



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ & ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΑΕΙΦΟΡΙΚΗ ΓΕΩΡΓΙΑ,
ΣΤΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ & ΣΤΗΝ ΑΓΡΟΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΑ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Χαρακτηρισμός γενετικού υλικού γλυκάνισου
με χρήση αγρο/μορφολογικών γνωρισμάτων και μοριακών δεικτών



Θεανώ Ν. Καραμήτσιου

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:
Μπεμπέλη Πηνελόπη, Καθηγήτρια ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ
2024**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ & ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Χαρακτηρισμός γενετικού υλικού γλυκάνισου
με χρήση αγρο/μορφολογικών γνωρισμάτων και μοριακών δεικτών

“Characterization of anise genetic material
using agro/morphological traits and molecular markers”

Θεανώ Ν. Καραμήτσιου

Εξεταστική Επιτροπή:

Πηνελόπη Μπεμπέλη, Καθηγήτρια ΓΠΑ (επιβλέπουσα)

Ελένη Τάνη, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

Βασίλειος Παπασωτηρόπουλος, Καθηγητής ΓΠΑ

Χαρακτηρισμός γενετικού υλικού γλυκάνισου με χρήση αγρο/μορφολογικών γνωρισμάτων και μοριακών δεικτών

ΠΜΣ Καινοτόμες Εφαρμογές στην Αειφορική Γεωργία, στη Βελτίωση Φυτών & στην Αγρομετεωρολογία

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής

Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών & Γεωργικού Πειραματισμού

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στον ελλαδικό χώρο τα είδη που έχουν ερευνηθεί και χαρακτηριστεί ως φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά είναι στον αριθμό περίπου 500-600 είδη. Ο γλυκάνισος ανήκει στην κατηγορία των σημαντικότερων, πιο δημοφιλέστερων φαρμακευτικών φυτών και έχει σημειωθεί ότι τα τελευταία χρόνια συνεχώς αυξάνεται η μελέτη που διεξάγεται ως προς τις φαρμακευτικές του ιδιότητες. Είναι αξιόλογο να σημειωθεί ότι το ποσοστό καλλιέργειας των αρωματικών φυτών στην Ελλάδα ισοδυναμεί με το 0,02% της συνολικής κατανομής των καλλιεργούμενων φυτών και αποτελεί περισσότερο τοπικής σημασίας. Η παρούσα μελέτη είχε ως σκοπό την αξιολόγηση επτά πληθυσμών γλυκάνισου και ενός μάραθου ως προς τα αγρο/μορφολογικά χαρακτηριστικά και τον χαρακτηρισμό του γενετικού υλικού, πέντε ποικιλιών γλυκάνισου και δύο μάραθου με τη χρήση μοριακών δεικτών. Η επιλογή των πληθυσμών για τον αγρο/μορφολογικό χαρακτηρισμό ήταν πέντε ποικιλίες τοπικής σημασίας από νησιά του Αιγαίου και τη Στερεά Ελλάδα και τρεις εμπορικής σημασίας ποικιλίες. Στο εργαστηριακό μέρος του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν έξι πληθυσμοί τοπικής σημασίας από Μακεδονία και νησιά του Αιγαίου και μία ελληνική εμπορική ποικιλία.

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης έδειξαν ότι ορισμένα αγρο/μορφολογικά χαρακτηριστικά ήταν παρόμοια σε κάποιες ποικιλίες ενώ άλλα γνωρίσματα παρουσίαζαν διαφορές. Υπήρχε μία διακύμανση τιμών στα ποσοτικά χαρακτηριστικά όπως ο αριθμός σκιαδίων με τιμές από 8,5-52 σκιάδια/φυτό, διαφορές επίσης παρατηρήθηκαν στο πλάτος σκιαδίων με τιμές από 3-6 cm/σκιάδιο και στο μήκος απλών και σύνθετων φύλλων. Σχετικά με το μήκος του μεσογονάτιου διαστήματος διαφορετικές τιμές καταγράφηκαν όχι μόνο άνα ποικιλία αλλά και ανάμεσα στις επαναλήψεις. Μετά τη συγκομιδή μετρήθηκε το ολικό βάρος

κάθε φυτού και παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ποικιλίες με τιμές από 2,7-20,17g/φυτό.

Η τοπική ποικιλία του μάραθου που χρησιμοποιήθηκε βοήθησε στο καθορισμό των περιγραφητών του γλυκάνισου καθώς και τα δύο είδη ανήκουν στην ίδια κατηγορία Σκιαδοφόρων, ωστόσο τόσο τα ποιοτικά όσο και τα ποσοτικά χαρακτηριστικά του μάραθου ήταν διαφορετικά σε σχέση με του γλυκάνισου στις στατιστικές αναλύσεις. Η γενετική ποικιλότητα για τους πληθυσμούς γλυκάνισου και μάραθου που μελετήθηκε, έγινε με τη χρήση συγκεκριμένων μοριακών δεικτών ISSR, στο Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών & Γεωργικού Πειραματισμού, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Πιο αναλυτικά χρησιμοποιήθηκαν οι δείκτες UBC807 και UBC841. Οι μοριακές αναλύσεις μεταξύ των ποικιλιών απέδειξαν ότι ορισμένες ποικιλίες από τον ίδιο γεωγραφικό τόπο έχουν κοινό γενετικό προφίλ ενώ άλλες εμφάνισαν διαφορές. Επιπλέον παρόμοια γενετικά χαρακτηριστικά εμφάνισαν και οι τρεις ποικιλίες μάραθου που αναλύθηκαν με τη χρήση των μοριακών δεικτών.

Επιστημονική περιοχή: Βελτίωση Φυτών

Λέξεις κλειδιά: γλυκάνισος, μάραθος, φαρμακευτικά φυτά, αρωματικά φυτά, περιγραφητές, μορφολογικά χαρακτηριστικά, μοριακοί δείκτες

Characterization of anise genetic material using agro/morphological traits and molecular markers

*MsC Innovative Applications in Sustainable Agriculture, Plant Breeding & Agrometeorology
Faculty of Crop Science
Laboratory of Plant Breeding & Biometry*

ABSTRACT

In Greece approximately 500-600 species have been studied and characterized as medicinal and aromatic plants. Among these, anise is widely recognized as one of the most popular medicinal plants and more studies have been conducted in the recent years to investigate its medicinal properties. It is worth mentioning that the percentage of cultivated aromatic plants in Greece is 0,02% of the total distribution of cultivated plants and is grown locally. The present study aimed to evaluate seven anise and one fennel populations for their morphological characteristics and study genetic material of five anise and two cultivars using molecular markers. Five varieties that were selected for morphological characterization were originated from the Aegean Islands and Central Greece and three were commercial varieties. For laboratory purposes they were used, six local populations from Macedonia and the Aegean Islands and one Greek commercial variety.

The statistical analysis revealed similarities in certain agronomic and morphological traits among certain varieties, while differences were evident in other characteristics. There was a variation of values in quantitative traits such as number of shadings with values from 8,5-52 shadings/plant, differences were also observed in shadings width, with values from 3-6 cm/shadings and length of simple and compound leaves. Concerning the length of the petiole, different values were recorded not only between each variety but also between the three blocks. After harvest, the total weight of each plant was measured and significant differences were observed among the varieties with values ranging from 2,7-20,17 g/plant. The local variety of fennel that was used aided in the definition of the descriptors of anise. Both species belong in the same Apiaceae family, however both qualitative and quantitative characteristics of fennel were different from anise in the statistical analyses.

The genetic diversity for anise and fennel populations was determined, using specific ISSR molecular markers at the Laboratory of Plant Breeding and Biometry in Agricultural University of Athens. More specifically, two markers were used, UBC807 and UBC841. Molecular analyses between the varieties showed that some varieties from the same geographical origin have a common genetic profile while others showed differences. In addition, similar genetic characteristics were found in all three fennel varieties analyzed using the molecular markers.

Scientific area: Plant Breeding

Keywords: Anise, Fennel, medicinal plants, aromatic plants, descriptors, molecular markers, morphological characteristics

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, στο Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής και συγκεκριμένα στο Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών & Γεωργικού Πειραματισμού, κατά το έτος 2022-2023. Θα ήθελα να αφιερώσω την παρούσα σελίδα στους ανθρώπους που έπαιξαν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της διπλωματικής μου εργασίας και να ευχαριστήσω τον καθένα χωριστά για τη βοήθεια που προσέφεραν με στόχο την ολοκλήρωση αυτής της εργασίας.

Θέλω να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην επιβλέπουσα Καθηγήτρια κα Πηνελόπη Μπεμπέλη του Γ.Π.Α., για τη καθοδήγηση και υποστήριξη της κατά τη διάρκεια της εργασίας μου και την ευκαιρία που μου έδωσε να μελετήσω ένα φυτό ύψιστης σημασίας για τον ελλαδικό χώρο, με πολυάριθμες αναφορές αξιοποίησης του από την αρχαιότητα μέχρι και σήμερα. Θέλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τους υπευθύνους του εργαστηρίου Αμπελολογίας, που μου διέθεσαν τον χώρο για την διεξαγωγή του πειράματος μου στον αγρό.

Εκφράζω ένα βαθύ ευχαριστώ στον κ Αναστάση Κατσιλέρο για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε για να φέρουμε εις πέρας το όργωμα και τη χάραξη του χωραφιού. Θέλω, επίσης, να ευχαριστήσω τους προπτυχιακούς φοιτητές Ειρήνη Σταθάκη και Δημήτρη Μπουνάνο για την άριστη συνεργασία που είχαμε στα πλαίσια εκπόνησης αυτής της εργασίας. Ευχαριστώ ιδιαίτερα την υποψήφια διδάκτορα κα Ευθαλία Σταθή καθώς και την Νεφέλη Σακελλίου για το χρόνο που αφιέρωσαν να μου δώσουν όλες τις οδηγίες σχετικά με τις μοριακές αναλύσεις και να μου δείξουν το χώρο του εργαστηρίου.

Χρωστάω επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ στον κ. Αντώνιο Τσαγκαράκη, Επίκουρο καθηγητή στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας για την αναγνώριση των επικονιαστών που συλλέχθηκαν στον αγρό.

Τέλος ένα εγκάρδιο ευχαριστώ αξίζουν οι γονείς μου που ήταν δίπλα μου σε όλες τις δύσκολες στιγμές και μου έδωσαν δύναμη και κουράγιο να συνεχίσω με γνώμονα την υλοποίηση του στόχου μου.

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.

Θεανώ Καραμήτσιου

Αθήνα, 2024

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT.....	5
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 Ο ΓΛΥΚΑΝΙΣΟΣ	10
1.1.1 Βοτανική ταξινόμηση.....	10
1.1.2 Βοτανική περιγραφή	11
1.1.3 Καταγωγή – εξάπλωση -εξημέρωση	12
1.1.4 Ποικιλίες γλυκάνισου.....	13
1.1.5 Ανάπτυξη και προσαρμοστικότητα.....	14
1.1.6 Καλλιέργεια γλυκάνισου	16
.....	17
1.1.7 Εχθροί και ασθένειες.....	17
1.1.8 Χρήσεις γλυκάνισου.....	19
1.2 ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΦΥΤΑ.....	21
1.2.1 Γενικά.....	21
1.2.2 Καλλιέργεια ΦΑΦ.....	22
1.2.3 Οικονομική σημασία των ΦΑΦ στην αγορά	24
1.2.4 Χημικά στοιχεία γλυκάνισου	27
1.2.5 Αιθέρια Έλαια.....	28
1.2.6 Παραλαβή αιθέριων ελαίων	29
1.2.7 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά	30
1.2.8 Η σημασία της επικονίασης	31
1.3 ΑΓΡΟ/ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	32
1.3.1 Περιγραφητές.....	32
1.3.2 Κατηγορίες περιγραφητών	34
1.3.3 Περιγραφητές γλυκάνισου.....	36
1.4 ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	37
1.4.1 Γενικά.....	37
1.4.2 Μοριακοί Δείκτες ISSR.....	38
1.5 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	38
2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	40
2.1 ΑΓΡΟ/ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	40
2.1.1 Φυτικό υλικό.....	40
2.1.2 Καλλιεργητική τεχνική	42
2.1.3 Προετοιμασία χωραφιού.....	43
2.1.4 Μεταφύτευση σπορόφυτων	44
2.1.5 Περιγραφητές που μελετήθηκαν.....	46
2.1.6 Περισύλλογή Επικονιαστών.....	49
2.2 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.....	50
2.3 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.....	50

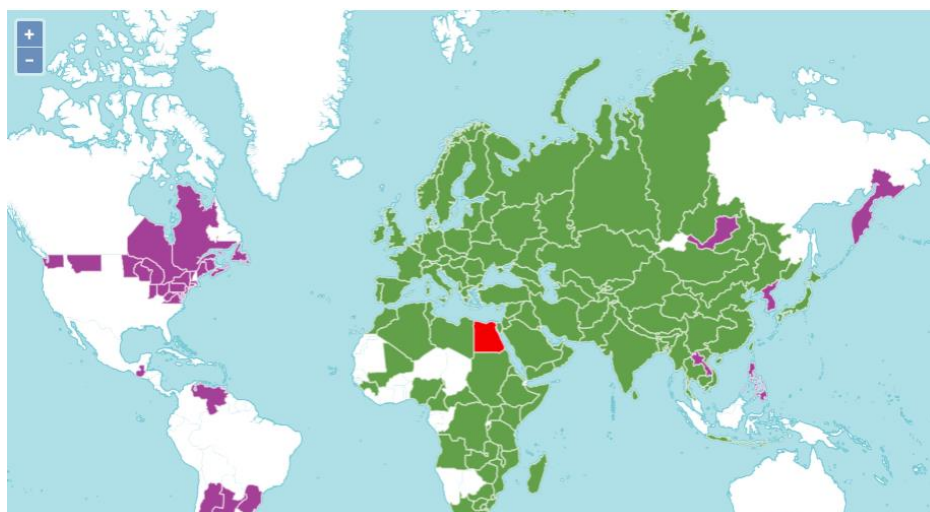
2.3.1 Φυτικό Υλικό.....	50
2.3.2 Απομόνωση DNA.....	52
2.3.3 Μέτρηση DNA.....	54
2.3.4 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).....	57
2.3.5 Ηλεκτροφόρηση.....	59
2.3.6 Απεικόνιση DNA.....	59
3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	61
3.1 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	61
3.2 ΠΟΣΟΤΙΚΑ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	62
3.3 ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	75
3.4 ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΑ.....	79
3.5 ΕΠΙΚΟΝΙΑΣΤΕΣ ΣΤΟ ΓΛΥΚΑΝΙΣΟ.....	85
3.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ISSR ΔΕΙΚΤΩΝ.....	86
4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	89
4.1 ΜΕΛΕΤΗ ΑΓΡΟ/ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΓΛΥΚΑΝΙΣΟΥ.....	89
4.2 ΜΕΛΕΤΗ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ.....	93
4.3 ΕΠΙΚΟΝΙΑΣΤΕΣ ΓΛΥΚΑΝΙΣΟΥ.....	94
4.4 ΜΕΛΕΤΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	94
4.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	96
5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	97
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	97
ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	97
6 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	104

1 Εισαγωγή

1.1 Ο γλυκάνισος

1.1.1 Βοτανική ταξινόμηση

Ο γλυκάνισος ανήκει στη κατηγορία των δημοφιλέστερων αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών, του γένους *Pimpinella* και της οικογένειας Umbelliferae ή Apiaceae. Η επιστημονική του ονομασία είναι *Pimpinella anisum* (L.), ενώ κυριαρχούν κι άλλες ονομασίες όπως Anason (Ρουμανικά & Τούρκικα), Biedrzeniec anyż (Πολωνικά), Anyżius (Λιθουανικά). Το γένος *Pimpinella* περιλαμβάνει πολυετή, διετή ή ετήσια είδη με εμφανής καρπούς καθώς ανήκει στη κατηγορία των αγγειόσπερμων. Η επιστημονική κοινότητα έχει καταγράψει 154 αποδεκτά είδη, επιπλέον μελέτες έχουν δείξει ότι το γένος δεν ανήκει σε μία μονοφυλετική ομάδα και ότι τα τάξα του γένους *Pimpinella* που καλλιεργούνται στη δυτική Ευρώπη ανήκουν σε ανεξάρτητες φυλογενετικές ομάδες που αντιστοιχούν σε τρεις διαφορετικές φυλές της υποοικογένειας Apioideae, αυτές είναι οι Pimpinelleae, Pyramidoptereae και Smyrnieae (Prieto, 2018). Το γένος συναντάται κυρίως σε χώρες της Ευρασίας, στη βόρεια εύκρατη ζώνη αλλά και της Αφρικής, συγκεκριμένα στη νότια εύκρατη ζώνη. Ωστόσο το γένος αυτό παρουσιάζει όλο και μεγαλύτερη εξάπλωση σε χώρες της ΒΑ Αμερικής αλλά και στη νότια Αμερική σε χώρες της νότιας εύκρατης ζώνης.



