσών
7	Σταυροχιώτικο	21	Αγριογλυκάδι
8	Ερικαράς	22	Γλυκάδα άσπρη
9	Αρμελετούσα	23	Γλυκερήθρα
10	Γιουρούκι	24	Γλυκέρι
11	Φωκιανό	25	Πλατάνι
12	Βόσσος	26	Πετρουλιανός
13	Ατσάλα	27	Ποταμίσι άσπρο
14	Κοκκινορομπόλα		
M	Μάρτυρας	m	Marker

Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο RAPD σε πηκτή αγαρόζης.



Εικ. 3. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή 1227.

Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο SSR σε πηκτή πολυακρυλαμίδης (ενδεικτικά).

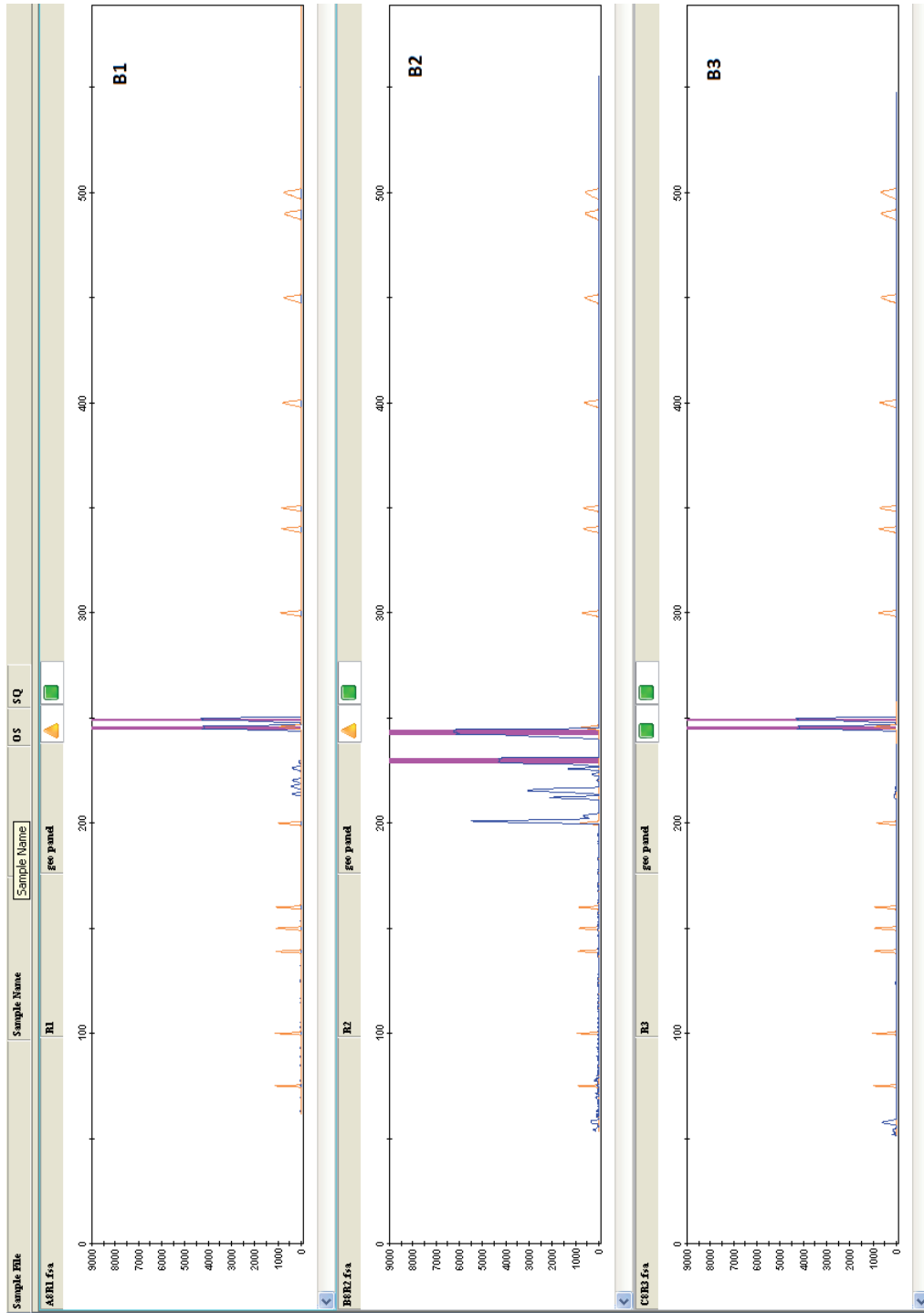


Εικ. 4. Ηλεκτροφόρημα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή VVS2 (ενδεικτικά για επαλήθευση της αντίδρασης).

Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο SSR, όπως αυτά παρουσιάζονται από τον Αυτόματο Αναλυτή Γονιδιώματος ABI 310 (Applied Biosystems).

Η πορτοκαλί γραμμή είναι το πρότυπο μέγεθος DNA (Gene-Scan 500-LIZ Size Standard, Applied Biosystems), ενώ με το μπλε χρώμα είναι τα ενισχυμένα τμήματα του κάθε εκκινητή.

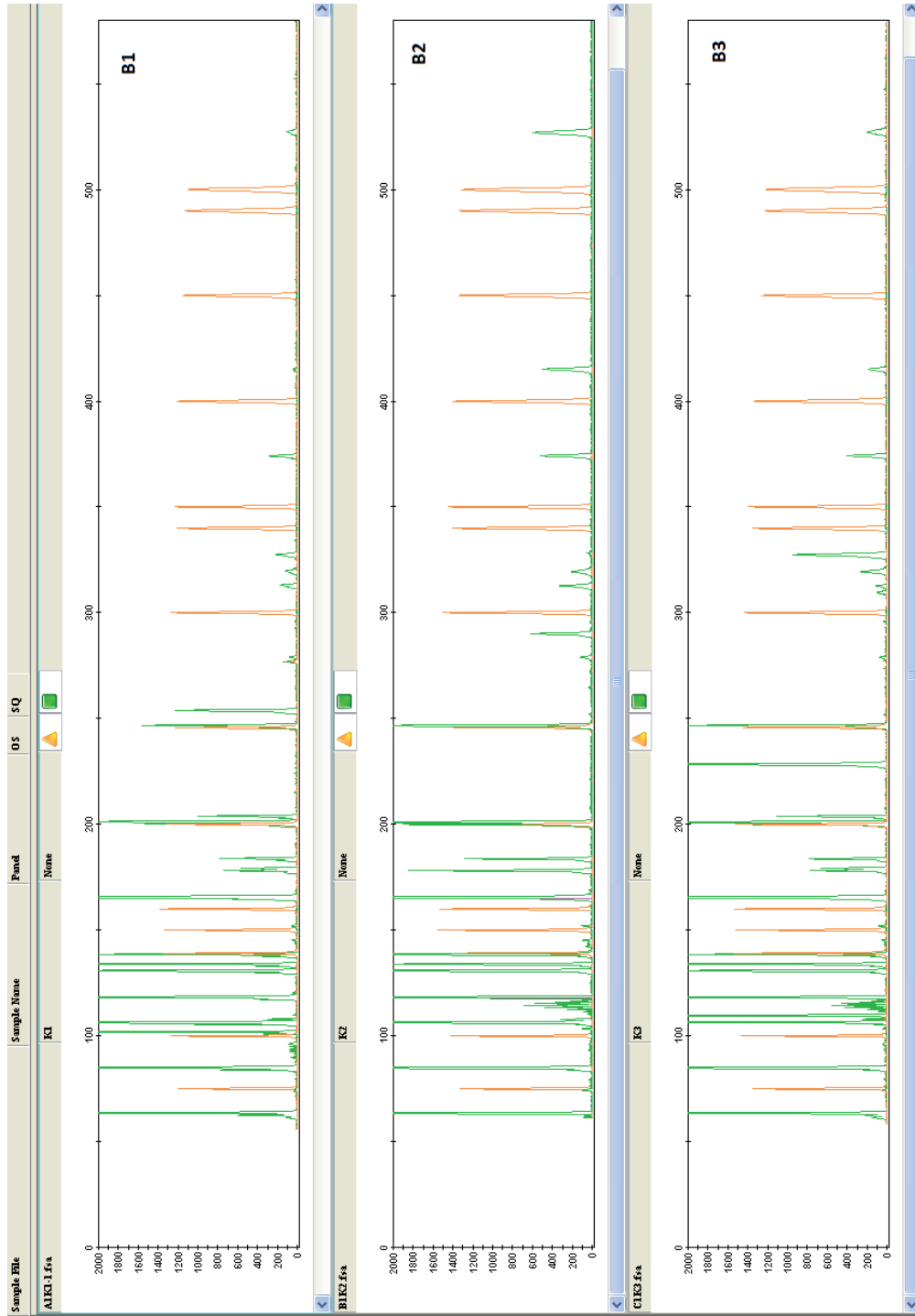
Εκκλητής VMD7



Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο AFLP, όπως αυτά παρουσιάζονται από τον Αυτόματο Αναλυτή Γονιδιώματος ABI 310 (Applied Biosystems).

Η πορτοκαλί γραμμή είναι το πρότυπο μέγεθος DNA (Gene-Scan 500-LIZ Size Standard, Applied Biosystems), ενώ με το μπλε/πράσινο χρώμα είναι τα ενισχυμένα τμήματα του κάθε εκκινητή, ανάλογα με τις φθορίζουσες χρωστικές.

Εκκλινητής EcoRI – AGG – MseI – CAC



Παράρτημα III

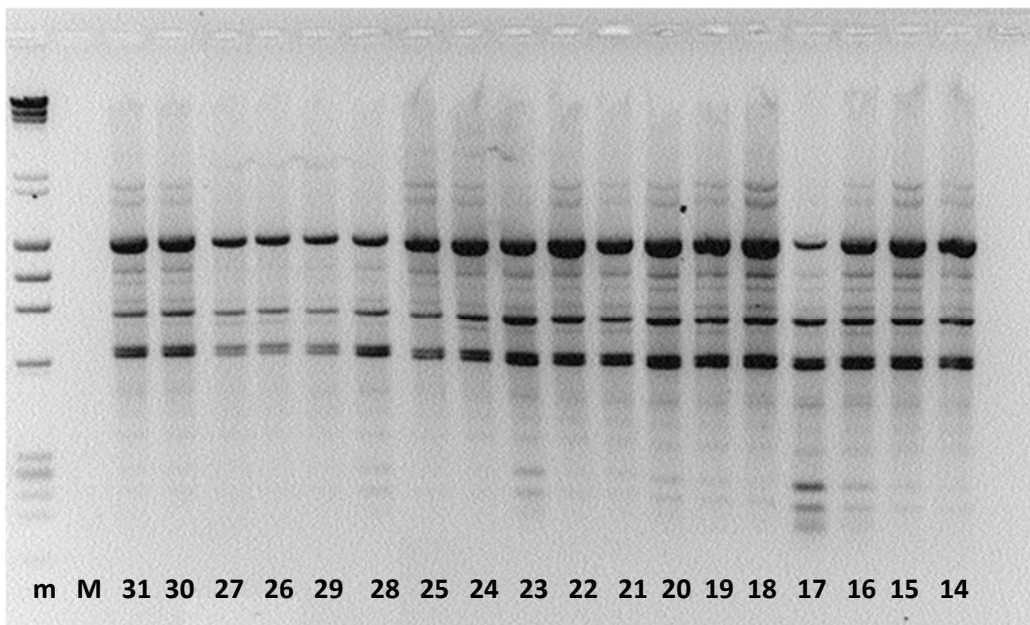
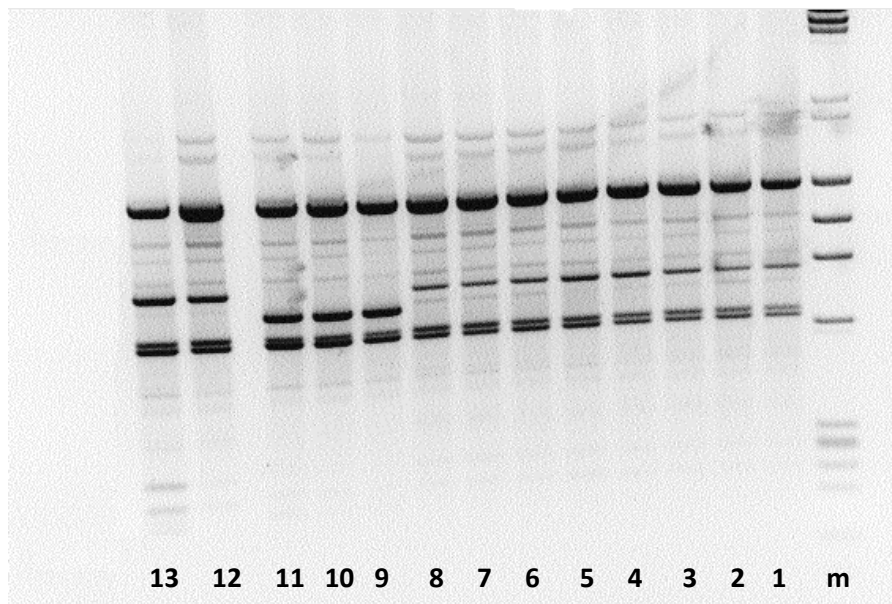
Φωτογραφίες ηλεκτροφορημάτων

A. Βιότυποι της Κορινθιακής Σταφίδας

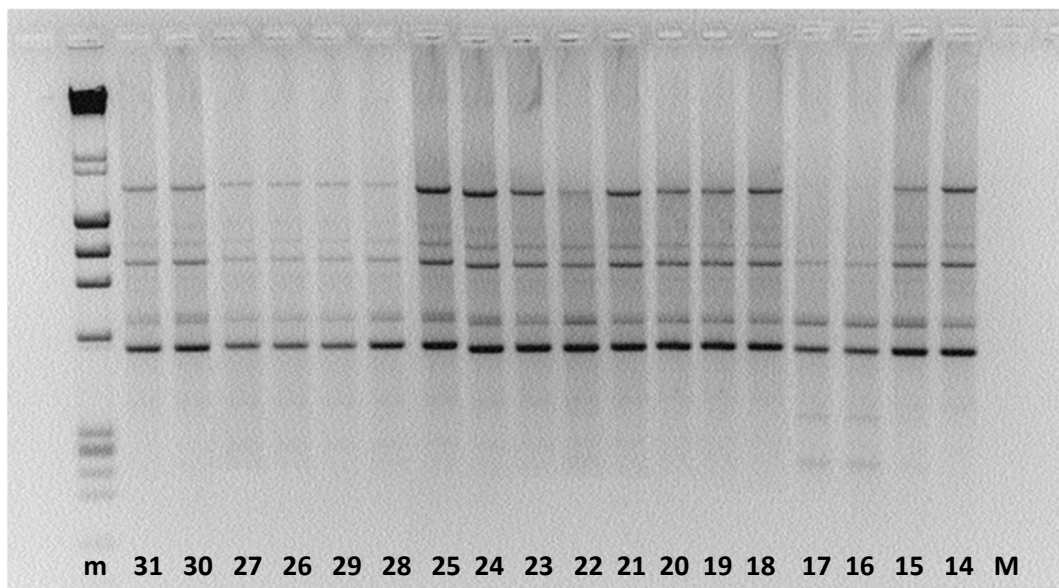
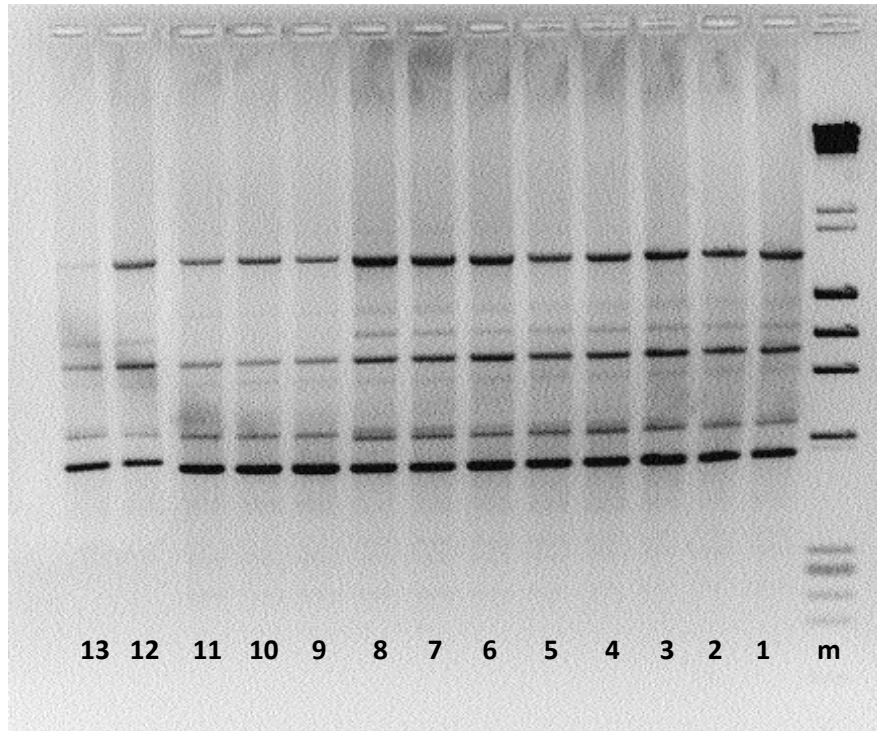
Πίνακας ποικιλιών που μελετήθηκαν

α/α	Ποικιλίες	α/α	Ποικιλίες
1	Τσεκλένι 1	17	Ζακύνθου Πρώιμο 3
2	Τσεκλένι 2	18	Κεφαλληνίας 1
3	Βοστίτσα 1	19	Κεφαλληνίας 2
4	Βοστίτσα 2	20	Κεφαλληνίας 3
5	Βοστίτσα 3	21	Κορινθίας 1
6	Πύργου 1	22	Κορινθίας 2
7	Πύργου 2	23	Κορινθίας 3
8	Πύργου 3	24	Κεφαλληνίας 4
9	Κορινθιακή Λευκή 1	25	Κεφαλληνίας 5
10	Κορινθιακή Λευκή 2	26	Κορινθιακή Μεταλλαγμένη 1
11	Κορινθιακή Λευκή 3	27	Κορινθιακή Μεταλλαγμένη 2
12	Ζακύνθου Ντόπιο 1	28	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 1
13	Ζακύνθου Ντόπιο 2	29	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 2
14	Ζακύνθου Ντόπιο 3	30	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 3
15	Ζακύνθου Πρώιμο 1	31	Κορινθιακή Σχιστόφυλλος 4
16	Ζακύνθου Πρώιμο 2		
M	Μάρτυρας	m	Marker

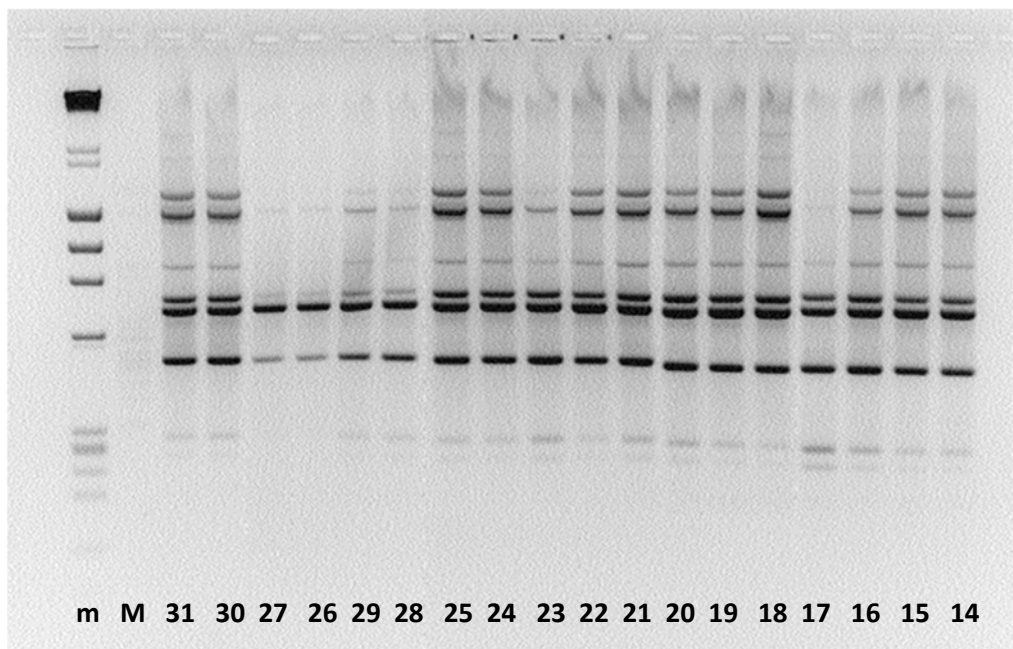
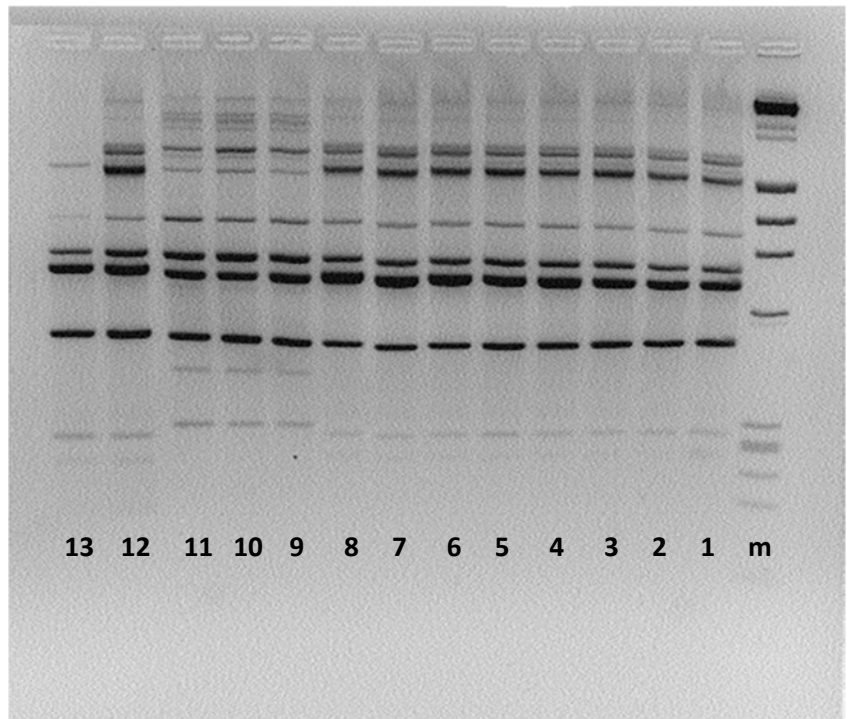
Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο RAPD σε πηκτή αγαρόζης.



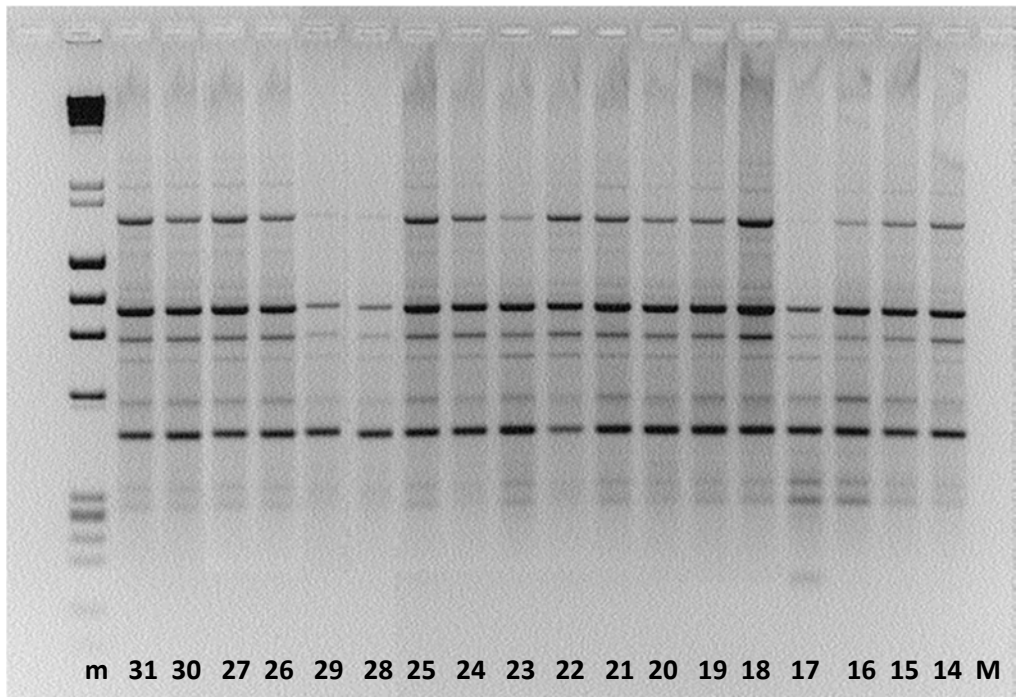
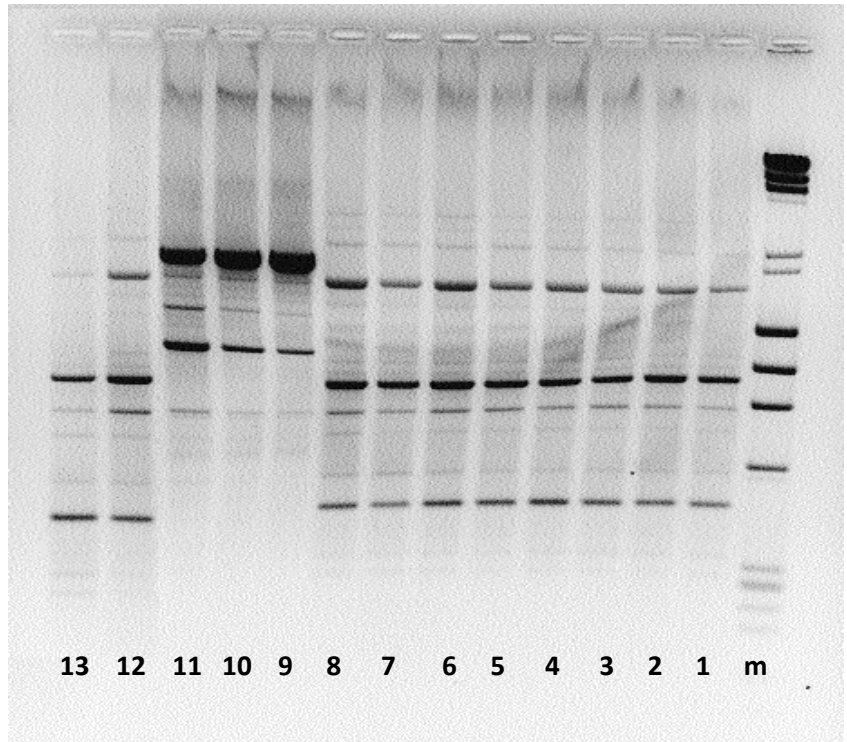
Εικ. 1. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή 1224.



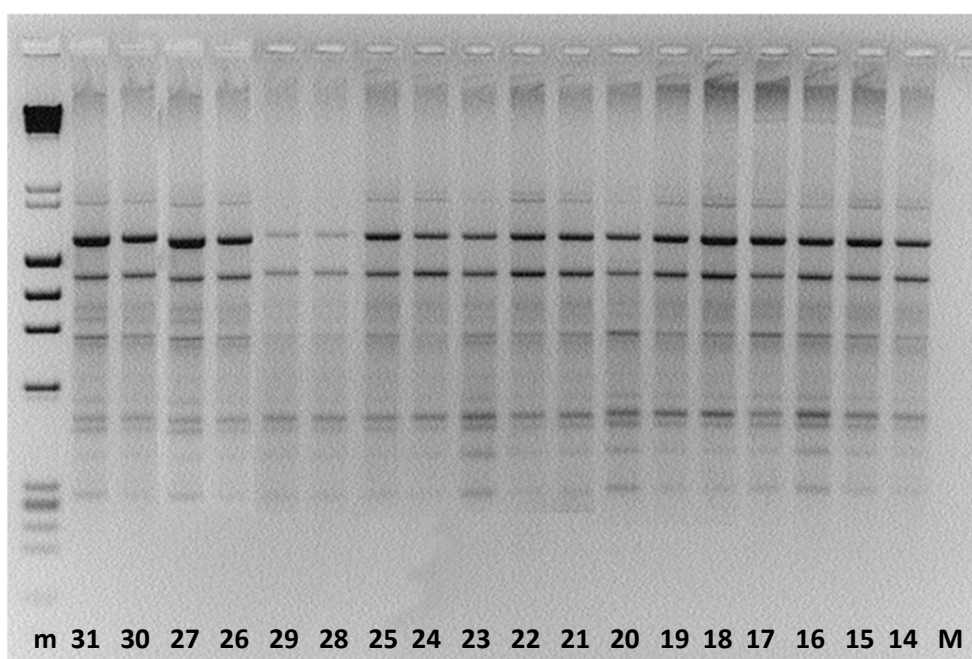
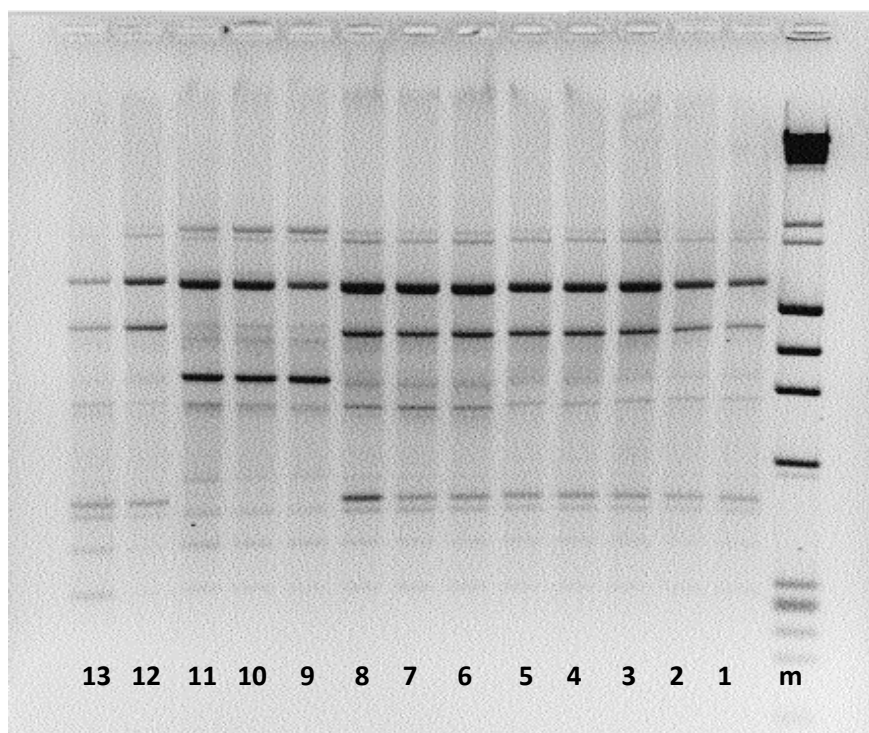
Εικ. 2. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή 1225.



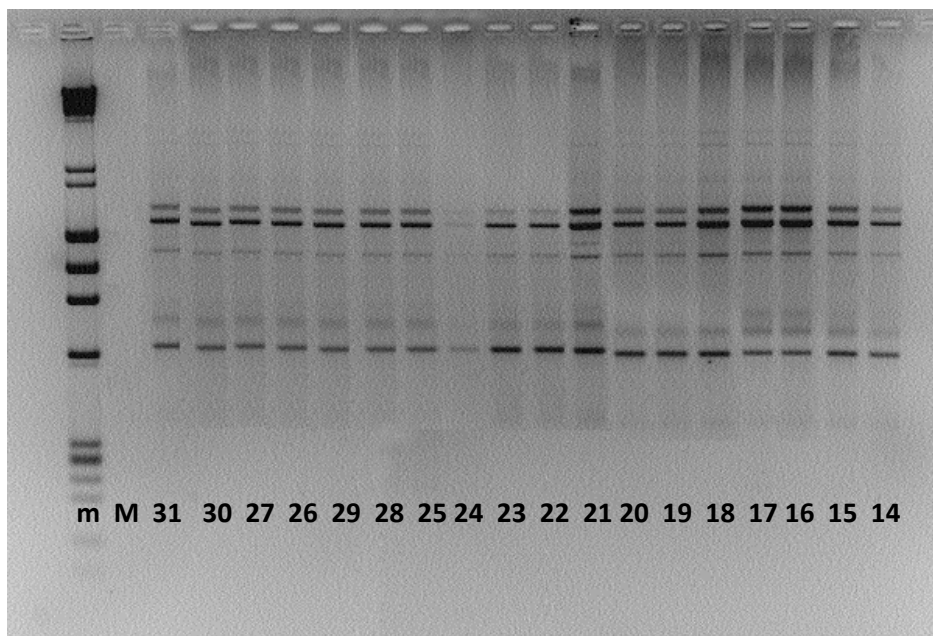
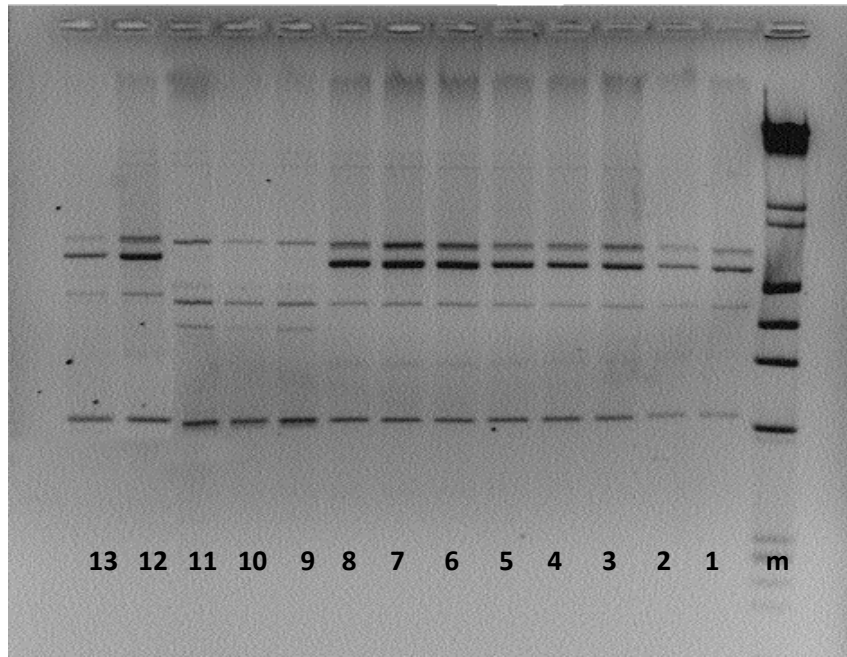
Εικ. 3. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή 1227.



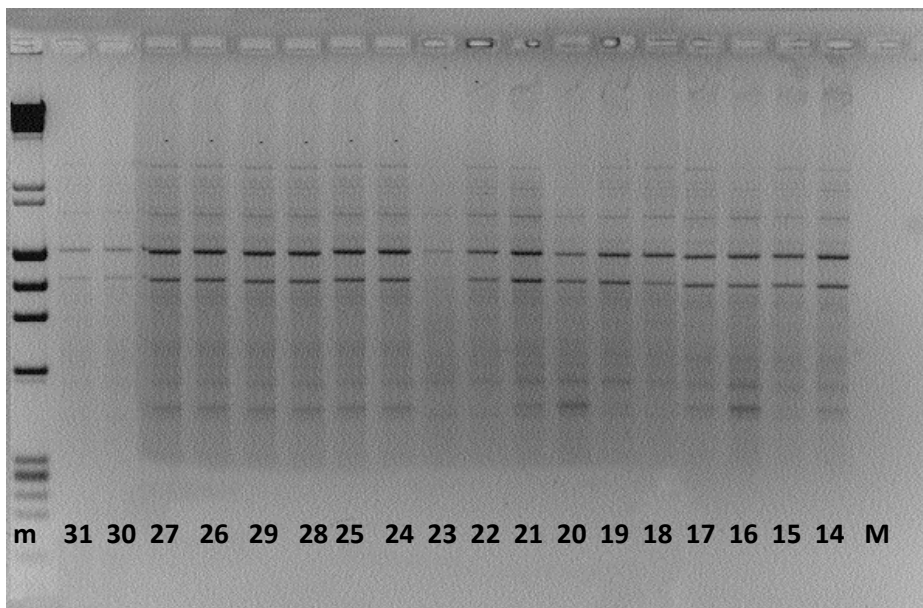
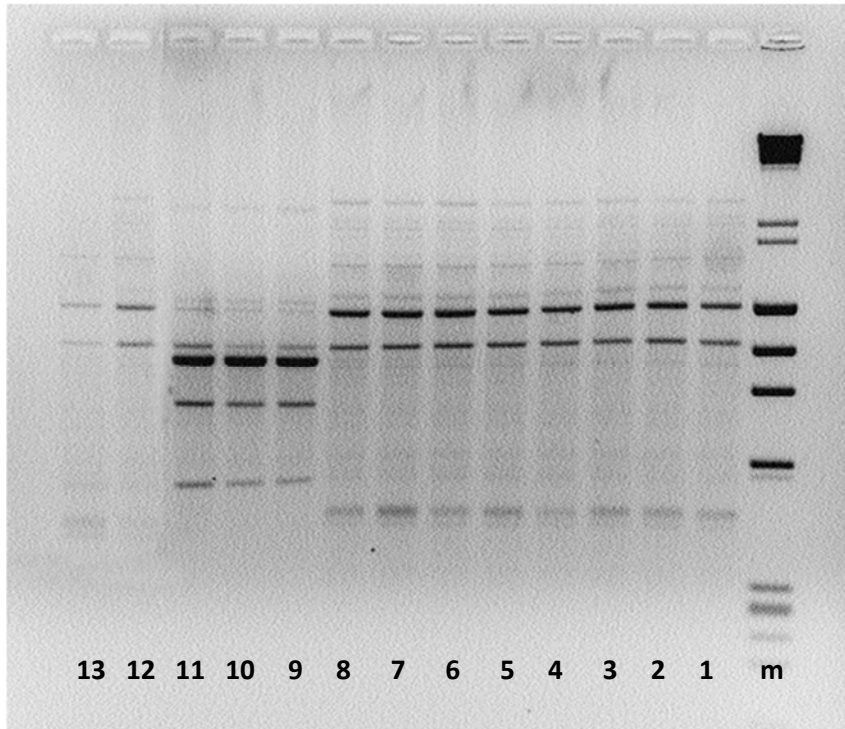
Εικ. 4. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή OPF-04.



Εικ. 5. Ηλεκτροφόρημα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή OPF-09.

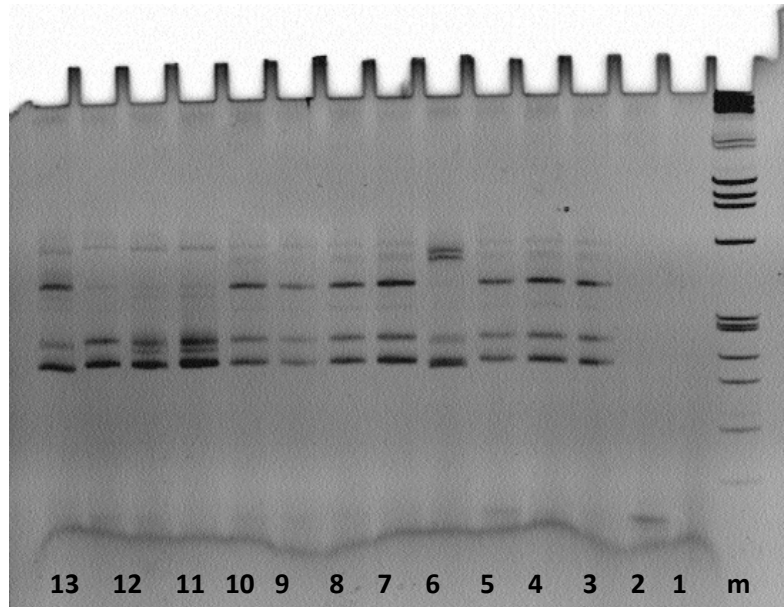


Εικ. 6. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή OPF-14.



Εικ. 7. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή OPM-15.

Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο SSR σε πηκτή πολυακρυλαμίδης (ενδεικτικά).

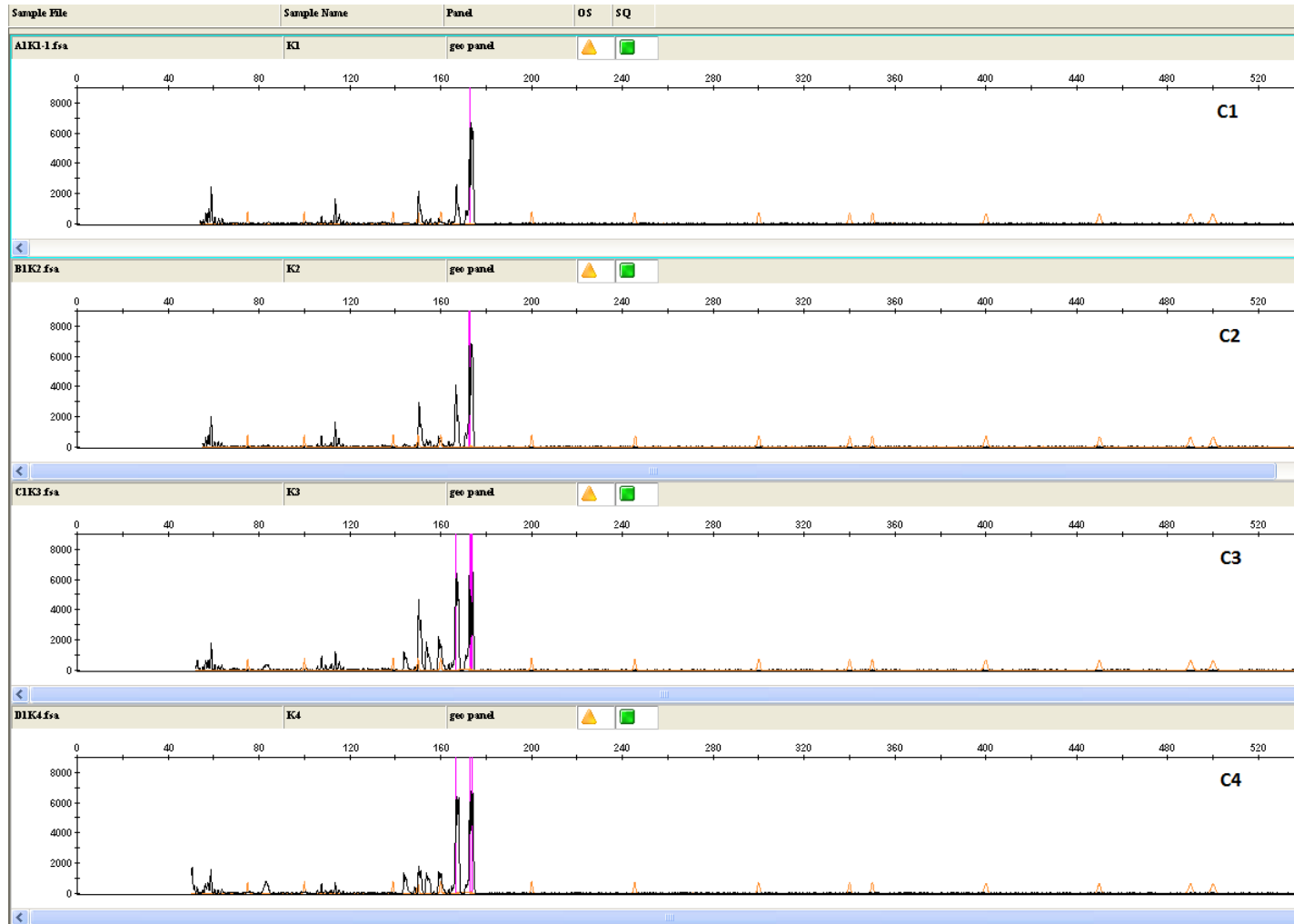


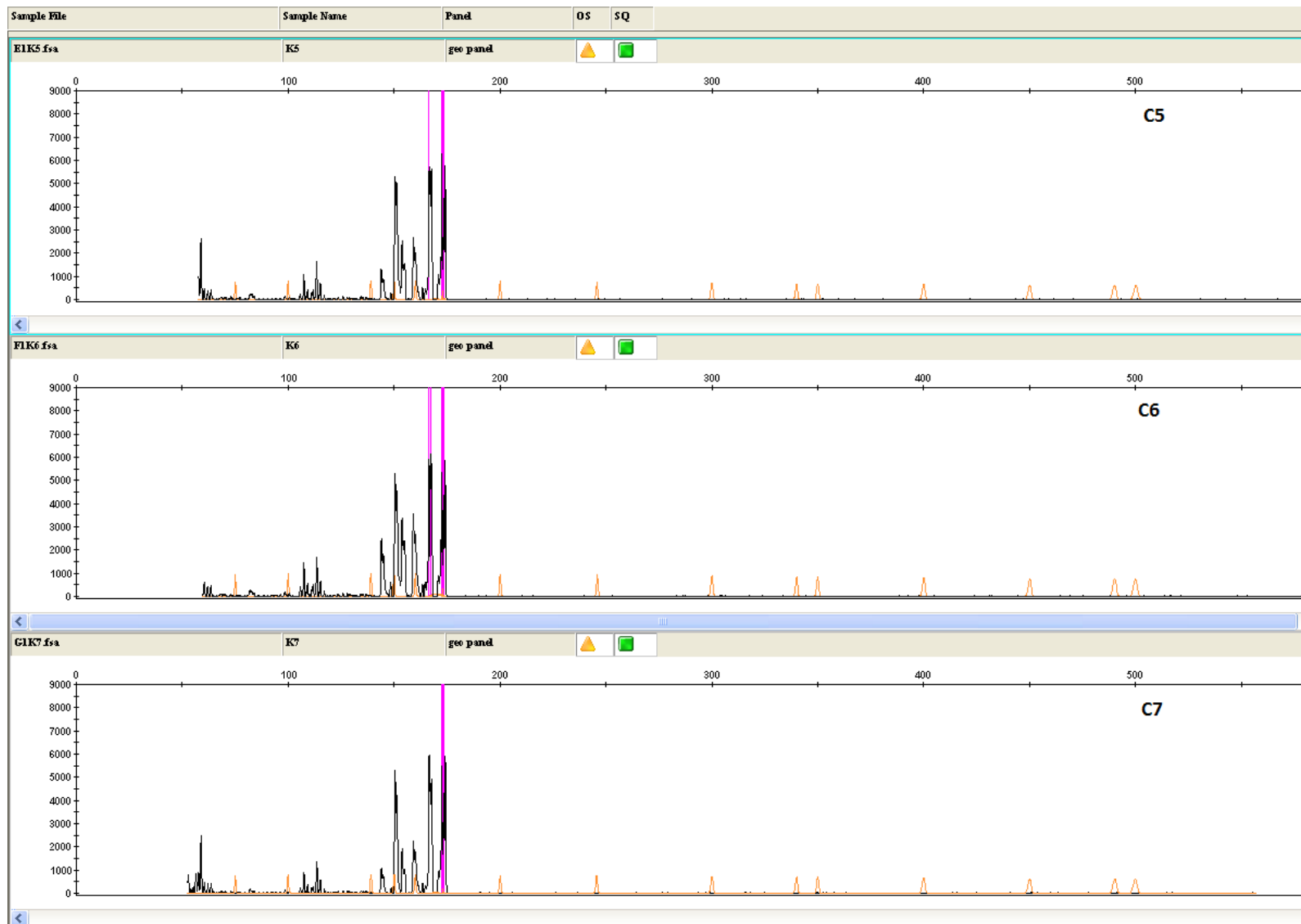
Εικ. 8. Ηλεκτροφόρημα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή VVMD25 (ενδεικτικά για επαλήθευση της αντίδρασης).

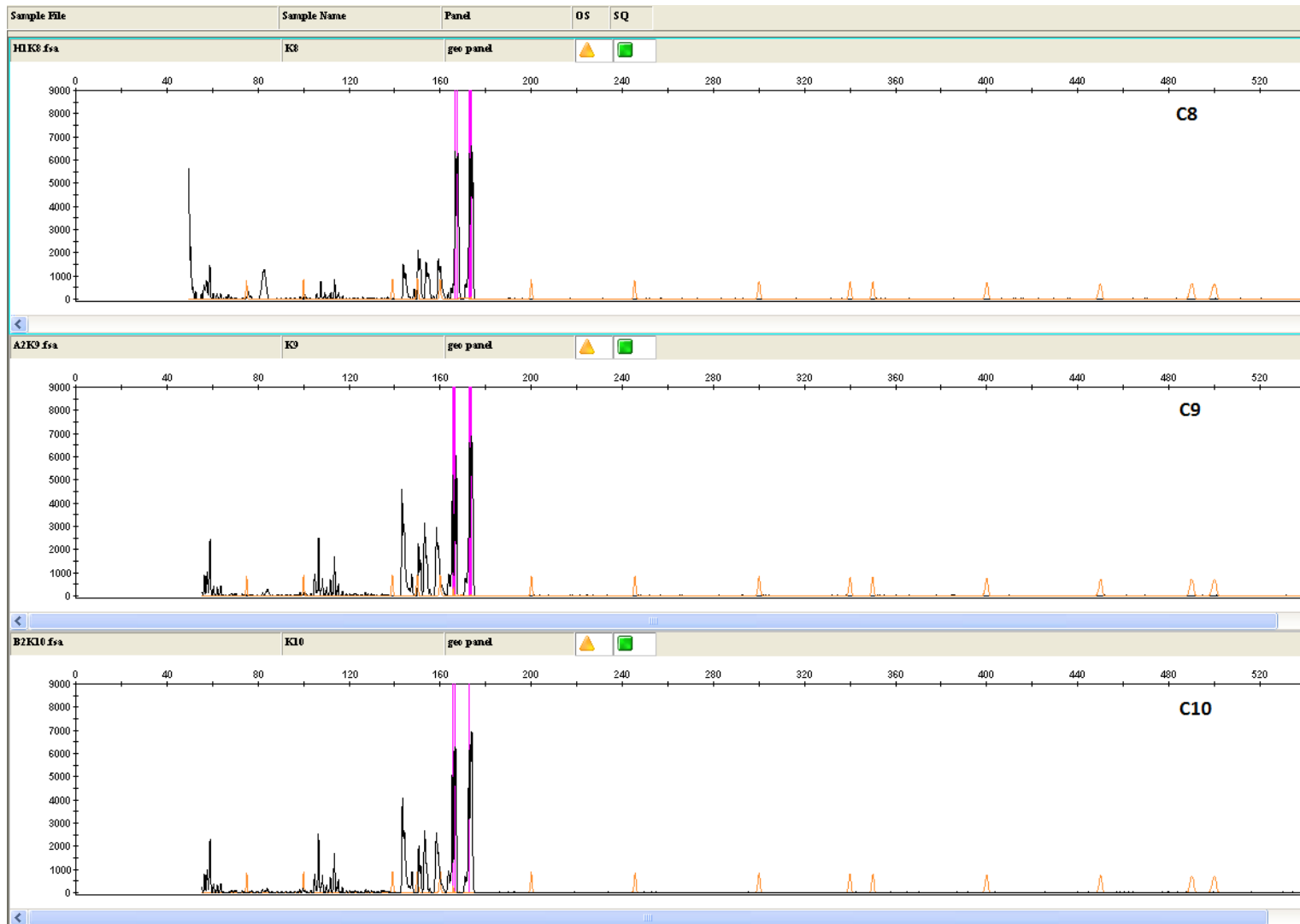
Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο SSR, όπως αυτά παρουσιάζονται από τον Αυτόματο Αναλυτή Γονιδιώματος ABI 310 (Applied Biosystems).

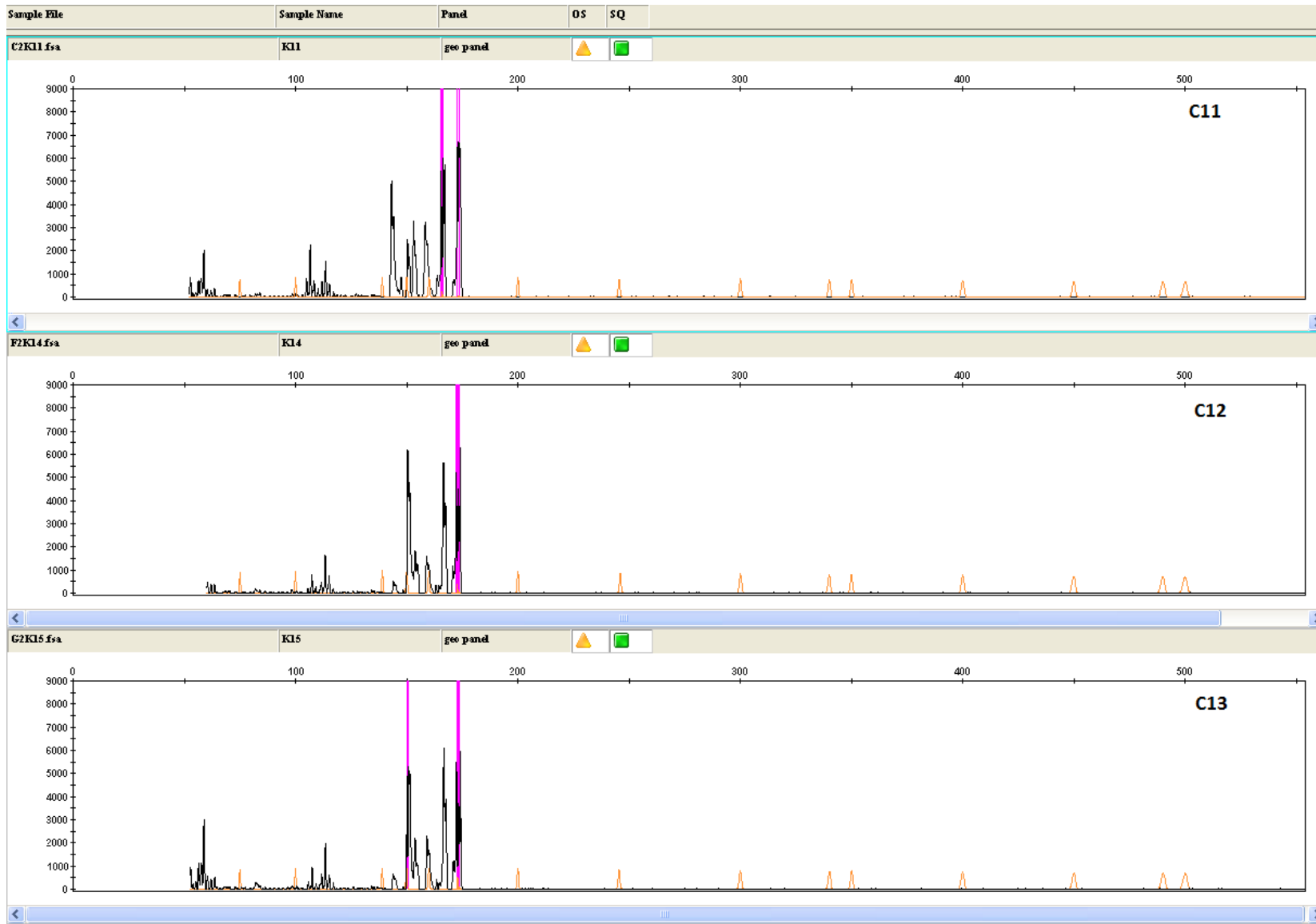
Η πορτοκαλί γραμμή είναι το πρότυπο μέγεθος DNA (Gene-Scan 500-LIZ Size Standard, Applied Biosystems), ενώ με το μαύρο/μπλε/κόκκινο χρώμα είναι τα ενισχυμένα τμήματα του κάθε εκκινητή, ανάλογα με τις φθορίζουσες χρωστικές.