Εικόνα 1.1 Γεωγραφική απεικόνιση εξάπλωσης του γένους *Pimpinella* ,με πράσινο απεικονίζονται οι περιοχές με εγγενής ποικιλίες, με κόκκινο οι περιοχές στις οποίες έχουν εξαφανιστεί ορισμένα είδη, ενώ με μωβ οι περιοχές στις οποίες έχει εισαχθεί το γένος.

1.1.2 Βοτανική περιγραφή

Ο γλυκάνισος χαρακτηρίζεται ως ετήσιο, ποώδες φυτό. Ο βλαστός του έχει ορθή ανάπτυξη και κάθετο ριζικό σύστημα με ατρακτοειδές ρίζες. Το ύψος του φυτού μπορεί να φτάσει μέχρι και 70cm. Τα ανώτερα φύλλα του φυτού διαφέρουν από τα κατώτερα φύλλα, στη βάση τα φύλλα είναι απλά με μήκους που κυμαίνεται από 1-5cm με λοβωτή ή οδοντωτή περιφέρεια ανάλογα με τη ποικιλία, ενώ τα φύλλα στο ανώτερο τμήμα του φυτού είναι συνήθως πτεροειδή. Οι παραγόμενοι καρποί χωρίζονται σε δύο μερικάρπια, με αχλαδοειδές σχήμα καρπού, όπου το μήκος είναι περίπου 3-6mm. Κατά την ανθοφορία, τα άνθη που παράγονται σχηματίζουν σκιάδια σαν ομπρέλες με πλάτος σκιαδίων να ποικίλει από 3-9cm και αποτελούμενα από λευκά άνθη διαμέτρου 3mm.



Εικόνα 1.2 Βοτανική απεικόνιση του φυτού *Pimpinella anisum*

1.1.3 Καταγωγή – εξάπλωση -εξημέρωση

Ο γλυκάνισος είναι εγγενές φυτό της Αιγύπτου και της ανατολικής Μεσογείου. Καλλιεργείται στο νότιο τμήμα της Ευρωπαϊκής ηπείρου, στη νότια Ρωσία, στη Μέση Ανατολή, Βόρεια Αφρική, Πακιστάν, Κίνα, Χιλή, Μεξικό και χώρες των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής. Το φυτό εξαπλώθηκε σε όλη της περιοχή της Μεσογείου και εισήχθη σε άλλα μέρη του κόσμου από εμπόρους και εξερευνητές. Οι αρχαίοι πολιτισμοί χρησιμοποιούσαν τον γλυκάνισο τόσο στην ιατρική όσο και στη μαγειρική. Πολιτισμοί όπως οι αρχαίοι Έλληνες, οι Ρωμαίοι και οι Αιγύπτιοι, πίστευαν ότι είχε ποικίλα οφέλη για την υγεία. Οι Αιγύπτιοι χρησιμοποιούσαν επίσης γλυκάνισο στις τελετουργίες ταρίχευσης των νεκρών.

Κατά τη διάρκεια της Μεσαιωνικής εποχής, ο γλυκάνισος καλλιεργούνταν ευρέως στην Ευρώπη και χρησιμοποιούνταν σε διάφορα γαστρονομικά πιάτα, καθώς και σε φάρμακα και αρώματα. Χρησιμοποιήθηκε επίσης ως αρωματικό για αλκοολούχα ποτά, όπως το αφέντι.

Ο γλυκάνισος εκτιμήθηκε ιδιαίτερα κατά την περίοδο της Αναγέννησης και χρησιμοποιήθηκε ως μπαχαρικό και φάρμακο. Πιστευόταν ότι είχε πεπτικές ιδιότητες και χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία διαφόρων παθήσεων, συμπεριλαμβανομένου του βήχα, της δυσπεψίας και του μετεωρισμού.

Μέχρι και στη σημερινή εποχή, εξακολουθείτε να αναπτύσσεται η χρήση του γλυκάνισου με ποικίλους τρόπους και σε διαφορετικές βιομηχανίες. Χρησιμοποιείται συνήθως ως αρωματικό για καραμέλες, αρτοσκευάσματα και αλκοολούχα ποτά, όπως το ούζο και η σαμπούκα. Χρησιμοποιείται επίσης σε παραδοσιακά φάρμακα για τη θεραπεία ποικίλων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων των πεπτικών διαταραχών και του αναπνευστικού συστήματος.

Εκτός από τις μαγειρικές και ιατρικές χρήσεις του, ο γλυκάνισος έχει επίσης παίξει ρόλο στις παραδοσιακές λαϊκές δοξασίες και δεισιδαιμονίες. Ιδιαίτερα στην Ελλάδα όπου οι προλήψεις ήταν πολύ διαδεδομένες στα χωριά της, τα παλαιότερα χρόνια.

Η εξάπλωση αυτού του φυτού ανά τους αιώνες σημείωσε ραγδαία ανάπτυξη λόγω των πολλαπλών ιδιοτήτων και διαδεδομένης χρήσης του από τη μαγειρική μέχρι τη φαρμακευτική. Η εξημέρωση του γλυκάνισου πιστεύεται ότι συνέβη στους αρχαίους πολιτισμούς όπως στην Αίγυπτο και την Ελλάδα πριν από περίπου 4000 χρόνια. Σπόροι οι οποίοι έχουν βρεθεί σε τοποθεσίες ανασκαφής μαρτυρούν ότι το φυτό αυτό χρησιμοποιούνταν από τους ανθρώπους εδώ και χιλιάδες χρόνια. Επιπλέον έχουν

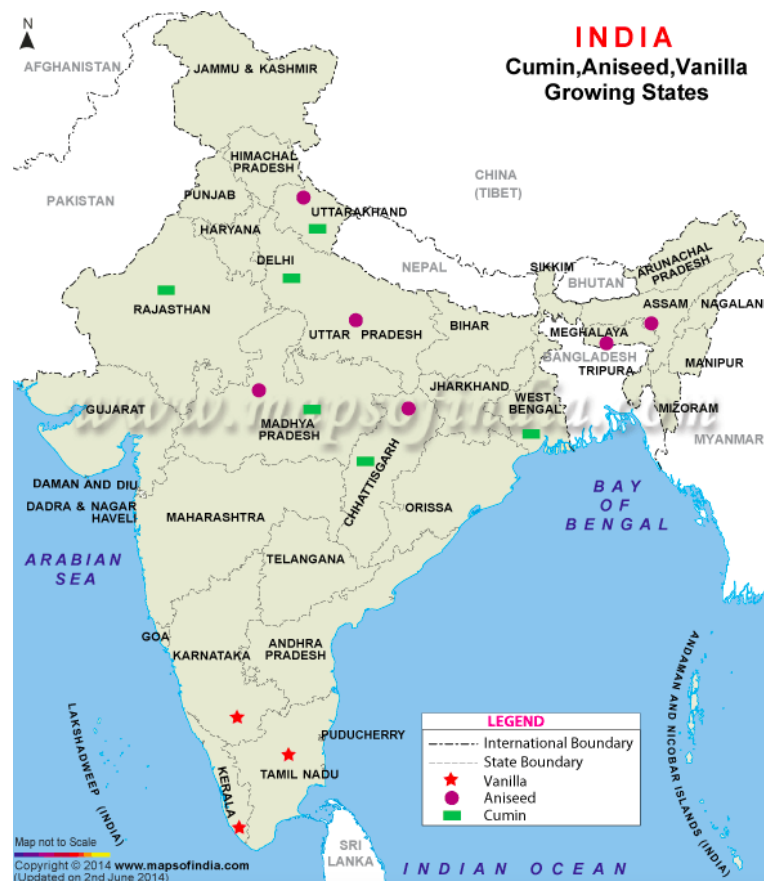
βρεθεί σπόροι γλυκάνισου σε αιγυπτιακό τάφο του 13^{ου} αιώνα π.Χ. Αναφορές του γλυκάνισου έχουν βρει επιστήμονες σε αρχαία ελληνικά και ρωμαϊκά κείμενα μαρτυρώντας ότι το φυτό είχε ευρεία χρήση ως βότανο και μπαχαρικό από αυτούς τους πολιτισμούς.



Εικόνα 1.3 Γεωγραφική απεικόνιση εξάπλωσης του είδους *Pimpinella anisum* μέσω του προγράμματος Globe Mapper

1.1.4 Ποικιλίες γλυκάνισου

Έχουν καταγραφεί πολλές διαφορετικές ποικιλίες γλυκάνισου οι οποίες έχουν ξεχωριστά ποιοτικά γνωρίσματα όπως η γεύση και το άρωμα. Ανάλογα με τα ποσοστά συγκέντρωσης χημικών ενώσεων στους σπόρους κάθε ποικιλία χρησιμοποιείται για διαφορετικό σκοπό όπως τη μαγειρική, φαρμακευτική βιομηχανία, αρωματοποιία κ.α. Η πιο δημοφιλής ποικιλία γλυκάνισου *Pimpinella anisum* L. καλλιεργείται για τη μαγειρική αλλά και για φαρμακευτικές εφαρμογές. Ο Ισπανικός γλυκάνισος γνωστός ως *Pimpinella anisum vulgare*, θεωρείται ότι έχει πιο ήπια γεύση αλλά έχει πολλά κοινά γνωρίσματα με τον κοινό γλυκάνισο. Ο ινδικός γλυκάνισος *Pimpinella anisum rosea* είναι εγγενής στην Ινδία και συχνότερα χρησιμοποιείται στην Αγιουρβεδική ιατρική. Ο Γιαπωνέζικος γλυκάνισος *Illicium anisatum* είναι εγγενής στην Ιαπωνία και συχνά χρησιμοποιείται ως υποκατάστατο του γλυκάνισου.



Εικόνα 1.4 Γεωγραφική απεικόνιση καλλιέργειας *Pimpinella anisum rosea*

1.1.5 Ανάπτυξη και προσαρμοστικότητα

Ο φυτικός άξονας του γλυκάνισου, αποτελείται από μία χαρακτηριστική γογγυλώδης ρίζα, παχιά και σαρκώδη με μικρές διακλαδώσεις και λεπτά, δευτερεύοντα ριζίδια. Αναπτύσσεται αρκετά μέσα στο έδαφος, με βάθος ανάπτυξης που μπορεί να φτάσει μέχρι και τα 25cm σε μήκος, παρέχοντας στο φυτό σταθερότητα και τα αναγκαία θρεπτικά συστατικά από το έδαφος. Οι πλάγιες ρίζες απλώνονται οριζόντια στα ανώτερα στρώματα του εδάφους. Το στέλεχος του φυτού είναι λεπτό, όρθιο και εμφανίζει διακλαδώσεις. Έχει πράσινο χρώμα και στην επιφάνεια του εμφανίζονται αδενικά τριχίδια. Ο βλαστός είναι κοίλος εσωτερικά και γραμμωτός, έχει πτερόμορφα σύνθετα και απλά φύλλα στο κατώτερο τμήμα του φυτού. Κατά την ανθοφορία λευκά άνθη σχηματίζουν σκιαδόμορφες ταξιανθίες. Δεν έχει ευρέως μελετηθεί η επιρροή αβιοτικών παραγόντων στην ανάπτυξη του φυτού, ωστόσο επιπτώσεις υδατικής καταπόνησης όπως η αυξημένη αλατότητα, έχουν δείξει ότι επηρεάζουν την απόδοση και παραγωγικότητα του γλυκάνισου. Στατιστικές αναλύσεις έχουν δείξει ότι η ύπαρξη

υψηλών συγκεντρώσεων ιόντων διαταράσσει την κυτταρική ιοντική ομοιόσταση, την ταχύτητα ανάπτυξης του φυτού καθώς και το τελικό μέγεθος του οργανισμού. Με μείωση του μήκους της ρίζας κατά 66%, το μήκος των βλαστών κατά 44%, το ξηρό βάρος της ρίζας κατά 68%. Ο γλυκάνισος χαρακτηρίζεται ως μία ευαίσθητη καλλιέργεια σε συνθήκες υψηλής υδατικής καταπόνησης ωστόσο σε μικρές ποσότητες συγκεντρώσεων ιόντων με $1-3 \text{ dS m}^{-1}$ το φυτό μπορεί να επιβιώσει χωρίς όμως να δώσει τελική υψηλή απόδοση. Στο Πανεπιστήμιο Süleyman Demirel στη Τουρκία, μελετήθηκε η απόδοση, η ποιότητα και ο ρυθμός ανάπτυξης του γλυκάνισου κάτω από διαφορετικές αγρονομικές πρακτικές. Το αποτέλεσμα της έρευνας ήταν ότι η απόδοση, τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, καθώς και τα ποσοστά περιεκτικότητας των ελαίων ήταν υψηλότερα όταν οι αποστάσεις φύτευσης ανάμεσα στα φυτά ήταν μεγαλύτερες. Συμπερασματικά, η απόδοση, η ανάπτυξη και η προσαρμοστικότητα του φυτού επηρεάζεται από ποικίλους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των κλιματικών συνθηκών, όπως η θερμοκρασία σε μεγάλο ποσοστό, η συχνότητα βροχοπτώσεων, το γενετικό δυναμικό της κάθε ποικιλίας αλλά και από τις αγρονομικές πρακτικές που επιλέγονται για τη καλλιέργεια του γλυκάνισου.



Εικόνα 1.5 Αναπαράσταση ριζικού συστήματος γλυκάνισου σε αιγυπτιακό σκίτσο

1.1.6 Καλλιέργεια γλυκάνισου

Η σπορά του γλυκάνισου στον Ελλαδικό χώρο γίνεται από τα μέσα Μαρτίου μέχρι και το τέλος Απριλίου, όταν η θερμοκρασίες δεν πέφτουν κάτω από 18° C. Αναπτύσσεται καλύτερα σε περιοχές με ηπειρωτικό ή εύκρατο κλίμα, σε πεδινές και ημιορεινές περιοχές. Η προετοιμασία του εδάφους και η καταπολέμηση των ζιζανίων είναι σημαντικές προϋποθέσεις για την καλλιέργεια του φυτού. Καλλιεργείται απευθείας στο έδαφος και η σπορά γίνεται με δύο μεθόδους, στα πεταχτά όπου απαιτείται διπλάσια ποσότητα σπόρων, ή με σπαρτικές μηχανές 570gr/στρ. Για να βλαστήσει ο σπόρος χρειάζεται περίπου 14 ημέρες από την ημέρα σποράς και το βάθος σποράς πρέπει να είναι μέχρι 1cm. Η βλαστητική ικανότητα του σπόρου είναι της τάξης 70%, γι' αυτό το λόγο ο σπόρος είναι απαραίτητο να είναι της προηγούμενης καλλιεργητικής περιόδου. Οι αποστάσεις φύτευσης κατά τη μηχανική σπορά γίνεται σε γραμμές με απόσταση 45-70cm, σημαντικός παράγοντας για τον αριθμό αυτό είναι η γονιμότητα του εδάφους. Το φυτό ευδοκμεί σε γόνιμα, ελαφρά καλά στραγγιζόμενα εδάφη, μέσης σύστασης, με pH μεταξύ 6,5-7,5. Οι απαιτήσεις του φυτού σε νερό είναι μέτριες καθώς δεν ανέχεται το στάσιμο νερό, ωστόσο χρειάζεται να υπάρχει υγρασία στο έδαφος για να αναπτυχθεί. Μπορεί να καλλιεργηθεί και σε ξηρικά χωράφια, αλλά καταλληλότερες περιοχές καλλιέργειας θεωρούνται αυτές που έχουν βροχοπτώσεις κατά τους μήνες Μαΐο, Ιούνιο, ωστόσο αν δεν βρέξει είναι απαραίτητα τρία ποτίσματα, ένα απευθείας μετά τη σπορά, ένα πριν από την άνθηση και ένα μία εβδομάδα μετά το πέρας της άνθησης. Η απόδοση του τελικού βάρους των σπόρων επηρεάζεται από τη μέθοδο ποτίσματος. Στις ξηρικές καλλιέργειες η απόδοση φτάνει 60-70kg/στρ. ενώ στις ποτιστικές καλλιέργειες η ποσότητα αυτή διπλασιάζεται στα 100-120kg/στμ. Οι απαιτήσεις του φυτού σε ηλιακό φως είναι υψηλές με τουλάχιστον 6 ώρες την ημέρα φυσικού φωτός. Ο γλυκάνισος απαιτεί ένα λίπασμα με ισορροπημένη συγκέντρωση αζώτου, φωσφόρου και καλίου, ενώ συνίσταται η λίπανση του φυτού κάθε 2-3 εβδομάδες κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου. Το πρώτο δεκαπενθήμερο του Ιουλίου, οι περισσότεροι σπόροι βρίσκονται σε στάδιο ωρίμανσης, οι καρποί αλλάζουν χρώμα από πράσινο σε σκούρο καφέ, ενώ παρατηρείται και πτώση των φύλλων στο κατώτερο τμήμα του φυτού. Σε μεγάλης έκτασης στρέμματα η συγκομιδή γίνεται με θέρισμα των φυτών και στη συνέχεια με το πέρας 2-3 ημερών τα φυτά αλωνίζονται με θεριζοαλωνιστική μηχανή. Σε μικρότερες εκτάσεις η συγκομιδή μπορεί να γίνει και με το χέρι. Είναι σημαντικό η συγκομιδή να γίνει στο κατάλληλο στάδιο

ωρίμανσης καθώς ο γλυκάνισος καταναλώνεται συνήθως από πτηνά, η καθυστερημένη συγκομιδή μπορεί να οδηγήσει στην απώλεια των σπόρων ακόμη και λόγω τινάγματος.

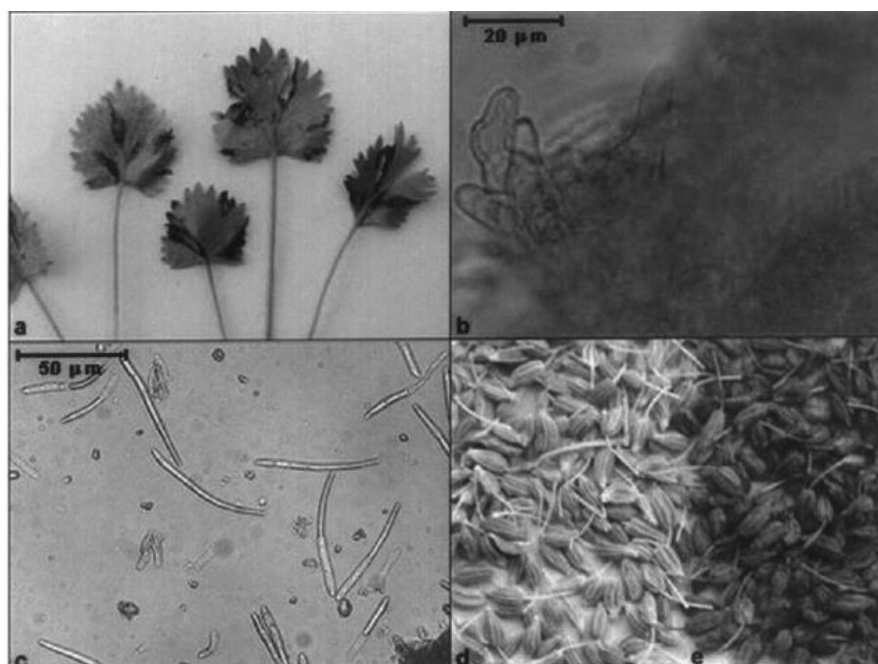


Εικόνα 1.6 Γλυκάνισος σε κατάλληλο στάδιο ωρίμανσης των σπόρων για συγκομιδή

1.1.7 Εχθροί και ασθένειες

Κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου, ο γλυκάνισος μπορεί να προσβληθεί από διάφορα παράσιτα και παθογόνα και αυτό μπορεί να συμβεί σε διαφορετικές χρονικές περιόδους κατά τη διάρκεια ανάπτυξης του φυτού. Λόγω θερμού κλίματος οι καλλιέργειες γλυκάνισου στον Ελλαδικό χώρο, μπορούν να προσβληθούν σε οποιοδήποτε στάδιο ανάπτυξης του φυτού, δηλαδή είτε τα σπορόφυτα, είτε ώριμοι καρποί από μυκητολογικές ασθένειες όπως το ωϊδίο, οι περιπτώσεις που ο μύκητας *Erisyphe heracleid* προσβάλλει το φυτό είναι σπανιότερες αλλά μπορεί να παρατηρηθεί σε περιόδους υψηλής υγρασίας. Ο ρυθμός εξάπλωσης της ασθένειας είναι πολύ γρήγορος και αν δεν εντοπιστεί άμεσα ο μύκητας μπορεί να προκαλέσει αποδυνάμωση του φυτού, με αποτέλεσμα να γίνει πιο ευαίσθητο σε άλλες ασθένειες και παράσιτα. Στην Τουρκία έχει καταγραφεί το παθογόνο *Passalora malkoffii* (Braun,2005) μυκητιακής προέλευσης, η ασθένεια προσβάλλει όλα τα υπέργεια μέρη του φυτού, ακόμη και τις ταξιανθίες. Οι σπόροι που προσβάλλονται εμφανίζουν σκούρο χρώμα και μεταβάλλεται η εξωτερική τους υφή. Η προσβολή στα φύλλα γίνεται εμφανής καθώς ξεκινά από την περιφέρεια προς τα μέσα του φύλλου, καλύπτει το φύλλο και ακολουθεί νέκρωση. Το 2002 καταγράφηκε μία από τις σοβαρότερες επιδημίες στη

Τουρκία σε περιοχές του Αιγαίου, με εκτιμώμενη ετήσια απώλεια καλλιεργειών περίπου 10 εκατομμύρια δολάρια. Ένας ακόμη εχθρός που έχει καταγραφεί σε περιοχές της Αιγύπτου σε καλλιέργειες γλυκάνισου και παίρνει όλο και μεγαλύτερη έκταση είναι ο σκωριομύκητας, το είδος του μύκητα έχει μελετηθεί με ηλεκτρονική μικροσκοπία και έχει ταξινομηθεί ως *Puccinia pimpinellae* ενώ έχει μελετηθεί σε μεγάλο φάσμα ξενιστών, έχει βρεθεί ότι προσβάλλει συγκεκριμένα τον γλυκάνισο. Ο μύκητας προσβάλλει κυρίως το φύλλωμα του φυτού προκαλώντας χρωματικές ανωμαλίες, ενώ στίγματα με κίτρινο-πορτοκαλί χρώμα εμφανίζονται και στη κάτω πλευρά των φύλλων. Οι βλαστοί του φυτού λυγίζουν και παραμορφώνονται όσο η ασθένεια εξαπλώνεται, μέχρι που το φυτό σταματάει να αναπτύσσεται. Για την αντιμετώπιση της εξάπλωσης της ασθένειας έχουν μελετηθεί οι βιολογικοί παράγοντες και το αποτέλεσμα της έρευνας είχε θετικές επιπτώσεις στην απόδοση του φυτού, επιπλέον μελέτη έχει διεξαχθεί για δύο κατηγορίες βιοδιεγερτών, τους μικροβιακούς και τους μη μικροβιακούς όπου χρησιμοποιούνται σε καλλιέργειες στην Αίγυπτο για την αντιμετώπιση της ασθένειας και την αύξηση της απόδοσης των φυτών.



Εικόνα 1.7 (a) Προσβολή από μύκητα *Passalora malkoffii* στο φύλλωμα γλυκάνισου, (b) Κονιδιοφόροι του μύκητα, (c) Κονίδια, (d) Σπόροι από υγιές φυτό, (e) Σπόροι από φυτό με προσβολή μύκητα.



Εικόνα 1.8 Διαφορετικά μέρη του γλυκάνισου με προσβολή από τον μύκητα *Puccinia pimpinellae*

1.1.8 Χρήσεις γλυκάνισου

Το φυτό *Pimpinella anisum* έχει ποικίλες χρήσεις στη φαρμακευτική βιομηχανία και στην ιατρική από την αρχαιότητα. Οι σπόροι γλυκάνισου έχουν θεραπευτικές ιδιότητες και βοηθάνε στην ανακούφιση του φουσκώματος, του μετεωρισμού και της δυσπεψίας. Οι σπόροι χρησιμοποιούνται συνήθως με τη μορφή αφεψήματος από άτομα που εκδηλώνουν αναπνευστικές παθήσεις καθώς έχουν αποχρεμπτικές ιδιότητες και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία αναπνευστικών παθήσεων όπως ο βήχας, η βρογχίτιδα και το άσθμα. Οι ενώσεις όπως η ανηθόλη, η οιστραγόλη και η φενχόνη, οδηγούν στη χαλάρωση του φλέγματος και στην ανακούφιση της συμφόρησης στους αεραγωγούς. Πιστεύεται επίσης ότι έχει βρογχοδιασταλτικά αποτελέσματα, τα οποία προσφέρουν χαλάρωση των μυών στους αεραγωγούς και βελτίωση της αναπνοής. Σε μια μελέτη που δημοσιεύτηκε στο *International Journal of Green Pharmacy*, το εκχύλισμα γλυκάνισου βρέθηκε ότι μειώνει σημαντικά την αντίσταση των αεραγωγών και βελτιώνει τη λειτουργία των πνευμόνων σε ποντίκια με άσθμα. Στο *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* διαπιστώθηκε ότι το αιθέριο έλαιο γλυκάνισου είχε βρογχοδιασταλτικές επιδράσεις στα ινδικά χοιρίδια,

υποδηλώνοντας ότι μπορεί να έχει δυνατότητες ως θεραπεία για το άσθμα. Γυναίκες που εμφανίζουν διαταραχές εμμήνου ρύσεως χρησιμοποιούν τους σπόρους αφού, περιέχουν ενώσεις που έχουν δράση παρόμοια με οιστρογόνα και μπορούν να βοηθήσουν στη ρύθμιση των εμμηνορροϊκών κύκλων, στην ανακούφιση από τις κράμπες της περιόδου και στην ανακούφιση των συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης. Οι σπόροι γλυκάνισου έχουν αντιφλεγμονώδεις και αντιμικροβιακές ιδιότητες που είναι χρήσιμες στη θεραπεία διαφόρων φλεγμονωδών και μολυσματικών διαταραχών. Επιπλέον χρησιμοποιείται στην παραδοσιακή περσική ιατρική για την προώθηση του υγιούς δέρματος και τη θεραπεία δερματικών παθήσεων όπως η ακμή και η ψωρίαση, καθώς οι σπόροι περιέχουν συγκεκριμένες ενώσεις με θεραπευτικές επιδράσεις στο δέρμα. Αυτές οι ενώσεις περιλαμβάνουν φαινολικά οξέα, флаβονοειδή και αιθέρια έλαια όπως το λιμονένιο.

Οι αντιμικροβιακές του ιδιότητες μπορούν να βοηθήσουν να σκοτώσουν ή να αναστείλουν την ανάπτυξη βακτηρίων και μυκήτων στο δέρμα. Αυτό είναι ευεργετικό για τη θεραπεία δερματικών λοιμώξεων, όπως αυτές που προκαλούνται από *Staphylococcus aureus* ή *Candida albicans*. Ενώ οι μαλακτικές ιδιότητες του γλυκάνισου προσφέρουν ενυδάτωση και καταπραΰνουν το ξηρό ή ερεθισμένο δέρμα.

Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες, προσφέρουν προστασία του δέρματος από βλάβες που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες. Οι ελεύθερες ρίζες είναι ασταθή μόρια που βλάπτουν τα κύτταρα και συμβάλουν στην ανάπτυξη της γήρανσης του δέρματος και άλλων παθήσεων. Ο γλυκάνισος έχει μελετηθεί για τις επιδράσεις του στο σακχαρώδη διαβήτη καθώς ενδείξεις δείχνουν ότι βοηθάει στη μείωση της συγκέντρωσης του σακχάρου στο αίμα. Σε αρουραίους που είχαν διαγνωστεί με διαβήτη διαπιστώθηκε ότι το έλαιο γλυκάνισου οδήγησε στη βελτίωση και την ευαισθησία του οργανισμού στην ινσουλίνη. Χρησιμοποιείται σε φάρμακα ή συμπληρώματα διατροφής που βοηθάνε στη λειτουργία της πέψης και ανακουφίζει από προβλήματα του πεπτικού συστήματος, καθώς οδηγεί στη χαλάρωση των μυών επιτρέποντας την ευκολότερη διέλευση των τροφών.

Ωστόσο, έρευνες έχουν διεξαχθεί για την επίδραση του εκχυλίσματος με την χορήγηση φαρμάκων και έχει διαπιστωθεί ότι ο γλυκάνισος μπορεί να αλληλοεπιδράσει με ορισμένα από αυτά ή να προκαλέσει παρενέργειες, όπως αλλεργικές αντιδράσεις ή πεπτικές διαταραχές. Επίσης, η κατανάλωση του μπορεί να επιδράσει στην αποτελεσματικότητα των φαρμάκων καθώς έχει παρατηρηθεί ότι δρα και στο κεντρικό νευρικό σύστημα.

Στην αγροτική βιομηχανία, χρησιμοποιείται στη παραγωγή εντομοκτόνων και άλλων γεωργικών σκευασμάτων, ενώ αποτελέσματα από έρευνα στο Journal of Scientific & Technical Research έχουν δείξει ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία ως φυσικό ενισχυτικό ανάπτυξης στα πουλερικά μέσω της ζωοτροφής, επιπλέον δρα ως τονωτικό και ανοσορυθμιστικό.

1.2 Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά

1.2.1 Γενικά

Στην Ελλάδα υπολογίζεται ότι αυτοφύονται πάνω από 500 είδη με φαρμακευτικές ιδιότητες. Το μεσογειακό κλίμα της χώρας ευνοεί την ανάπτυξη αυτών των φυτικών οργανισμών με το θερμό, ξηρό καλοκαίρι και τους ήπιους χειμώνες. Η μελέτη αυτών των ειδών είχε ήδη ξεκινήσει από την αρχαιότητα, όταν ο Θεόφραστος και αργότερα ο Διοσκουρίδης έστρεψαν το ενδιαφέρον τους στις ιδιότητες αυτών των φυτών και συνέλαβαν με το έργο τους στη κατανόηση του φυτικού κόσμου. Ο Διοσκουρίδης μελέτησε και αναγνώρισε περίπου 500 είδη ως θεραπευτικά από τις 5.500 ταξινομικές ομάδες που έχουν καταγραφεί στην Ελλάδα. Τα ΦΑΦ απέκτησαν πάλι αξία όταν ο οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων, FDA και η Ευρωπαϊκή Ένωση κοινοποίησαν οδηγίες, για τη παρασκευή τροφίμων και φαρμάκων, να στραφούν οι βιομηχανίες στη φύση για την εκμετάλλευση πρώτων υλών και δραστικών ουσιών, λόγω της ανάγκης αλλαγής του τρόπου ζωής και των διατροφικών συνηθειών. Στην Ελλάδα έχει ξεκινήσει μία συστηματική προσπάθεια για την ίδρυση μονάδων μεταποίησης καθώς και τον εκσυγχρονισμό των ήδη υφιστάμενων για τη ταχύτερη παραγωγή και προώθηση των φαρμακευτικών αυτών προϊόντων. Η εκτίμηση των εισαγόμενων ΦΑΦ στην χώρα είναι περίπου 3000 τόνοι ενώ εξάγονται 1100 τόνοι ειδών, όπως ρίγανη, κρόκος, μαστίχα Χίου. Οι κύρια εκμετάλλευση των ΦΑΦ γίνεται για τα αιθέρια έλαια και για τις ξηρές δρόγες. Στις βιομηχανίες αρωματοποιίας, σαπωνοποιίας, ζαχαροπλαστικής, φαρμακευτικής και τροφίμων χρησιμοποιούνται τα αιθέρια έλαια ενώ οι ξηρές δρόγες χρησιμοποιούνται στη λήψη αλκαοειδών, φλαβονοειδών, γλυκοζιτών αλλά και για τη παρασκευή ροφημάτων. Στη βιομηχανία τροφίμων εκτός από τη γεύση που προσδίδουν, χρησιμοποιούνται και για τις βακτηριοστατικές τους ιδιότητες ως φυσικά συντηρητικά. Στη βιομηχανία καλλυντικών τα ΦΑΦ τα πιο

συνηθισμένα φυτά που χρησιμοποιούνται είναι το χαμομήλι, πράσινο τσάι, αλόη, δεντρολίβανο. Στην επιστημονική κοινότητα επτά είναι οι οικογένειες στις οποίες κατατάσσονται τα ΦΑΦ, σύμφωνα με τη συστηματική βοτανική. Compositae στην οποία ανήκουν οργανισμοί όπως το χαμομήλι (*Matricaria chamomilla*), καλέντουλα (*Calendula officinalis*) κ.α., Lamiaceae με είδη σαν τη λεβάντα (*Lavandula officinalis*), μέντα (*Mentha piperita*), θυμάρι (*Thymus vulgaris*), τσάι του βουνού (*Sideritis spp*). Umbelliferae με τον μαϊντανό (*Petroselinum spp*), γλυκάνισο (*Pimpinella anisum*), Leguminosae στην οποία ανήκουν είδη όπως η κουτσουπιά (*Ceratonia siliquia*), κερκίδα (*Cercis siliquastrum*), Rosaceae με είδη όπως η άγρια τριανταφυλλιά (*Rosa canina*), Rutaceae με το νεροκάρδαμο (*Bitter cress – Cardamine hirsute*), λευκή μουστάρδα (*Sinapis alba*), τέλος την οικογένεια Liliaceae στην οποία ανήκουν τα είδη, σκόρδο (*Allium sativum*) και τη διαδεδομένη στην φαρμακευτική βιομηχανία αλόη (*Aloe vera*).