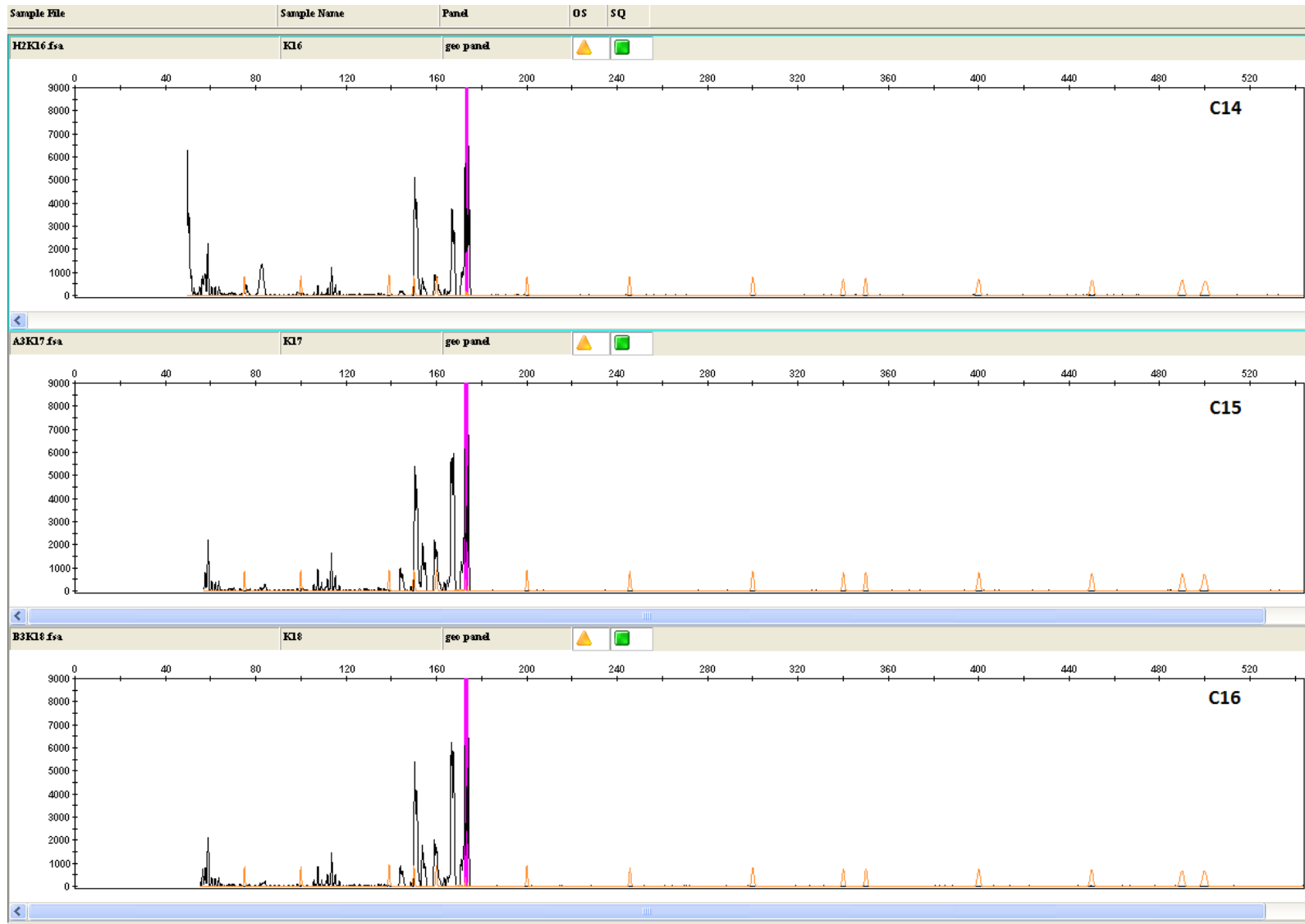
Εκκλητηής VVS4

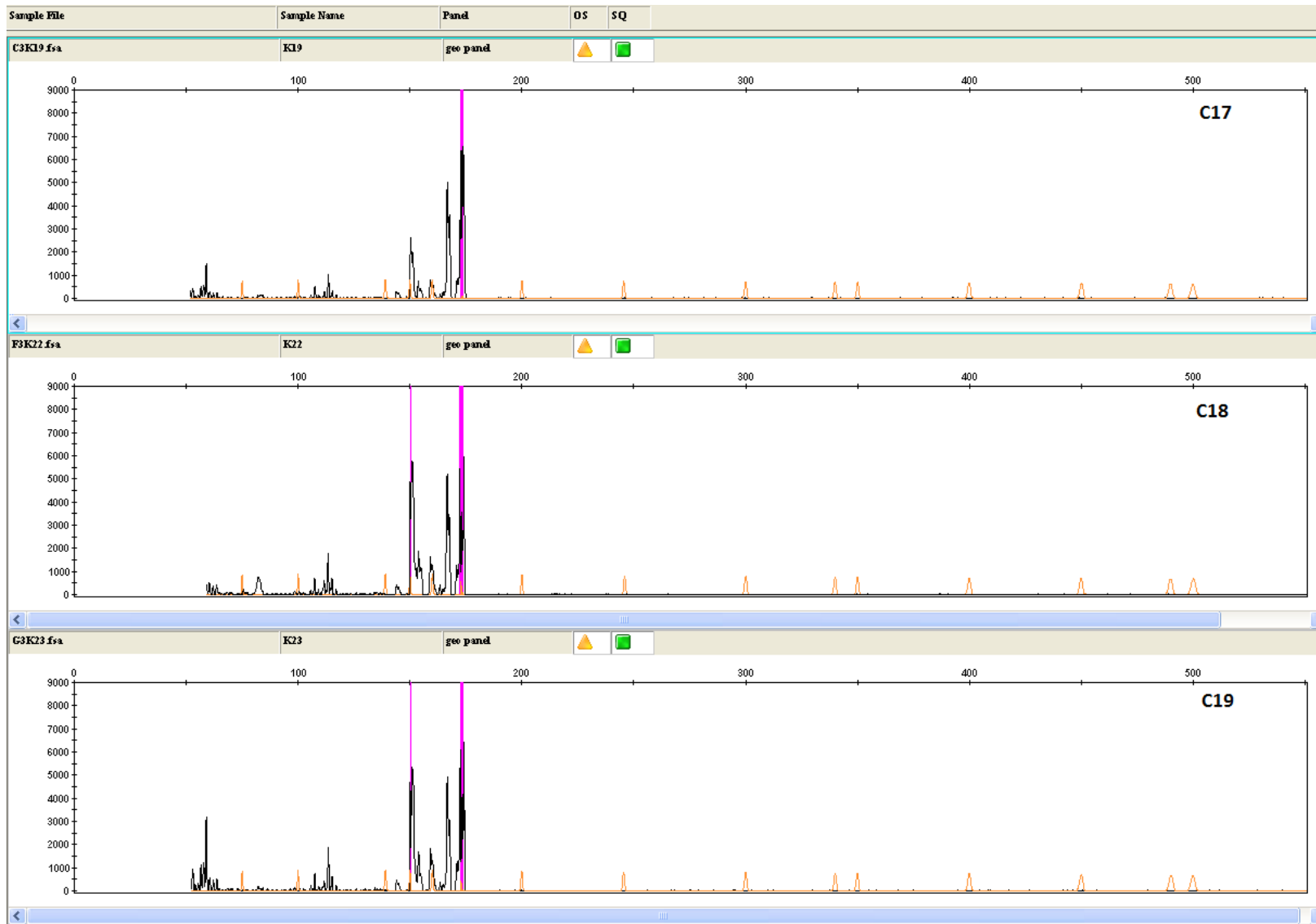


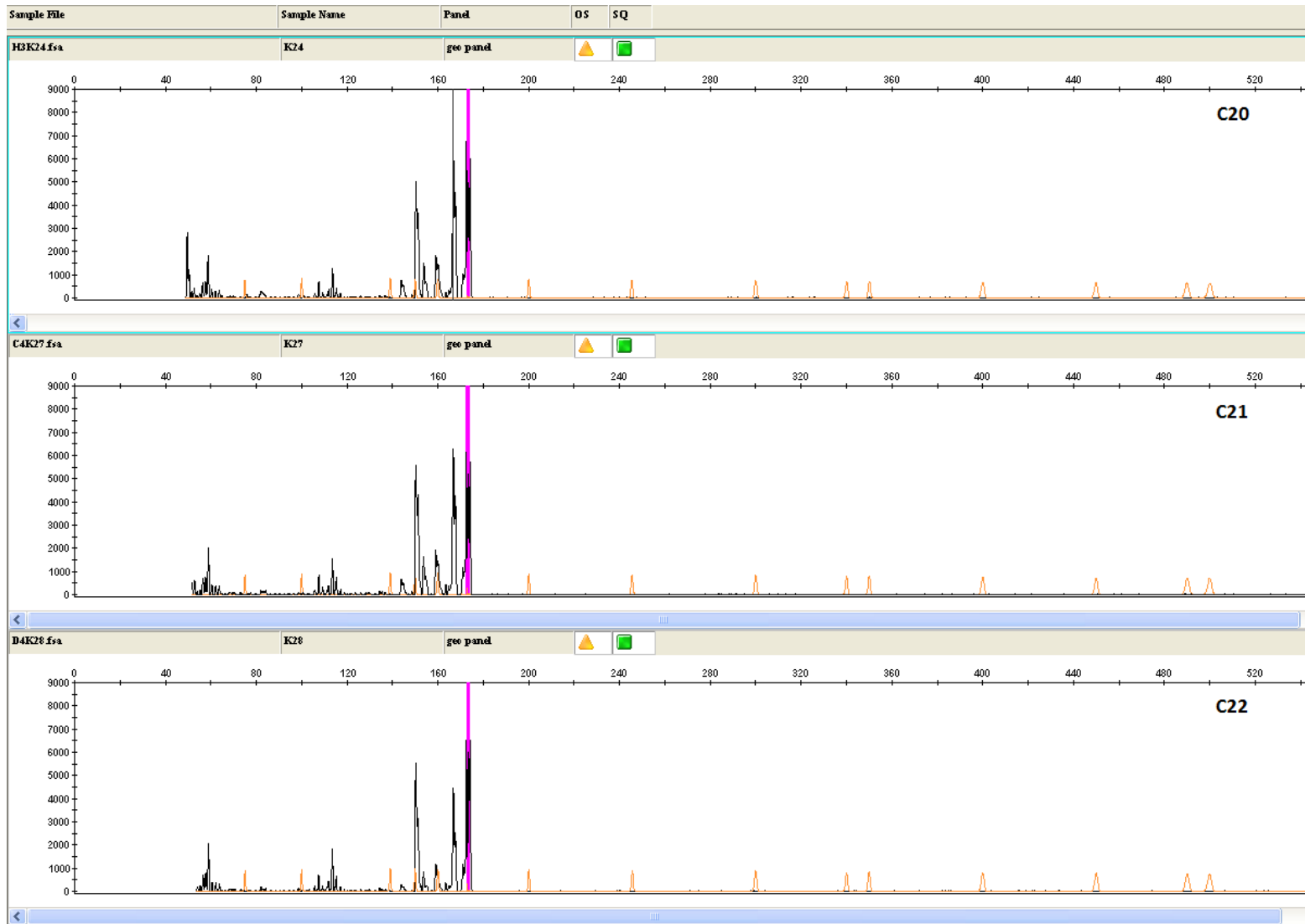


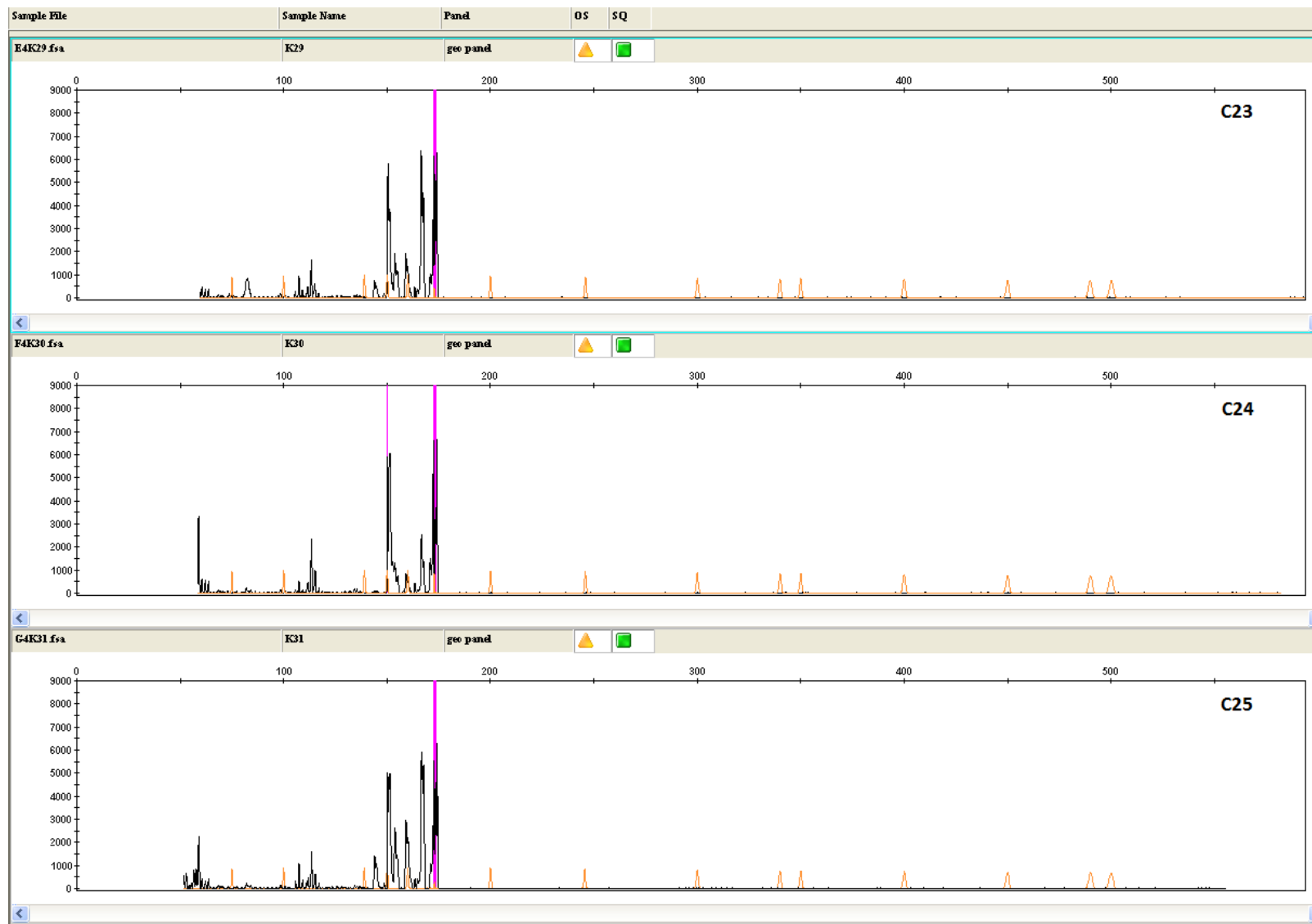


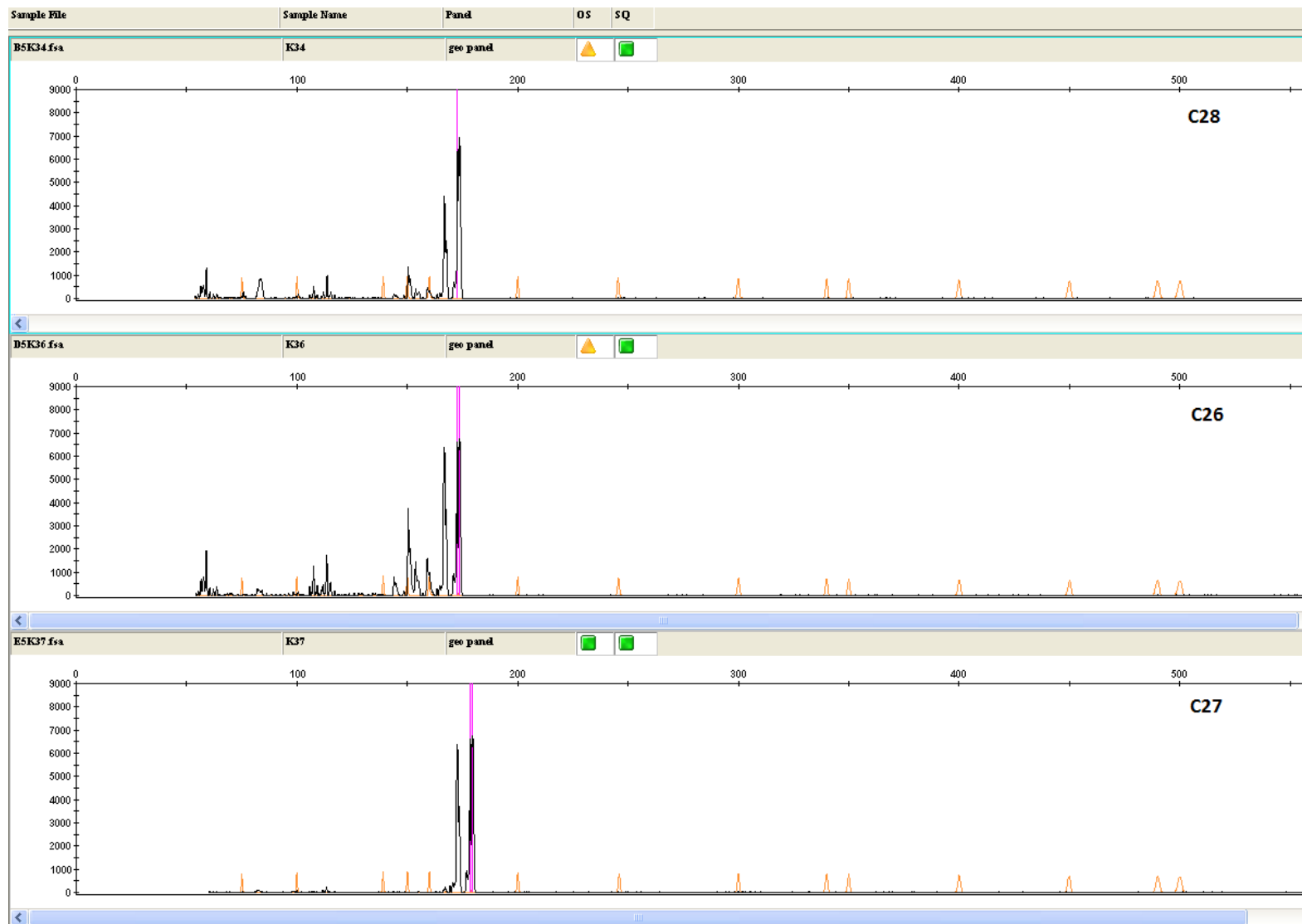


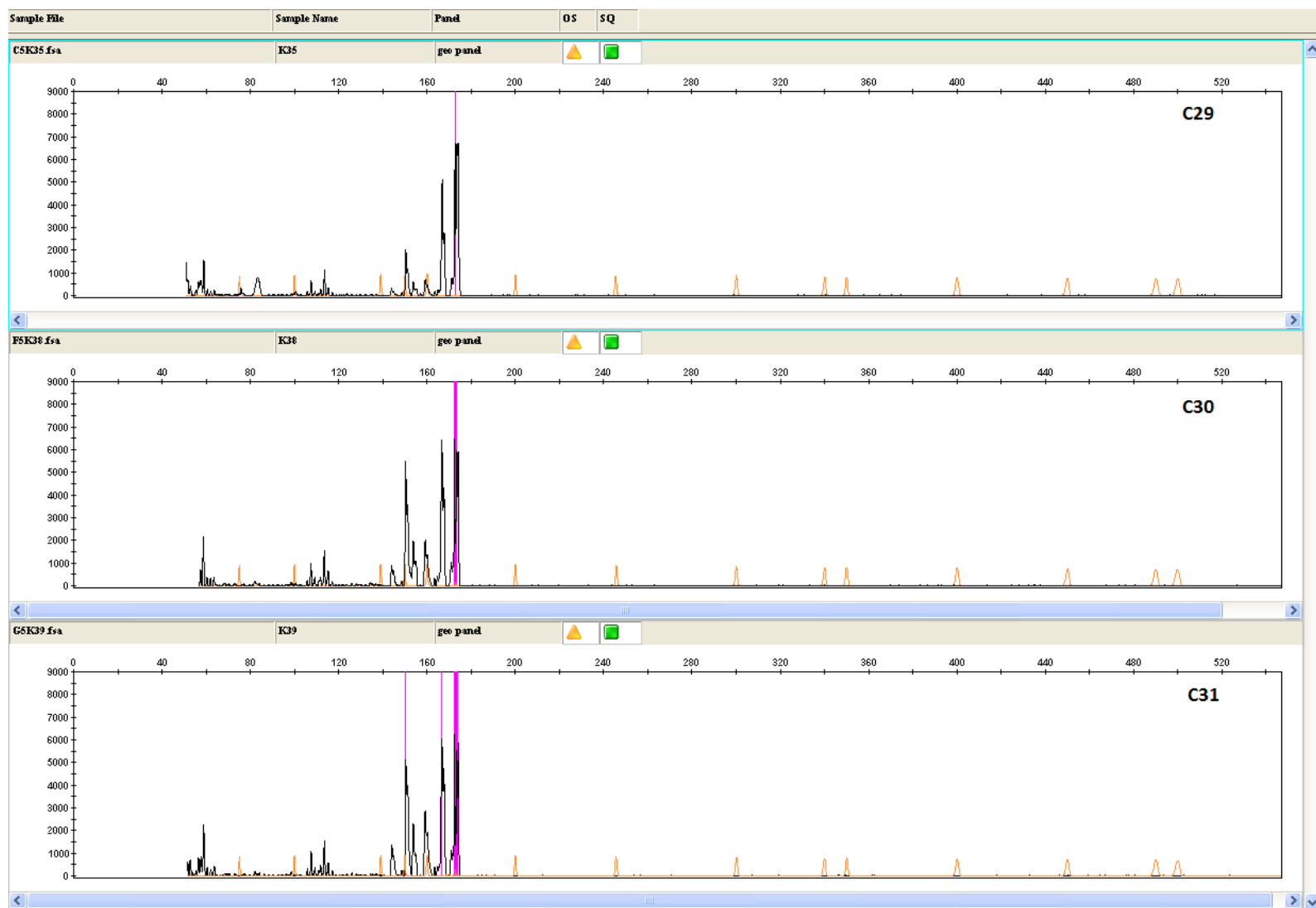




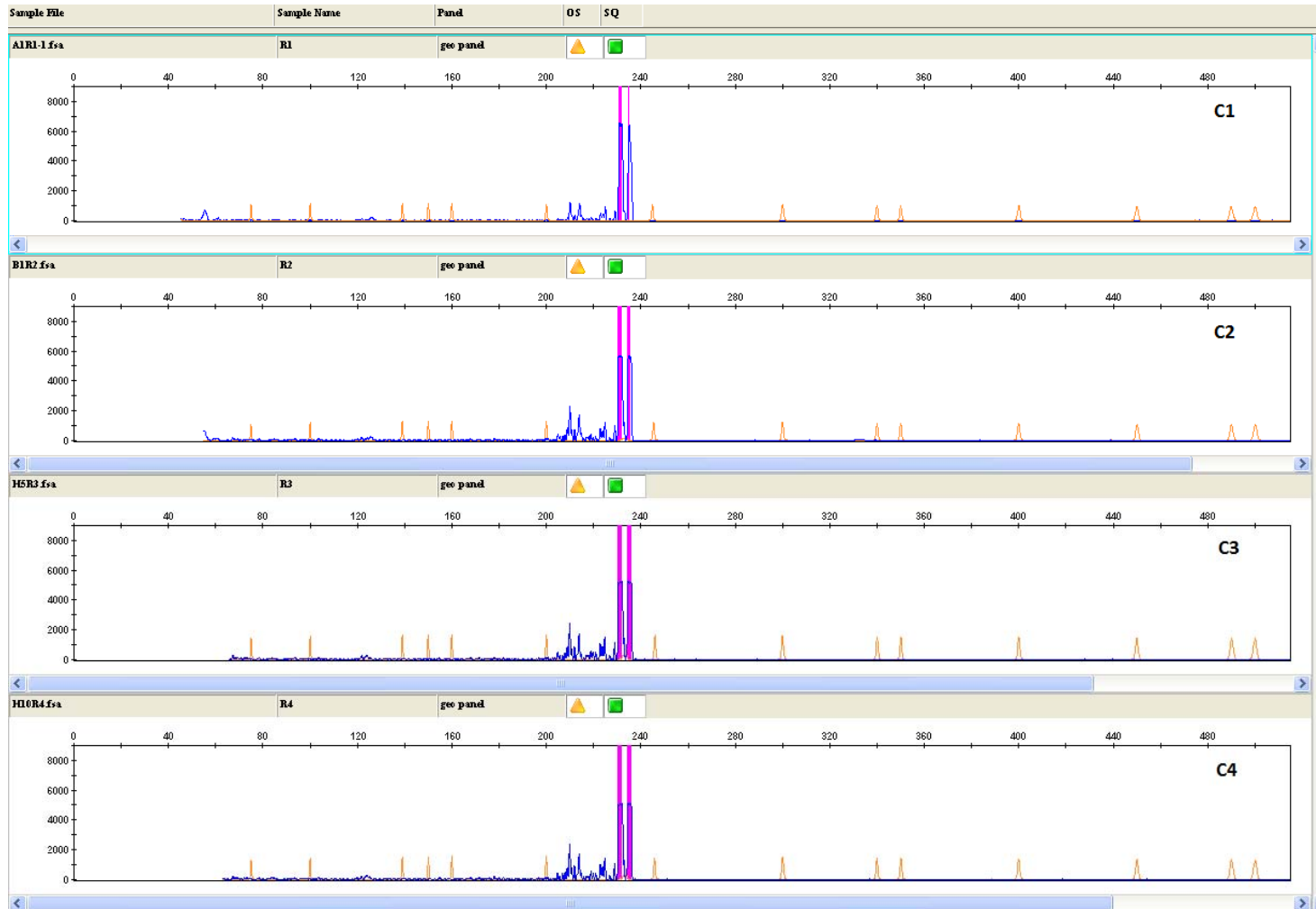


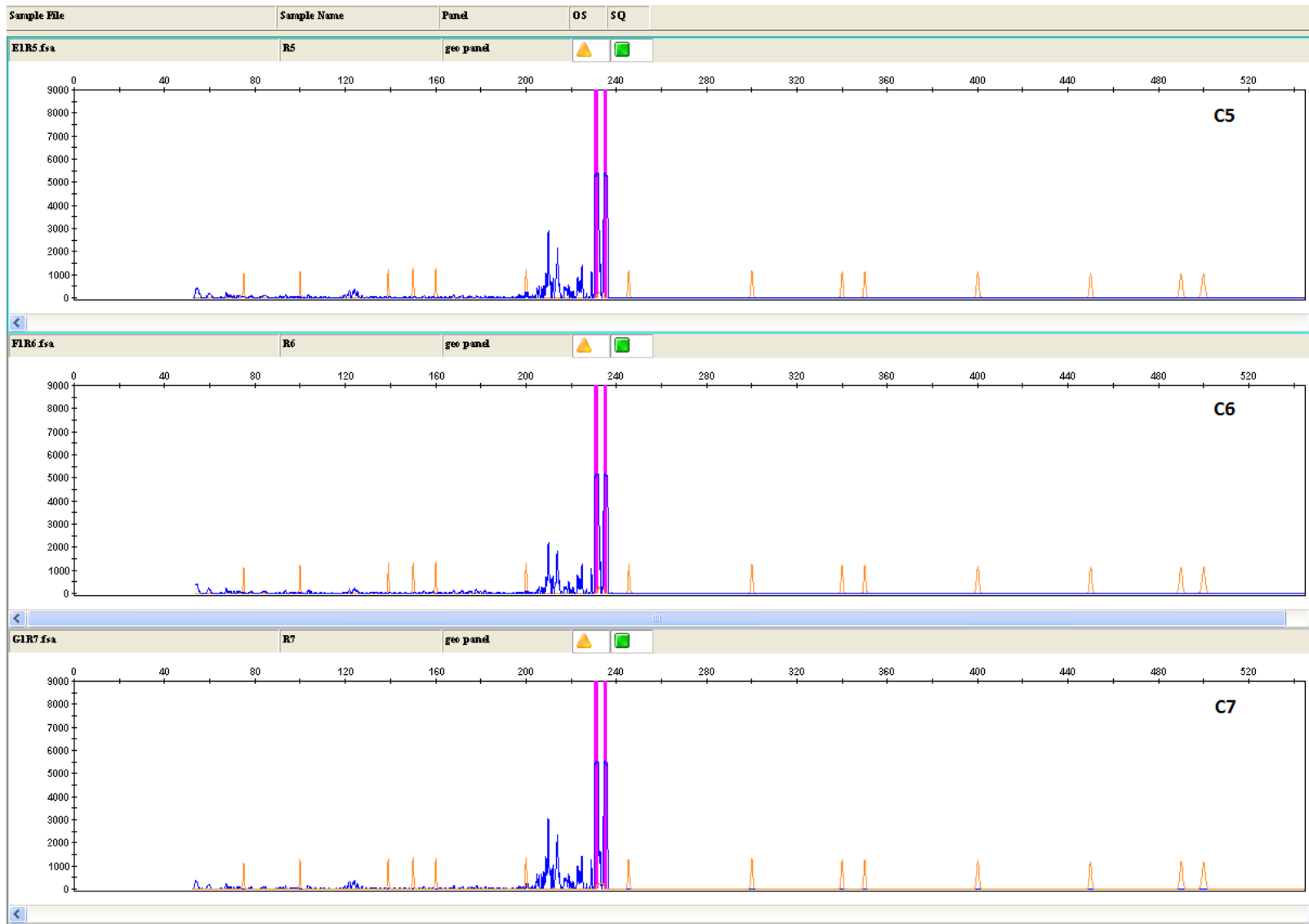


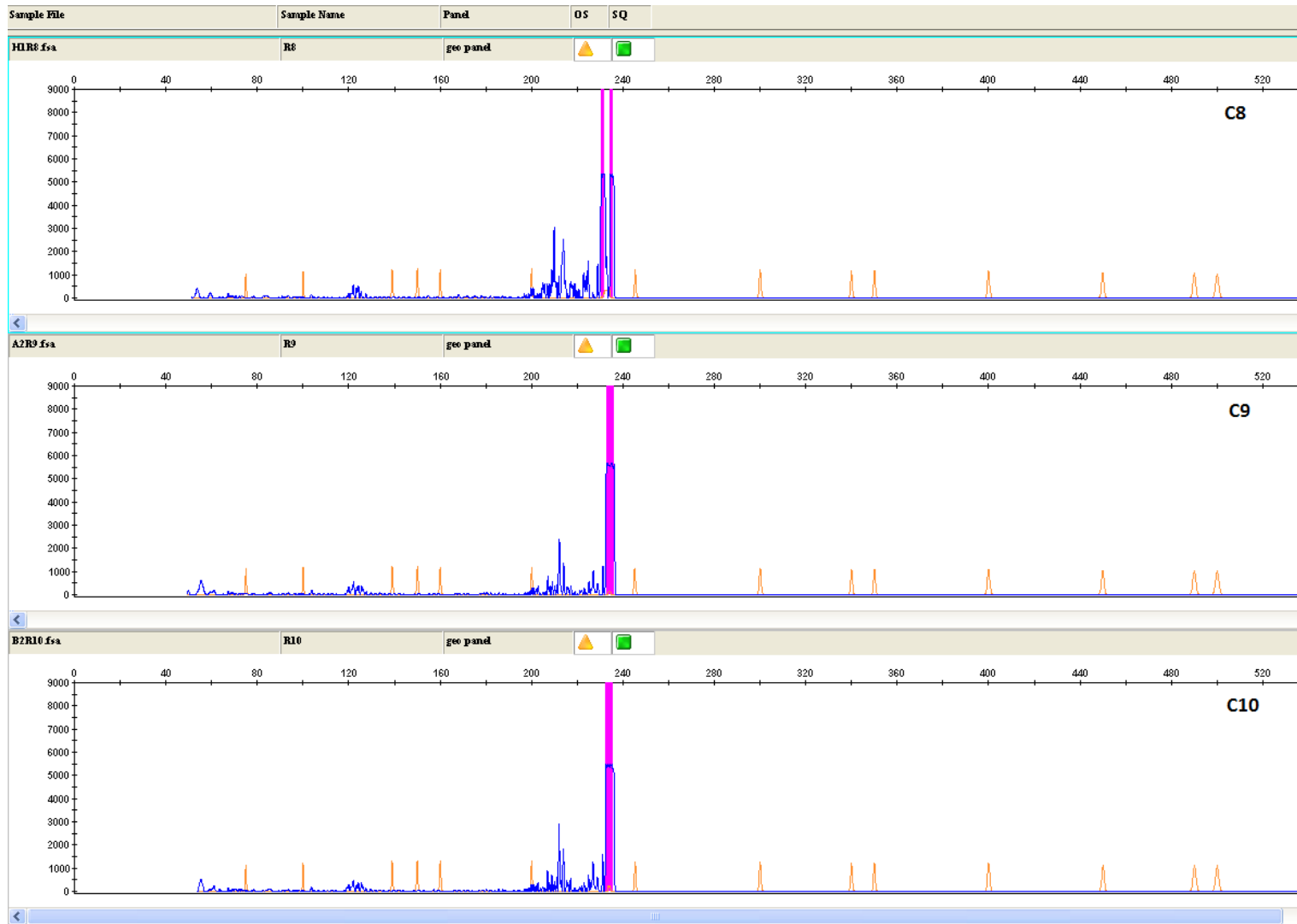


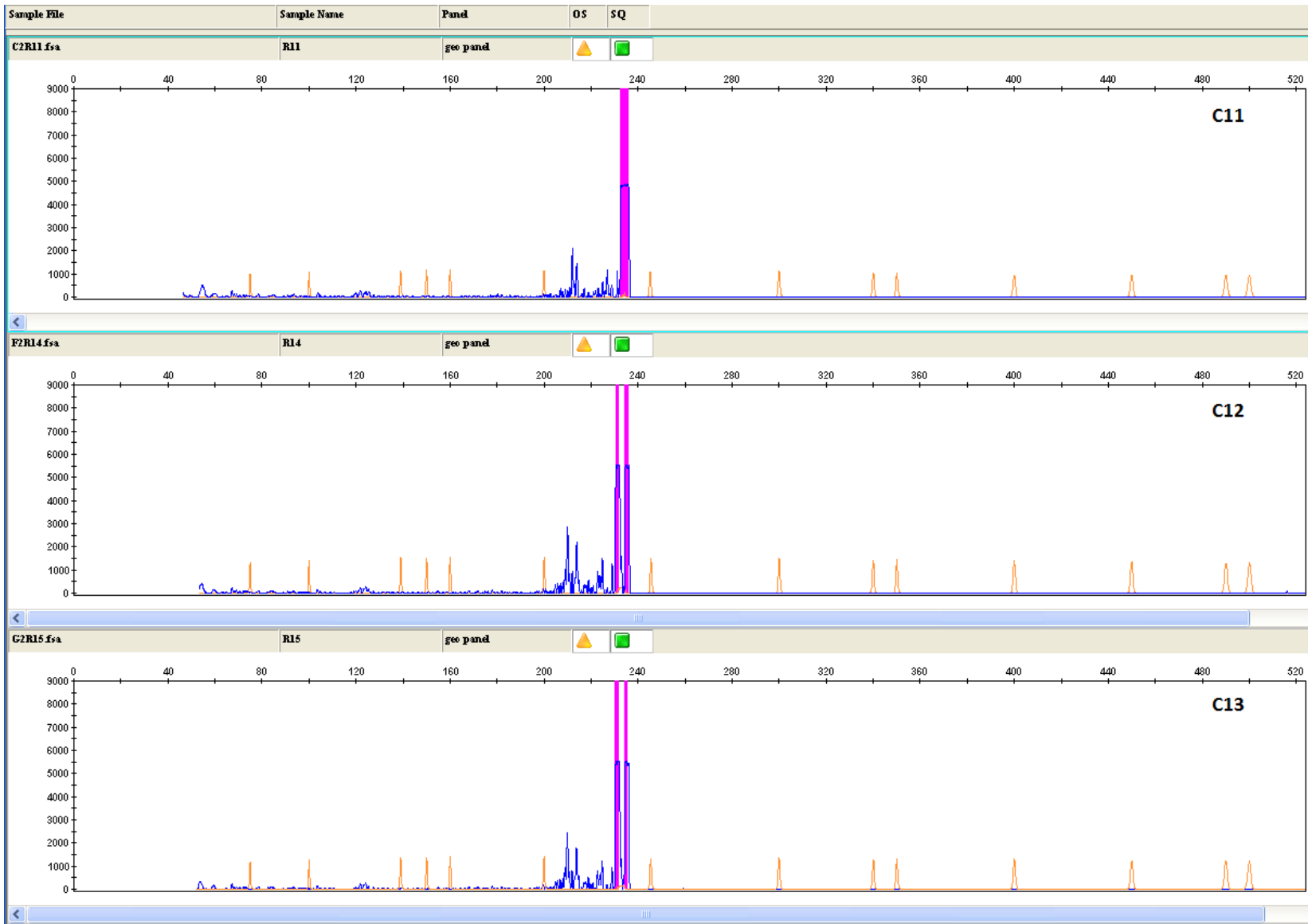


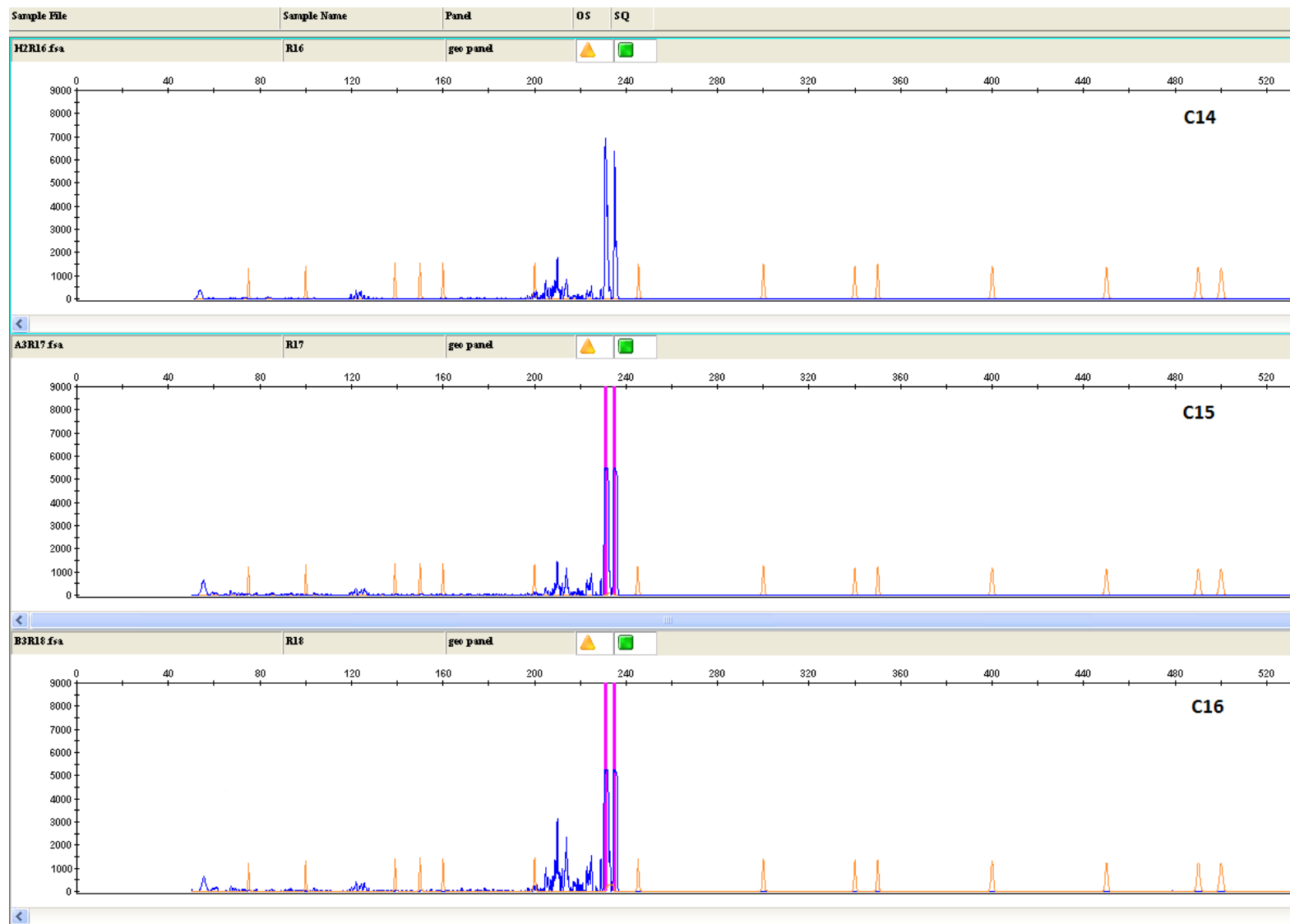
Εκκλιητής VVMD5

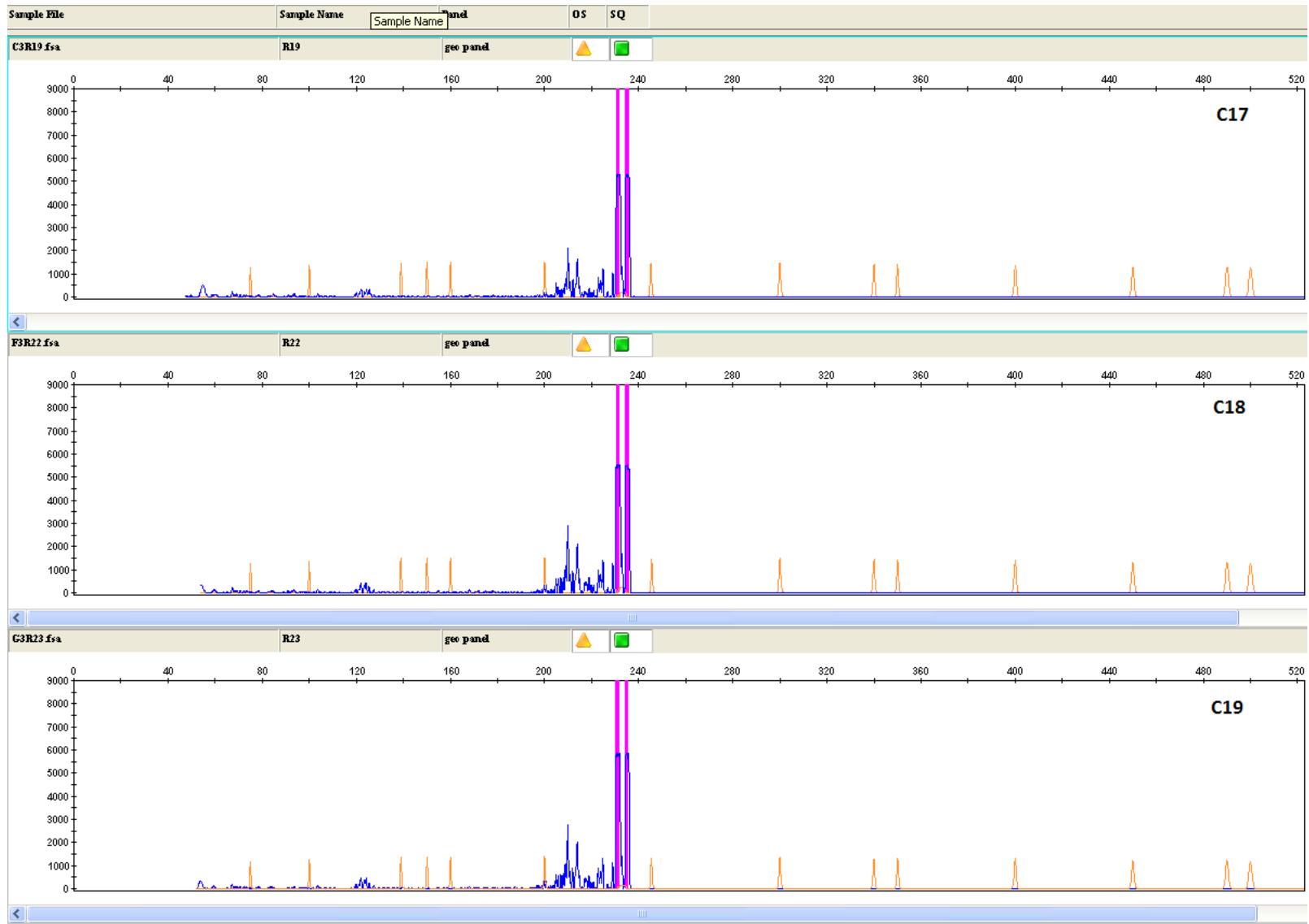


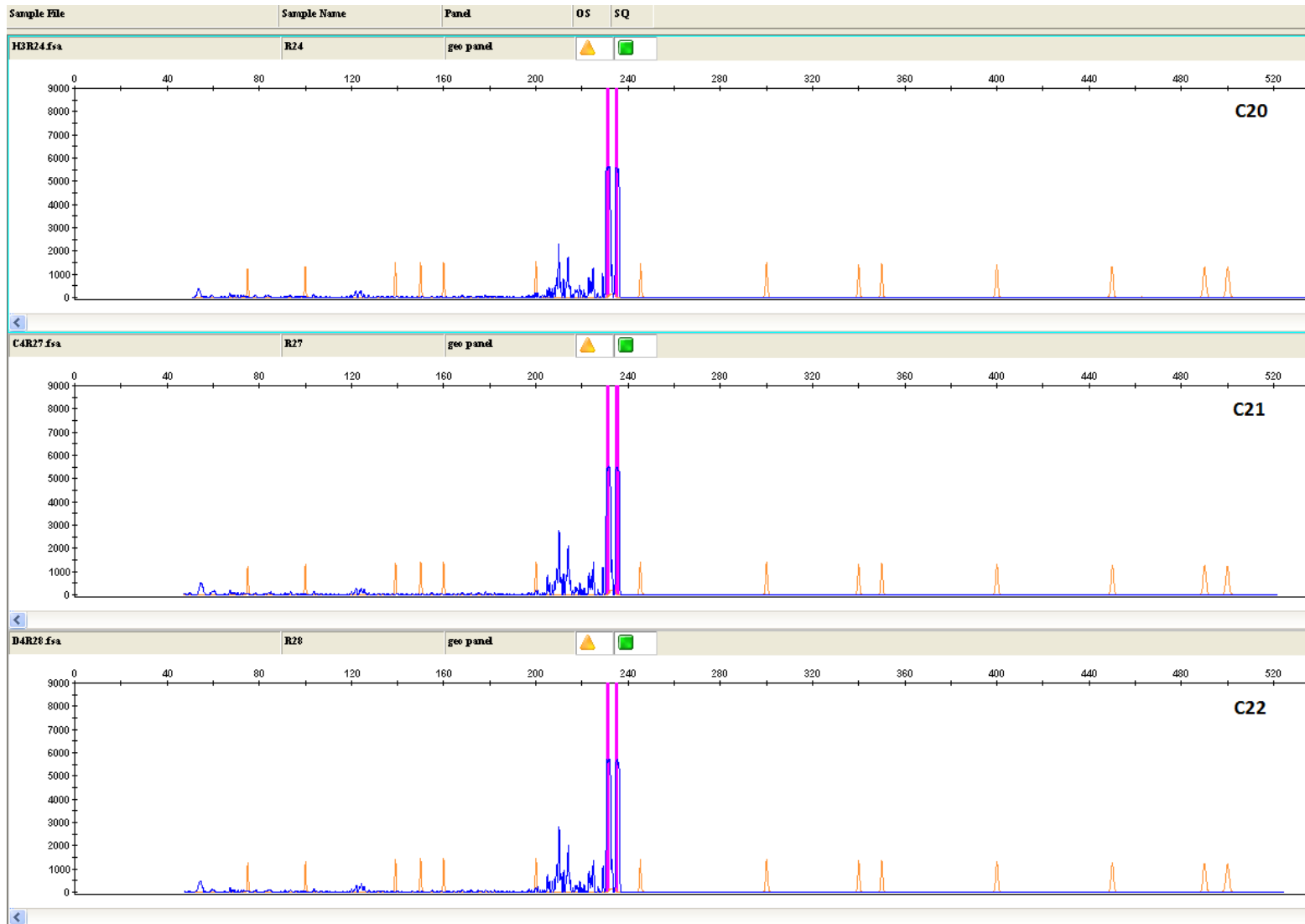


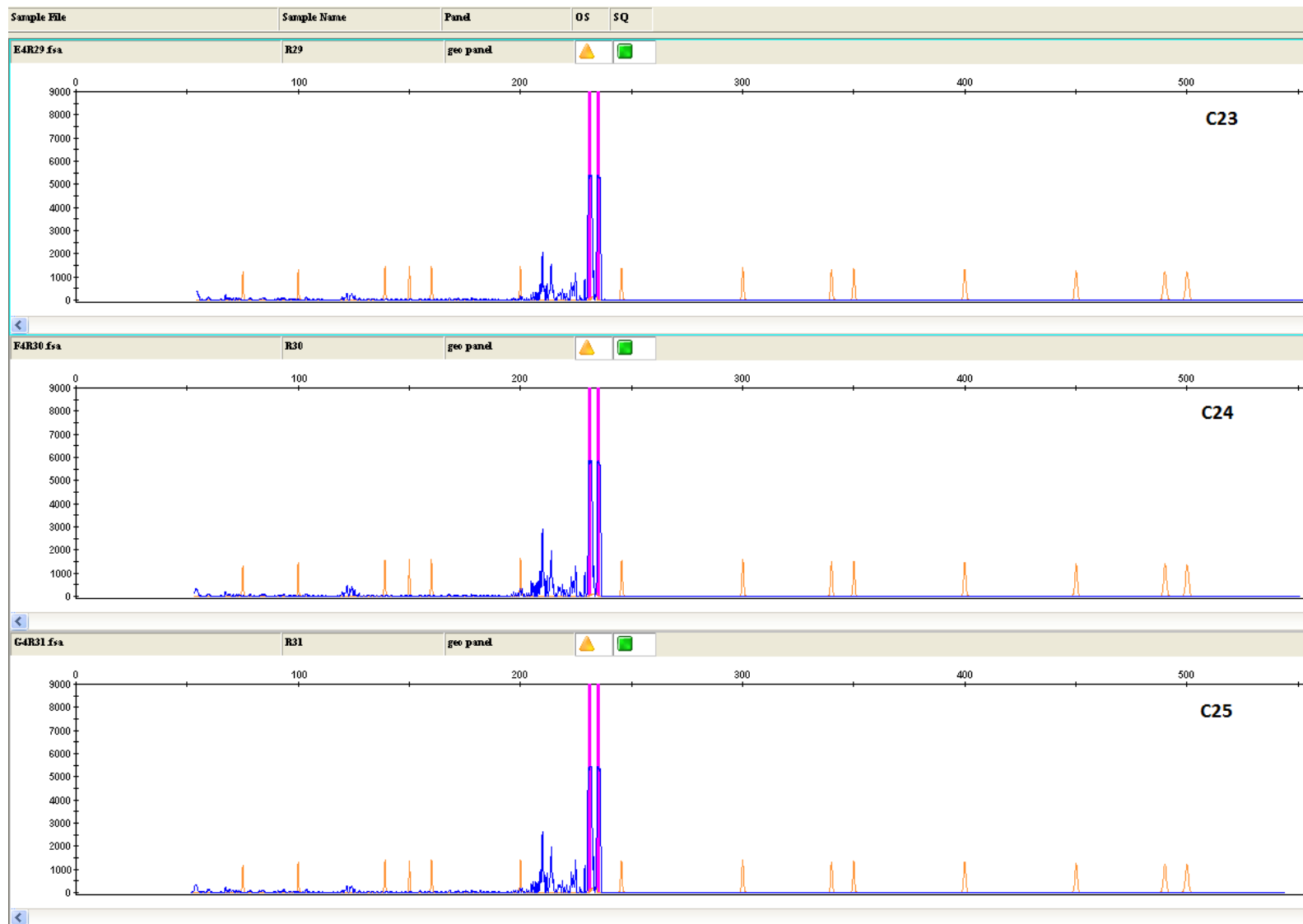




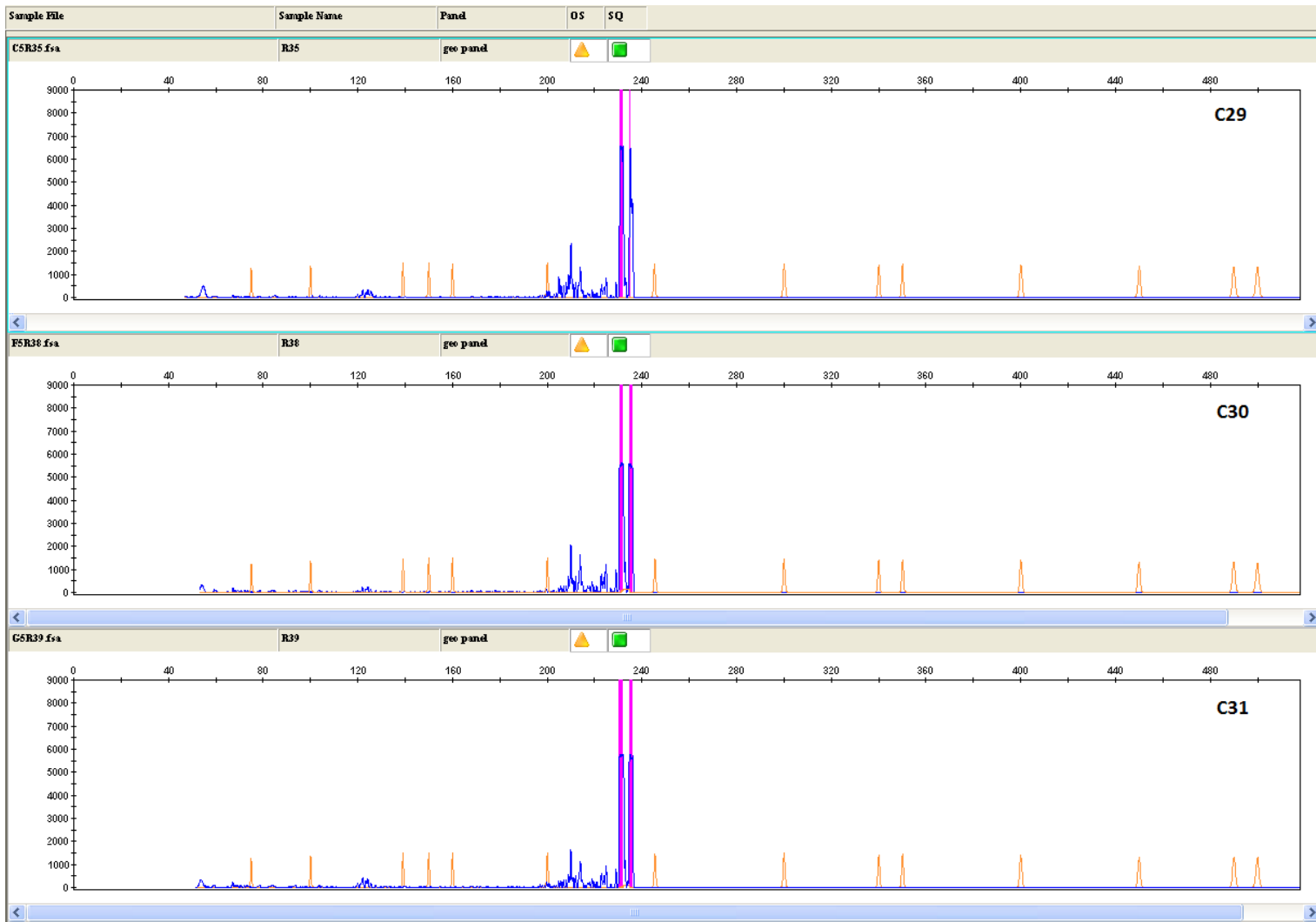




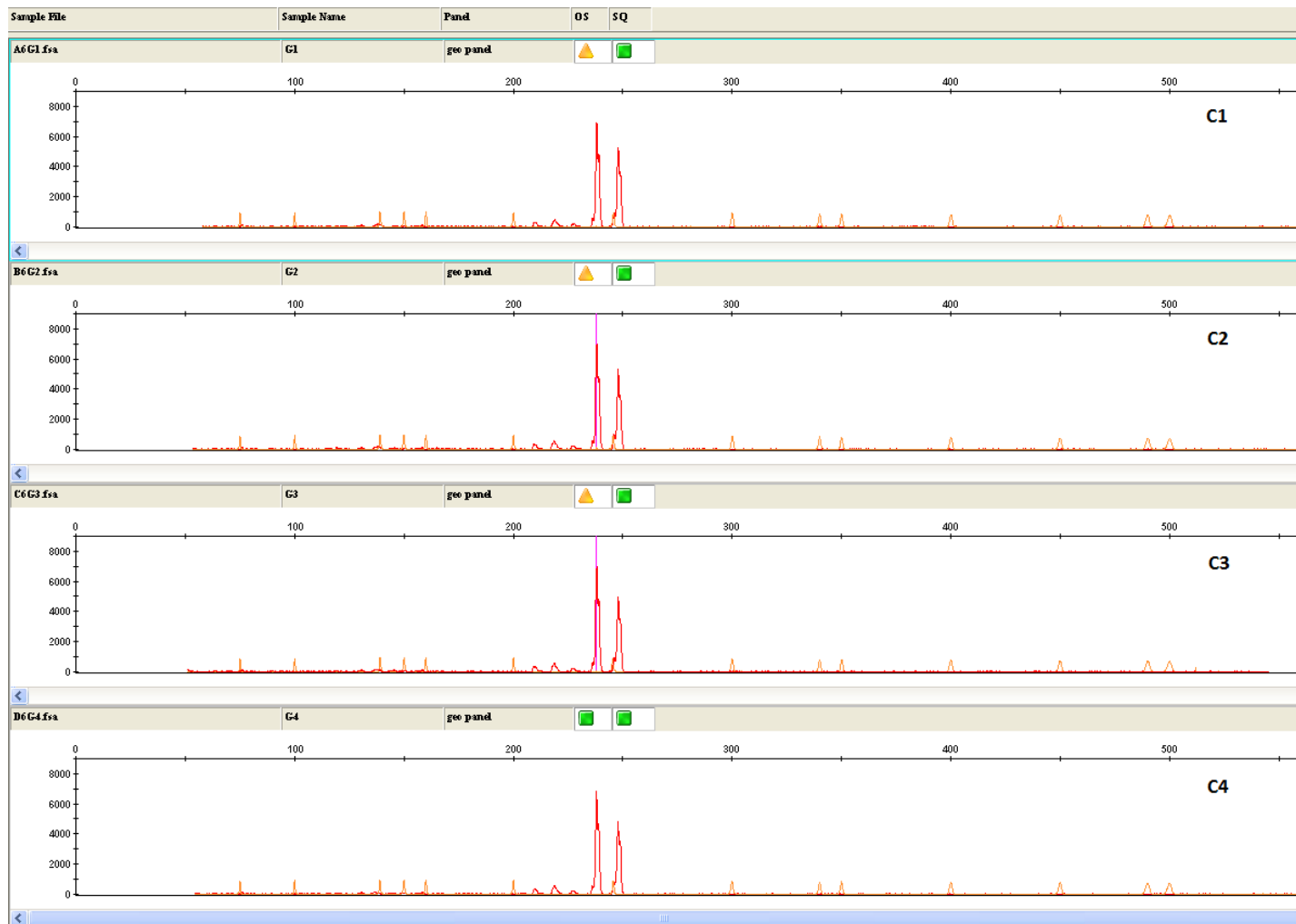


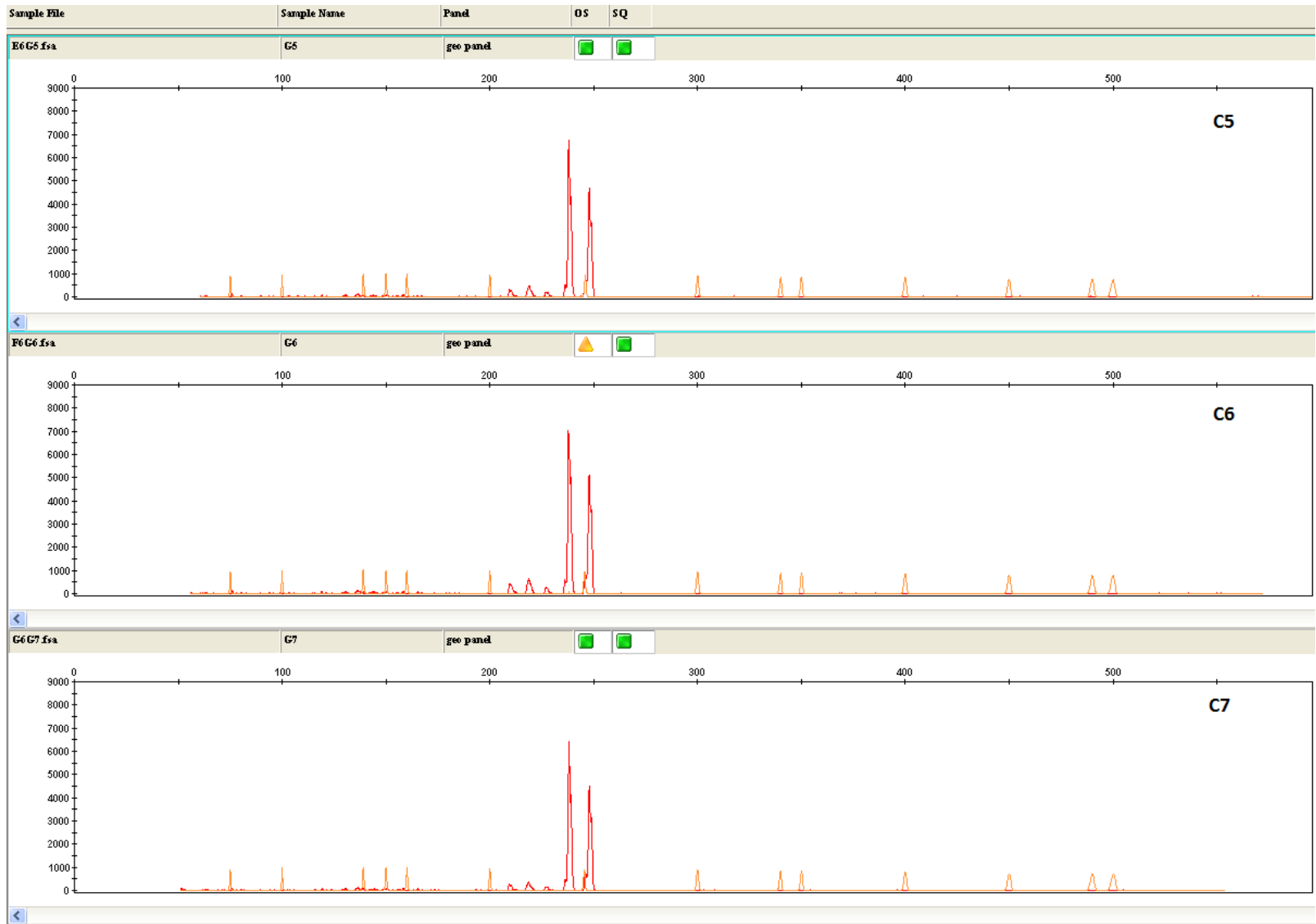


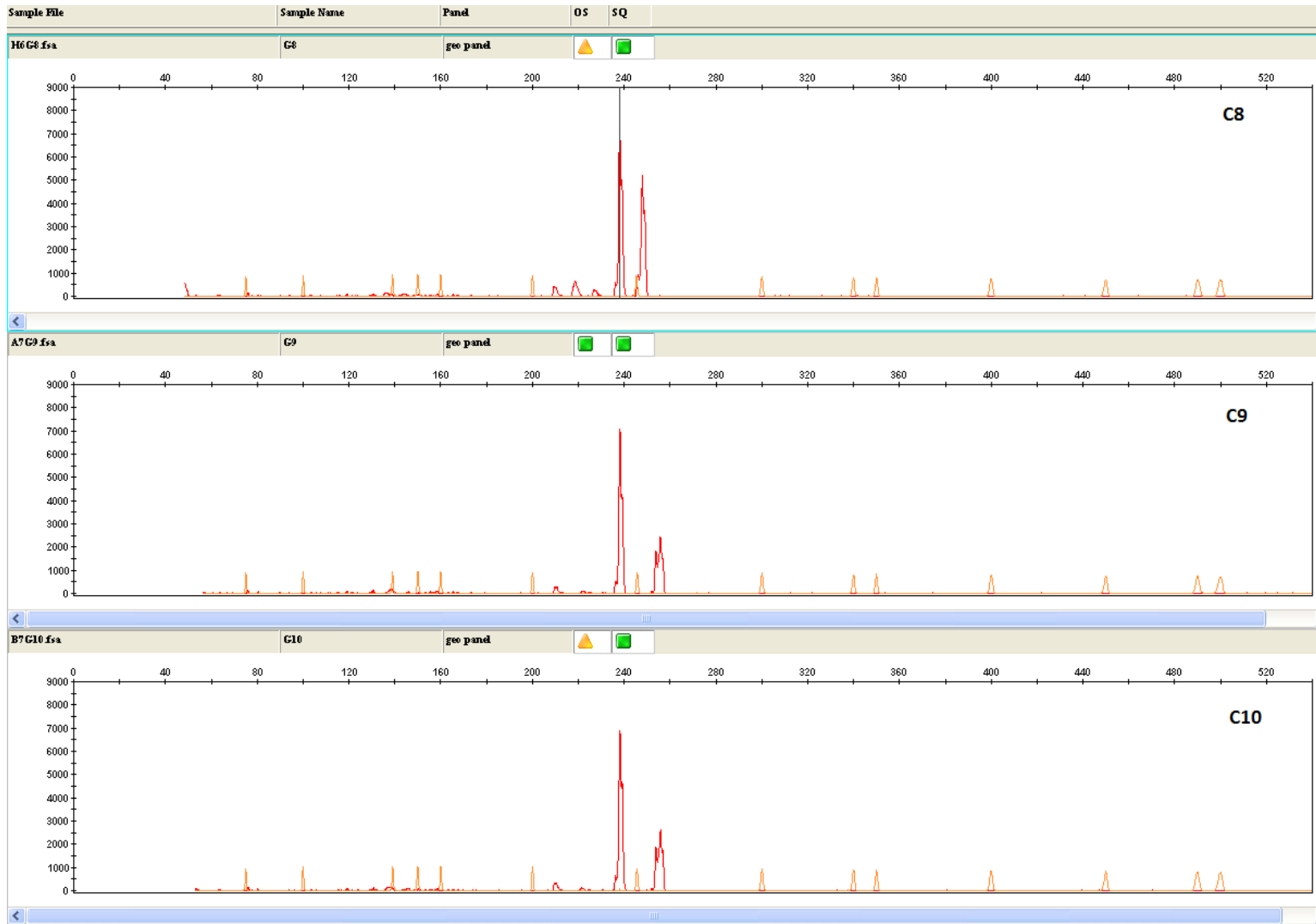




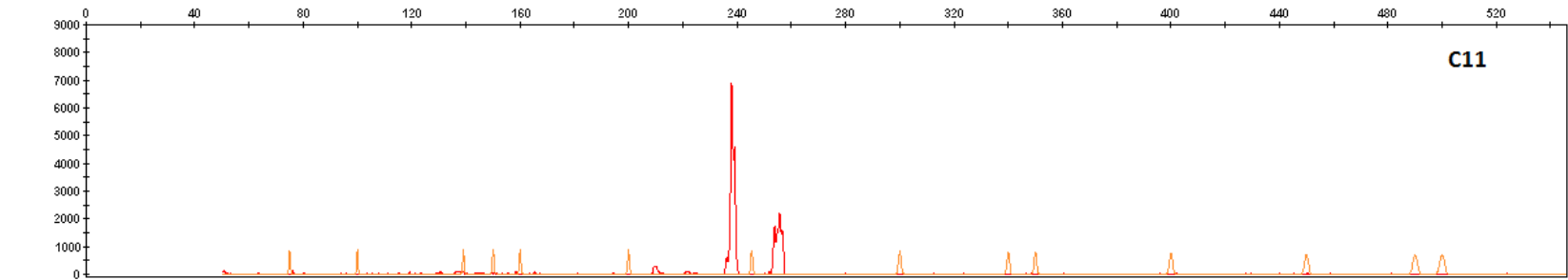
Εκκλιητής VVMD25



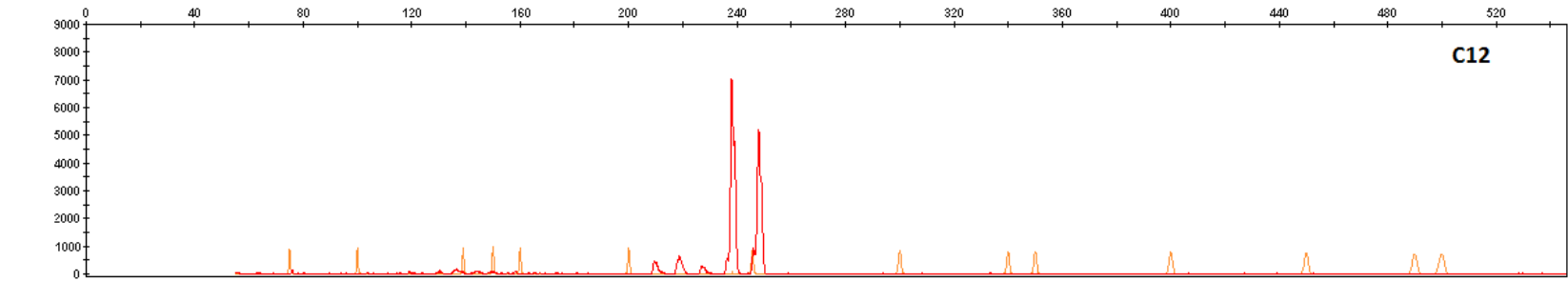




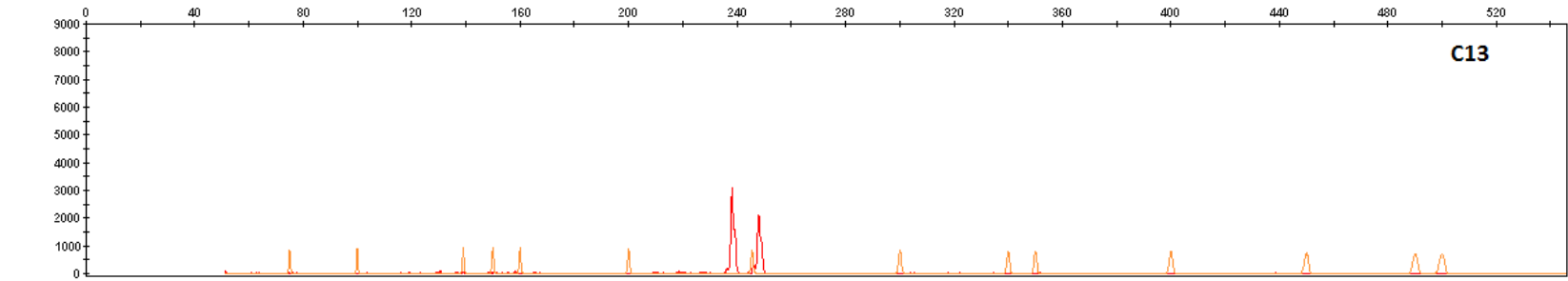
Sample File	Sample Name	Pand	OS	SQ
C7G11.fsa	G11	geo pand	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

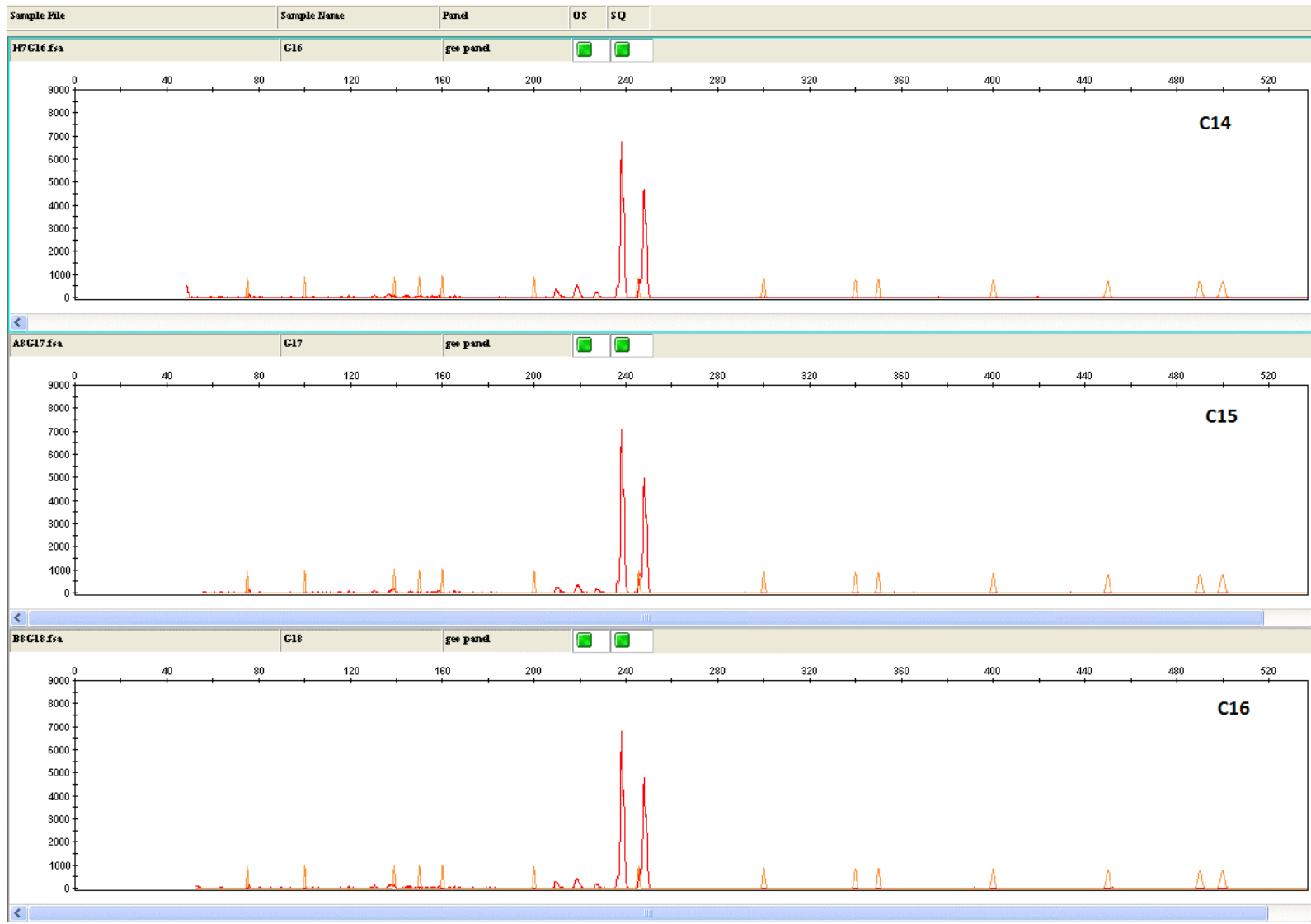


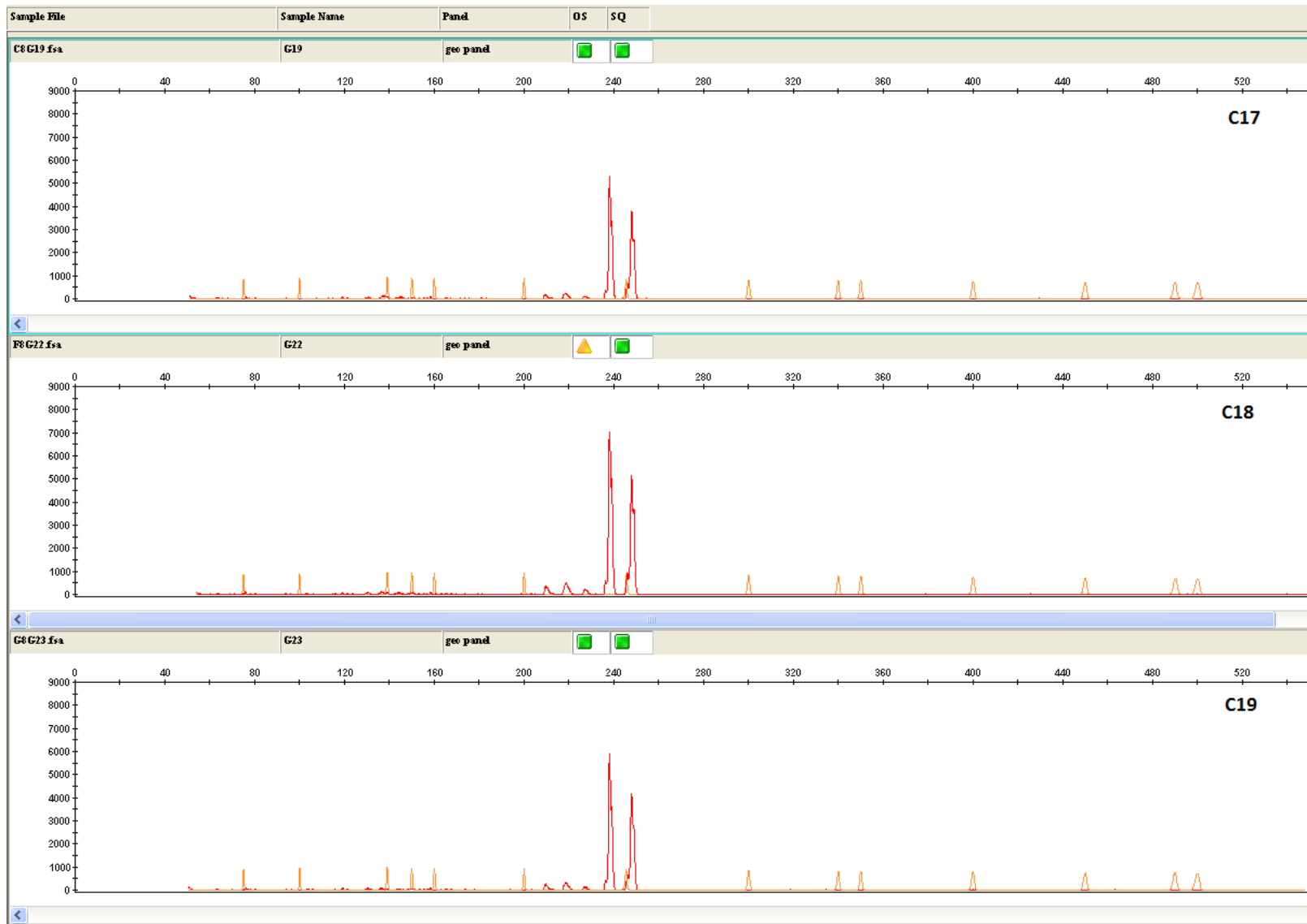
Sample File	Sample Name	Pand	OS	SQ
F7G14.fsa	G14	geo pand	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

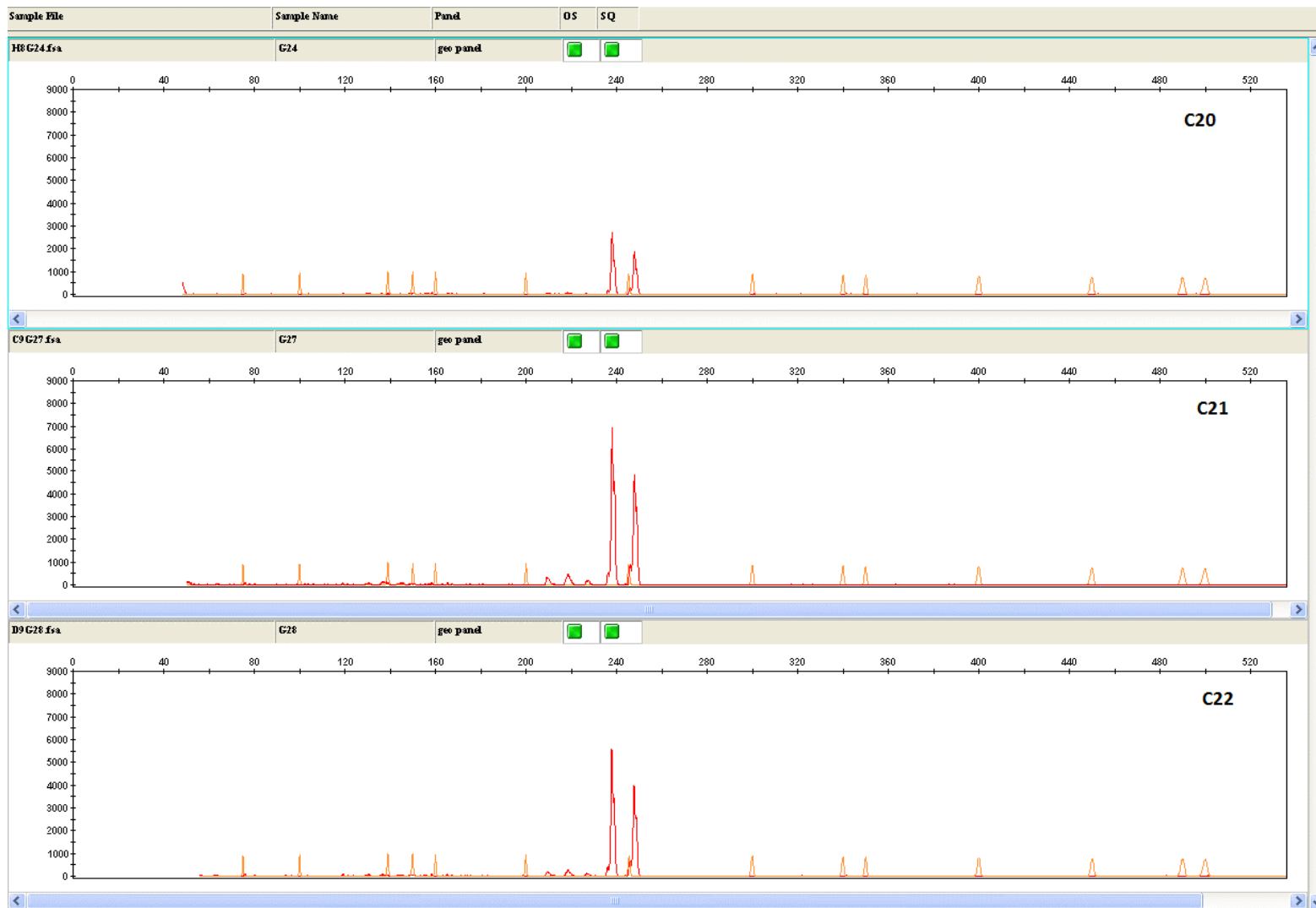


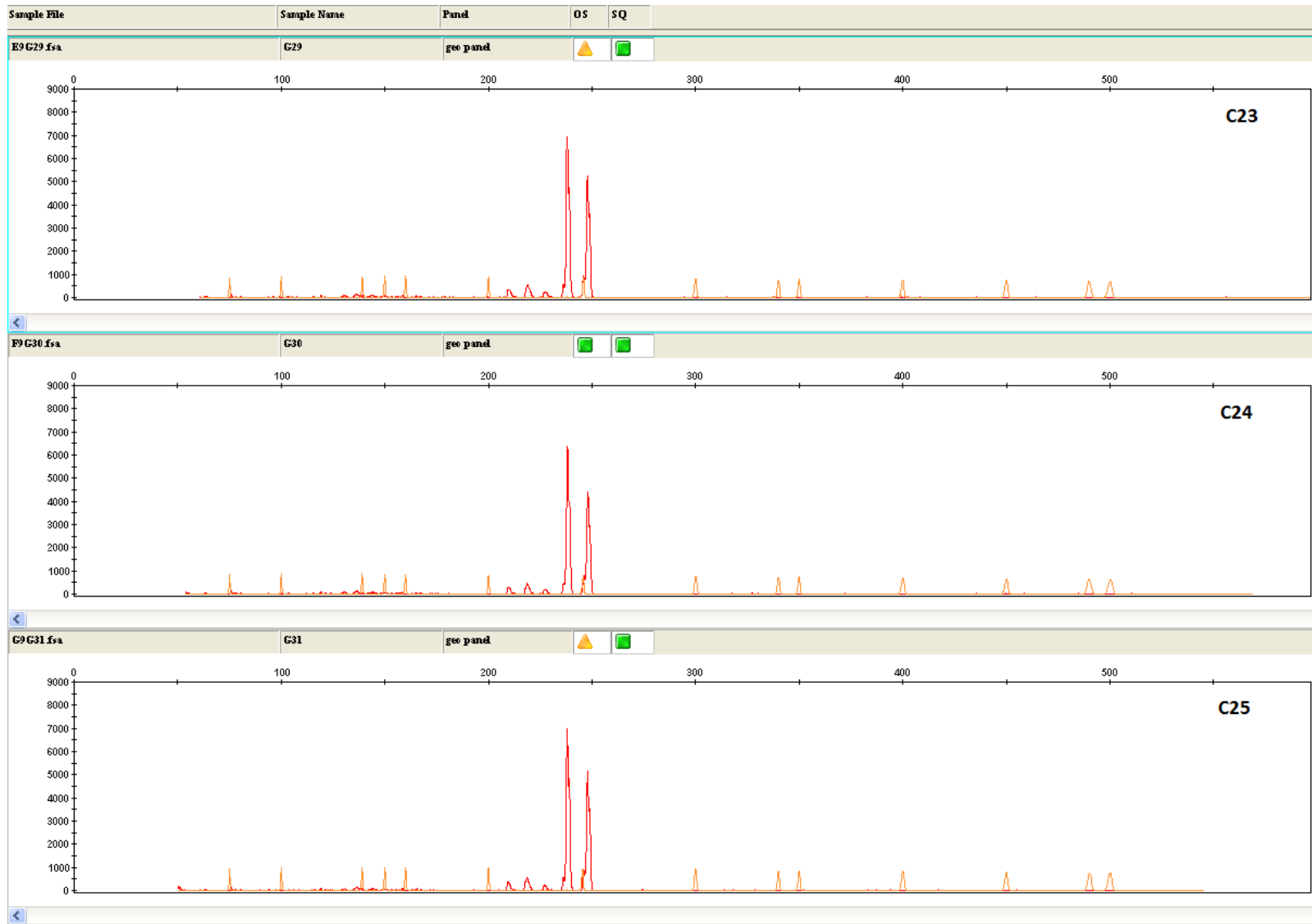
Sample File	Sample Name	Pand	OS	SQ
G7G15.fsa	G15	geo pand	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