Τα χρησιμοποιούμενα μέρη των ΦΦΑ, μπορεί να είναι ο βλαστός του φυτού όπως στη κανέλα (*Cinnamomum cassia*), τα άνθη στα οποία περιέχεται το μεγαλύτερο ποσοστό των αιθέριων ελαίων, τα φύλλα επεξεργάζονται σε είδη όπως το τσάι του βουνού, το φασκόμηλο, οι σπόροι όπως στον γλυκάνισο, το μοσχοκάρυδο. Υπόγεια τμήματα του φυτού όπως οι ρίζες και βολβοί, χρησιμοποιούνται είδη σαν τη βαλεριάνα.

1.2.2 Καλλιέργεια ΦΑΦ

Τα ΦΑΦ, αποτελούν πηγές χρήσιμων ουσιών ενώ στη σύγχρονη εποχή είναι όλο και πιο διαδεδομένη η χρήση τους και υπάρχει πλέον μία πληθώρα εφαρμογών. Η ανάγκη για μεγαλύτερη κλίμακας παραγωγή και εκμετάλλευση τους είναι μείζονος σημασίας. Σύμφωνα με τον ΟΠΕΚΕ οι εκτάσεις στην Ελλάδα των ΦΑΦ για το έτος 2015 φαίνονται στο παρακάτω πίνακα. Παρατηρείται ο μεγαλύτερος αριθμός παραγωγών καλλιεργεί ρίγανη ωστόσο, η μεγαλύτερη τιμή για τη μέση έκταση ανά παραγωγό καταλαμβάνει ο γλυκάνισος το έτος 2015.

Είδος	Αριθμός παραγωγών	Έκταση (Εκτάρια)	Μέσο μέγεθος εκμετάλλευσης ανά παραγωγό
Ρίγανη	1335	1366.99	1.02
Κρόκος	728	390.43	0.54
Τσάι του βουνού	618	305.36	0.49
Λεβάντα	580	628.38	1.08
Μελισσόχορτο	468	96.40	0.21
Γλυκάνισος	312	509.14	1.63
Φασκόμηλο	285	63.72	0.22
Θυμάρι	276	57.88	0.21
Μέντα	247	24.47	0.10
Δενδρολίβανο	246	46.80	0.19
Δυόσμος	188	25.15	0.13
Χαμομήλι	162	81.20	0.50
Κολιάνδρος	153	18.65	0.12
Βασιλικός	123	10.40	0.08

Πίνακας 1.1 Αριθμός παραγωγών καλλιεργούμενων ΦΑΦ, μέση έκταση/παραγωγό στον ελληνικό χώρο για το έτος 2015 σύμφωνα με καταγραφές του ΟΠΕΚΕΠΕ.

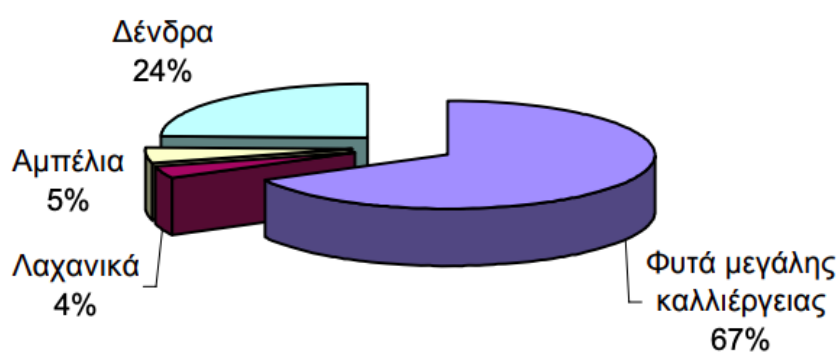
Ορισμένα από τα ΦΑΦ ευδοκούν σε θερμότερο κλίμα ενώ άλλα σε πιο ψυχρά περιβάλλοντα, στην Ελλάδα ο συνδυασμός πληθώρας μικροκλιμάτων και ανάγλυφου εξυπηρετεί τη δημιουργία μονάδων παραγωγής ΦΑΦ με υψηλής ποιότητας ουσίες. Οι απαιτήσεις των φυτών αυτών δεν είναι τόσο υψηλές όσο άλλα καλλιεργούμενα είδη, ενώ στα πλεονεκτήματά τους είναι ότι δεν χρειάζονται μεγάλης έκτασης αγοτεμάχια, οι εισροές σε λιπάσματα, αρδευτικό νερό και φυτοπροστατευτικά προϊόντα δεν είναι επίσης υψηλή. Η ανθεκτικότητά τους στην ξηρασία, τα καθιστά ιδανικά καλλιεργήσιμα φυτά καθώς υπάρχουν πάρα πολλά ξηρικά είδη που αντέχουν το θερμό και ξηρό κλίμα της Ελλάδας. Η συχνότητα άρδευσης ορισμένων ειδών μπορεί να επηρεάσει τη τελική περιεκτικότητα των αιθέριων ελαίων όπως συμβαίνει στη ρίγανη. Σημαντική προϋπόθεση για μία ποιοτική παραγωγή είναι ο γεωχημικός ποιοτικός έλεγχος εδάφους για την ανάλυση των θρεπτικών στοιχείων του χωραφιού στο οποίο θα γίνει η σπορά. Προηγείται βαθύ όργωμα πριν τη σπορά και κατεργασία του εδάφους για να σπάσουν οι σβόλοι και το έδαφος να αποκτήσει τη κατάλληλη δομή. Κατά την καλλιεργητική περίοδο των ΦΑΦ είναι απαραίτητη η καταπολέμηση των ζιζανίων καθώς μπορεί να

επιδράσουν αρνητικά στη βιωσιμότητα μιας καλλιέργειας αλλά και στη στρεμματική απόδοση και επομένως κεδροφορία. Ο καθαρισμός του χωραφιού μπορεί να γίνει με το χέρι ενώ η καλύτερη τεχνική προστασίας αποτελεί η εδαφοκάλυψη. Η περίοδος της συγκομιδής για κάθε ΦΑΦ είναι διαφορετική ανάλογα με το εκμεταλλεύσιμο τμήμα του φυτού, όταν ένας παραγωγός καλλιεργεί το φυτό για τους σπόρους του η συγκομιδή θα γίνει στο στάδιο ωρίμανσης. Τα άνθη συλλέγονται κατά το στάδιο της πλήρους ανθοφορίας, ενώ τα φύλλα πριν ή κατά την έναρξη της ανθοφορίας. Προς το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου συλλέγονται οι ρίζες ή τα ριζώματα.

1.2.3 Οικονομική σημασία των ΦΑΦ στην αγορά

Τα έσοδα που αποφέρουν τα ΦΑΦ στον παραγωγό ποικίλουν και εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες, όπως η ζήτηση που έχει στην αγορά το τελικό προϊόν, το κόστος παραγωγής της καλλιέργειας, αλλά και την προσαρμοστικότητα του φυτού. Λόγω της ταχείας μεταστροφής που παρατηρείται στη σύγχρονη εποχή προς όλο και πιο φυσικές διατροφικές συνήθειες, η ζήτηση και παραγωγή των ΦΑΦ όλο και αυξάνεται. Στην Ευρώπη χώρες οι οποίες εξάγουν ΦΑΦ είναι κυρίως η Τουρκία, Βουλγαρία, Πολωνία, Αλβανία, Τσεχία, Κροατία. Χώρες οι οποίες εισάγουν κατά κύριο λόγο ΦΑΦ είναι η Γερμανία, Γαλλία, Ιταλία, Ισπανία, Αγγλία, Ελβετία, Βέλγιο και Λουξεμβούργο (Παπαναγιώτου 2001, Παπαναγιώτου και Παπανικολάου 2004).

Ωστόσο από τις χώρες της Ευρωπαϊκής ένωσης, η Γαλλία έχει τη μεγαλύτερη ετήσια παραγωγή με 250.000 στρ., Ισπανία 190.000 στμ., Γερμανία 57.000 στμ., Αυστρία 43.000 στμ. Το έτος 2003 η καταγεγραμμένη συνολική παραγωγή ΦΑΦ στην Ελλάδα ήταν 3000 τόνοι σε μία καλλιεργούμενη έκταση των 23.000 στρ. Το ποσοστό που κατέχουν τα ΦΑΦ στην ελληνική παραγωγή είναι 0,02% όπως φαίνεται στη παρακάτω κατανομή.



Σχήμα 1.1 Κατανομή των καλλιεργούμενων φυτών στον Ελλαδικό χώρο

Στον παρακάτω πίνακα απεικονίζεται η καλλιεργήσιμη έκταση σε σχέση με τη παραγωγή για τα έτη 1981, 1991, 2002. Ορισμένα είδη σημείωσαν αυξομείωση όπως ο γλυκάνισος όπου το 1981 έφτασε τους 1270 τόνους παραγωγή, το 1991 μειώθηκε στους 306 τόνους και το 2002 είχε μία αύξηση στους 511 τόνους, άλλα είδη όπως η μέντα το 1981 σημείωσε 1011 τόνους παραγωγή ενώ στις επόμενες δεκαετίες η παραγωγή μειώθηκε. Ωστόσο η ρίγανη του εμπορίου και το δίκταμο σημείωσαν συνεχή αύξηση από το 1981 μέχρι το 2002. Οι συνολικές τιμές παραγωγής δείχνουν ότι η παραγωγή των ΦΑΦ στην Ελλάδα από το 1981 έως το 2002 είχε μία ανοδική πορεία. Σε παγκόσμια κλίμακα η παραγωγή των ΦΑΦ ανέρχεται στους 440.000 τόνους με αξία 1,3 δις δολαρίων, από το οποίο το 25% διακινείται στην Ευρώπη.

Στον πίνακα 1.3 έχουν καταγραφεί τα οικονομικά στοιχεία καλλιέργειας των ΦΑΦ για τον ελλαδικό χώρο. Με τον γλυκάνισο να έχει ακαθάριστη πρόσοδο από 152€/στρ ενώ ο λυκίσκος μπορεί να φτάσει 2935€/στμ.

Είδος καλλιέργειας	Έκταση σε στρέμματα			Παραγωγή σε τόνους		
	1981	1991	2002	1981	1991	2002
Βασιλικός	259	0	4	112	0	6
Γλυκάνισο-Μάραθος	11.220	4.670	3.940	1270	306	511
Δίκταμο	100	100	150	40	40	60
Δύσμος	35	0	0	25	0	0
Κορίανδος	900	100	0	40	10	0
Κρόκος	17.000	7.800	7.600	12	6	6
Κύμινο	1.320	0	0	29	0	0
Λεβάντα	429	500	0	80	0	0
Λυκίσκος	268	0	0	134	0	0
Μέλισσα	80	0	0	80	0	0
Μέντα	3.951	2.000	0	1.011	450	0
Ρίγανη	687	680	3.380	69	190	380
εμπορίου						
Ρίγανη	-	-	7.000	-	-	2100
μεταποίησης						
Φασκόμηλο	10	0	0	1	0	0
Χαμομήλι	32	0	0	3	0	0
Τσάι του βουνού	2.500	2.010	1000	210	180	129
Σύνολο	38.791	17.860	23.074	3.116	1.182	3.186

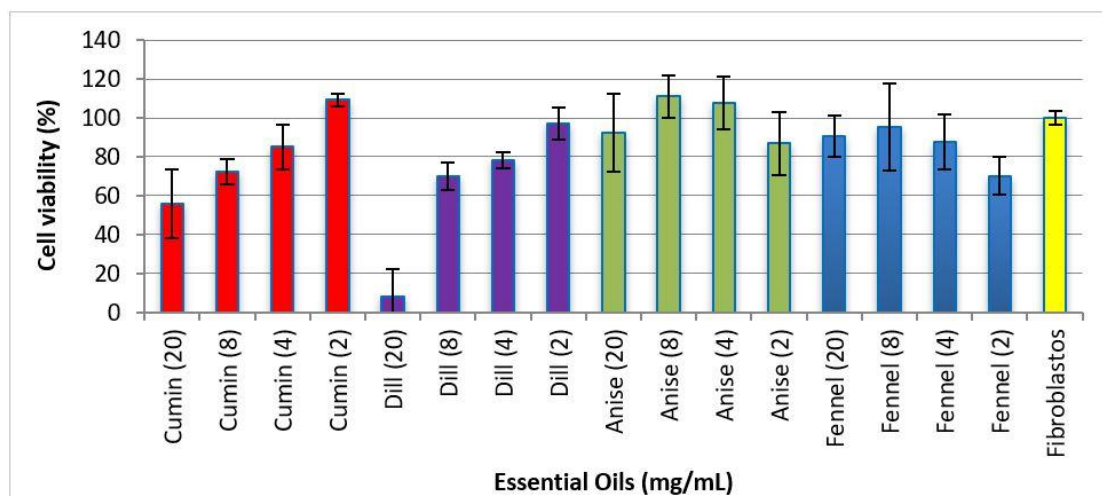
Πίνακας 1.2 Τιμές καλλιεργήσιμης έκτασης και παραγωγής των ΦΑΦ για τα έτη 1981, 1991,2002.

Είδος Φυτού	Απόδοση (kg/στρ.)	Τιμή (€/kg)	Ακαθάριστη Πρόσοδος (€/στρ.)
Βασιλικός	437	2,64	1.154
Γλυκάνισο-Μάραθος	130	1,17	152
Δίκταμο	366	5,87	2.148
Δύσμος	738	3,52	2.599
Κορίανδος	75	3,23	242
Κρόκος	0,7	513,57	360
Κύμινο	29	8,22	238
Λεβάντα	120	4,99	600
Λυκίσκος	500	5,87	2935

Πίνακας 1.3 Μέσες τιμές των οικονομικών στοιχείων για τα κυριότερα ΦΑΦ που καλλιεργούνται στην Ελλάδα.

1.2.4 Χημικά στοιχεία γλυκάνισου

Ο γλυκάνισος αποτελείται από 1,5-6% κατά μάζα ενός ελαίου με κύριο συστατικό την ανηθόλη, συγκεκριμένα αποτελείται από τρανς-ανηθόλη και 8-11% κατά μάζα από λιπίδια πλούσια σε λιπαρά οξέα όπως παλμιτικό οξύ και ελαϊκό οξύ. Επίσης περιέχει 4% υδατάνθρακα και 18% πρωτεΐνη. Έχει μελετηθεί και η παρουσία ευγενόλης τρανς-ανηθόλης, μεθυλ-χαβικόλη, ανισαλδεύδη, εστραγόλη, κουμαρίνη, σκοπολετίνη, ουμπελιφερόνη, οιστραδιόλη, τερπενικοί υδρογονάνθρακες, πολυένια και πολυακετυλένια ως τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου του γλυκάνισου. Αναλυτική σύσταση του αιθέριου ελαίου έχει δείξει ότι περιέχει τρανς-ανηθόλη 93,9%, εστραγόλη 2,4%, άλλα συστατικά με συγκέντρωση περίπου 0,06% είναι η (E) μεθυλική ευγενόλη, β-δισαβολένια, γ-ιμαχαλένιο και cis-ανηθόλη. Ωστόσο οι συγκεντρώσεις αυτές διαφέρουν ανάλογα με τη ποικιλία και τη γεωγραφική περιοχή της καλλιέργειας. Η τρανς-ανηθόλη μπορεί να έχει εύρος τιμών 76,9-93,7% και το γ-ιμαχαλένιο 0,4-8,2%. Η συγκέντρωση των χημικών ενώσεων εξαρτάται και από το τμήμα του φυτού. Μετρήση από όλο το φυτό έχει δείξει ότι η συγκέντρωση σε τρανς-ανηθόλη ήταν 57,4% ενώ μόνο από τους σπόρους 75,2%. Για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των λιπαρών οξέων έχει χρησιμοποιηθεί η μέθοδος της ιοντικής χρωματογραφίας, τα αποτελέσματα έδειξαν, ισομερή 18:1 ελαϊκό οξύ (cis 9 – 18:1), πετροσελινικό οξύ (cis 6 – 18:1) και cis-βακενικό οξύ. Η αξιολόγηση των θετικών επιδράσεων του γλυκάνισου και η κατανόηση των δραστικών ενώσεων μπορεί να οδηγήσει στη παρασκευή νέων φαρμάκων.



Διάγραμμα 1.1 Καταγραφή κυτταρικής βιωσιμότητας σε σχέση με τη χημική σύνθεση διαφορετικών αιθέριων ελαίων

Πηγή: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/nphvn3NQHZYpxcGW5Qy9kyv/?lang=en>

1	α -phellandrene	1004	0.14	-	0.01
2	p-cymene	1024	0.16	-	0.01
3	limonene	1029	0.10	0.01	0.01
4	γ -terpinene	1059	0.11	-	0.01
5	linalool	1099	0.28	0.03	0.09
6	geyrene	1144	0.05	0.04	0.06
7	estragole	1180	2.00	3.39	5.51
8	cis-anethole	1250	0.25	0.18	0.31
9	trans- anethole	1285	88.35	87.00	89.99
10	cycloisolongifolene	1315	-	0.09	-
11	α -longipinene	1350	0.17	0.04	-
12	methyl eugenol	1402	0.21	0.24	0.14
13	isoeugenol	1406	0.05	0.03	-
14	α -cedrene	1412	0.18	0.04	-
15	α -himachalene	1445	0.48	0.44	0.17
16	γ - himachalene	1475	2.53	2.90	1.31
17	α -zingiberene	1495	0.23	0.25	0.12
18	β -himichalene	1501	0.28	0.25	0.11
19	β -bisabolene	1508	0.16	0.15	0.08
20	β -sesquiphellandrene	1523	0.07	0.04	-
21	α -copaene-8-ol	1537	0.12	-	-
22	2,5-dimethoxysafrole	1674	0.11	0.05	0.05
23	α -bisabolol	1682	-	0.06	-
24	Pseudoisoeugenyl-2-methylbutyrate	1841	1.90	2.68	1.24
25	epoxypseudoisoeugenyl-2-methylbutyrate	1893	0.76	0.38	0.16
26	docosane	2200	0.11	0.02	-
27	nonacosane	2900	0.14	0.07	0.01
28	hexatriacontane	3600	0.03	0.02	-
	TOTAL		99.03	98.42	99.39

Πίνακας 1.4 Συγκεντρώσεις χημικών ενώσεων από αιθέριο έλαιο γλυκάνισου, σε τρεις διαφορετικές φάσεις απόσταξης

1.2.5 Αιθέρια Έλαια

Τα προϊόντα που προκύπτουν από τη διαδικασία μεταποίησης των ΦΑΦ είναι τα αιθέρια έλαια, αποτελούν πτητικές ουσίες οι οποίες είναι διαλυτές κυρίως στην αλκοόλη και συμπεριλαμβάνουν ένα μίγμα χημικών ενώσεων όπως εστέρες, αλδεΐδες, κετόνες και τερπένια. Σ' αυτές τις οργανκές ενώσεις οφείλεται και το άρωμα που προσδίδουν τα αιθέρια έλαια. Οι ελαιογόνοι αδένες κάθε φυτού λειτουργούν ως φυσικές αποθήκες, στους οποίους συγκεντρώνονται τα αιθέρια έλαια και μπορεί να είναι εσωτερικοί ή εξωτερικοί. Η τελική συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου που λαμβάνεται ύστερα από την επεξεργασία του φυτού εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες όπως, τις συνθήκες απόσταξης, τις κλιματικές συνθήκες, το έδαφος και το

γενότυπο του φυτού. Η ξηρασία αυξάνει τη συγκέντρωση του ελαίου καθώς αποτελεί προϊόν δευτερογενούς μεταβολισμού. Τα τερπενοειδή και άλλες χημικές ενώσεις παράγονται μέσω βιοσυνθετικών οδών για την αποφυγή αντίξοων βιοτικών επιδράσεων όπως η ξηρασία ή υψηλές θερμοκρασίες και αποτελούν τη πιο σημαντική κατηγορία ουσιών που βρίσκονται στα αιθέρια έλαια. Τα μέρη του φυτού που χρησιμοποιούνται για την απόσταξη των ελαίων μπορεί να είναι τα φύλλα, οι βλαστοί ακόμη και τα αναπαραγωγικά όργανα όπως, τα άνθη, σπόροι, ανθοφόροι οφθαλμοί. Στην επιδερμίδα και στο μεσόφυλλο, αποθηκεύονται τα αιθέρια έλαια τα οποία έχουν και χαμηλό σημείο ζέσεως. Σε κάθε στάδιο ανάπτυξης του φυτού αλλά και μεταξύ νεαρών φύλλων και ώριμων, έχει καταγραφεί διαφορετική σύνθεση αιθέριου ελαίου, επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι στα αυξητικά όργανα και στα νεαρής ηλικίας φυτά η ποσότητα αιθέριου ελαίου είναι μεγαλύτερη. Η περίοδος της συγκομιδής λαμβάνει χώρα το φθινόπωρο και την άνοιξη, όταν τα άνθη είναι το συγκομιζόμενο προϊόν είναι σημαντικό η διαδικασία της συλλογής να γίνεται τις πρωινές ώρες, ενώ η συλλογή των βλαστών και των φύλλων γίνεται όταν το φυτό βρίσκεται σε πλήρη άνθηση.

Είδος φυτού	Επί τις εκατό περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο
Ρίγανη (ξηρή)	3,15 %
Δενδρολίβανο (ξηρό)	1,95 %
Φασκόμηλο (άνθη ξηρά)	1,00 %
Φασκόμηλο (φύλλα ξηρά)	1,90 %
Θυμάρι (ξηρό)	3,40 %
Δαφνόφυλλα (ξηρά)	2,75 %

Πίνακας 1.5 Η συγκέντρωση αιθέριου ελαίου σε σχέση με τα ΦΑΦ

1.2.6 Παραλαβή αιθέριων ελαίων

Οι σύγχρονες βιομηχανίες εξελίσσουν συνεχώς τις μεθόδους παραλαβής των αιθέριων ελαίων καθώς όλο και μεγαλύτερη είναι η ζήτηση αυτών των προϊόντων στην αγορά, τόσο στη φαρμακευτική βιομηχανία όσο και στη κοσμητολογία. Επιπλέον το ενδιαφέρον των καταναλωτών για φυσικές πρώτες ύλες αυξάνεται με ταχύς ρυθμούς, για την αντιμετώπιση διαφορετικών παθήσεων με πιο φυσικούς τρόπους ή ακόμα και τη πρόληψη αυτών. Οι μέθοδοι παραλαβής των αιθέριων ελαίων ποικίλουν και η

επιλογή της μεθόδου εξαρτάται από διαφορετικούς παράγοντες. Η περιεκτικότητα του φυτού σε αιθέριο έλαιο, η χημική σύνθεση των συστατικών του ελαίου, το τμήμα του φυτού που χρησιμοποιείται, η αξία του τελικού προϊόντος αλλά και το κόστος της παραλαβής, είναι μερικοί από τους παράγοντες που επηρεάζουν τη μέθοδο επεξεργασίας. Η μηχανική επεξεργασία, η εκχύλιση και η απόσταξη αποτελούν τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μεθόδους, η κάθε μία χωρίζεται σε υποκατηγορίες. Η μέθοδος της απόσταξης περιλαμβάνει τρία διαφορετικά είδη, την υδροαπόσταξη, υδροατμοαπόσταξη και υδρατμούς και αποτελεί την συνηθέστερη μέθοδο παραλαβής γιατί είναι η πιο οικονομική και απλή από τις τρεις. Το πρώτο στάδιο της διαδικασίας περιλαμβάνει τη τοποθέτηση του φυτικού τμήματος σε ειδικό δοχείο με νερό, μέσα στο οποίο θερμαίνεται σε σημείο βρασμού, με αποτέλεσμα τα αιθέρια έλαια να παρασύρονται από τους φυτικούς ιστούς μέσω των ατμών που σχηματίζονται. Λόγω της διαφοράς του ειδικού βάρους από τους υγροποιημένους ατμούς, γίνεται διαχωρισμός των αιθέριων ελαίων από το νερό. Η μέθοδος της εκχύλισης περιλαμβάνει τρεις υποκατηγορίες, εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες κατά την οποία χρησιμοποιούνται διαλύτες όπως, προϊόντα κλασματικής απόσταξης πετρελαίου, βενζόλιο, αιθυλική αλκοόλη στη περίπτωση ξερών φυτικών ιστών. Στη δεύτερη κατηγορία εκχύλισης περιλαμβάνεται η χρήση ψυχρού λίπους, μία μέθοδος η οποία χρησιμοποιήθηκε ιδιαίτερα τα παλιότερα χρόνια ενώ στη σύγχρονη εποχή έχει σχεδόν εξαλειφθεί. Για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων από τα άνθη εσπεριδοειδών, χρησιμοποιούνταν παλιότερα η μέθοδος εκχύλισης με θερμό λίπος. Τέλος, κατά τη μηχανική παραλαβή, μηχανικά μέσα ασκούν υψηλές πιέσεις, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση αιθέριων ελαίων από τους φυτικούς ιστούς. Η εφαρμογή της μεθόδου γίνεται συνήθως σε φλοιούς εσπεριδοειδών ύστερα από την χυμοποίηση τους και σε ολόκληρους ξηρούς καρπούς χωρίς να έχει προηγηθεί χυμοποίηση.

1.2.7 Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αναφέρονται στις αισθητήριες ιδιότητες ενός τροφίμου, που αντιλαμβάνεται ο άνθρωπος μέσω των αισθήσεων. Η οργανοληπτική ανάλυση μπορεί να γίνει μέσω της γεύσης, της μυρωδιάς, της υφής αλλά και της όψης. Οι γευστικοί προσδιορισμοί μπορεί να είναι ποικίλοι και η ποιότητα της γεύσης μπορεί να εξαρτάται από τη ποικιλία του φυτού, τη κατάσταση του καρπού, τη συγκομιδή ακόμη και τη συντήρηση ή αποθήκευση του προϊόντος. Η αντίληψη της ποιότητας ενός

τροφίμου είναι υποκειμενική και προσωπική υπόθεση, εξελίσσεται και διαφοροποιείται μέσα από τον εμπλουτισμό των αισθήσεων.

Η οργανοληπτική αξιολόγηση των τροφίμων συνεχώς εξελίσσεται με τη δημιουργία ειδικών διαγραμμάτων και κλιμάκων. Εκτός από την εξέταση των αρνητικών χαρακτηριστικών, όπως είναι η πικρή γεύση σ ένα τρόφιμο που προορίζεται για χρήση απόδοσης γλυκιάς γεύσης στο τελικό προϊόν είναι εφικτό να αξιολογηθεί και το αρωματικό προφίλ ενός τροφίμου. Είναι σημαντικό ο παραγωγός να γνωρίζει τη ζήτηση που έχει το προϊόν του και με βάση τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά να προσαρμόσει το τελικό προϊόν και να επιφέρει εμπορία η οποία θα φέρει τη προστιθέμενη αξία. Στη σύγχρονη αγορά σε ορισμένα τρόφιμα, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αναγράφονται στις ετικέτες των προϊόντων. Η εξέλιξη και ανάπτυξη οργανοληπτικών προγραμμάτων στο τομέα της βιομηχανίας μπορεί να επιφέρει μεγαλύτερα ποσοστά αποδοχής νέων προϊόντων από τους καταναλωτές αλλά και καλύτερη διασφάλιση ποιότητας των τροφίμων.

Εμφάνιση	Υφή	Οσμή	Γεύση
Ομοιομορφία	Σκληρό	Ευχάριστη	Γλυκιά
Μέγεθος	Μαλακό	Αρωματική	Αλμυρή
Σχήμα	Εύθρυπτο	Αλλοιωμένη	Πικρή

Πίνακας 1.6 Παραδείγματα οργανοληπτικών χαρακτηριστικών

1.2.8 Η σημασία της επικονίασης

Επικονίαση είναι η διαδικασία επιτυγχάνεται η γονιμοποίηση μεταξύ των φυτικών οργανισμών. Η γονιμοποίηση απαιτεί τη μεταφορά γυρεόκοκκων από τον ανθήρα στο στίγμα, όπου βρίσκονται τα γυναικεία όργανα γονιμοποίησης. Αυτή η διαδικασία μπορεί να επιτευχθεί με τη βοήθεια εντόμων, όπως είναι οι μέλισσες, οι πεταλούδες και άλλα έντομα που συλλέγουν το νέκταρ, είτε μέσω τον αέρα, ο οποίος μεταφέρει τους γυρεόκοκκους από το ένα φυτό στο άλλο. Ωστόσο, η επικονίαση μπορεί να γίνει και με τεχνητό τρόπο μέσω της ανθρώπινης παρέμβασης, κατά τη διάρκεια καλλιέργειας των φυτών με στόχο να επιτευχθεί επιθυμητός συνδυασμός γονιδίων και τη δημιουργία νέων ποικιλιών με επιθυμητά χαρακτηριστικά όπως η ανθεκτικότητα και υψηλή απόδοση. Η επικονίαση εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, οι οποίοι

μπορούν να επηρεάσουν την απόδοση των επικονιαστών και την επιτυχία της γονιμοποίησης. Παράμετροι όπως η απόσταση, μπορεί να επηρεάσει την πρόσβαση των επικονιαστών στα φυτά και τη πιθανότητα μεταφοράς των γυρεόκοκκων. Η πρόσβαση που έχουν οι επικονιαστές στο νέκταρ επηρεάζει το ποσοστό μεταφοράς των γυρεόκοκκων από τους ανθήρες στα στίγματα. Η θερμοκρασία και η υγρασία του περιβάλλοντος επηρεάζει την απόδοση των επικονιαστών. Τέλος η διάρκεια της ανθοφορίας ενός φυτού επηρεάζει τη διαθεσιμότητα νέκταρ. Η διαδικασία της επικονίασης είναι πολύ σημαντική γιατί χωρίς αυτή οι φυτικοί οργανισμοί δεν μπορούν να παράγουν σπόρους ή καρπούς που μπορούν να αναπαράγουν νέα φυτά και να διασφαλίσουν τη συνέχεια του είδους. Επιπλέον η επικονίαση επηρεάζει τη γενετική ποικιλότητα των φυτών, μέσω αυτής της διαδικασίας μεταφέρονται επιθυμητά γονιδιακά χαρακτηριστικά που μπορεί να αποβούν πολύ σημαντικά για την επιβίωση και προσαρμοστικότητα των φυτών σε μεταβολές στο περιβάλλον όπως είναι η κλιματική αλλαγή. Σημαντικές πηγές τροφής για τον άνθρωπο και τα ζώα αποτελούν τα φυτά που επικονιάζονται καθώς αυτά παράγουν φρούτα και λαχανικά.