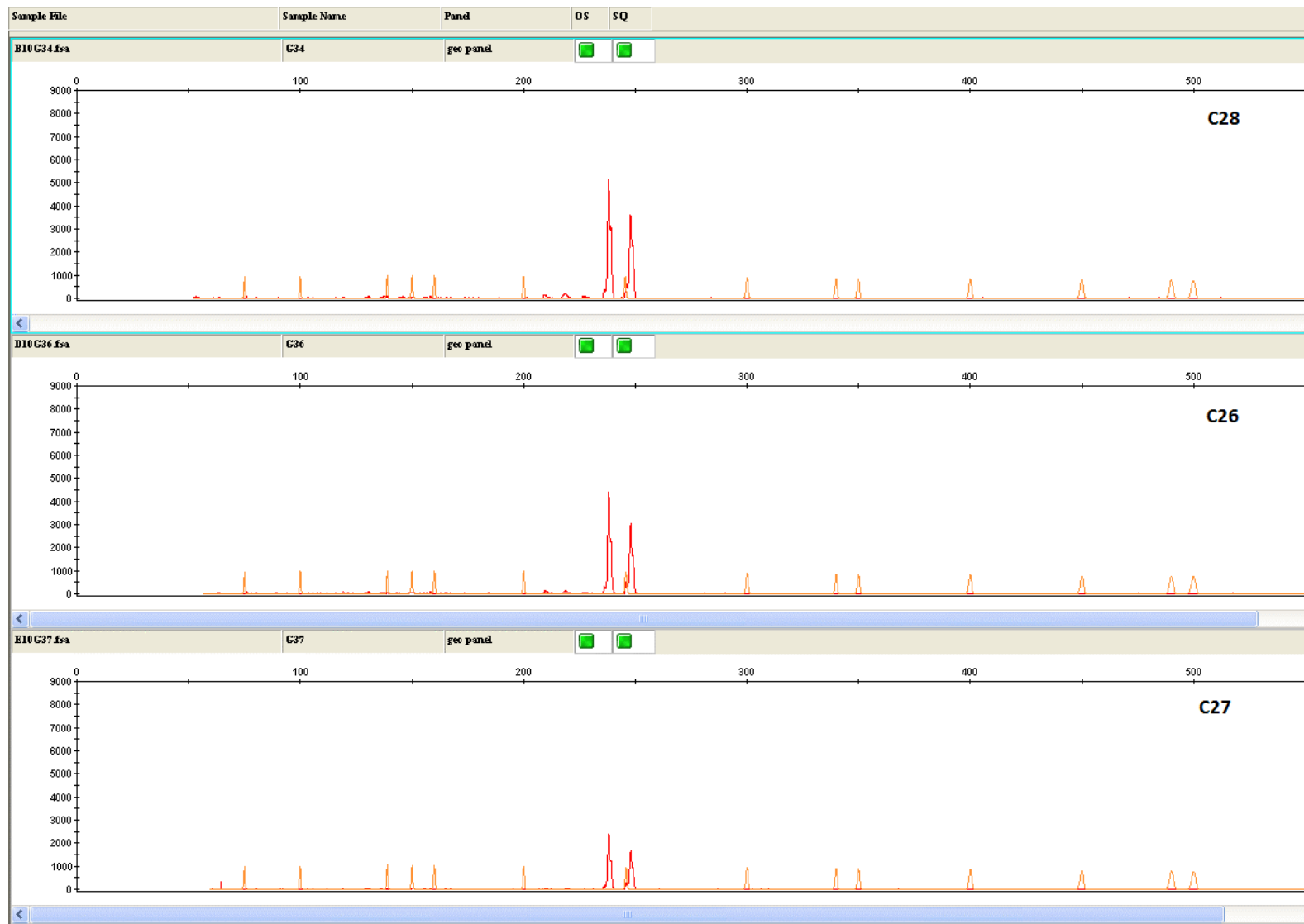


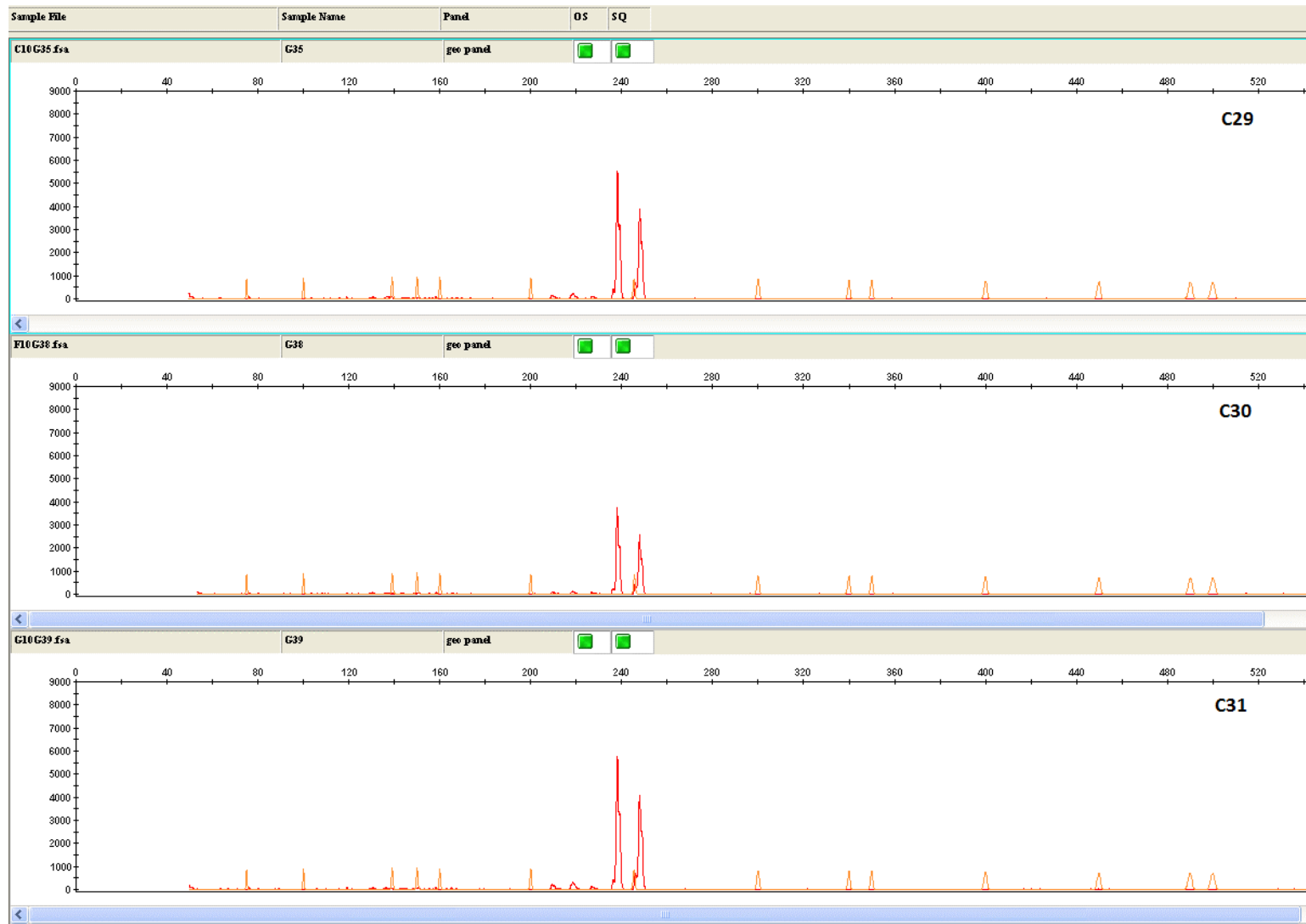




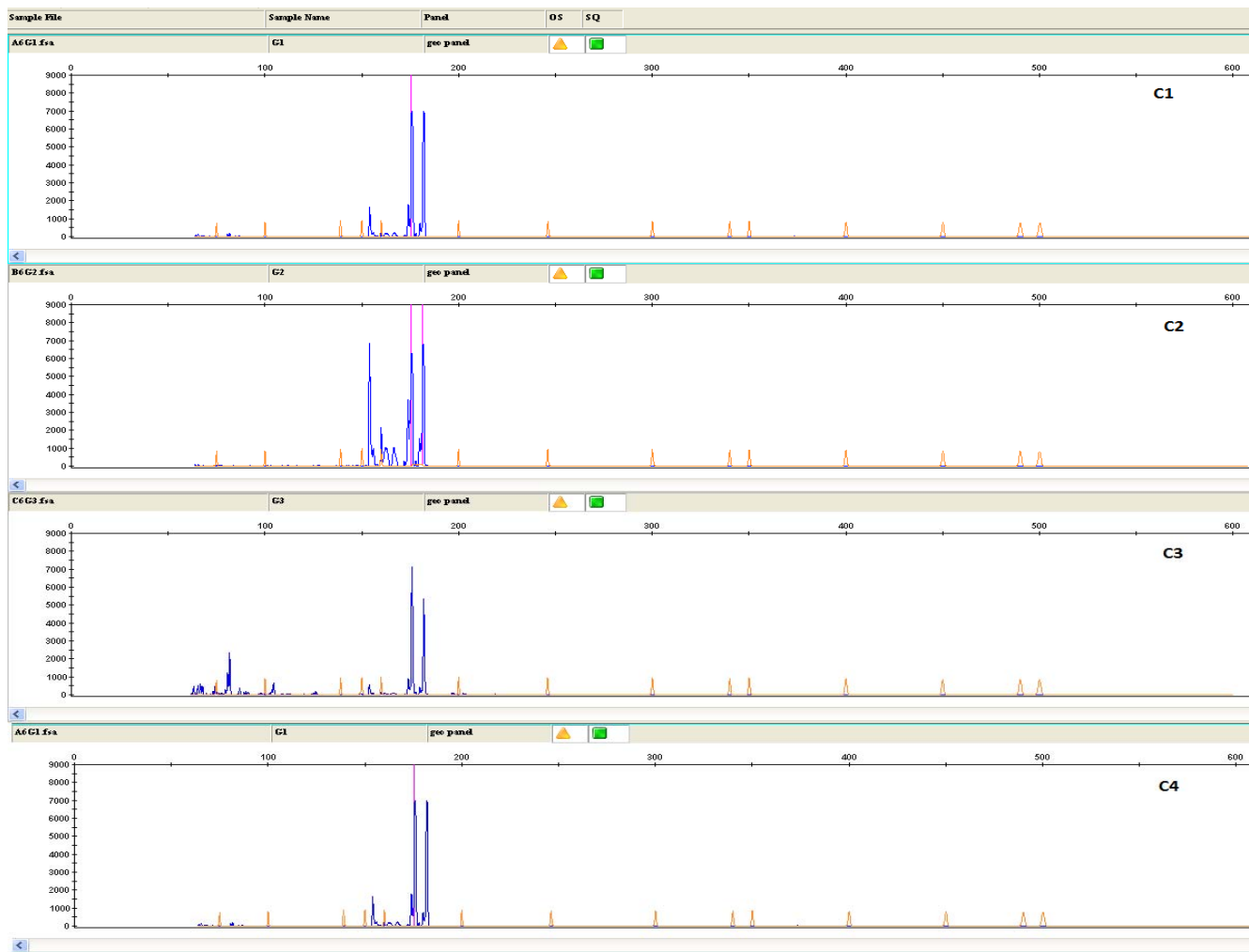


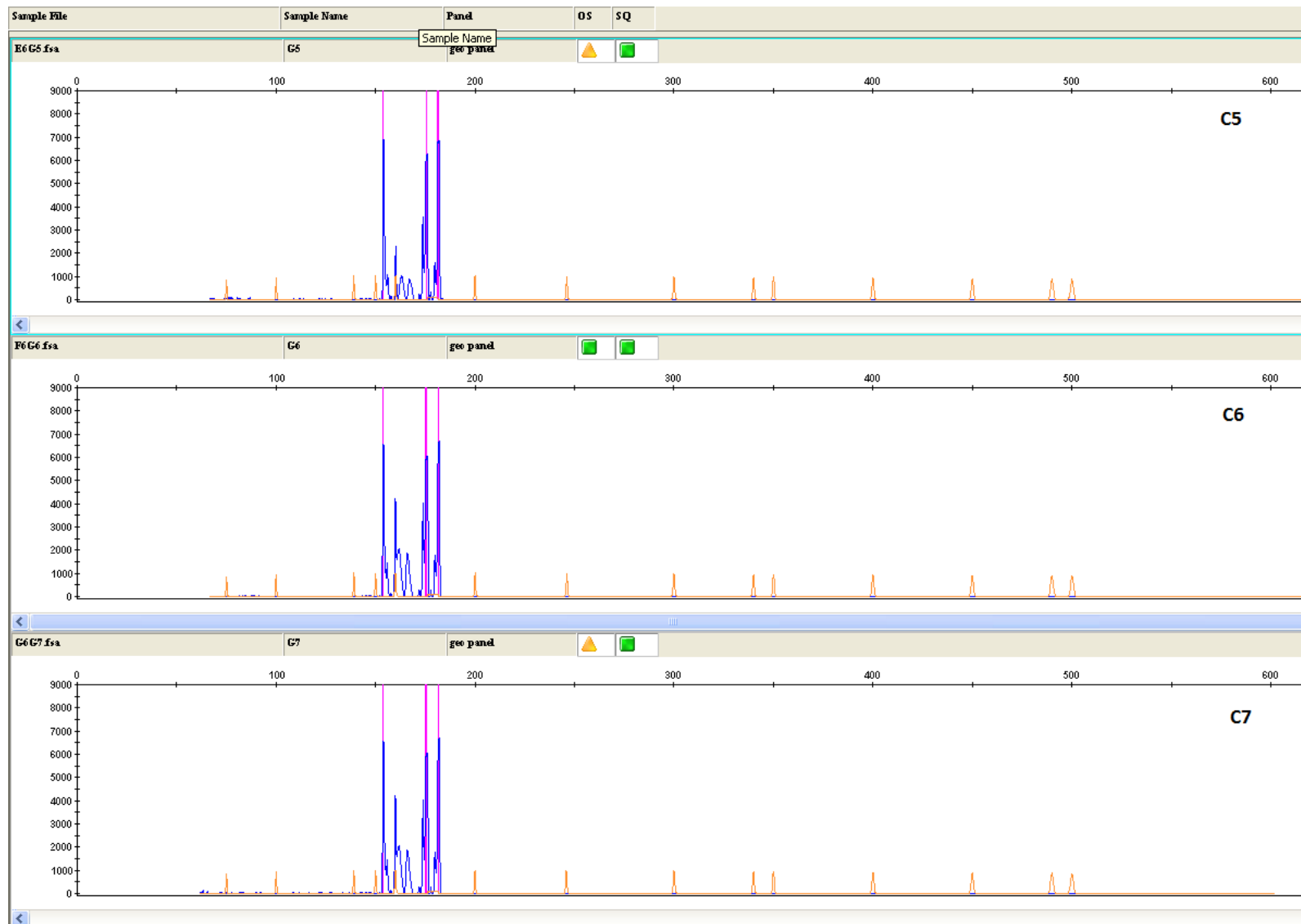


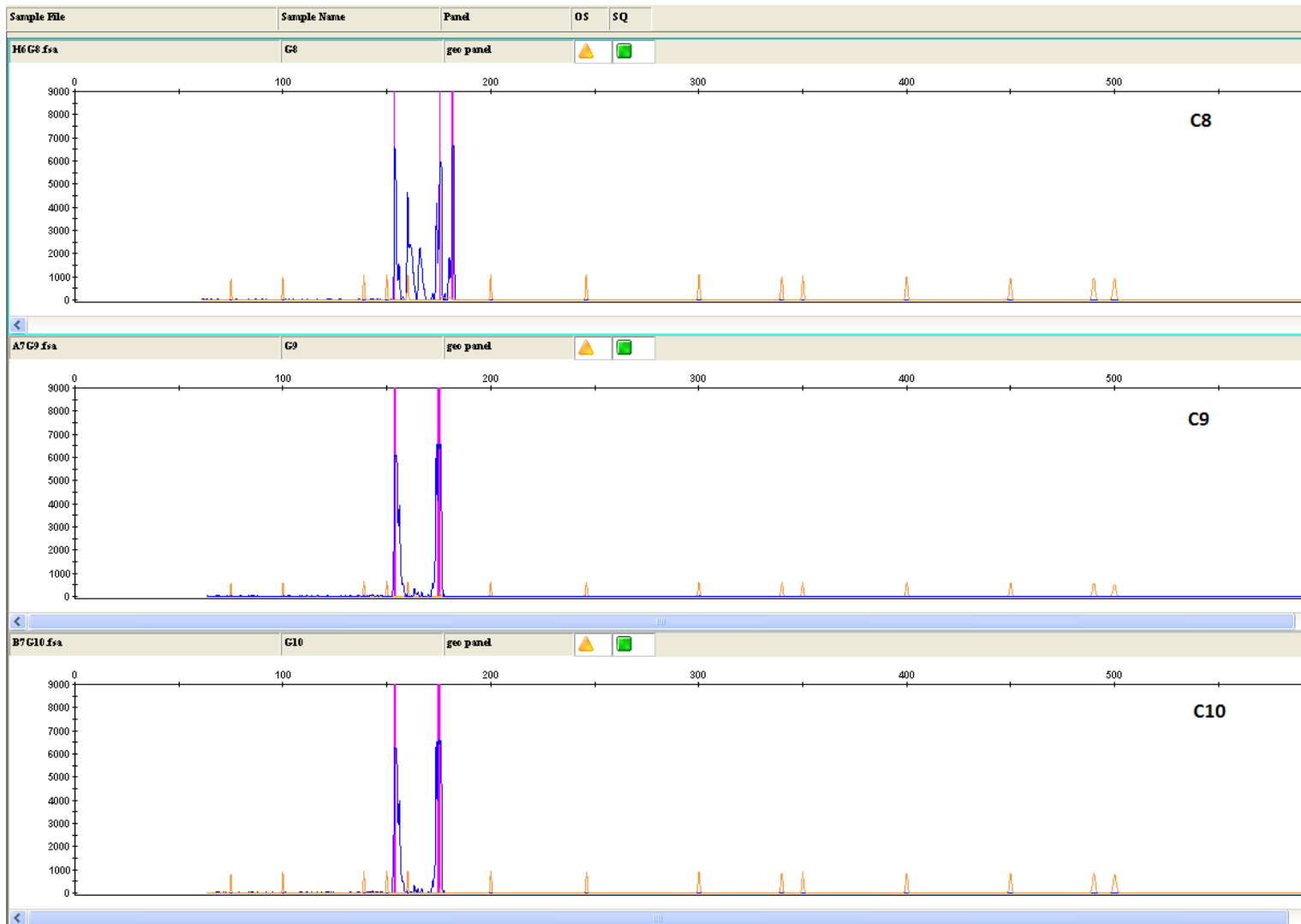


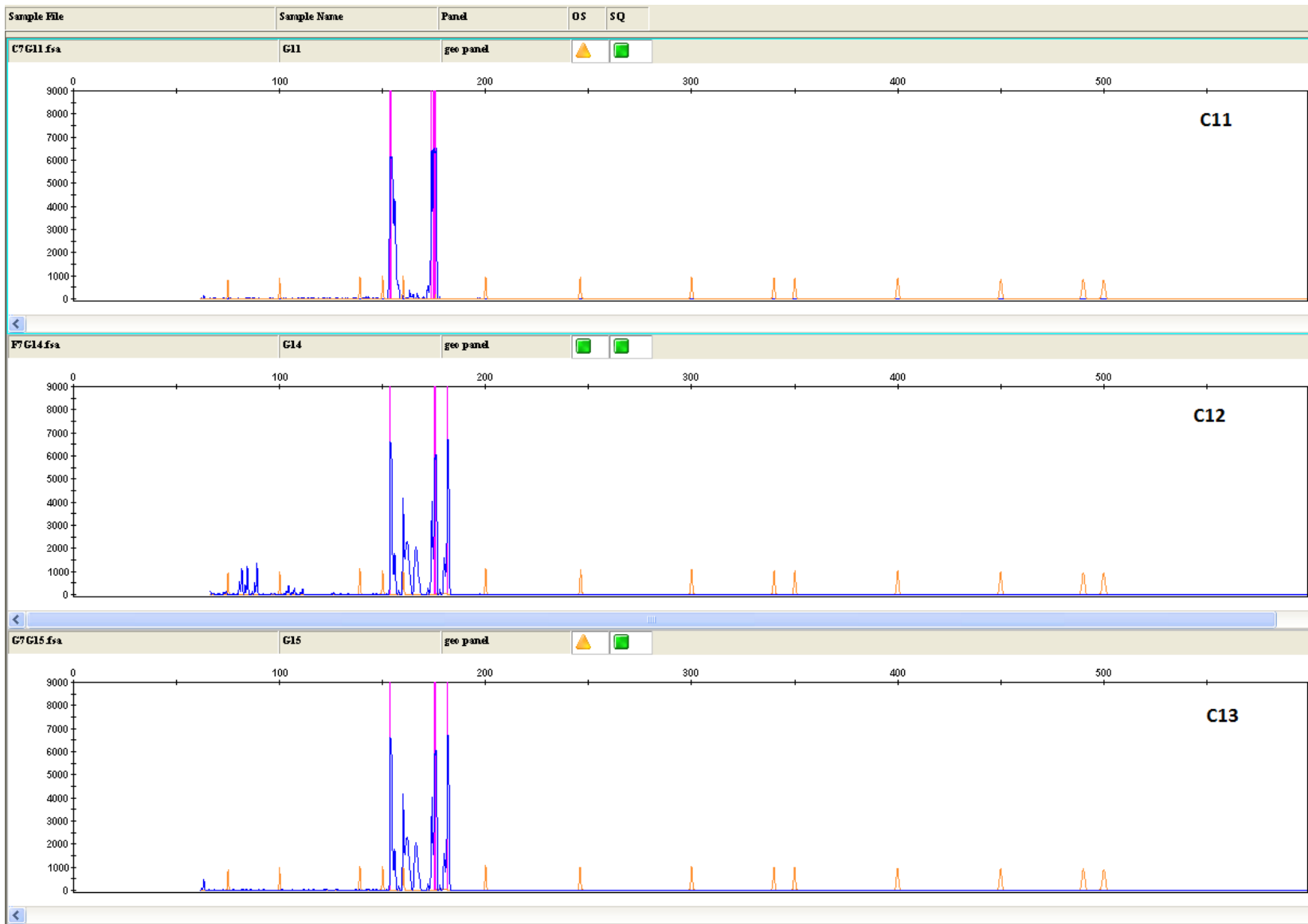


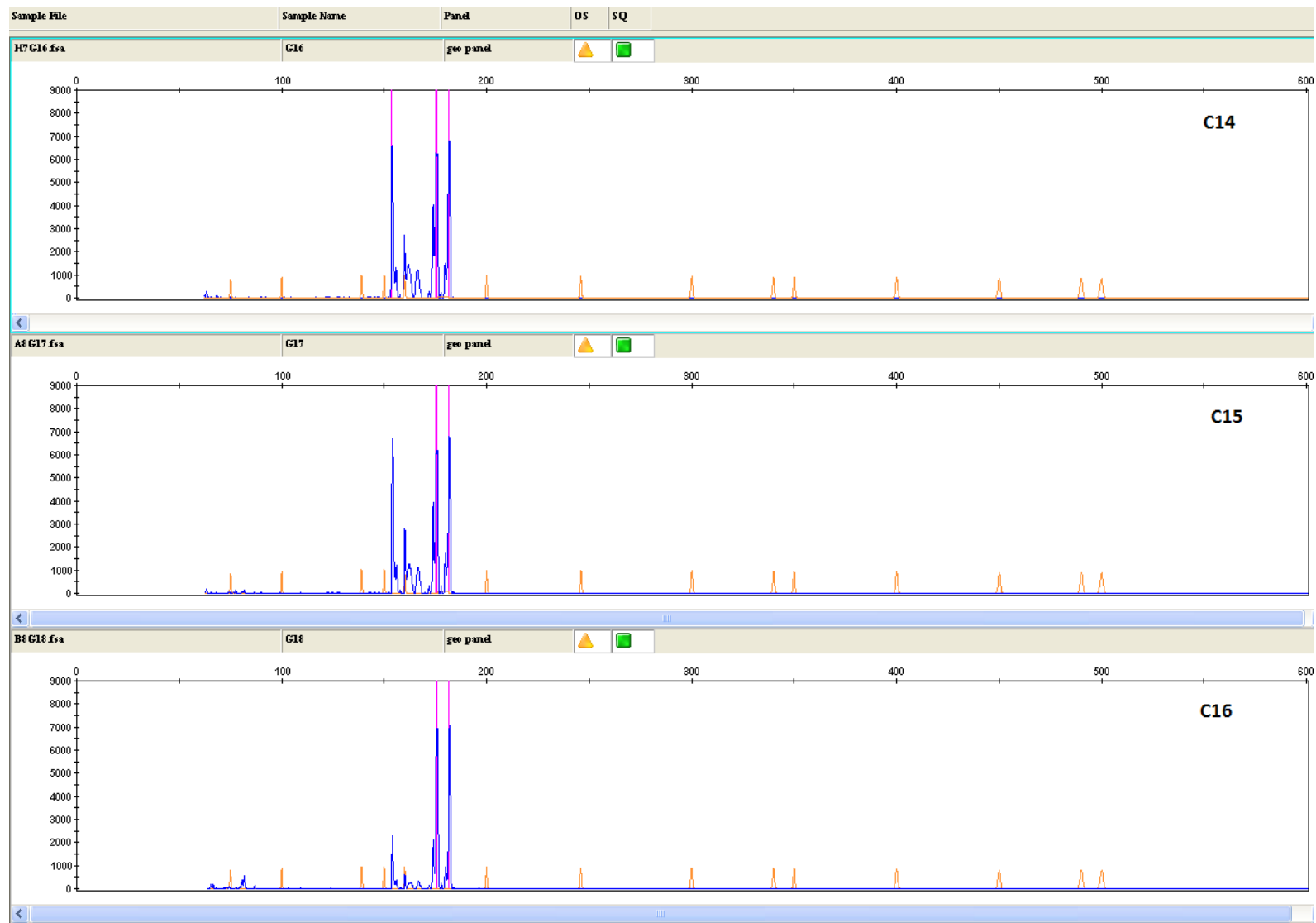
Εκκλιητής VVMD27

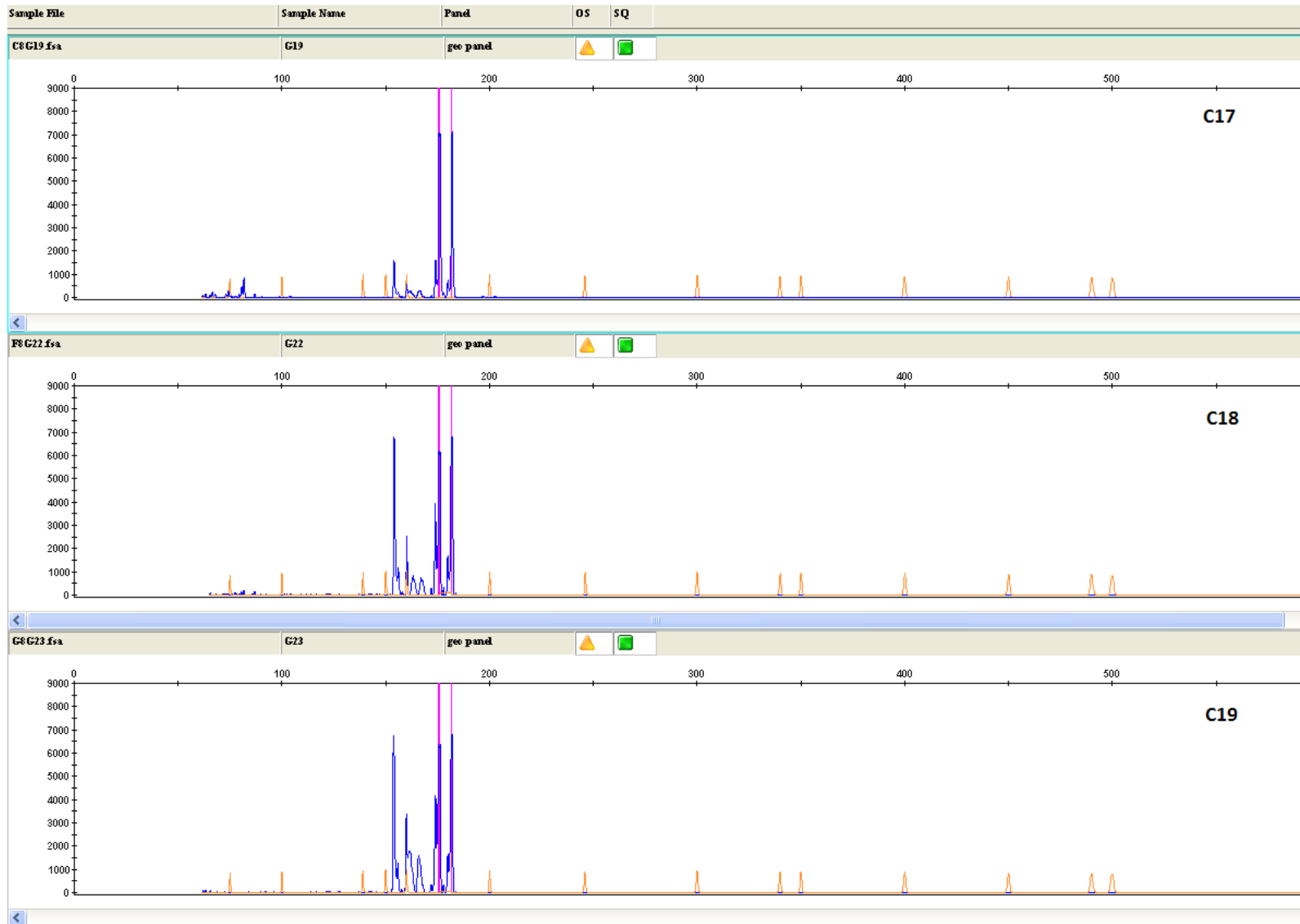


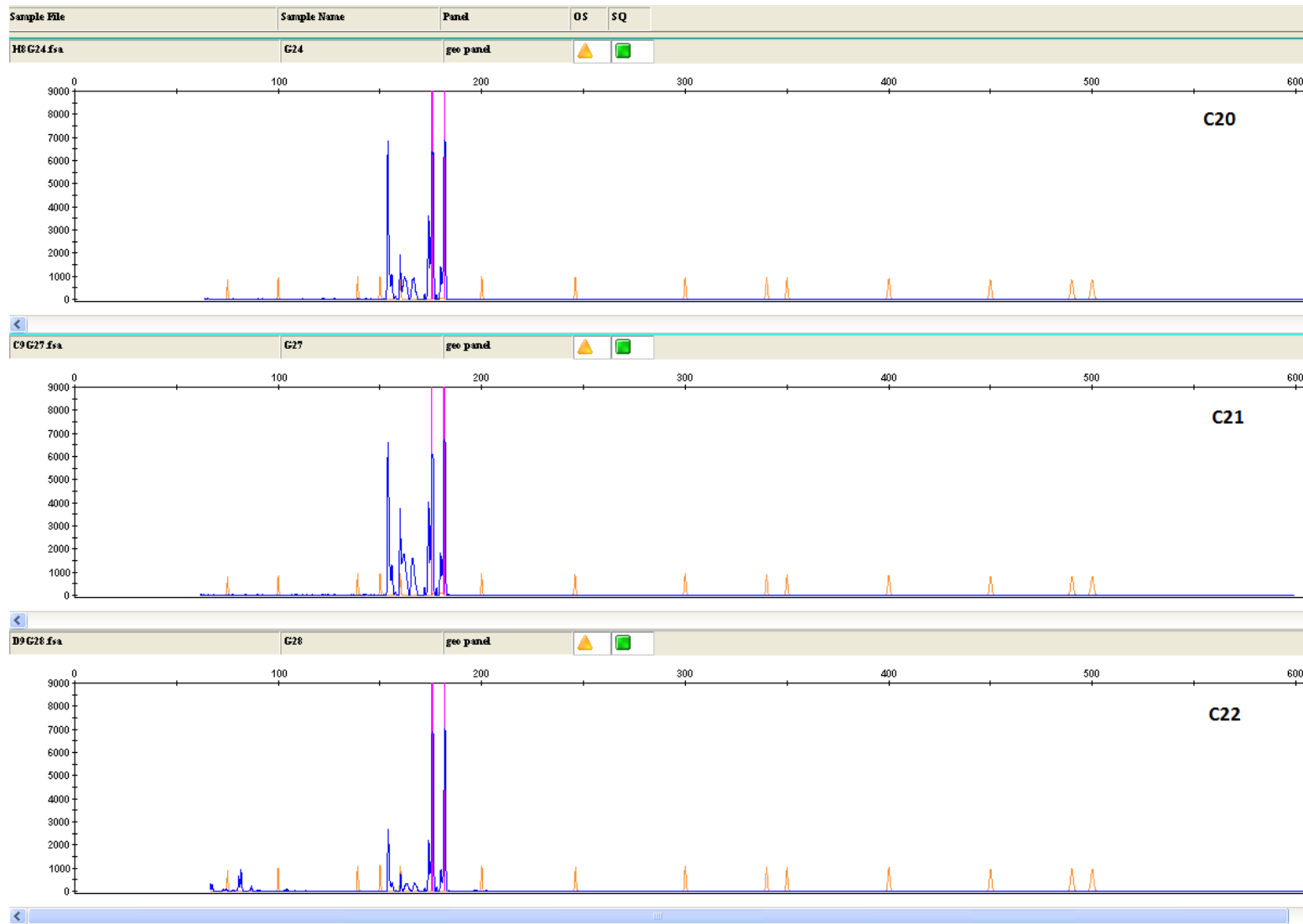


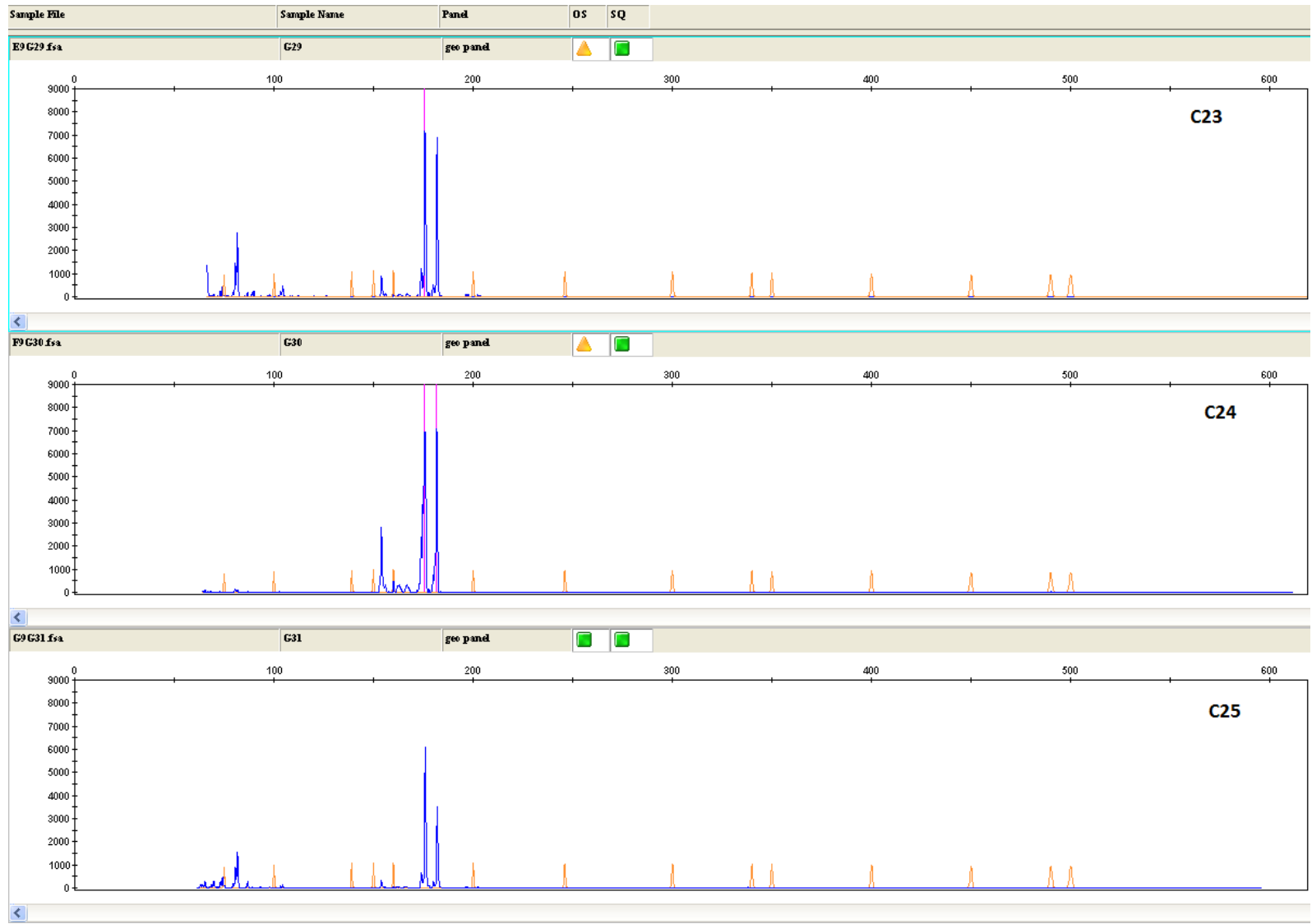


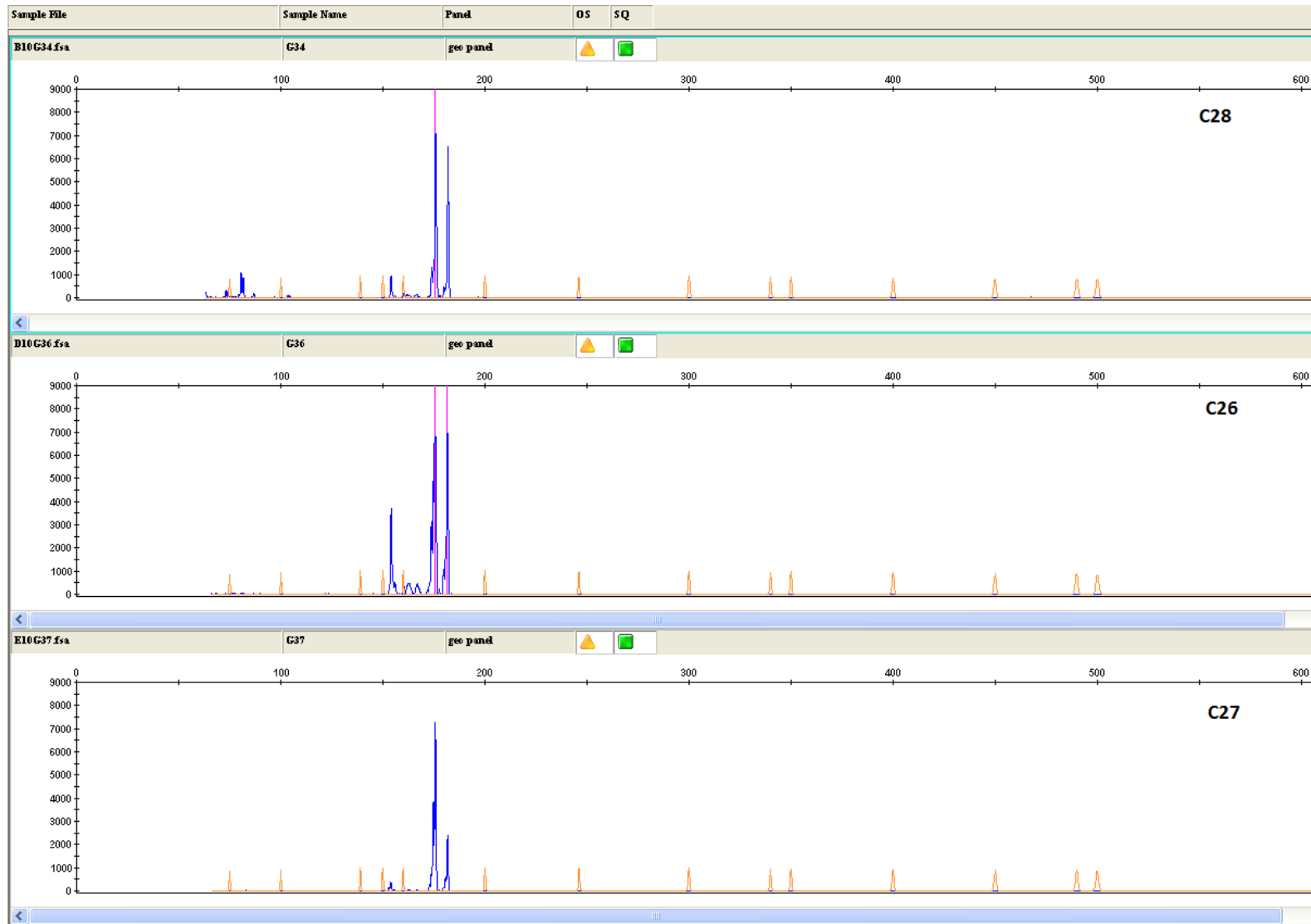


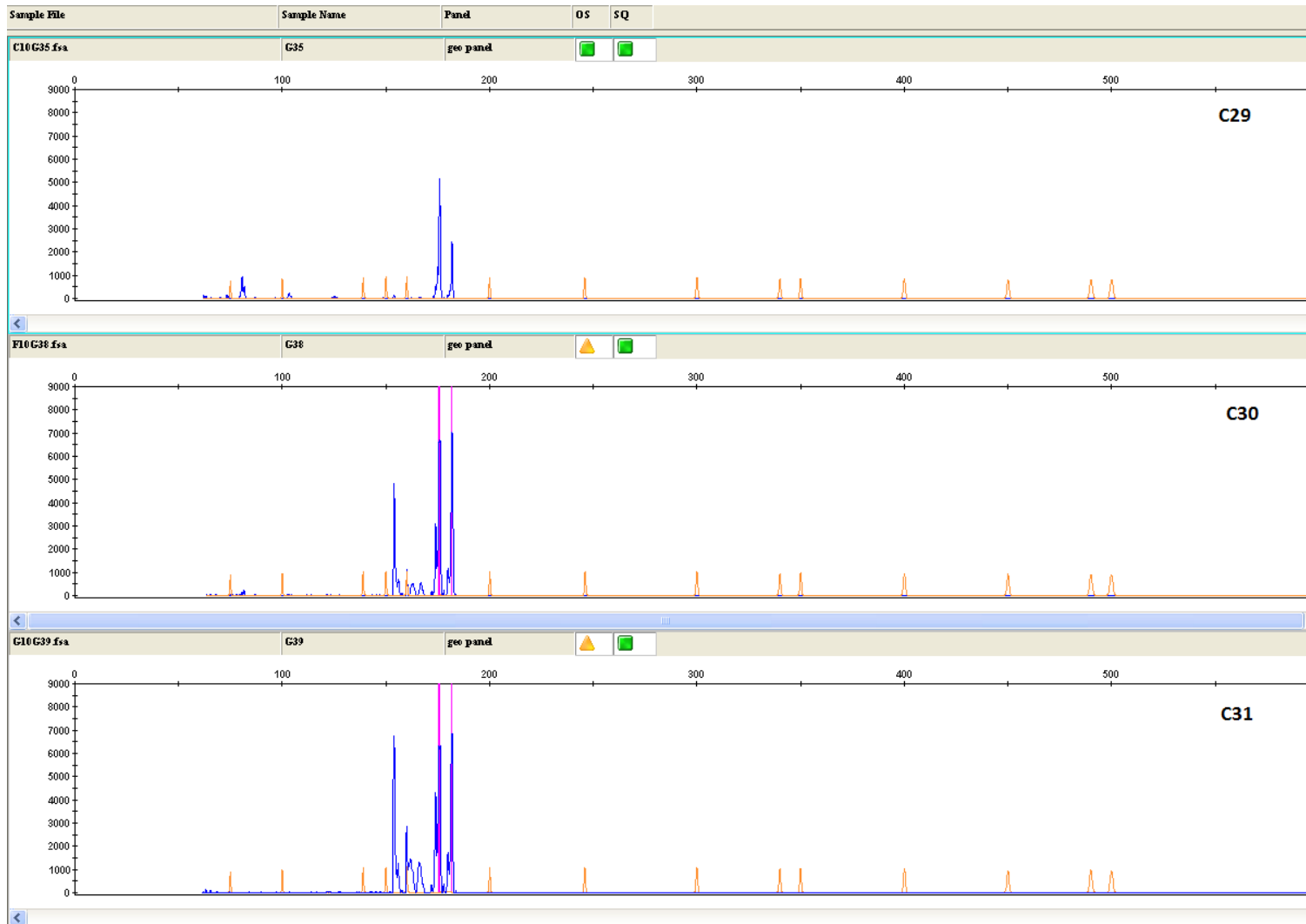




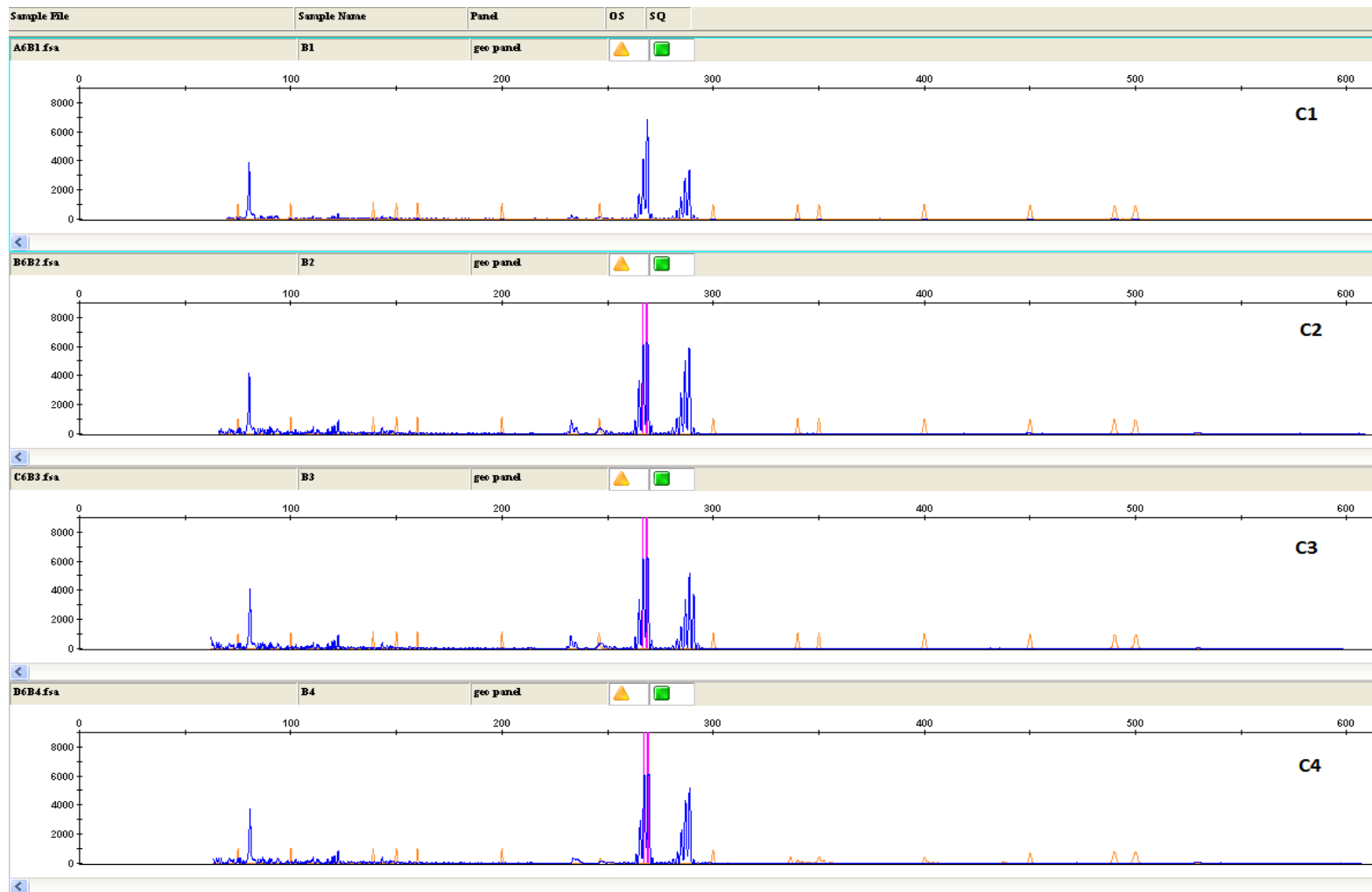


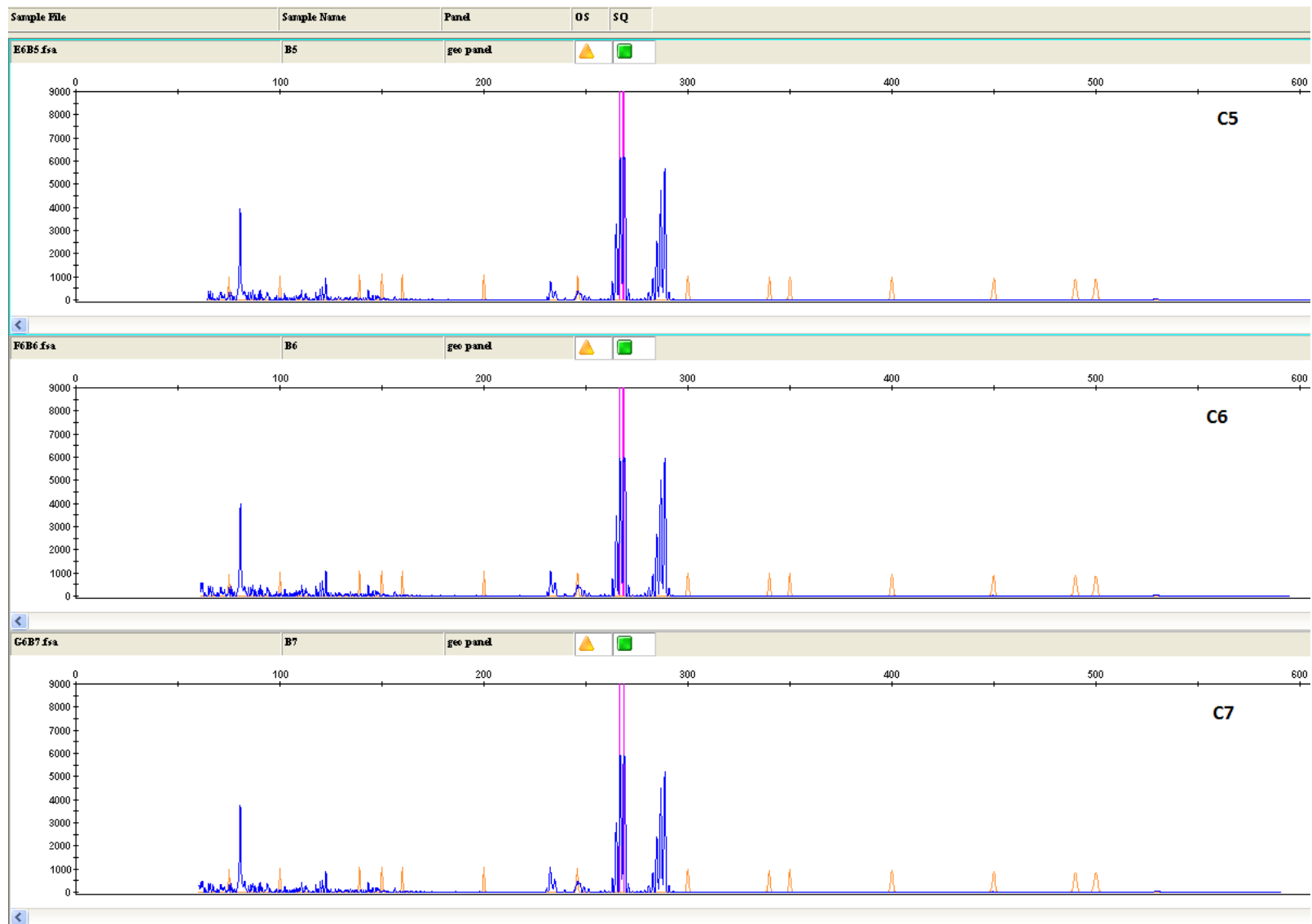


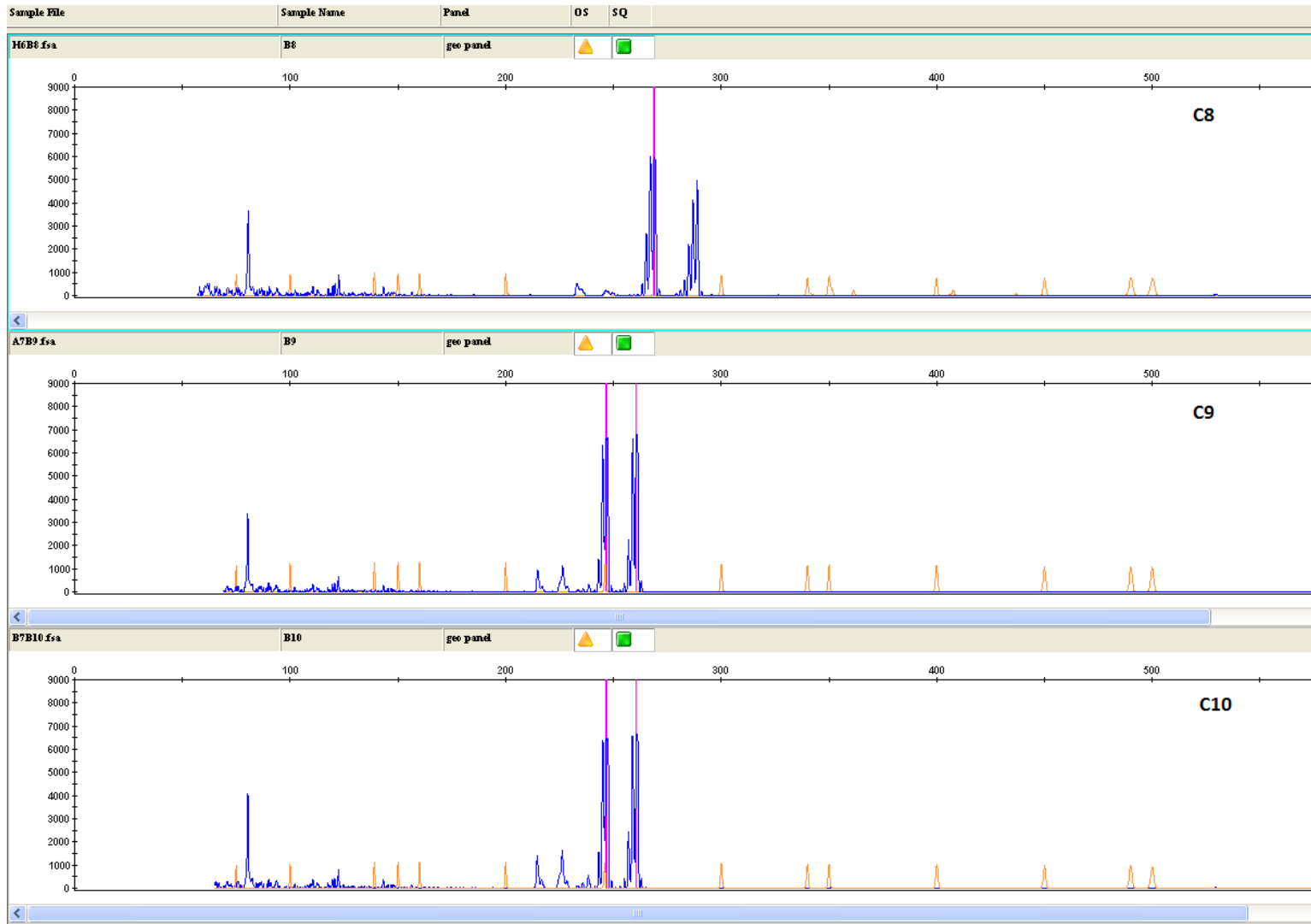


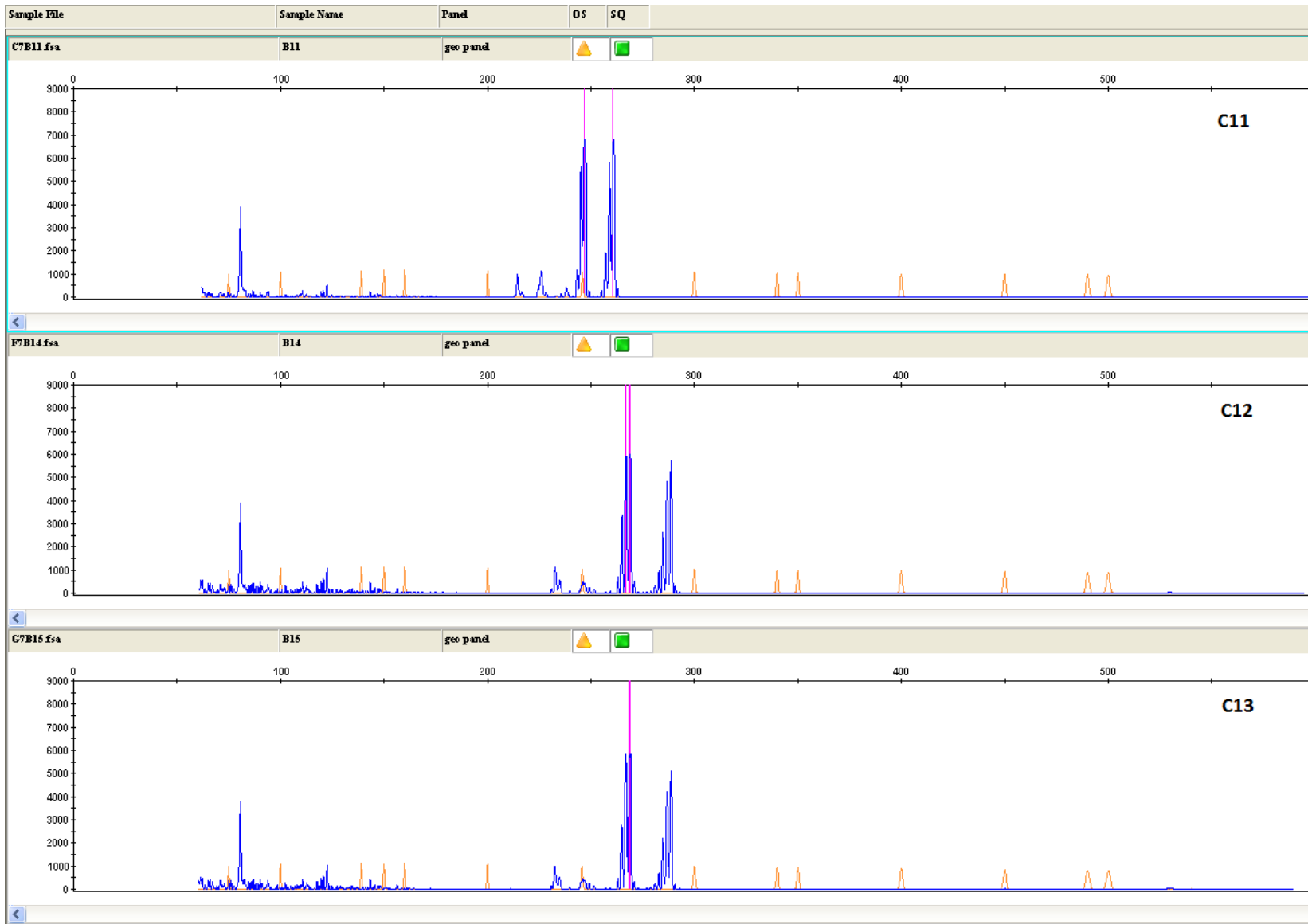


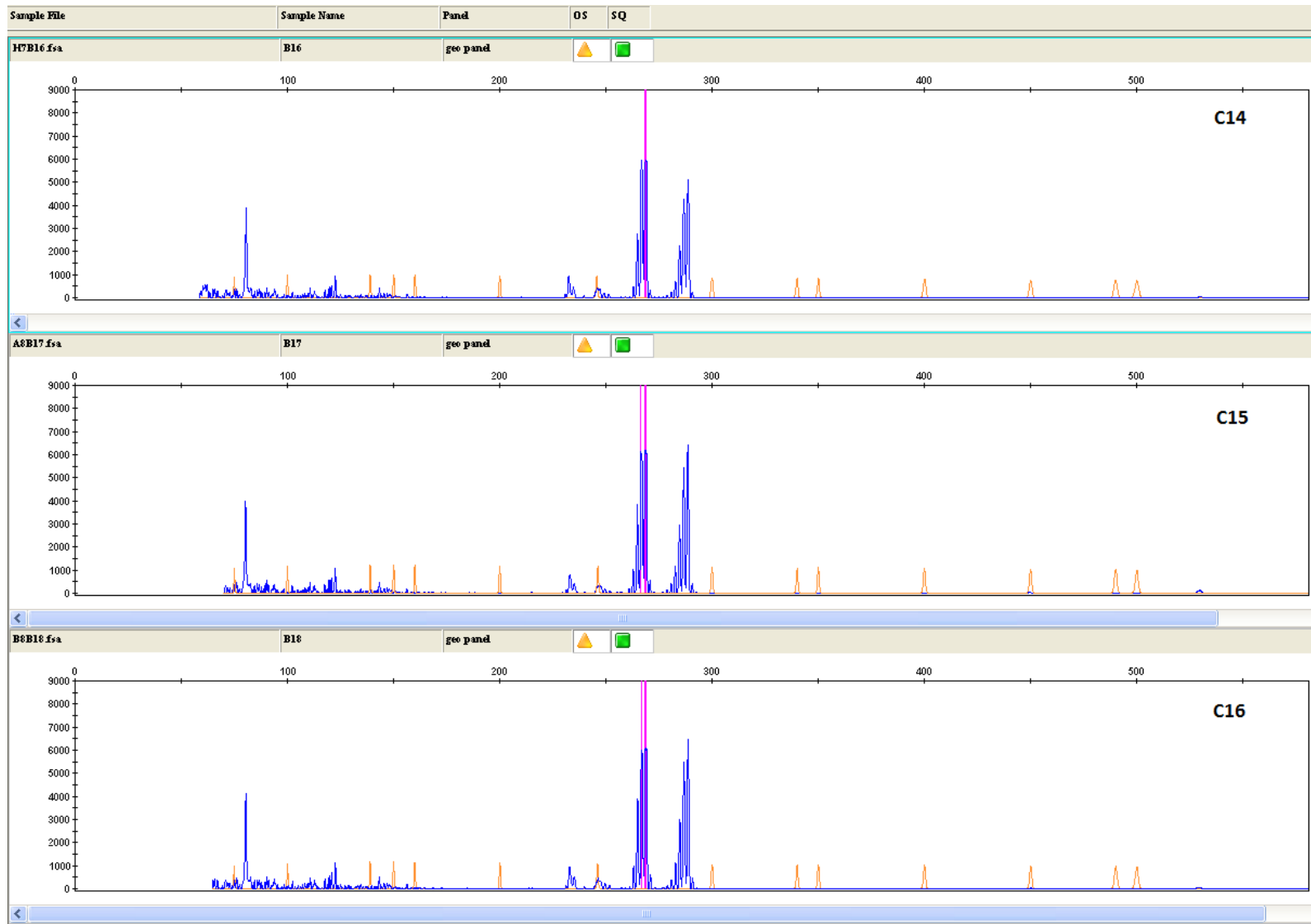
Εκκλιητής VVMD32

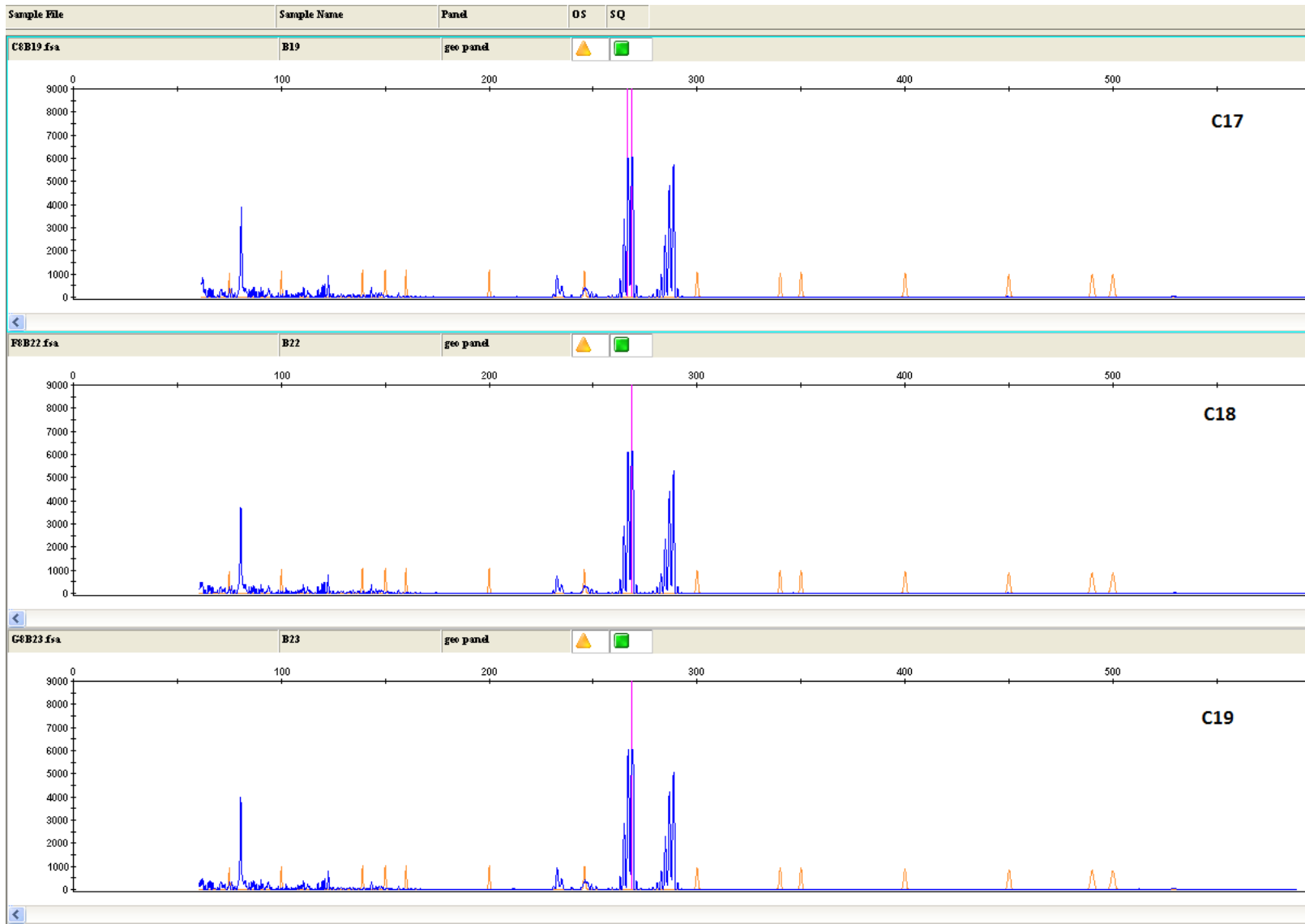


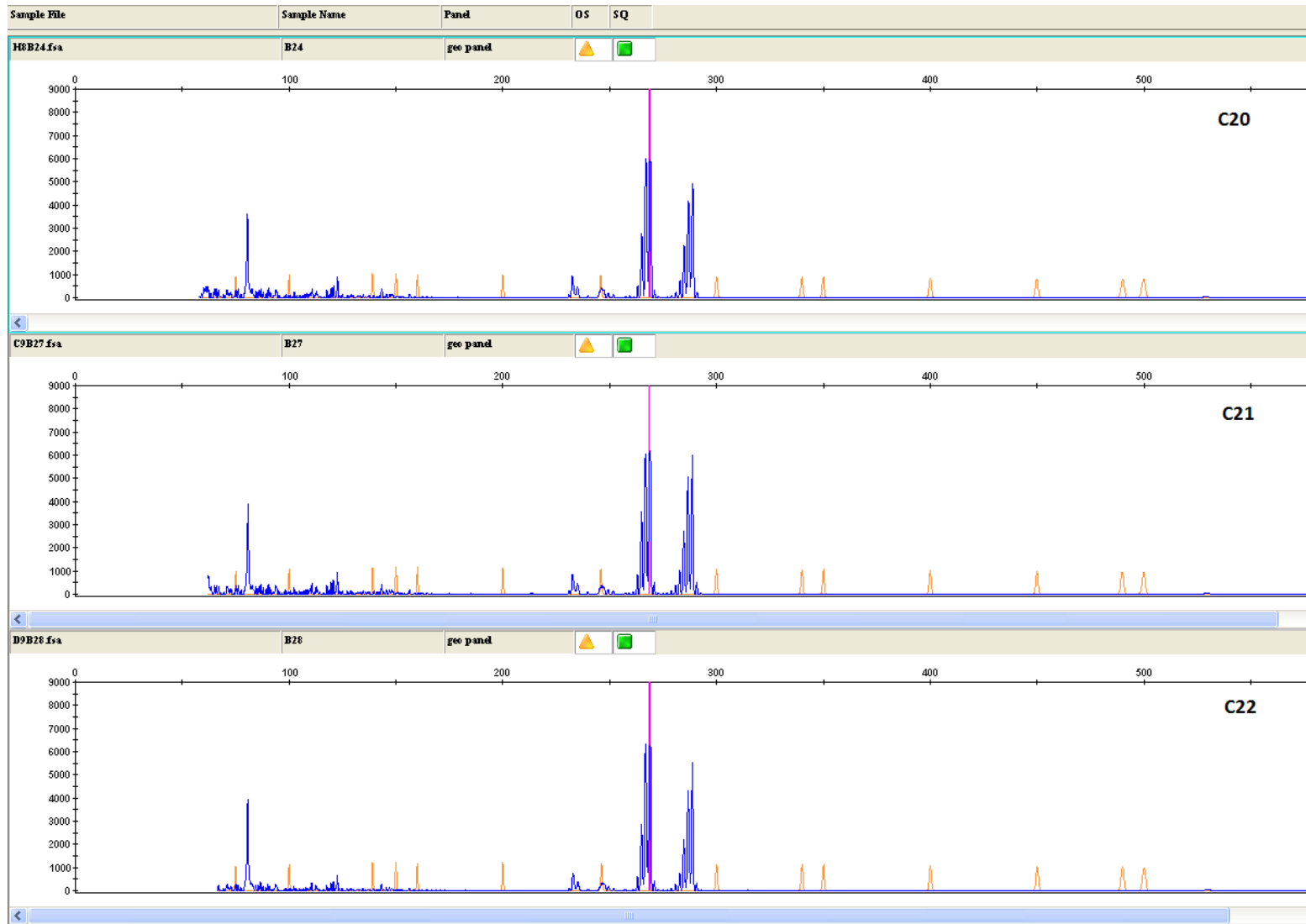


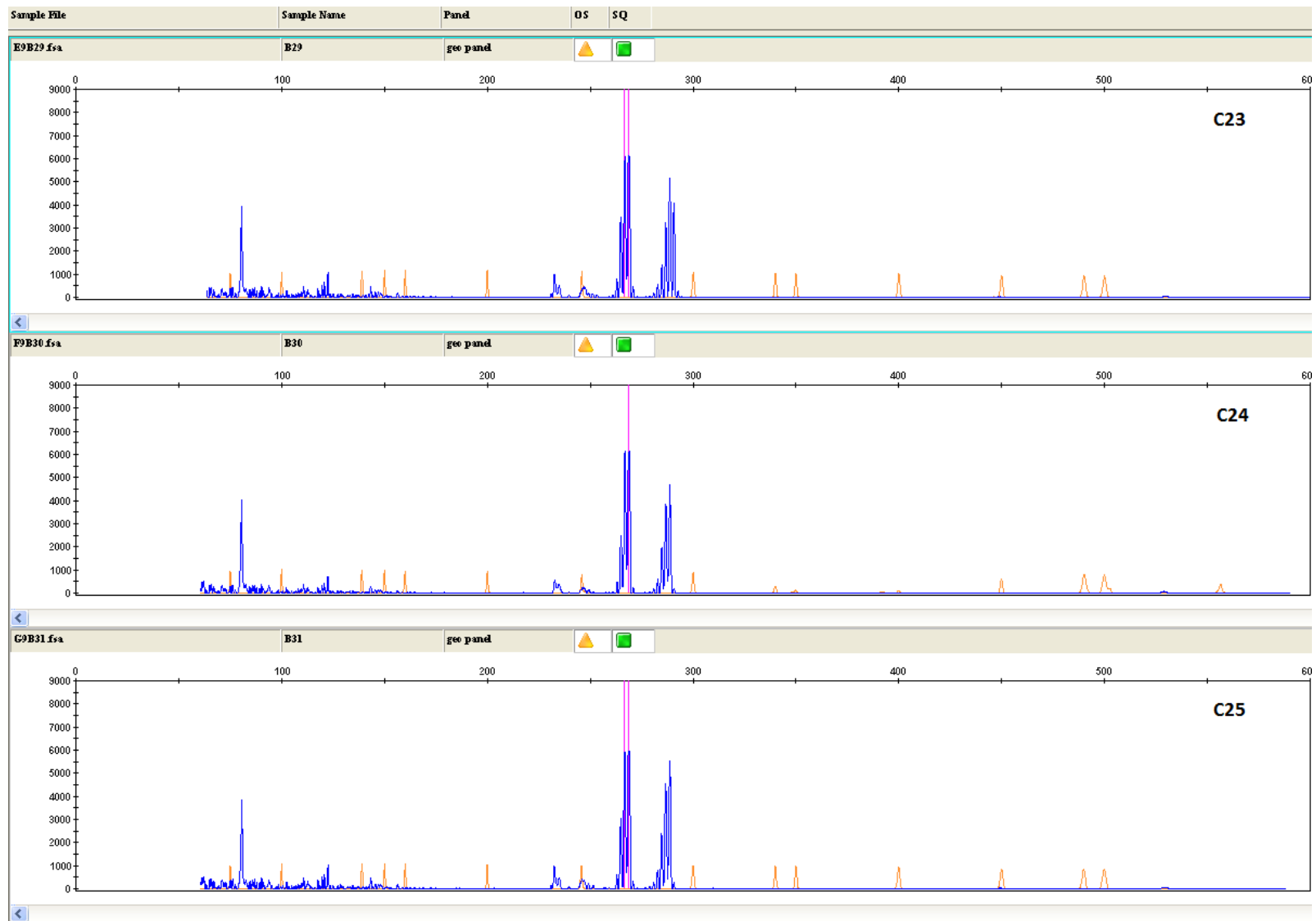


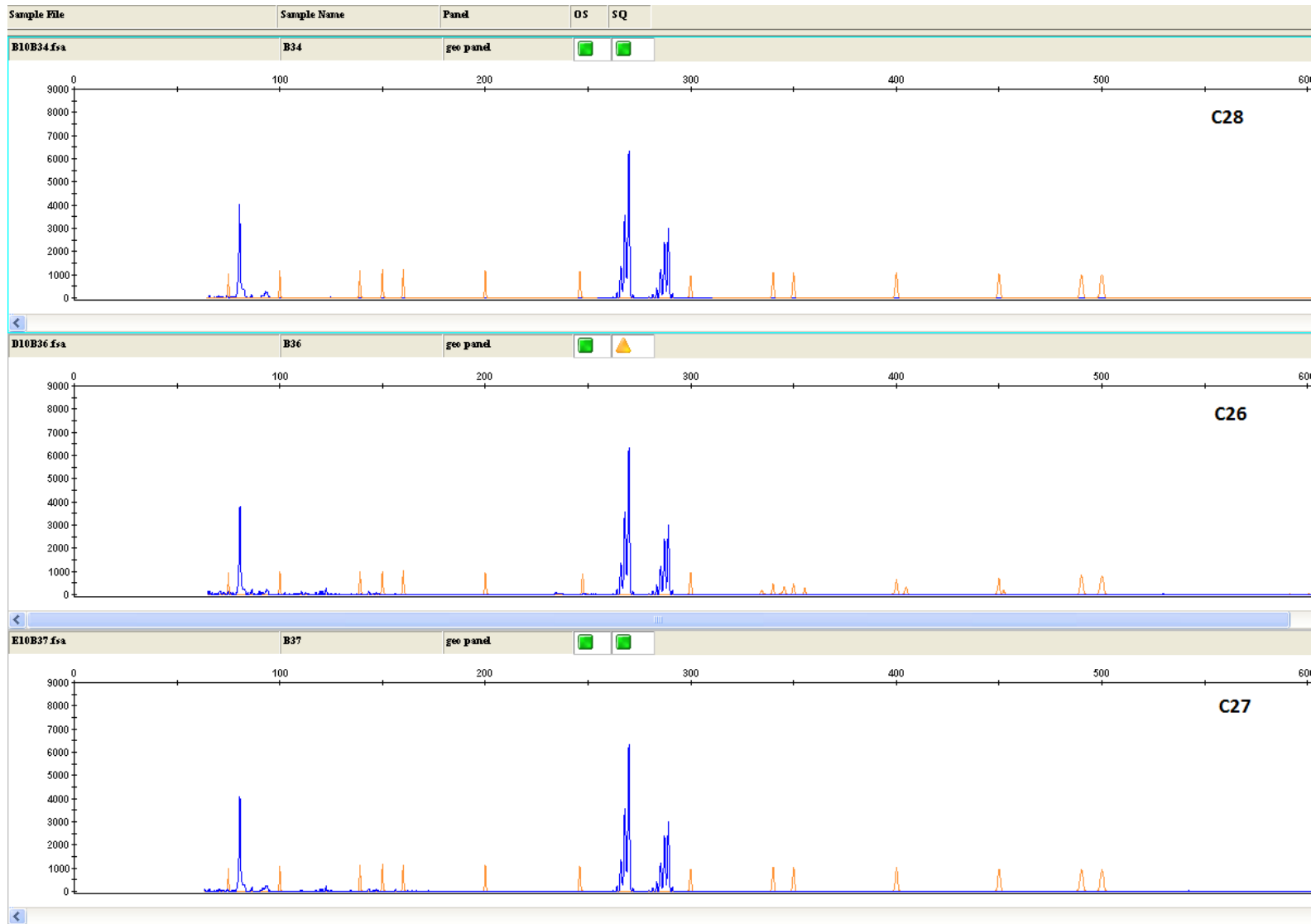


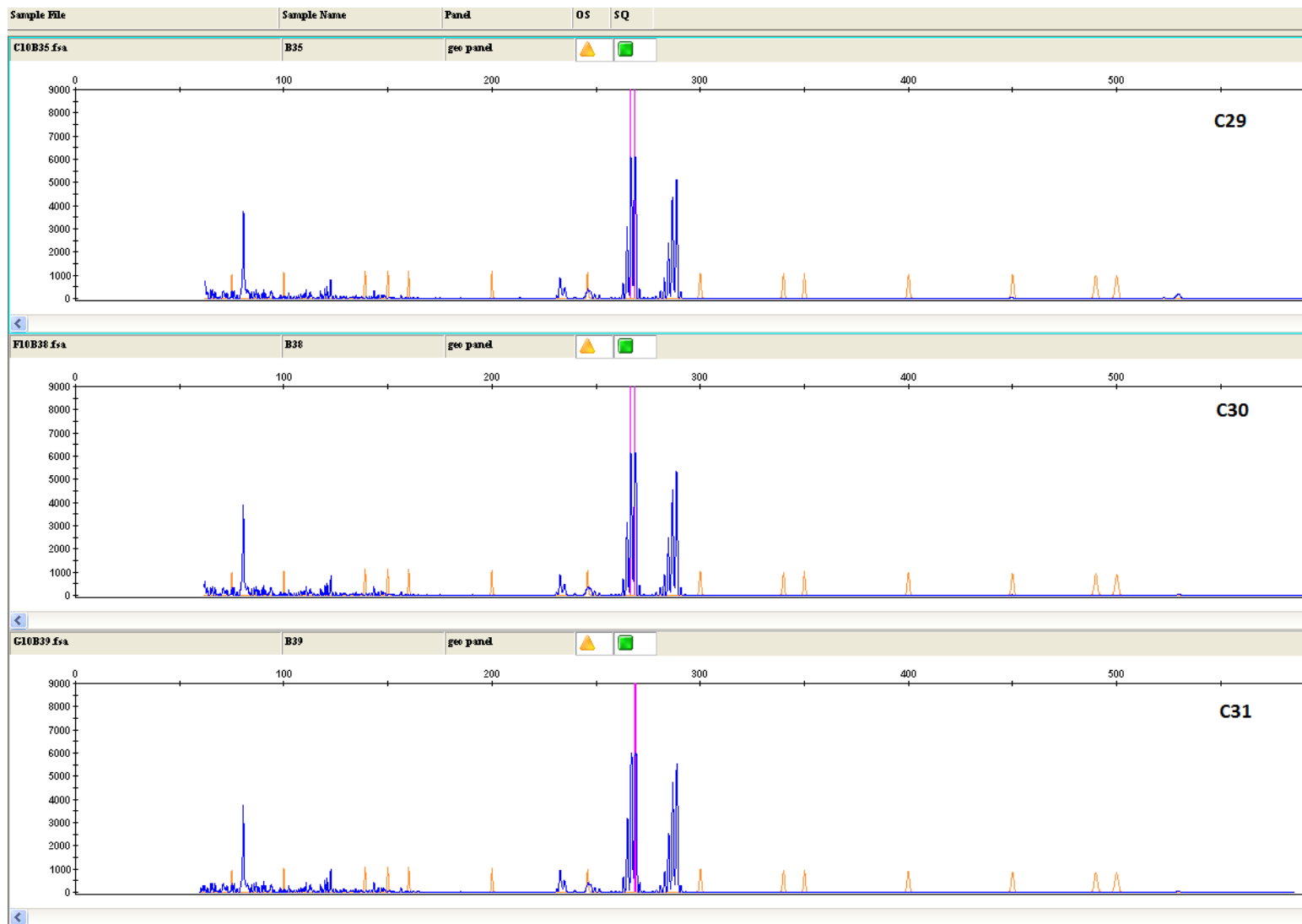






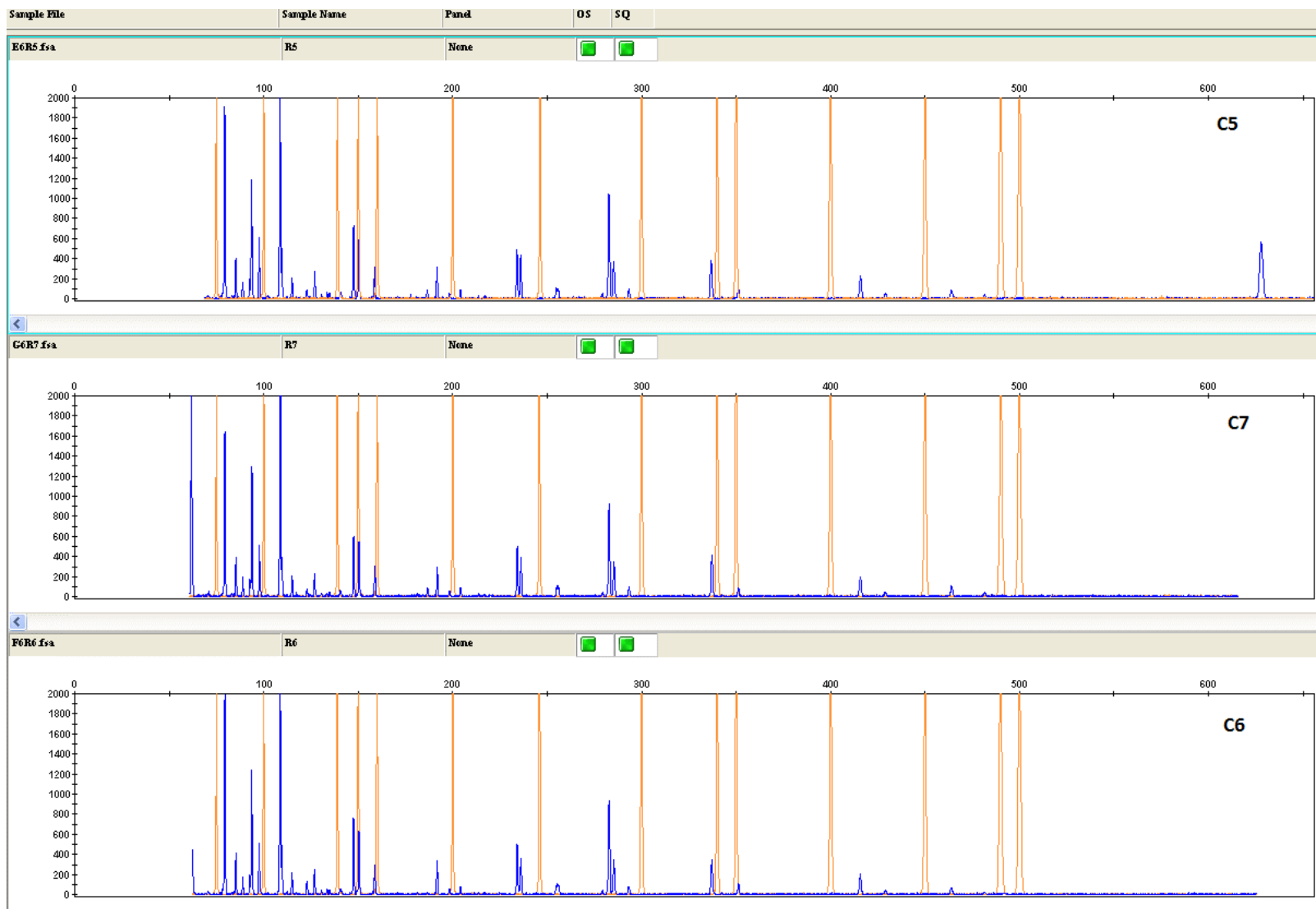




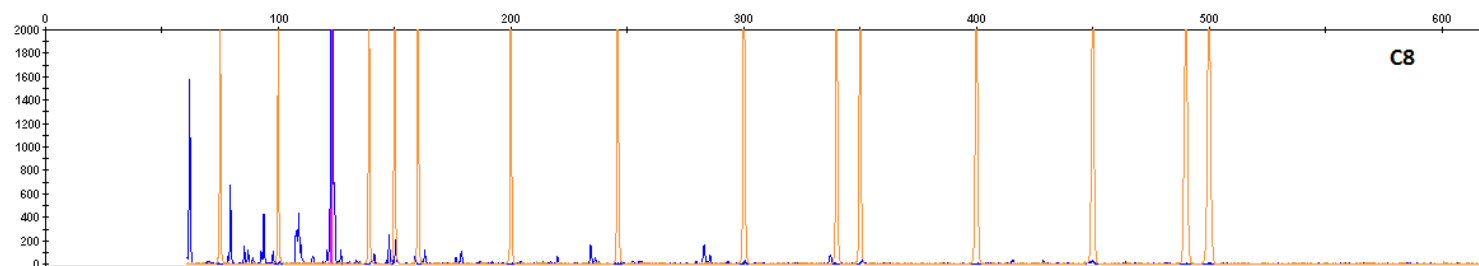




Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο AFLP, όπως αυτά παρουσιάζονται από τον Αυτόματο Αναλυτή Γονιδιώματος ABI 310 (Applied Biosystems).

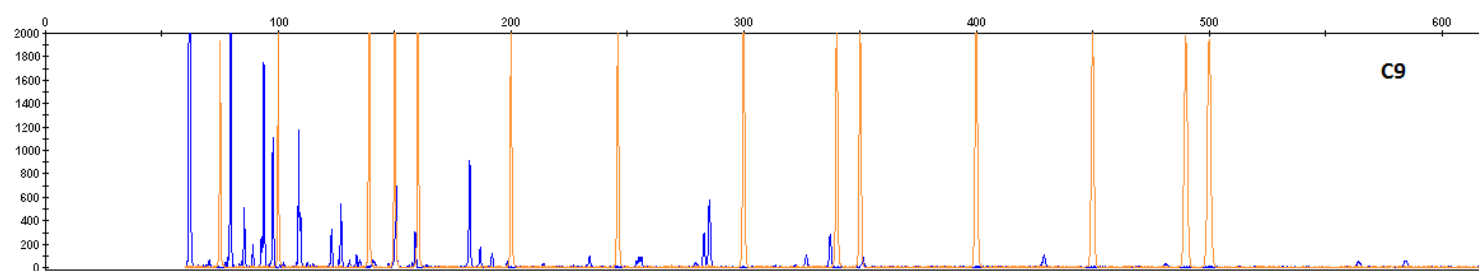
Η πορτοκαλί γραμμή είναι το πρότυπο μέγεθος DNA (Gene-Scan 500-LIZ Size Standard, Applied Biosystems), ενώ με το μπλε/μαύρο/πράσινο χρώμα είναι τα ενισχυμένα τμήματα του κάθε εκκινητή, ανάλογα με τις φθορίζουσες χρωστικές.