Εικόνα 1.9 Απεικόνιση της διαδικασίας της επικονίασης

1.3 Αγρό/μορφολογικά χαρακτηριστικά

1.3.1 Περιγραφητές

Στην σύγχρονη εποχή συνεχώς αυξάνεται η ανάγκη για καλλιέργειες με μεγαλύτερες τιμές απόδοσης και παραγωγικότητας αλλά και η ανάπτυξη νέων ποικιλιών πιο προσαρμοσμένων στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες. Για να μπορέσουν οι βελτιωτές όπως και άλλοι κλάδοι της γεωργίας να ανταποκριθούν σ' αυτές τις ανάγκες ήταν αναγκαία η πρόσβαση σε ένα διεθνές σύστημα αναφοράς για τον μορφολογικό χαρακτηρισμό των καλλιεργειών με στόχο την αναγνώριση και

ομαδοποίηση τους. Ο χαρακτηρισμός του φυτικού υλικού σε μία κοινή γλώσσα αναφοράς μπόρεσε να διαθέσει πληροφορίες σε όλο το κόσμο με στόχο την ορθή συστηματική ταξινόμηση του γενετικού υλικού. Οι περιγραφητές για τα πρώτα είδη φυτών αναπτύχθηκαν το 1970, ενώ στη συνέχεια ακολούθησε η ίδρυση του διεθνούς συμβουλίου φυτογενετικών πόρων (IBPGR) το 1974, η οποία δημιούργησε ποικίλες λίστες περιγραφητών για πολλά διαφορετικά είδη. Οι περιγραφητές αποτελούν εργαλεία αξιολόγησης μορφολογικών χαρακτηριστικών, είτε ποσοτικών είτε ποιοτικών η οποία λαμβάνει χώρα σε κάθε στάδιο ανάπτυξης του φυτού. Τα στοιχεία αυτά στη συνέχεια μπορούν να χρησιμοποιηθούν από διαφορετικούς επιστημονικούς κλάδους για την ταξινόμηση, αξιολόγηση ποιότητας, καθορισμό των χαρακτηριστικών κάθε ποικιλίας ακόμη με την ανταλλαγή δεδομένων ανάμεσα των φορέων. Για την επιτυχημένη ανταλλαγή δεδομένων είναι σημαντικό να υπάρχει μία κοινή γλώσσα αναφοράς κατά τη διάρκεια της συλλογής, καταγραφής, αποθήκευσης και ανάκτησης των πληροφοριών του γενετικού υλικού. Οι σύγχρονες λίστες περιγραφητών χαρακτηρίζονται περιεκτικές και για συγκεκριμένα είδη ή γονιδιακές δεξαμενές είναι γνωστές σε παγκόσμιο επίπεδο. Κάθε περιγραφητής συνίσταται από το όνομα πλήρες όνομα του, τη μεθοδολογία αξιολόγησης και τον χαρακτηρισμό κάθε περιγραφητή που μπορεί να σχετίζεται με τη ποιότητα ή κάποιο ποσοτικό γνώρισμα.

Στέλεχος με τριχοειδή επιφάνεια	(όνομα περιγραφητή)
Παρατήρηση της βάσης του στελέχους	(μέθοδος αξιολόγησης)
3 αραιό	(χαρακτηρισμός)
5 πυκνό	(χαρακτηρισμός)

Πίνακας 1.7 Παράδειγμα περιγραφητή και το σύνολο των στοιχείων από το οποίο αποτελείται

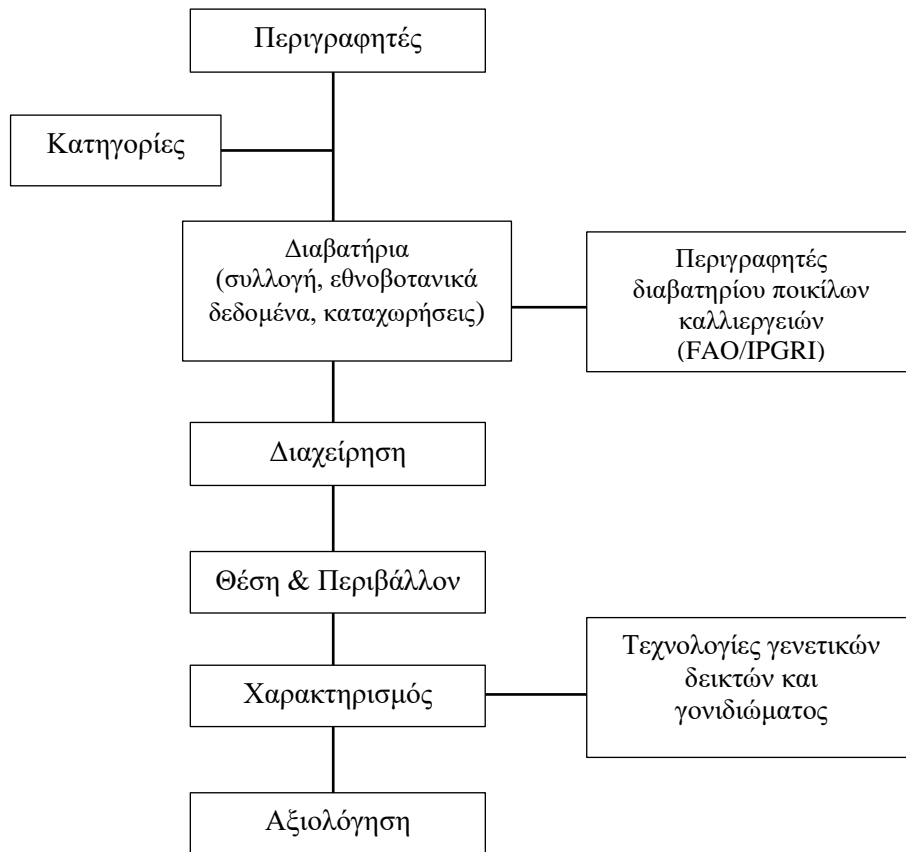
Η μέθοδος αξιολόγησης περιγράφει με λεπτομέρεια κάτω από ποιες συνθήκες έγιναν οι μετρήσεις και ο χαρακτηρισμός ενός περιγραφητή. Είναι σημαντικό να χρησιμοποιούνται σωστές ορολογίες και να ακολουθείτε ακριβής ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Περιγραφητής	Ύψος φυτού (εκ)
Δειγματοληψία	Αξιολόγηση σε ώριμο στάδιο, μέτρηση από το έδαφος μέχρι το ψηλότερο σημείο. Μέσος όρος από 5 τυχαία επιλεγμένα φυτά

Πίνακας 1.8 Περιληπτική περιγραφή μεθοδολογίας αξιολόγησης του ύψους του φυτού.

Τα κριτήρια που τηρούνται στα συστήματα αρχειοθέτησης είναι κοινά για όλους με στόχο την ανταλλαγή δεδομένων.

Τα τρία κριτήρια είναι οι περιγραφητές, τα διαβατήρια περιγραφητών όπως (FAO/IPGRI), περιγραφητές για τεχνολογίες γενετικών δεικτών και γονιδιώματος.



Διάγραμμα 1.2 Περιγραφητές και συμπληρωματικά κριτήρια αξιολόγησης

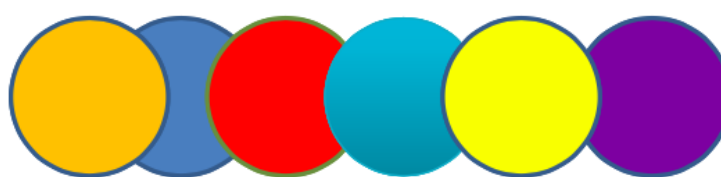
1.3.2 Κατηγορίες περιγραφητών

Για τον καθορισμό ενός γνωρίσματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικοί τύποι κλιμάκων. Οι κλίμακες αυτές ταξινομούνται και χωρίζονται σε δύο μεγάλες

κατηγορίες, τα ποιοτικά και τα ποσοτικά δεδομένα. Για τη βαθμολόγηση ποιοτικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιούνται ονομαστικά, δομημένα και δυαδικά στοιχεία. Ονομαστικά γιατί συνδέονται με ένα όνομα το οποίο δεν ακολουθείτε από αριθμητικό στοιχείο. Δομημένα γιατί τα στοιχεία ταξινομούνται σε αύξουσα τιμή και δυαδικά γιατί ένα χαρακτηριστικό μπορεί είτε να εμφανίζεται είτε όχι με βάση τον περιγραφητή που έχει οριστεί. Για ορισμένα ποσοτικά χαρακτηριστικά όπως είναι το χρώμα, είναι σημαντικό να ορίζεται αν υπάρχει μία πεπερασμένη κατάσταση, κάθε κατάσταση πρέπει να καταγράφεται ξεχωριστά και να γίνεται βαθμολόγηση αν υπάρχει ένα σύνολο καταστάσεων κάτω από τον ίδιο περιγραφητή.

Αυτό το γεγονός μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένη καταγραφή όταν τα χαρακτηριστικά καθορίζονται από διαφορετικούς ερευνητές, η επιλογή των πιο αντιπροσωπευτικών καταστάσεων, η επισύναψη παλέτας χρωμάτων, η χρήση προτύπων αναφοράς ή σχεδίων μπορεί να συμβάλλει στην αποφυγή εσφαλμένων αποτελεσμάτων. Η κατηγοριοποίηση των χαρακτηριστικών σε ποιοτικά και σε ψευδο-ποιοτικά δεδομένα είναι απαραίτητη όπως απεικονίζεται στον παρακάτω πίνακα.

Χρώμα άνθους	Χρώμα άνθους	Χρώμα φυλλώματος	Ένταση χρώματος άνθους	RHS παλέτα χρωμάτων
κίτρινο	ανοιχτό κίτρινο	κίτρινο - πράσινο	έντονο	145-B
πράσινο	Σκούρο κίτρινο	πράσινο	αμυδρό	150-A
ροζ	ανοιχτό ροζ	μπλε- πράσινο	μέτριο	128-A
	Σκούρο ροζ κτλ	σκούρο πράσινο		120-B



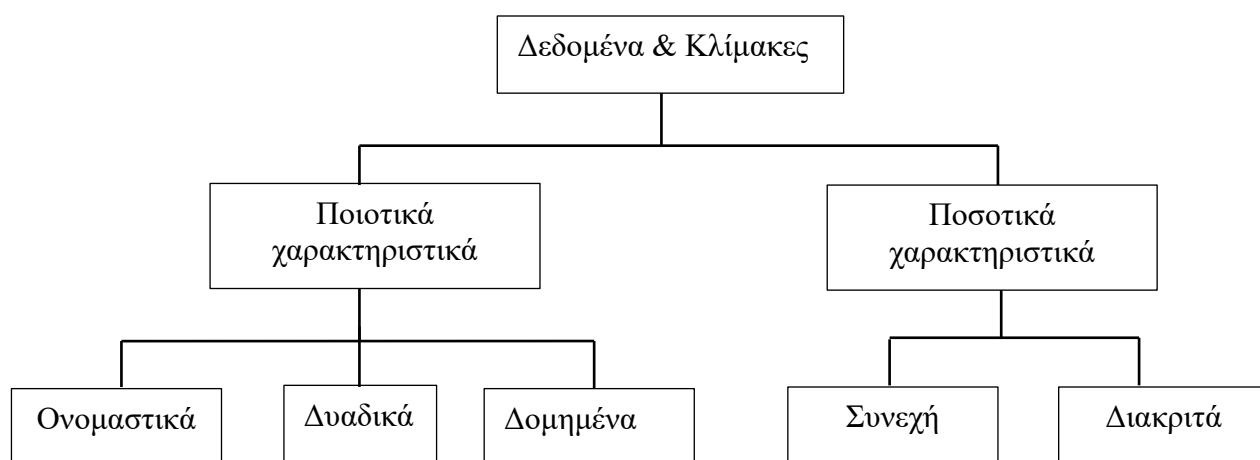
Πίνακας 1.9 Ταξινόμηση ποιοτικών χαρακτηριστικών και μέθοδος καταγραφής διαφορετικών καταστάσεων για τον περιγραφητή χρώματος.

Στα ποσοτικά γνωρίσματα αποδίδονται τιμές αριθμητικές, με στόχο τη στατιστική ανάλυση με τη χρήση μέσων όρων και τυπικών αποκλίσεων. Οι τιμές αυτές μπορεί να είναι συνεχής, για τα δεδομένα που μπορούν να μετρηθούν, όπως είναι το ύψος του φυτού, το βάρος και το μήκος ή διακριτές, για τα υπολογίσιμα δεδομένα όπως είναι ο αριθμός των φυτών. Όταν τα γνωρίσματα μεταβάλλονται, οι τιμές που αποδίδονται μπορεί να είναι μεταξύ ενός εύρους τιμών από το 1 μέχρι το 9, όπου το '1'

αντιπροσωπεύει το ‘πολύ κοντό’ και το ‘9’ το ‘πολύ ψηλό’. Τα ποσοτικά δεδομένα είναι μετρήσιμα χαρακτηριστικά όπως το μήκος ή το πλάτος και δεν υφίσταται υποκειμενική ερμηνεία όπως στα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Η ανάλυση αυτών των δεδομένων γίνεται ολόενα και πιο σημαντική καθώς οι τράπεζες γενετικού υλικού επικεντρώνουν τη προσοχή τους στη χρήση διατηρητέων φυτογενετικών πόρων.

Μήκος μίσχου	
πολύ κοντό	< 3cm
κοντό	6-8 cm
μεσαίο	11-13 cm
μακρύ	14-16 cm
πολύ μακρύ	17-19 cm

Πίνακας 1.10 Καταγραφή ποσοτικού χαρακτηριστικού με τις αντίστοιχες κλίμακες αναφοράς



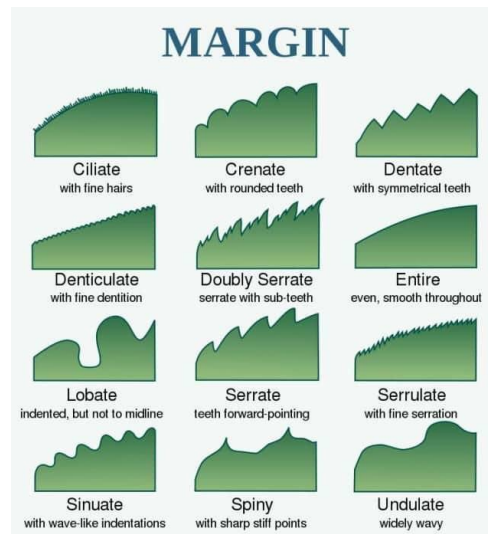
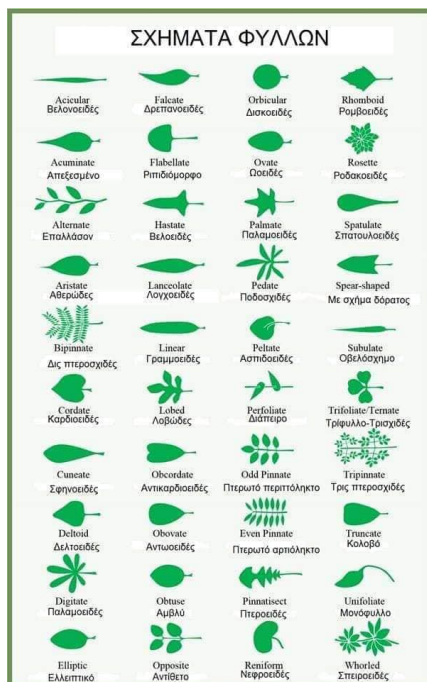
Διάγραμμα 1.3 Κατηγορίες και κλίμακες δεδομένων

Πηγή: Technology & Sciences Allahabad, Sam Higginbottom University of Agriculture

1.3.3 Περιγραφητές γλυκάνισου

Στη παρούσα εργασία ως εργαλείο καθοδήγησης για τη δημιουργία των περιγραφητών του γλυκάνισου, χρησιμοποιήθηκαν οι περιγραφητές μάραθου, άνιθου και μαϊντανού καθώς όλα τα είδη ανήκουν στην ίδια οικογένεια και έχουν κοινά χαρακτηριστικά ως προς τη δομή του φυτού. Ως προς τα ποιοτικά χαρακτηριστικά εξετάστηκαν, η συνολική εξωτερική κατάσταση του φυτού, πυκνότητα φυλλώματος, χρώμα

φυλλώματος, σχήμα απλών και σύνθετων φύλλων, περιφέρεια ελάσματος φύλλων, ανάπτυξη ταξιανθίας, διάταξη σκιαδίων, εμφάνιση ανθέων, εμφάνιση σπορίων. Ως προς τα ποσοτικά χαρακτηριστικά εξετάστηκαν, ύψος φυτού, πλάτος φυτού, πάχος στελέχους, μήκος απλών και σύνθετων φύλλων, μήκος μεσογονάτιου τμήματος, αριθμός σκιαδίων, διάταξη σκιαδίων, πλάτος σκιαδίων, ύψος σκιαδίων, ημέρες μέχρι τη συγκομιδή, βάρος ολόκληρου φυτού, βάρος σπόρων. Οι περιγραφητές μετρήθηκαν σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού, κάθε φυτό εξετάστηκε μεμονωμένα ενώ η παρατήρηση για ορισμένους περιγραφητές ήταν ορατή ενώ για άλλους μετρήσιμη επομένως και αντικειμενική. Οι ορατές μετρήσεις είναι υποκειμενικές για κάθε παρατηρητή γι' αυτό το λόγο ορίστηκαν κοινά σημεία αναφοράς με τα παιδιά της ομάδας για τη καταγραφή των συγκεκριμένων χαρακτηριστικών όπως για τη πυκνότητα του φυλλώματος, τη περιφέρεια ελάσματος, σχήμα φύλλων. Η χρήση φωτογραφιών και σχεδίων βοήθησε κατά τη διάρκεια της παρατήρησης και καταγραφής των χαρακτηριστικών.



1. **Εικόνα 1.10** Εικόνες και σχέδια που χρησιμοποιήθηκαν ως σημείο αναφοράς για τη καταγραφή ποιοτικών γνωρισμάτων

1.4.1 Γενικά

Οι μοριακοί δείκτες ορίζονται ως συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA ή πρωτεΐνες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση, ταυτοποίηση και μελέτη της γενετικής δομής πληθυσμών ή ενός μεμονωμένου οργανισμού. Χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της γενετικής ποικιλότητας, τον εντοπισμό γονιδίων, αλλά και τη φυλογενετική σχέση μεταξύ των οργανισμών. Πιο συγκεκριμένα ένας μοριακός

δείκτης αποτελεί θραύσμα DNA που εντοπίζεται σε μία συγκεκριμένη περιοχή στο γονιδίωμα ενός οργανισμού. Τα επιθυμητά γνωρίσματα ενός γενετικού δείκτη είναι ο πολυμορφισμός, η επαναληψιμότητα, ο συγκυρίαρχος τρόπος κληρονόμησης, και η κατανομή των γενετικών δεικτών να είναι ομοιόμορφη στο γονιδίωμα (REF). Το κύριο γνώρισμα των μοριακών δεικτών δεν επηρεάζεται από το περιβάλλον (Wunsch & Hormaza, 2002). Για την ανίχνευση μοριακών πολυμορφισμών χρησιμοποιείται συνήθως η μέθοδος πολλαπλασιασμού μίας αλληλουχίας μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR). Για τη μελέτη της γενετικής παραλλακτικότητας του γλυκάνισου έχουν χρησιμοποιηθεί τεχνικές βασιζόμενες στη PCR με μοριακούς δείκτες RAPD's (random amplified polymorphic DNA), ISSR(inter simple sequence repeats) και SSR (simple sequence repeats) (REF).

1.4.2 Μοριακοί Δείκτες ISSR

Οι μοριακοί δείκτες ISSR χρησιμοποιούνται ευρέως στη γενετική ανάλυση και στη μοριακή βιολογία. Μέσω της PCR πραγματοποιείται ενίσχυση συγκεκριμένων τμημάτων DNA, γνωστοί ως μικρο-δορυφόροι. Η ενδομικροδορυφορική παραλλακτικότητα προκύπτει σε περιοχές του γονιδιώματος που απαντούν μεταξύ των μικροδορυφόρων. Η ενισχυμένη περιοχή, προκύπτει από τον υβριδισμό των εκκινητών στο 5' ή στο 3' άκρο μίας επαναλαμβανόμενης περιοχής και στη συνέχεια επεκτείνονται για την ενίσχυση της περιοχής μεταξύ δύο γειτονικών δορυφόρων. Οι δείκτες ISSR χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές όπως η γενετική χαρτογράφηση, στη μελέτη των εξελικτικών σχέσεων των οργανισμών αλλά και στη γενετική των πληθυσμών. Είναι επίσης ιδιαίτερα ωφέλιμοι για τη μελέτη οργανισμών με περιορισμένους γενετικούς πόρους, καθώς μπορούν να σχεδιαστούν με τη χρήση μικρού μήκους αλληλουχιών, ειδικών εκκινητών, ενώ παράλληλα ενισχύουν διαφορετικούς γενετικούς τόπους στο γονιδίωμα.

1.5 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη διαφορετικών ποικιλιών *Pimpinella anisum* και η in situ καταγραφή των διαφορών που παρουσιάζουν οι ποικιλίες μεταξύ τους τόσο στα μορφολογικά, όσο και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες καλλιέργειας. Η μελέτη διαφορετικών ποικιλιών *Pimpinella anisum* στο χωράφι παρέχει πολύτιμες πληροφορίες τόσο για την απόδοσή όσο και για

τη ποιότητα των καρπών για κάθε ποικιλία. Διαφορετικές ποικιλίες γλυκάνισου μπορεί να έχουν διαφορετική απόδοση και ποιότητα, καθώς αυτοί οι δύο παράγοντες εξαρτώνται από τον τύπο και τη συνεκτικότητα του εδάφους, το κλίμα αλλά και τις καλλιεργητικές πρακτικές. Οι ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα ήταν από διαφορετικές περιοχές του ελλαδικού χώρου καθώς και εμπορικές ποικιλίες άλλων χωρών εκτός Ελλάδας. Η αξιολόγηση ποικιλιών γλυκάνισου στο χωράφι βοήθησε στον προσδιορισμό των ποικιλιών καταλληλότερων για συγκεκριμένες συνθήκες καλλιέργειας λαμβάνοντας υπόψιν την τελική απόδοση και το καθαρό βάρος των σπόρων που συλλέχθηκαν από κάθε φυτό. Οι καλλιέργειες γλυκάνισου μπορεί να είναι ευάλωτες σε μια ποικιλία παρασίτων και ασθενειών, γεγονός που μπορεί να μειώσει την απόδοση και την ποιότητα των σπόρων. Η μελέτη των διαφορετικών ποικιλιών γλυκάνισου βοήθησε στον εντοπισμό των πιο ανθεκτικών ποικιλιών σε αυτούς τους εξωγενείς παράγοντες. Οι ποικιλίες γλυκάνισου που έχουν καλή απόδοση σε μια περιοχή ή ένα κλίμα ενδέχεται να μην έχουν εξίσου καλή απόδοση σε άλλες περιοχές. Η μελέτη των ποικιλιών γλυκάνισου στον αγρό βοήθησε στην καταγραφή των ποικιλιών που χαρακτηρίζονται από καλύτερη προσαρμοστικότητα.

Η έρευνα αξιολόγησης των αρωμάτων και της γεύσης των καρπών καθώς και η μελέτη της ποικιλομορφίας των εντόμων που παρατηρήθηκαν στα φυτά κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας έδωσαν επιπλέον στοιχεία για τις διαφορετικές ποικιλίες του είδους. Συνολικά, η μελέτη διαφορετικών ποικιλιών *Pimpinella anisum* μπορεί να βοηθήσει στη κατανόηση των λειτουργιών αυτού του σημαντικού αρωματικού και φαρμακευτικού φυτού και τις πιθανές εφαρμογές του σε μια πληθώρα βιομηχανιών.

2 Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Αγρο/μορφολογικά χαρακτηριστικά

2.1.1 Φυτικό υλικό

Στο πειραματικό μέρος της διπλωματικής χρησιμοποιήθηκαν συνολικά:

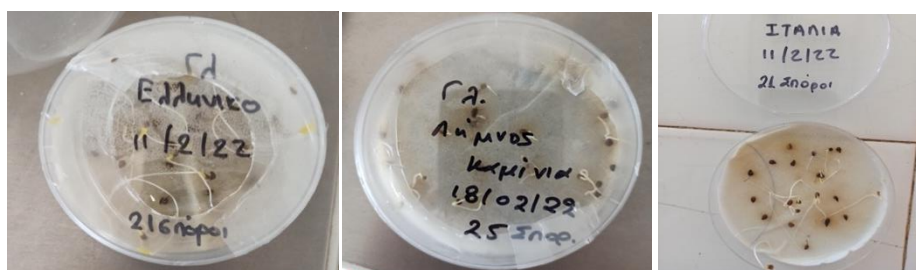
- 7 ποικιλίες *Pimpinella anisum* από τις οποίες τρεις ήταν εμπορικές και τέσσερις τοπικής σημασίας
- 1 ποικιλία *Foeniculum vulgare* (Επανομή)

No	Περιοχή	Χωριό	Παραγωγός	Είδος
1	Λήμνος	Καμίνια	Δελλής Στέλιος	Γλυκάνισος
2	Βόρεια Εύβοια	Ιστιαία	Αίβαλιώτης Γιώργος	Γλυκάνισος
3	Λέσβος	Λισβόρι	Προκοπίου Γιάννης	Γλυκάνισος
4	Χίος	Βουνό	-	Γλυκάνισος
5	Ιταλική (εμπορική)	-	-	Γλυκάνισος
6	Ελληνική (εμπορική)	-	-	Γλυκάνισος
7	Γαλλική (εμπορική)	-	-	Γλυκάνισος
8	Επανομή	Κωμόπολη	Ντονούτσιος Αντώνιος	Μάραθος

Πίνακας 2.1 Ποικιλίες που καλλιεργήθηκαν στον αγρό, τοπικής και εμπορικής προέλευσης

Πριν το στάδιο της σποράς του κυρίως πειράματος, έγιναν δοκιμές σε όλες τις ποικιλίες για το ποσοστό βλαστικότητας των σπόρων. Τοποθετήθηκαν σε τρυβλία με βρεγμένο διηθητικό χαρτί με τη χρήση απεσταγμένου νερού, 21-25 σπόροι από κάθε ποικιλία. Όλα τα τρυβλία τυλίχτηκαν με parafilm τοποθετήθηκαν μέσα σε αλουμινόχαρτο κλεισμένα μέσα σε ντουλάπι του εργαστηρίου, σε συνθήκες σκότους.

Μετά το πέρας 10 ημερών σχηματίστηκαν κοτυληδόνες όπως φαίνεται στο πίνακα 2.2 και στη συνέχεια έγινε μεταφύτευση σε γλαστράκια μέσα στο χώρο του θερμοκηπίου όπου η θερμοκρασία ήταν υψηλότερη και κατάλληλη για ανάπτυξη.



Εικόνα 2.1 Σπόροι γλυκάνισου που τοποθετήθηκαν σε τρυβλία για προβλάστηση στις 11/02/2022 & 18/2/2022



Εικόνα 2.2 Αποτελέσματα 08/3/2022 από τις κοτυληδόνες που μεταφυτεύτηκαν από τρυβλία σε γλαστράκια στο θερμοκήπιο

No	Ποικιλία	Σπόροι που βλάστησαν
1	Ιταλική (εμπορική)	32
2	Ελληνική (εμπορική)	3
3	Γαλλική (εμπορική)	41
4	Βόρεια Εύβοια	51
5	Λήμνος (Καμίνια)	86
6	Λέσβος	36
7	Χίος	22
8	Επανομή	24

Πίνακας 2.2 Ποικιλίες που έδωσαν κοτυληδόνες για μεταφύτευση στο χωράφι

Η σπορά του κύριου πειράματος έγινε 27/03/2022 εντός θερμοκηπίου με απευθείας σπορά σε γλαστράκια όπως φαίνεται στη φωτογραφία. Τοποθετήθηκαν 45 γλαστράκια για κάθε ποικιλία όπου σε κάθε γλαστράκι φυτεύτηκαν 5 σπόροι. Για τη σπορά χρησιμοποιήθηκε φρέσκο χώμα μαζί με μία μικρότερη ποσότητα περλίτη και το βάθος σποράς ήταν 0,5cm.



Εικόνα 2.3 Σπορά κύριου πειράματος στις 27/3/2022, 45 γλαστράκια για κάθε ποικιλία, σύνολο 360 γλαστράκια

2.1.2 Καλλιεργητική τεχνική

Το πειραματικό σχέδιο που εφαρμόστηκε στη παρούσα εργασία ήταν πλήρης τυχαιοποιημένες ομάδες, η χάραξη του χωραφιού έγινε σε τρία block με όλες τις περιοχές να έχουν παρόμοιες συνθήκες. Οι τεχνικές λίπανσης και διαχείριση παρασίτων ήταν ίδια σε όλες τις επαναλήψεις, ο αριθμός επαναλήψεων ισούται με (n):3, ωστόσο οι επαναλήψεις δεν έδωσαν τα ίδια αποτελέσματα. Η απόσταση φύτευσης μεταξύ των φυτών ήταν 50cm και το πλήθος των φυτών 15 ανά επανάληψη.



Κάθε block αποτελούνταν συνολικά από 8 ποικιλίες, με επτά ποικιλίες γλυκάνισου και μία μάραθου. Οι διαστάσεις κάθε τεμαχίου ήταν 2,5x1,5 cm και η απόσταση των διαδρόμων για εύκολη πρόσβαση με στόχο τη καταγραφή των περιγραφητών, ανάμεσα στα block ήταν 0,5cm. Οι συνολικές διαστάσεις του χωραφιού ήταν 16x6m.

Ποικιλία	Κωδικός Φυτού	Νο τεμαχίου
Ιταλική	A	1
Ελληνική	B	2
Γαλλική	C	3
B. Εύβοια	D	4
Λήμνος	E	5
Λέσβος	F	6
Χίος	G	7
Επανομή	H	8

Πίνακας 2.3 Βοηθητικός πίνακας για το σχήμα 2.1

2.1.3 Προετοιμασία χωραφιού

Πριν τη μεταφύτευση των σπορόφυτων στο χωράφι, προηγήθηκε όργωμα του χωραφιού στις 14/04/2022 μέσω συμβατικής κατεργασίας με τη χρήση τρακτέρ και τη μέθοδο οργώματος κατά ορθογώνιες λωρίδες.



Εικόνα 2.4 Όργωμα χωραφιού με τη χρήση τρακτέρ στις 14/04/2022

Στη συνέχεια ακολούθησε χάραξη του χωραφιού με στόχο το χωρισμό σε τρία διαφορετικά block αποτελούμενα από οχτώ τεμάχια που καθένα αντιπροσωπεύει μία ποικιλία όπως φαίνεται στο σχήμα 2.1. Ταμπελάκια τοποθετήθηκαν σε κάθε τεμάχιο για την αναγνώριση της ποικιλίας.



Εικόνα 2.5 Χάραξη χωραφιού στις 14/04/2022

2.1.4 Μεταφύτευση σπορόφυτων

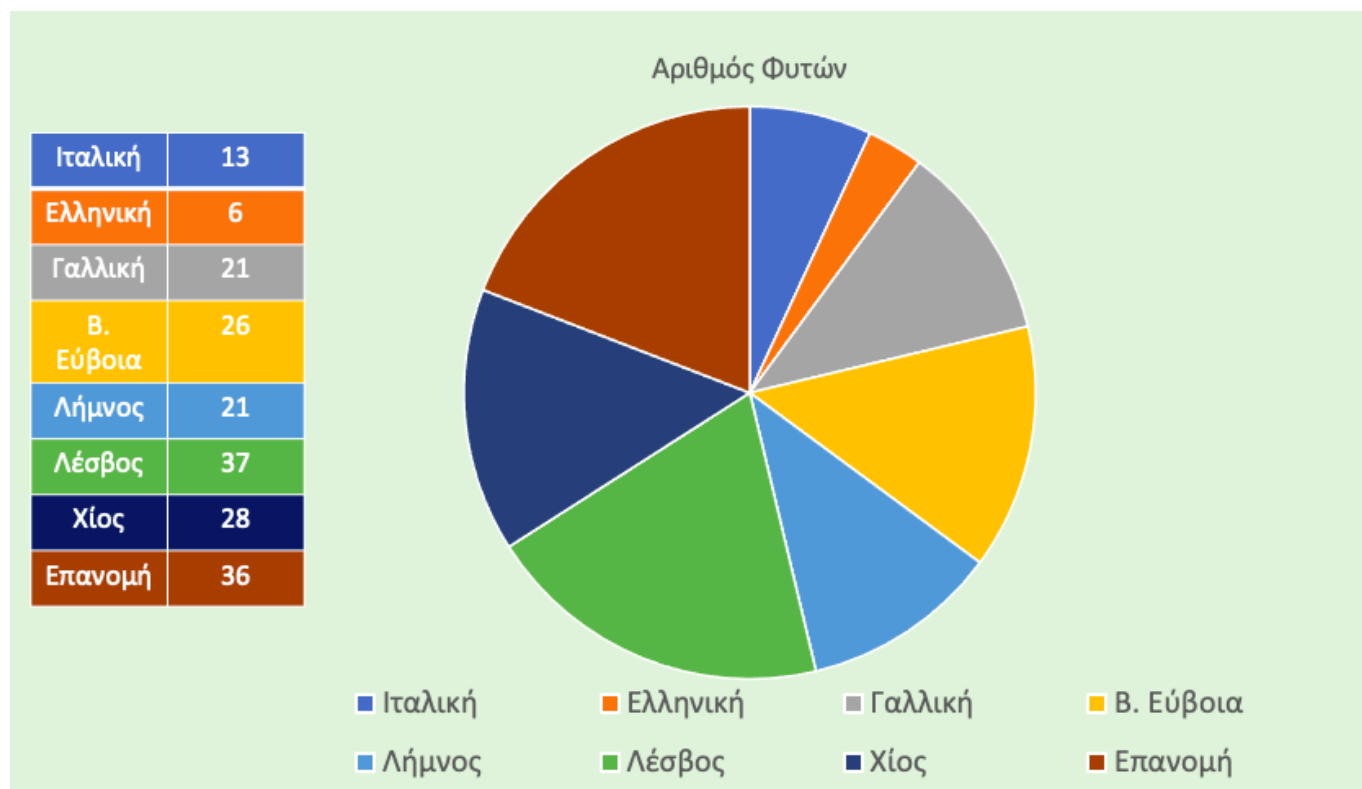
Η μεταφύτευση των σπορόφυτων από το θερμοκήπιο στο χωράφι έγινε στις 19/04/2022. Τις προηγούμενες ημέρες είχε βρέξει αρκετά και το έδαφος είχε κρατήσει αρκετή υγρασία, γεγονός που διευκόλυνε τη διαδικασία της μεταφύτευσης αλλά και την πιο ομαλή προσαρμογή των σπορόφυτων σε συνθήκες αγρού.