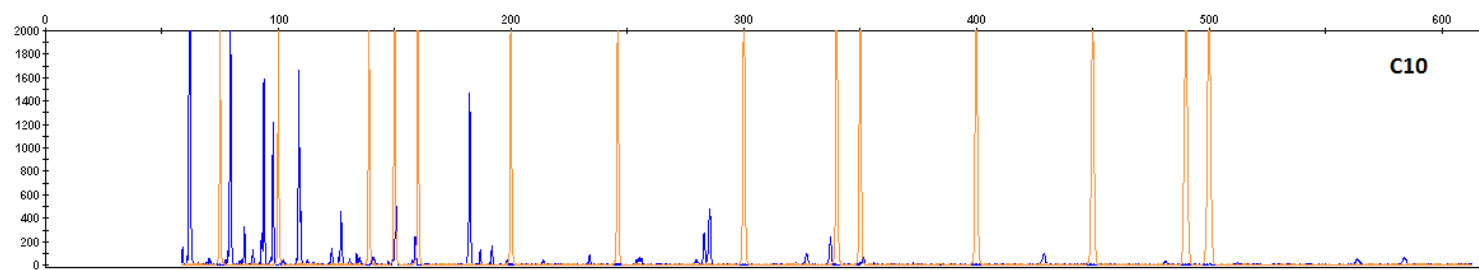
D9R28 fsa R28 None  

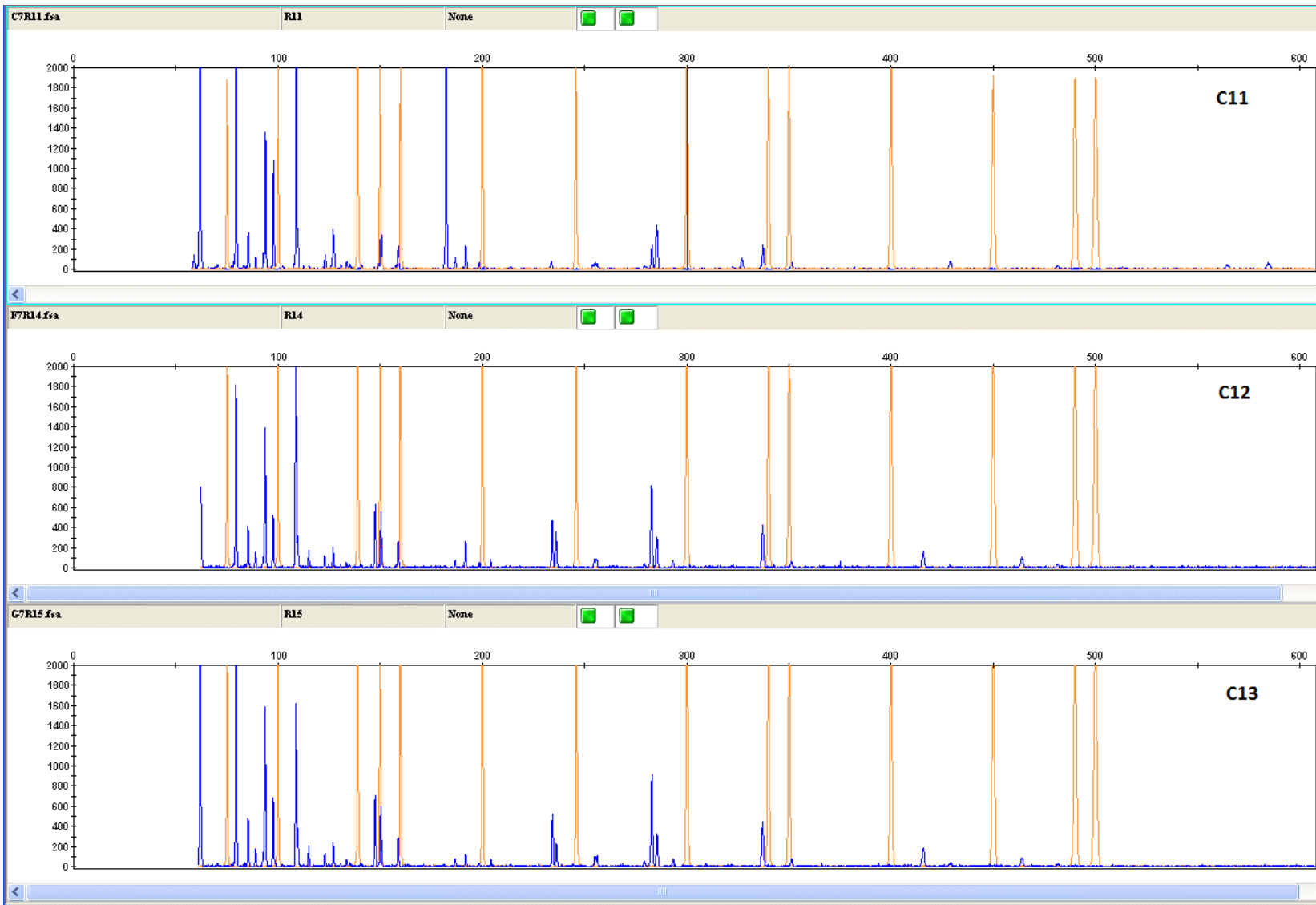


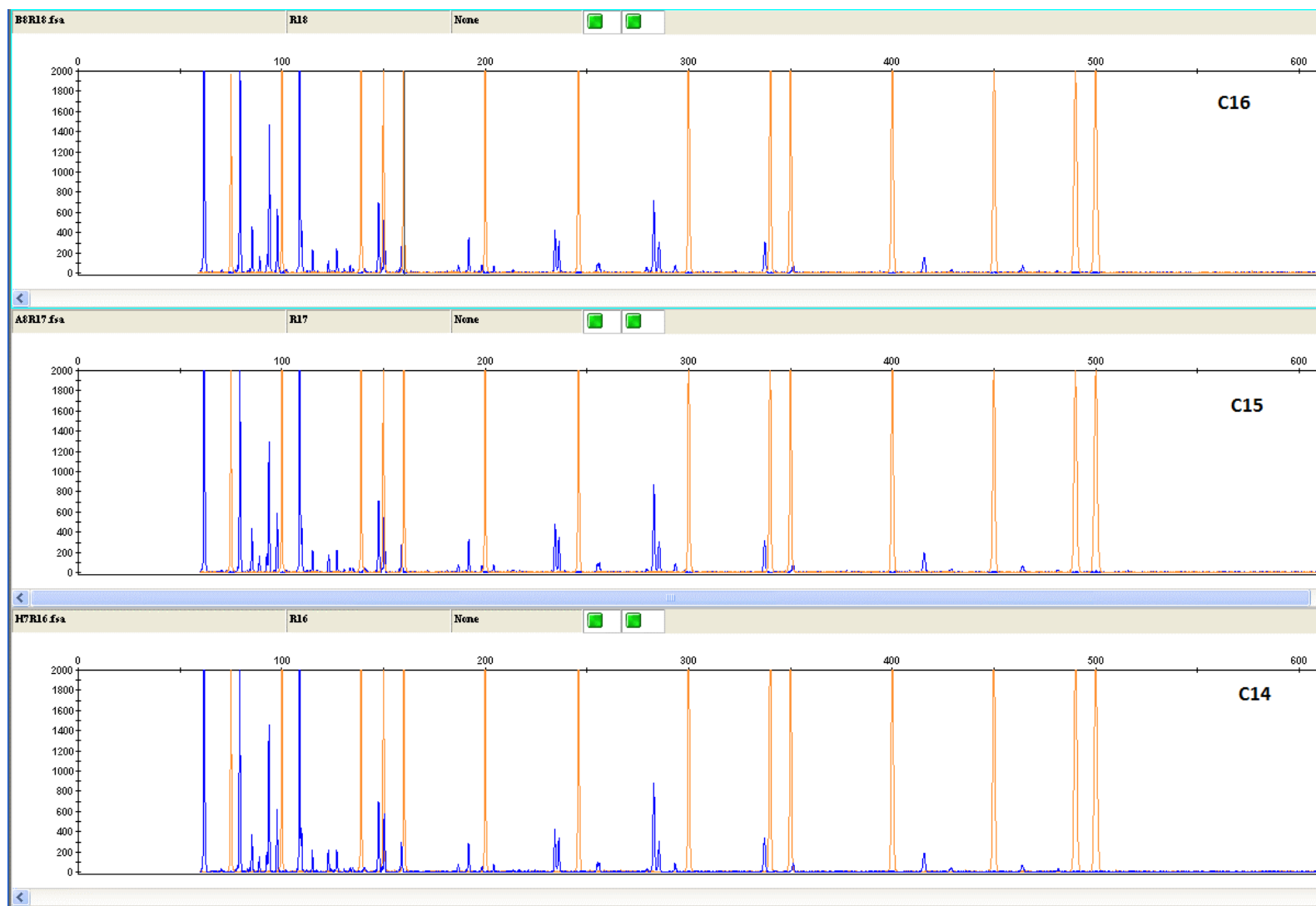
< A7R9 fsa R9 None  

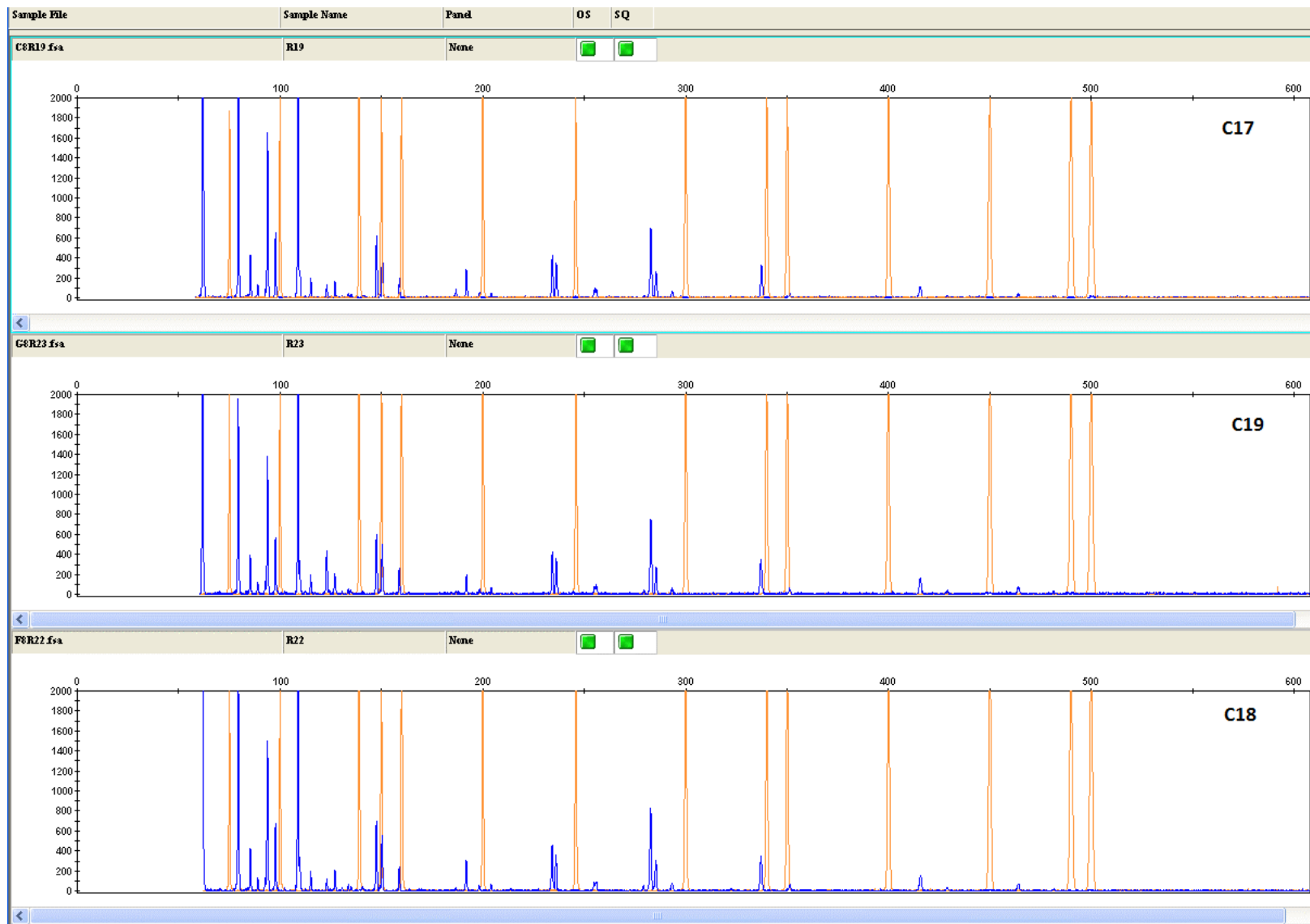


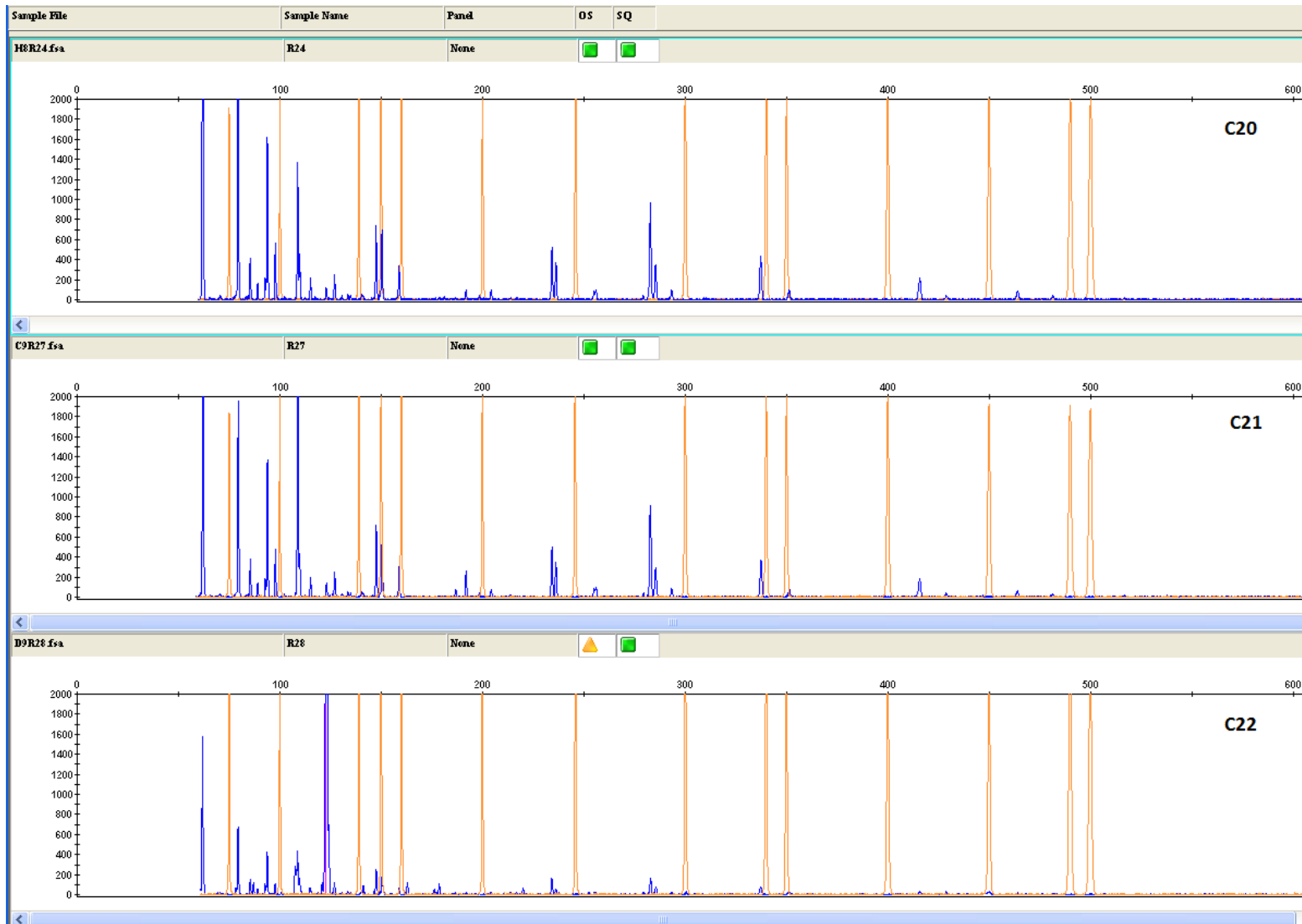
< B7R10 fsa R10 None  

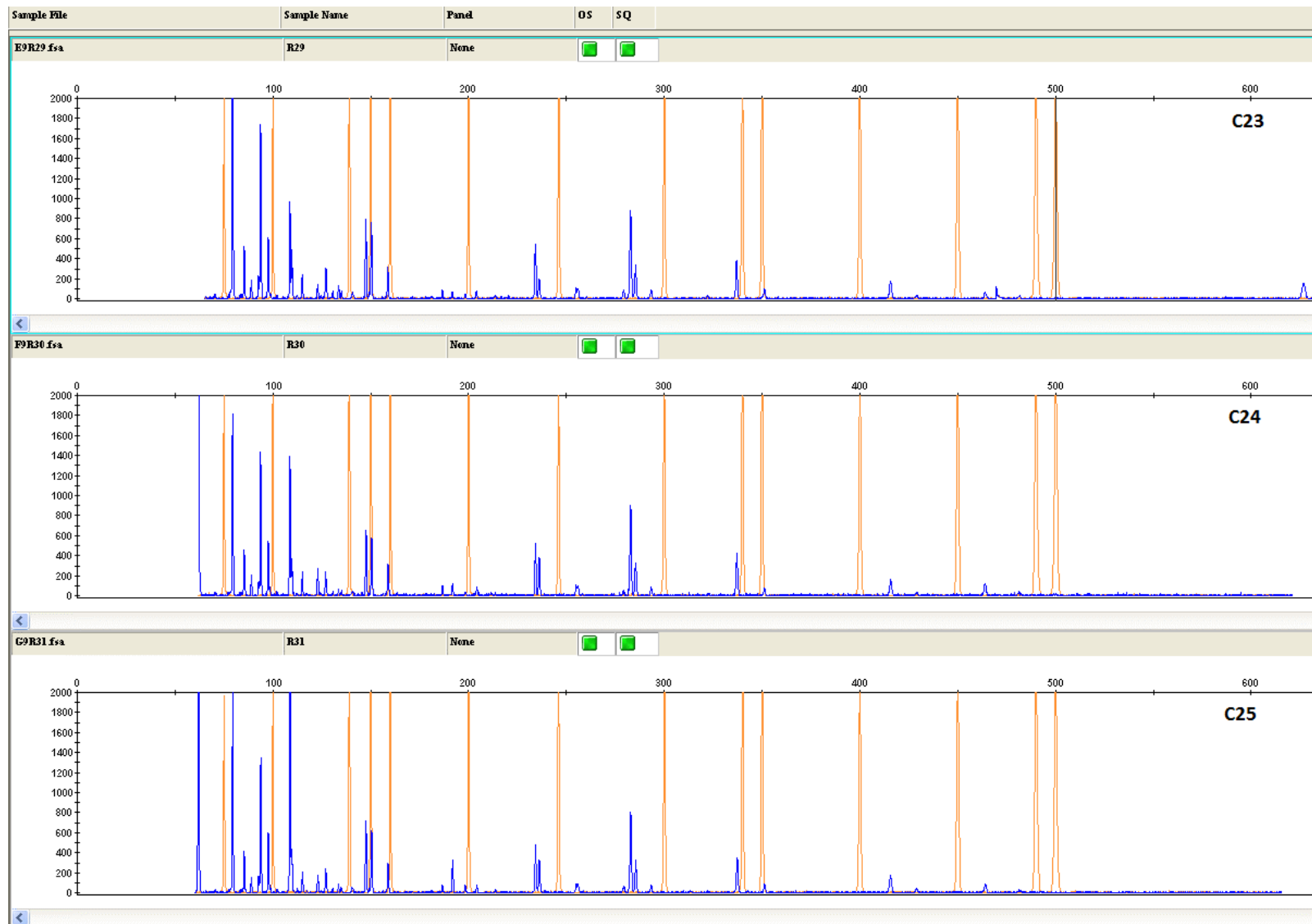


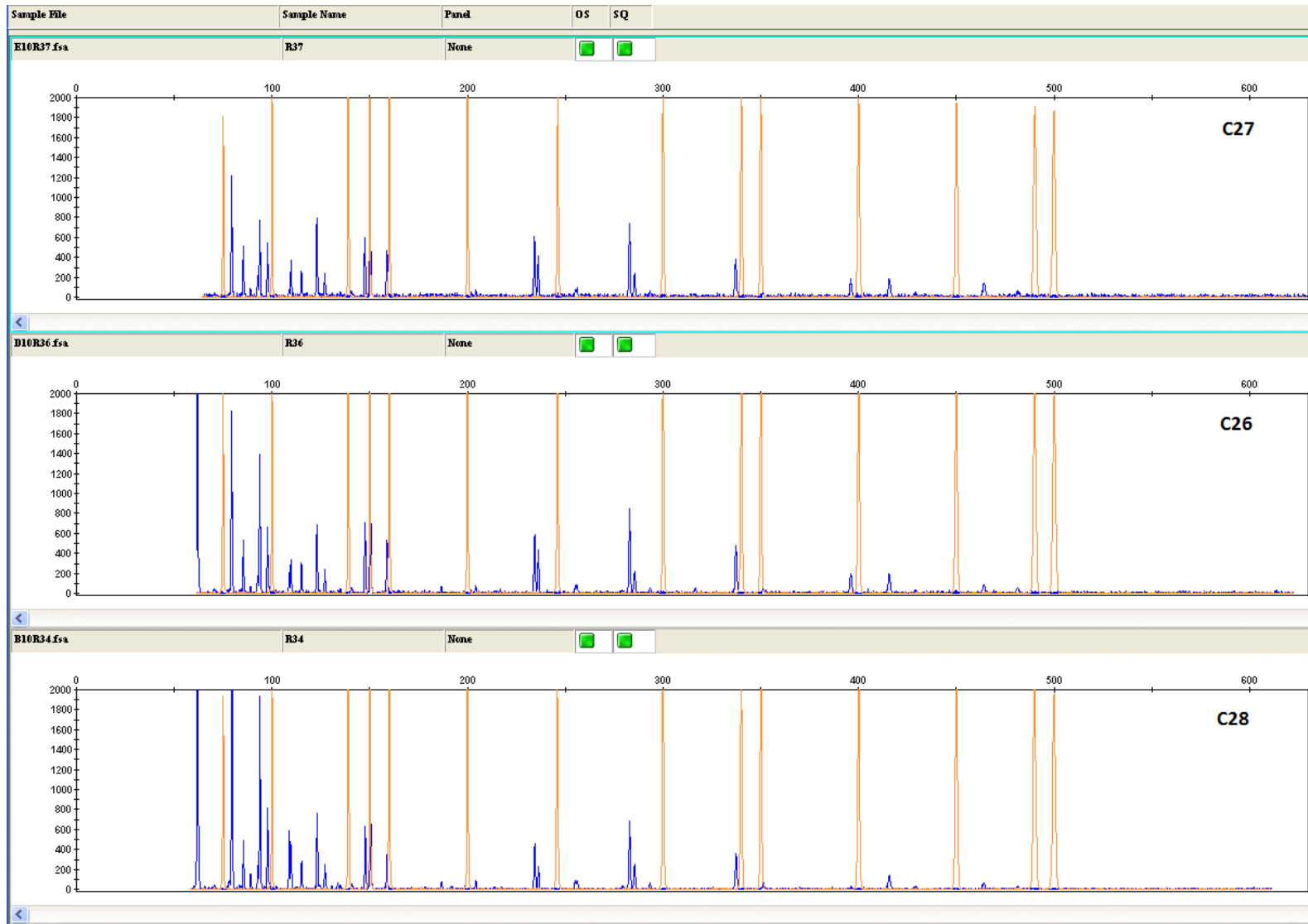


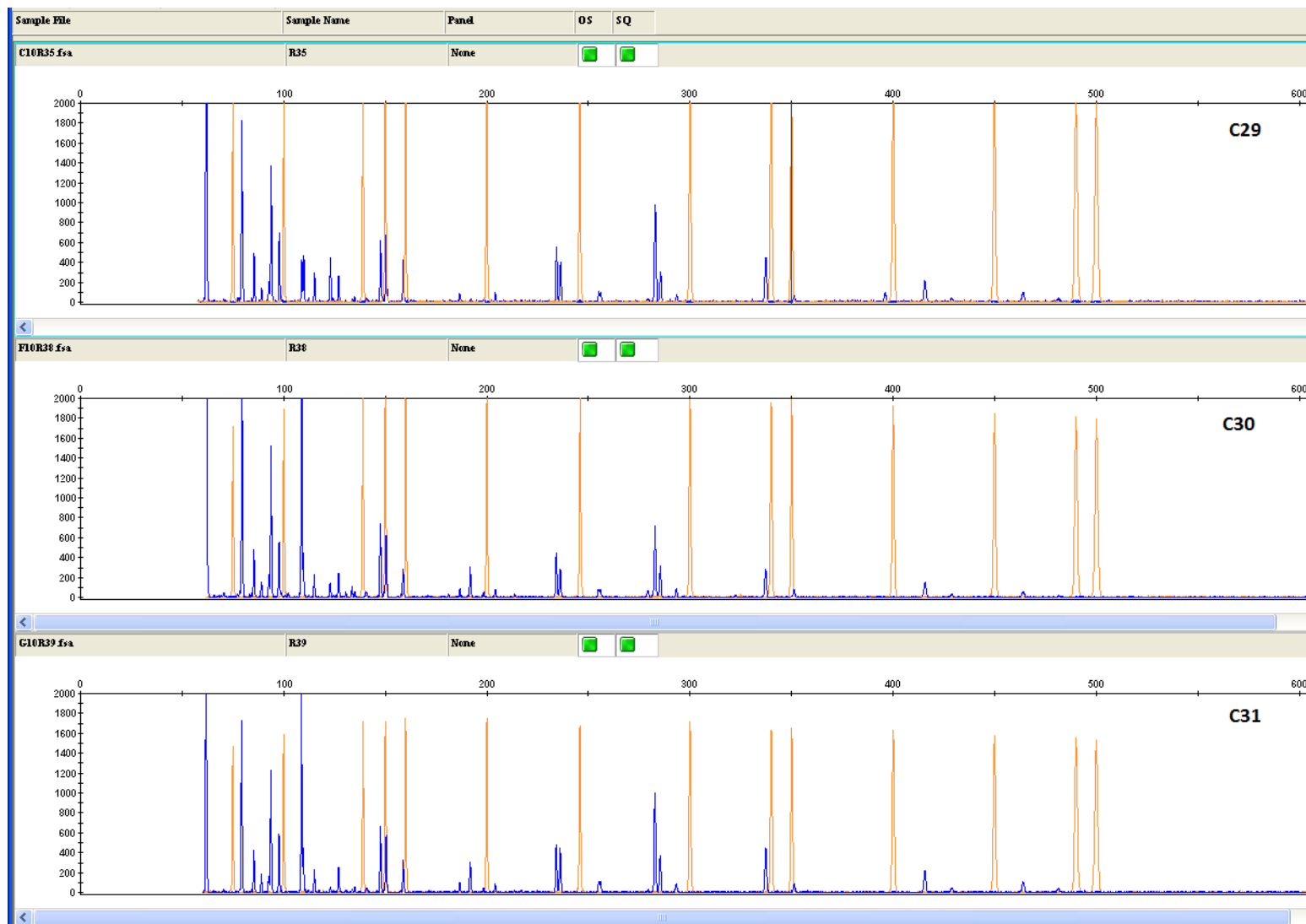




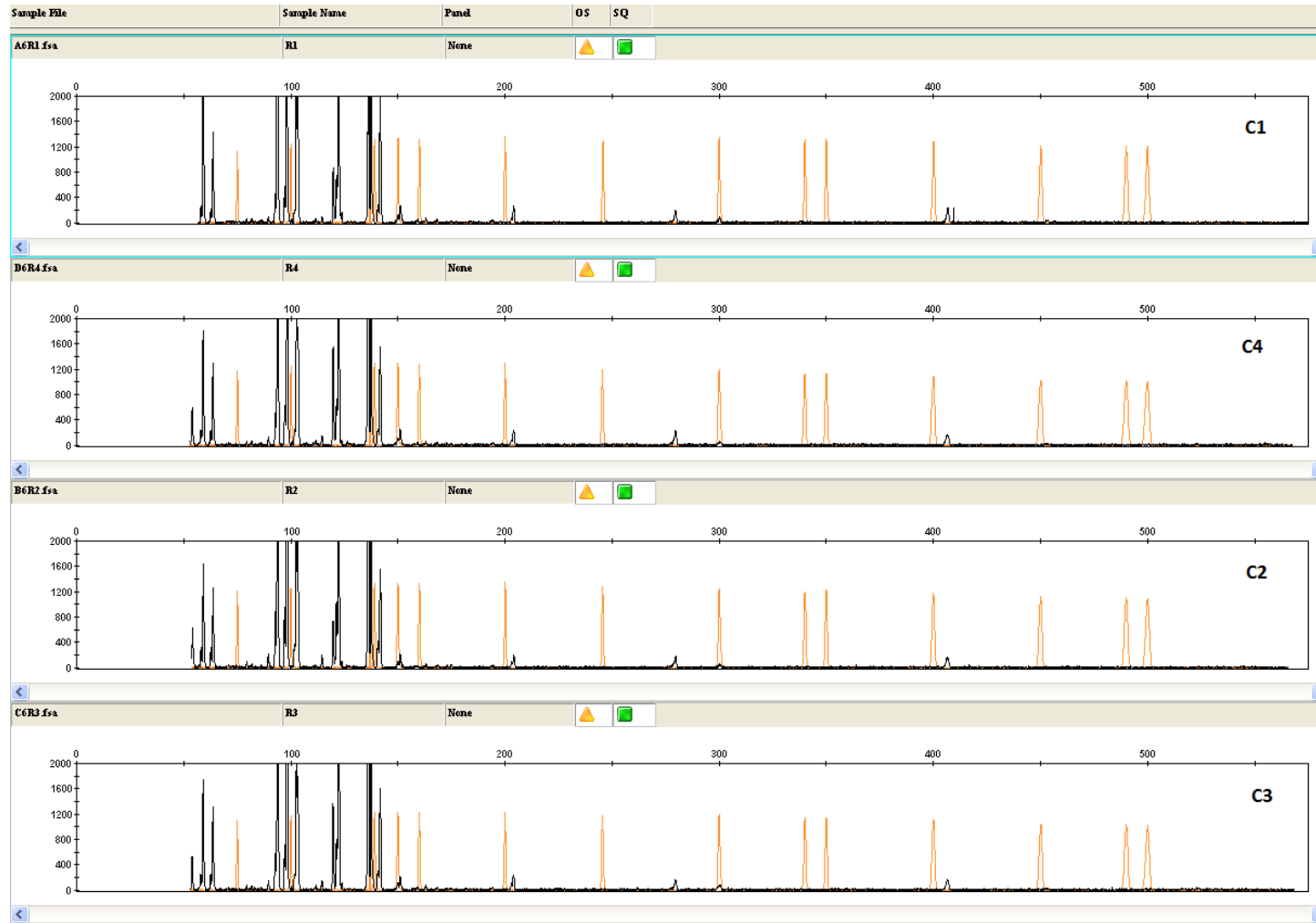


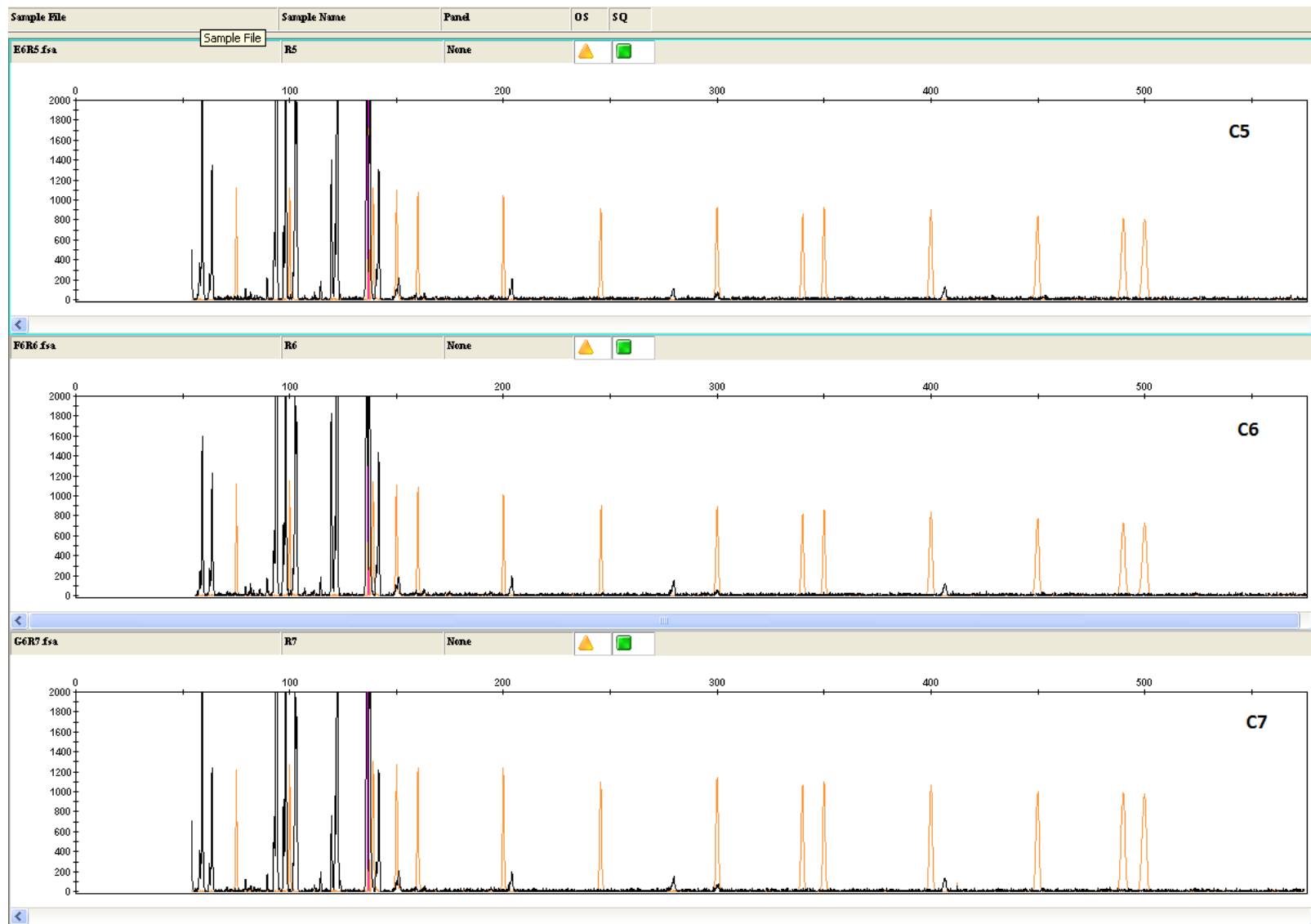


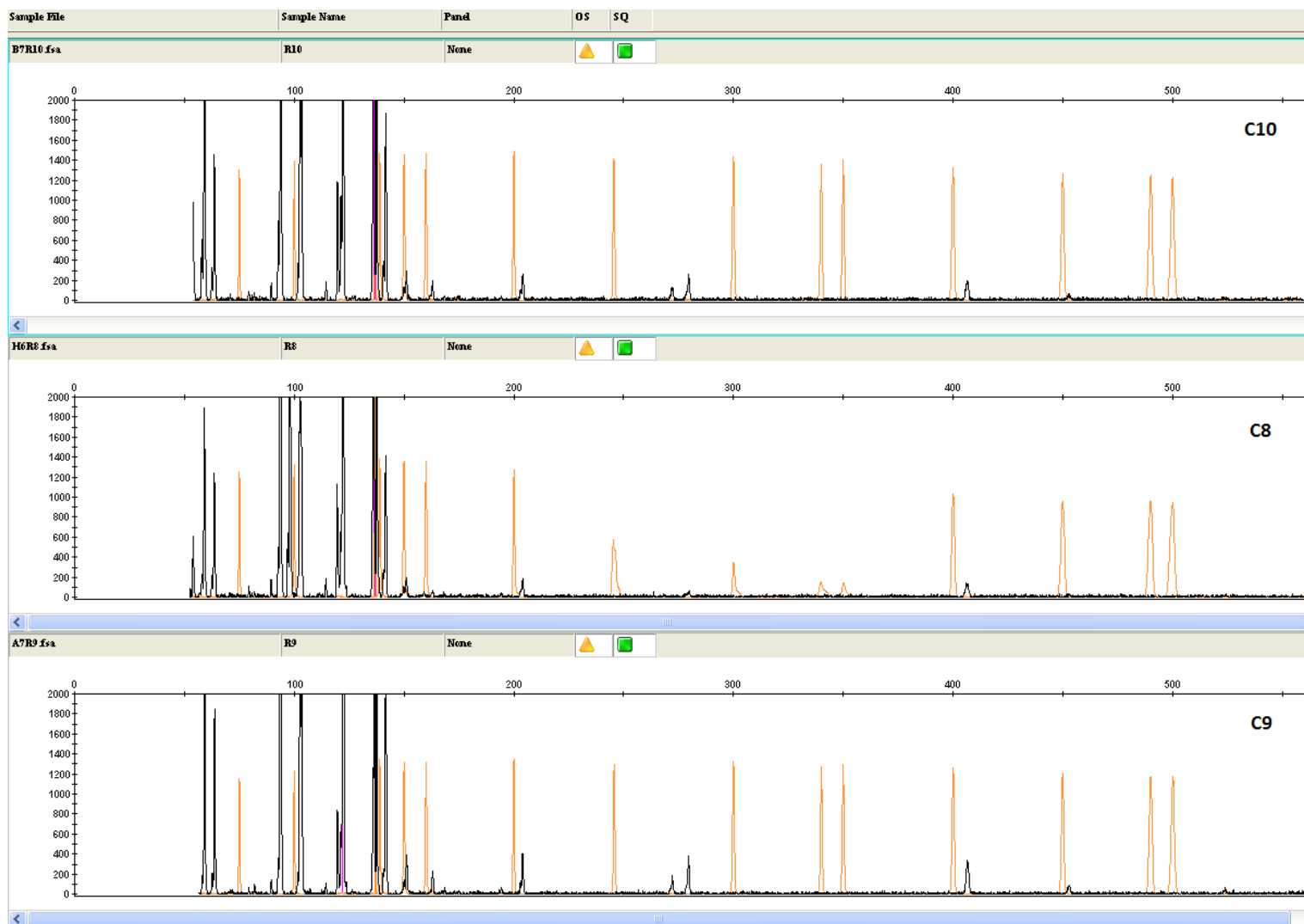


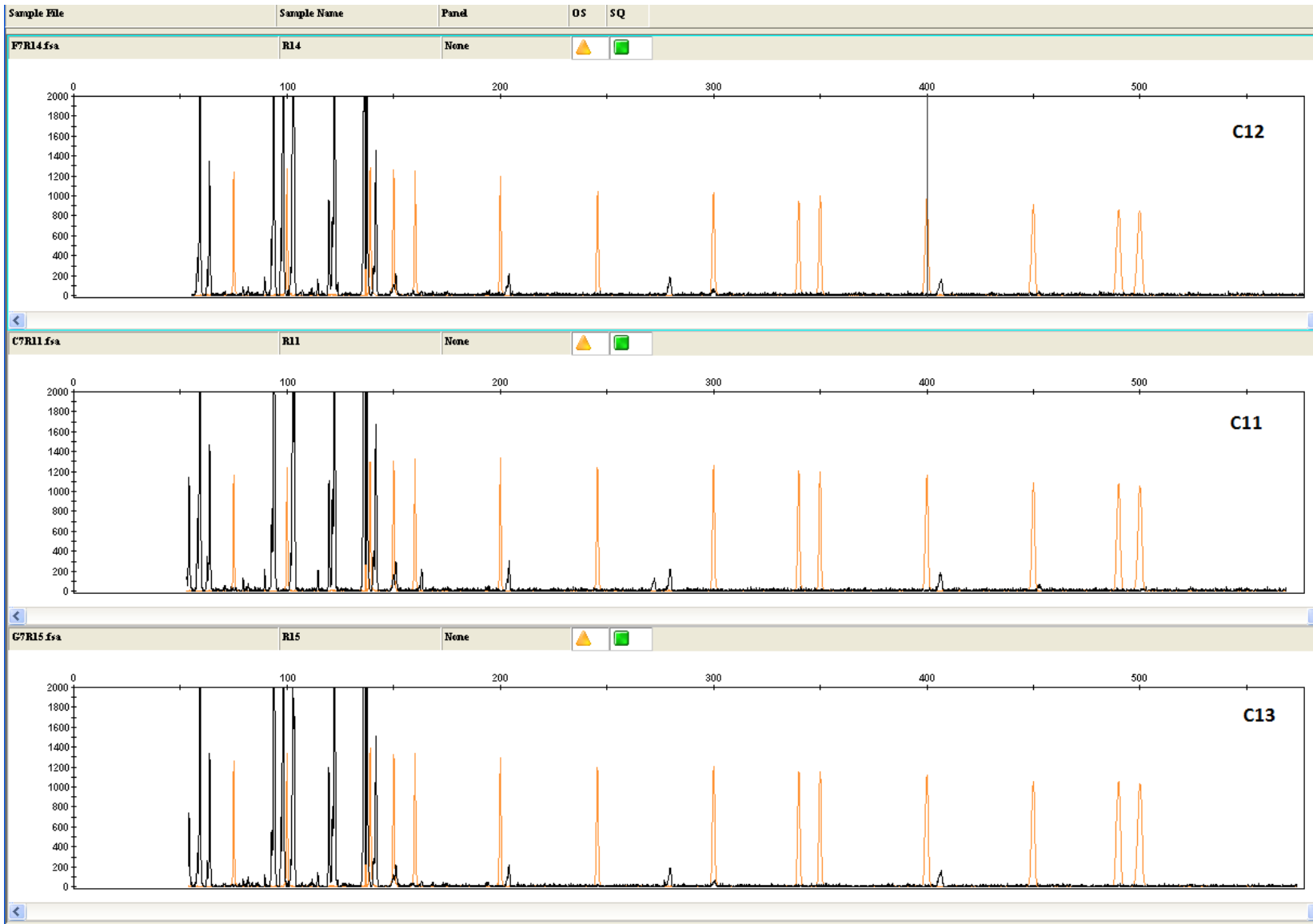


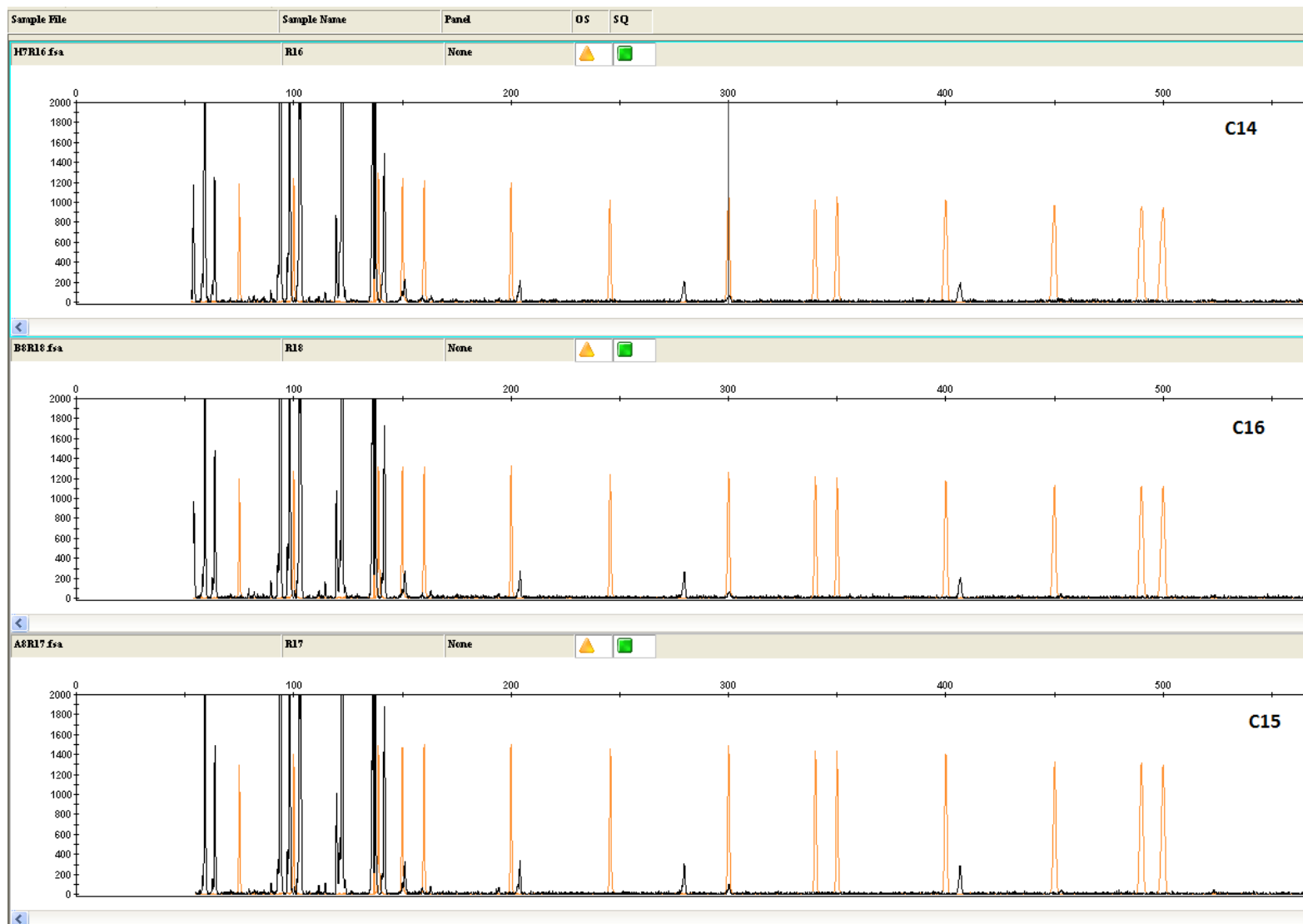
Εκκλινητής EcoRI – ACC – MseI – CAG

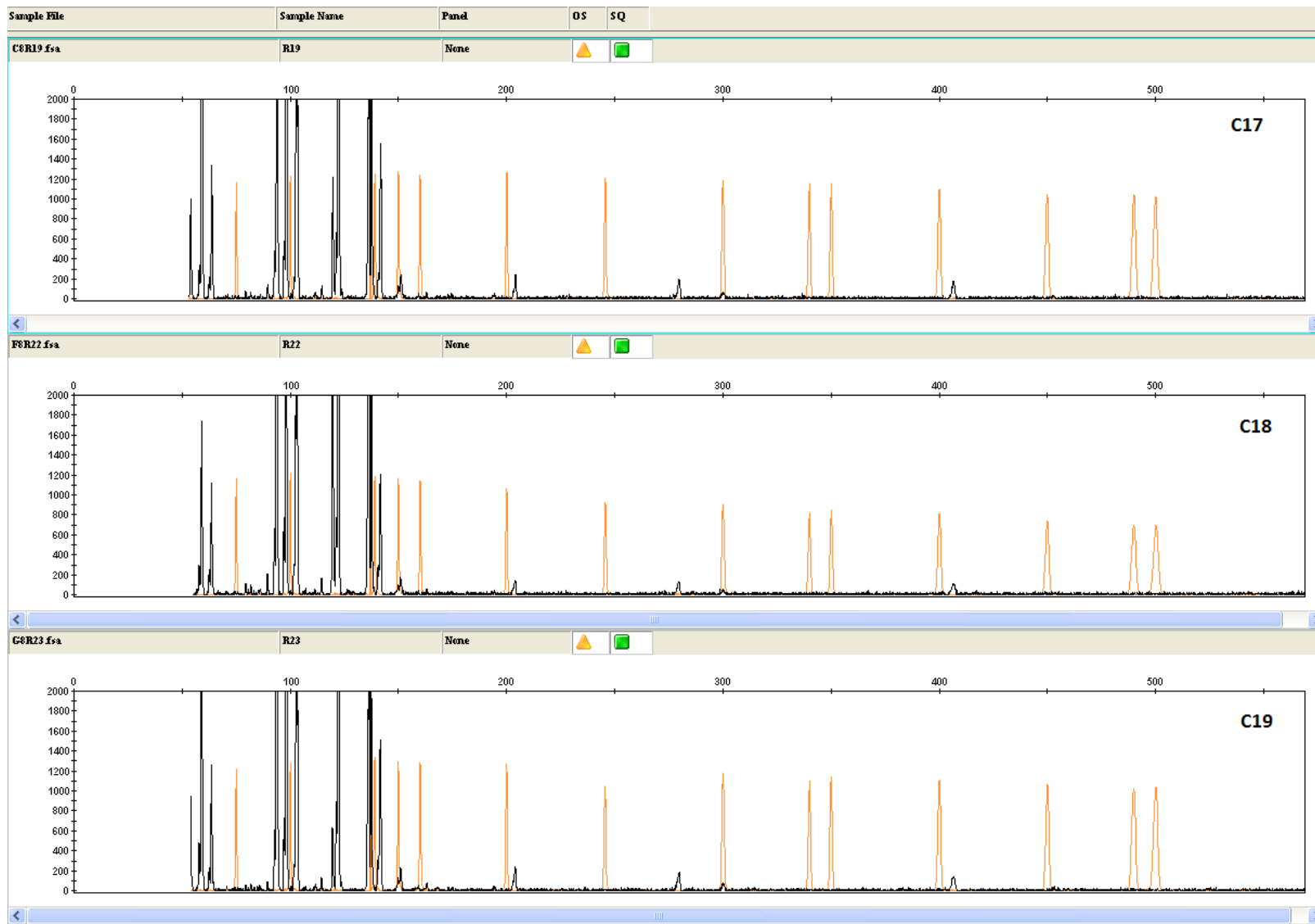


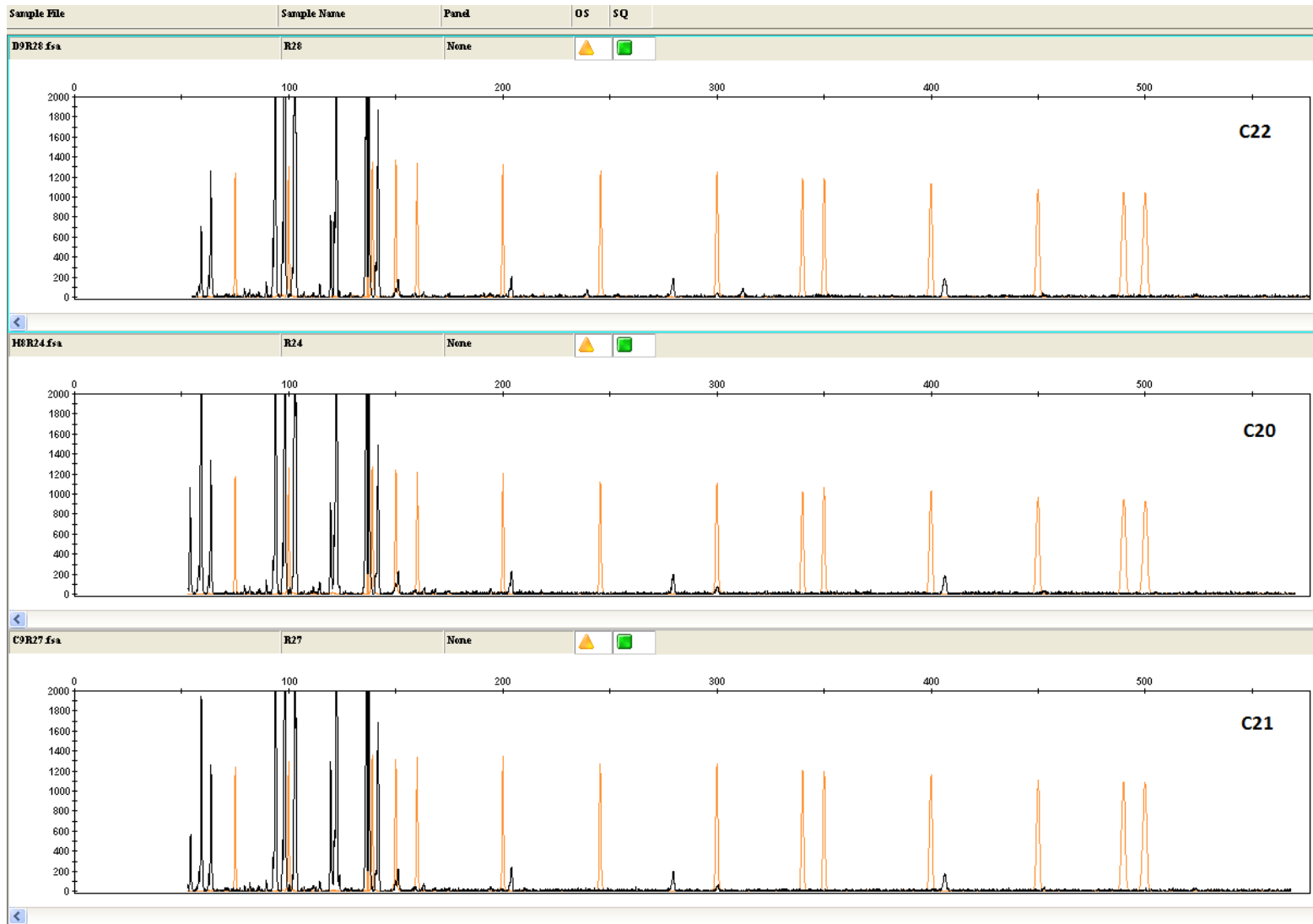


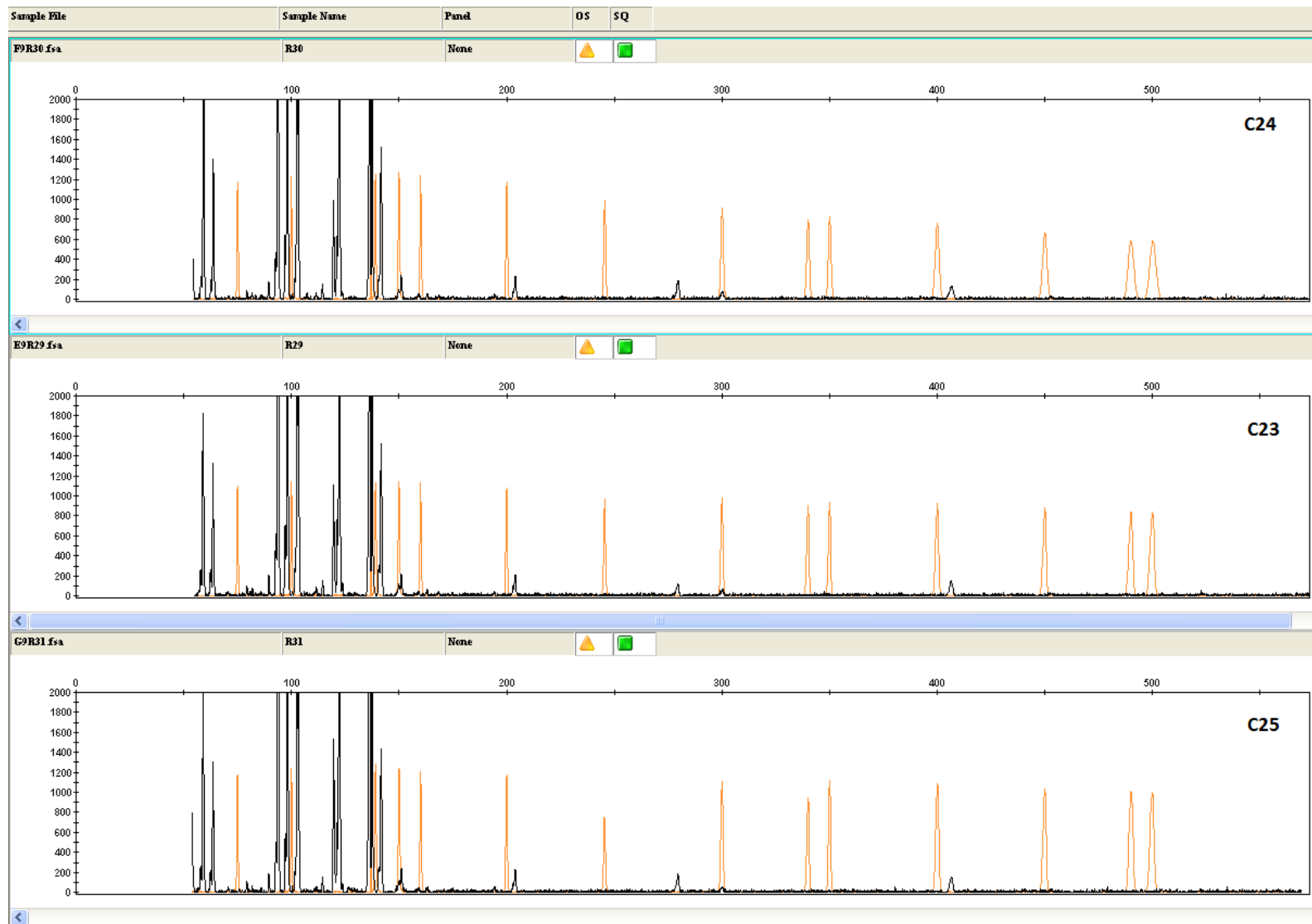


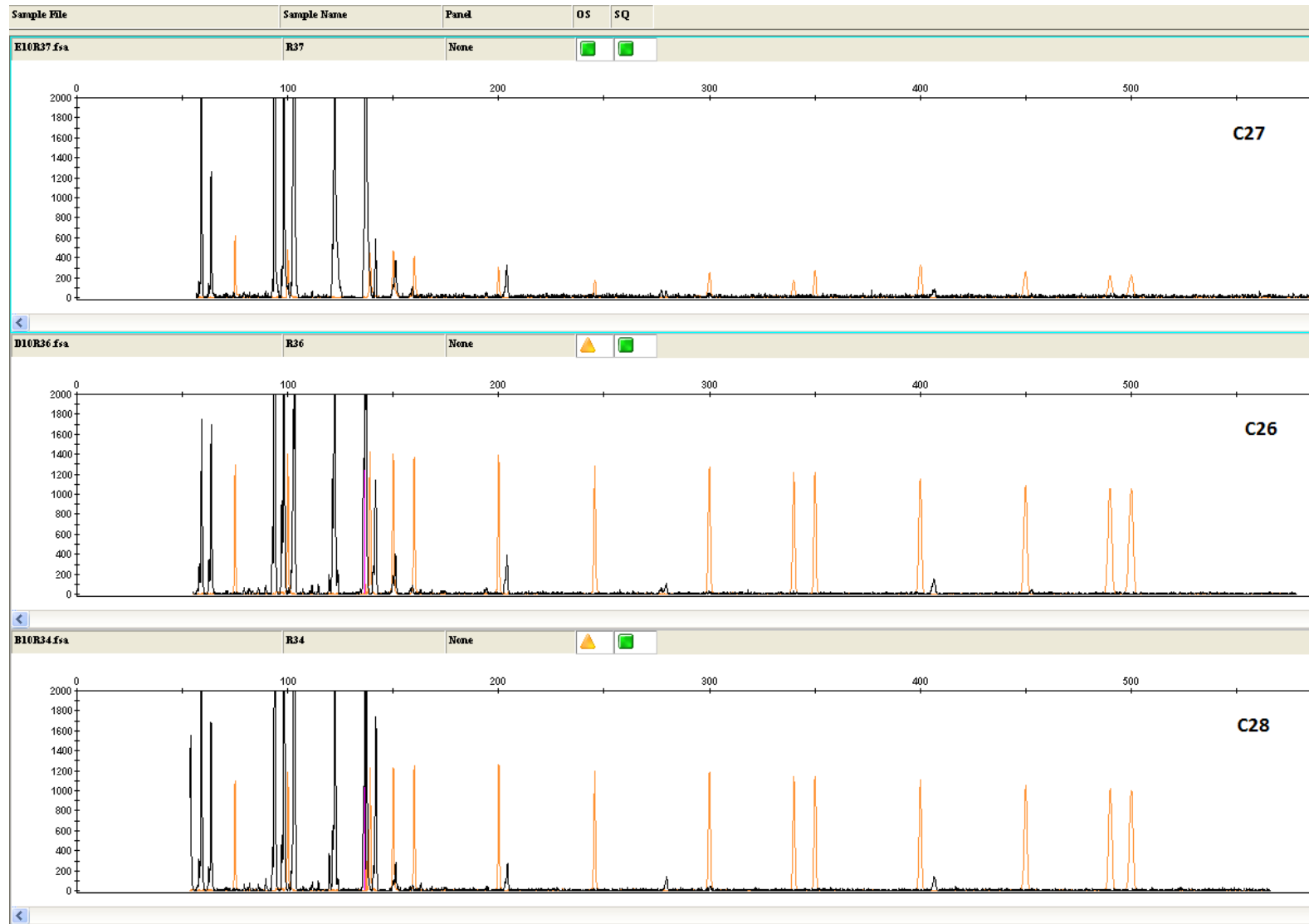


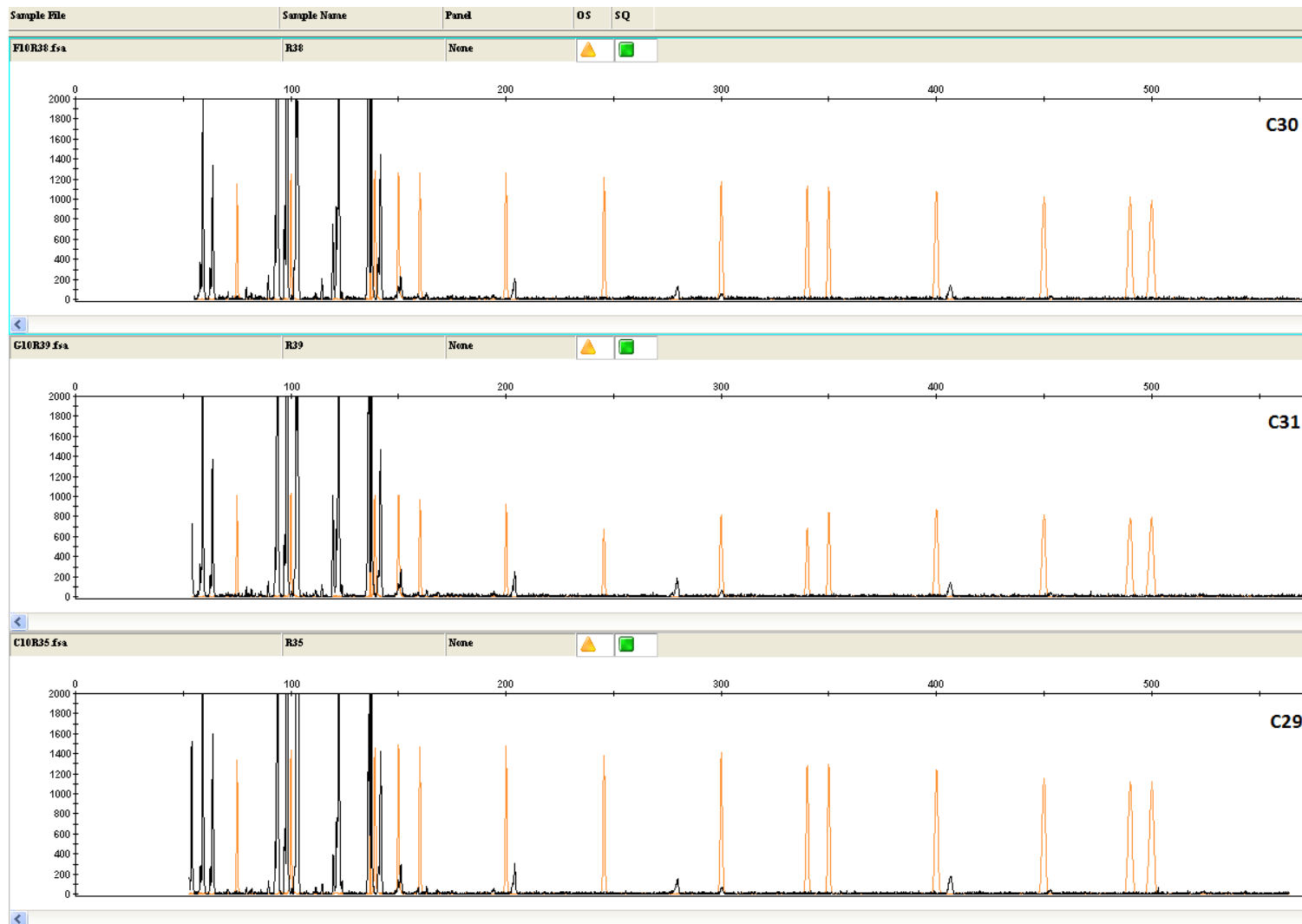




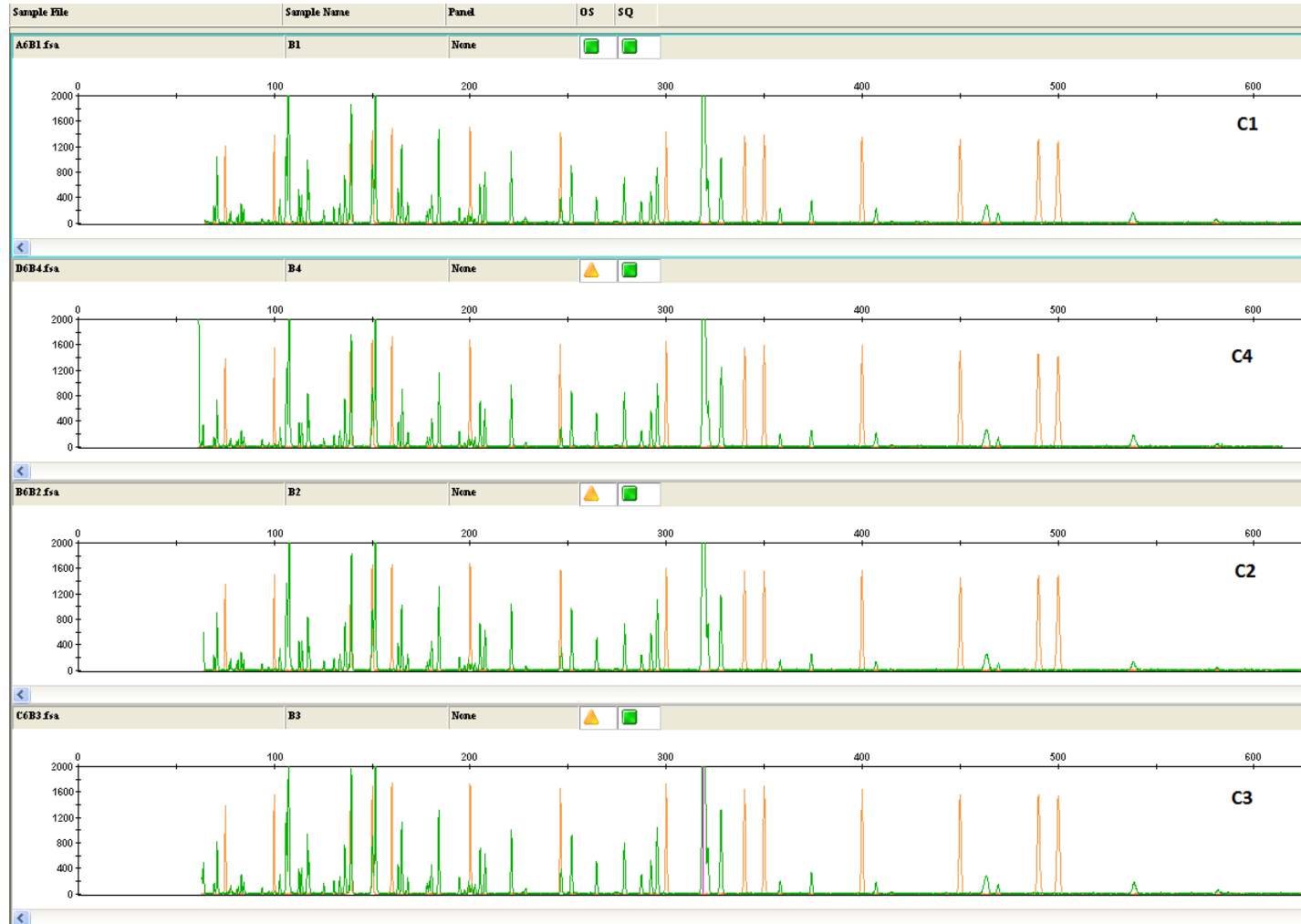


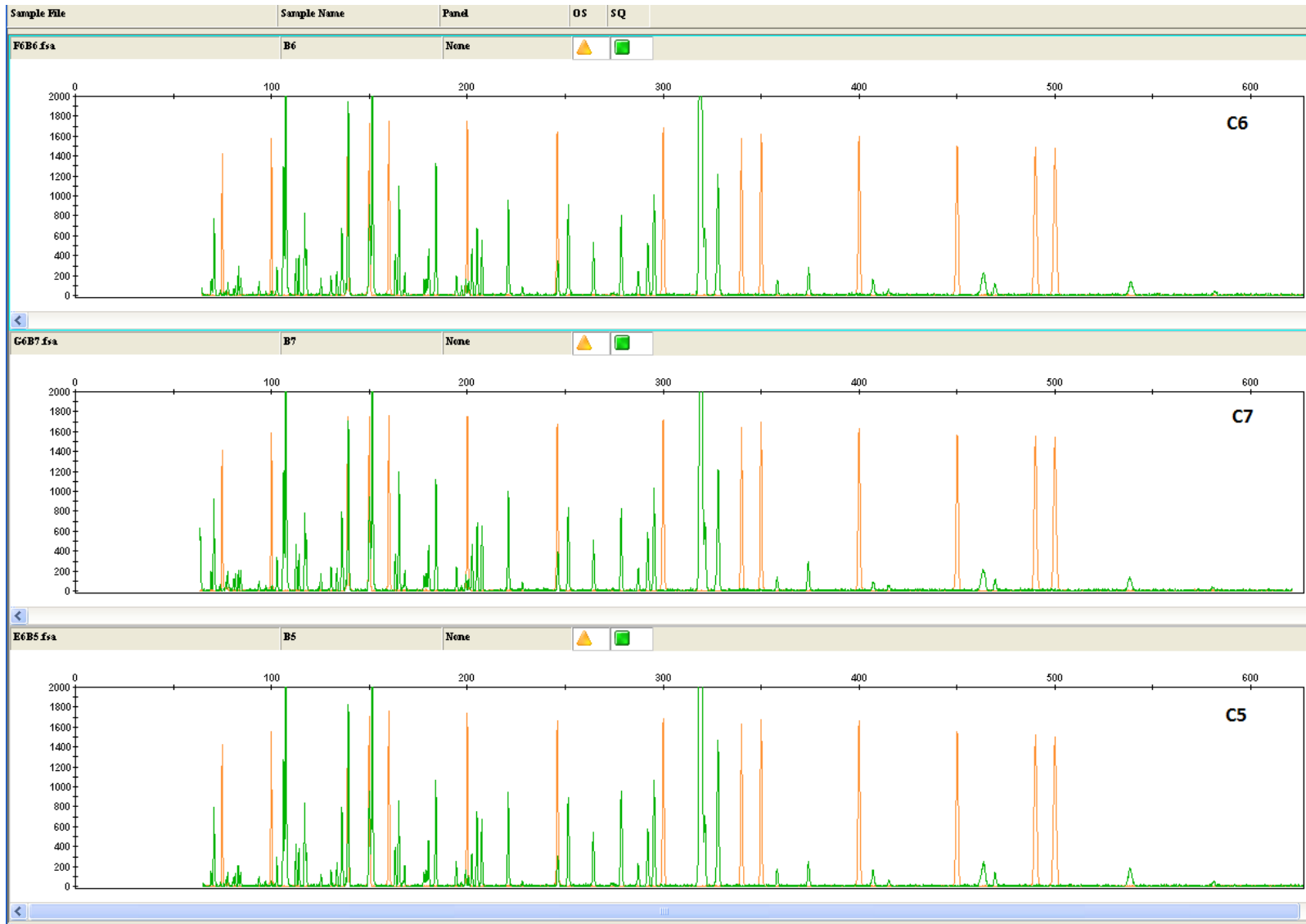


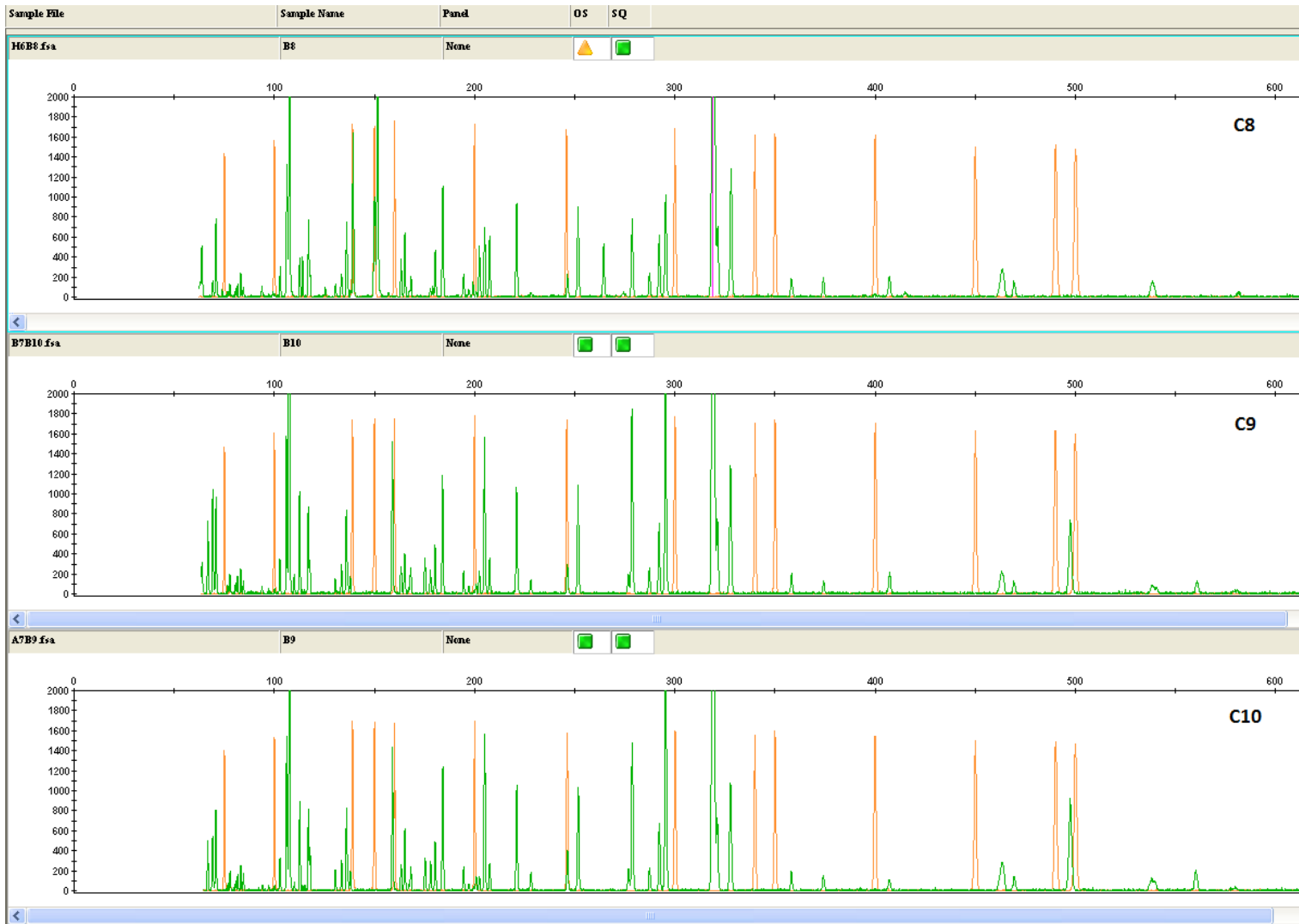


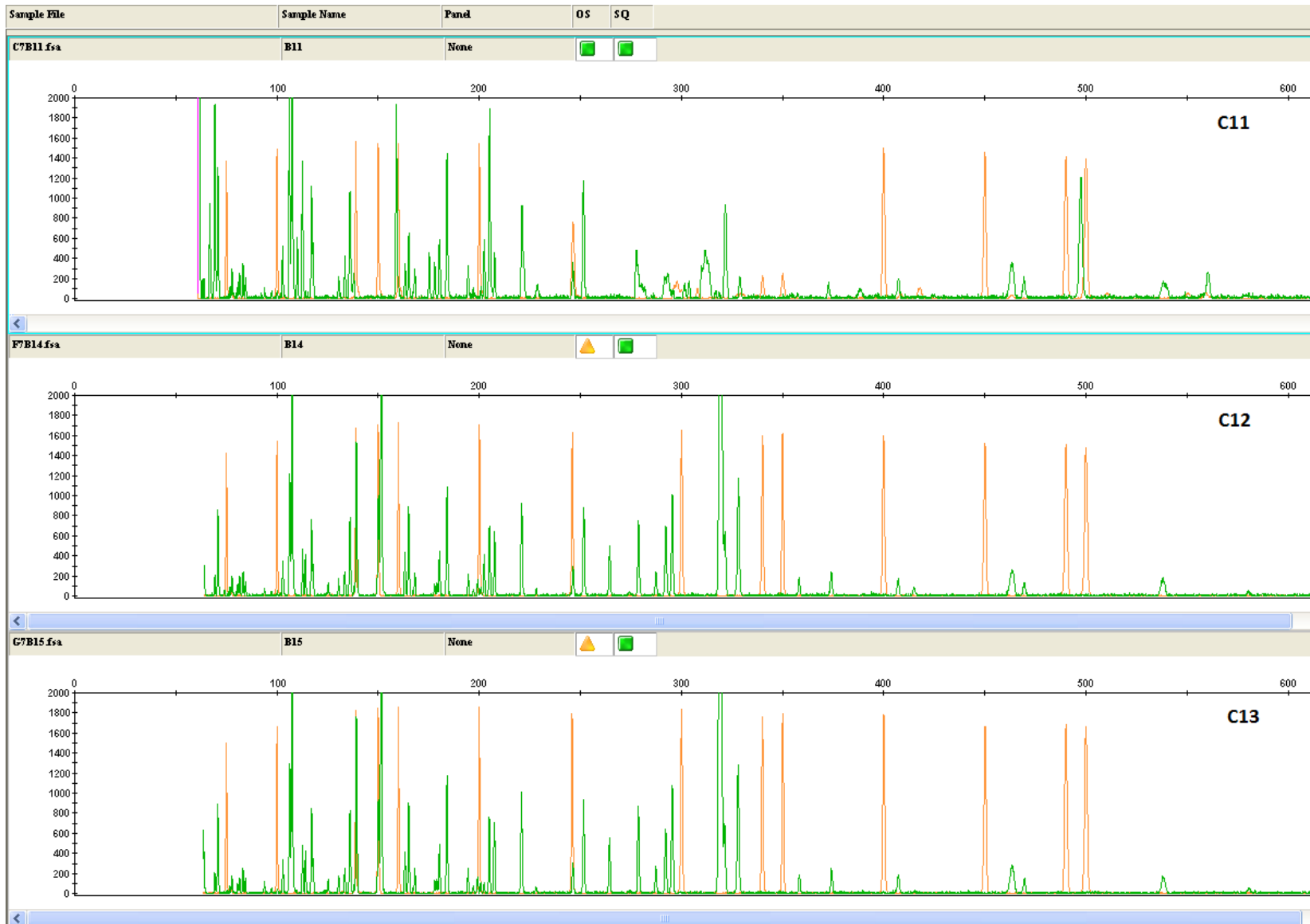


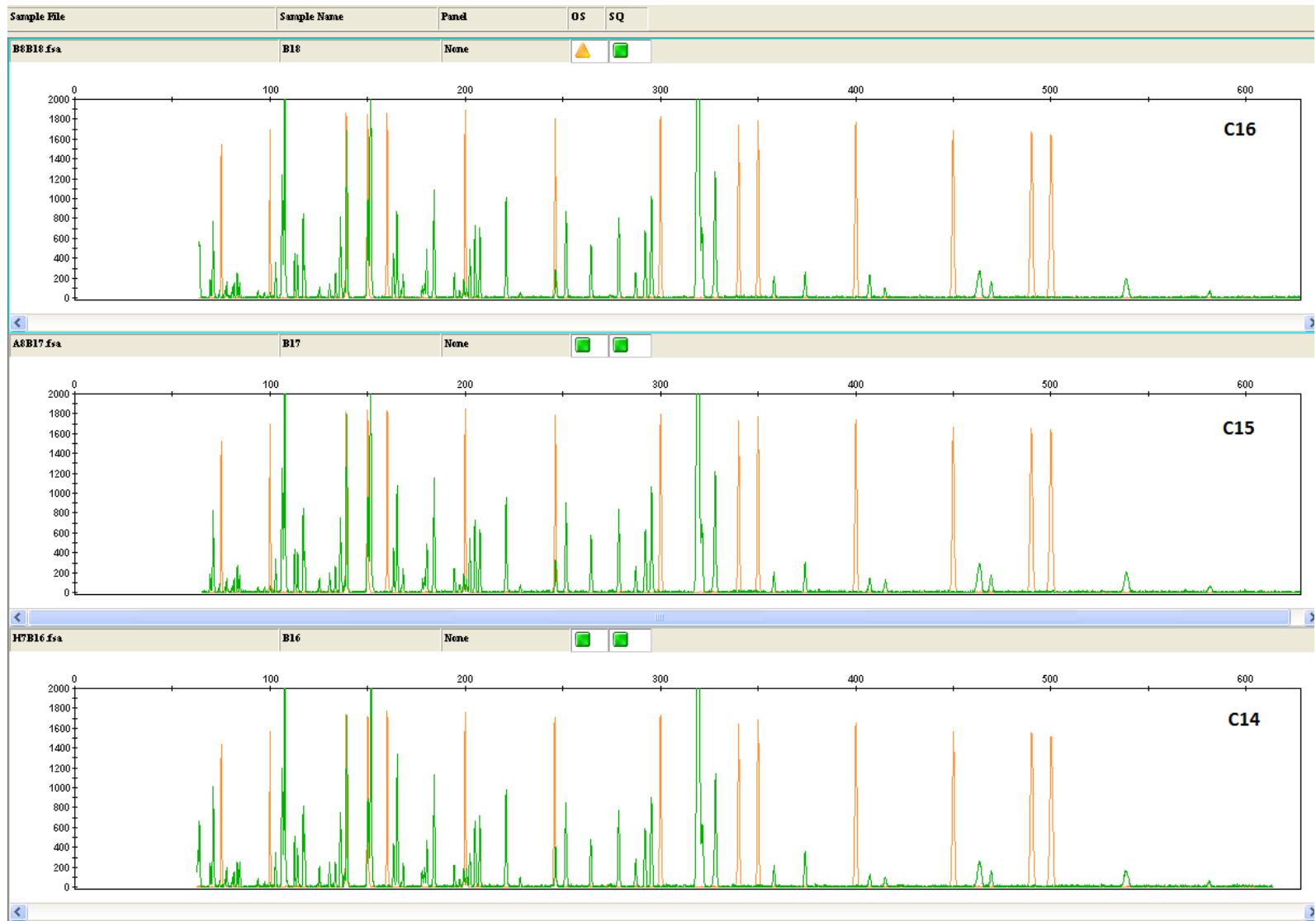
Εκκλινητής EcoRI – AAG – MseI – CAC

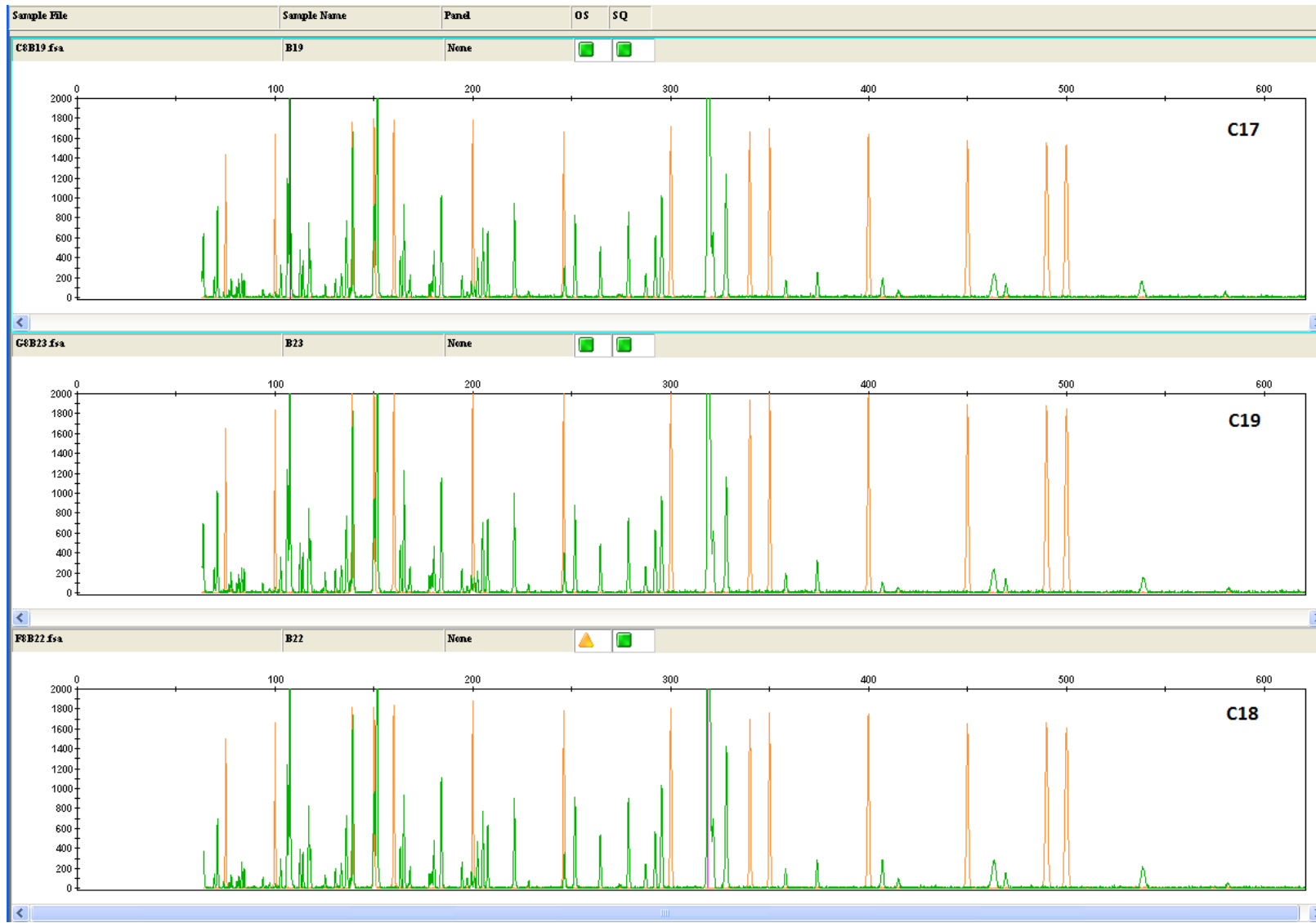


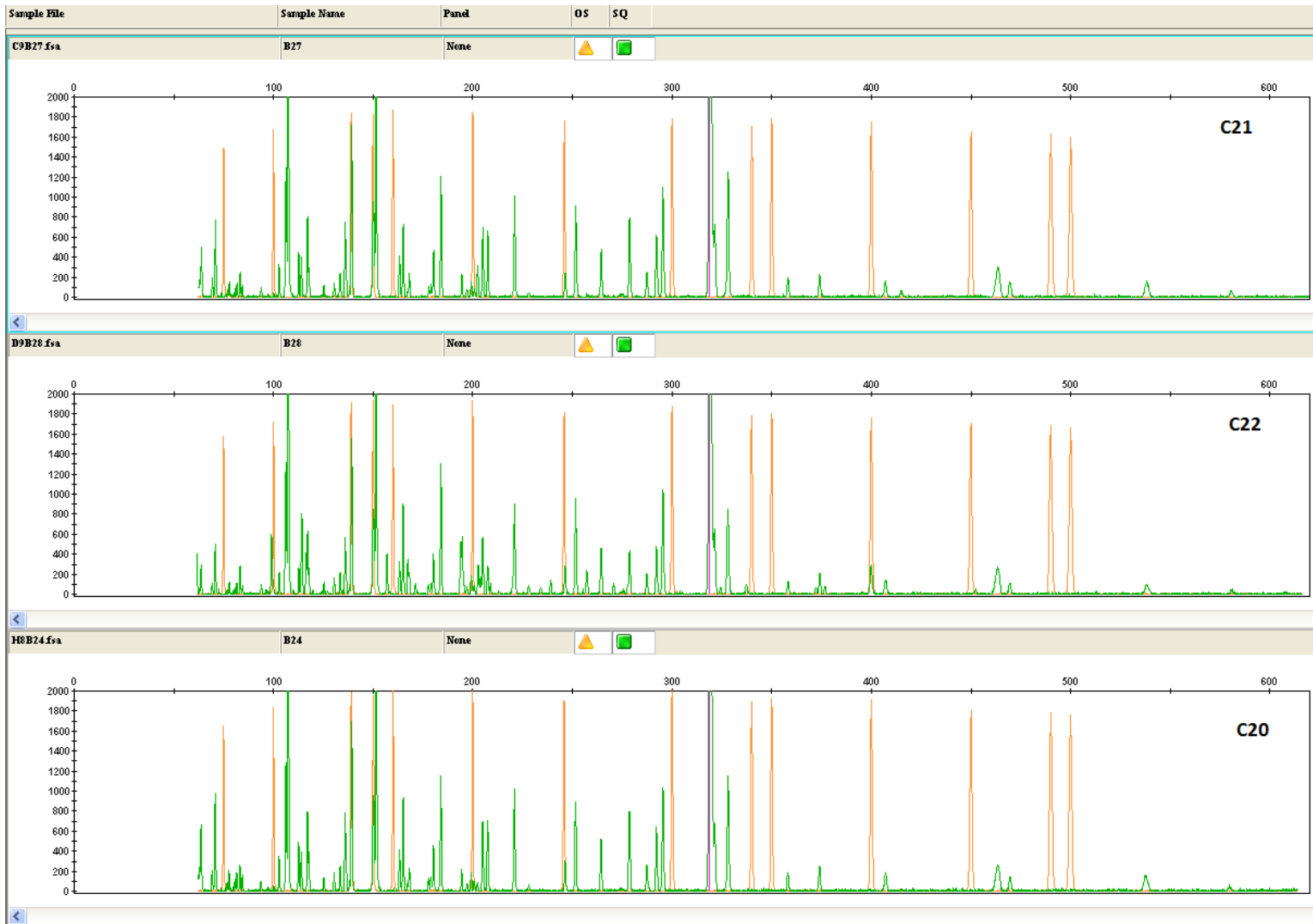


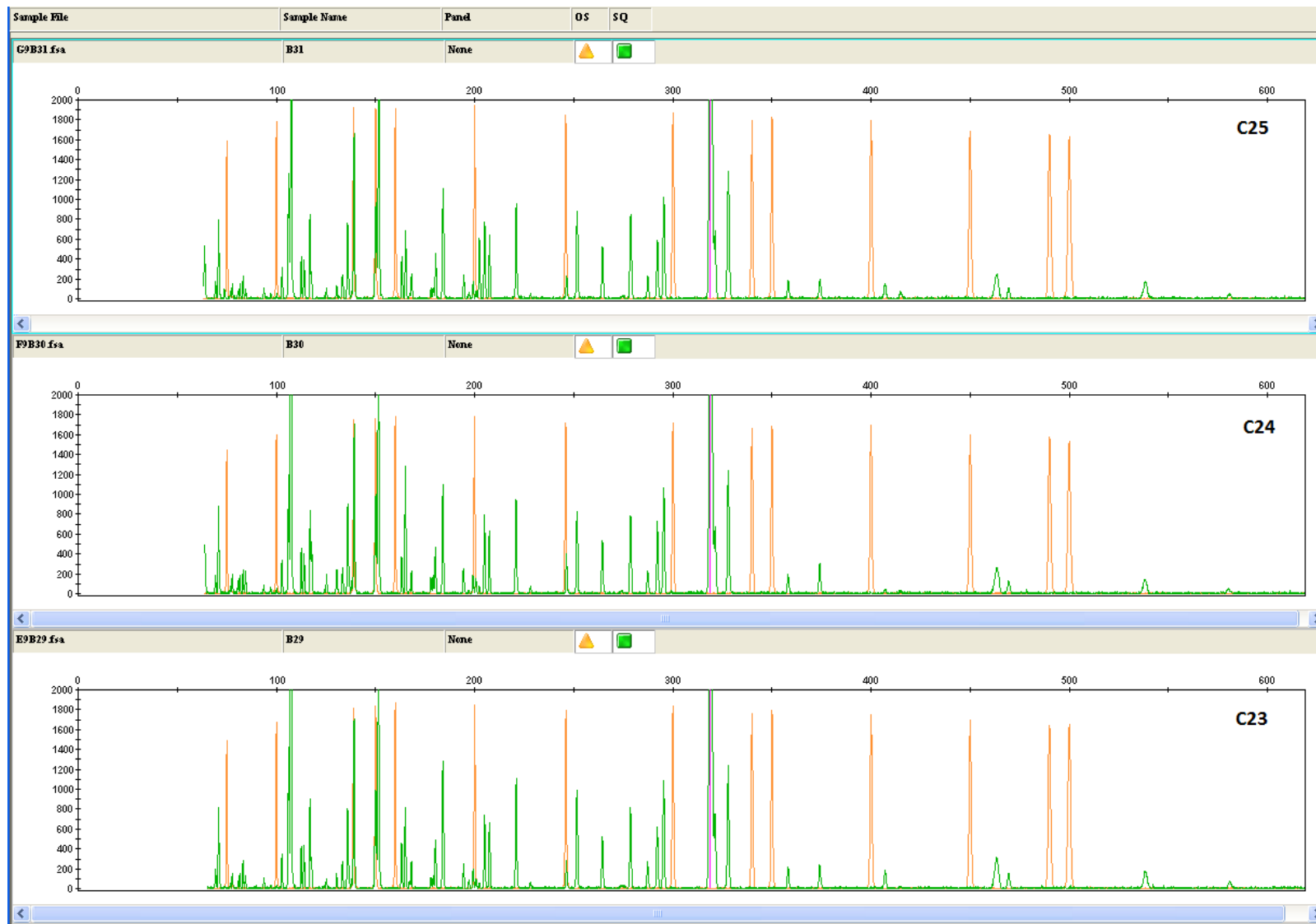


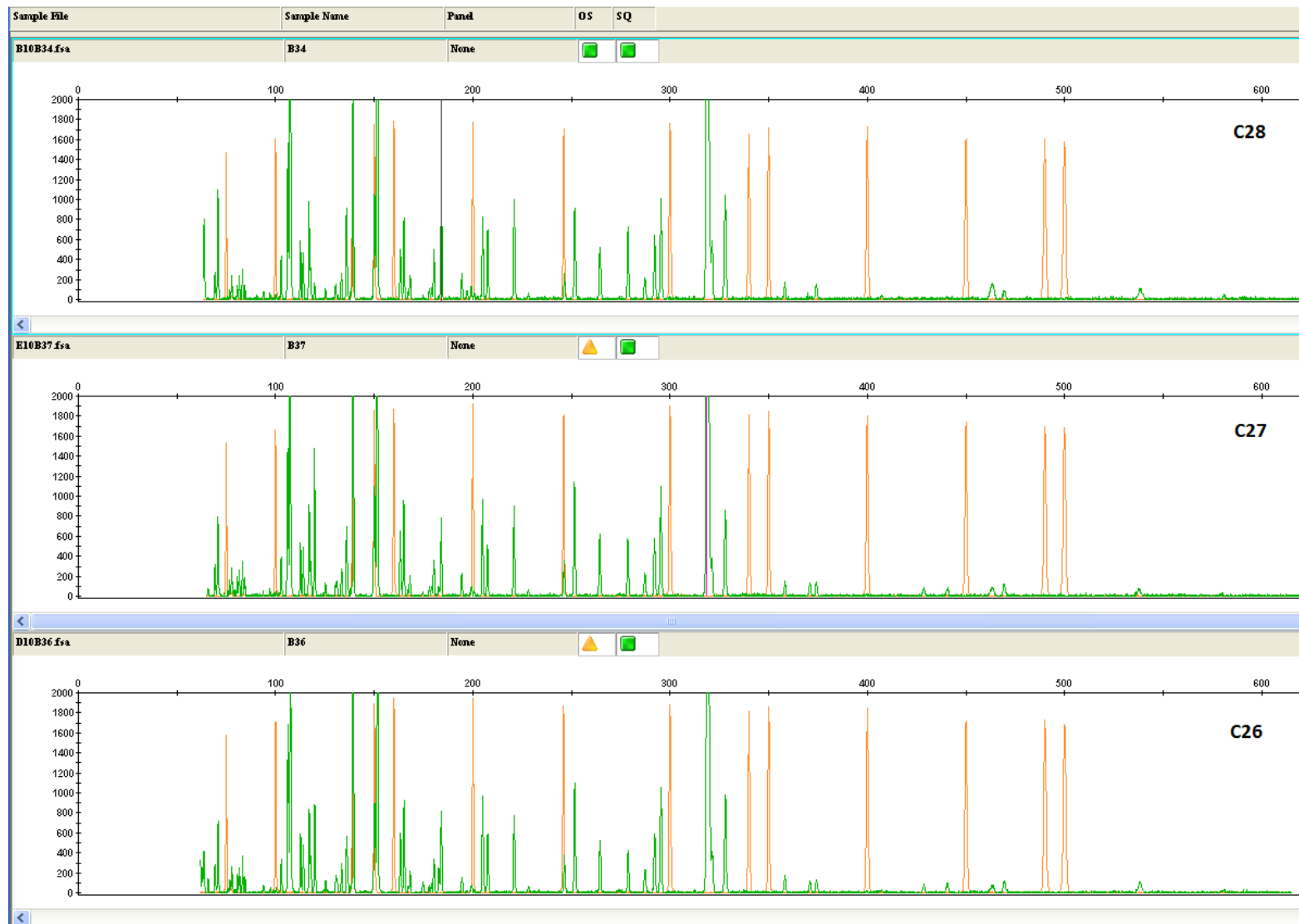


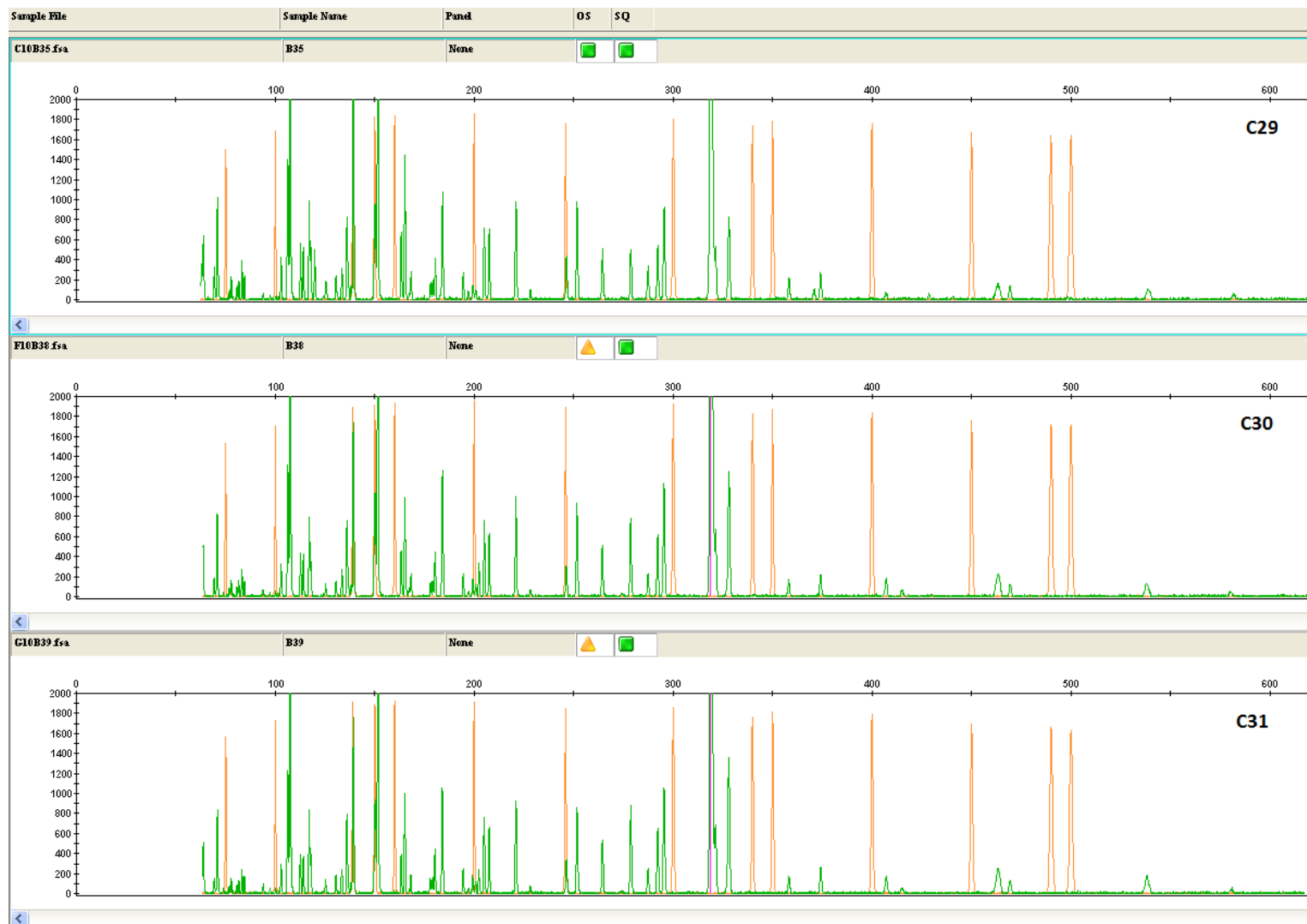




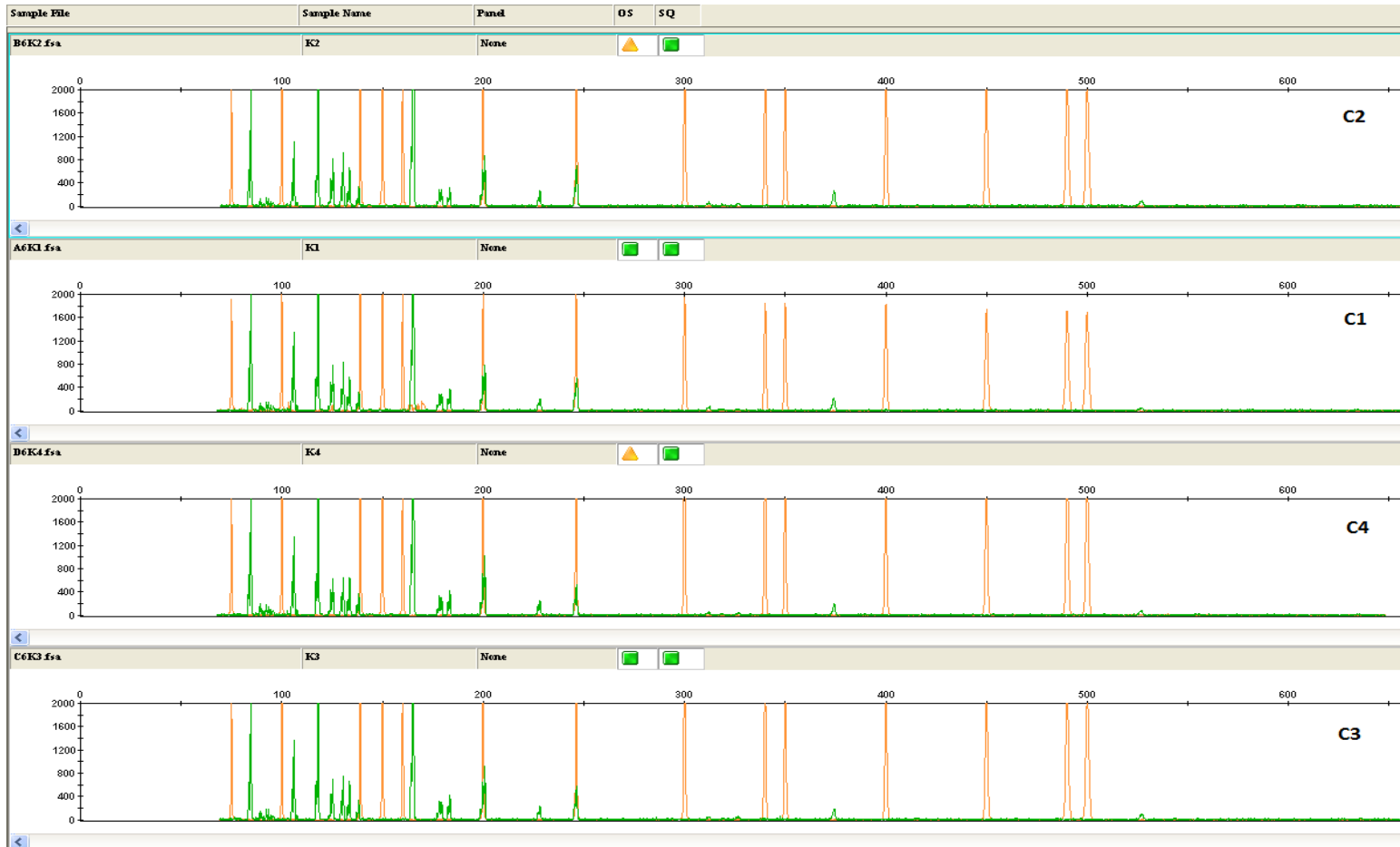


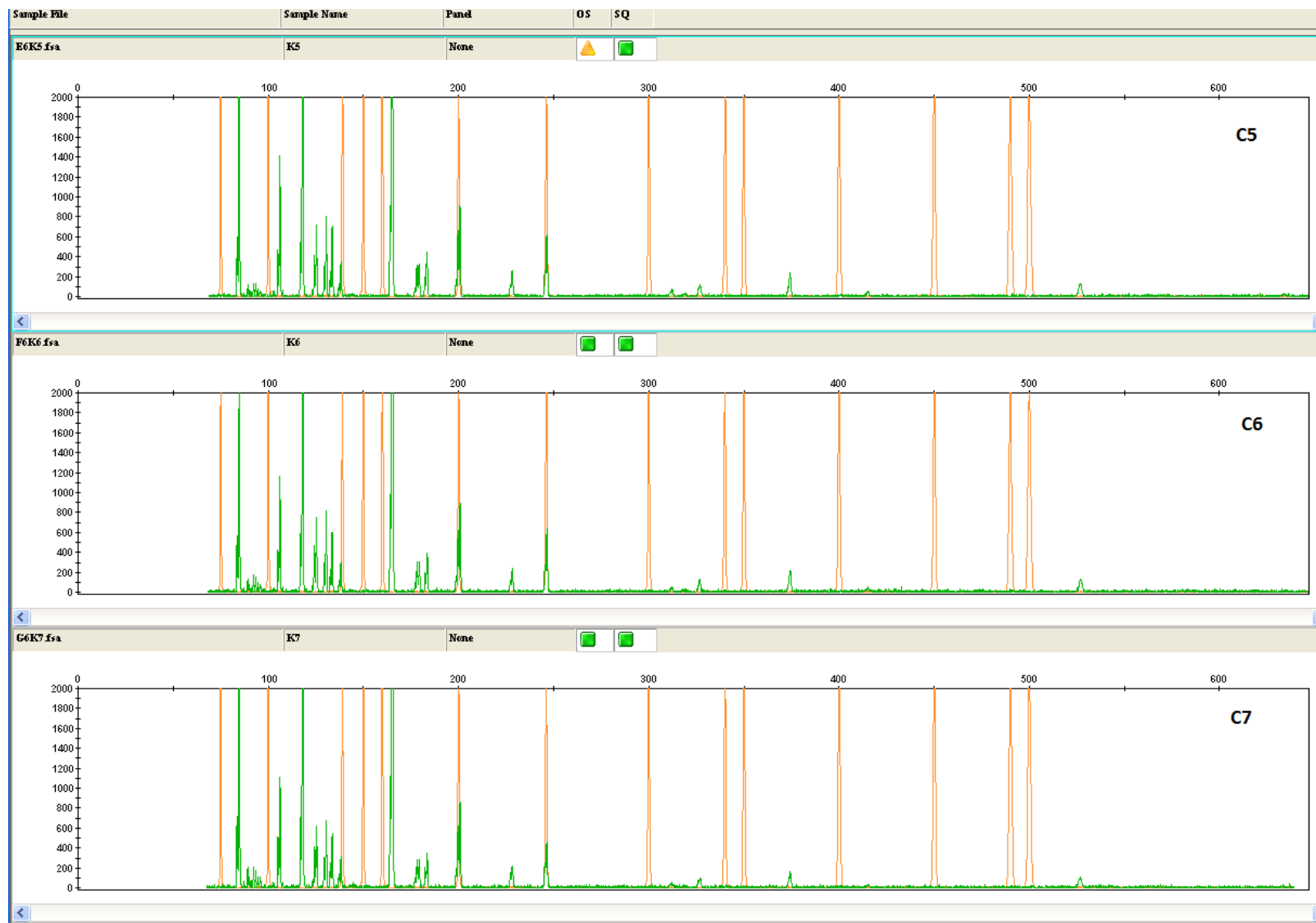


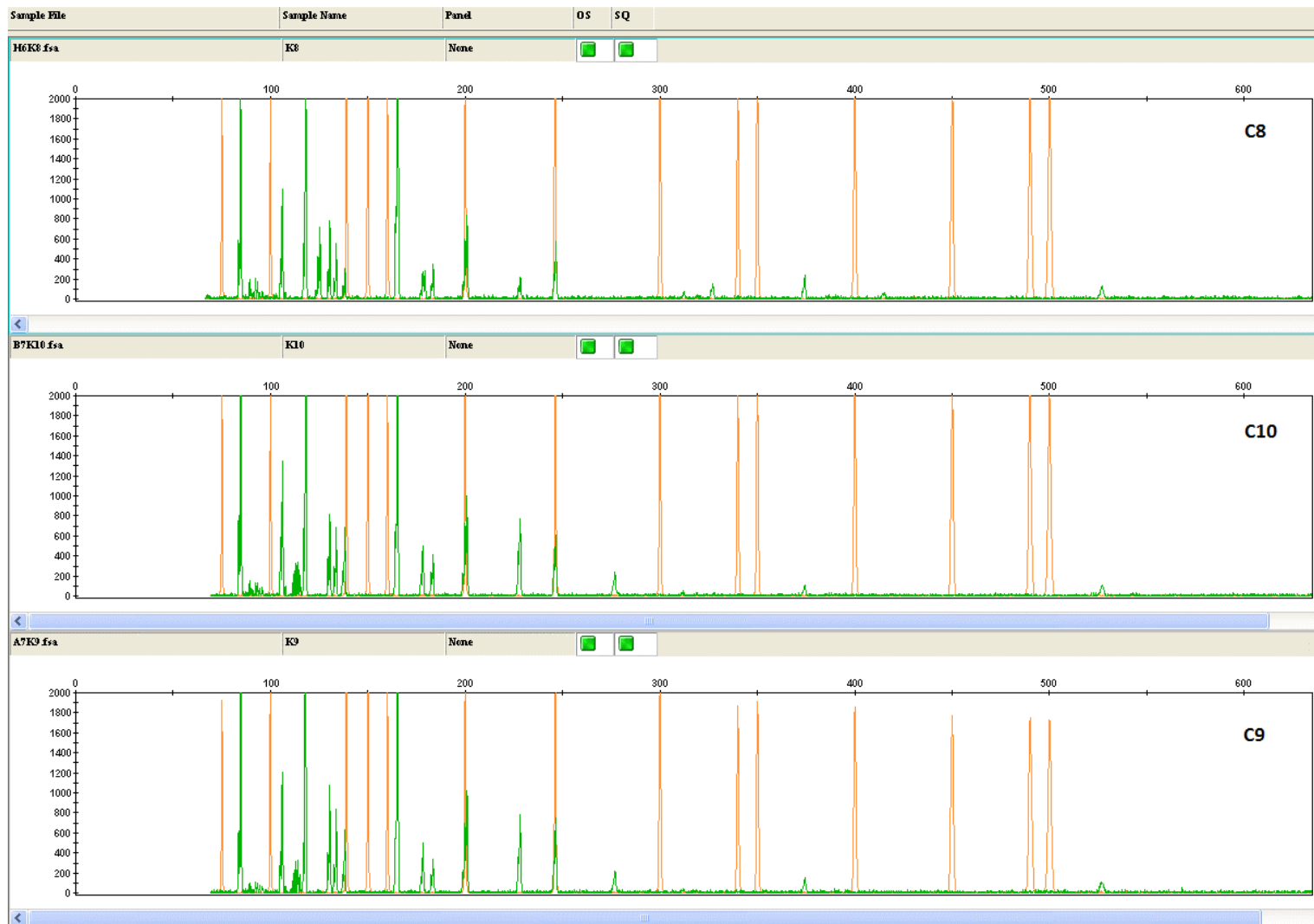


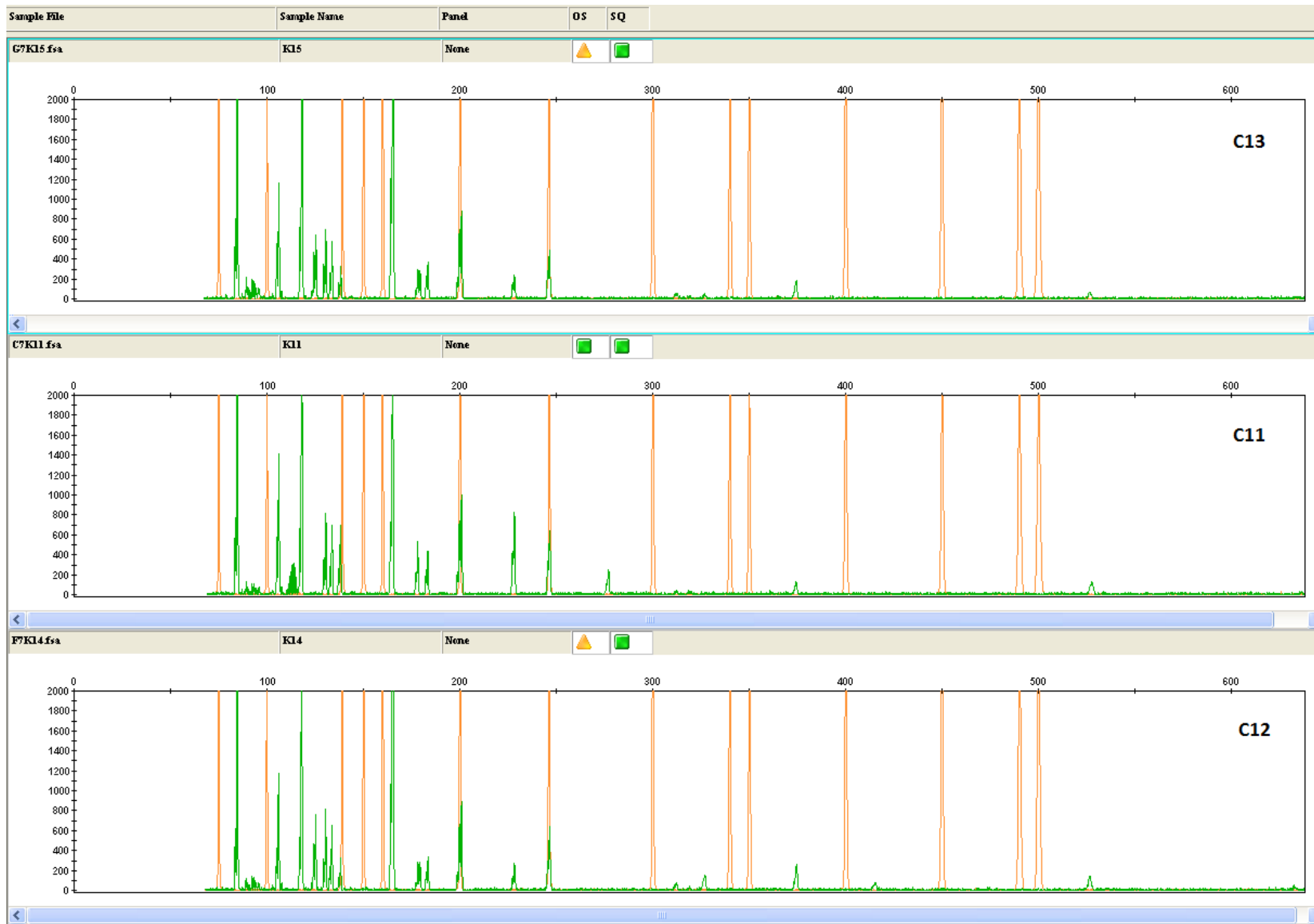


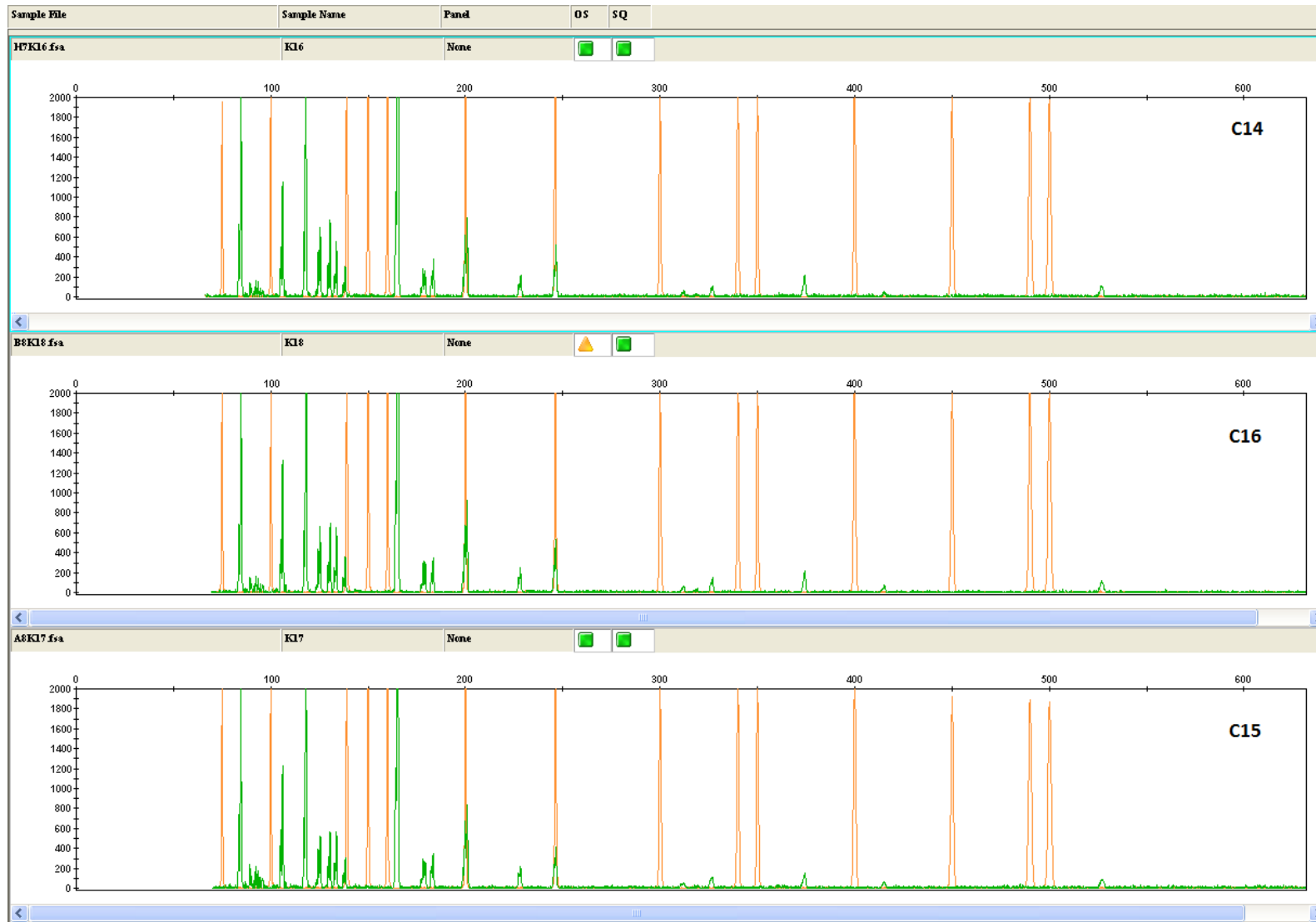
Εκκλινητής EcoRI – AGG – MseI – CAC

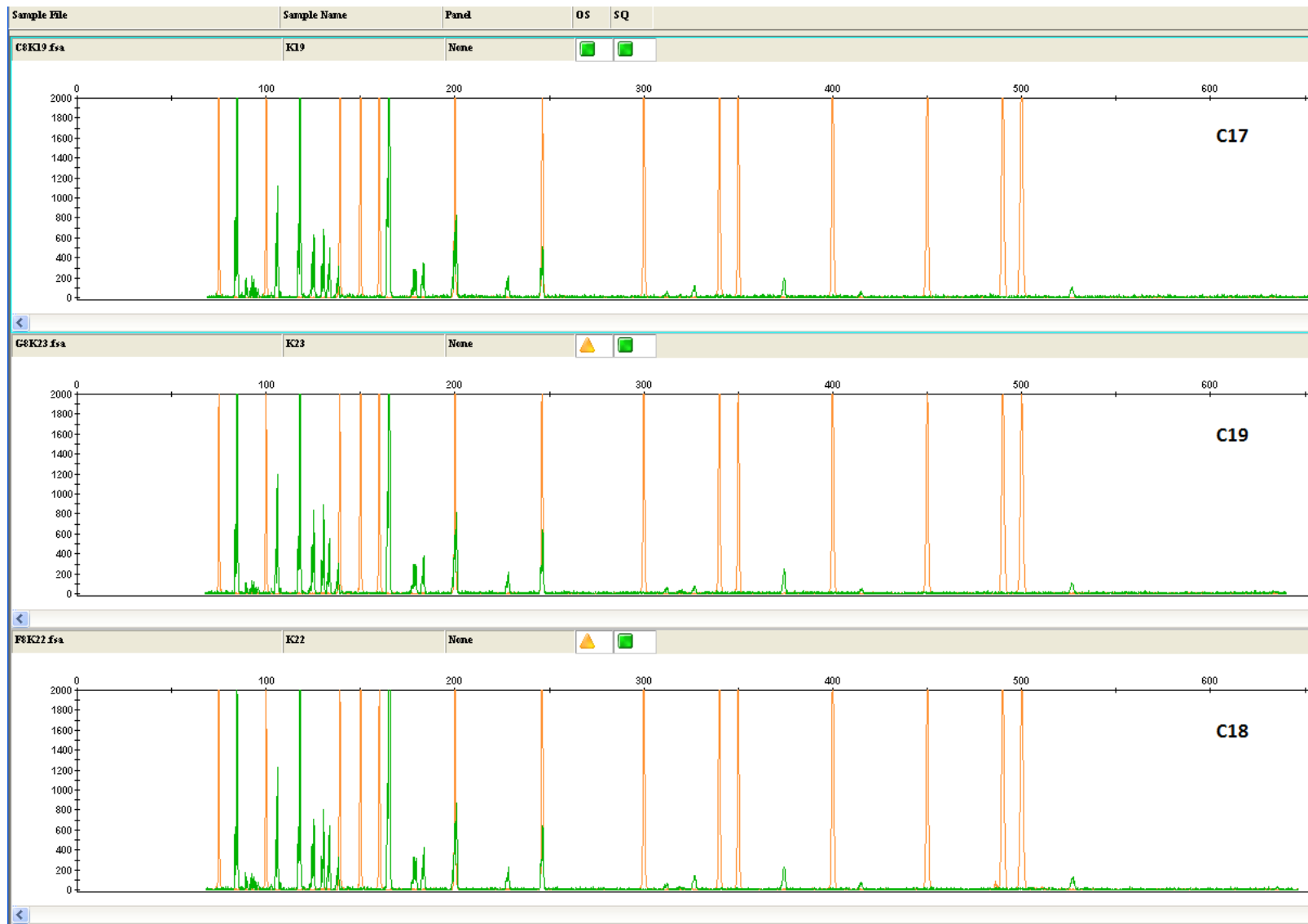


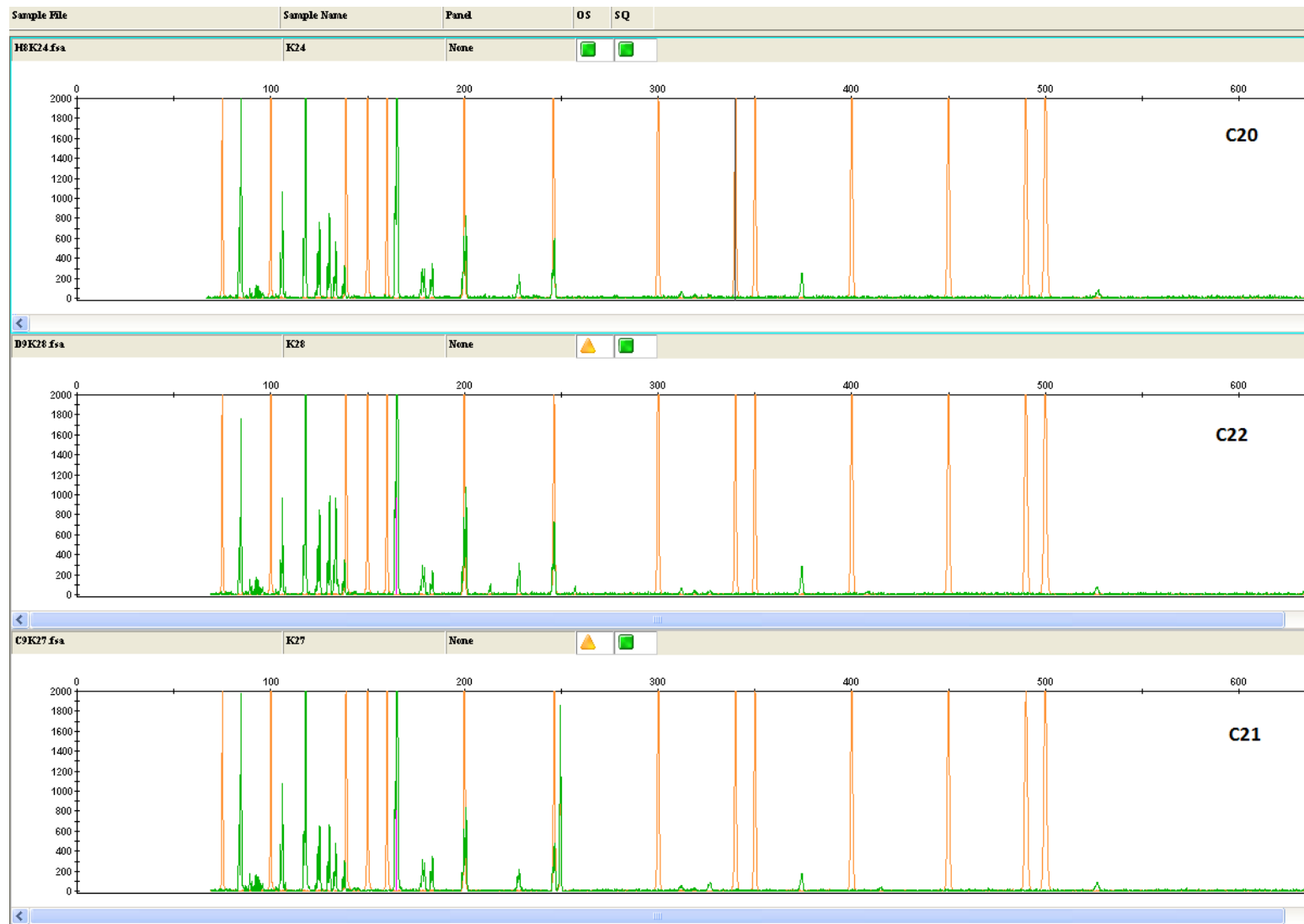


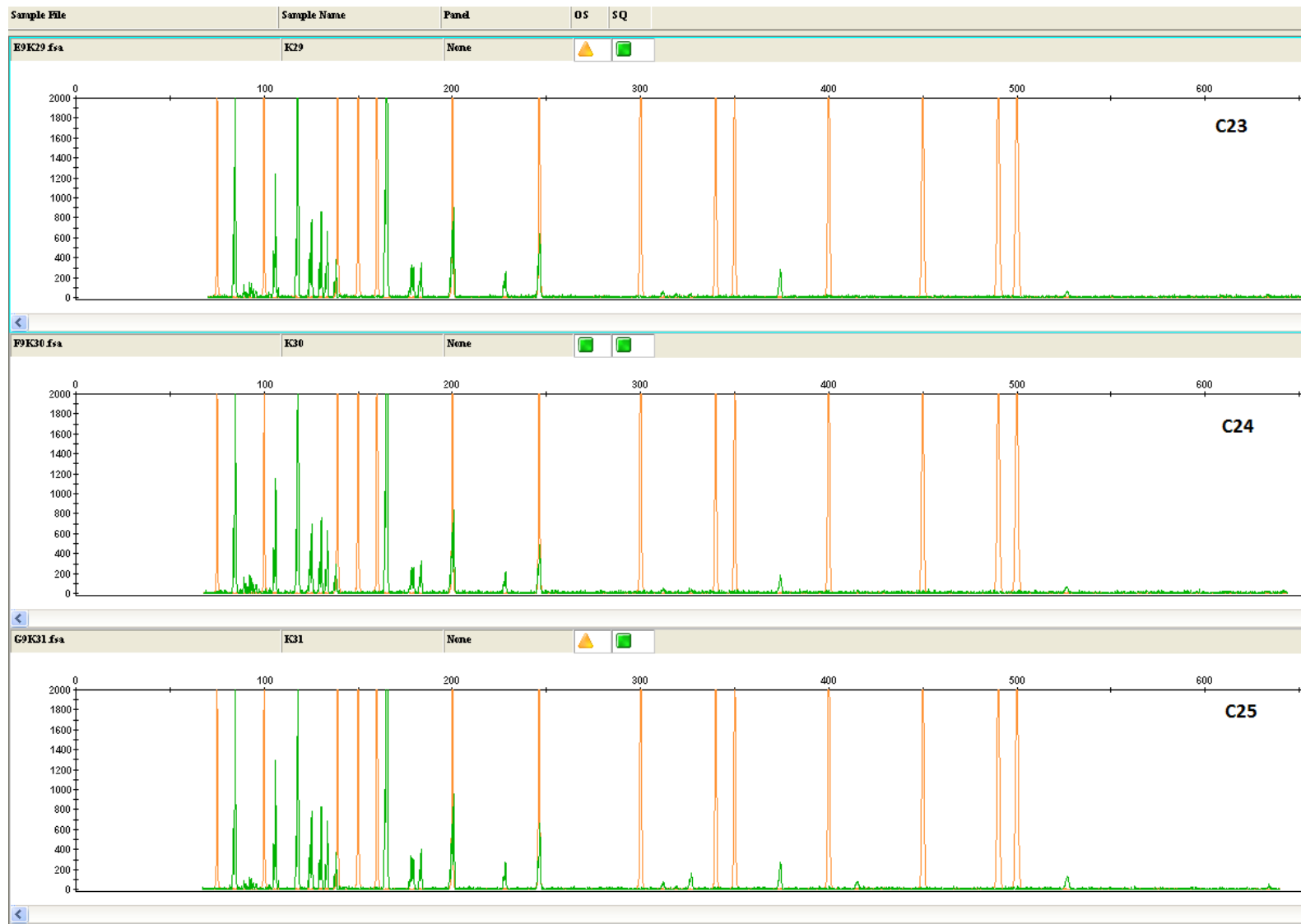


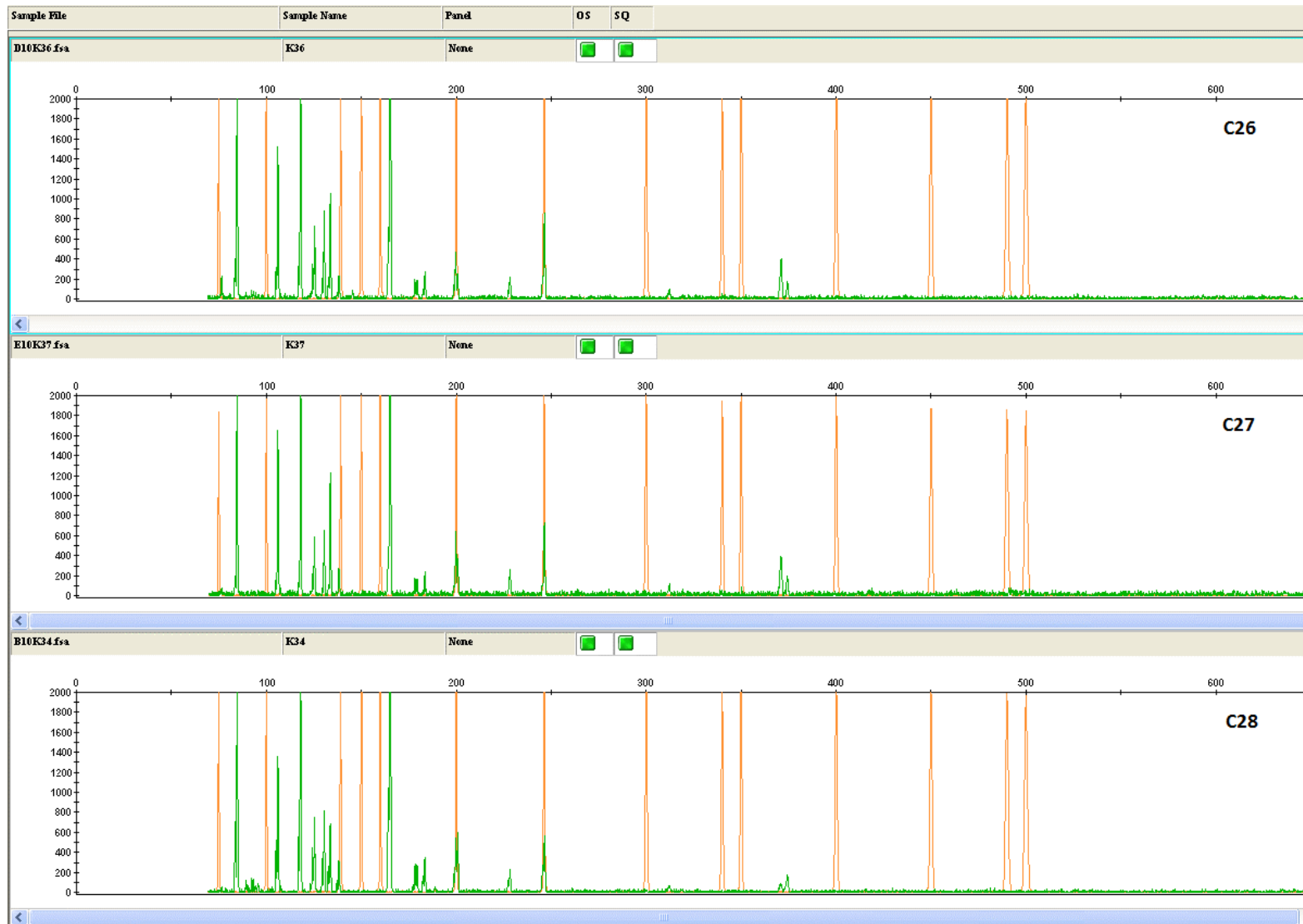


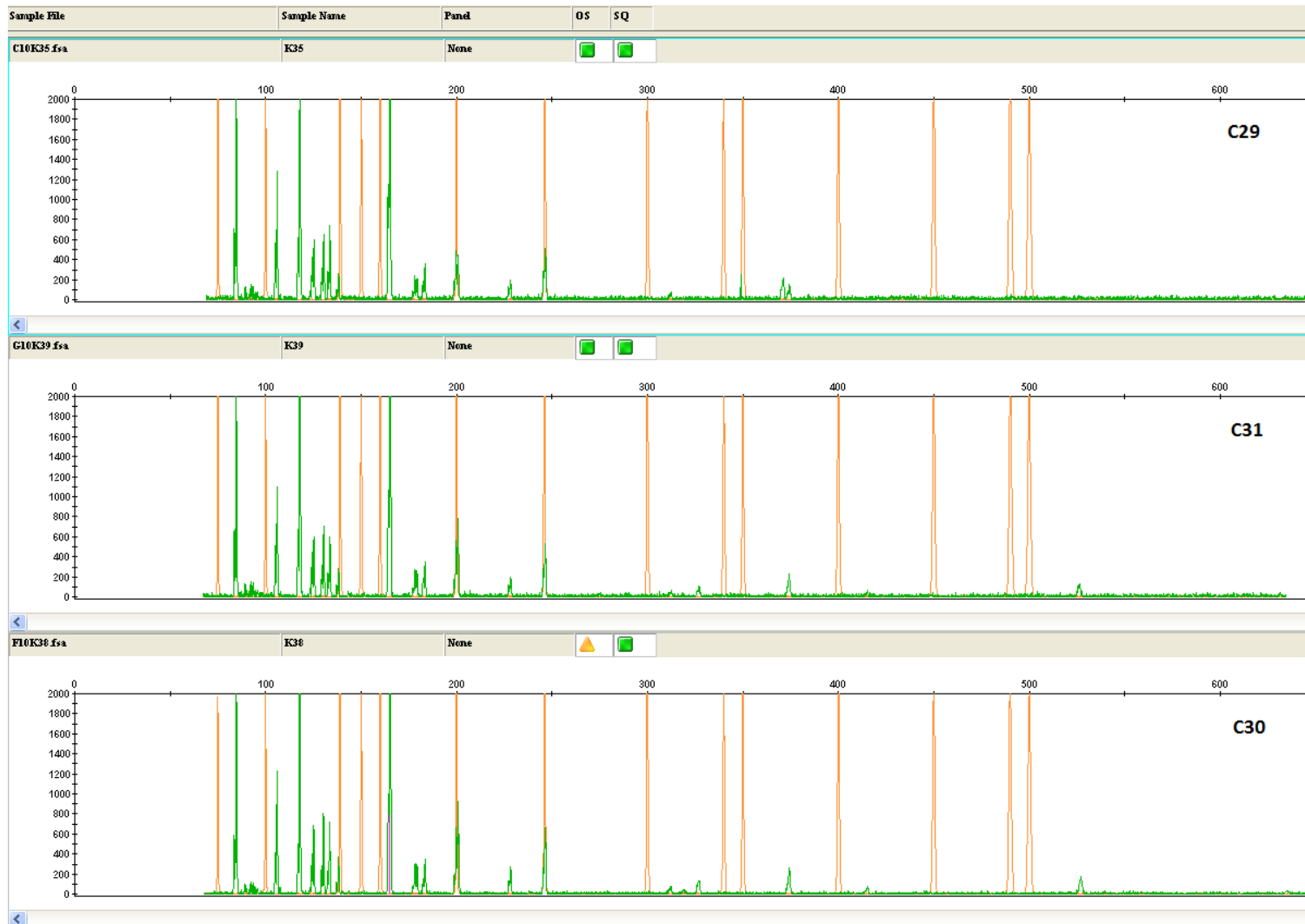




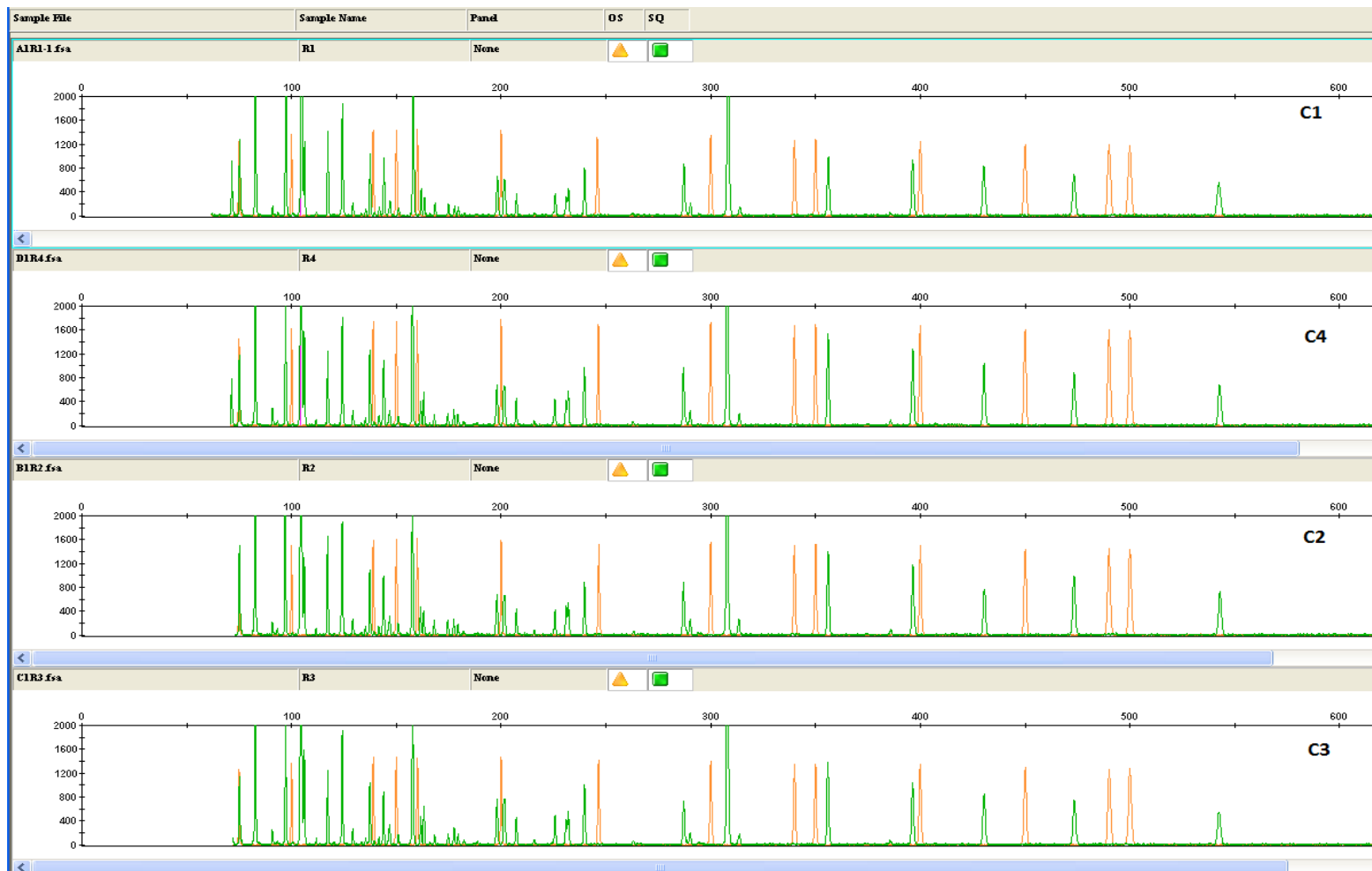


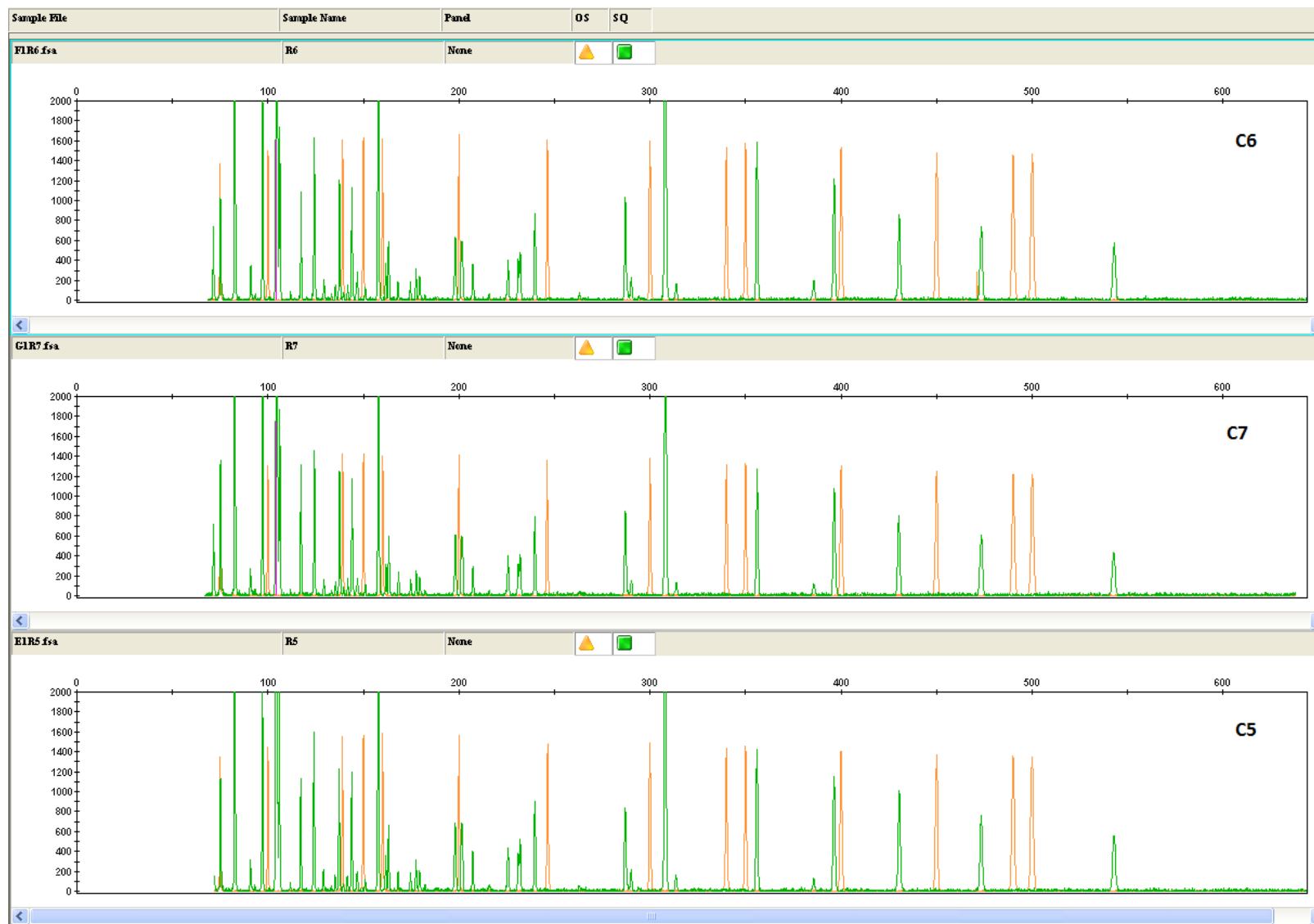


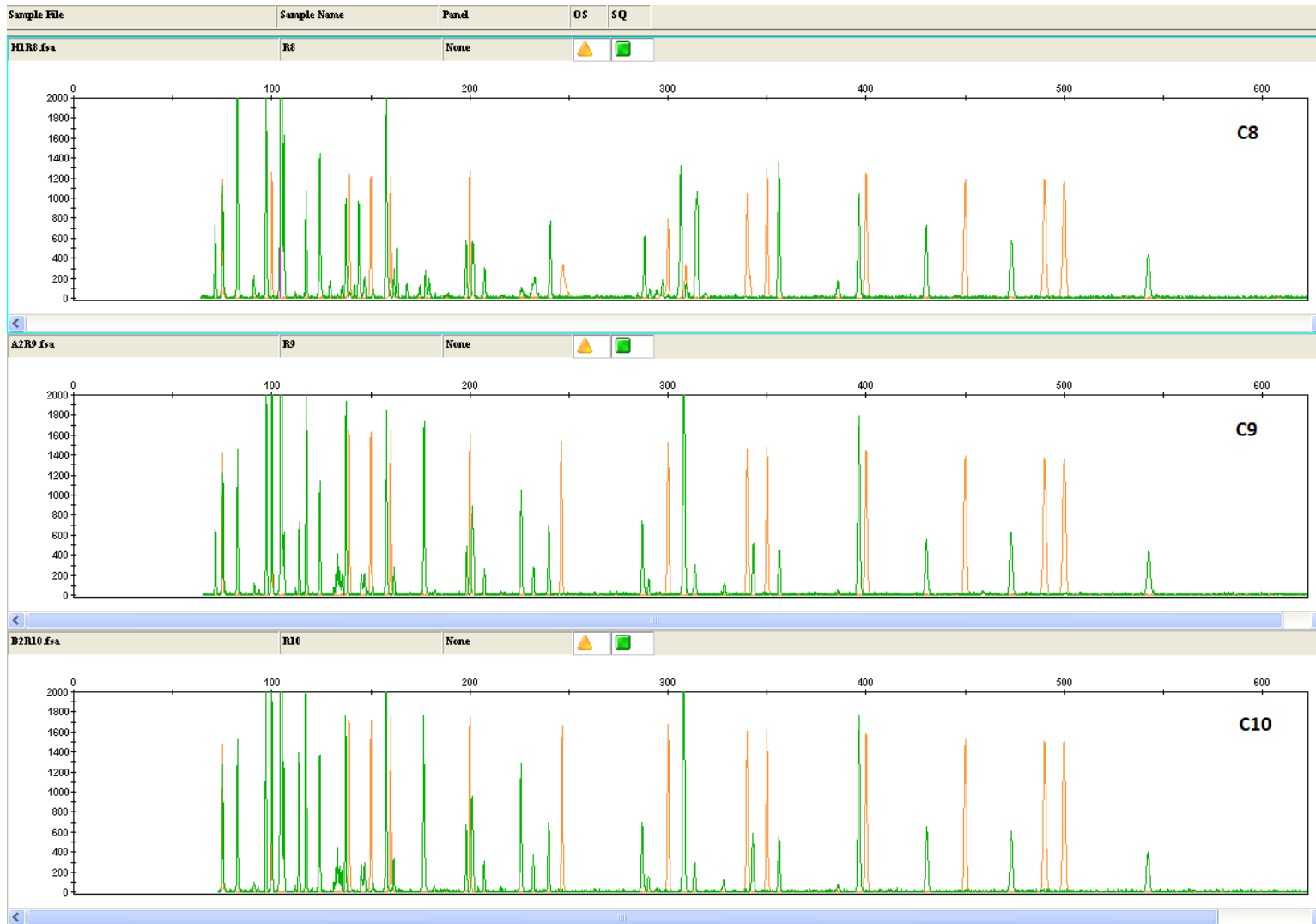


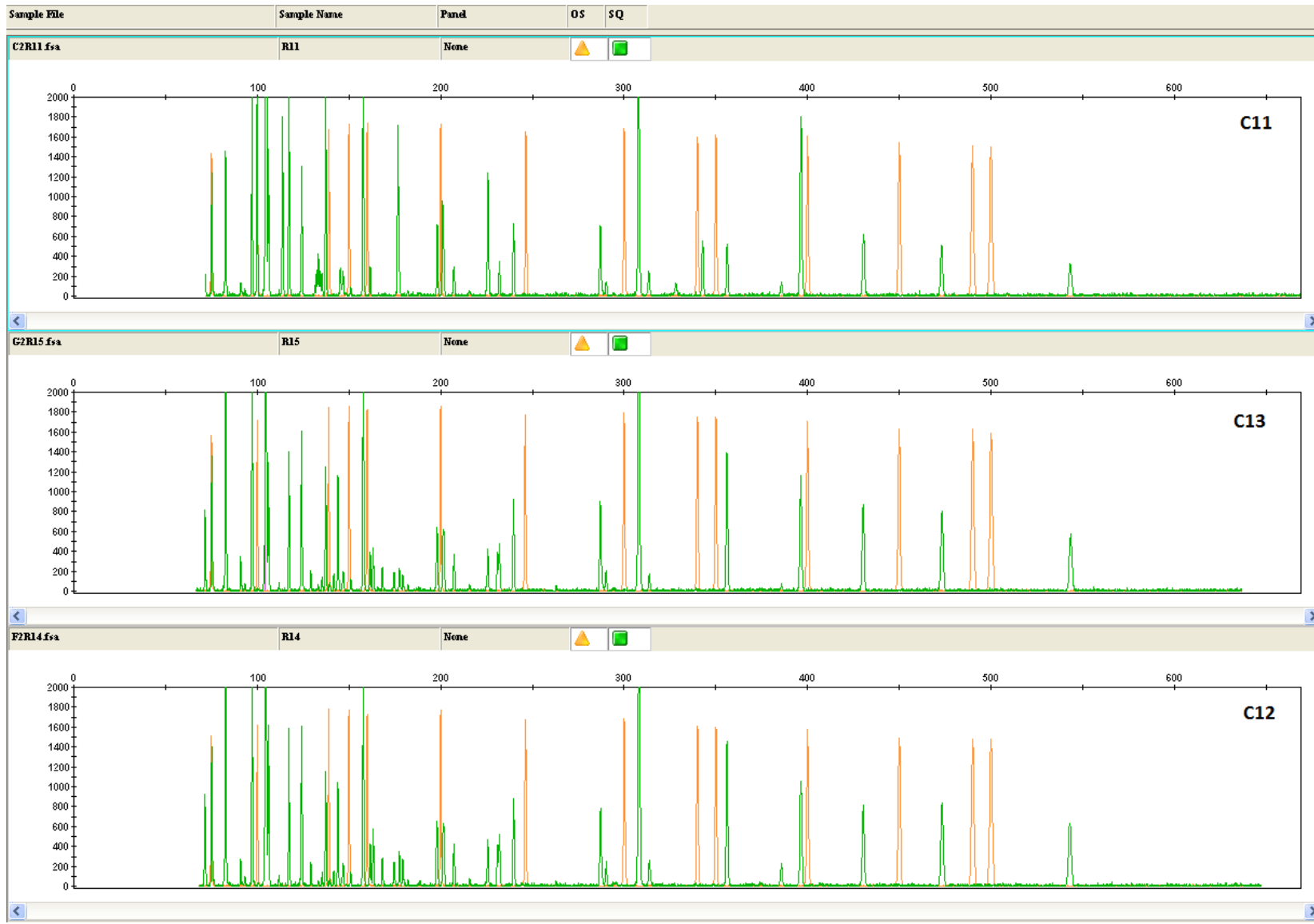


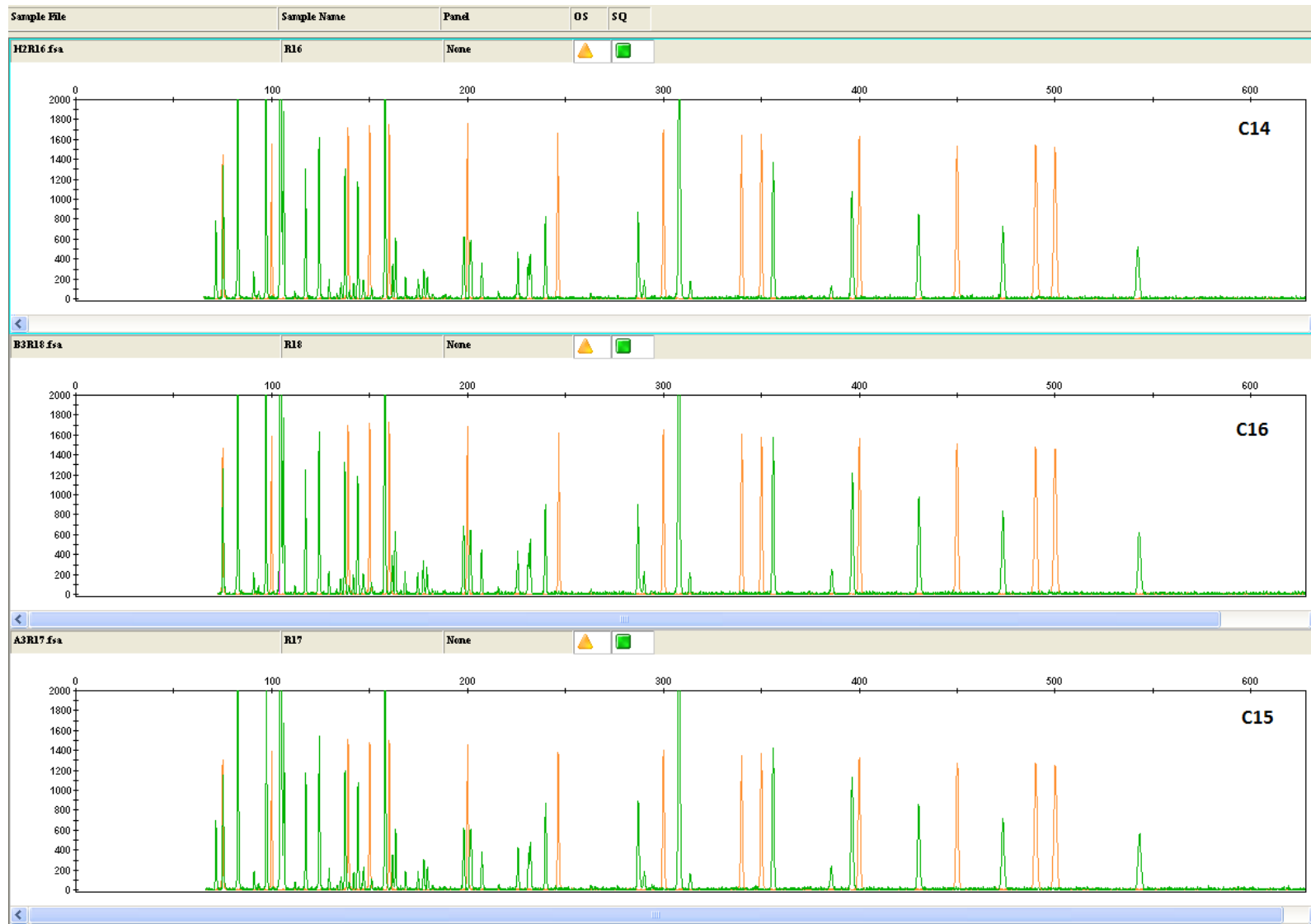
Εκκλινητής EcoRI – AGG – MseI – CAT

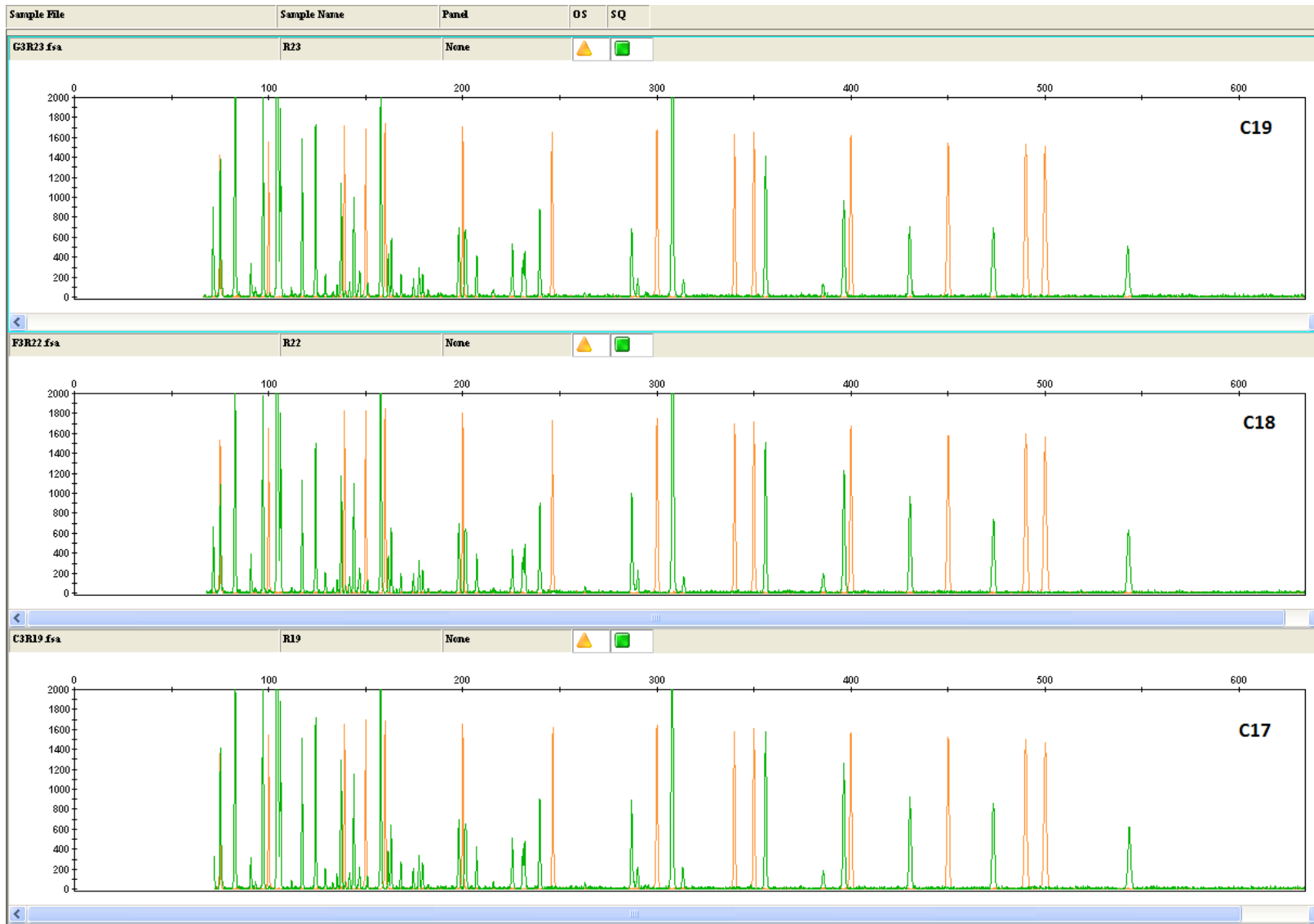


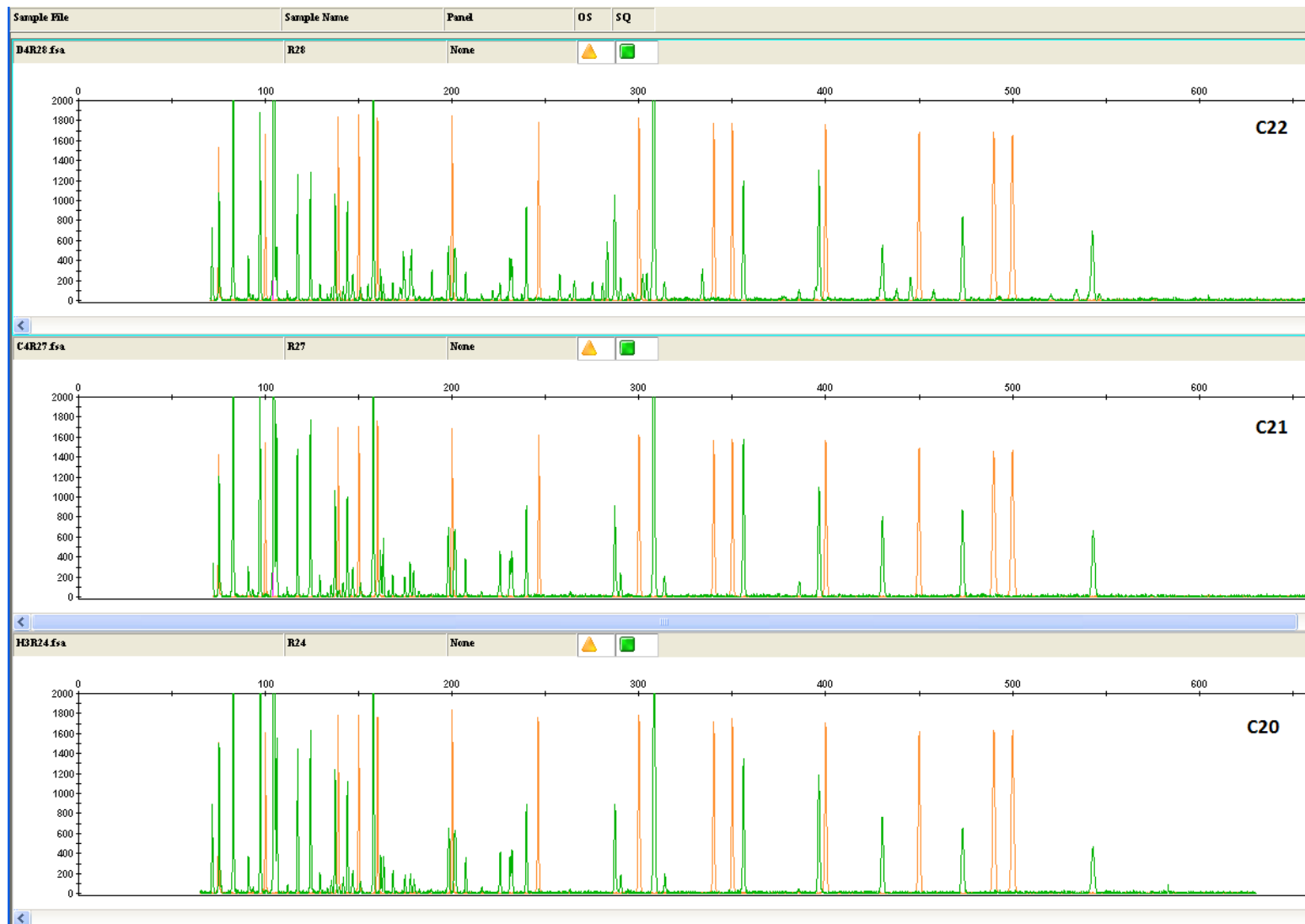


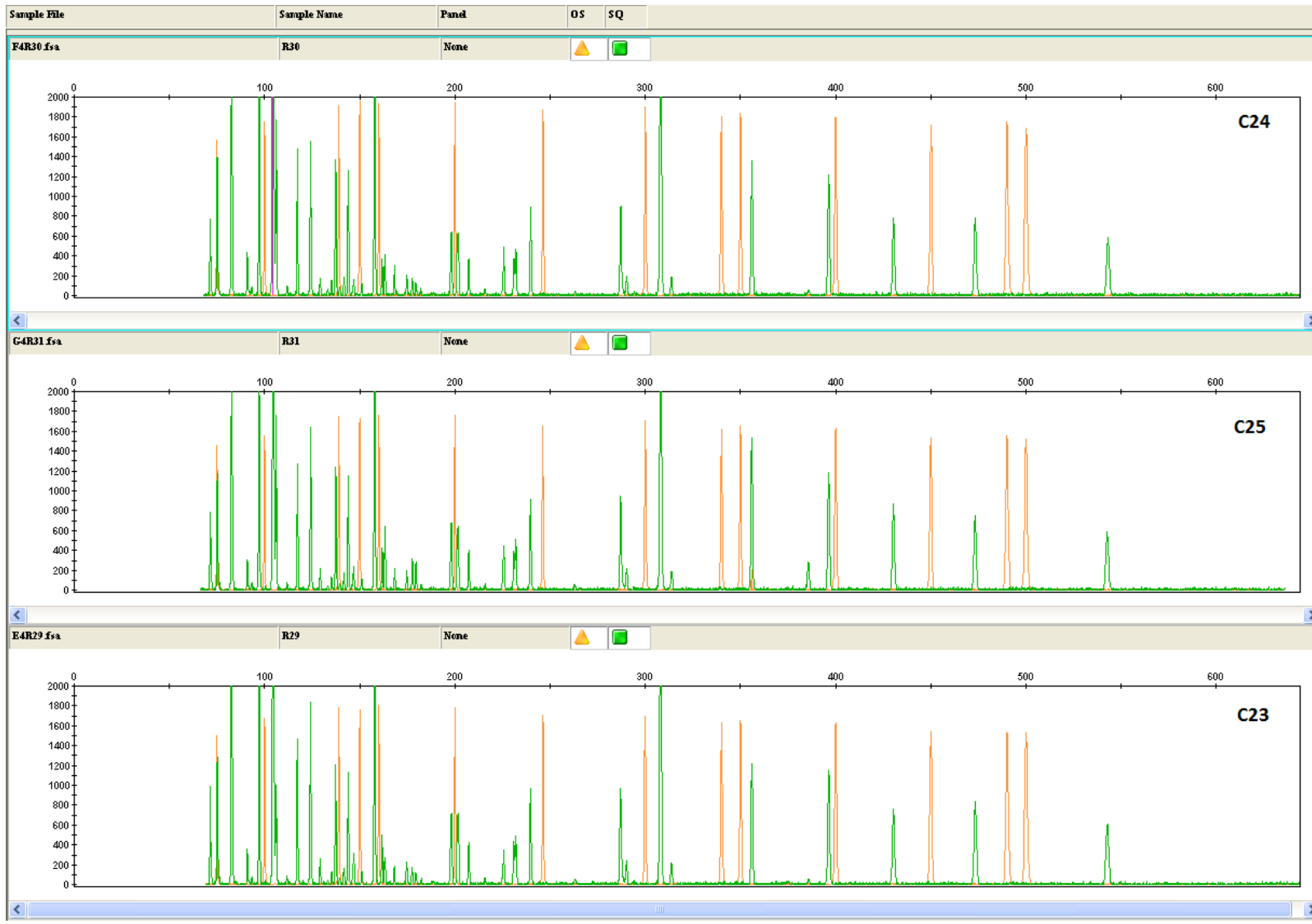




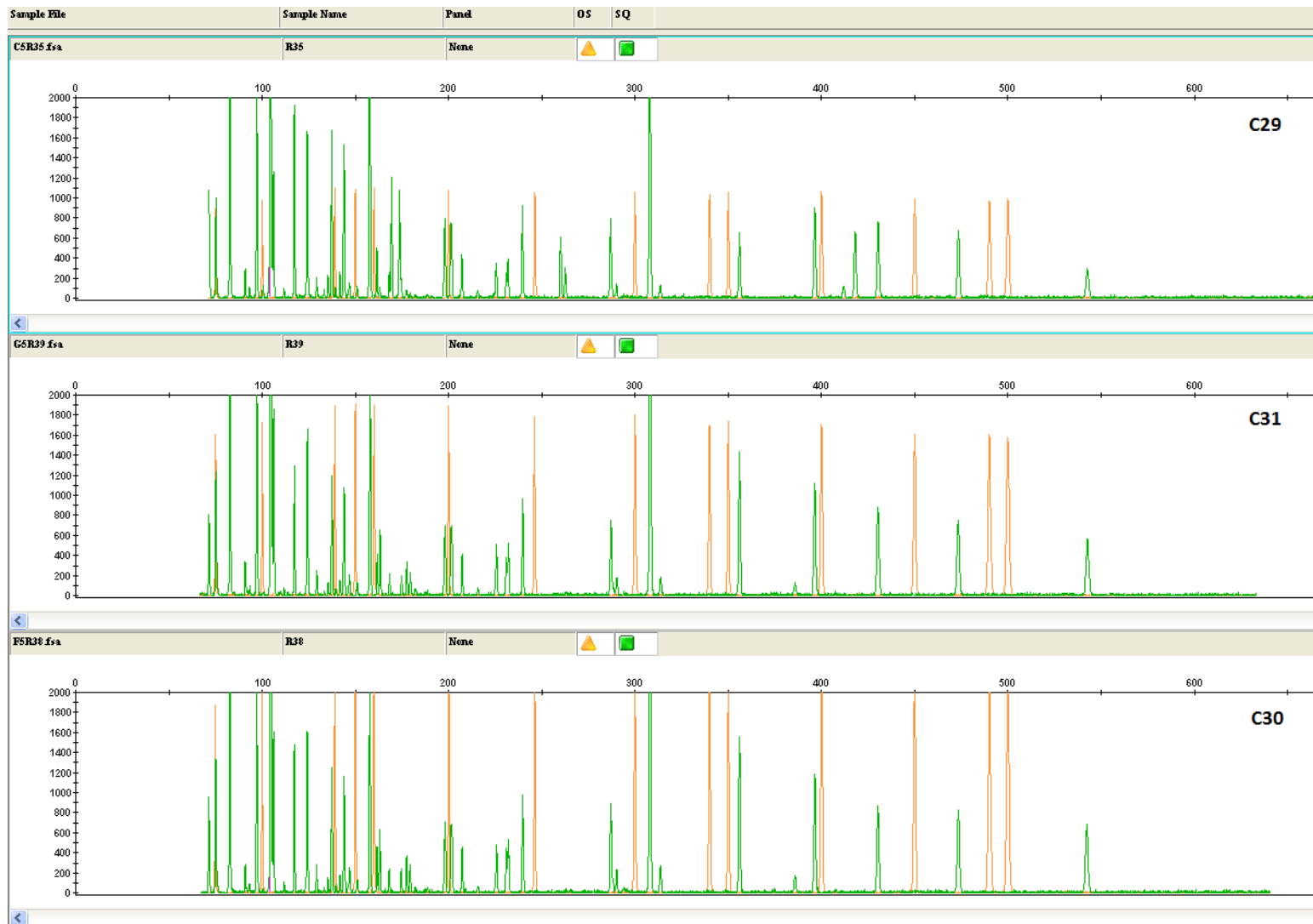










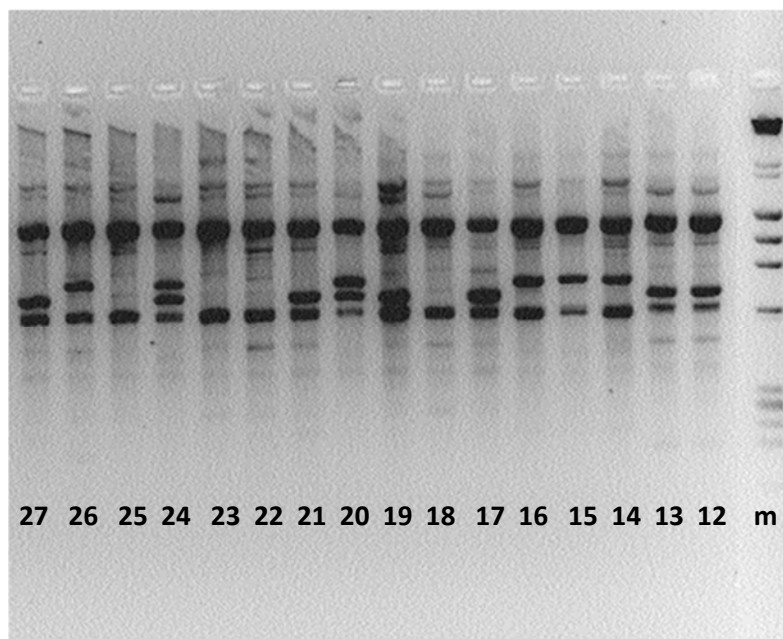
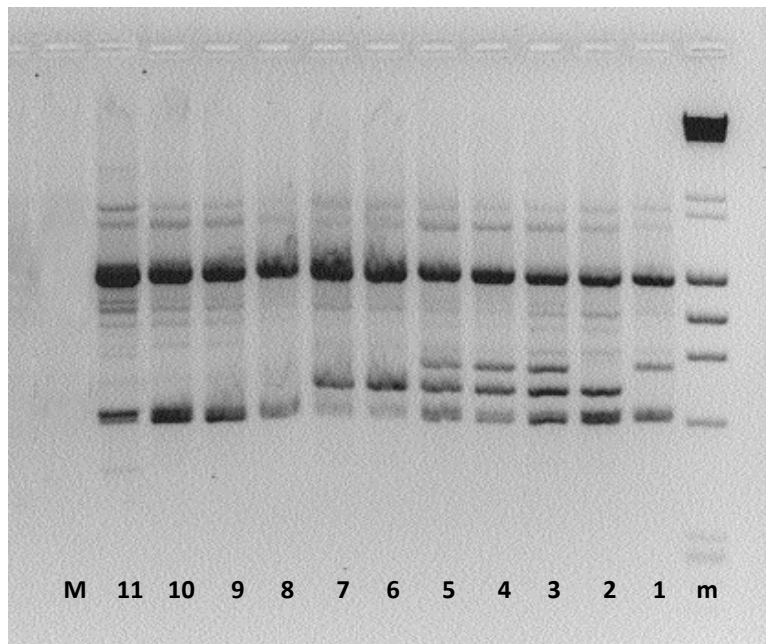


Β. Λοιπές ποικιλίες

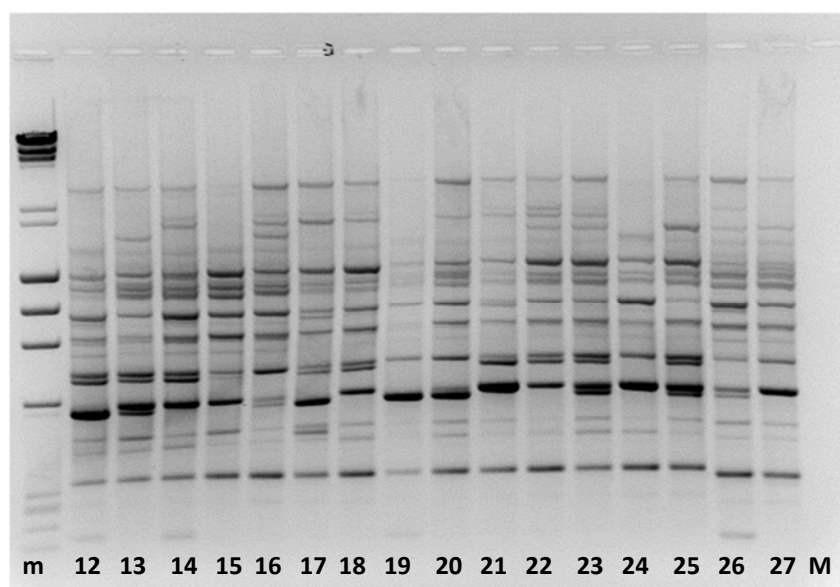
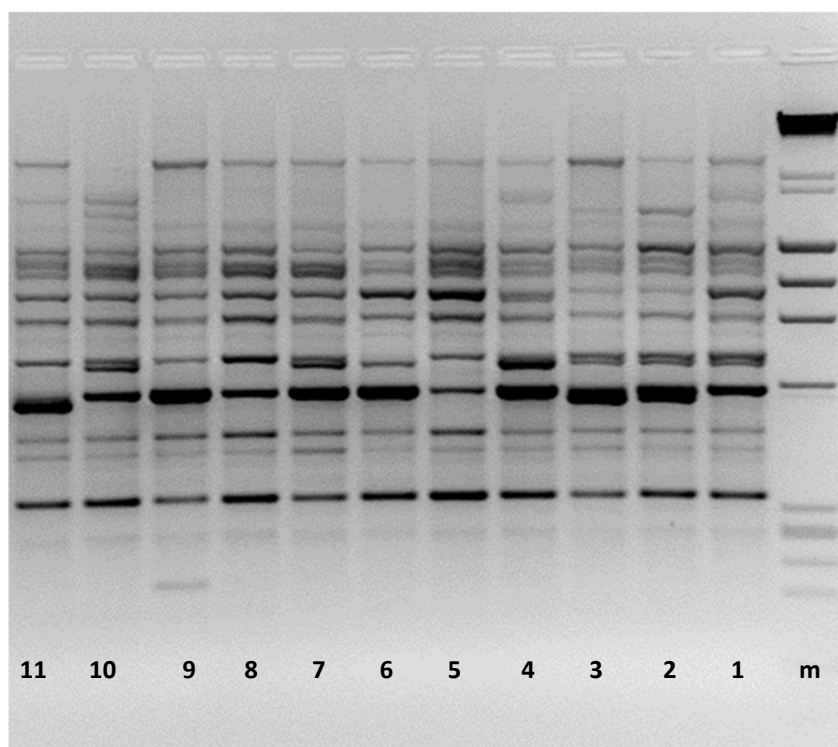
Πίνακας ποικιλιών που μελετήθηκαν

α/α	Ποικιλίες	α/α	Ποικιλίες
1	Εφτάκοιλο	15	Ρομπόλα
2	Λαδικινό	16	Ασπρούδι Αχαΐας
3	Καρυστινό	17	Ασπρούδι Ζακύνθου
4	Συρίκι	18	Ασπρούδι Σαντορίνης
5	Ξερομαχαιρούδα	19	Ασπρούδι Μυκηνών
6	Σεριφιώτικο	20	Ασπρούδι Σπετσών
7	Σταυροχιώτικο	21	Αγριογλυκάδι
8	Ερικαράς	22	Γλυκάδα άσπρη
9	Αρμελετούσα	23	Γλυκερήθρα
10	Γιουρούκι	24	Γλυκέρι
11	Φωκιανό	25	Πλατάνι
12	Βόσσος	26	Πετρουλιανός
13	Ατσάλα	27	Ποταμίσι άσπρο
14	Κοκκινόρομπόλα		
M	Μάρτυρας	m	Marker

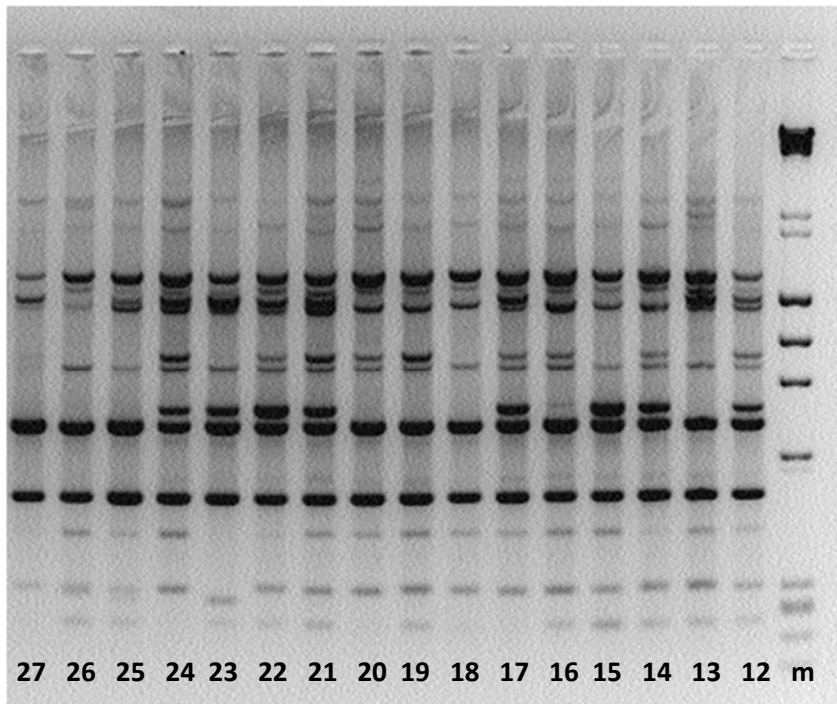
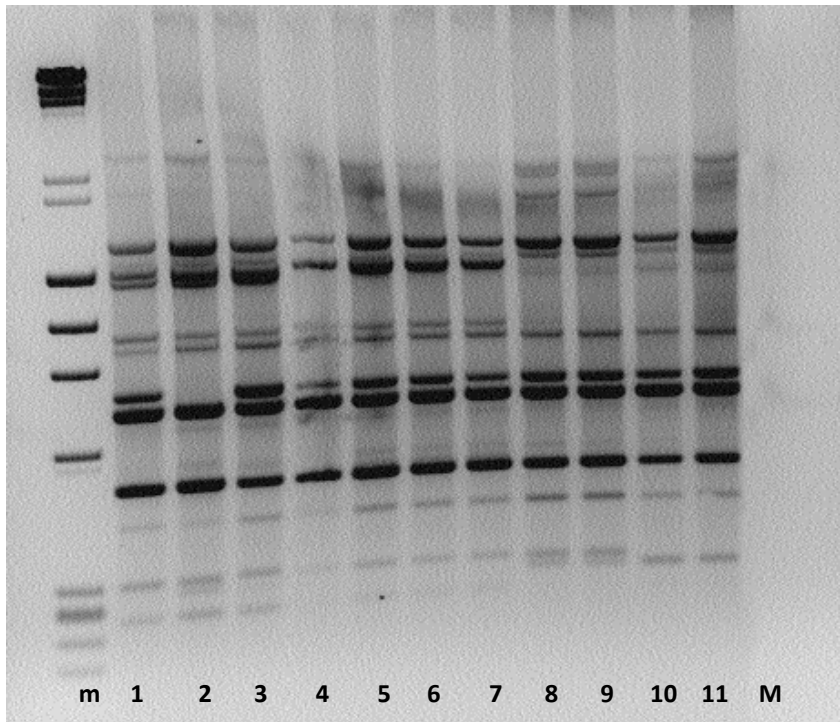
Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο RAPD σε πηκτή αγαρόζης.



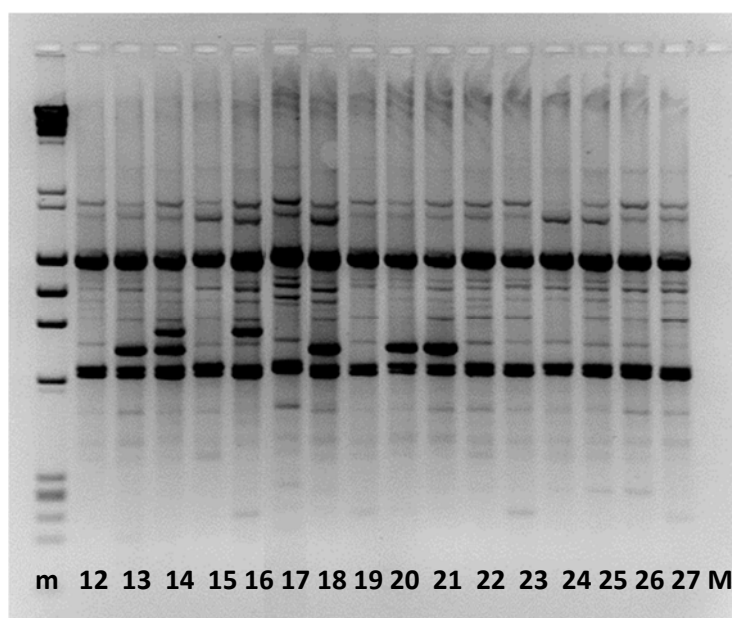
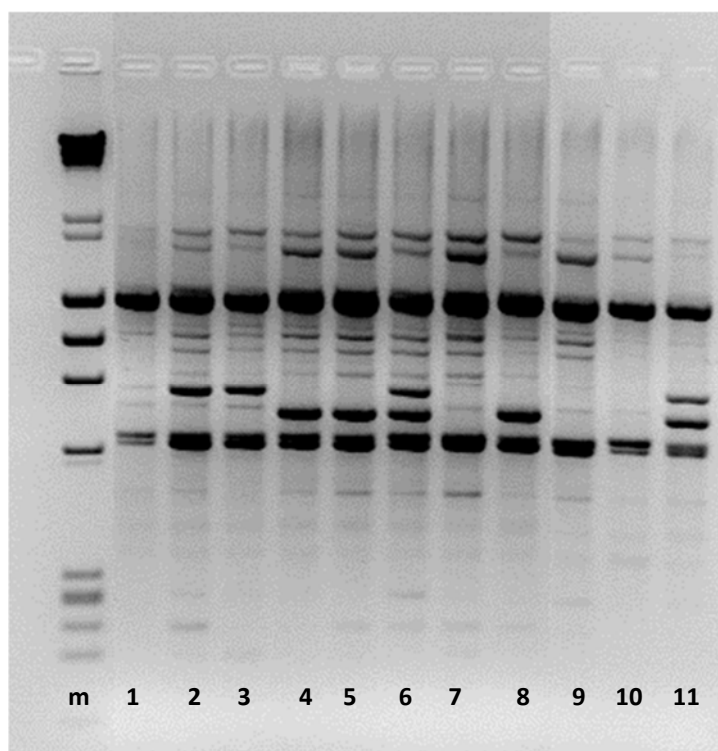
Εικ. 9. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή 1224.



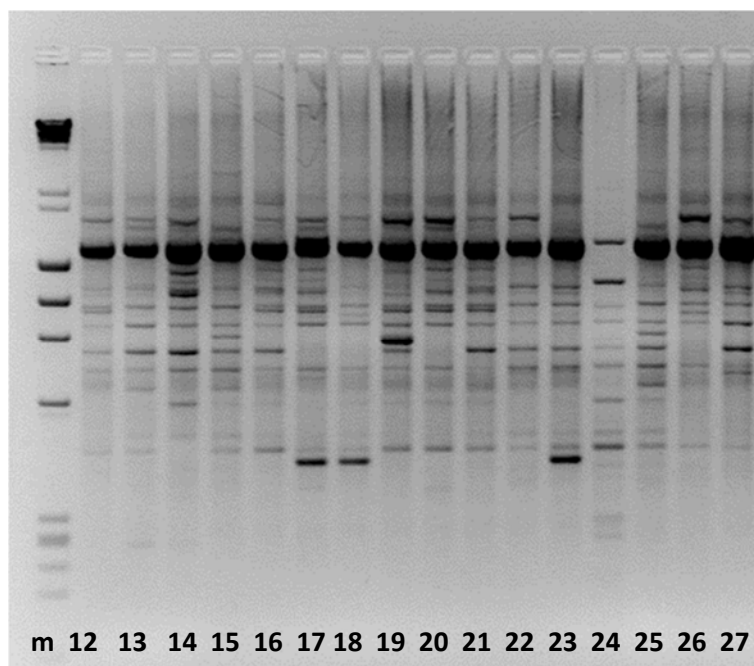
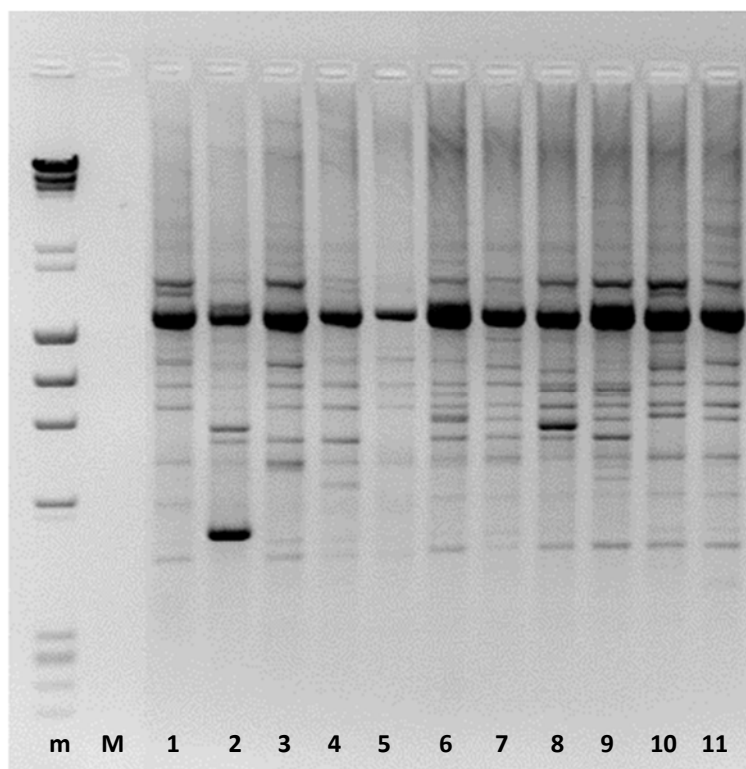
Εικ. 10. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή 1226.



Εικ. 11. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή 1227.

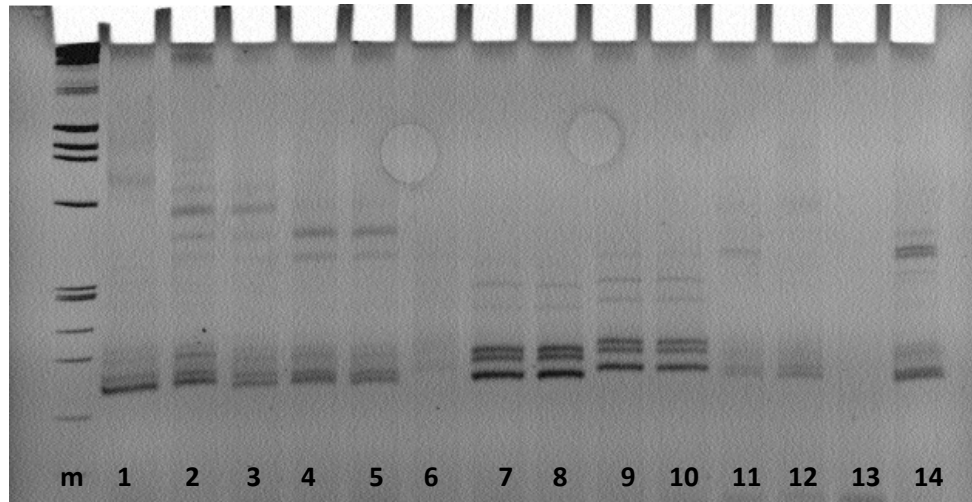


Εικ. 12. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή OPF-02.



Εικ. 13. Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή OPM-04.

Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο SSR σε πηκτή πολυακρυλαμίδης (ενδεικτικά).

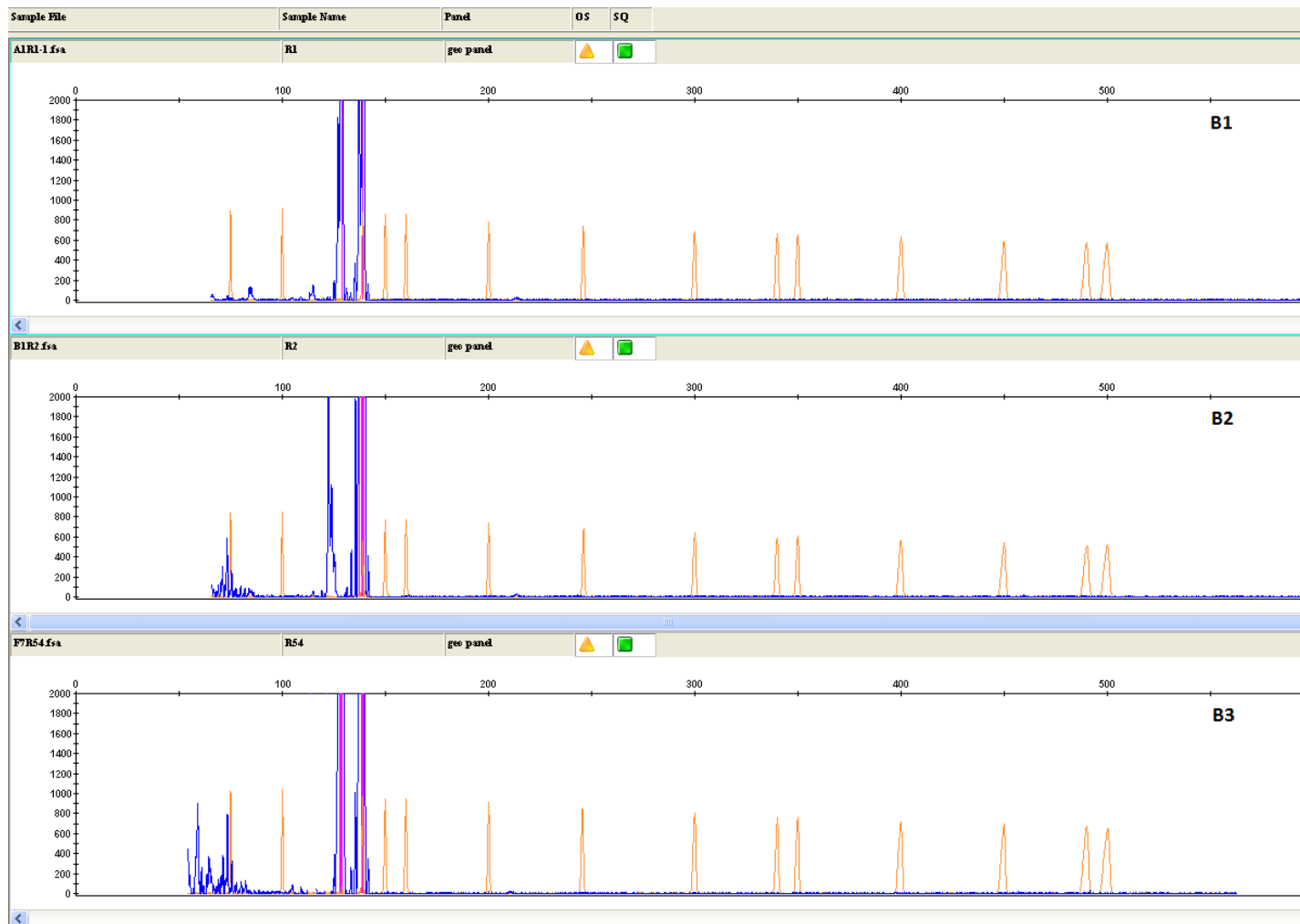


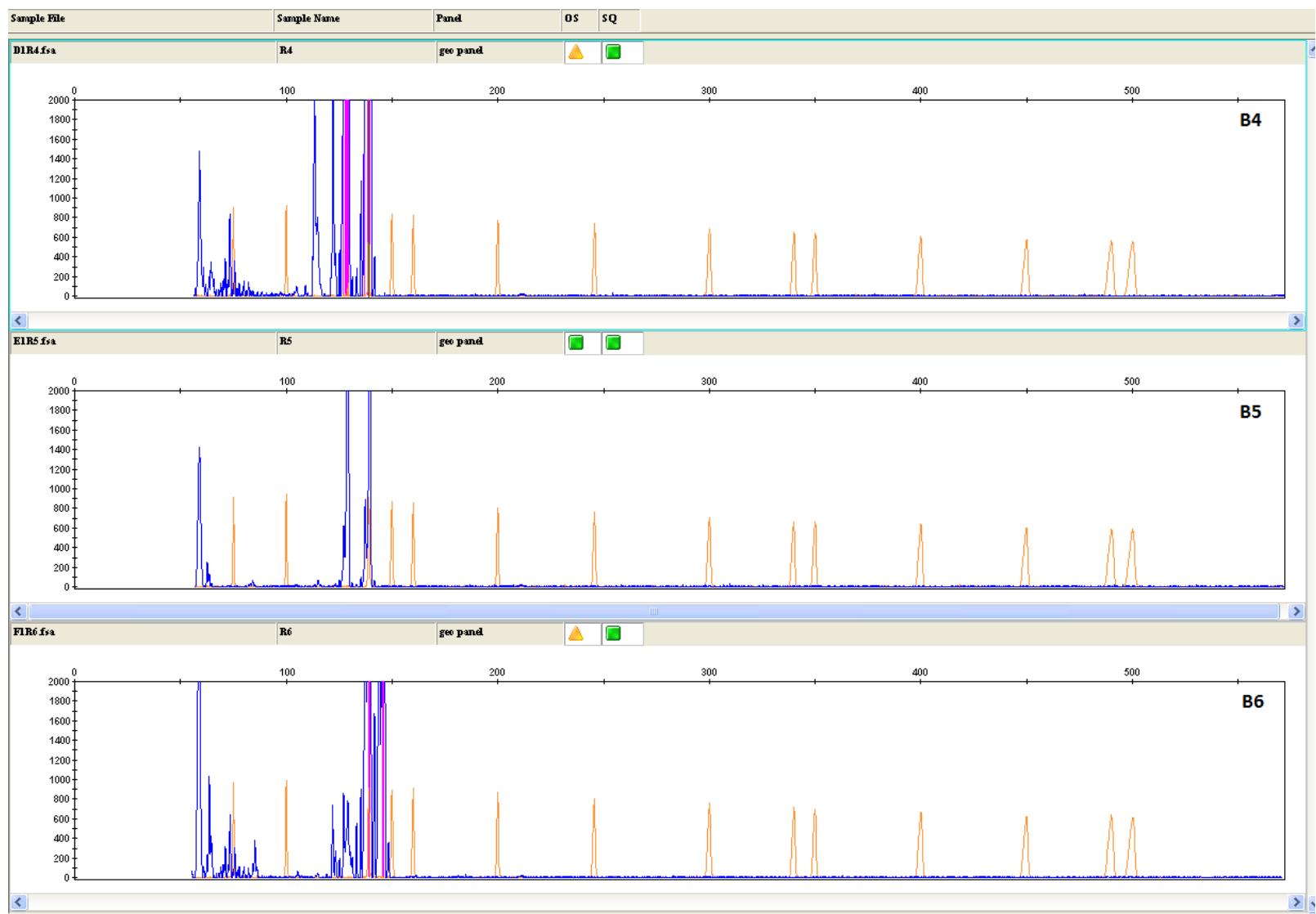
Εικ. 14. Ηλεκτροφόρημα των ενισχυμένων προϊόντων του εκκινητή VVS2 (ενδεικτικά για επαλήθευση της αντίδρασης).

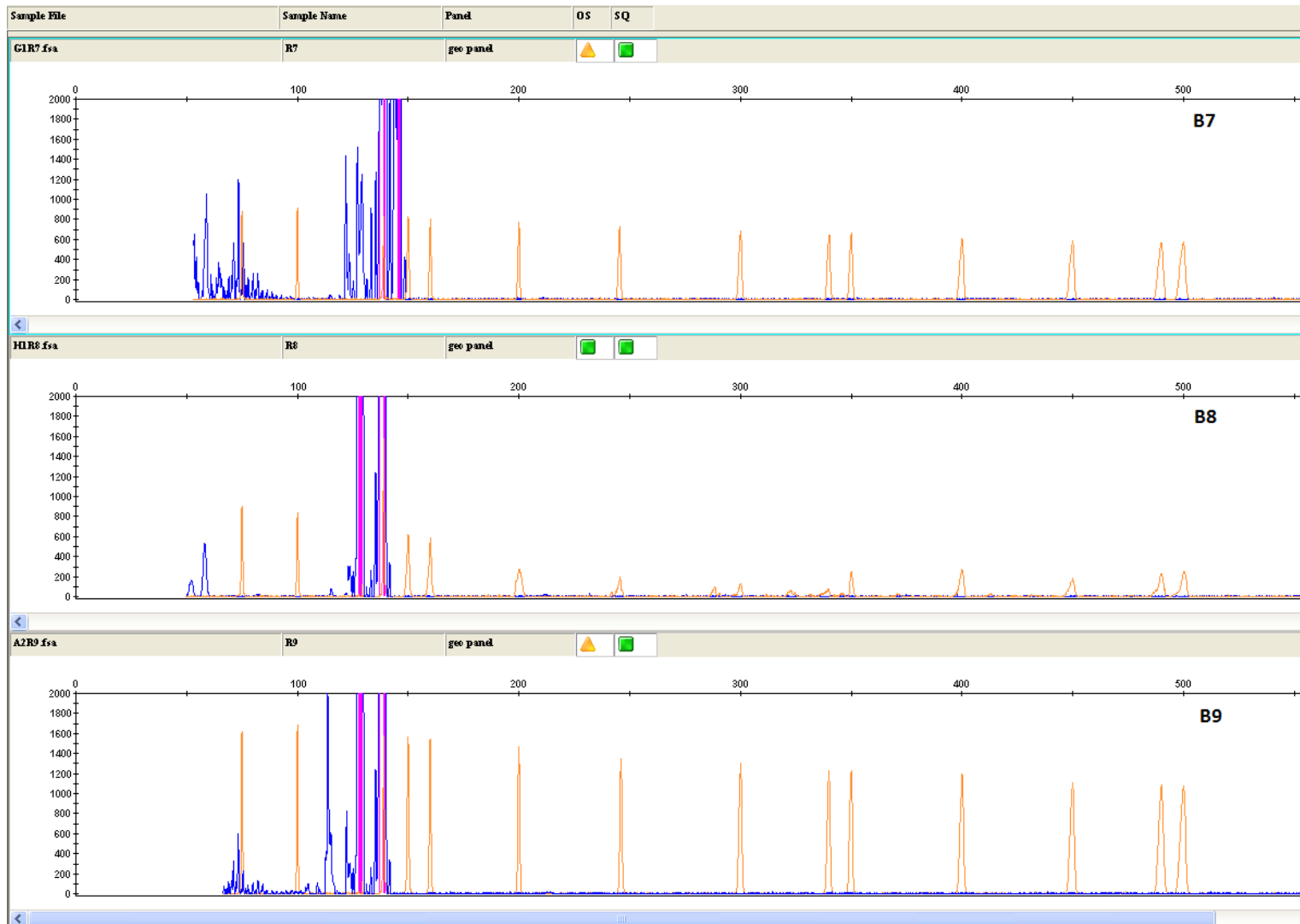
Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο SSR, όπως αυτά παρουσιάζονται από τον Αυτόματο Αναλυτή Γονιδιώματος ABI 310 (Applied Biosystems).

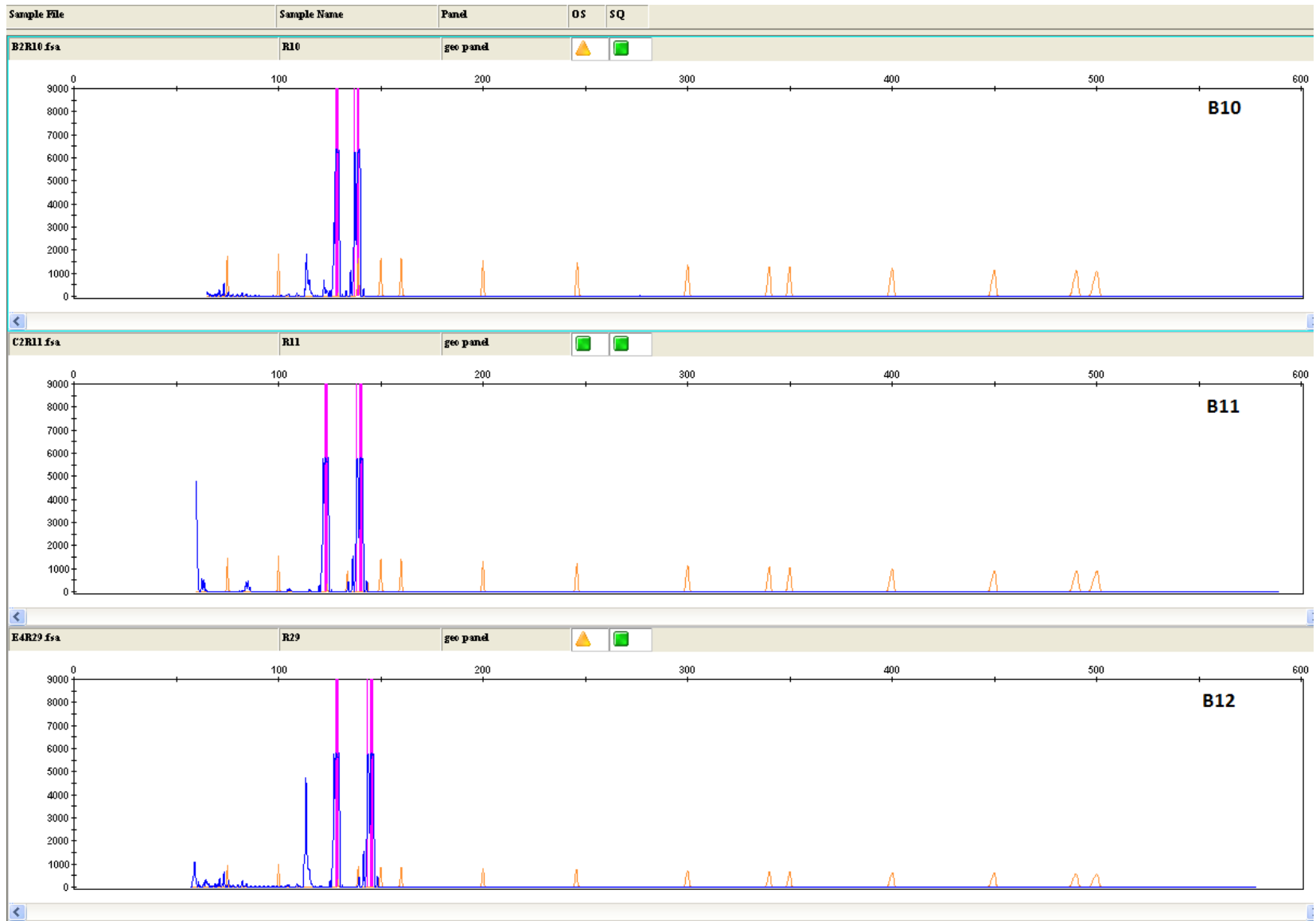
Η πορτοκαλί γραμμή είναι το πρότυπο μέγεθος DNA (Gene-Scan 500-LIZ Size Standard, Applied Biosystems), ενώ με το μπλε χρώμα είναι τα ενισχυμένα τμήματα του κάθε εκκινητή.

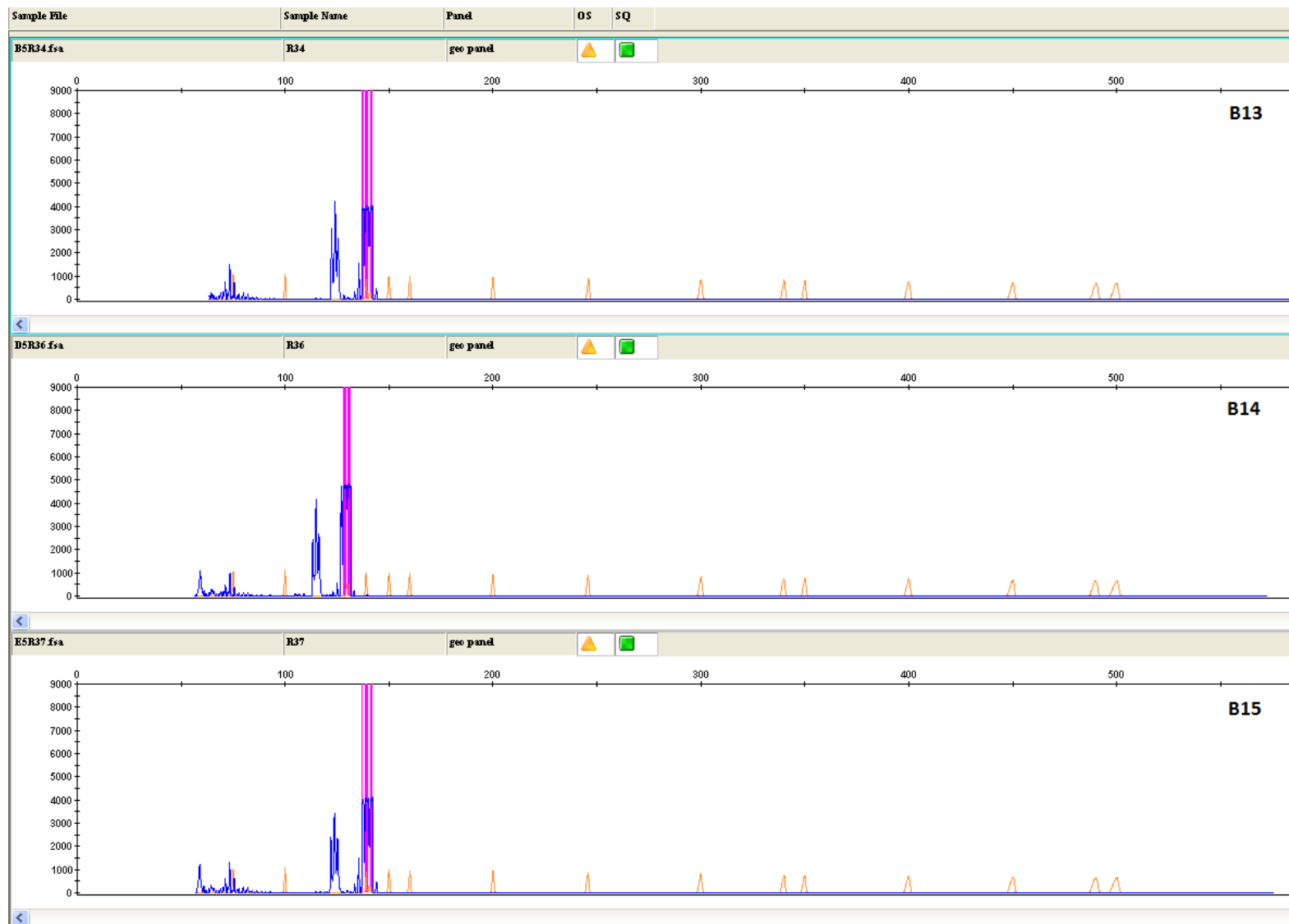
Εκκλιητής VVS2

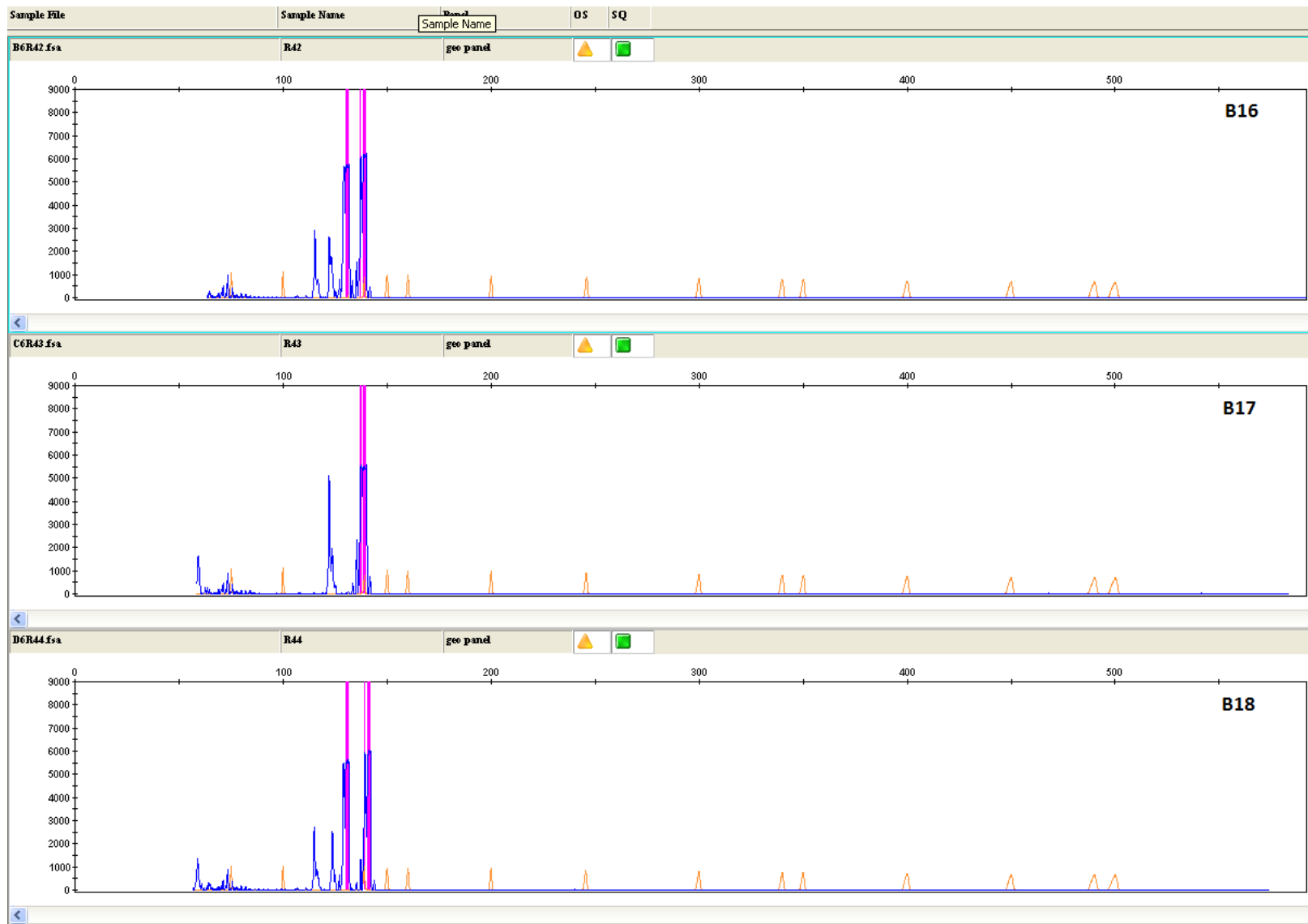


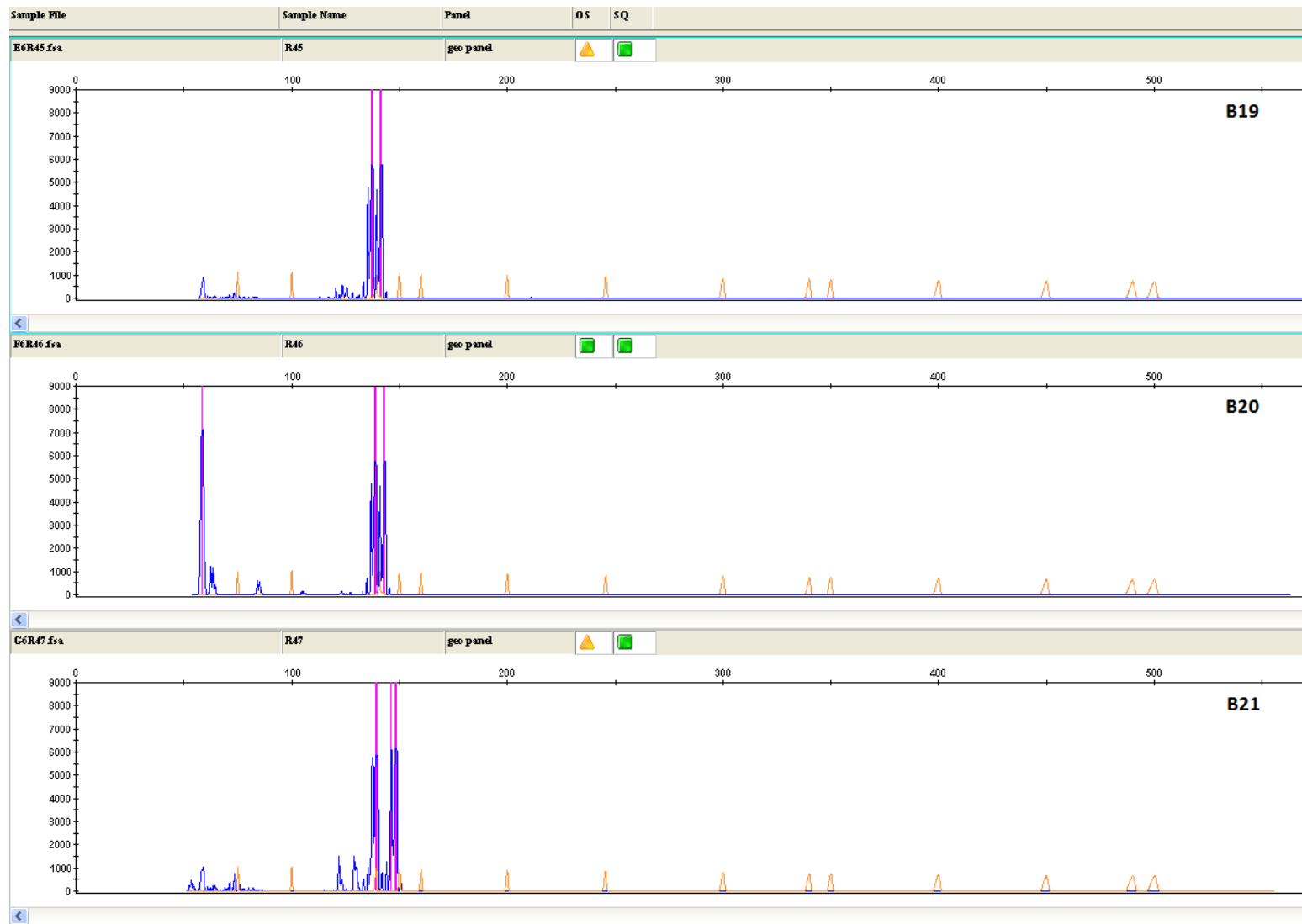


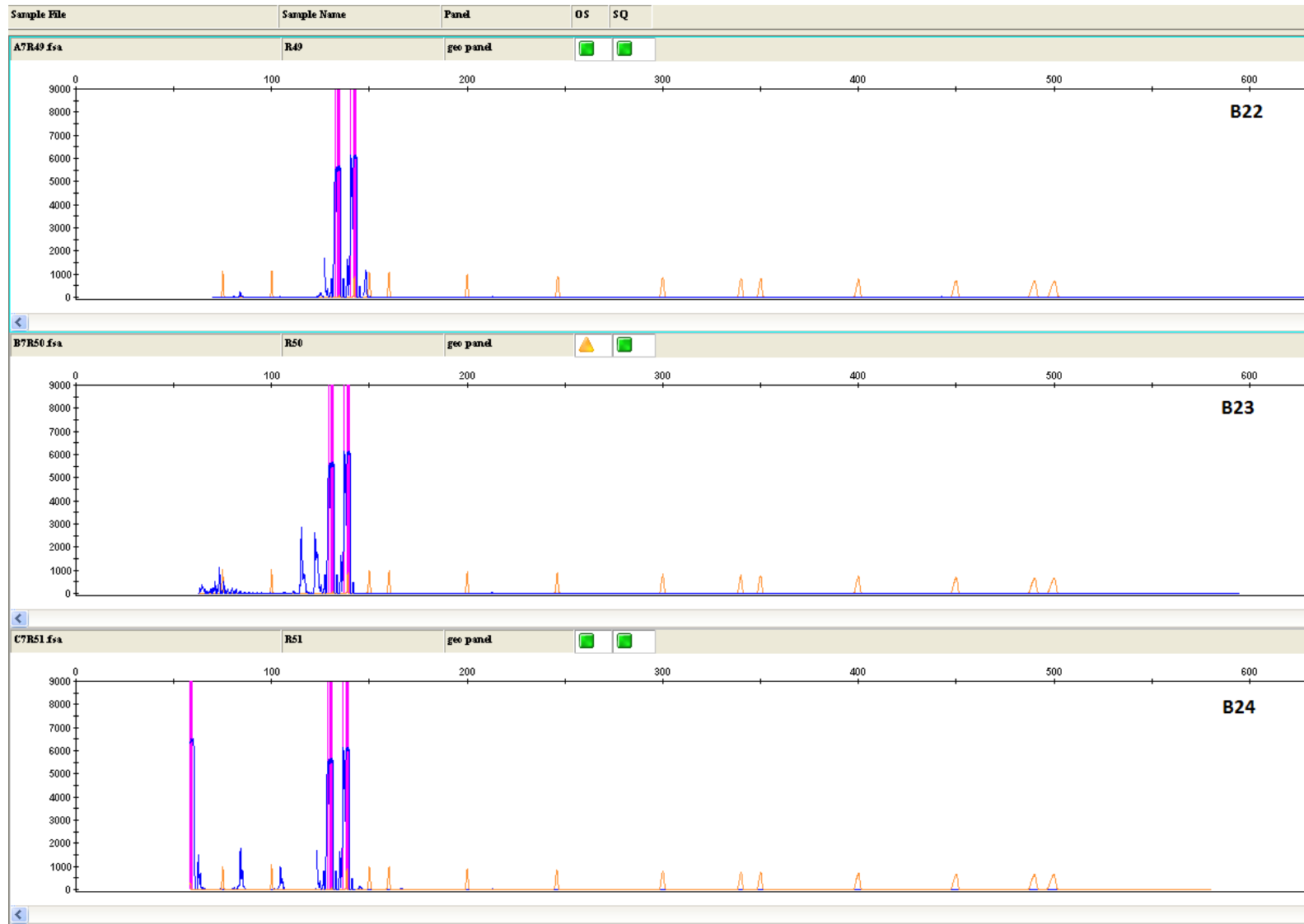


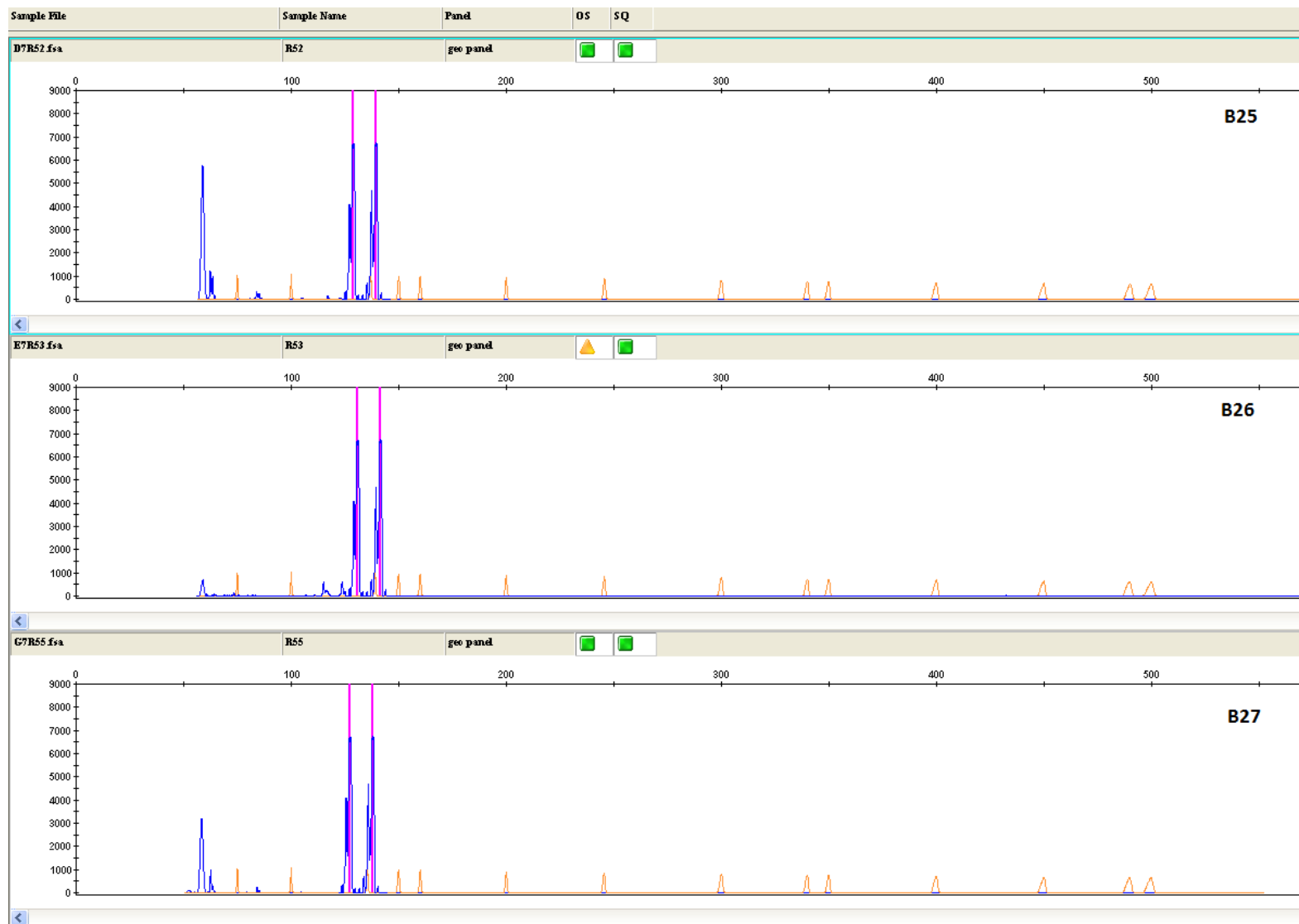




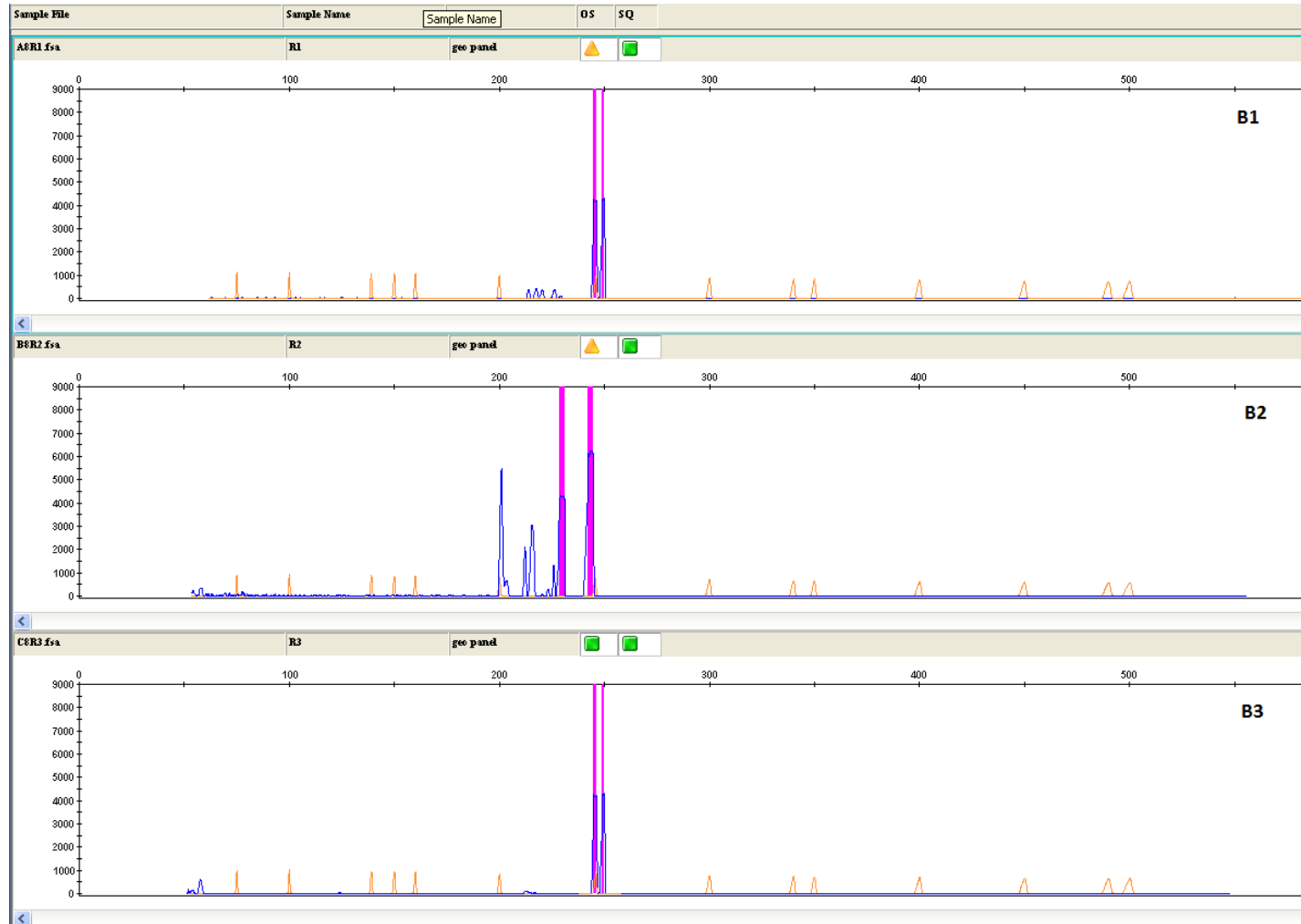


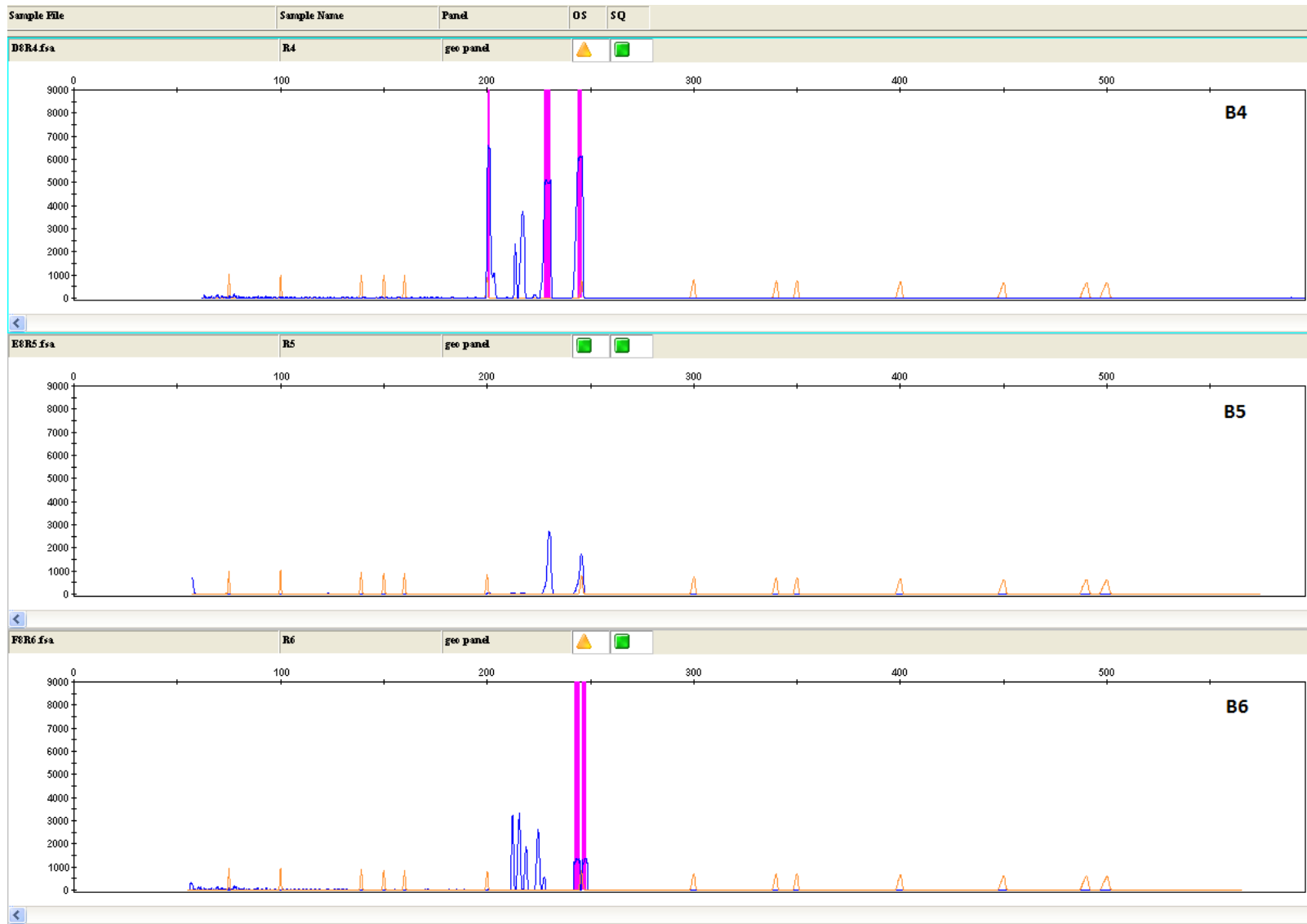


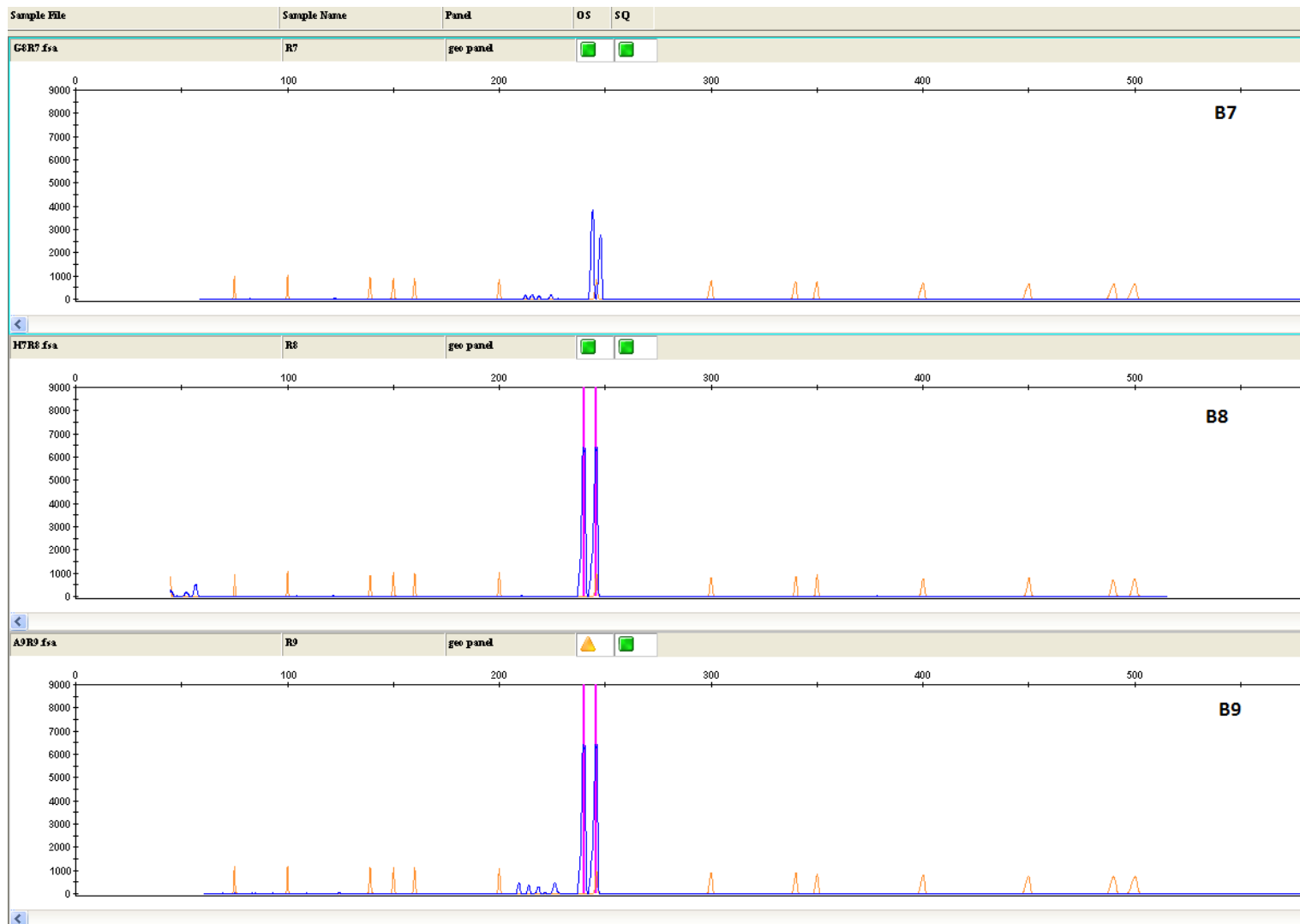


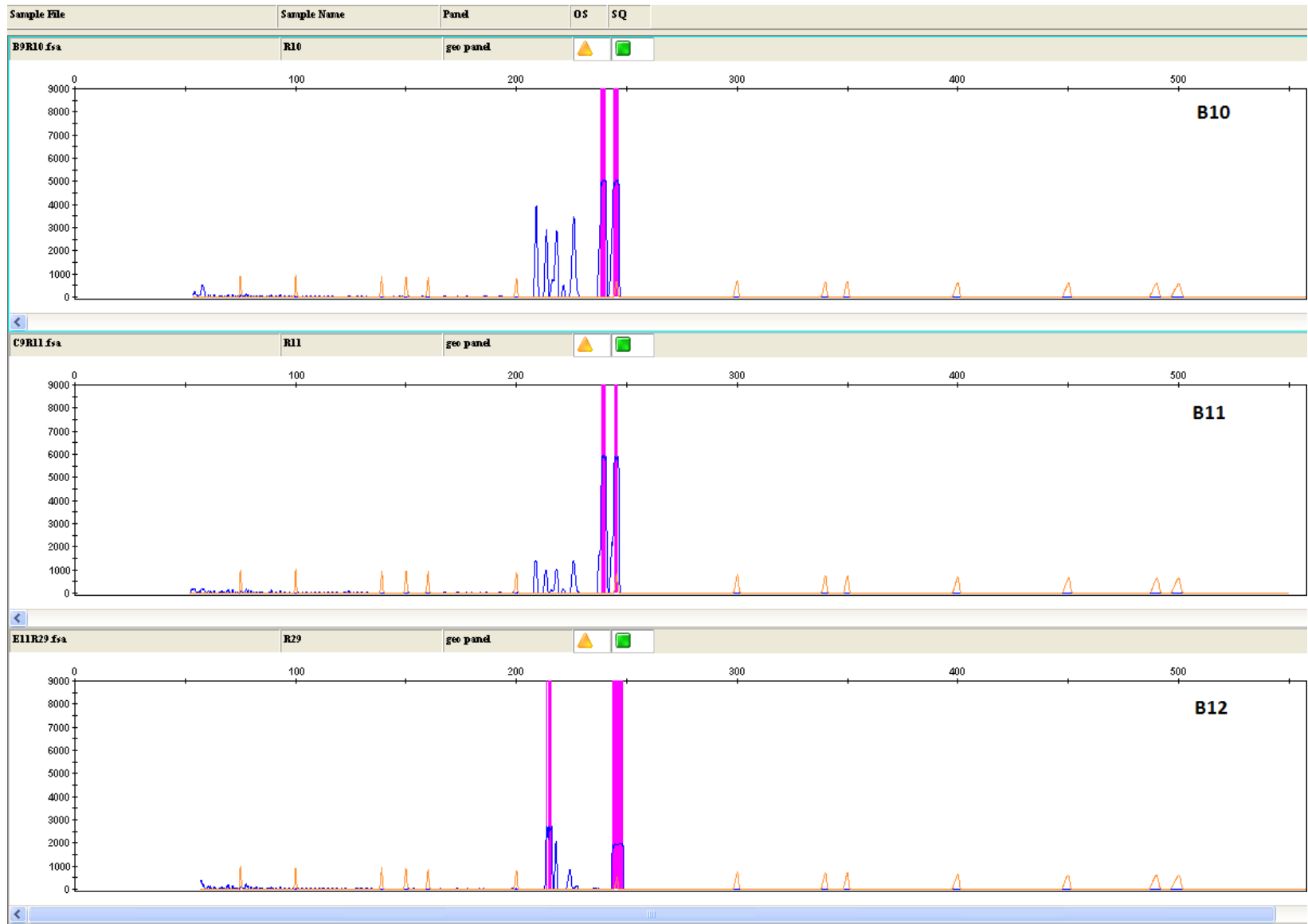


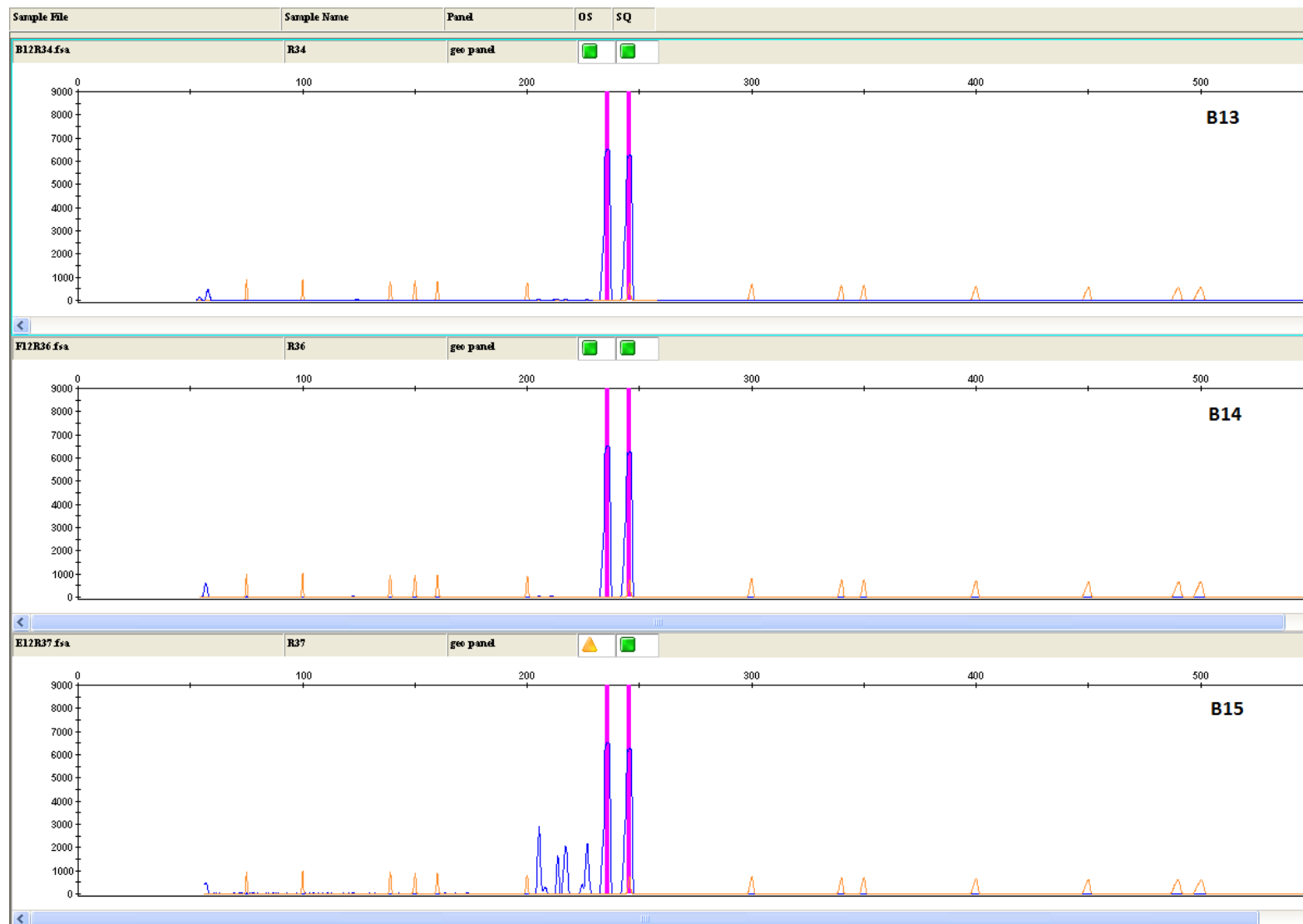
Εκκλιητής VVMD7

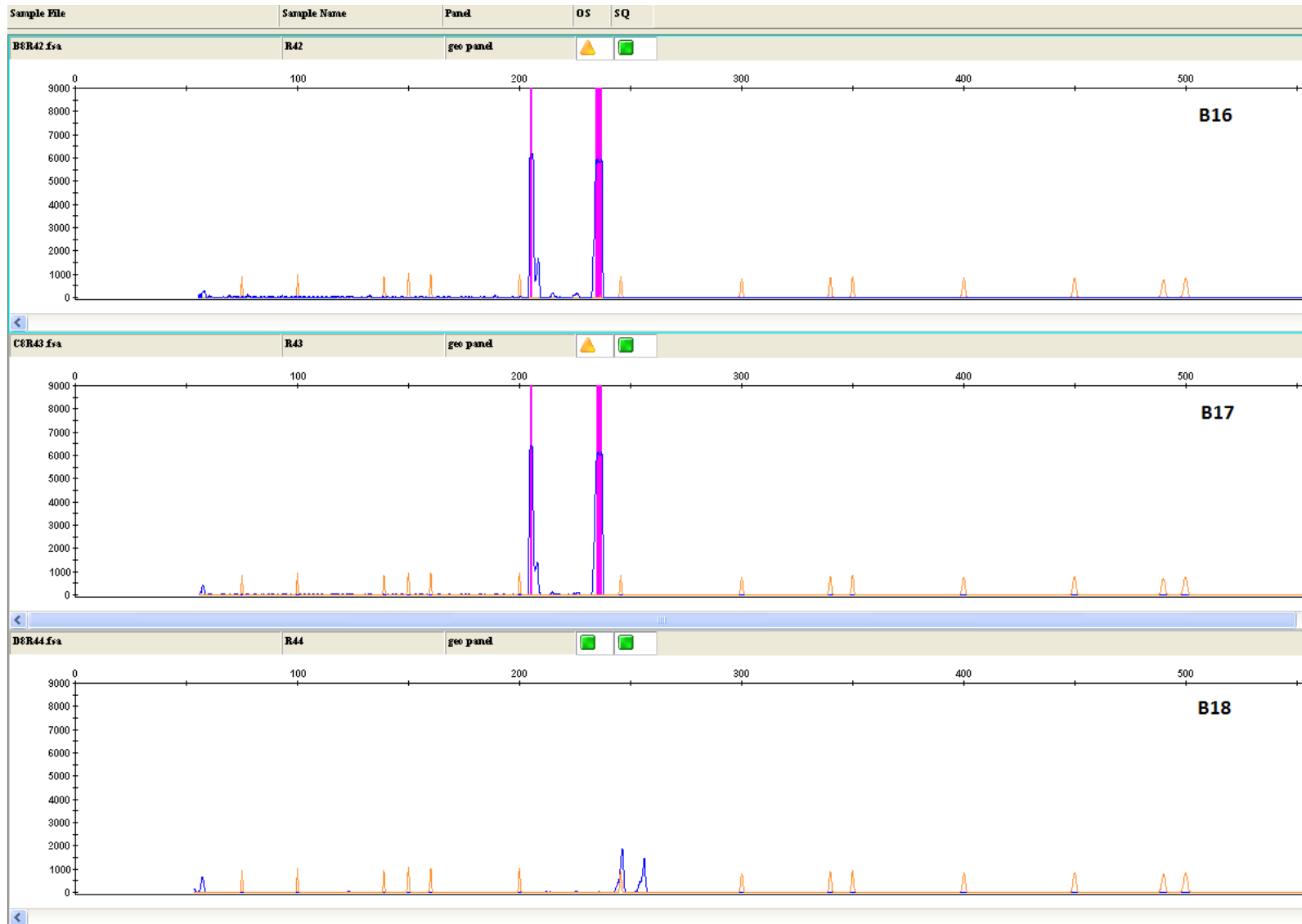


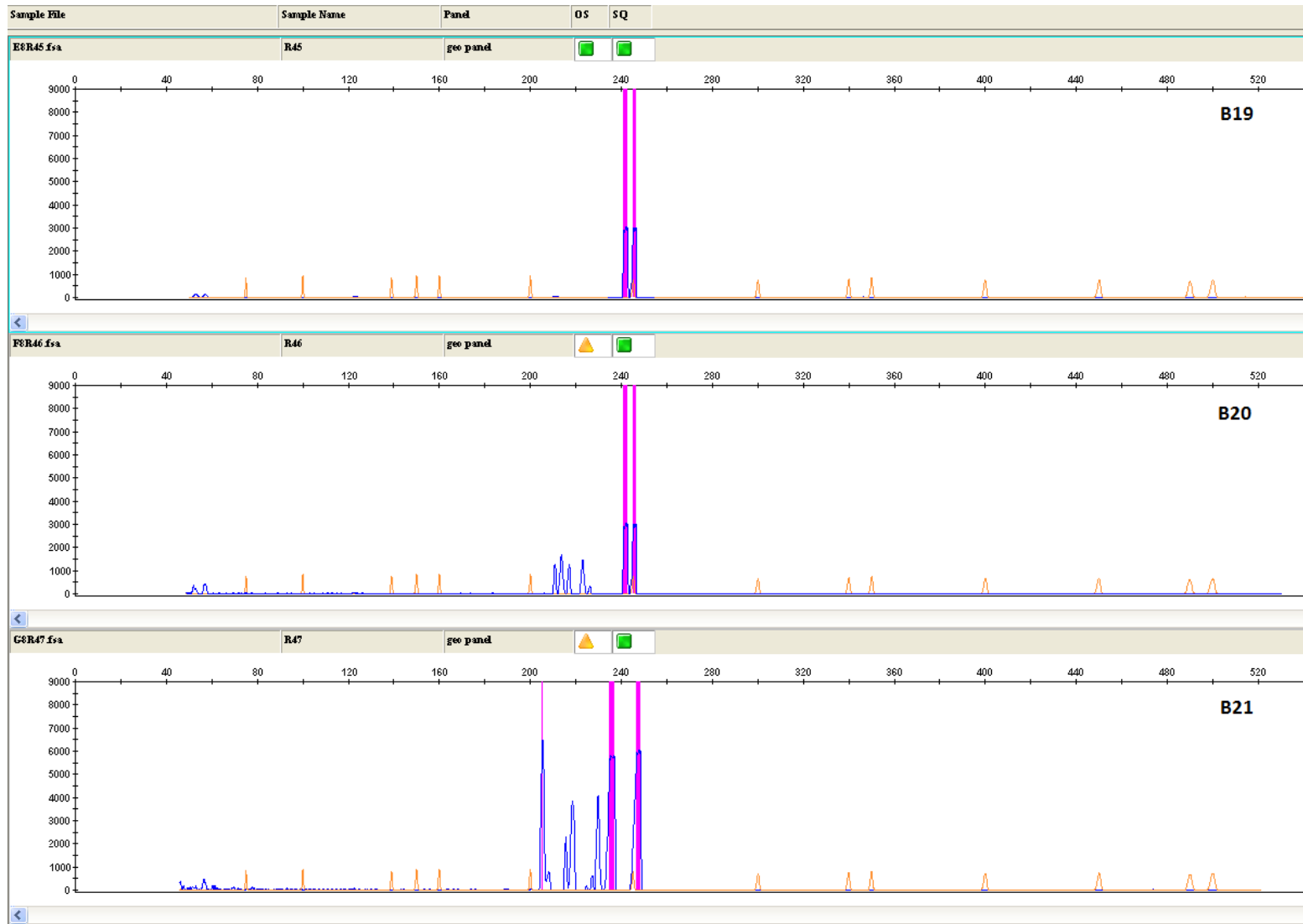


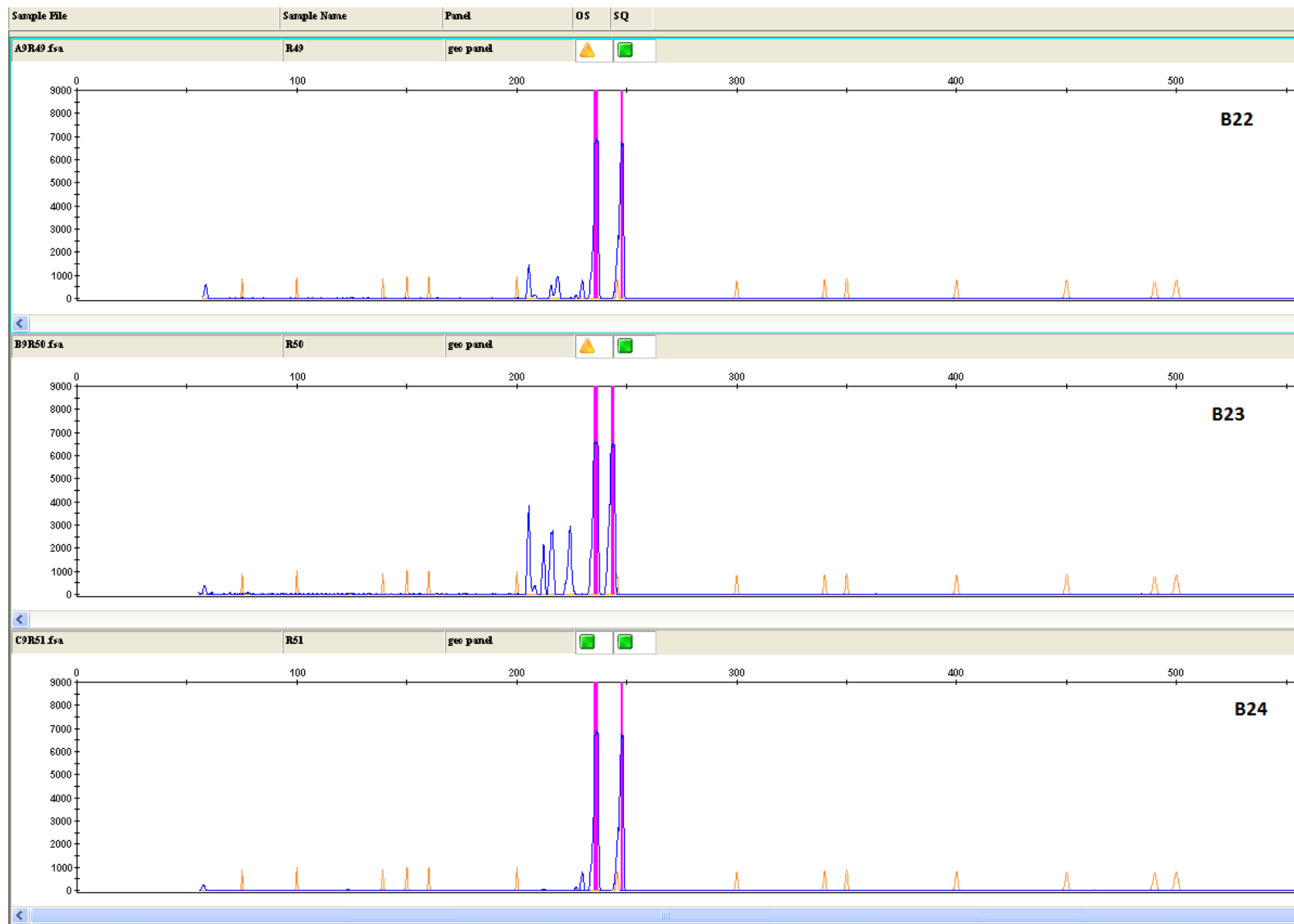


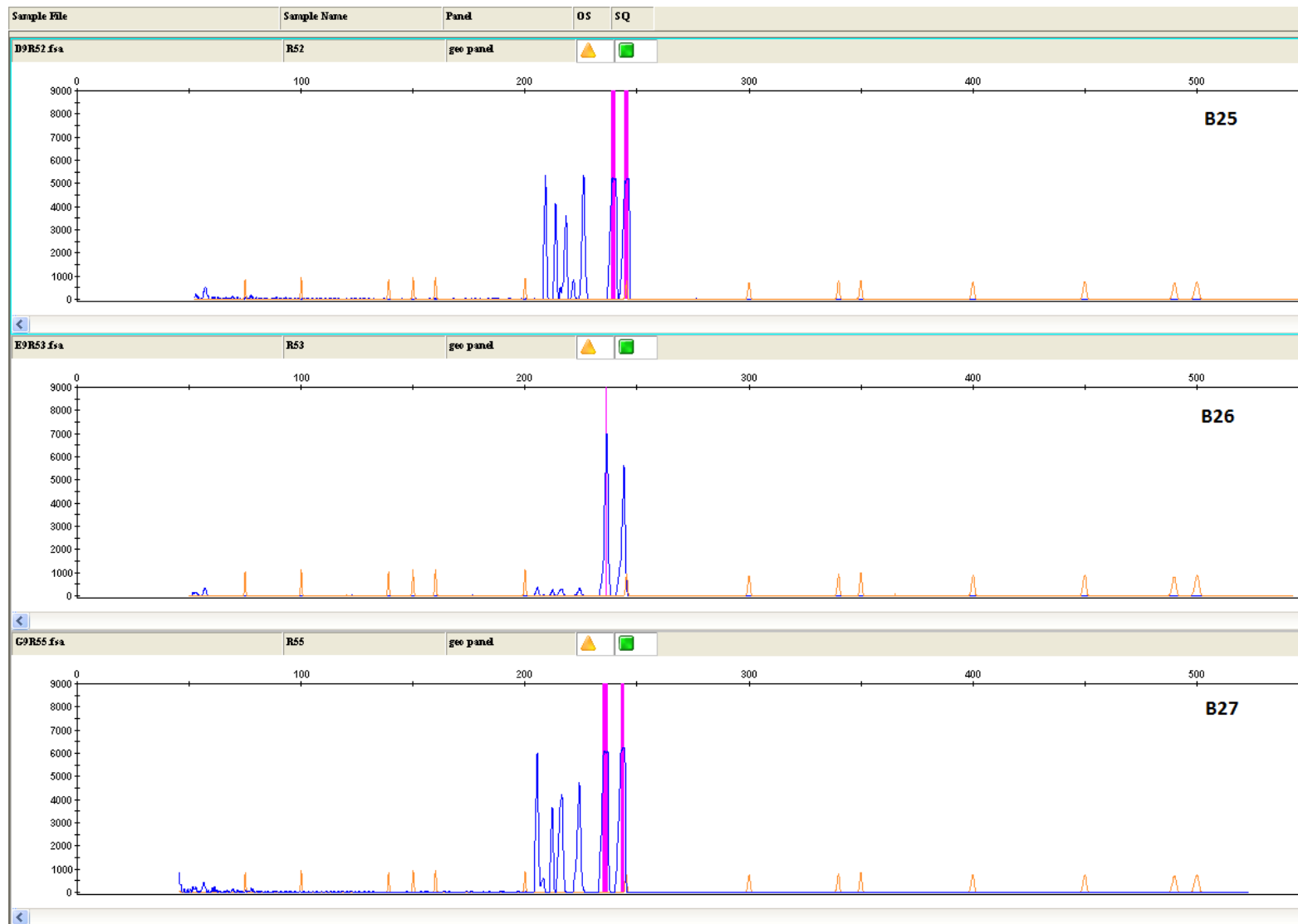




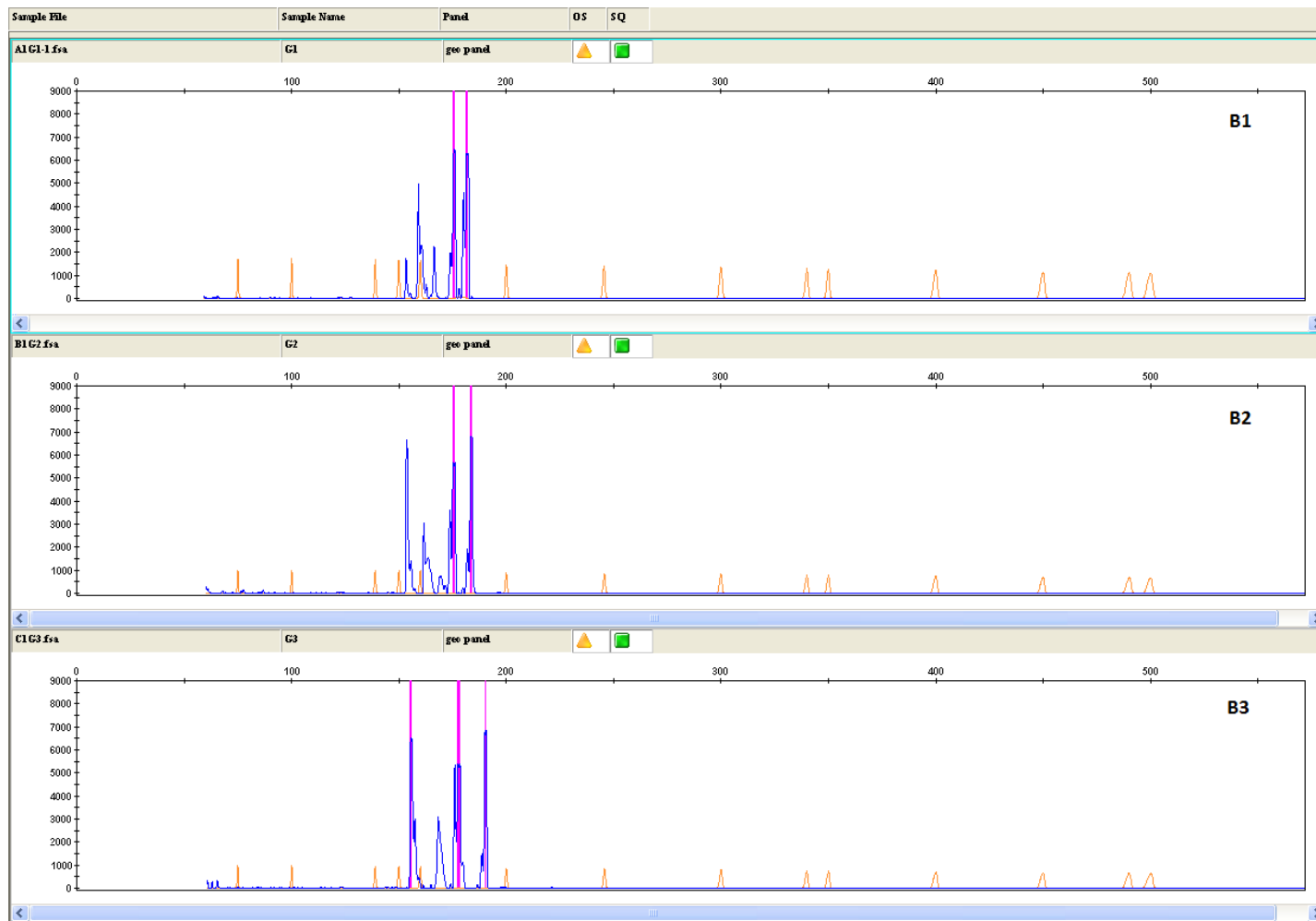


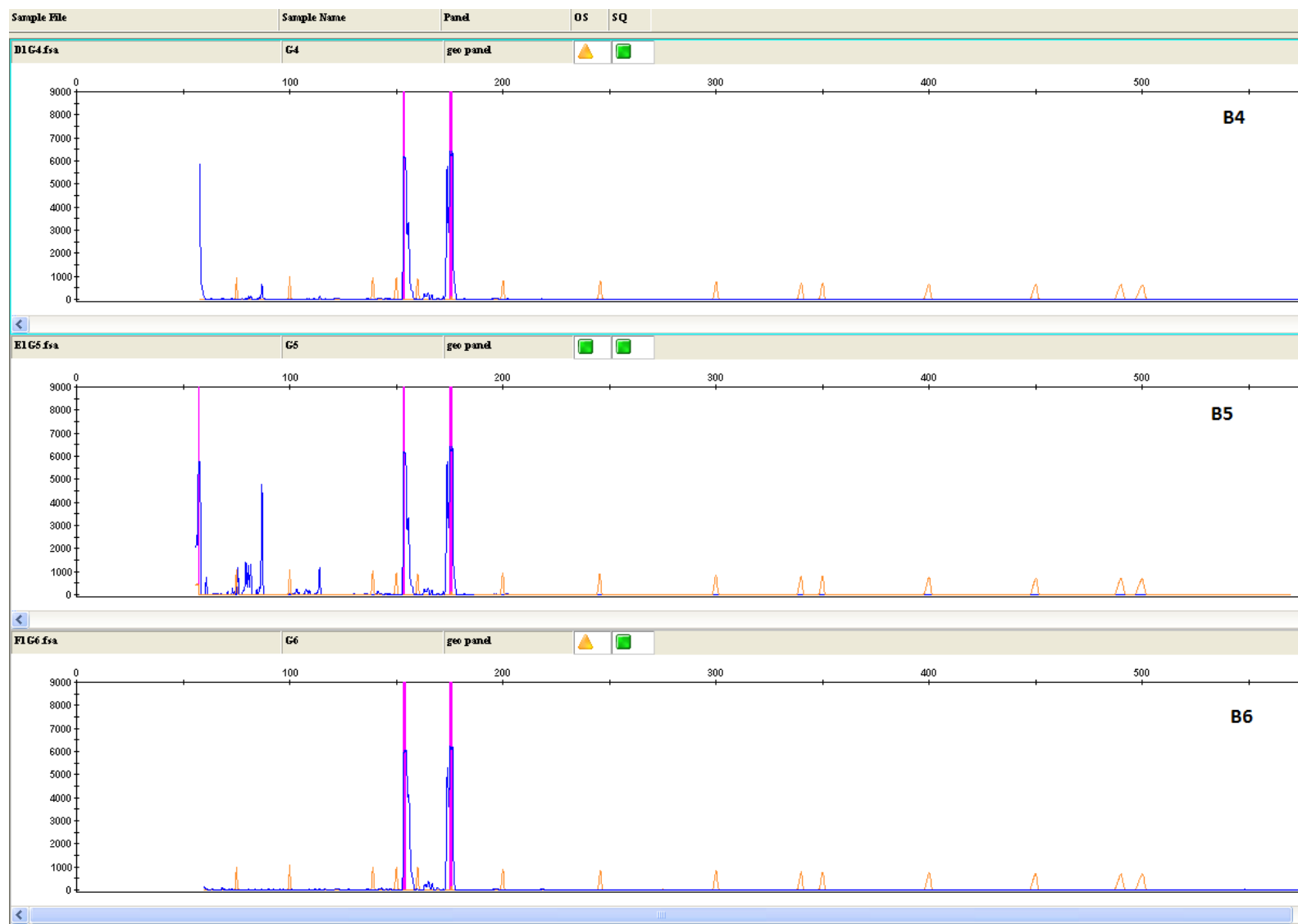


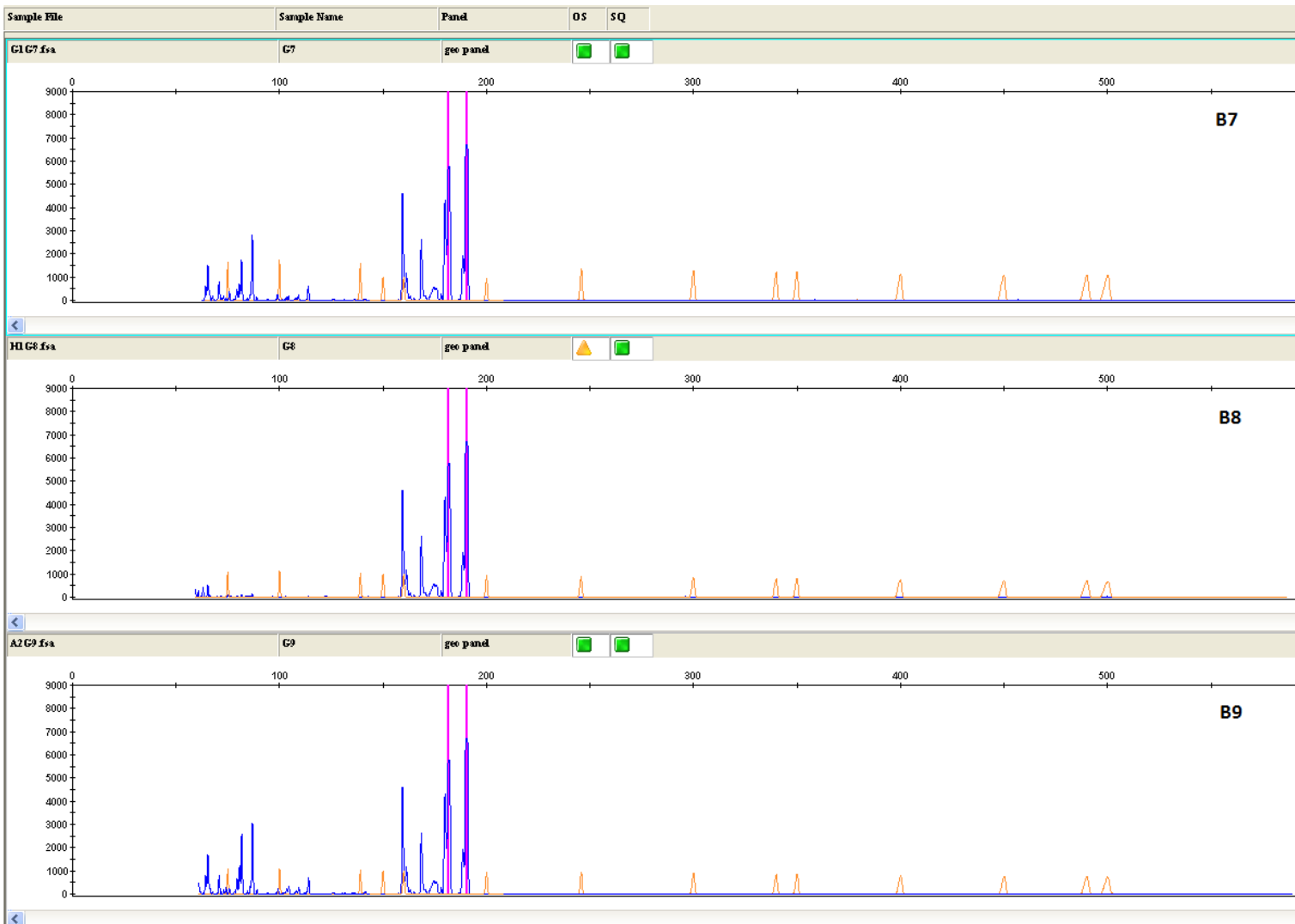


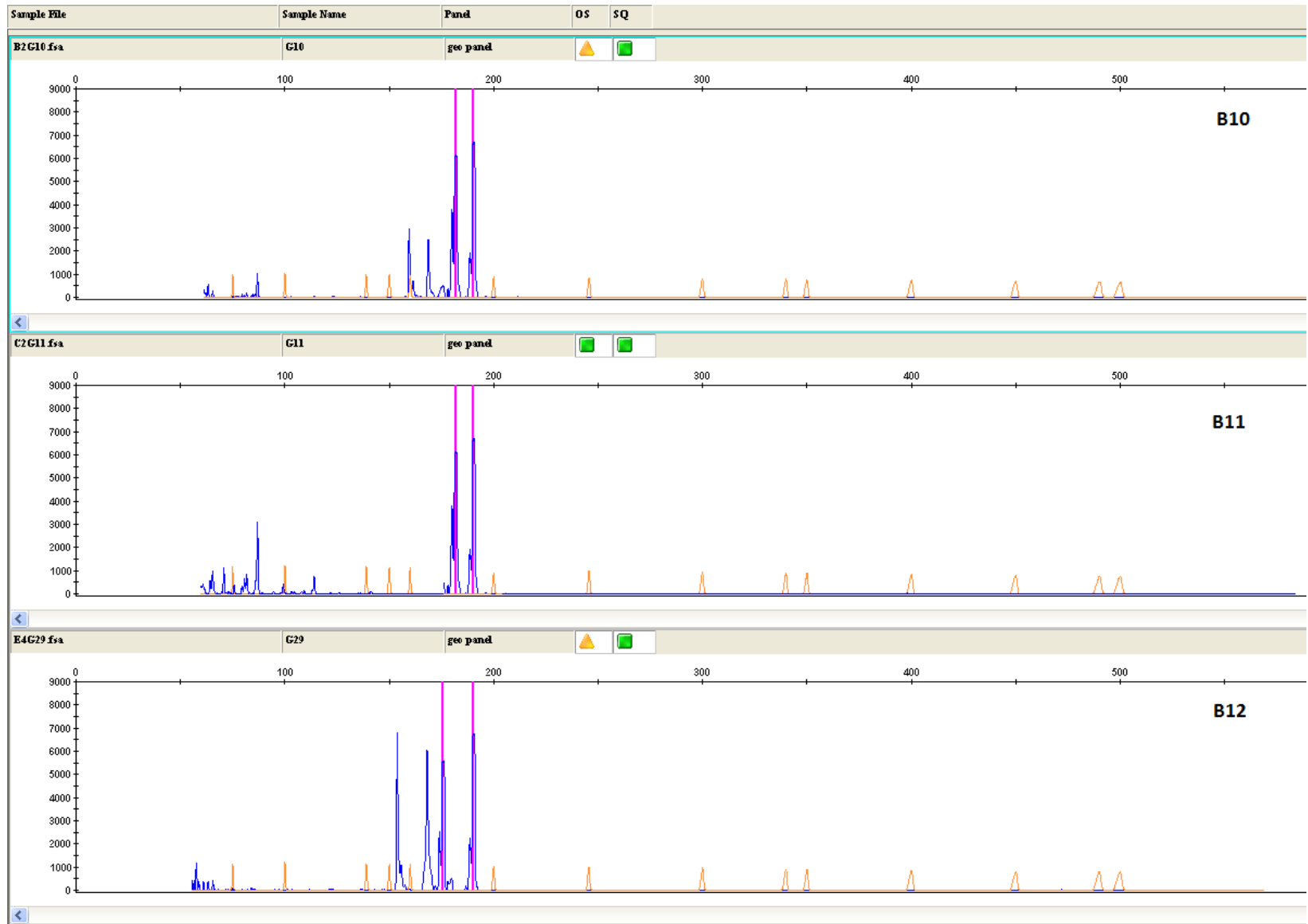


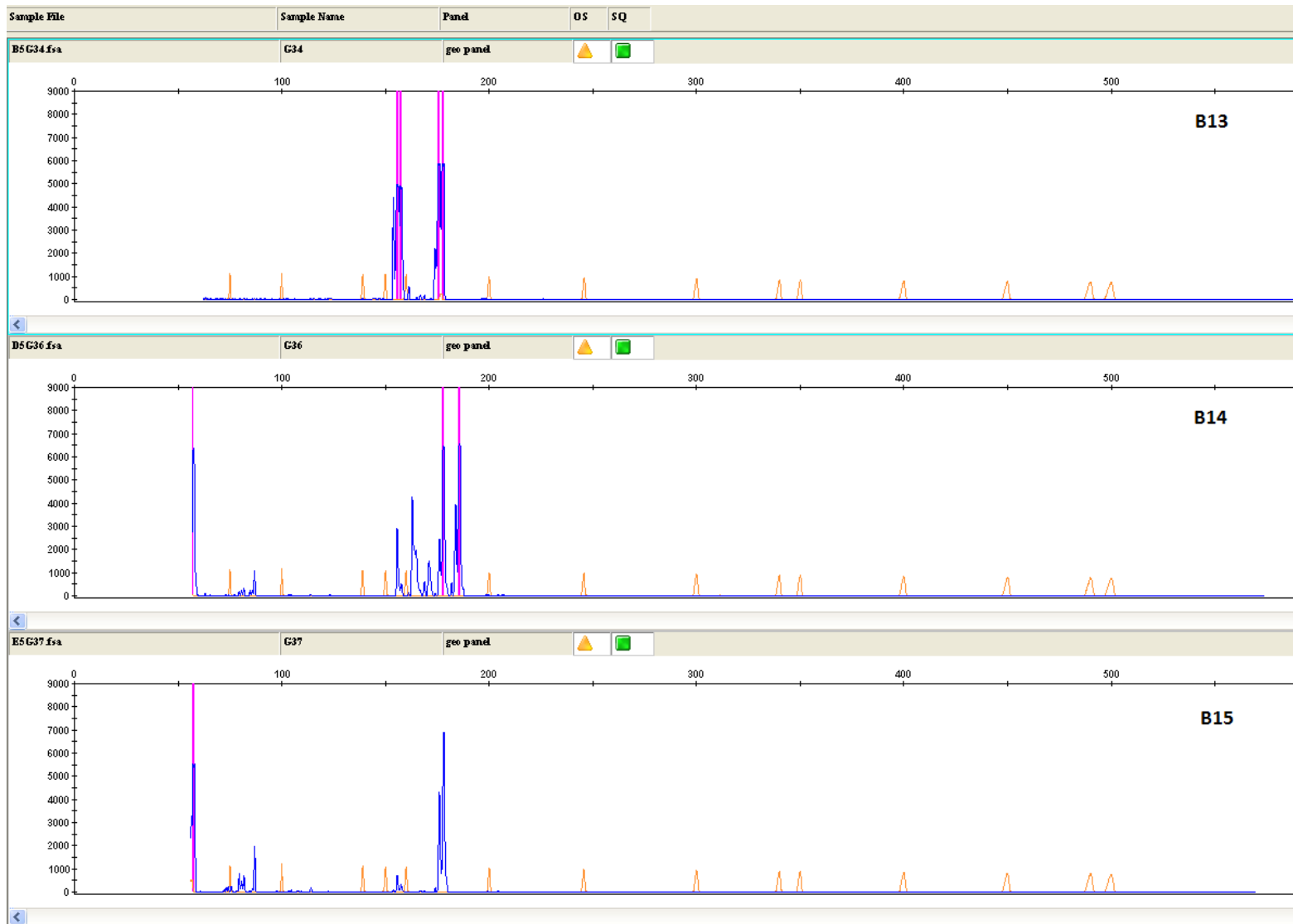
Εκκλιητής VVMD27

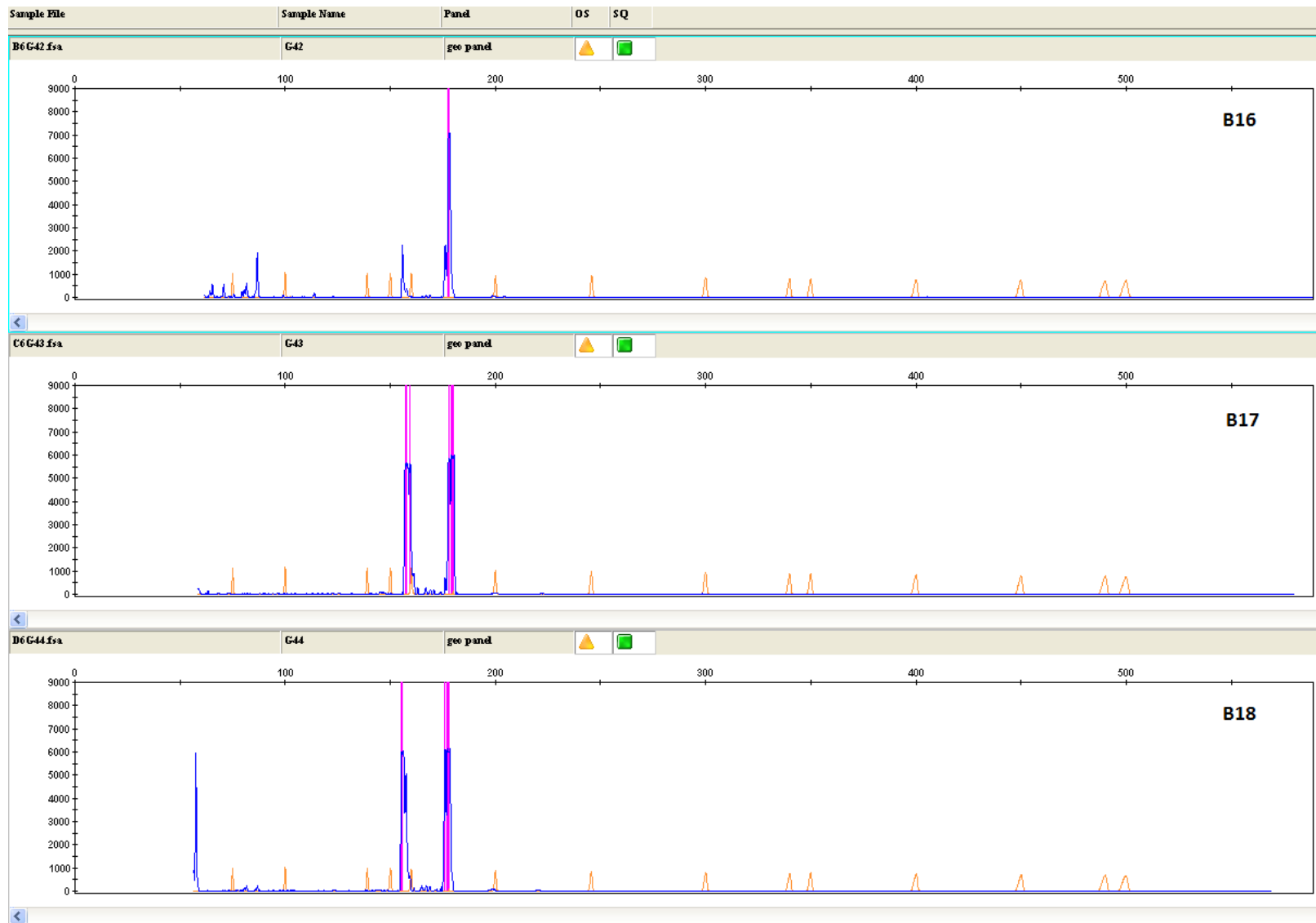


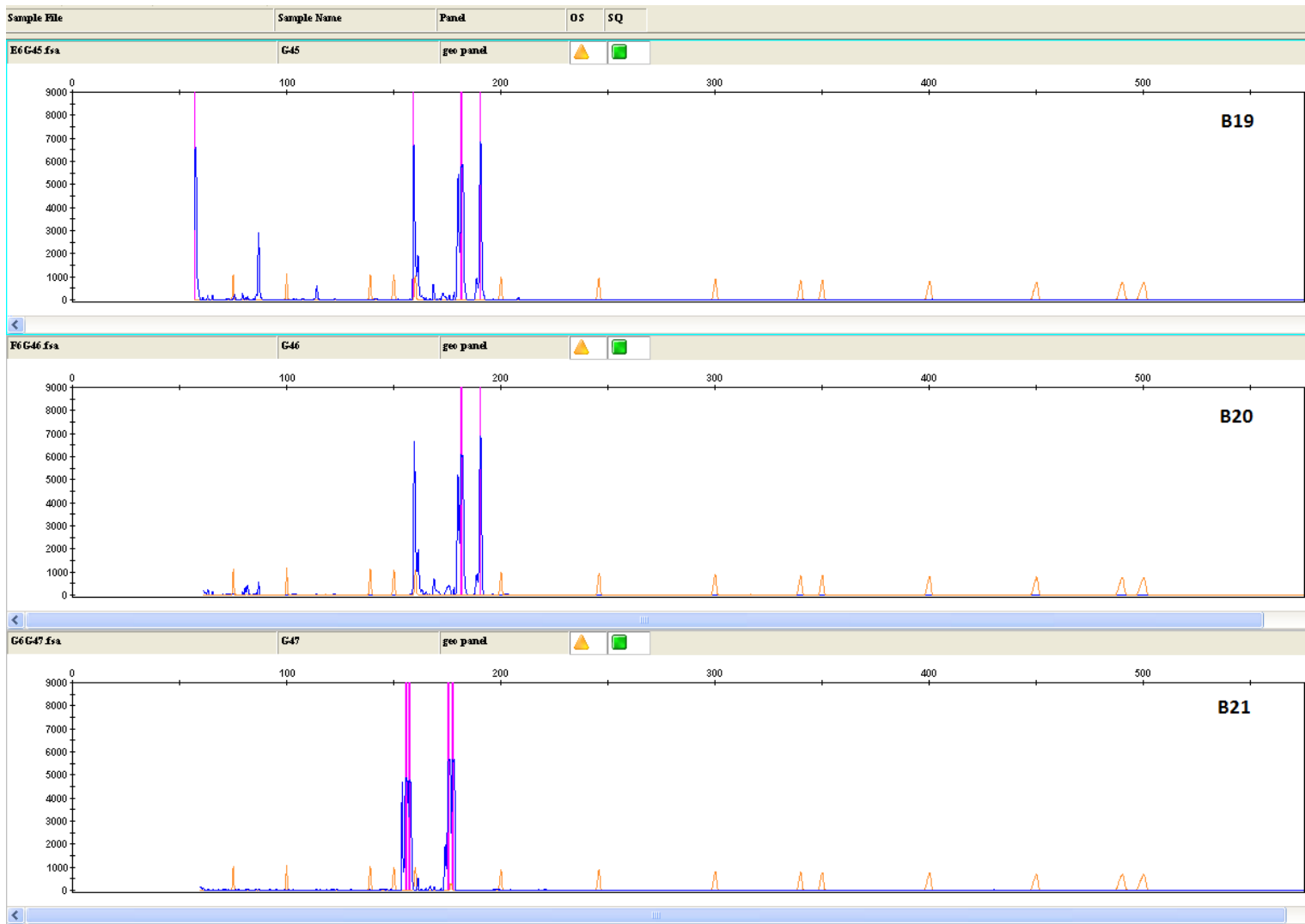


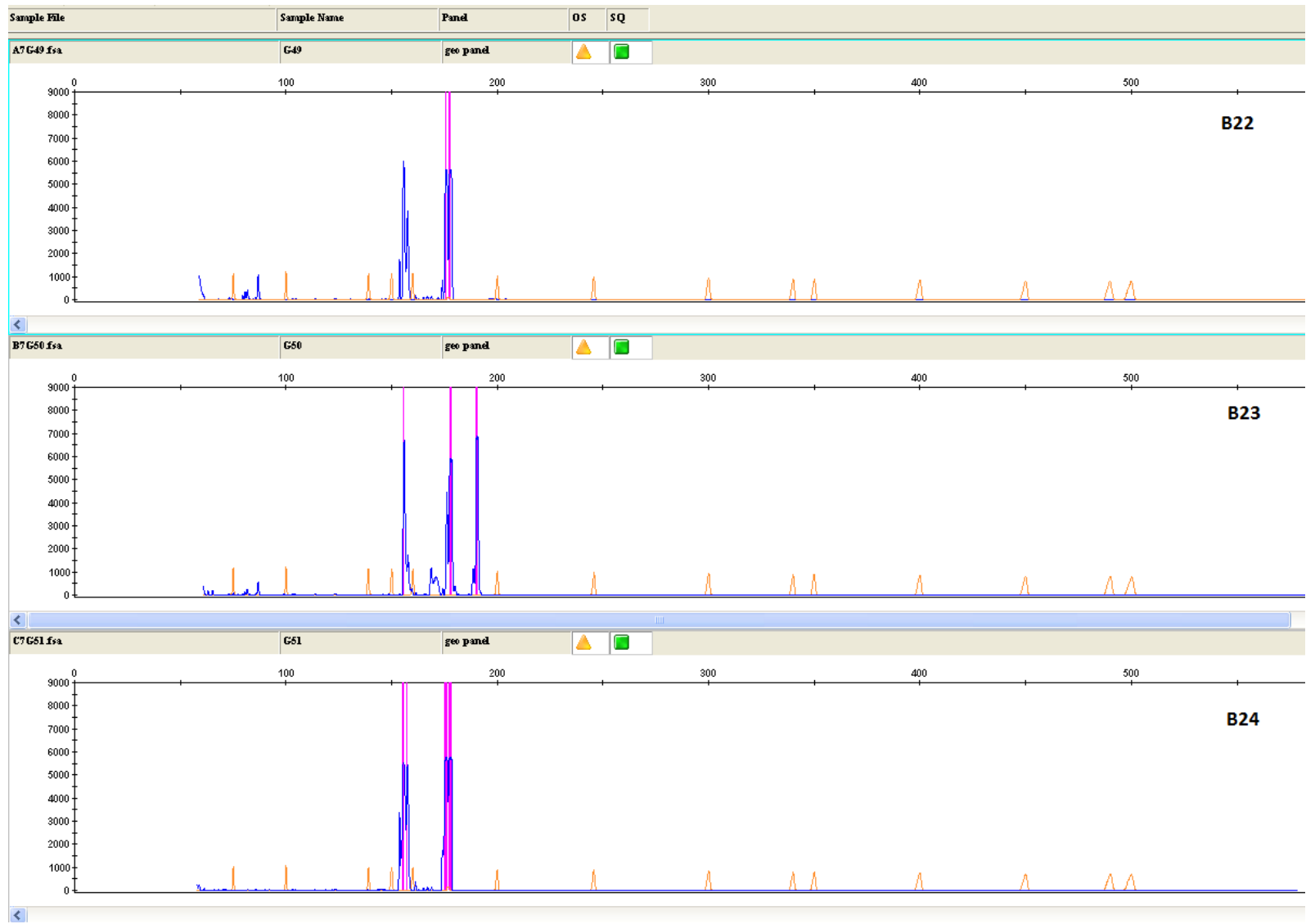


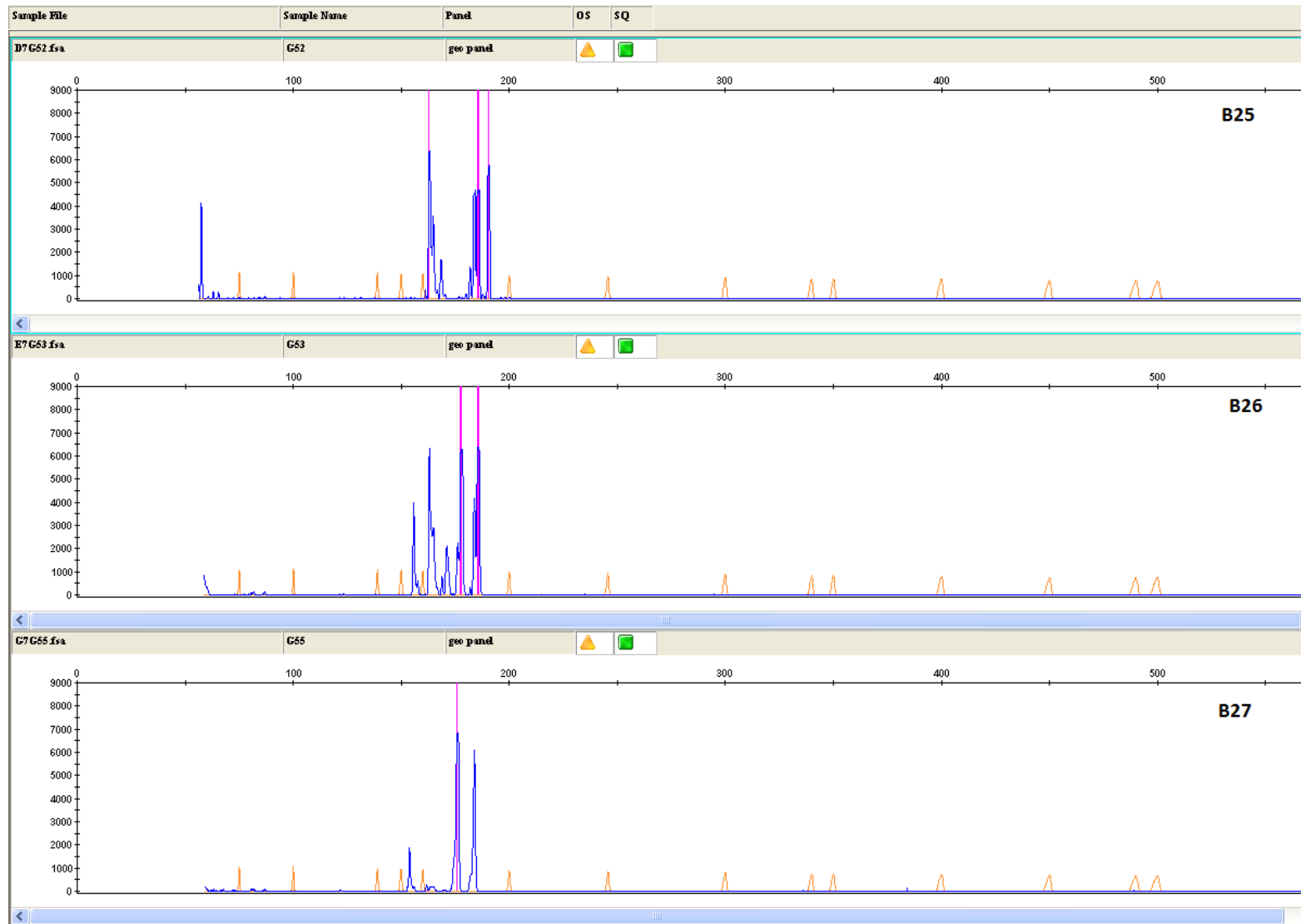




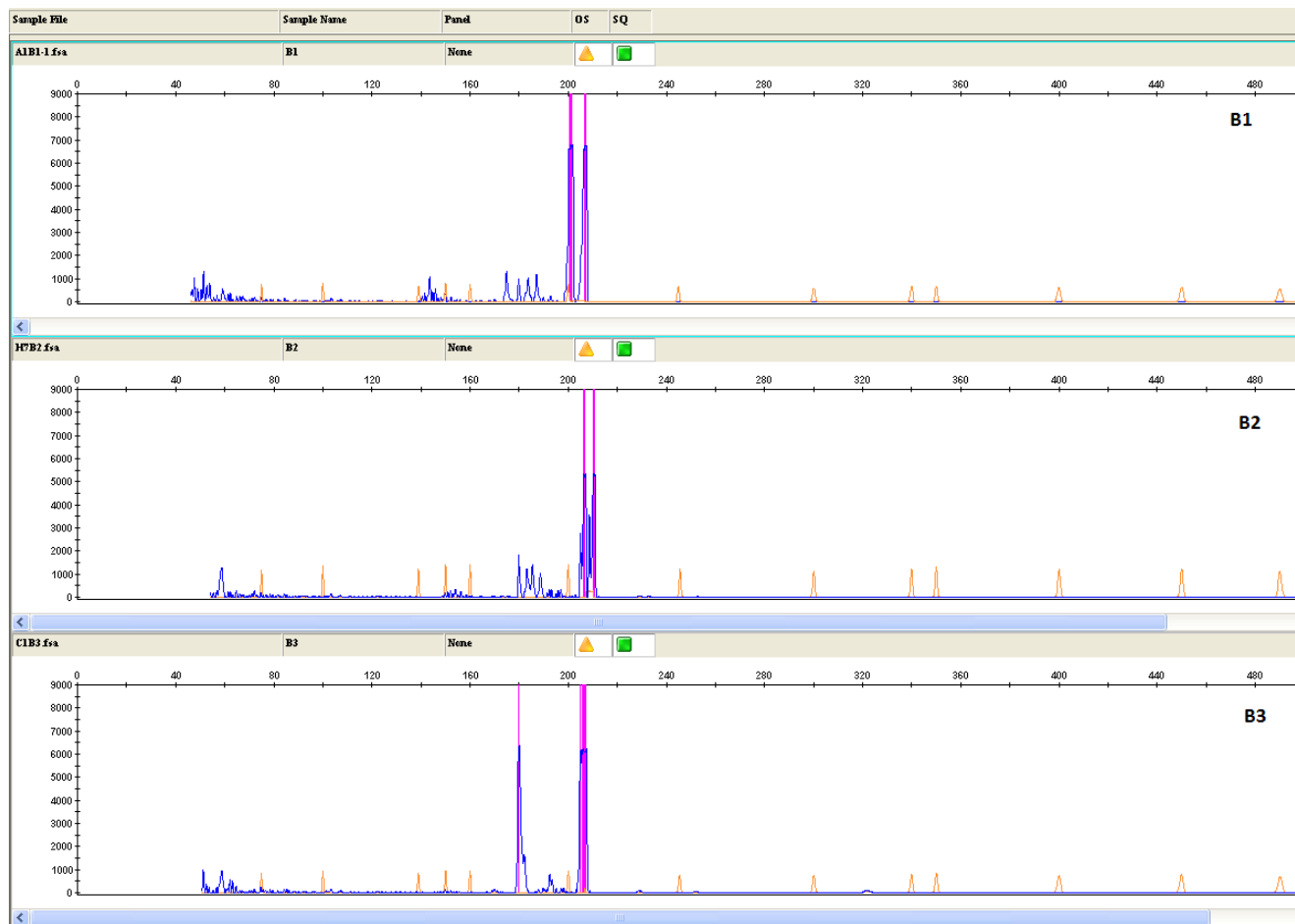




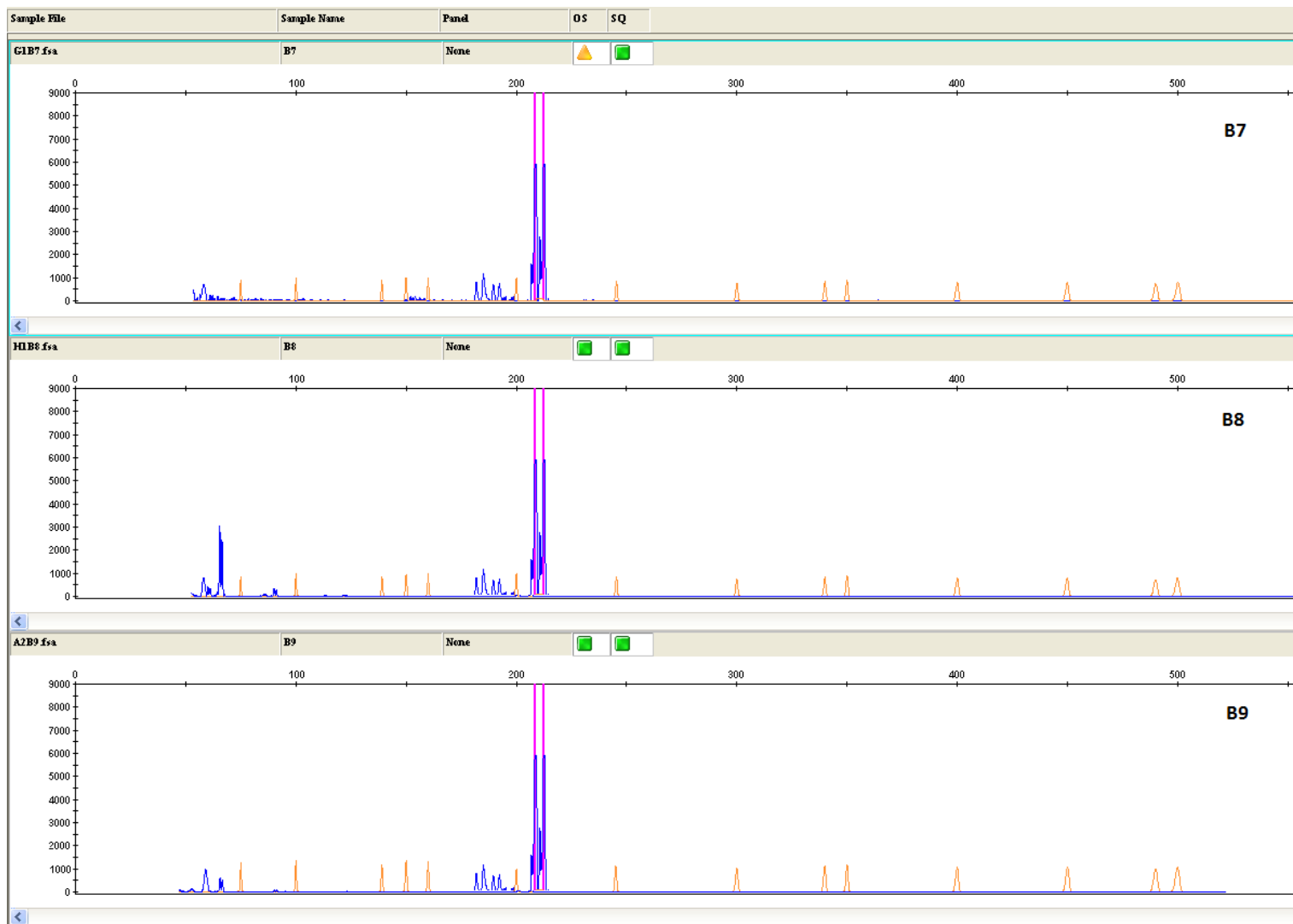


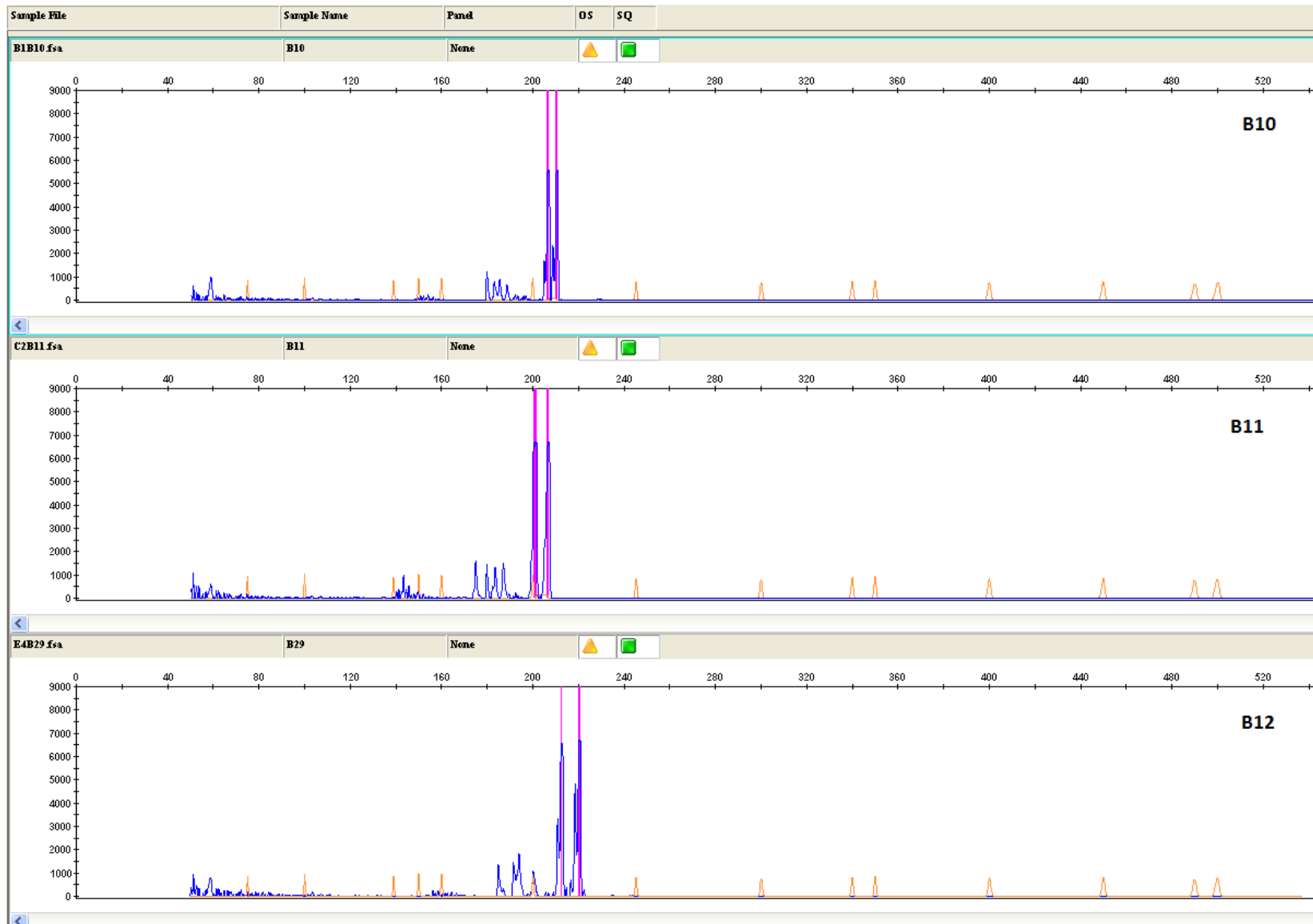


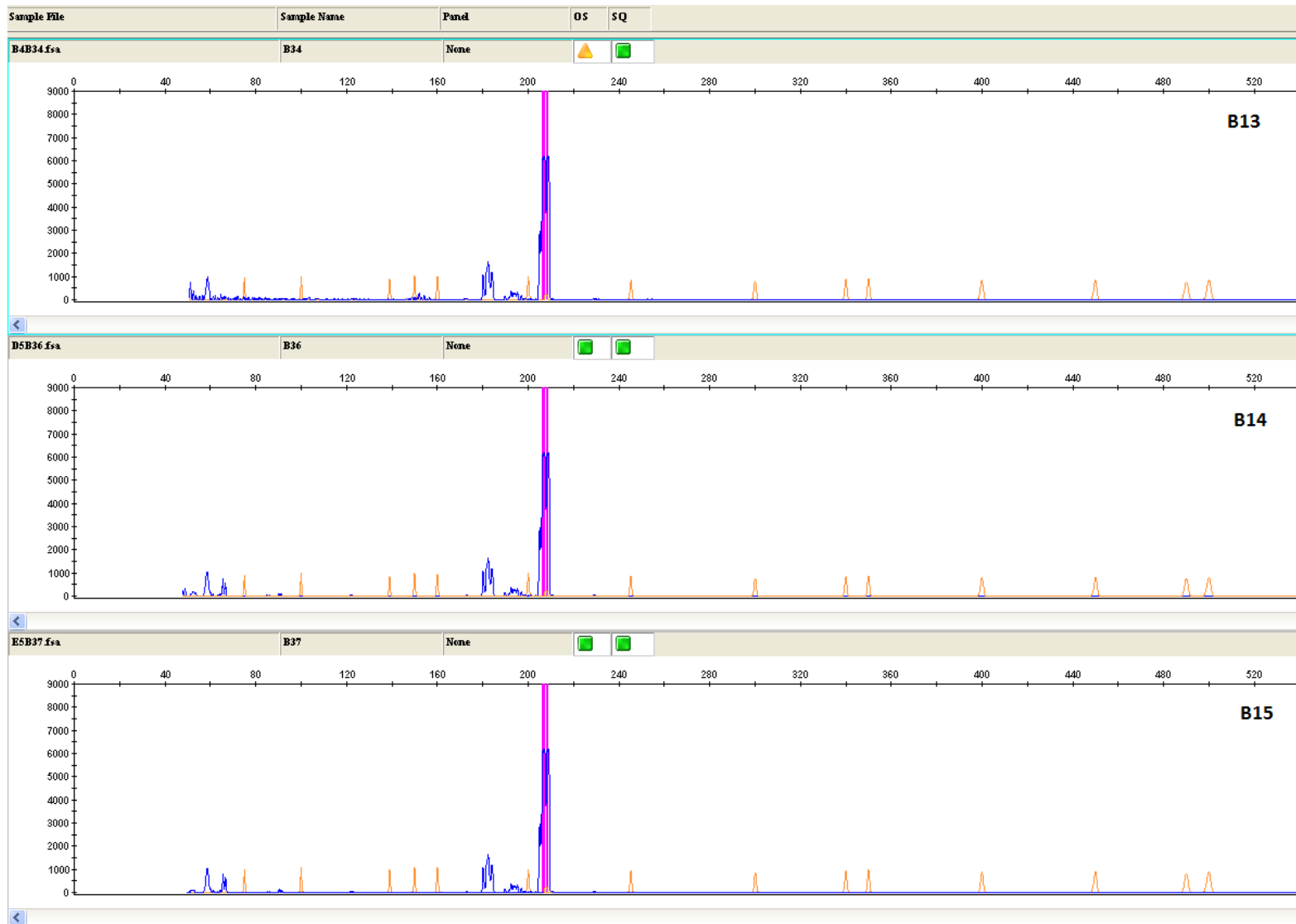
Εκκλιητής VVMD31

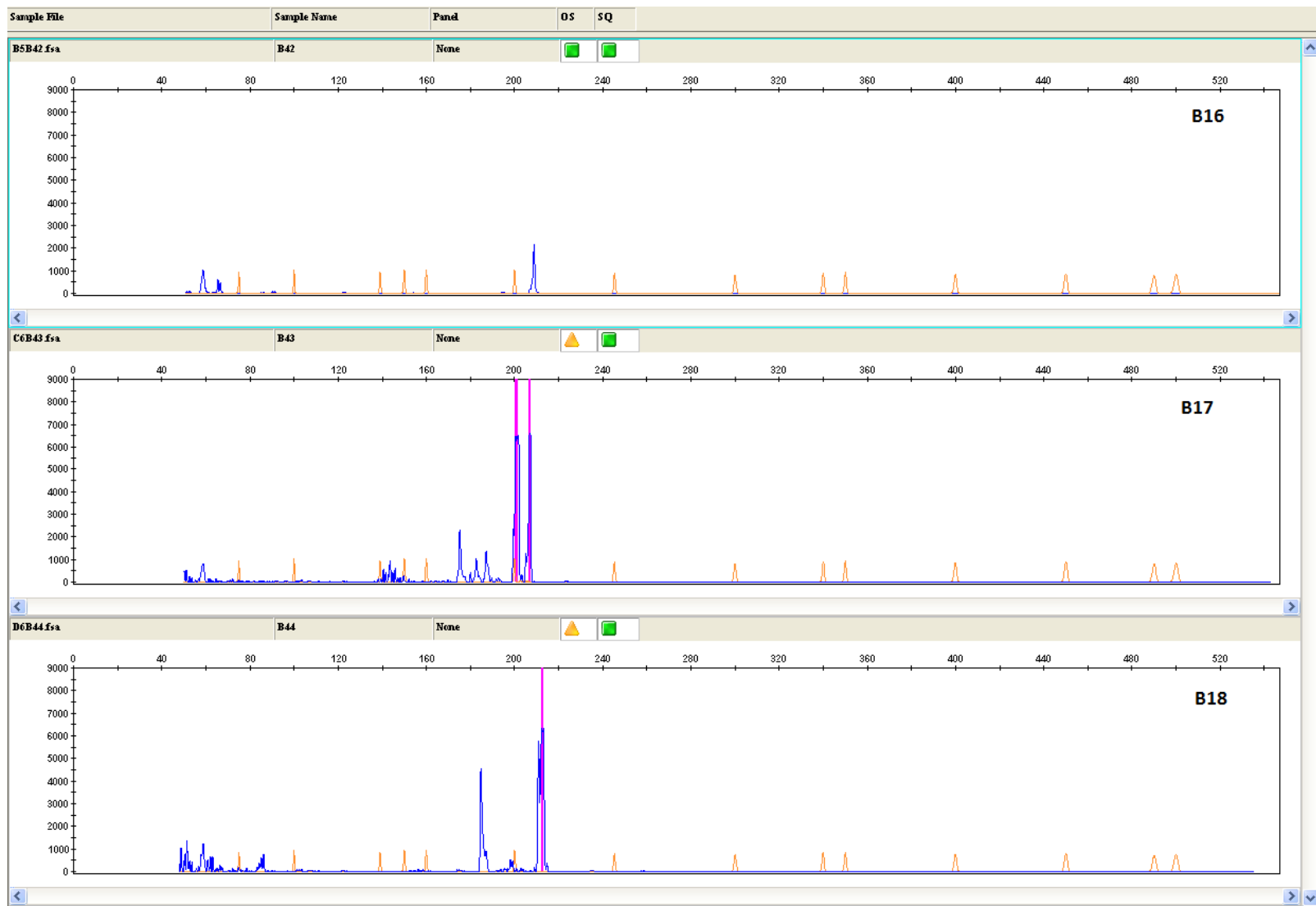




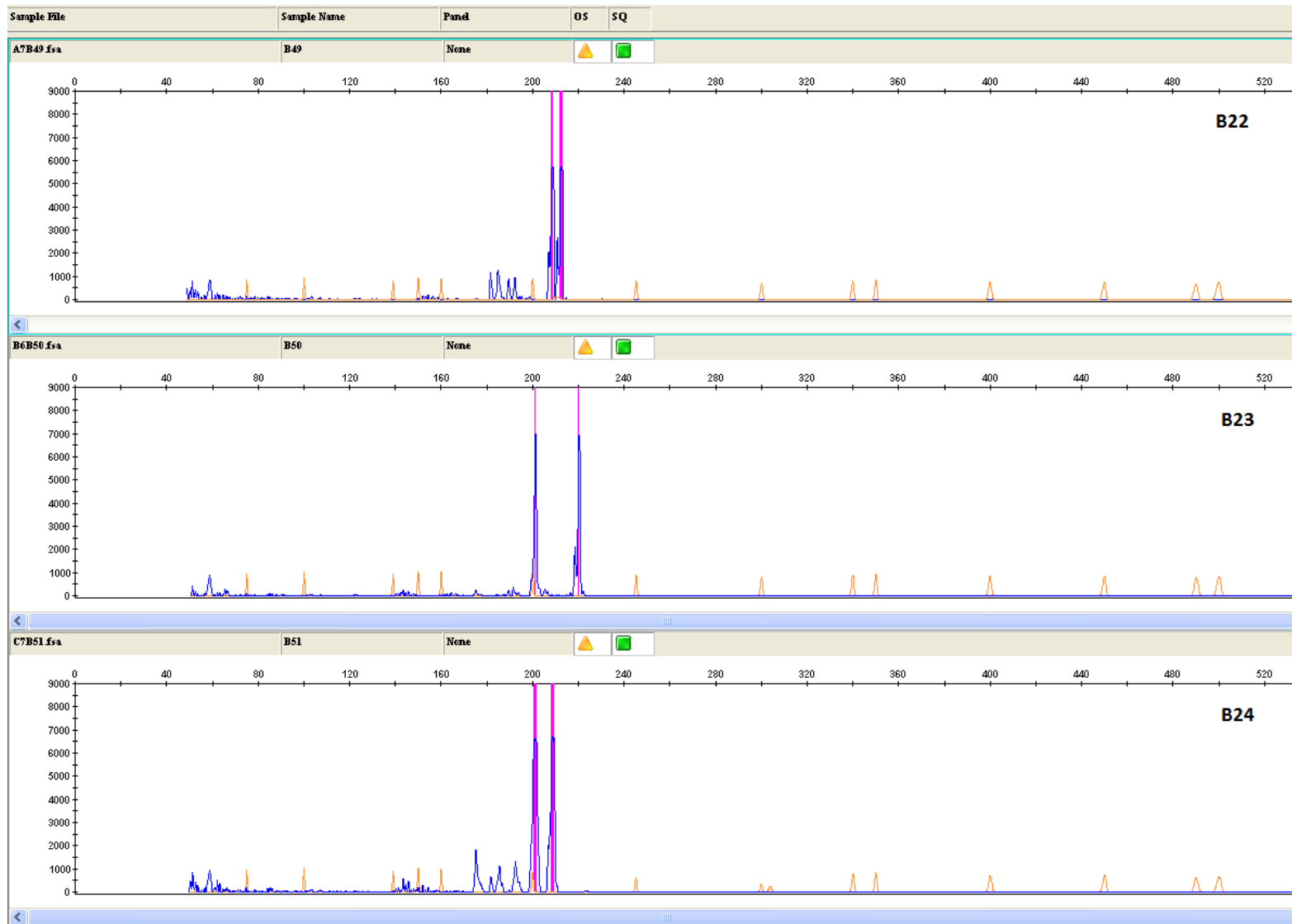


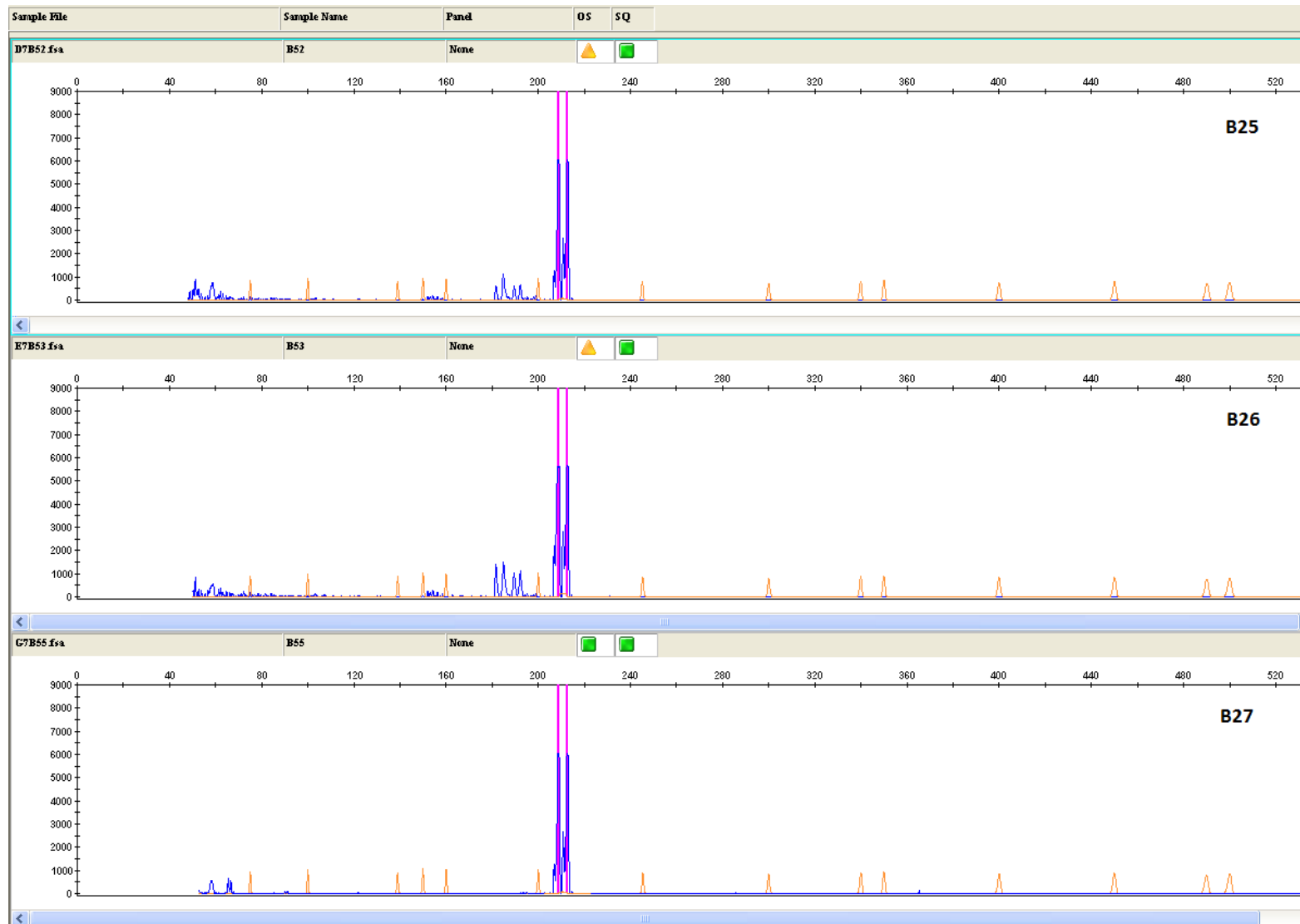




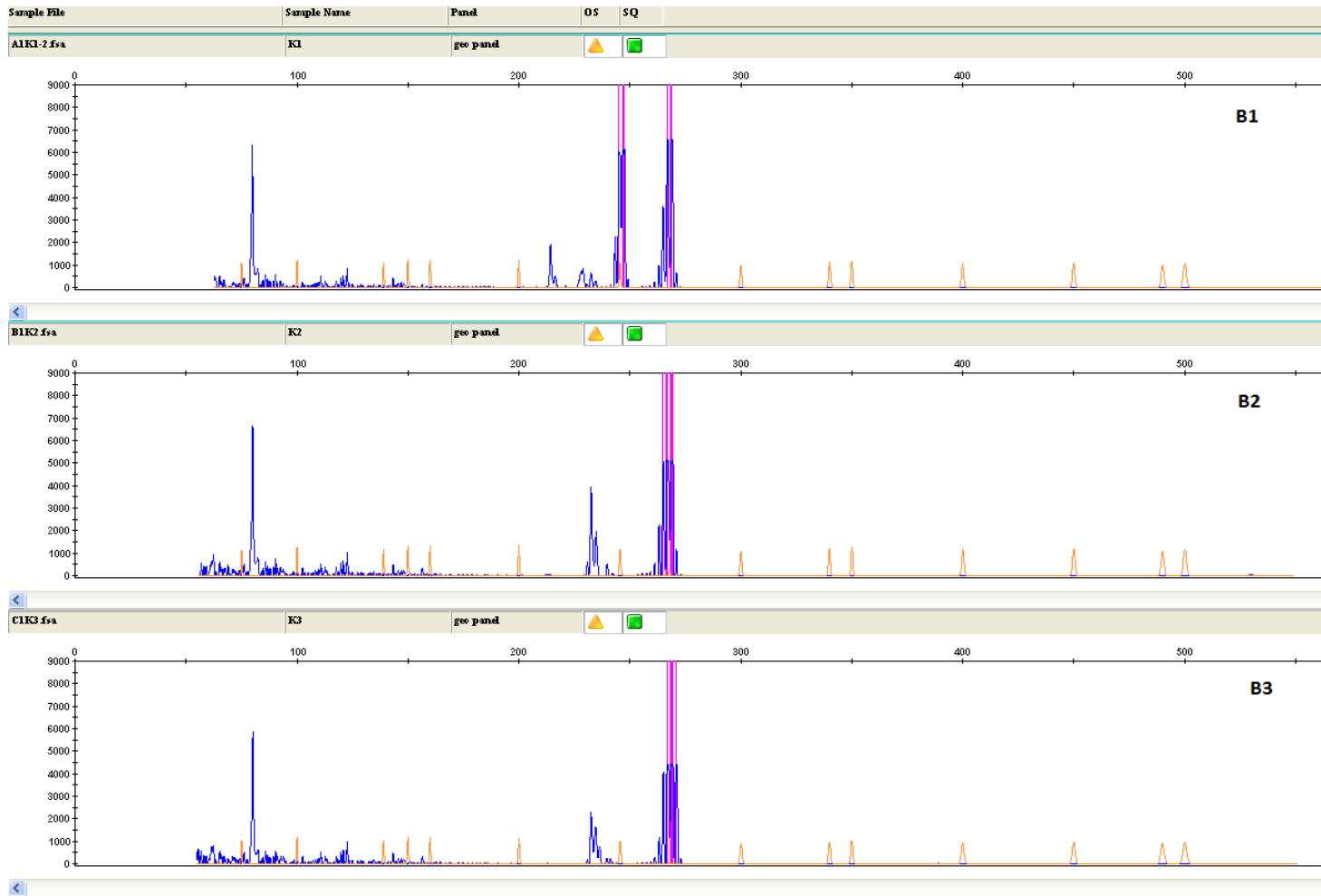


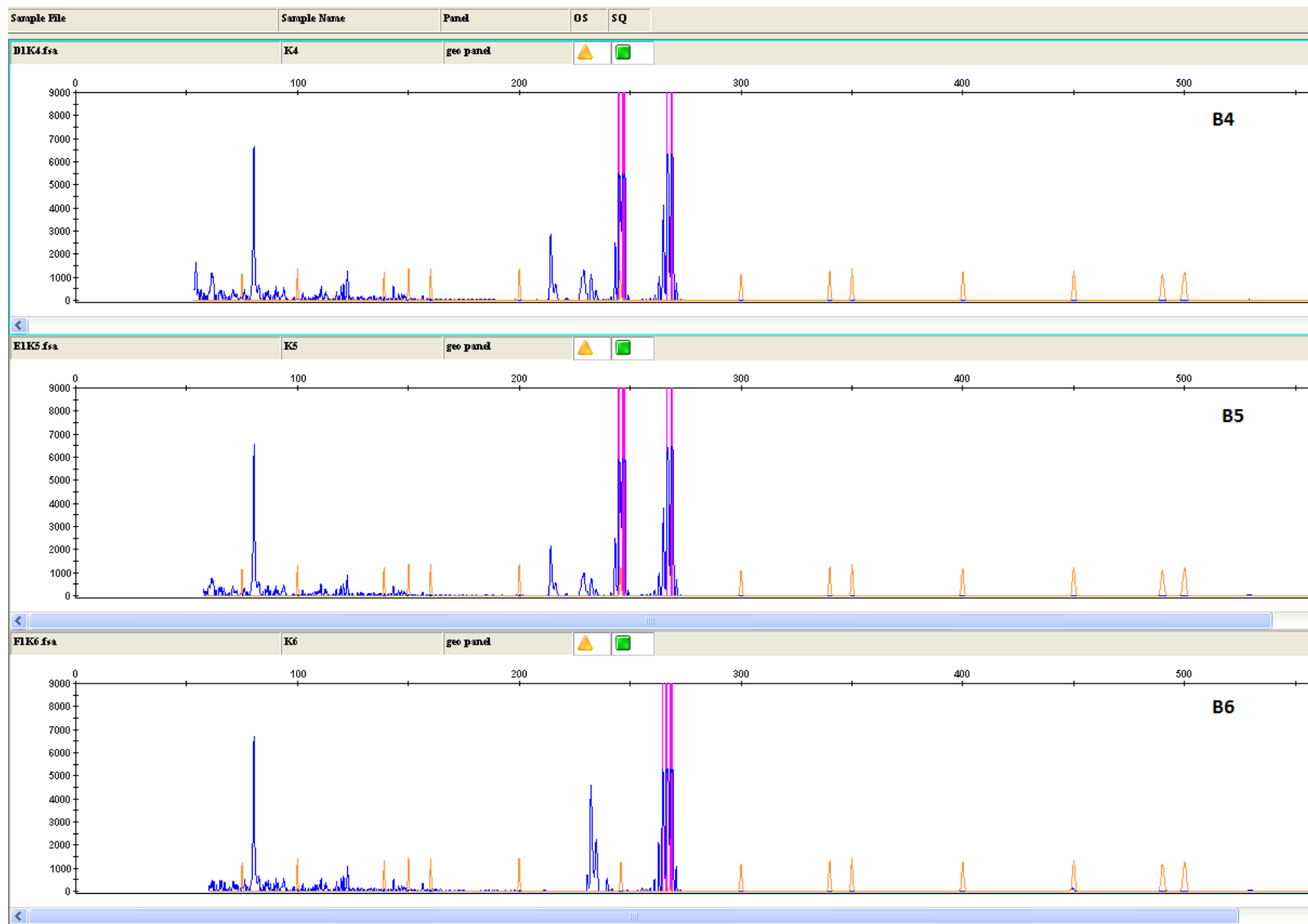


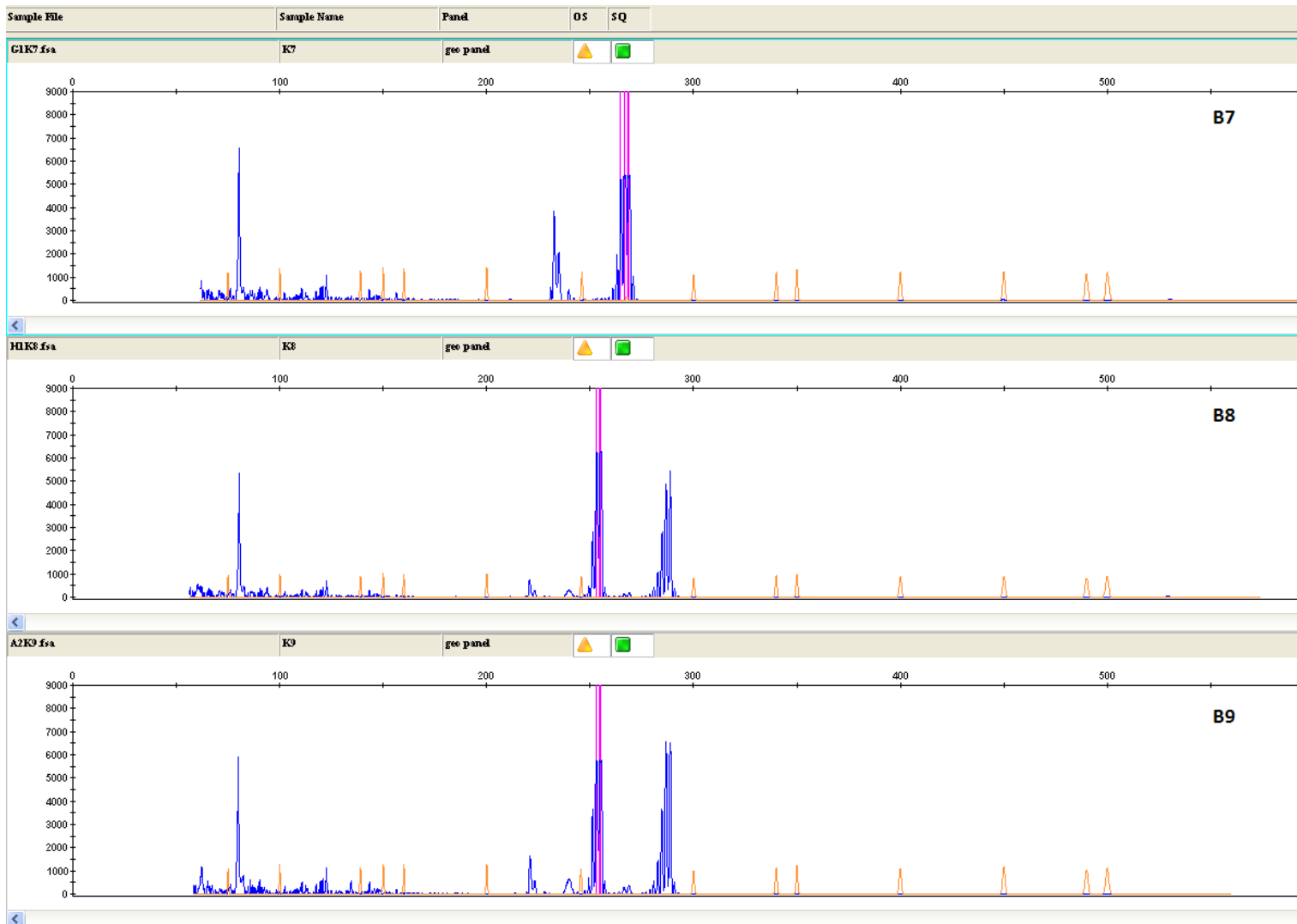


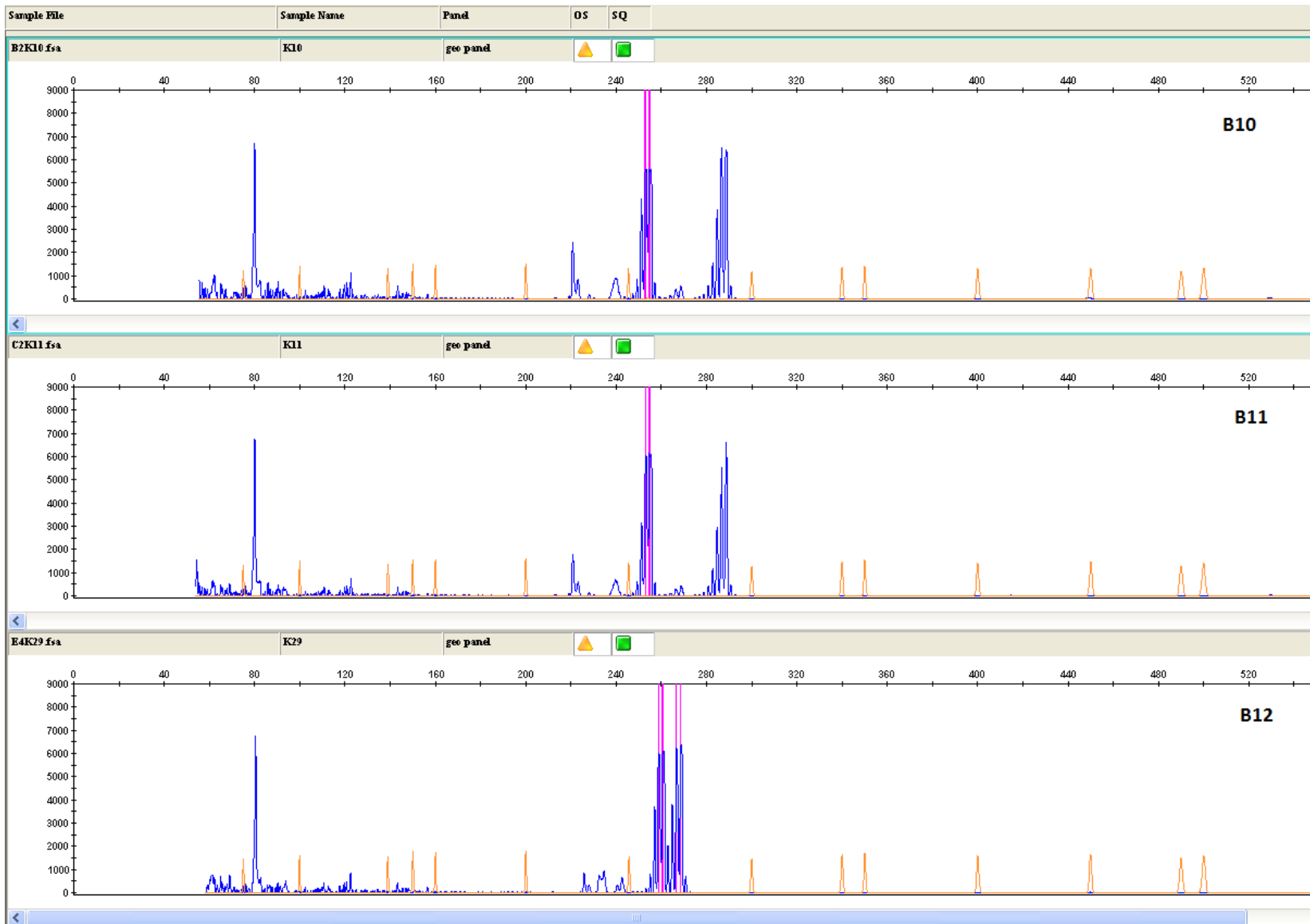


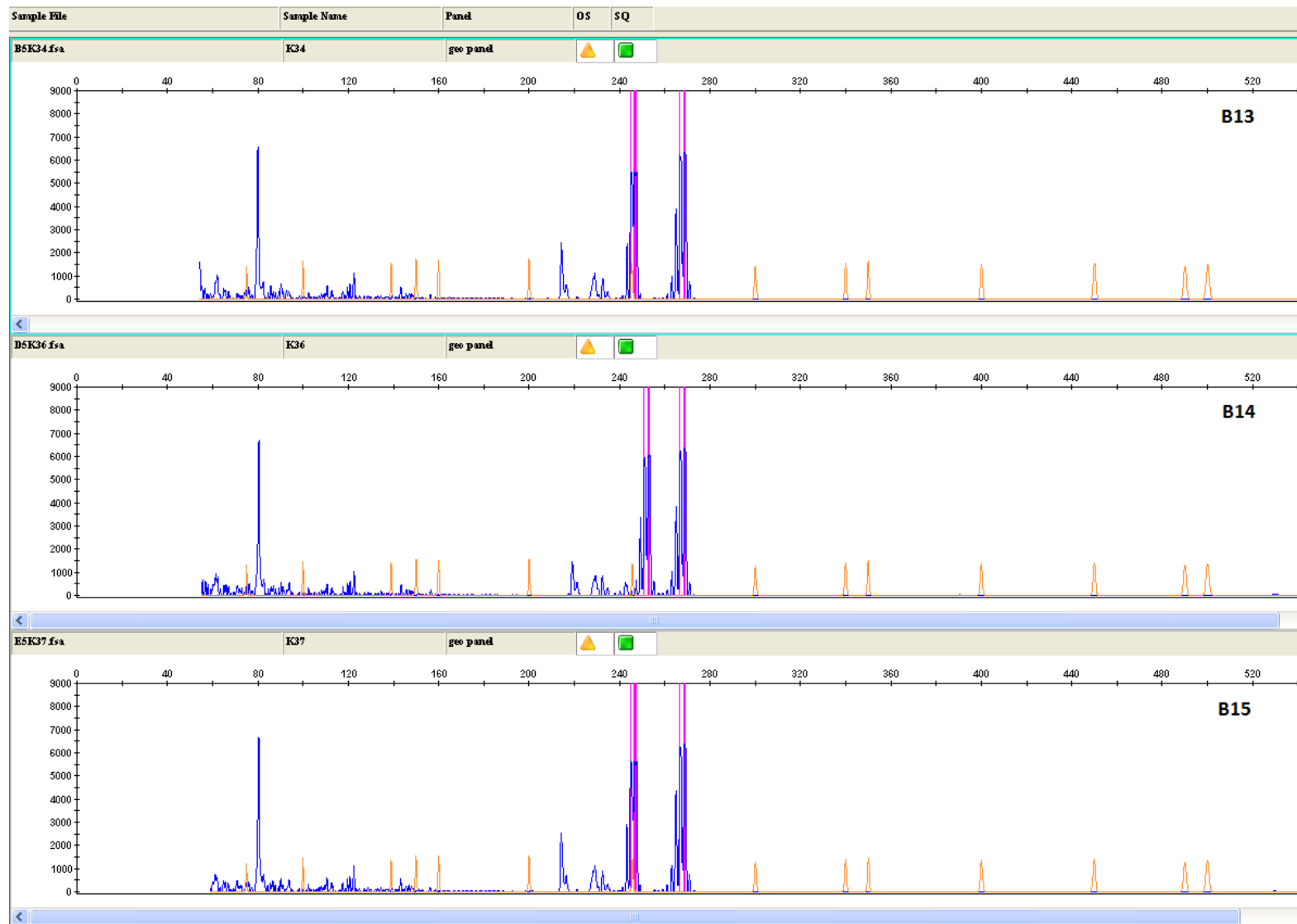
Εκκλιητής VVMD32

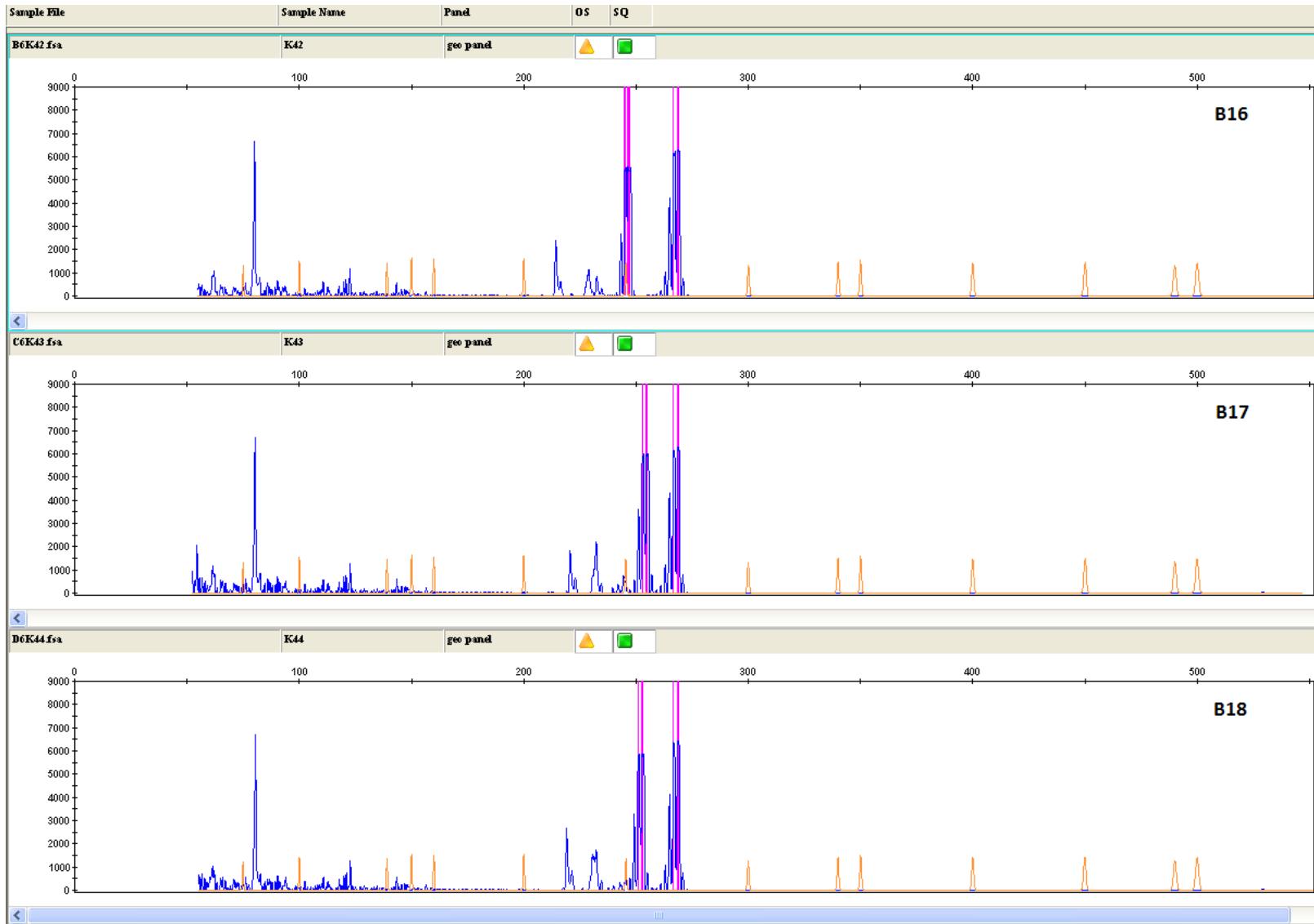


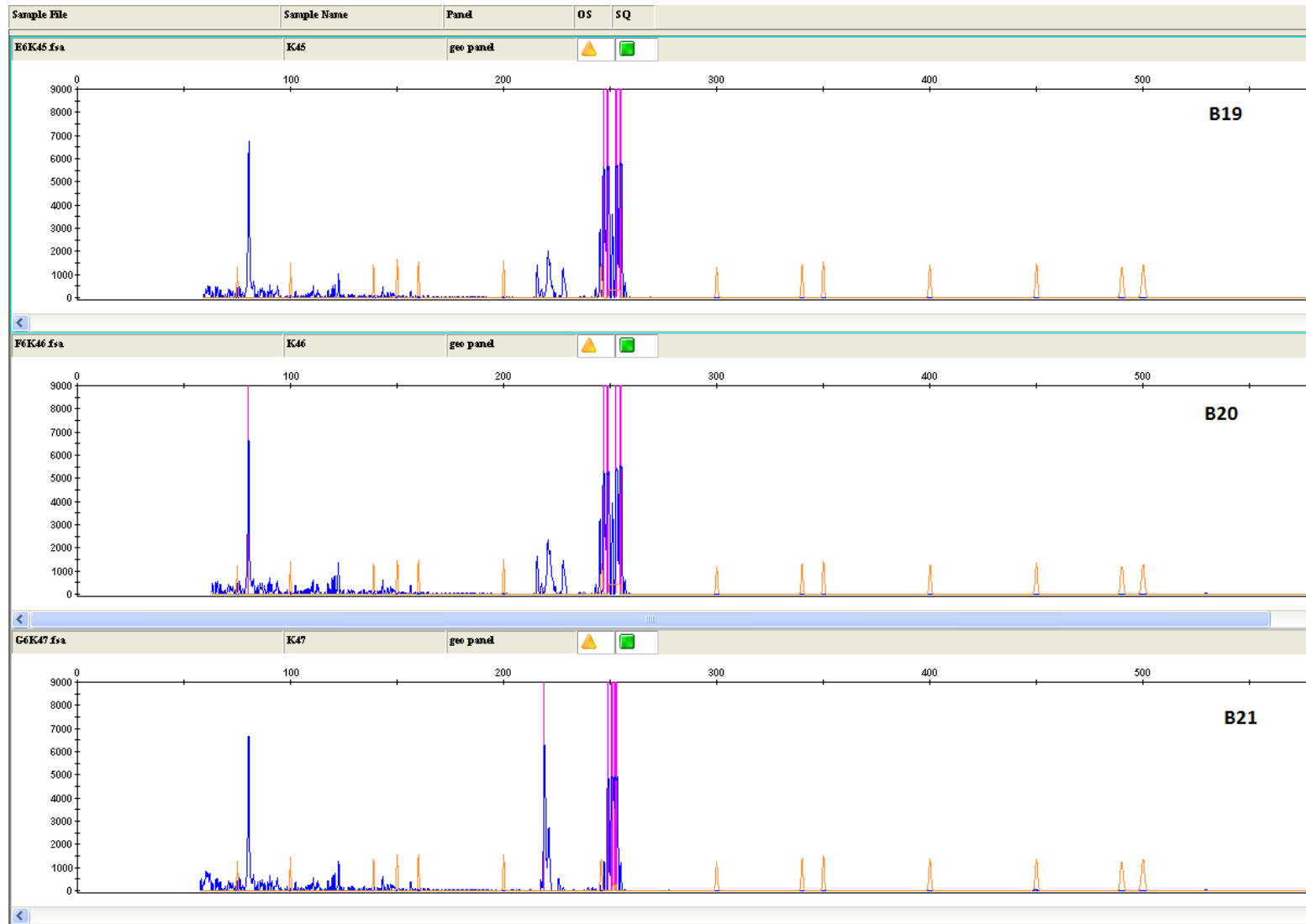


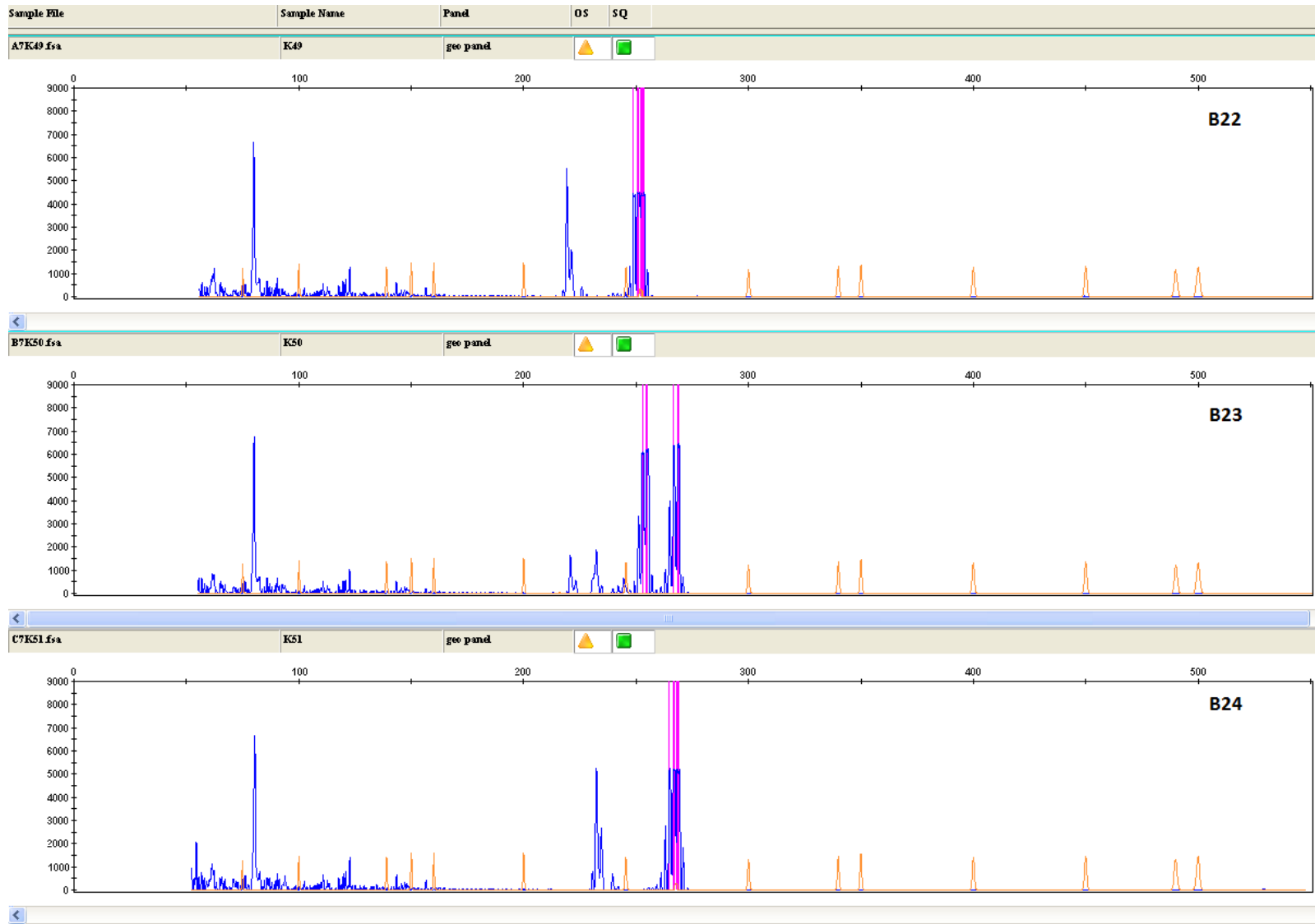


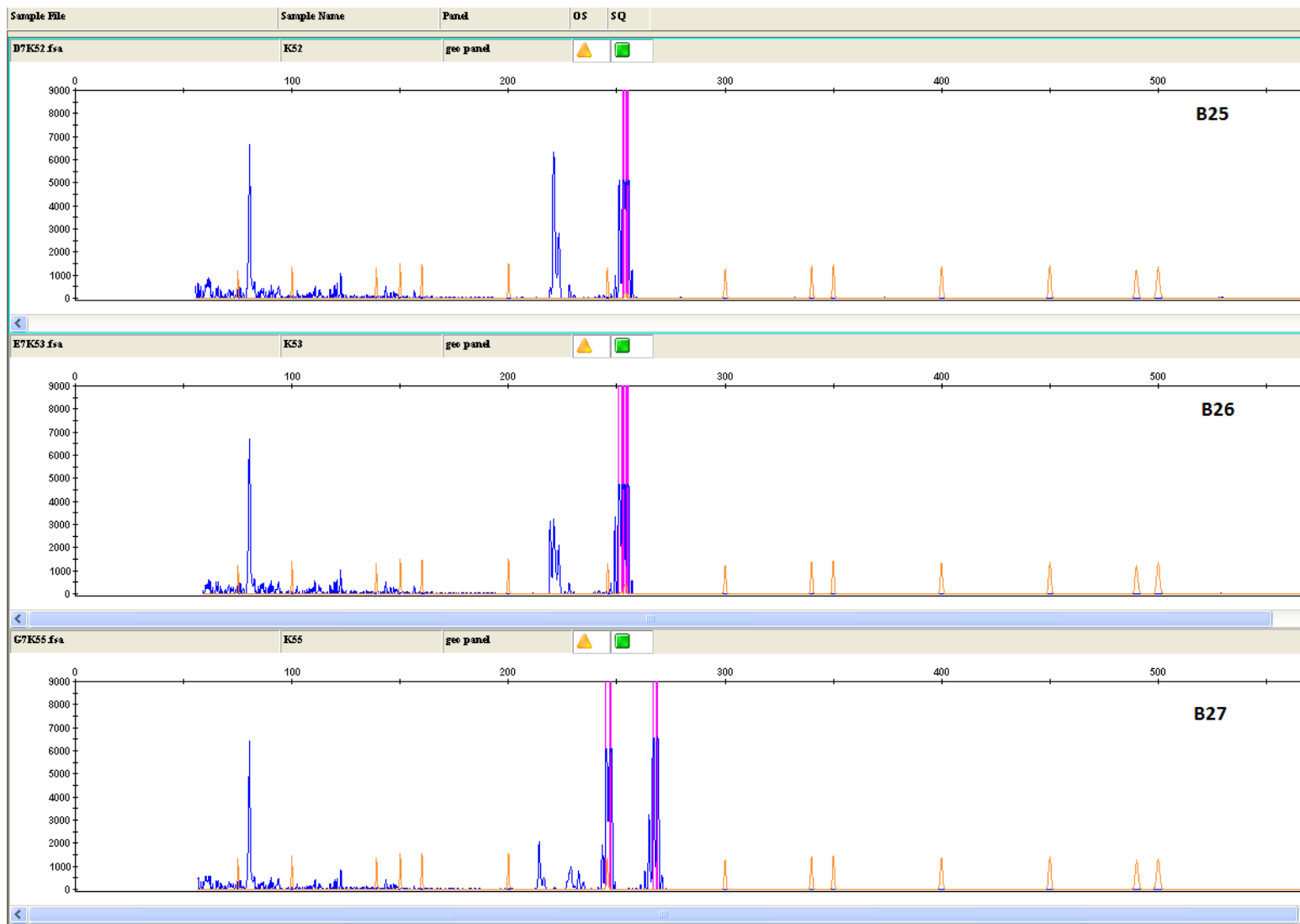








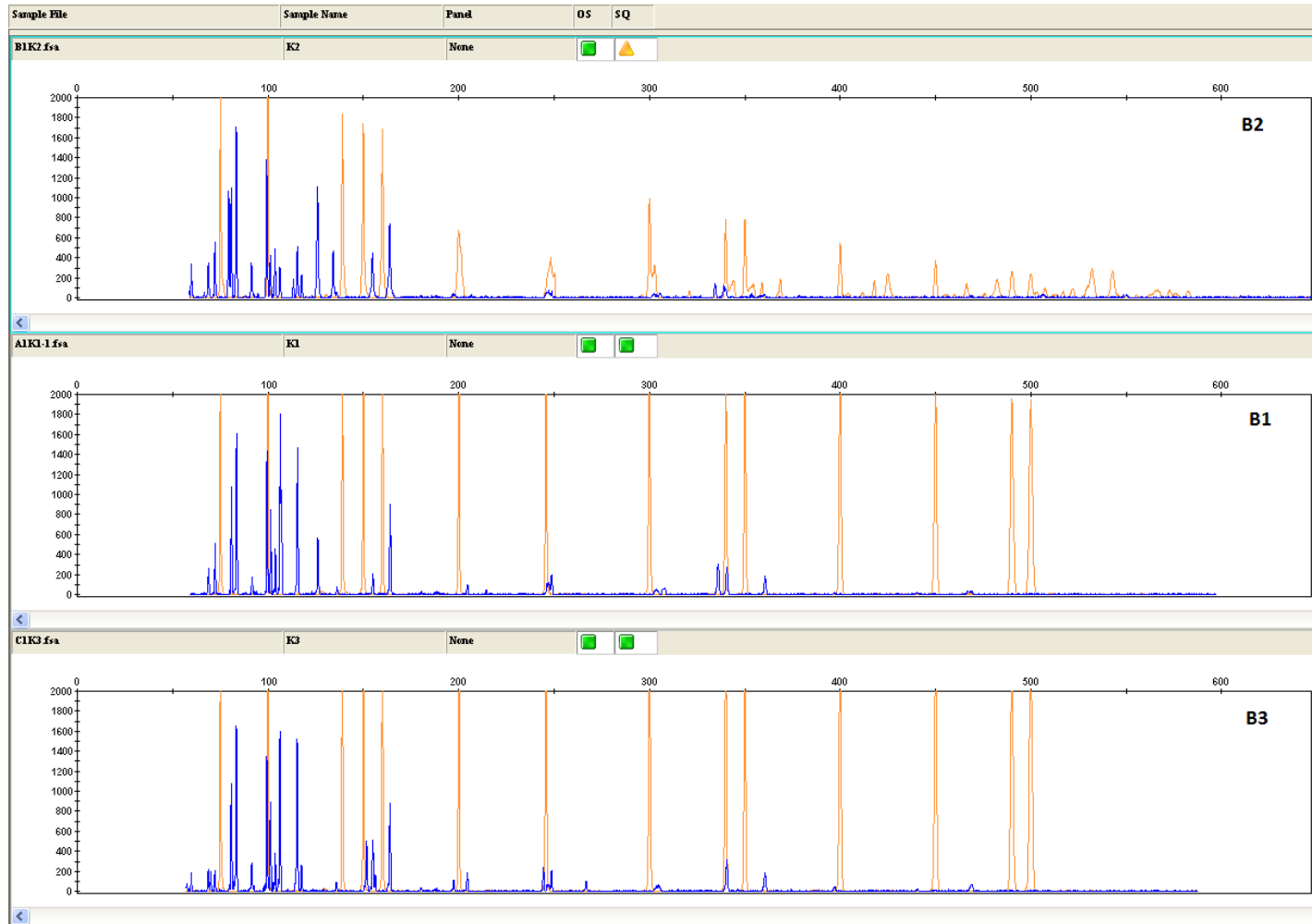


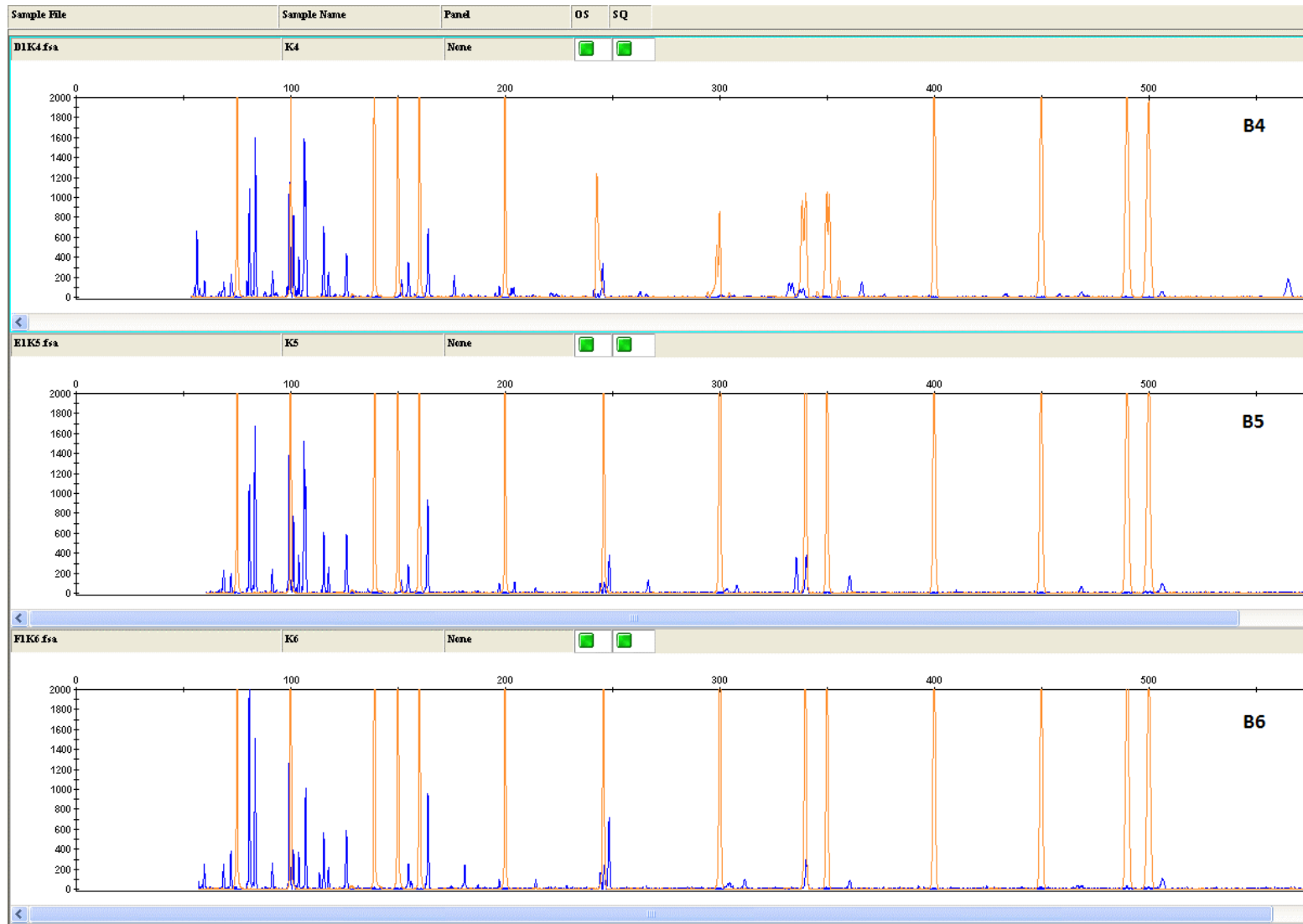


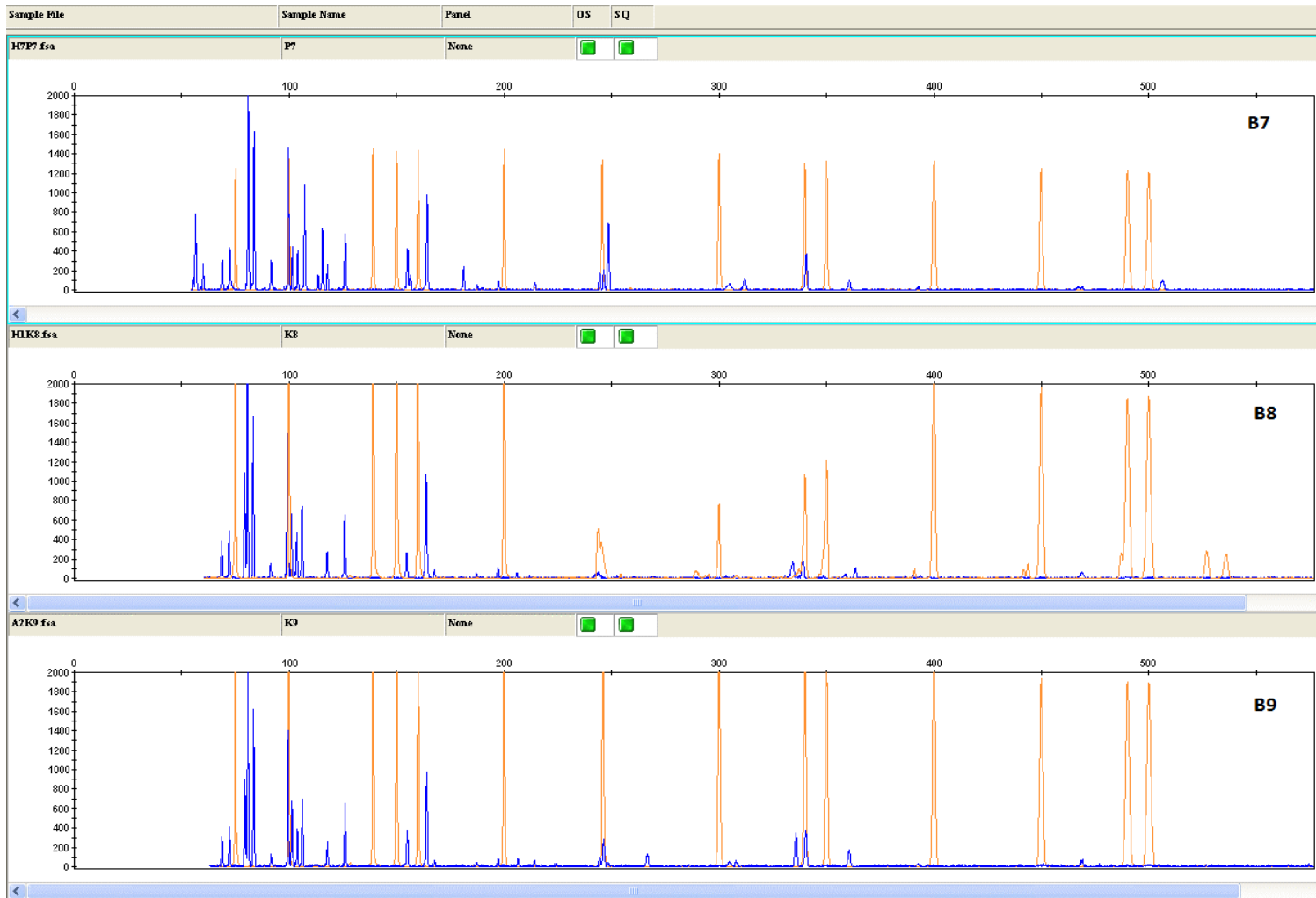
Ηλεκτροφορήματα των ενισχυμένων προϊόντων των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν με τη μέθοδο AFLP, όπως αυτά παρουσιάζονται από τον Αυτόματο Αναλυτή Γονιδιώματος ABI 310 (Applied Biosystems).

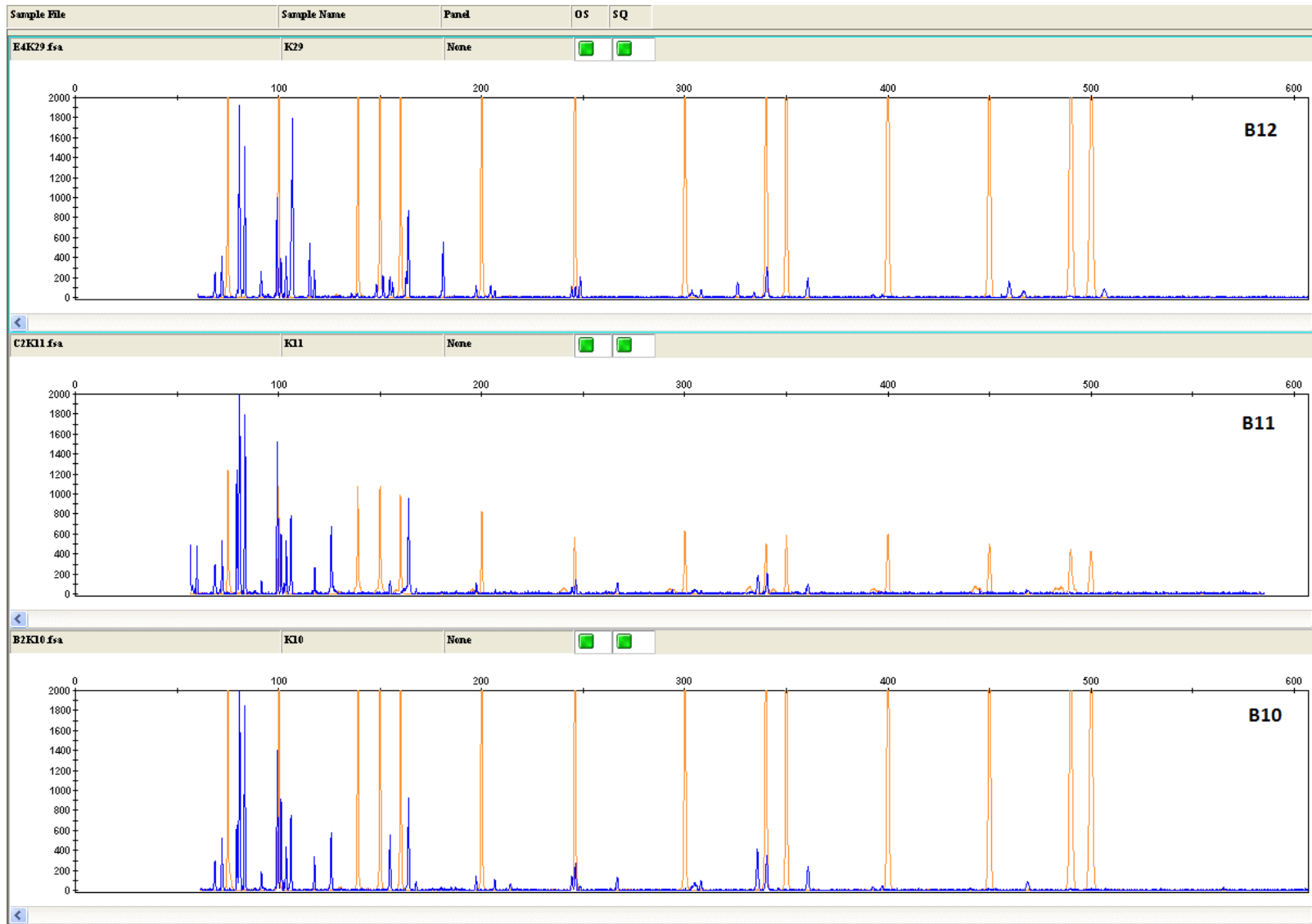
Η πορτοκαλί γραμμή είναι το πρότυπο μέγεθος DNA (Gene-Scan 500-LIZ Size Standard, Applied Biosystems), ενώ με το μπλε/πράσινο χρώμα είναι τα ενισχυμένα τμήματα του κάθε εκκινητή, ανάλογα με τις φθορίζουσες χρωστικές.

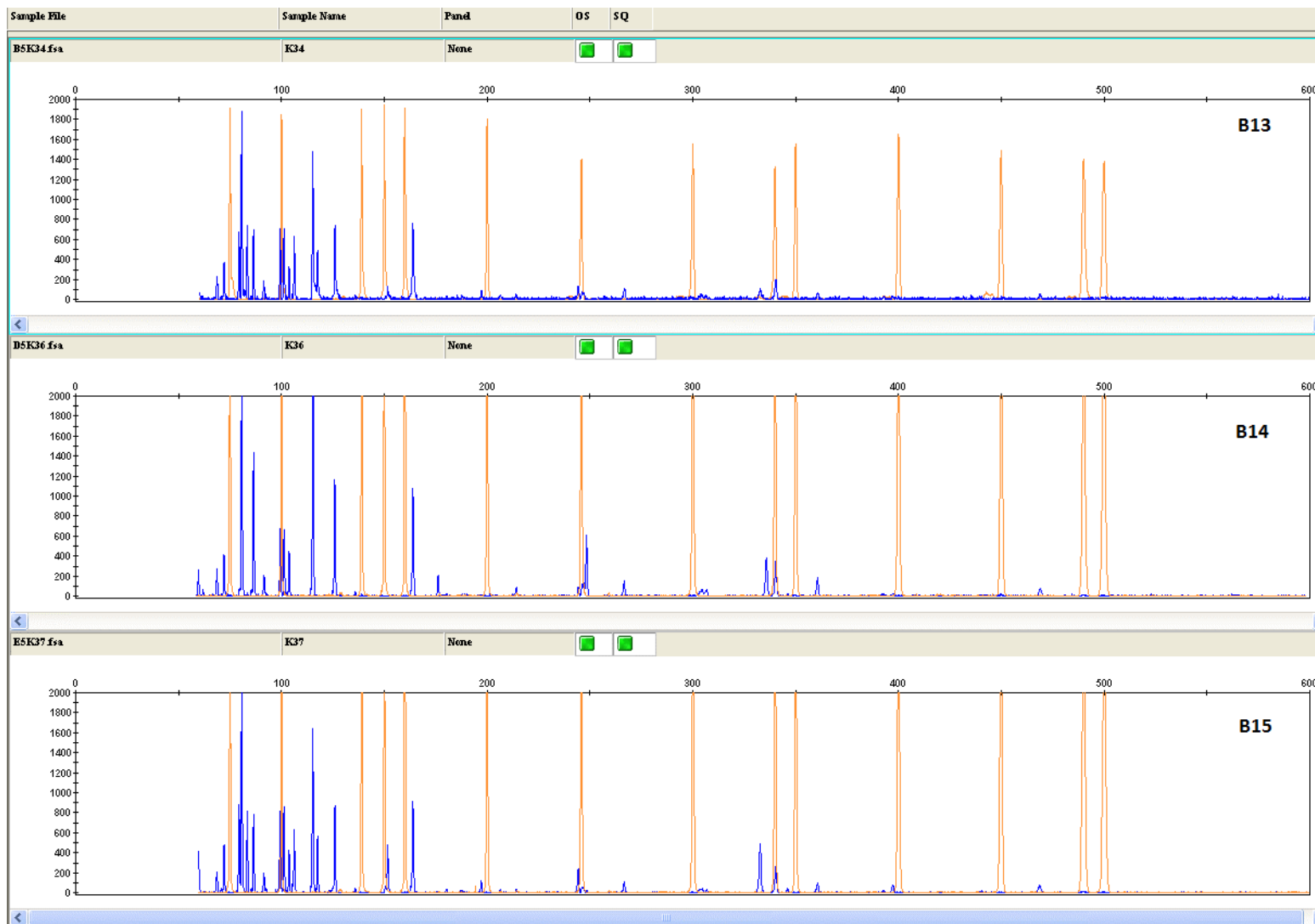
Εκκλητής EcoRI – ACA – MseI – CTA

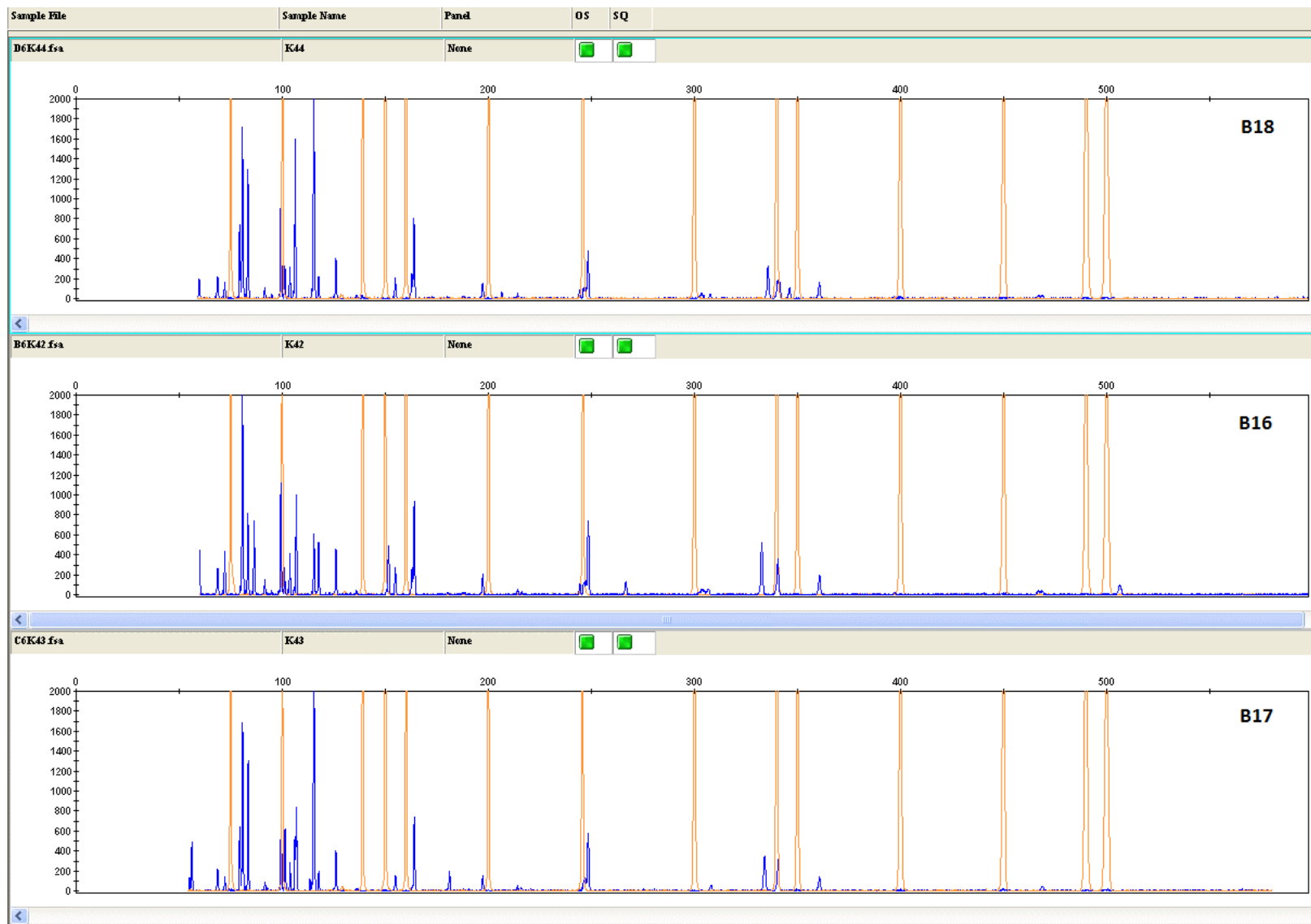


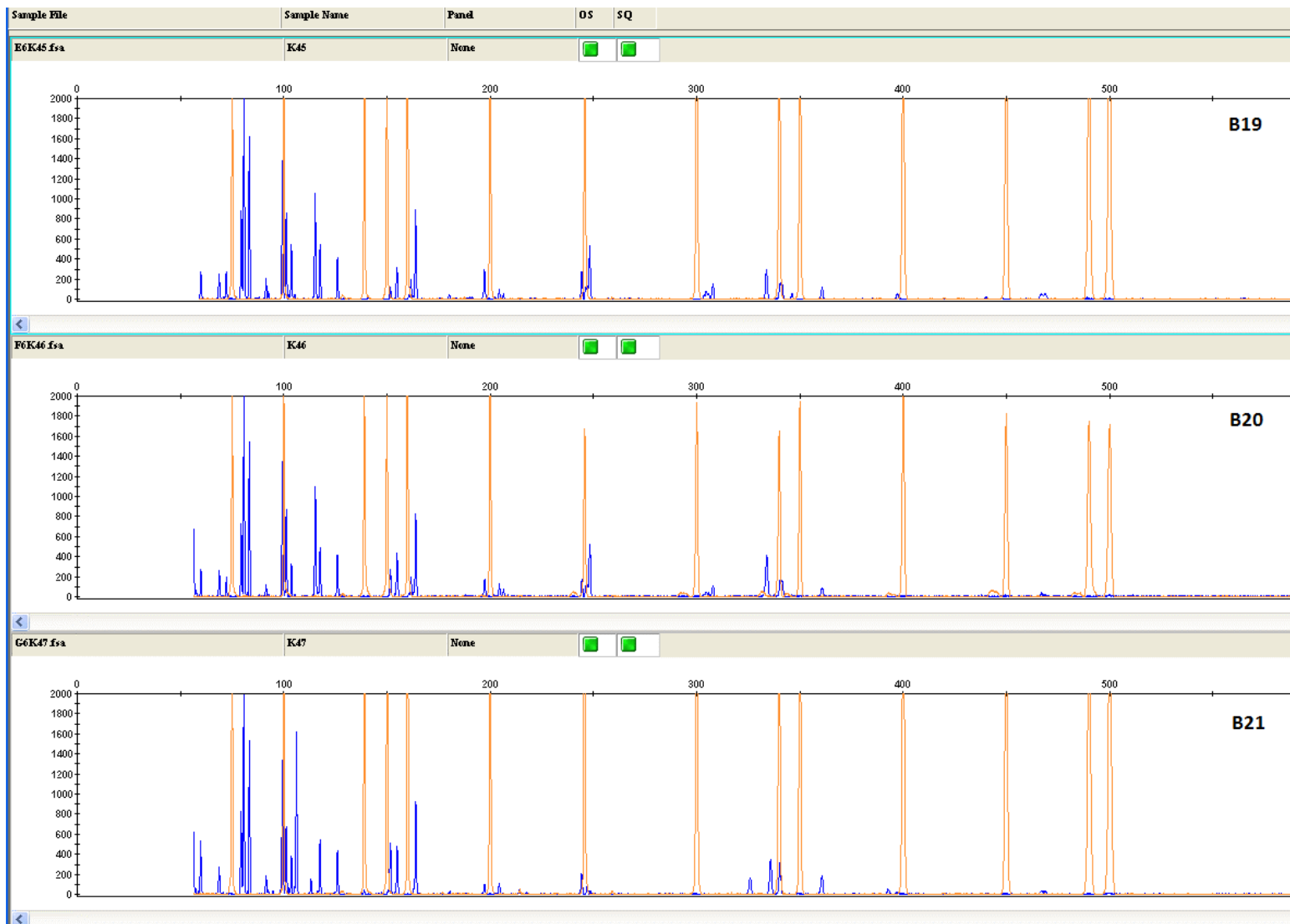


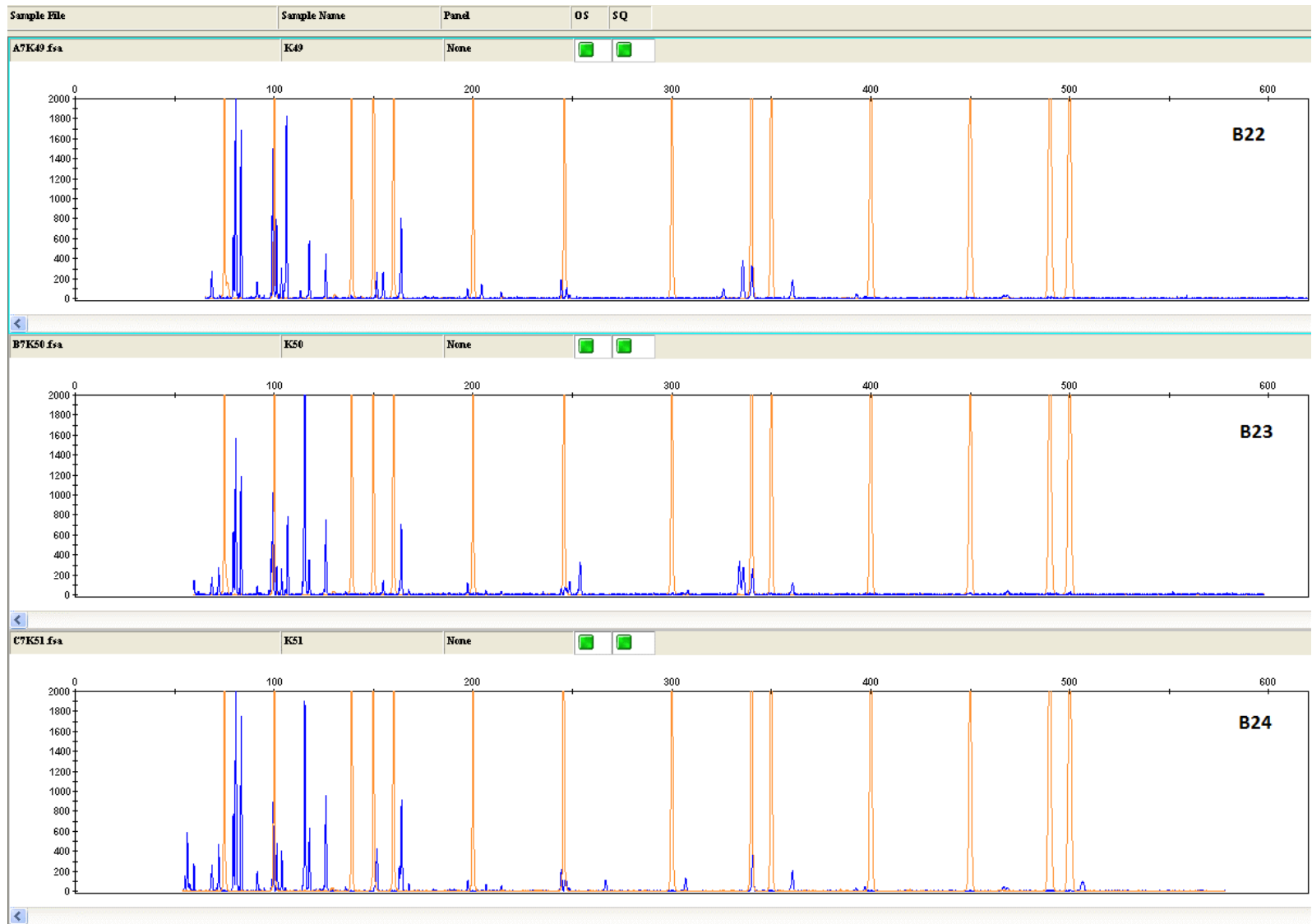


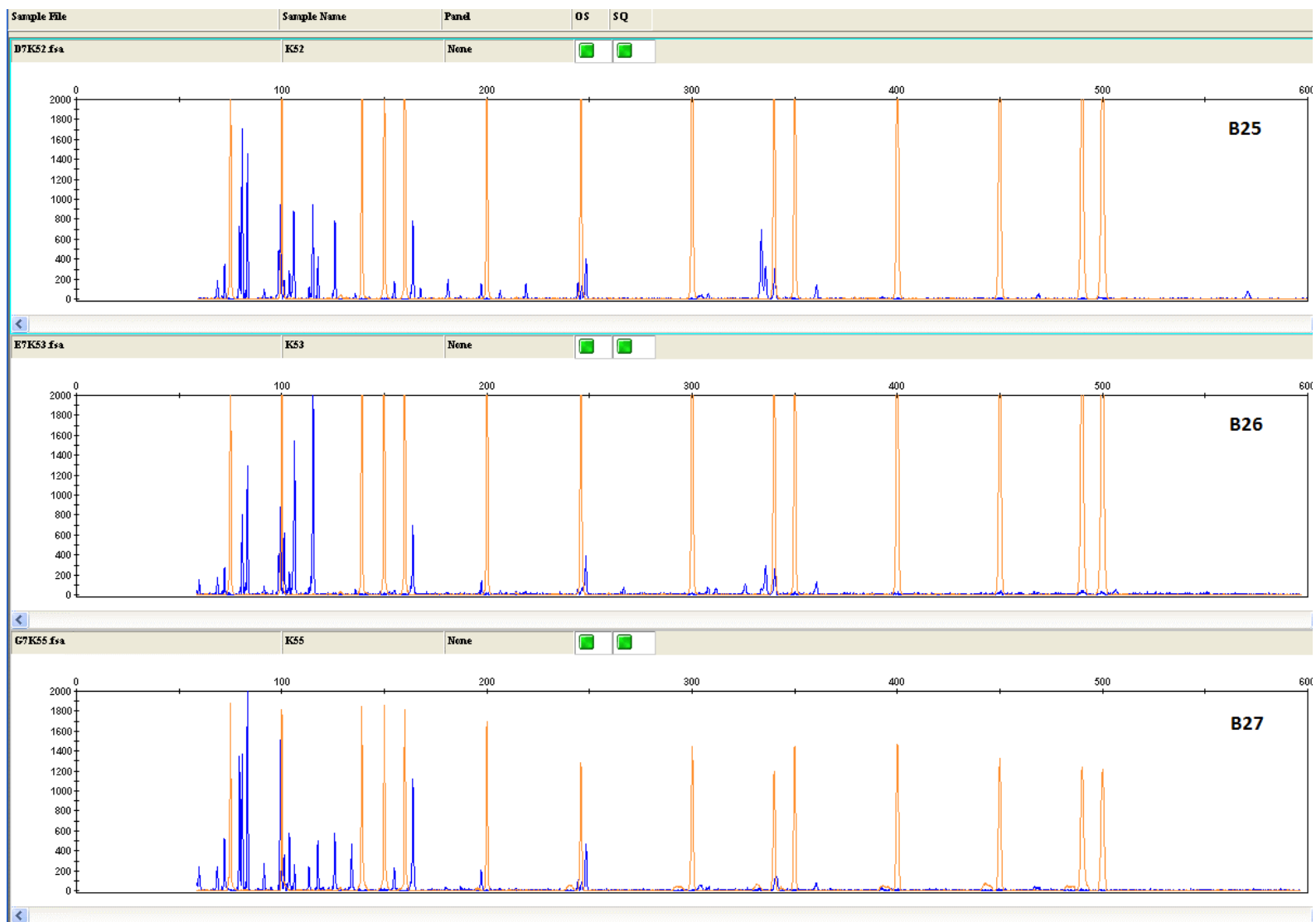




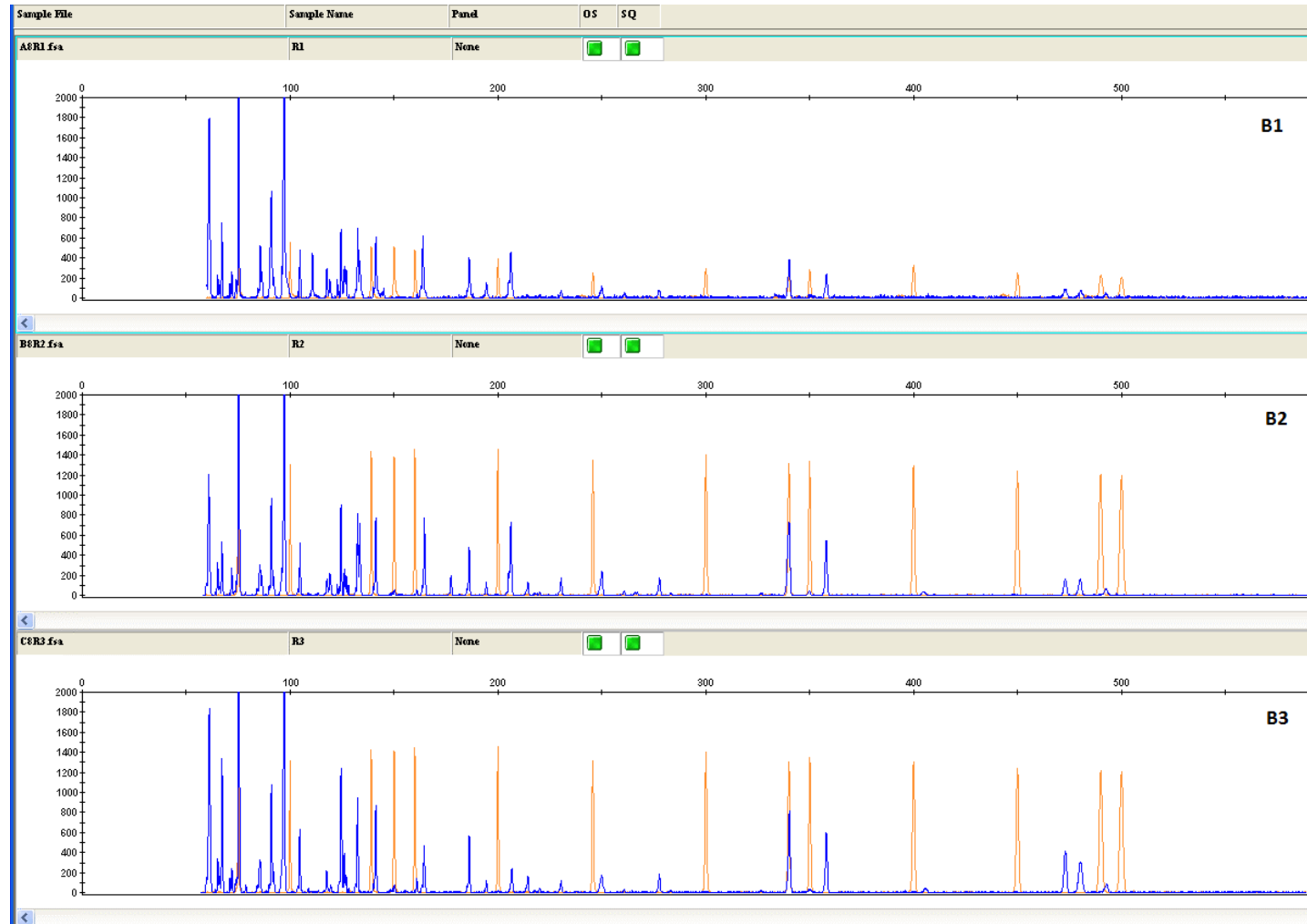


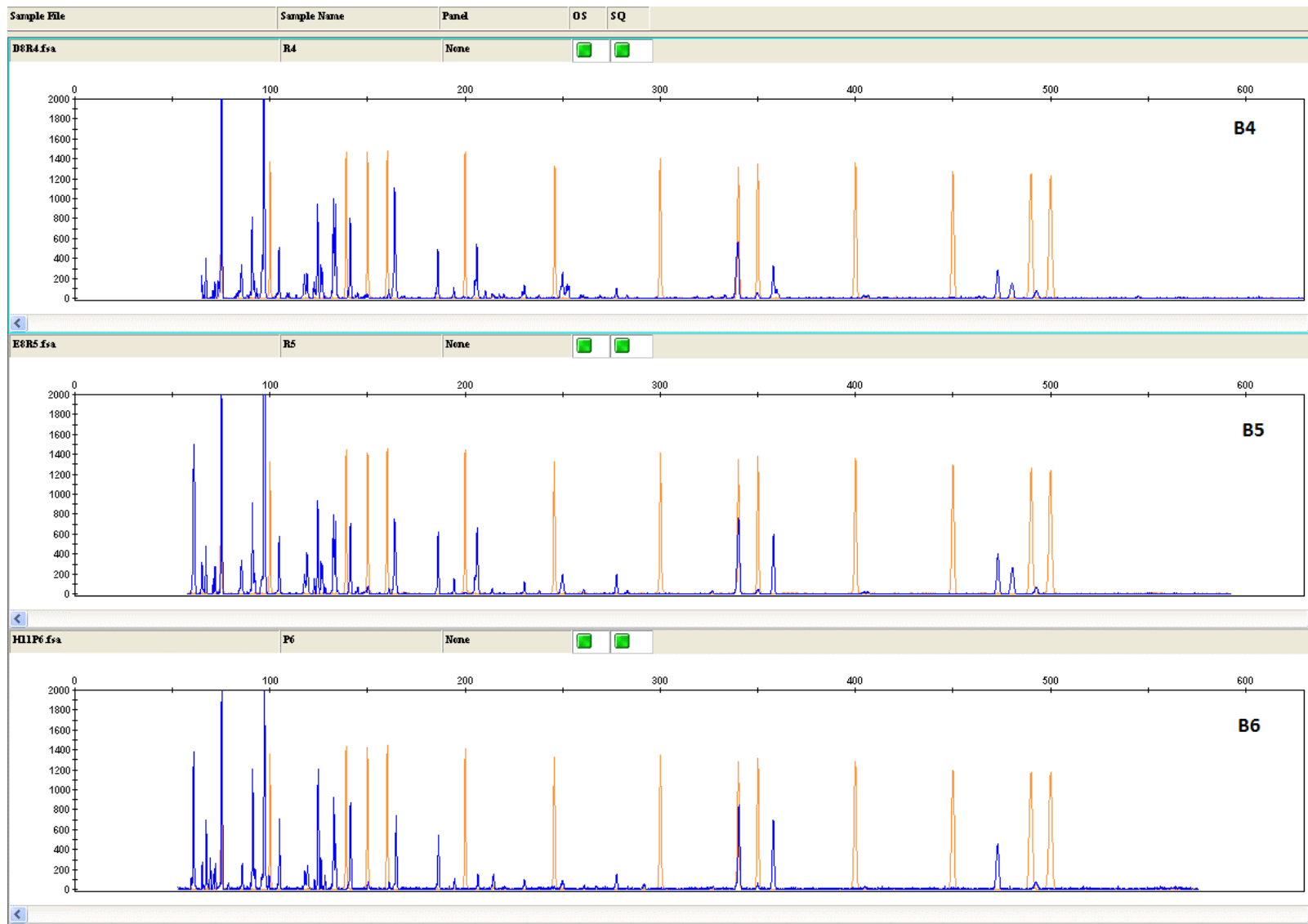


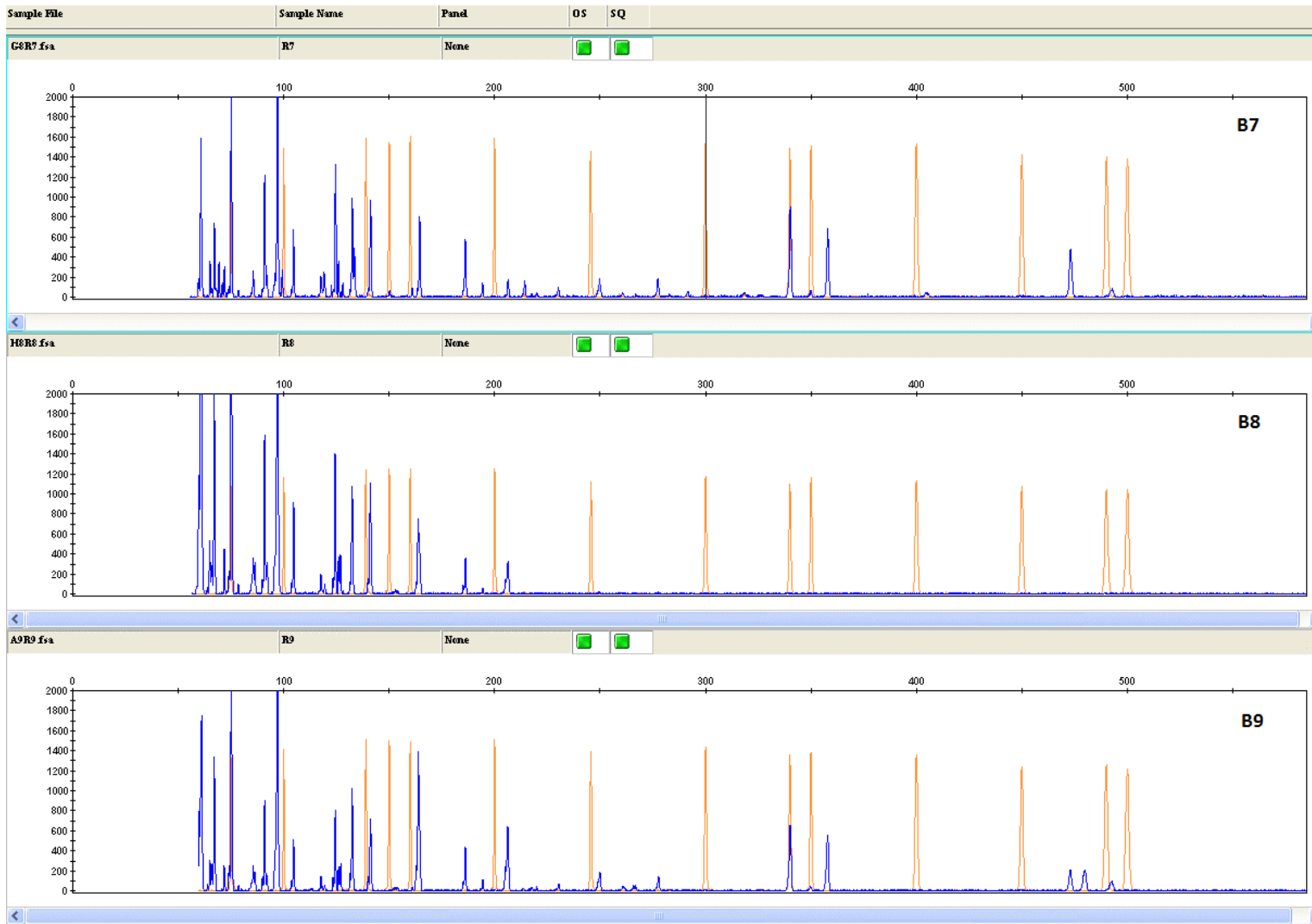


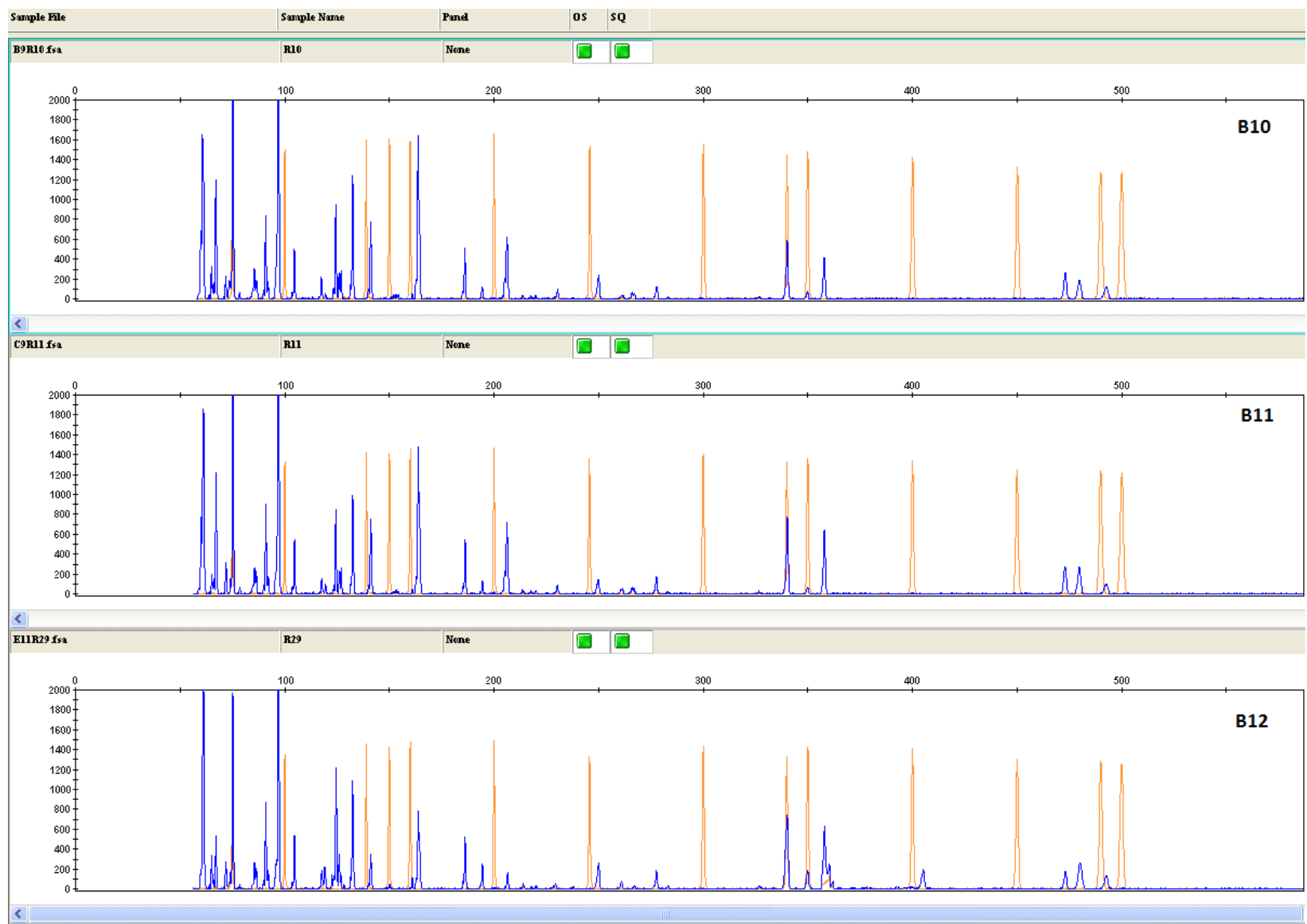


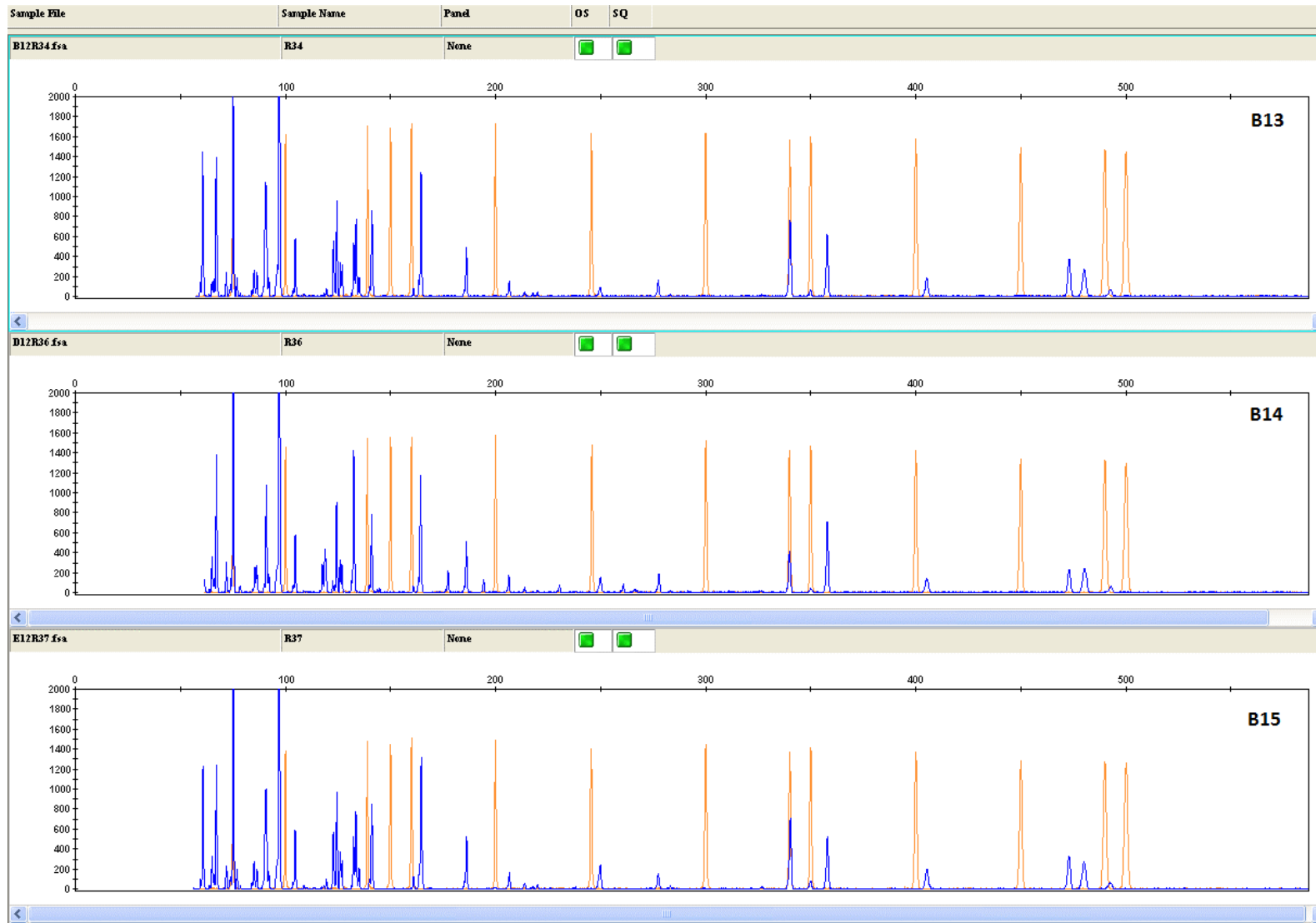
Εκκλιητής EcoRI – ACA – MseI – CTT

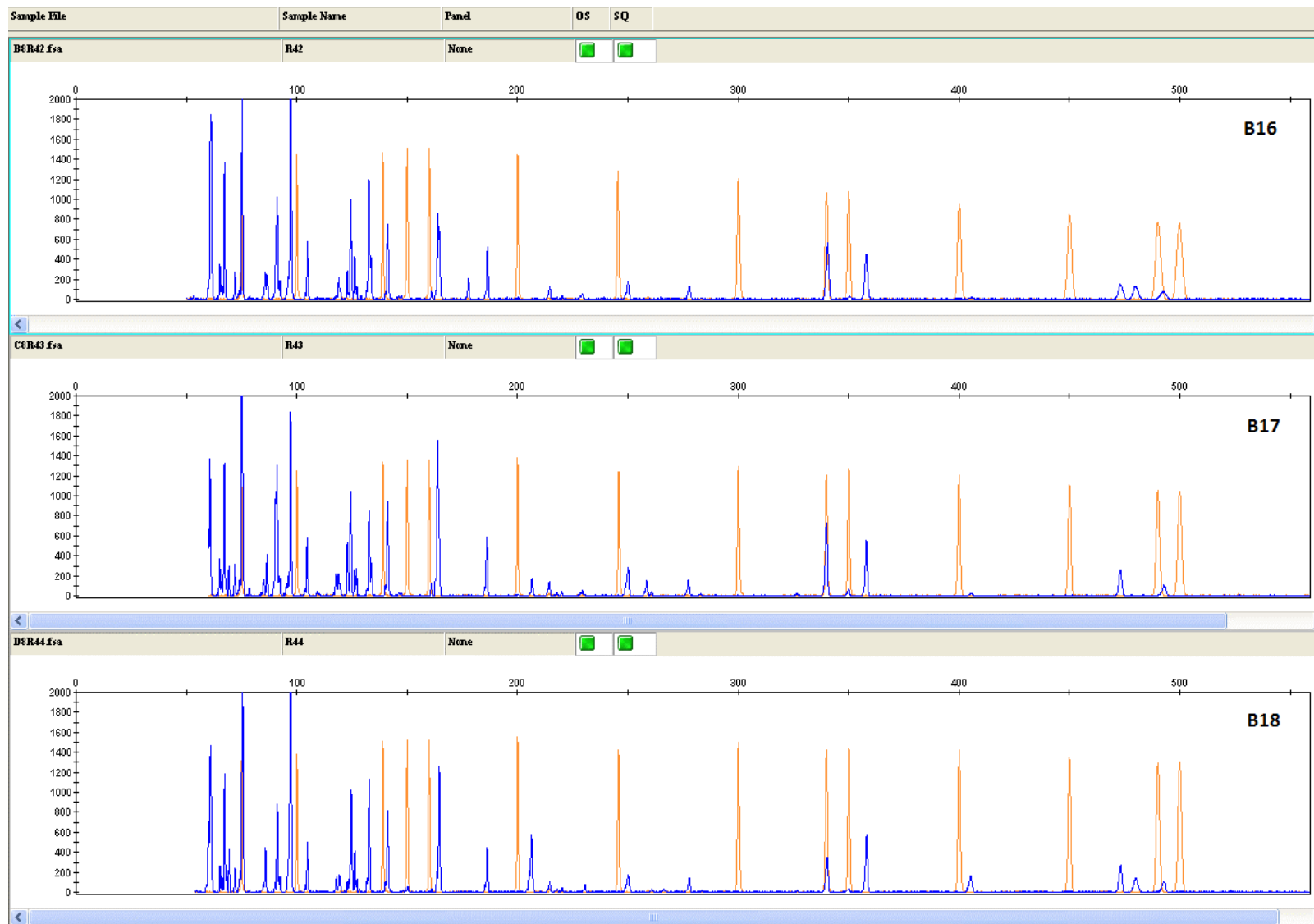


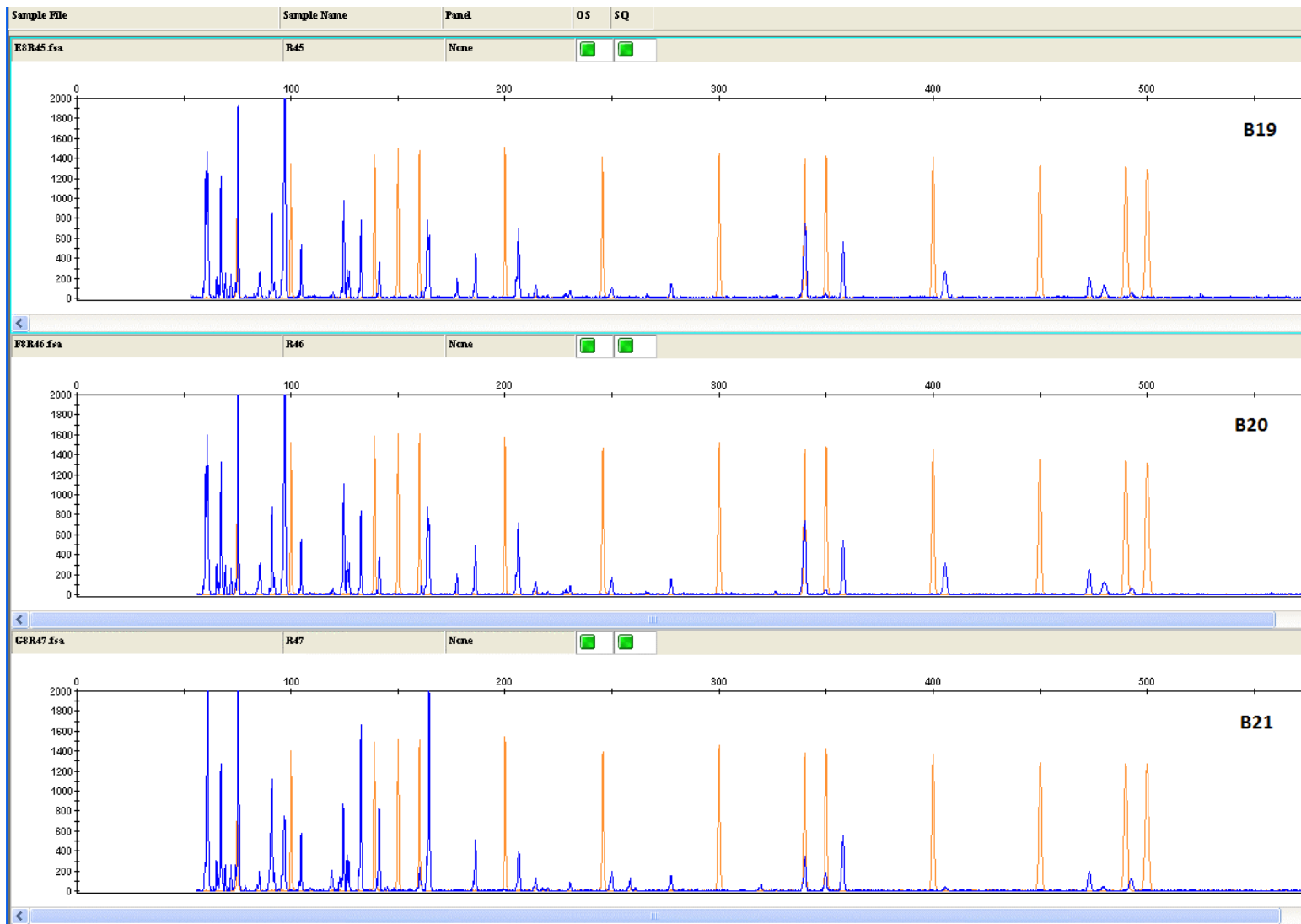


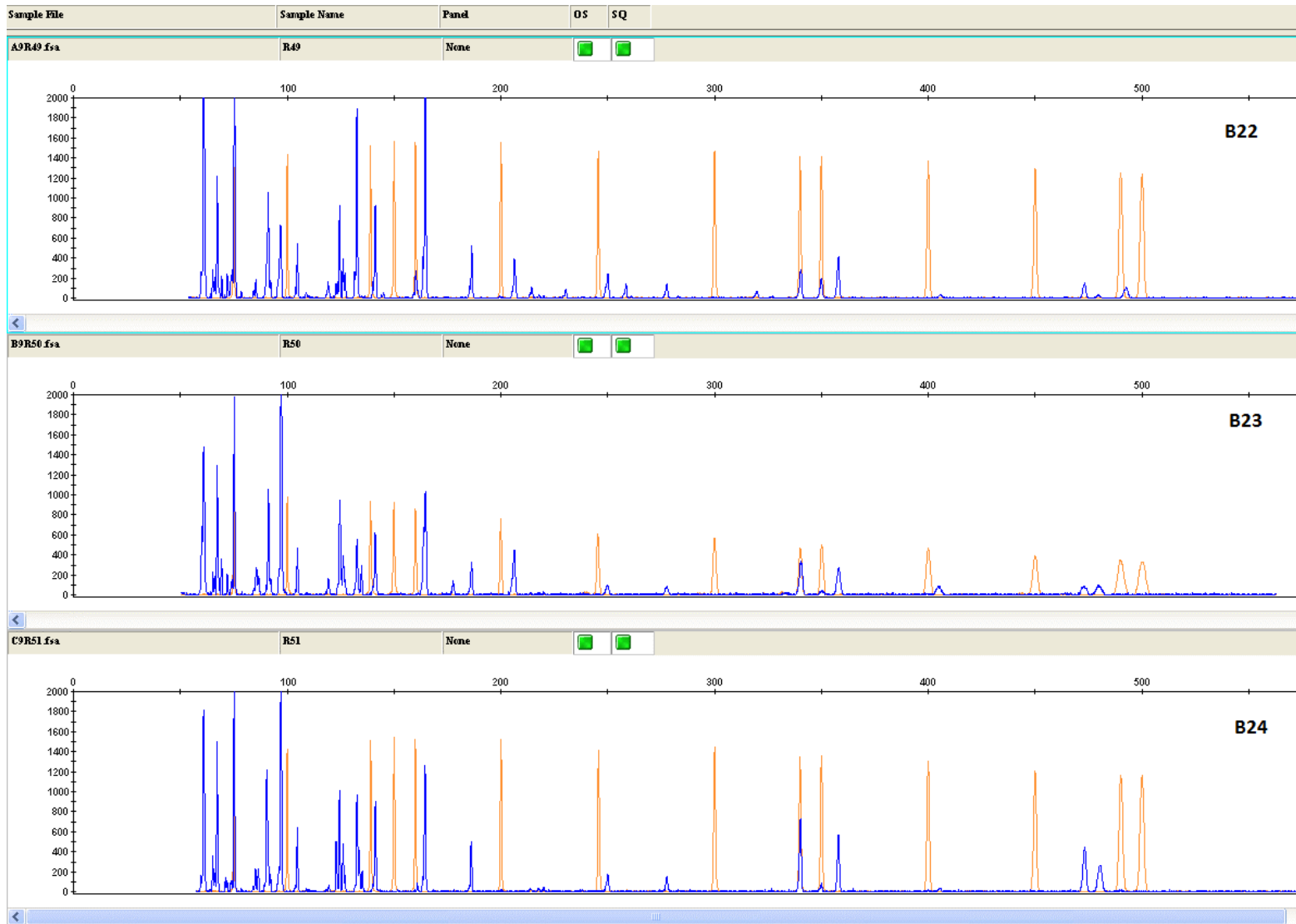


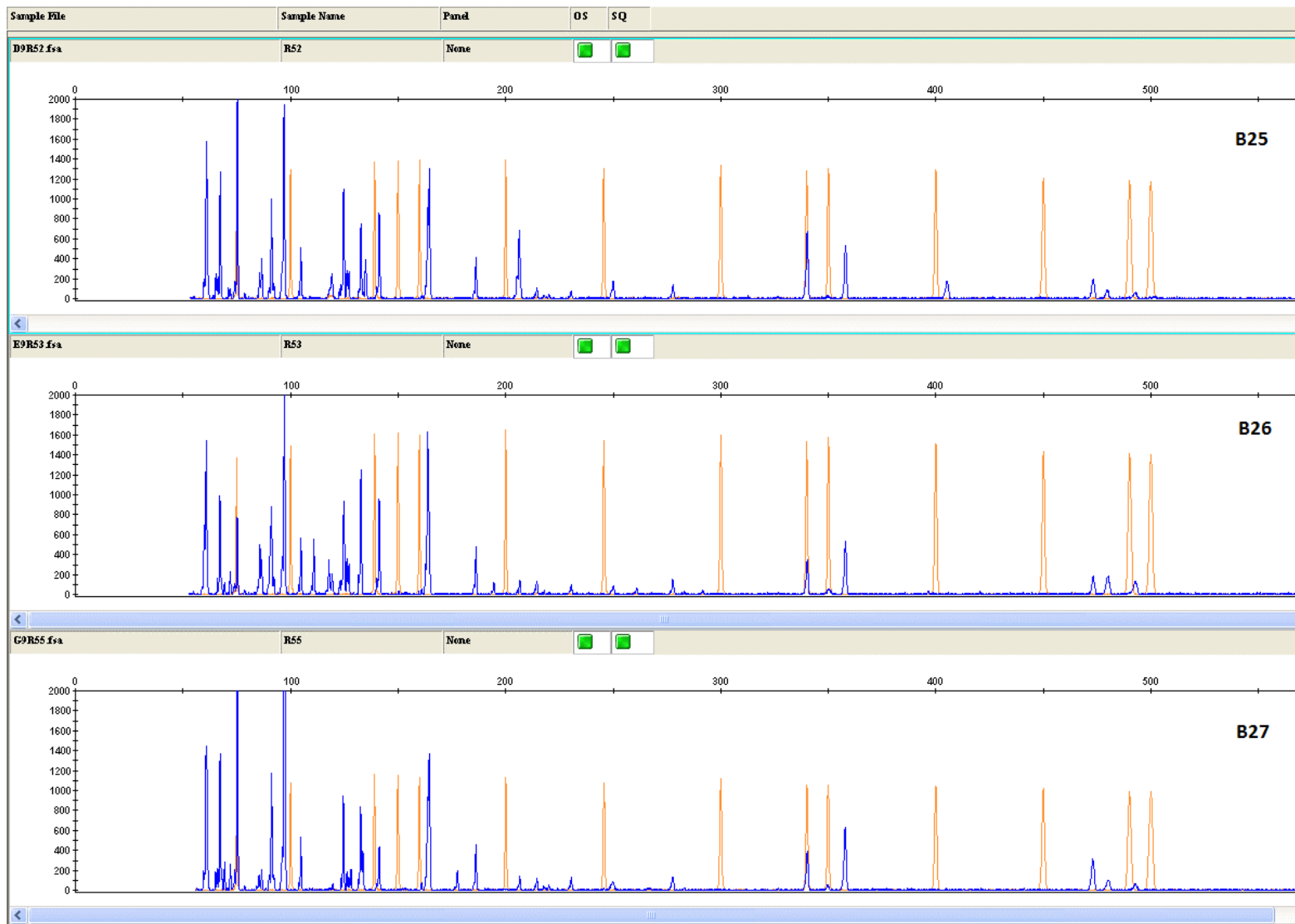




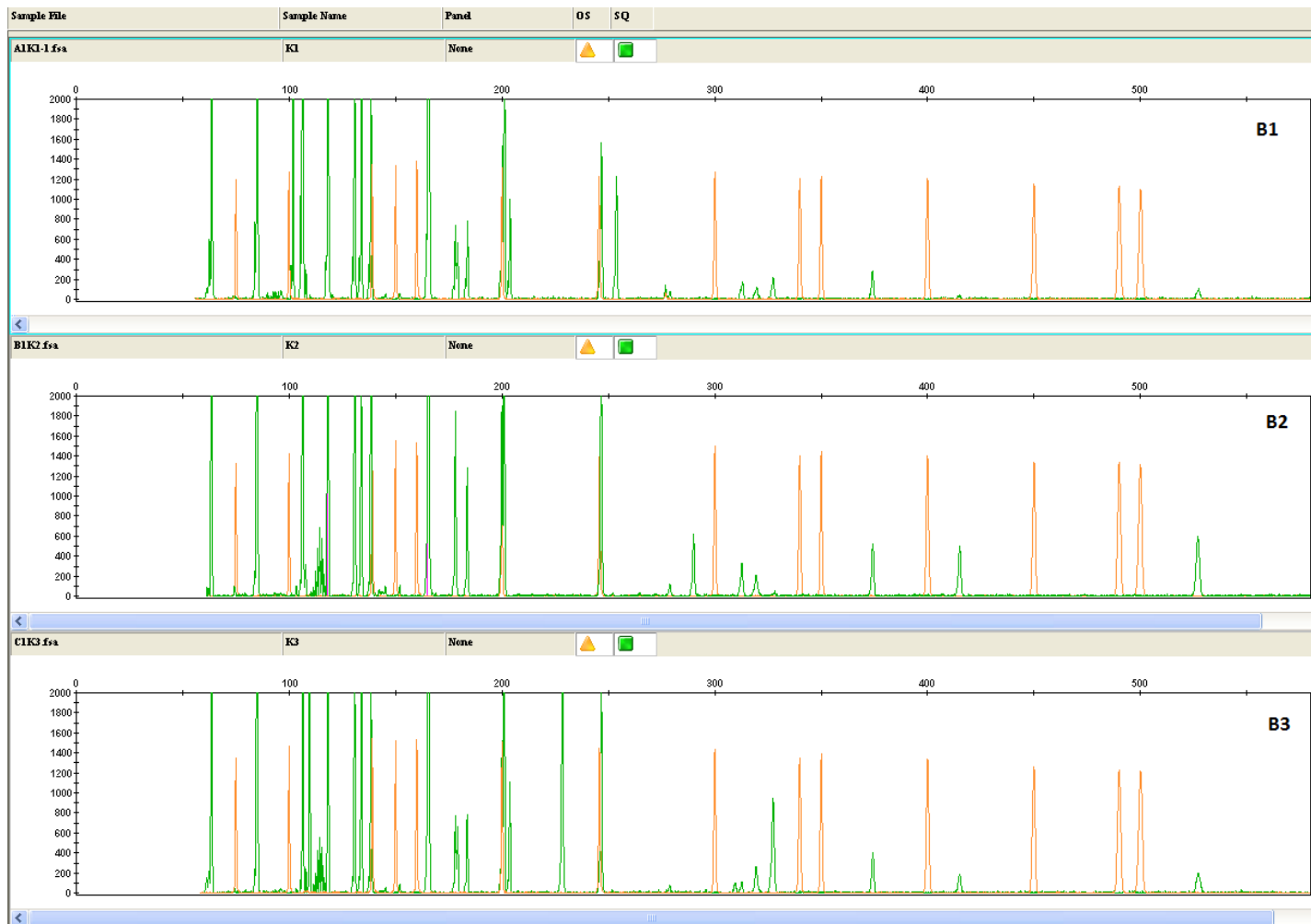


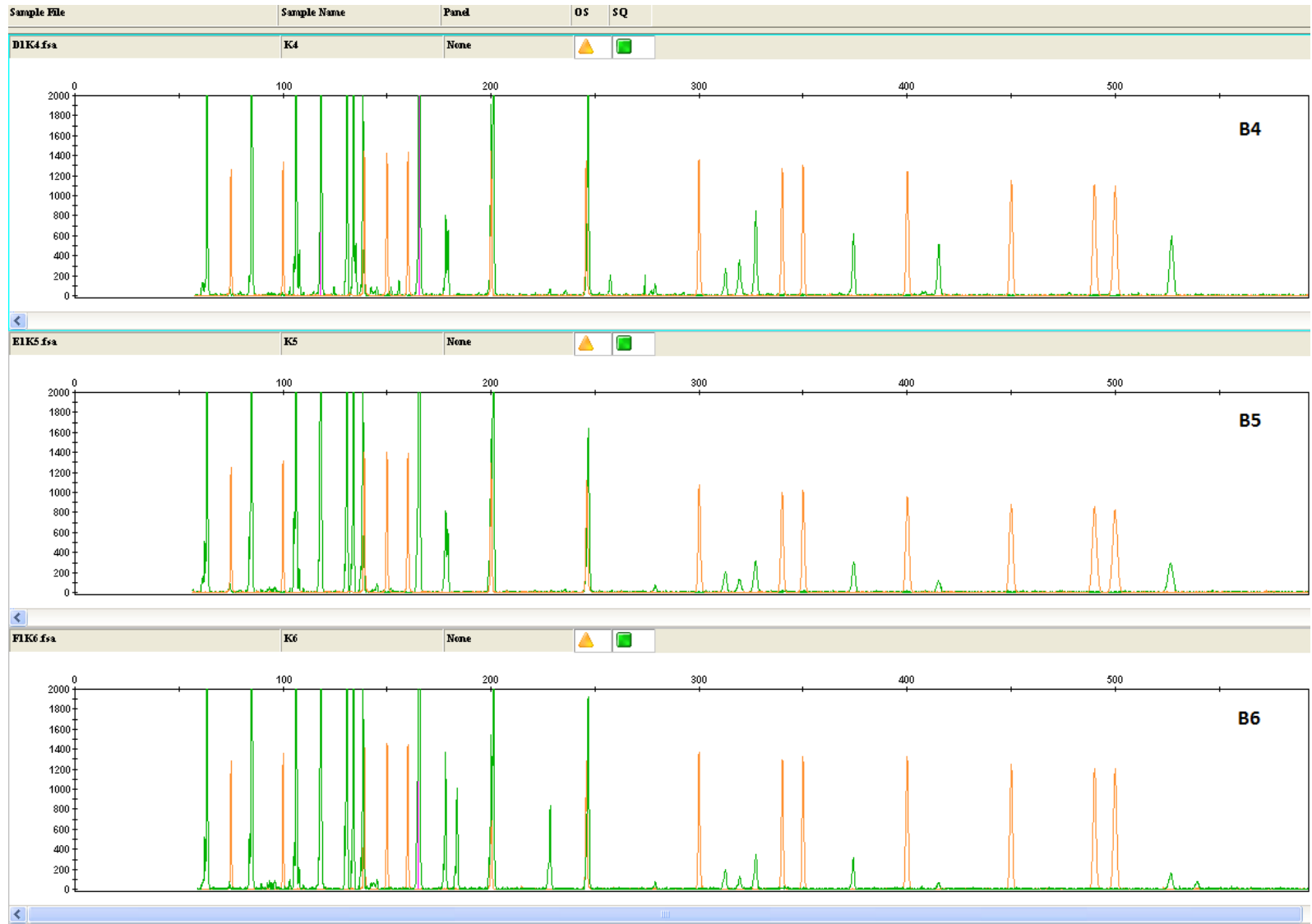


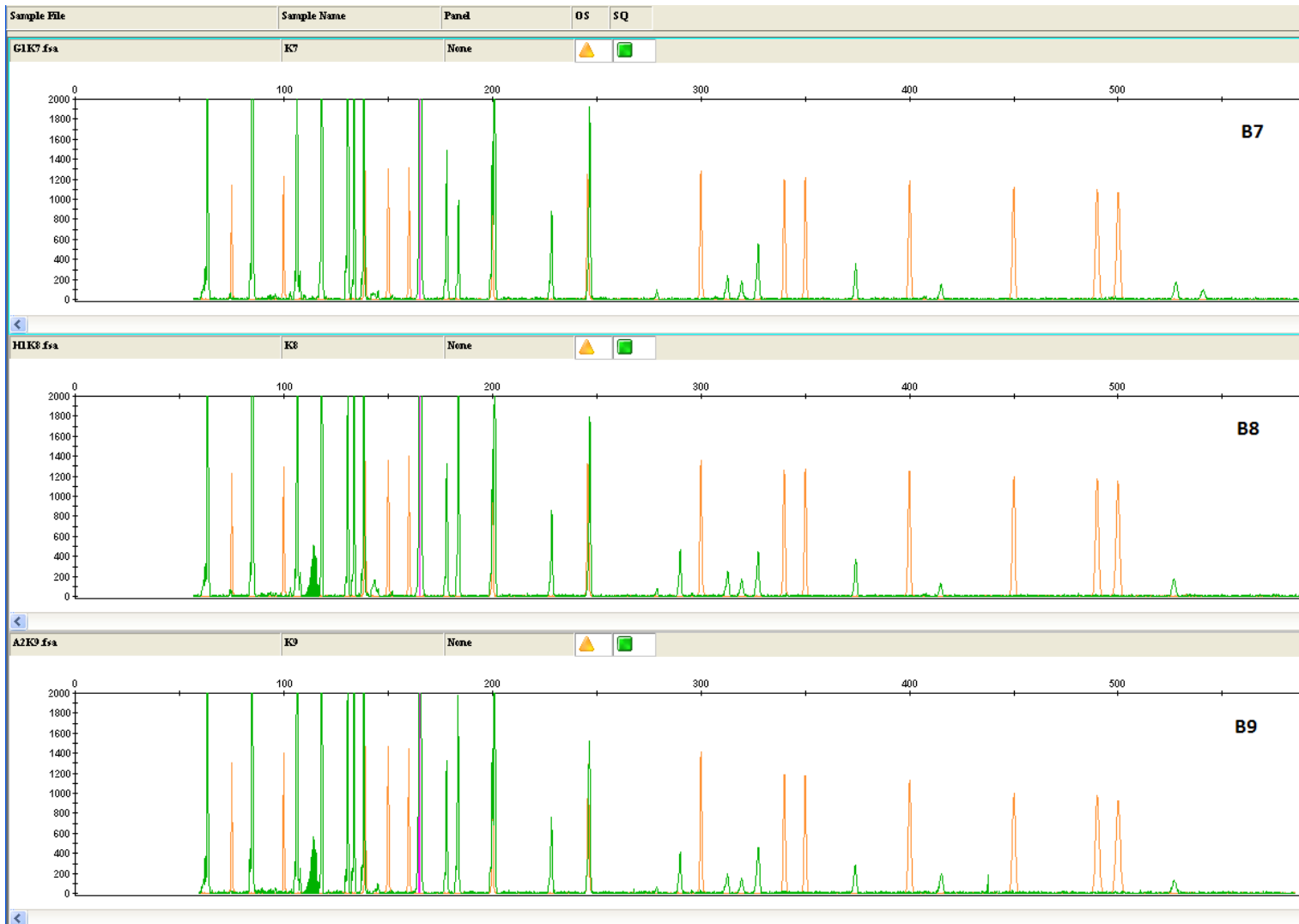


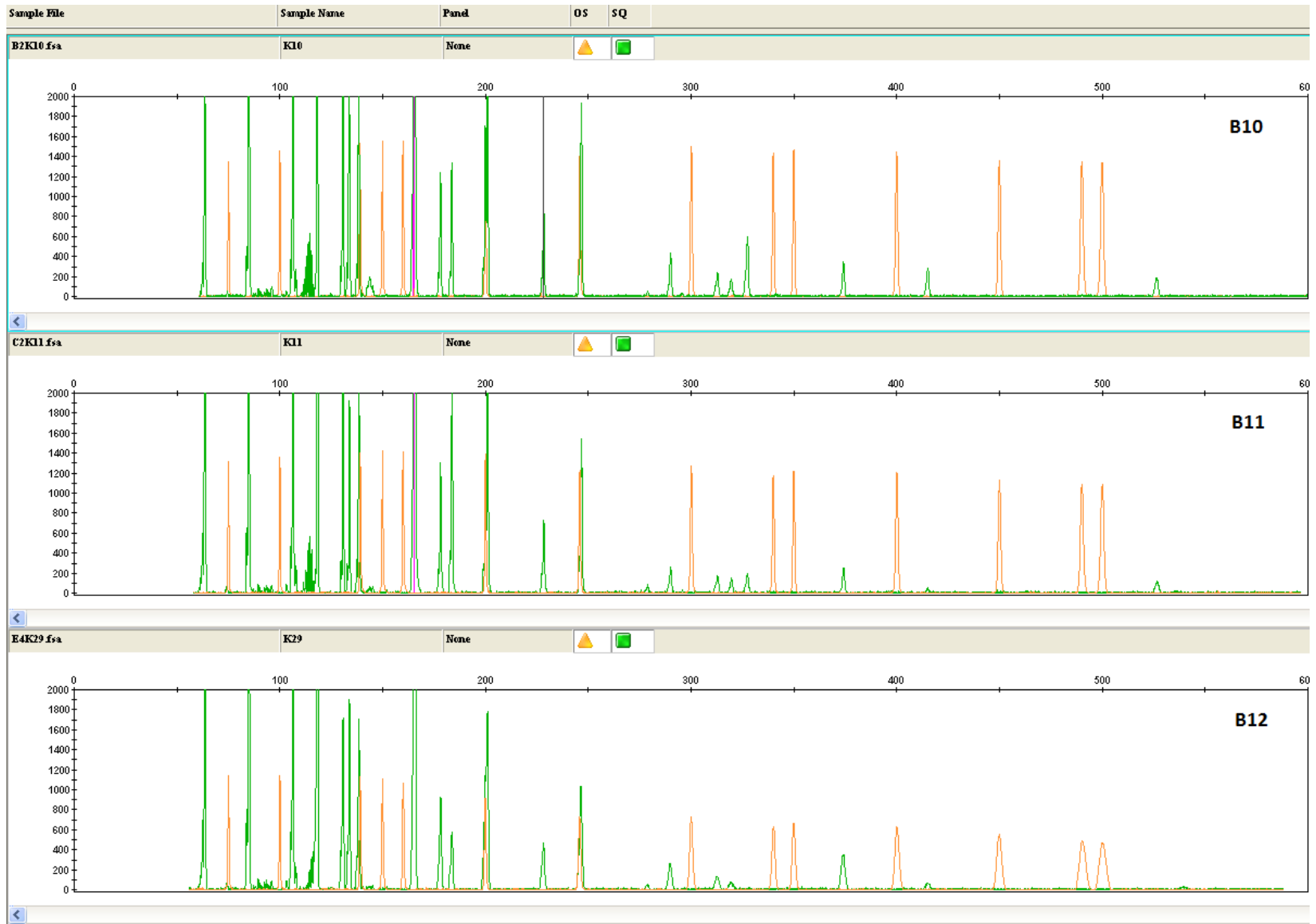


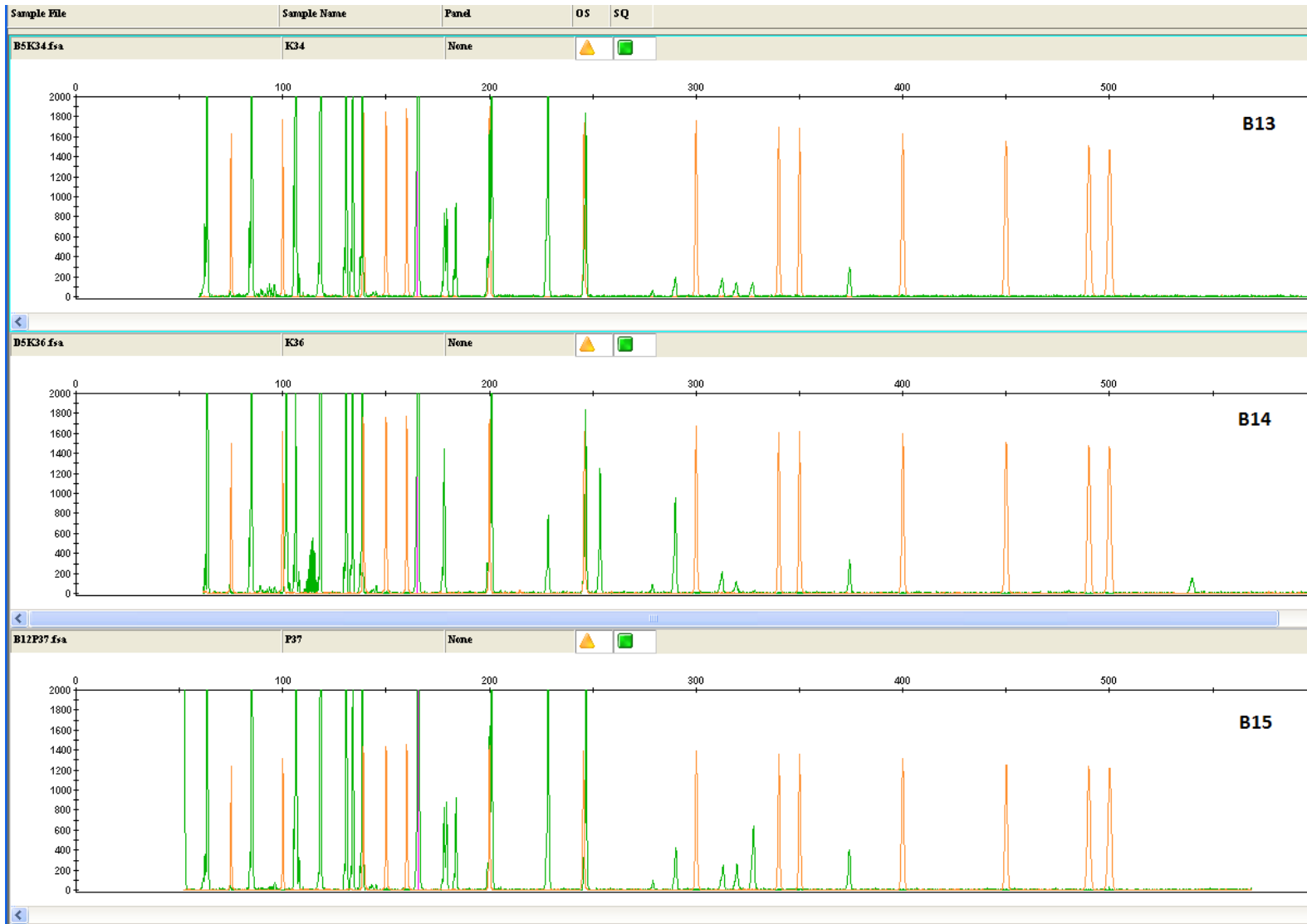
Εκκλινητής EcoRI – AGG – MseI – CAC

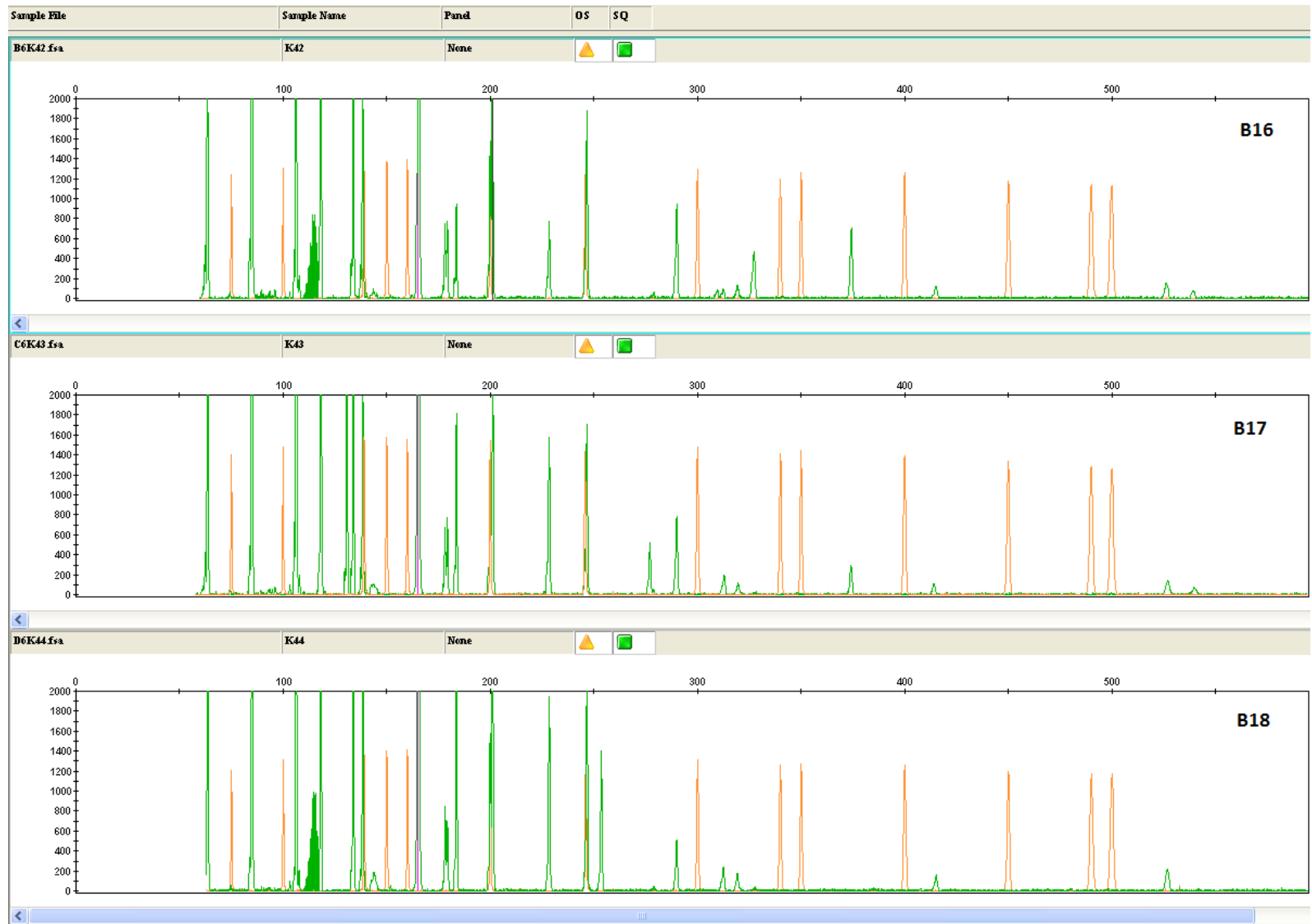


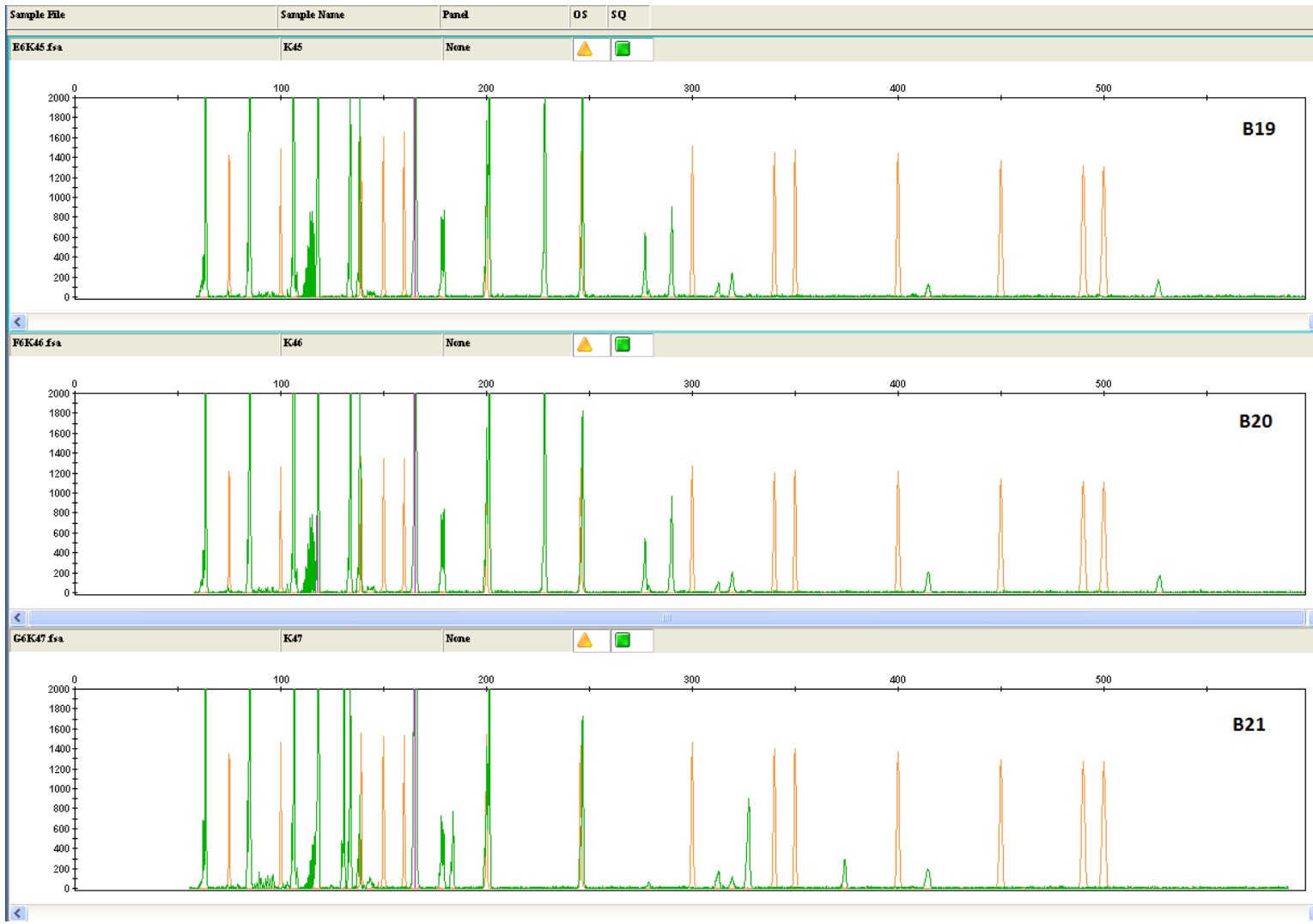


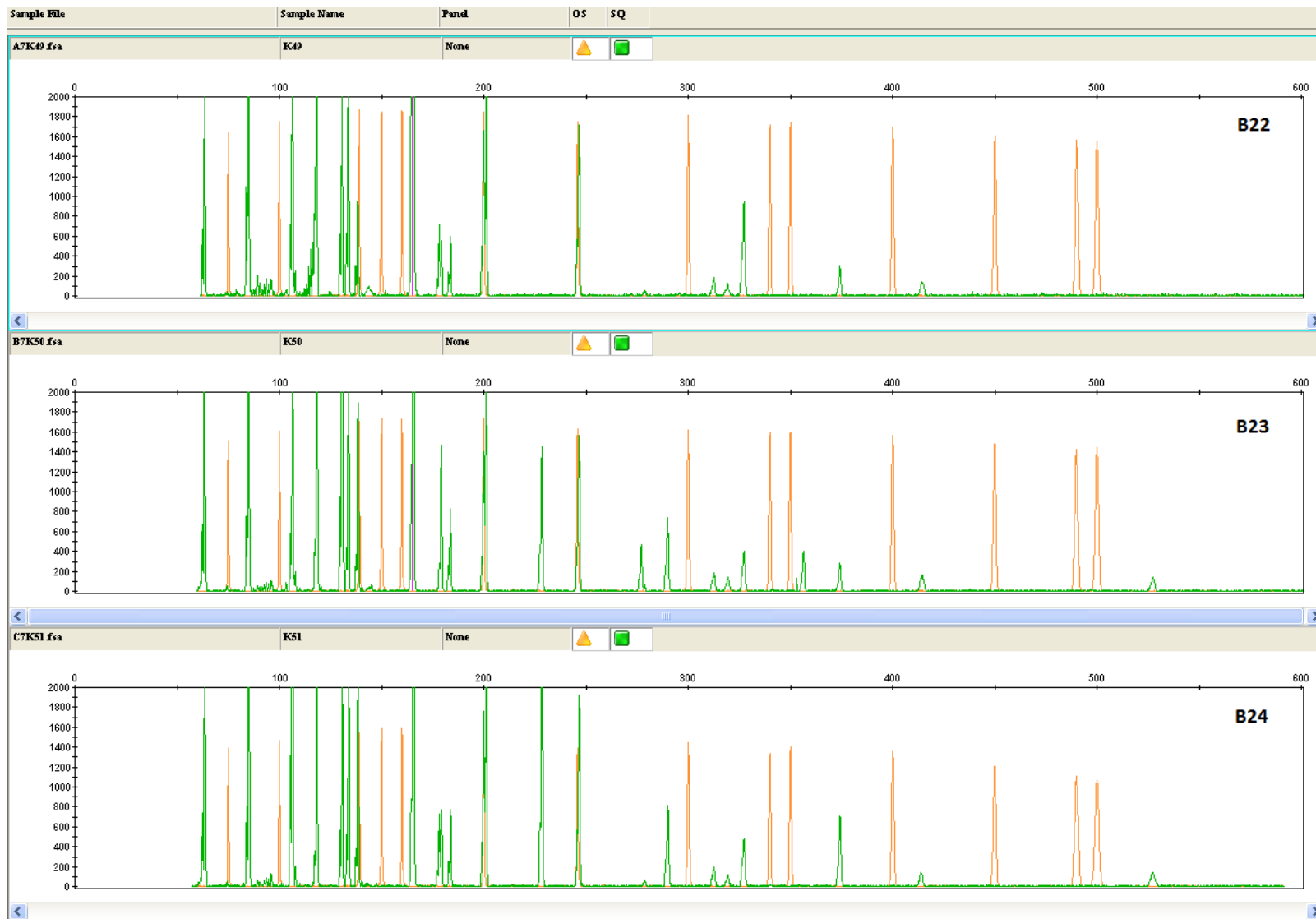


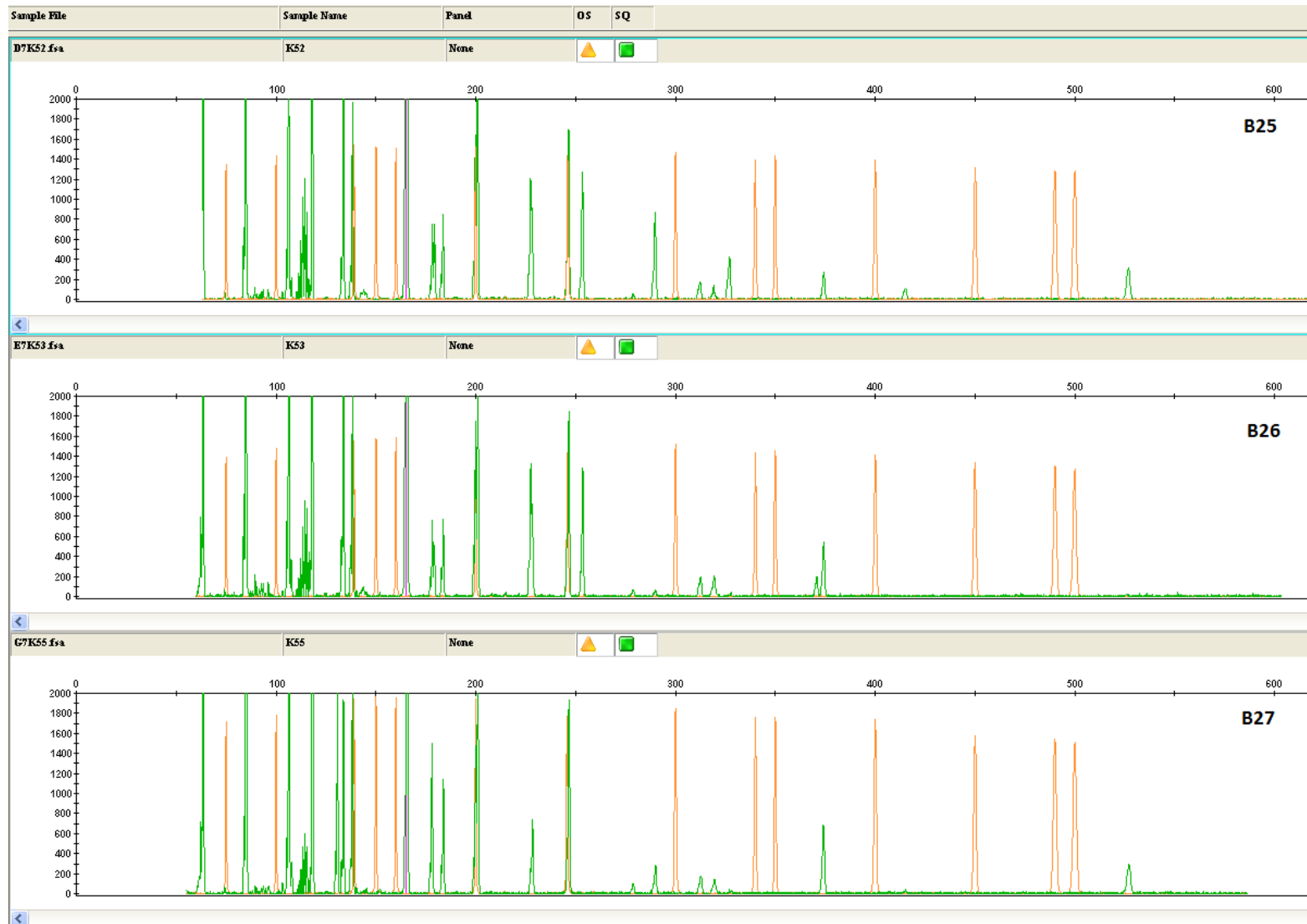




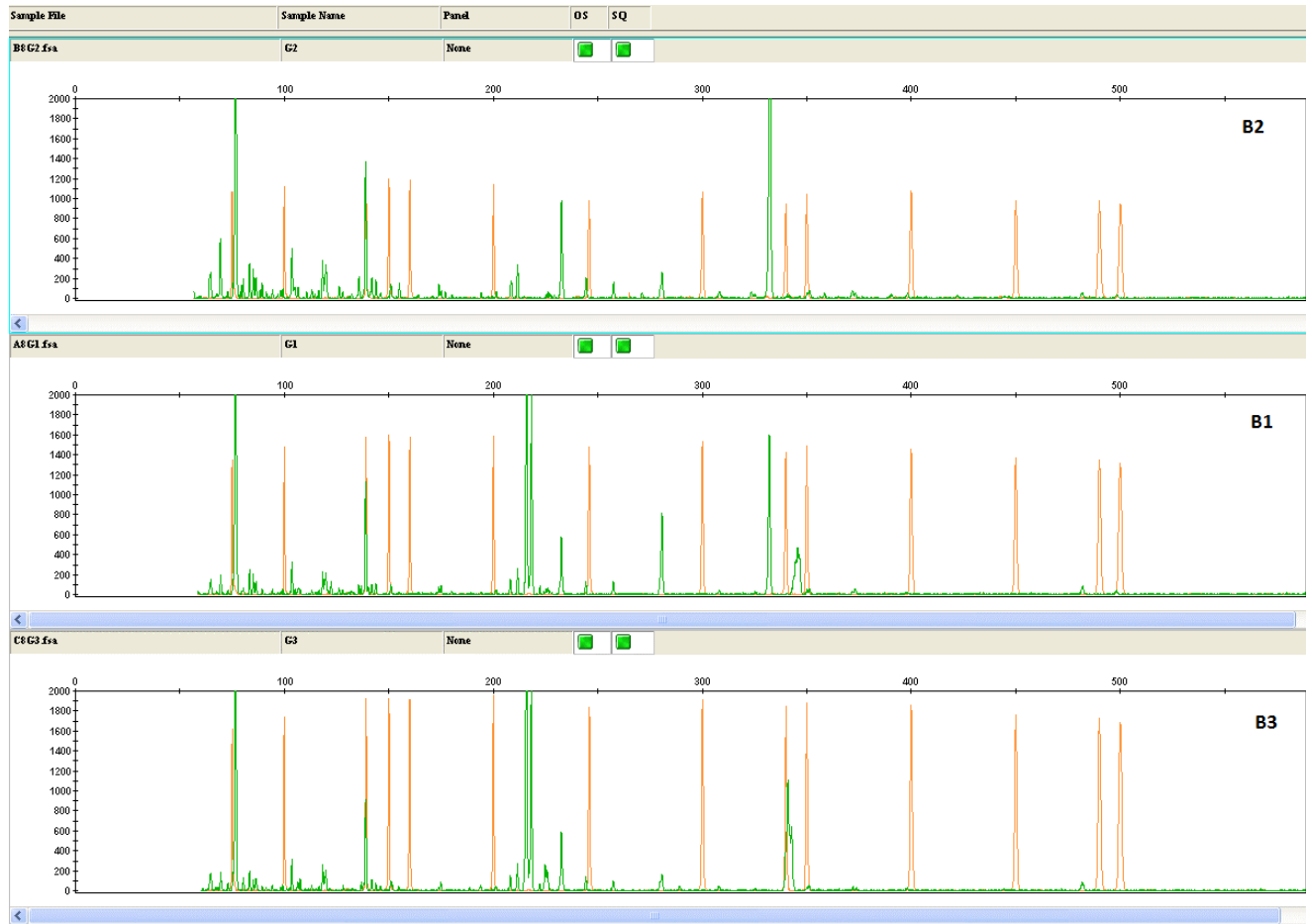


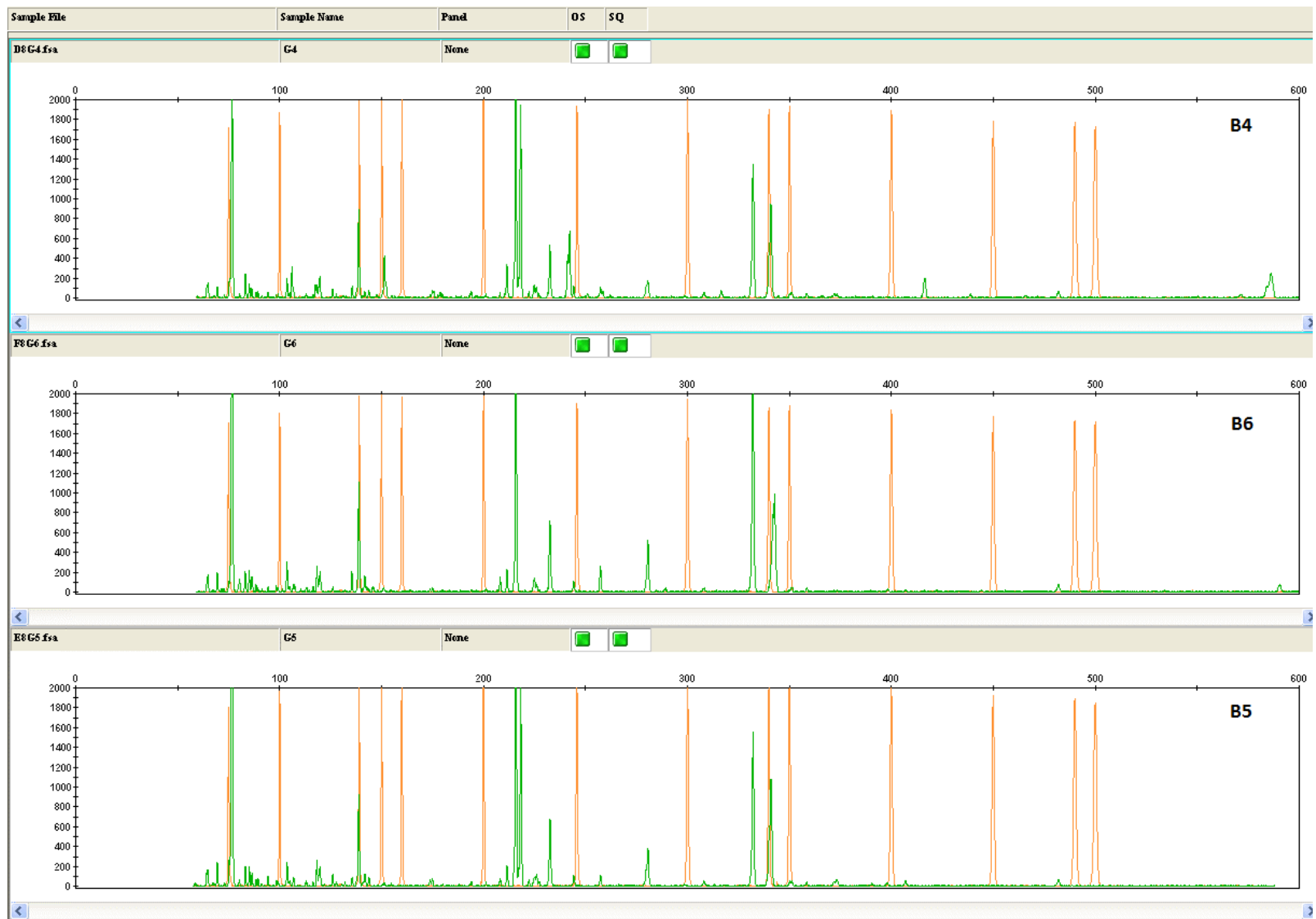


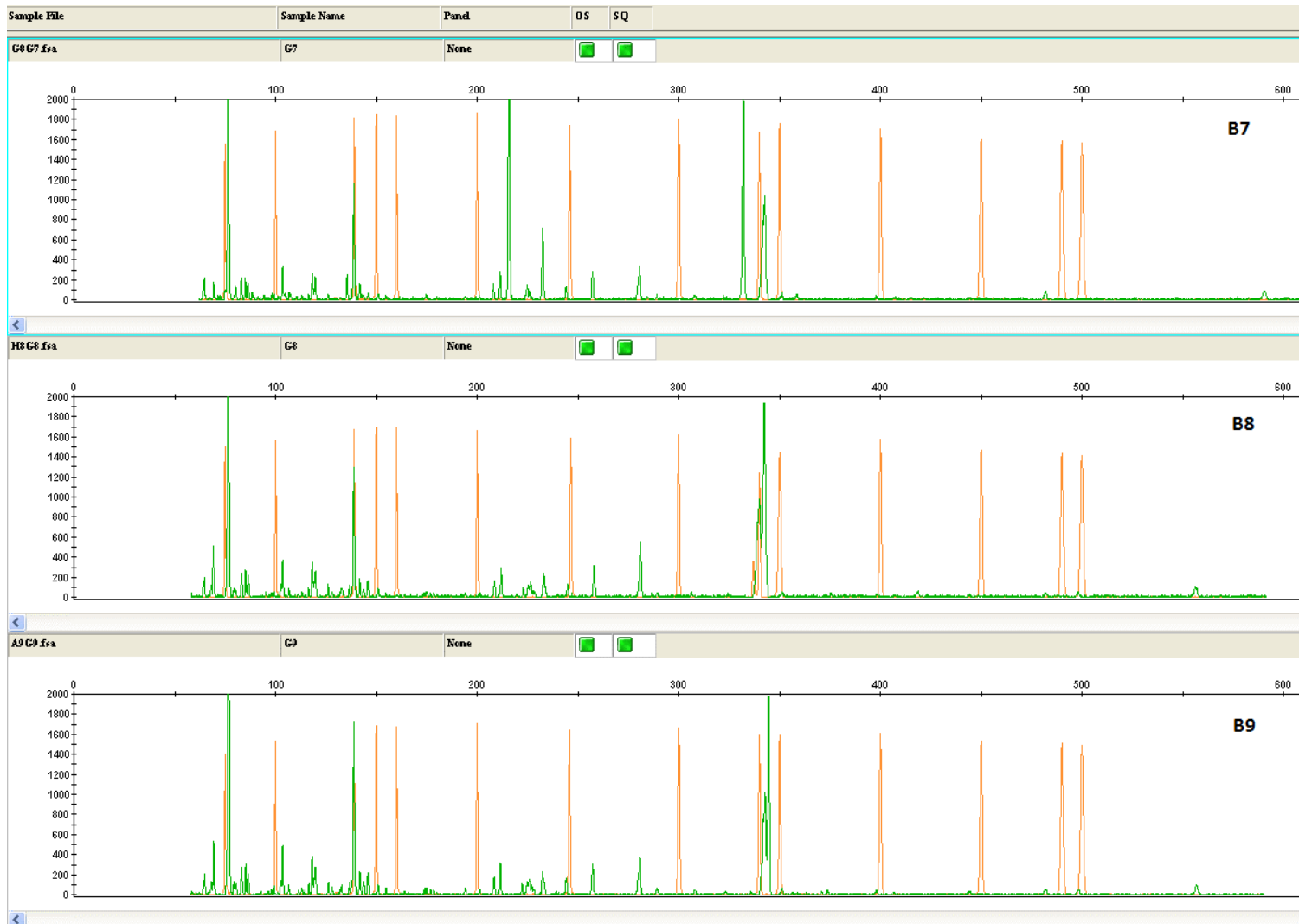


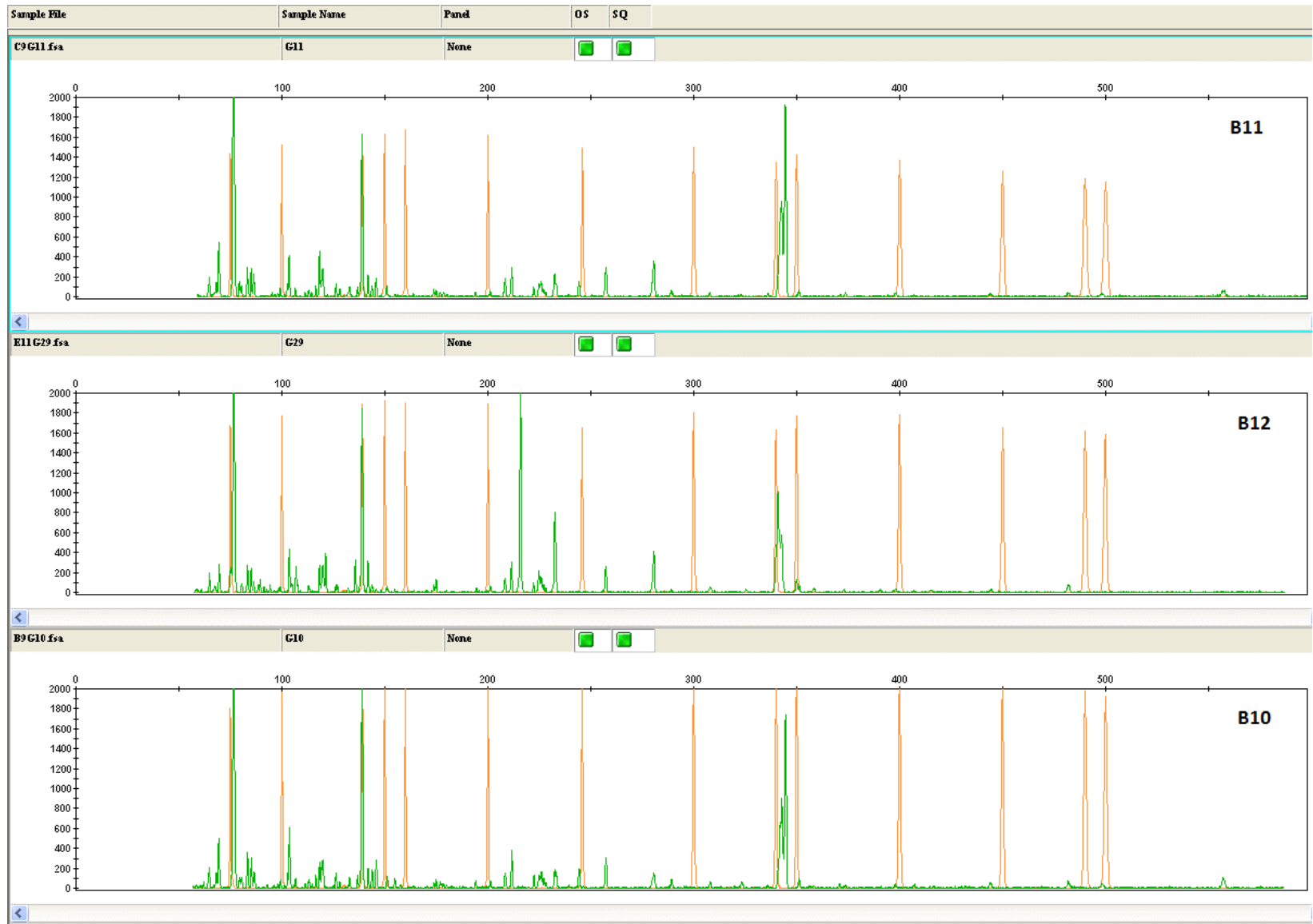


Εκκλινητής EcoRI – ACG – MseI – CTA

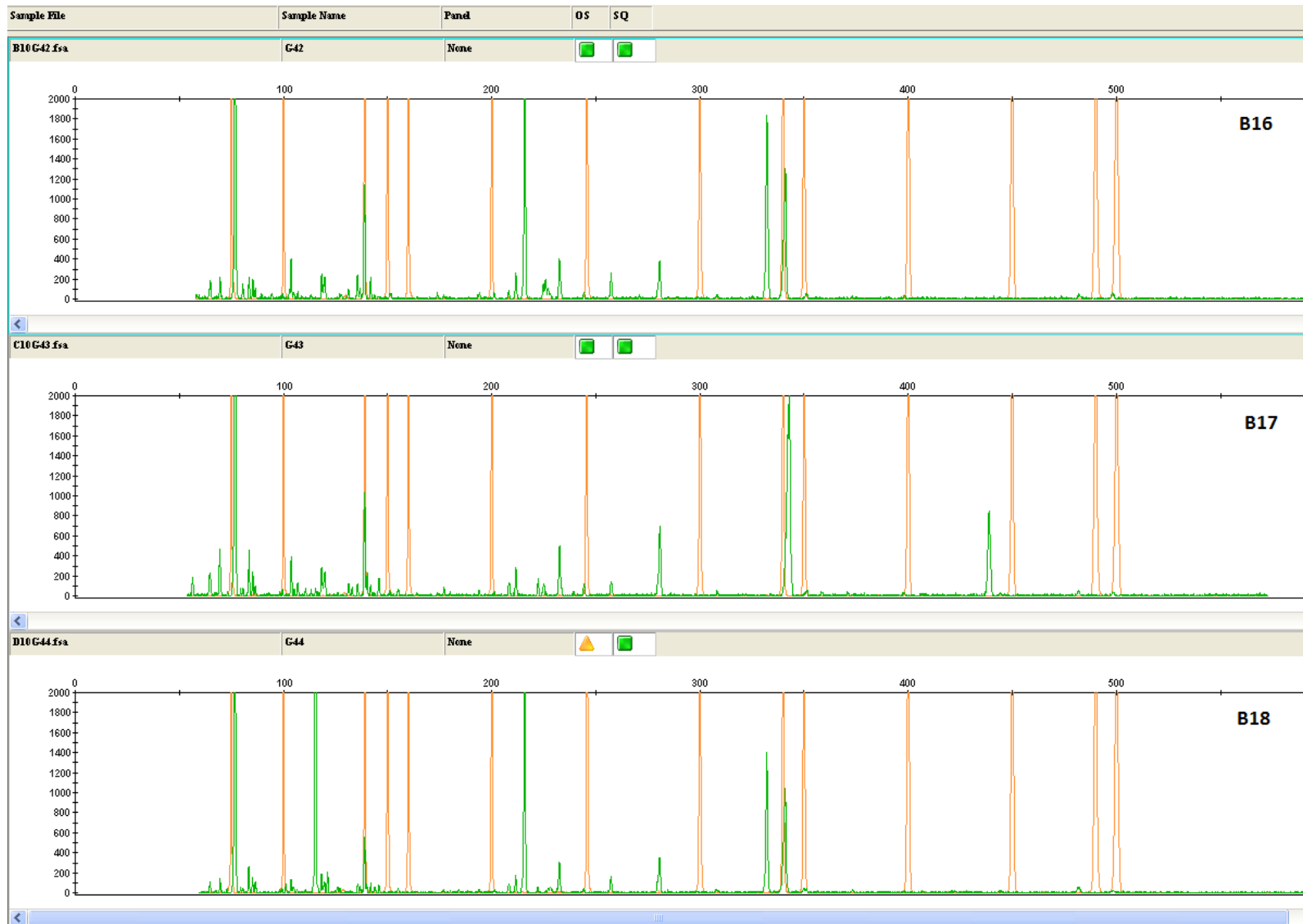


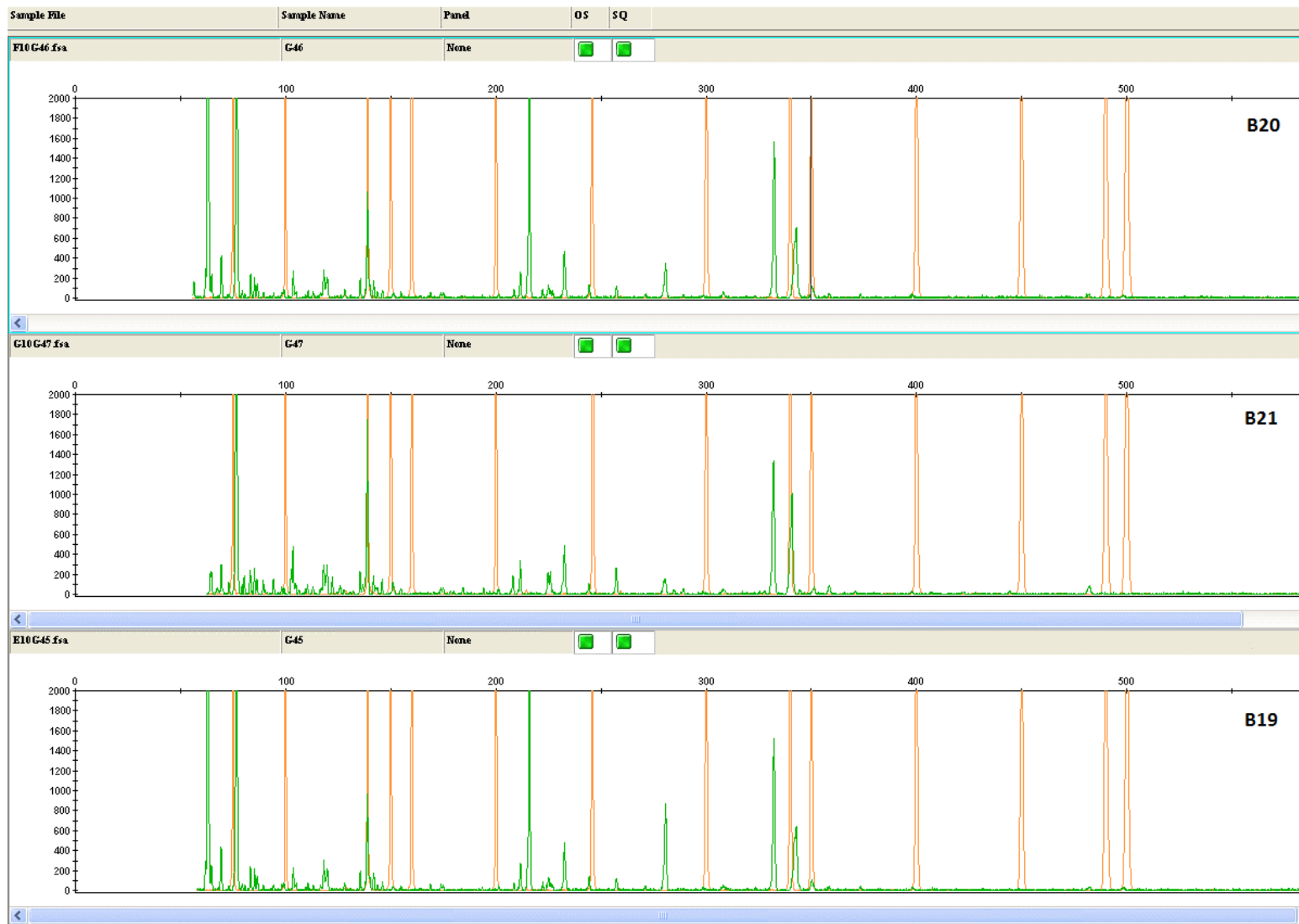




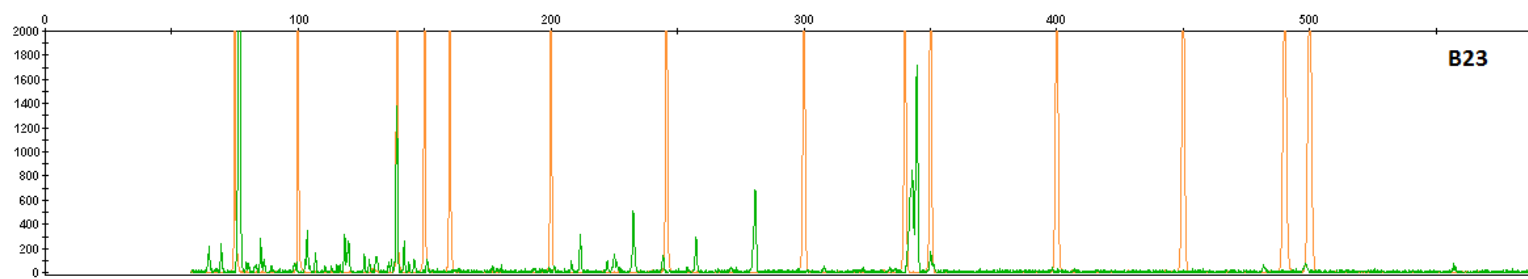




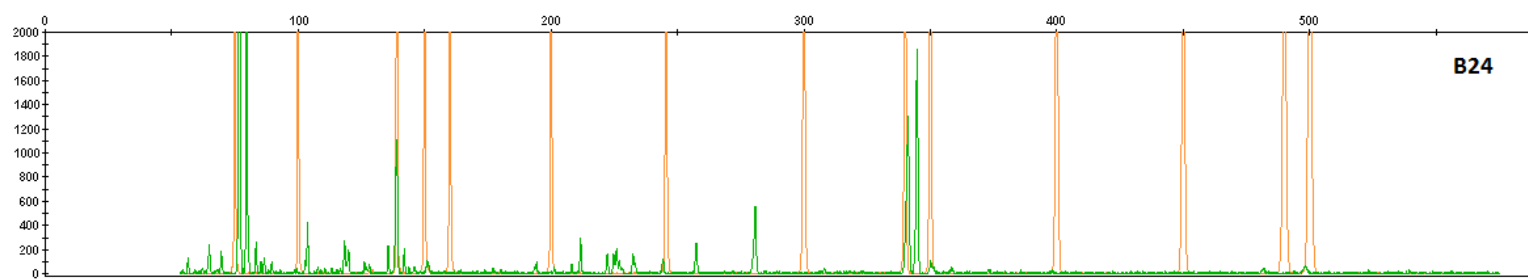




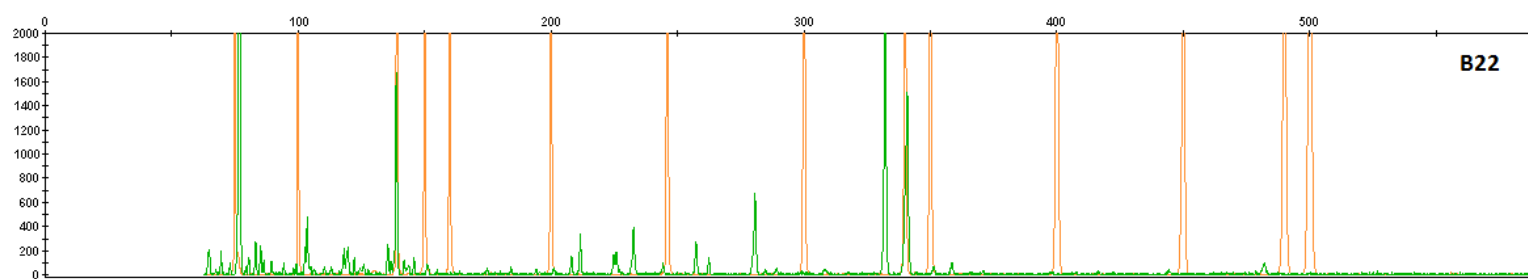
Sample File	Sample Name	Panel	OS	SQ
B11G50.fsa	G50	None	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

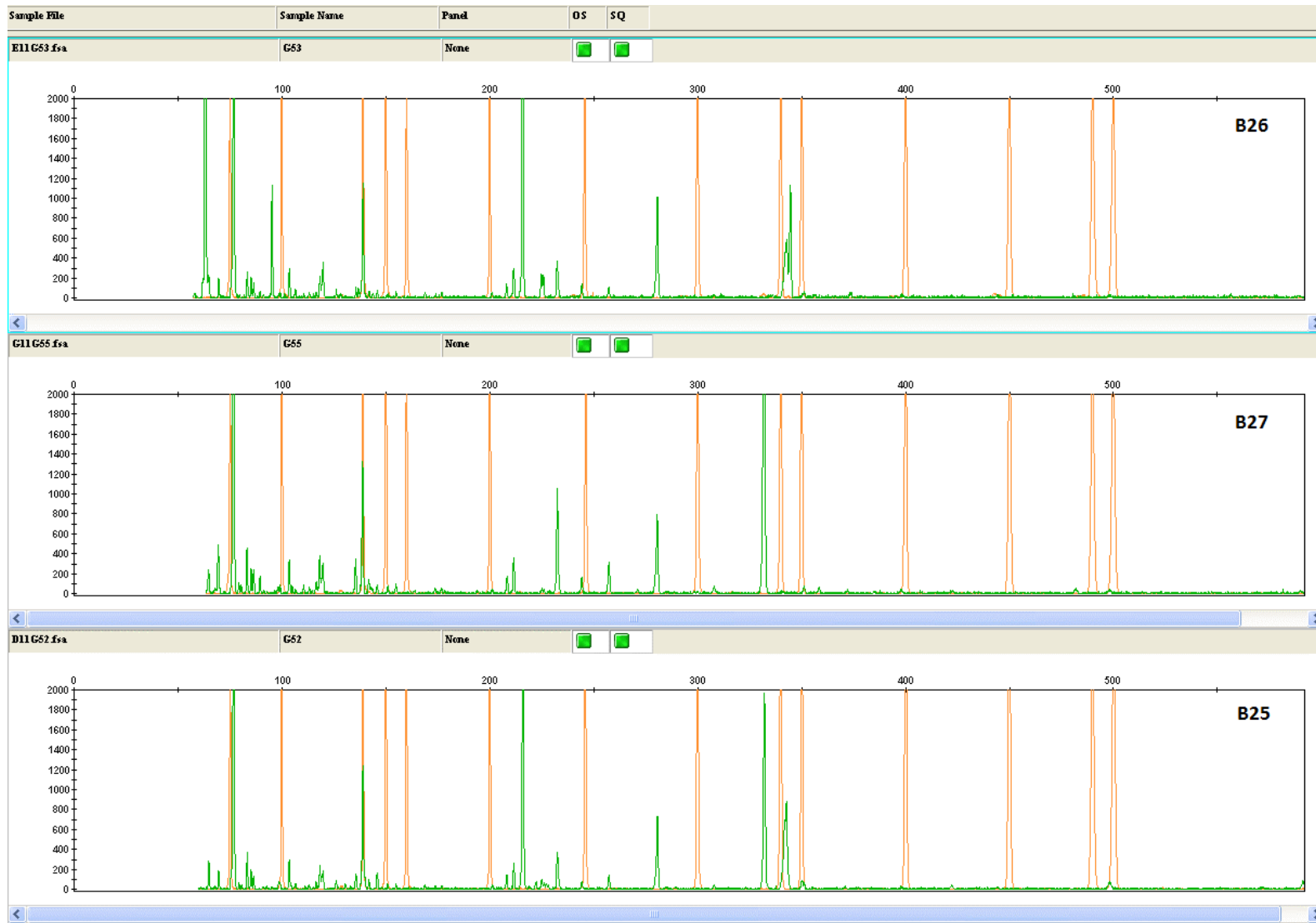


Sample File	Sample Name	Panel	OS	SQ
C11G51.fsa	G51	None	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

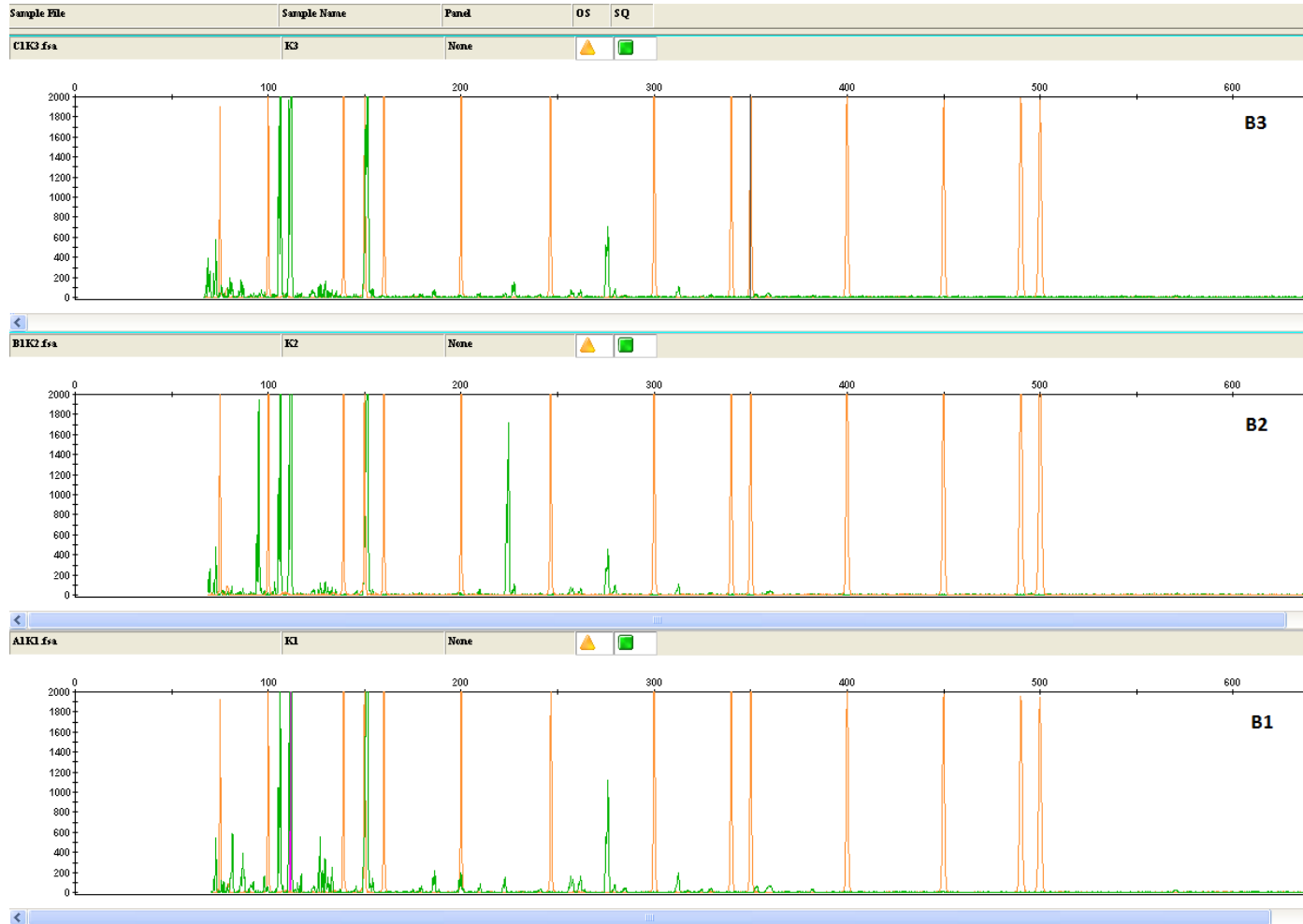


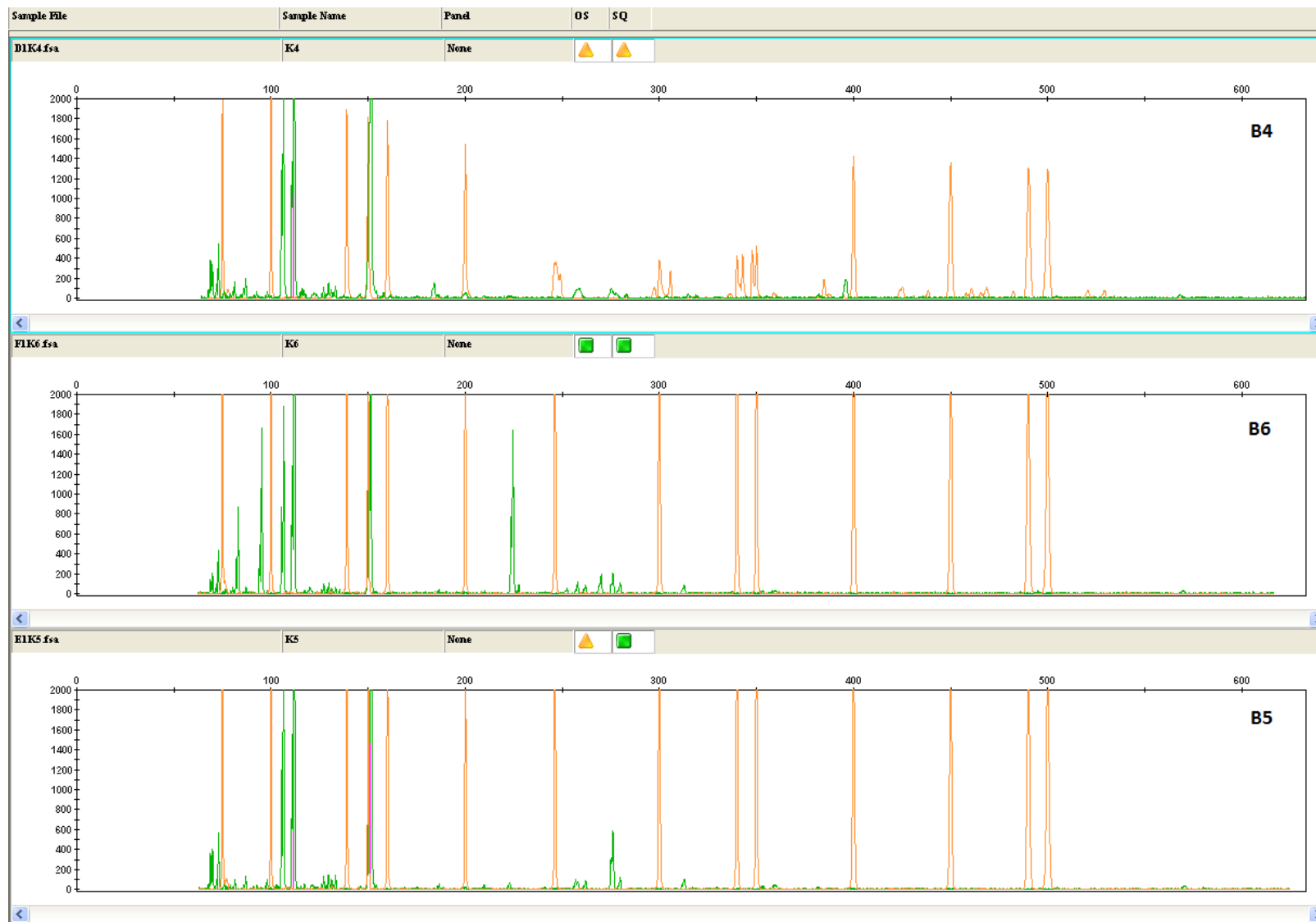
Sample File	Sample Name	Panel	OS	SQ
A11G49.fsa	G49	None	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

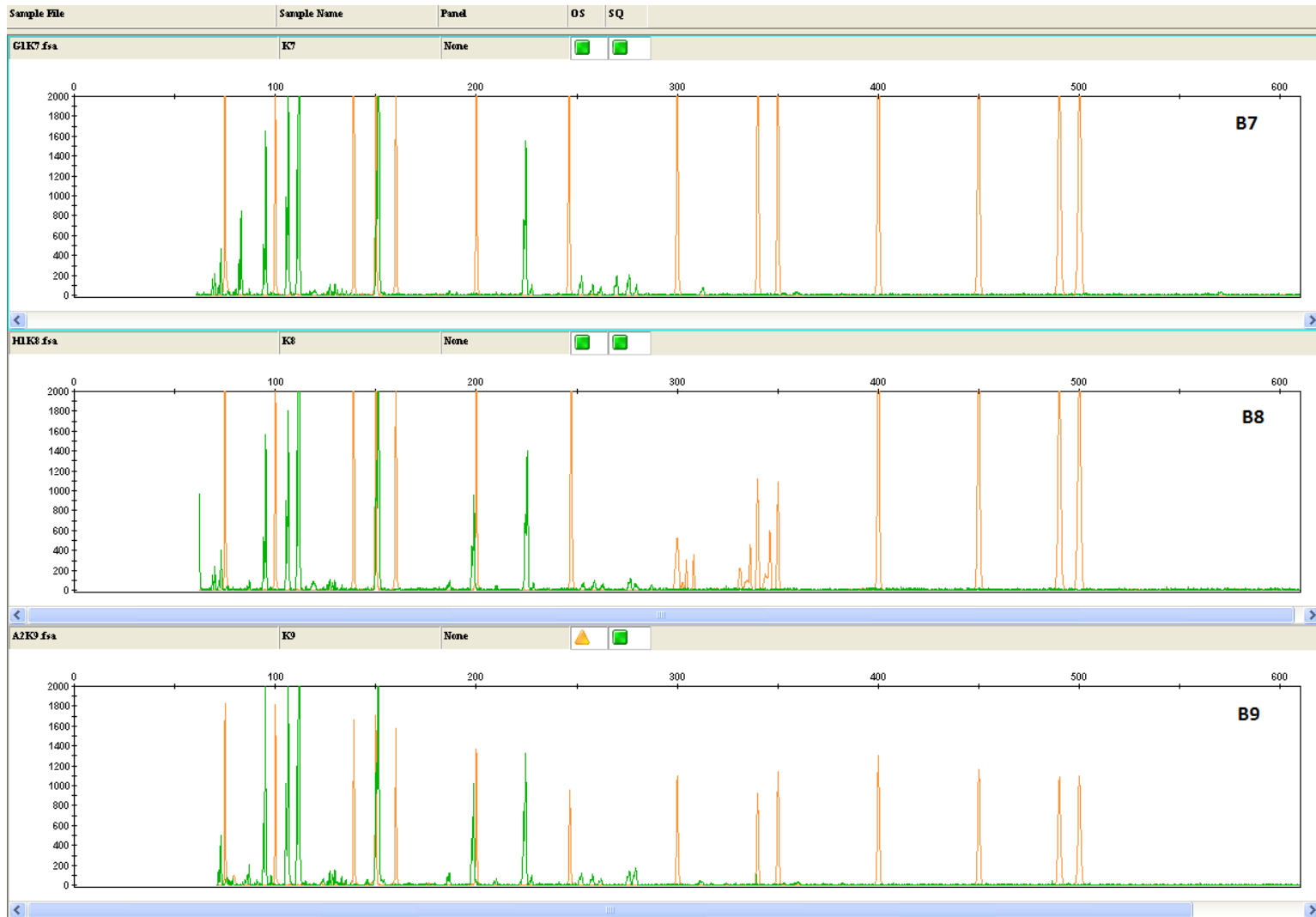


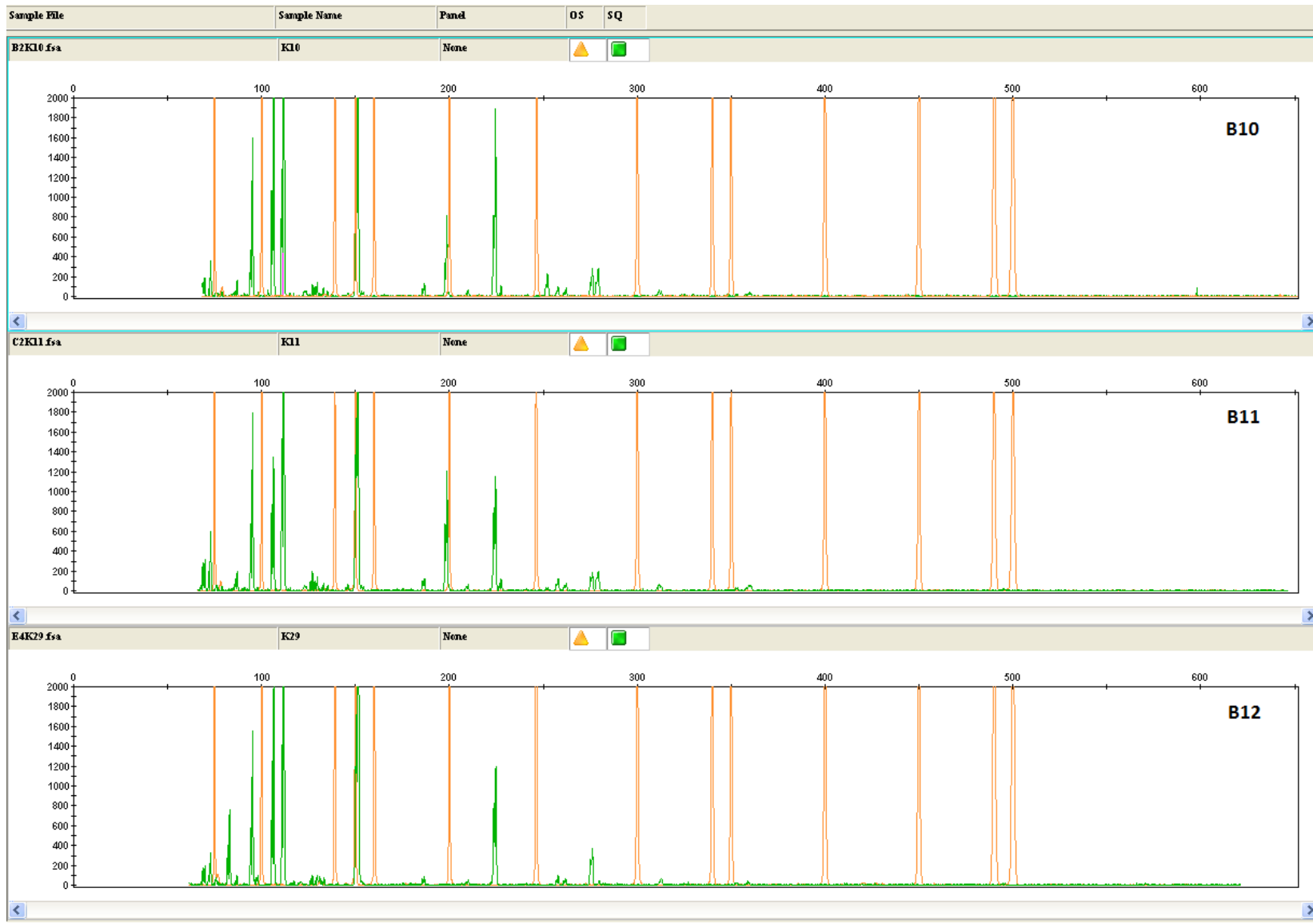


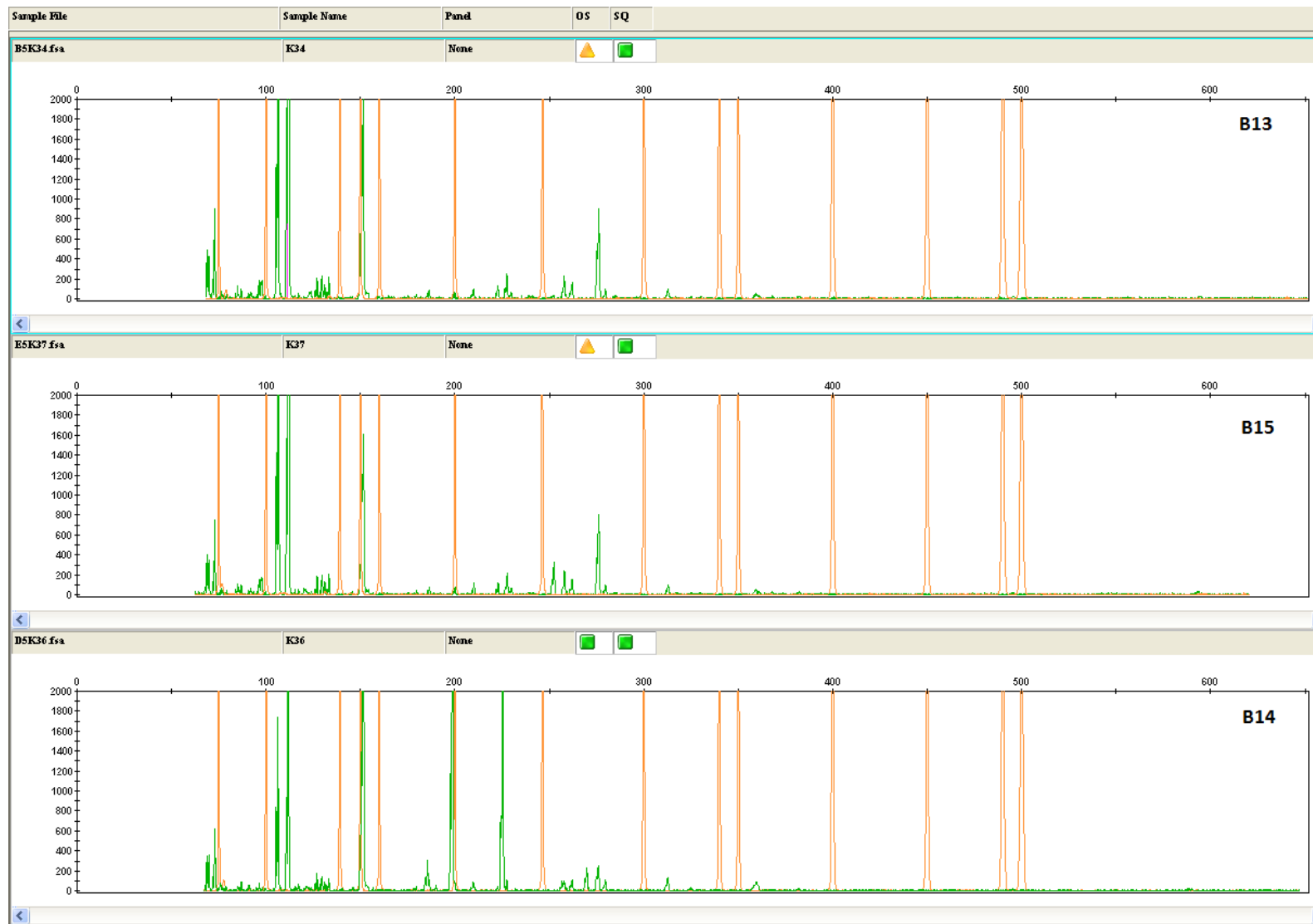
Εκκλινητής EcoRI – ACG – MseI – CTC

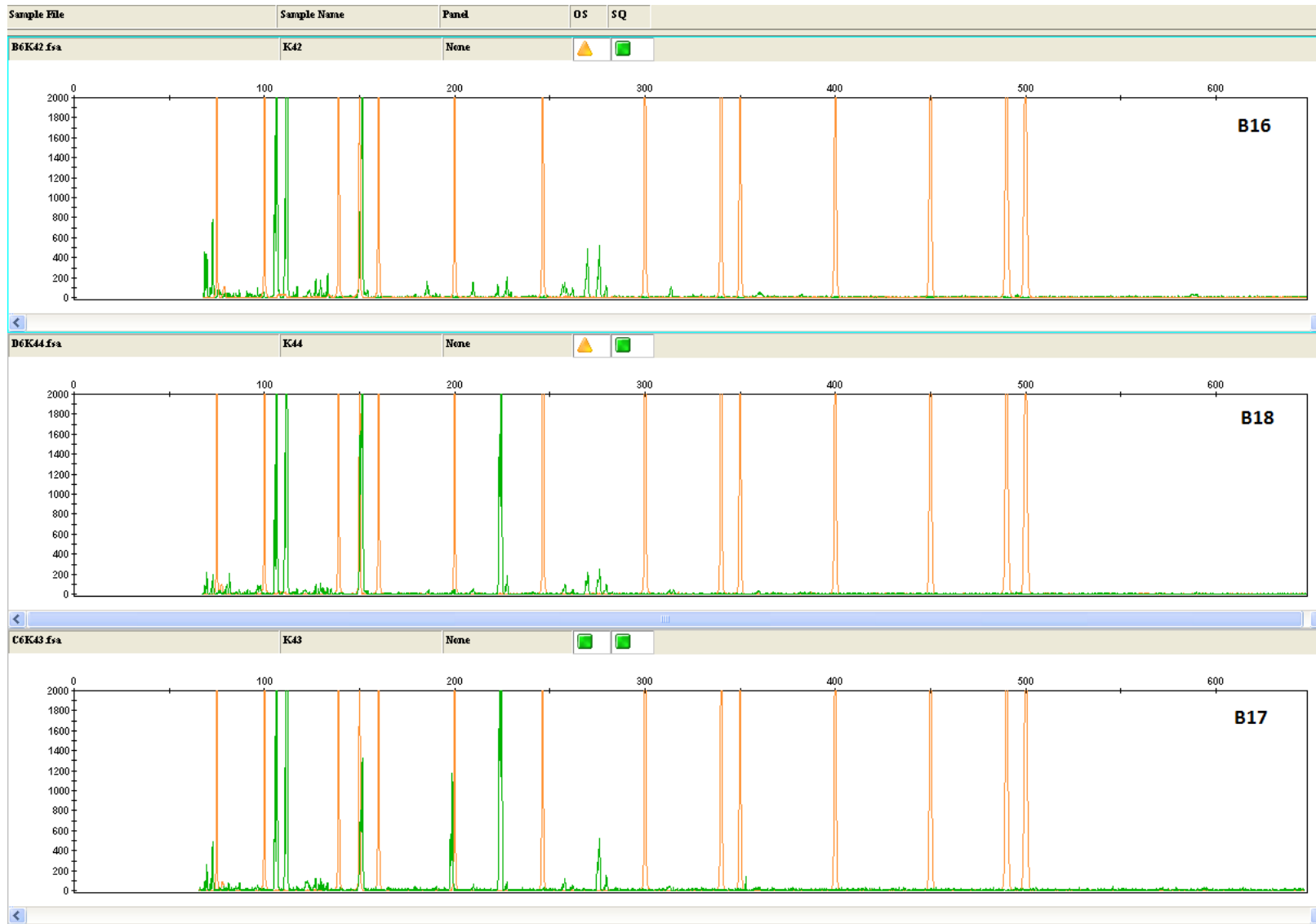


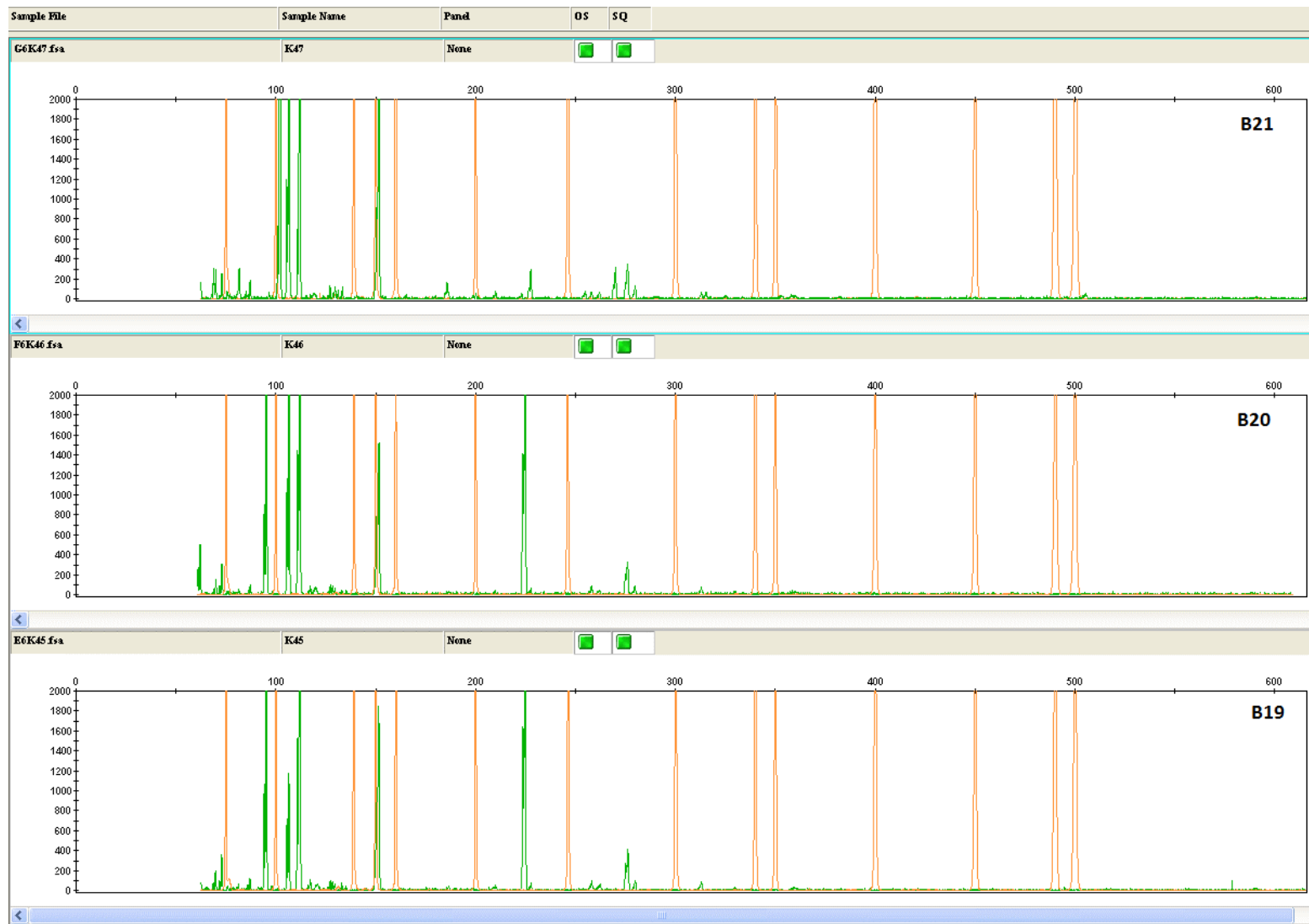


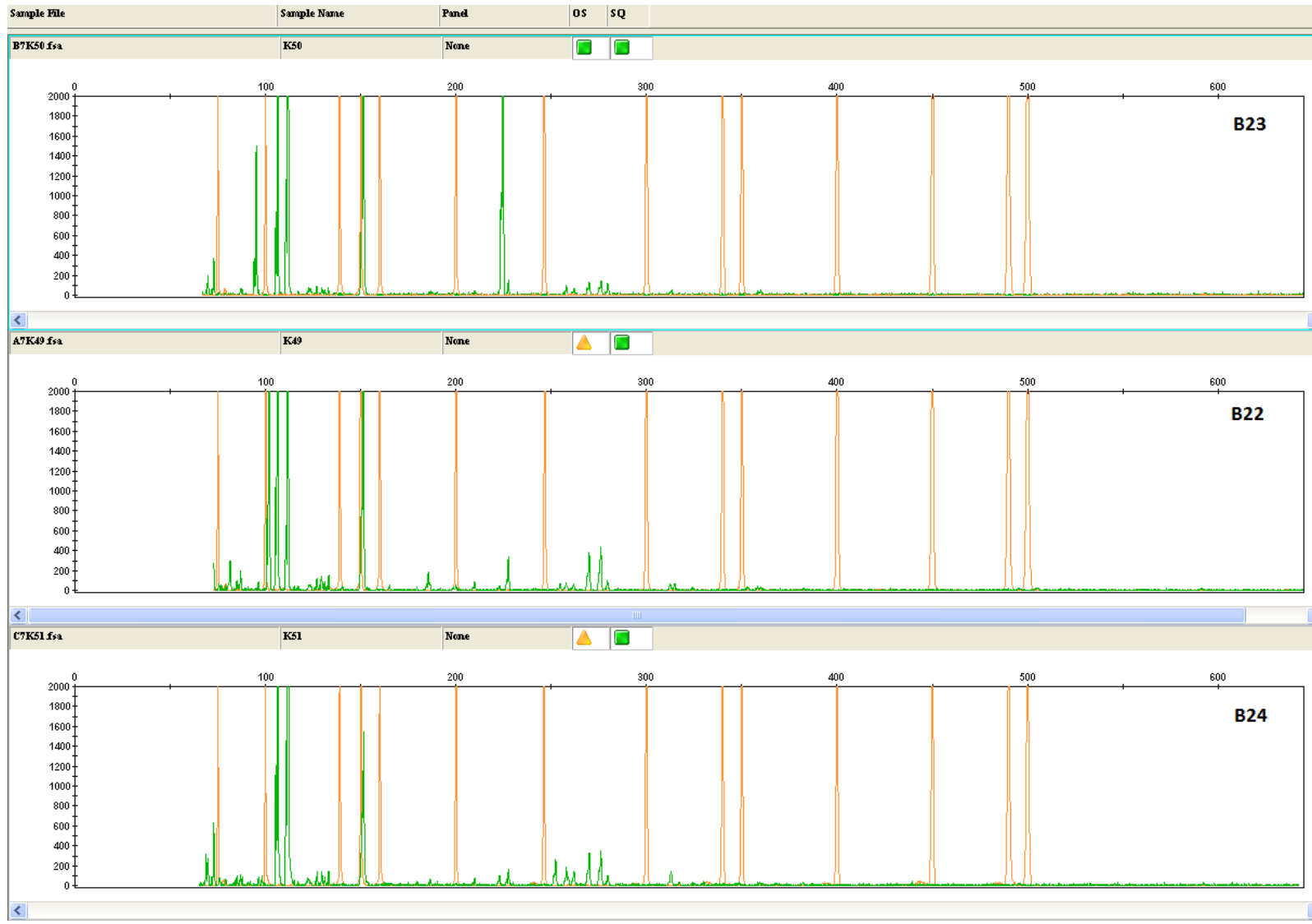


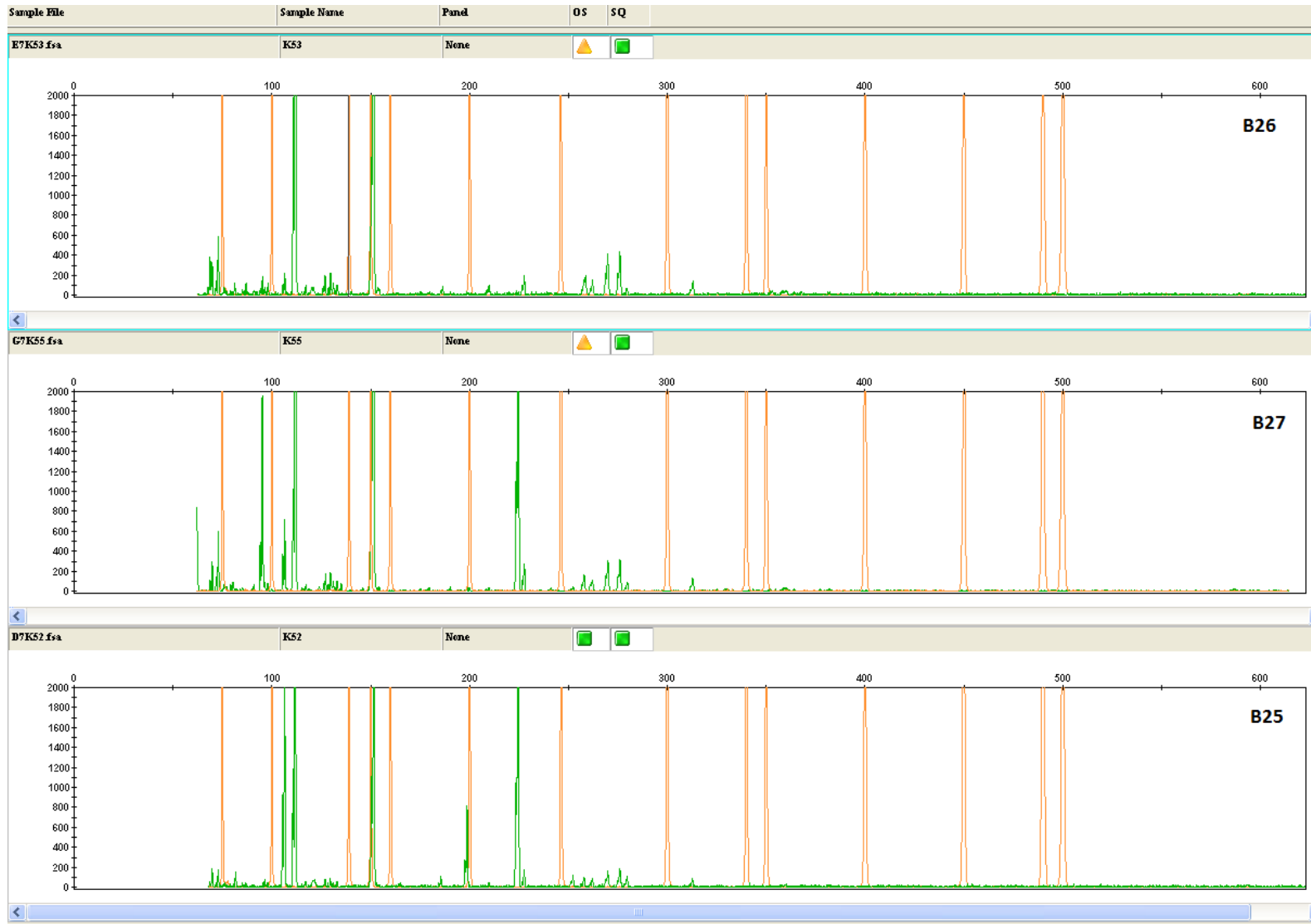












Εκκλινητής EcoRI – ACG – MseI – CAC