Ωστόσο μετά τη πρώτη μεταφύτευση τα ποσοστά απώλειας των σπορόφυτων ήταν αρκετά υψηλά, τα φυτά που απεβίωσαν ήταν κυρίως εμπορικής προέλευσης και της ποικιλίας 'Βόρεια Εύβοια'. Σε συνέχεια του πειράματος ακολούθησε δεύτερη μεταφύτευση στις 05/05/2022 από τα γλαστράκια που είχαν μεταφερθεί σε εξωτερικές συνθήκες από το θερμοκήπιο για την ομαλότερη προσαρμογή τους στο χωράφι και τη μείωση ποσοστού απωλειών.

Εικόνα 2.6 Διαδικασία χάραξης χωραφιού και η 1^η μεταφύτευση των σπορόφυτων.



Διάγραμμα 2.1 Απεικόνιση σε γράφημα πίτας των φυτών που επιβίωσαν μετά τη 2^η μεταφύτευση σπορόφυτων στον αγρό.

2.1.5 Περιγραφητές που μελετήθηκαν

Η καταγραφή των αγρο/μορφολογικών χαρακτηριστικών του γλυκάνισου και μάραθου ξεκίνησε τη πρώτη εβδομάδα με το ποιοτικό χαρακτηριστικό 'Αξιολόγηση' με εύρος τιμών από 0-4, ο περιγραφητής της αξιολόγησης φανερώνει την συνολική εικόνα του φυτού. Με '0' χαρακτηρίστηκαν τα φυτά που απεβίωσαν μετά από τη μεταφύτευση, '1' κακή κατάσταση φυτού, '2' μέτρια κατάσταση, '3' καλή κατάσταση, '4' πολύ καλή κατάσταση. Στις 18/05/2022 μετρήθηκε το 'ύψος φυτού' ενώ από τις 26/06 προστέθηκε και ο περιγραφητής 'πλάτος φυτού' και τα δύο χαρακτηριστικά είναι μετρήσιμα επομένως κατατάσσονται στα ποσοστικά γνωρίσματα. Η πυκνότητα του φυλλώματος αξιολογήθηκε μετά από 1,5 μήνα από τη πρώτη μεταφύτευση των σπορόφυτων, όταν τα φυτά είχαν αρχίσει να αναπτύσσουν ορατό φύλλωμα επαρκές για αξιολόγηση. Η πυκνότητα φυλλώματος χαρακτηρίστηκε ως, 'αραιό', 'πυκνό', 'πολύ πυκνό'. Το πάχος του στελέχους διέφερε ανάμεσα στις ποικιλίες επομένως ήταν σημαντικό χαρακτηριστικό για τη διαφοροποίηση των ποικιλιών. Στο χρώμα του φυλλώματος αποδώσαμε πολλούς συνδυασμούς χαρακτηριστικών όπως 'πράσινο', 'ανοιχτό πράσινο', 'σκούρο πράσινο', 'πράσινο-κίτρινο', γι' αυτή τη κατηγορία δημιουργήσαμε και ψευδο-περιγραφητές. Το σχήμα απλών και σύνθετων φύλλων προστέθηκαν σε πιο ώριμο στάδιο ανάπτυξης των φυτών στις 26/6, γιατί σε προηγούμενο στάδιο ανάπτυξης δεν ήταν τόσο εμφανής η διαφορά μεταξύ των δύο τύπων φύλλων. Σ' αυτά τα ποιοτικά γνωρίσματα αποδόθηκαν οι χαρακτηρισμοί όπως 'ποδοσχιδές', 'παλαμοειδές', 'νεφροειδές', 'ρομβοειδές'. Η περιφέρεια ελάσματος του φυλλώματος αξιολογήθηκε με τη χρήση σχεδίων και διαγραμμάτων καθώς η ερμηνεία της είναι υποκειμενική. 'Οδοντωτή', 'λοβωτή', λοβωτή προς στρογγυλεμένη φανέρωναν το χαρακτηρισμό της περιφέρειας του ελάσματος. Ποσοτικά χαρακτηριστικά όπως το μήκος απλών, σύνθετων φύλλων και του μεσογονάτιου τμήματος ήταν πιο εύκολα ως προς τη μέτρηση τους. Η ανάπτυξη ταξιανθίας σε ορισμένες ποικιλίες ξεκίνησε από τη πρώτη ημέρα αξιολόγησης του χαρακτηριστικού στις 25/5, ενώ στη συνέχεια προστέθηκαν περιγραφητές όπως ο αριθμός των σκιαδίων, η διάταξη σκιαδίων η οποία περιλαμβάνει δύο κατηγορίες, την ανοιχτή διάταξη όπου οι ταξιανθίες είναι πιο αραιά διαταγμένες, ενώ στη κλειστή διάταξη, οι ταξιανθίες είναι πιο πυκνές, το ύψος και πλάτος σκιαδίων αξιολογήθηκαν σε μεγαλύτερο αναπτυξιακό στάδιο. Η εμφάνιση ανθέων εξετάστηκε και για τα φυτά γλυκάνισου και μάραθου καθώς οι ταξιανθίες εμφανίζονται και στα δύο σε μορφή σκιαδίων. Προς το τελικό αναπτυξιακό στάδιο αξιολογήθηκε η εμφάνιση

σπορίων με πρώτη καταγραφή στις 26/6. Κατά τη διάρκεια της συγκομιδής ένας ακόμη περιγραφητής που προστέθηκε ήταν η ‘ημέρα συγκομιδής’, η σύγκριση έγινε σε σχέση με την ημέρα σποράς στο χωράφι. Μετά τη συγκομιδή και αφού ακολούθησε ξήρανση των φυτών, υπολογίστηκε το καθαρό βάρος κάθε φυτού σε ζυγαριά ακριβείας, περιλαμβάνοντας όλο το φυτό από τον βλαστό μέχρι και τους σπόρους και τα φύλλα, ενώ στη συνέχεια απομονώθηκαν οι σπόροι και μετρήθηκε το βάρος τους ξεχωριστά για κάθε φυτό.



αραιό / πυκνότητα φυλλώματος



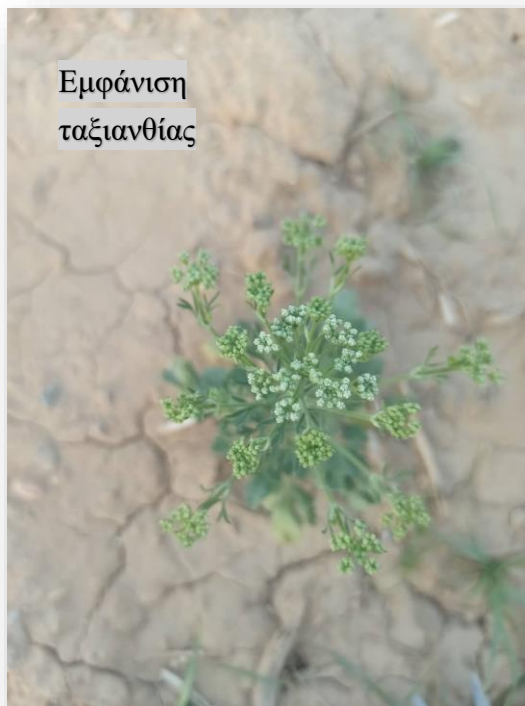
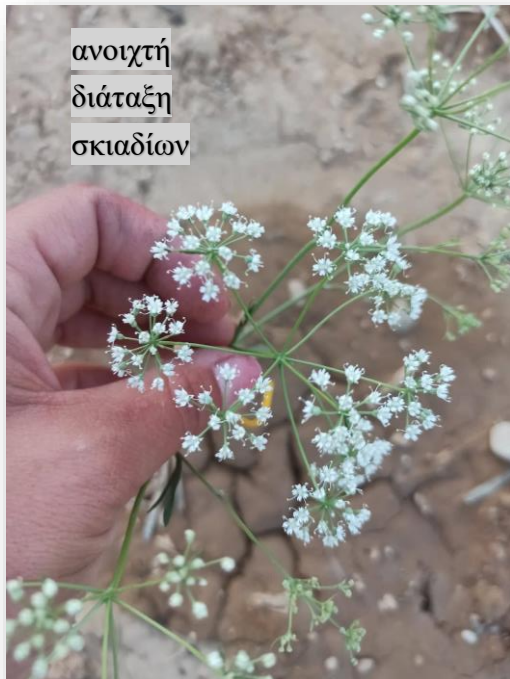
πολύ πυκνό / πυκνότητα φυλλώματος



αγκαθωτή
περιφέρεια
ελάσματος



λοβωτή
περιφέρεια
ελάσματος



Εικόνες 2.7-2.14 Περιγραφητές που καταγράφηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος στον αγρό.

2.1.6 Περισυλλογή Επικονιαστών

Η περισυλλογή των επικονιαστών στον αγρό έλαβε χώρα στις 6 Ιουλίου 2022, αφού τα φυτά είχαν εμφανίσει ανεπτυγμένες ταξιανθίες με άνθη. Κάτω από αυτές τις συνθήκες ο αριθμός των επικονιαστών αυξάνεται και το ποσοστό της ποικιλομορφίας είναι μεγαλύτερο. Υπο τις οδηγίες του κ. Αντώνιου Τσαγκαράκη, οι επικονιαστές συλλέχθηκαν σε ειδικά δοχεία με κλειστό βιδωτό καπάκι, για να είναι πιο εύκολη η διαχείριση τους στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας. Τα δείγματα παραδόθηκαν στον κ. Τσαγκαράκη την ίδια ημέρα της περισυλλογής και στη συνέχεια τα αποτελέσματα στάλθηκαν μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου.



Εικόνες 2.15 Δοχείο μέσα στο οποίο συλλέχθηκε επικονιαστής για ανάλυση στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας

2.2 Στατιστικές αναλύσεις

Για τον στατιστικό έλεγχο υπόθεσης χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος κανονικότητας και εξετάστηκε αν η κατανομή ήταν συμβατή με τη κανονική κατανομή. Ο έλεγχος κανονικότητας έγινε με τη χρήση στατιστικών ελέγχων Shapiro-Wilk μέσω του προγράμματος JMP. Επιπλέον εξετάστηκε η διακύμανση των σφαλμάτων μέσω μίας ακολουθίας η οποία μαρτυρεί αν χαρακτηρίζεται από ομοσκεδαστικότητα.

Στο πείραμα ανιχνεύτηκαν στατιστικές διαφορές σε ορισμένα χαρακτηριστικά με αποτέλεσμα να συγκριθούν οι μέσοι όροι μέσω της στατιστικής μεθόδου ανάλυσης διασποράς (ANOVA). Τα αποτελέσματα των στατιστικών αναλύσεων παρατίθενται στη παράγραφο 3.1.

2.3 Μοριακές αναλύσεις

2.3.1 Φυτικό Υλικό

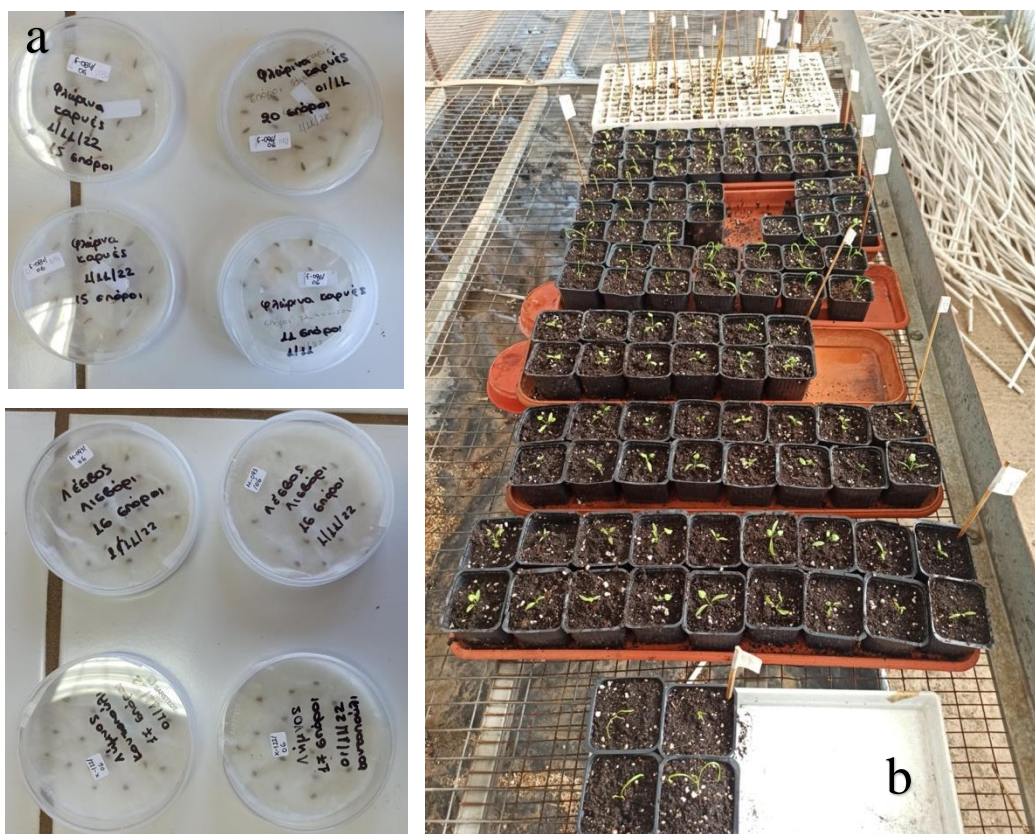
Για τις μοριακές αναλύσεις ήταν σημαντικό να χρησιμοποιηθούν νεαρά φυτά για την καλύτερη ποιότητα τελικού DNA μετά από την εξαγωγή. Λόγω μειωμένης ή και απουσίας της αποδόμησης τα νεαρά φύλλα περιέχουν DNA υψηλότερης ποιότητας. Τα ώριμα φύλλα λόγω έκθεσης σε περιβαλλοντικούς παράγοντες και λόγω γήρανσης μπορεί να παρουσιάσουν προβλήματα στις μοριακές αναλύσεις. Ένας δεύτερος παράγοντας που επηρεάζει την επιλογή των νεαρότερων φυτών είναι η αποδοτικότητα. Η υψηλή απόδοση DNA είναι απαραίτητη για εφαρμογές που χρησιμοποιήθηκαν στο συγκεκριμένο πείραμα όπως PCR και η ηλεκτροφόρηση.

Επιπλέον οι πιθανότητες επιμόλυνσης των δειγμάτων με παθογόνα μειώνονται όταν χρησιμοποιούνται νεαρά φυτά καθώς δεν έχουν προλάβει να έρθουν σε επαφή για μεγάλο χρονικό διάστημα με εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Επομένως η χρήση νεαρών φυτών αυξάνει την ακρίβεια και την αξιοπιστία των τελικών αποτελεσμάτων.

Οι ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν για τις αναλύσεις παρατίθενται στον πίνακα που ακολουθεί.

Νο.	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΠΕΡΙΟΧΗ	ΕΙΔΟΣ	ΔΕΙΓΜΑΤΑ
1		Χίος-Βουνό	<i>Pimpinella anisum</i>	20
2		Χίος-Νένητα	<i>Pimpinella anisum</i>	20
3	Εμπορική	Ελλάδα	<i>Pimpinella anisum</i>	15
4		Λέσβος -Λισβόρι	<i>Pimpinella anisum</i>	17
5	M-093/06	Λέσβος- Λισβόρι	<i>Pimpinella anisum</i>	3
6	L-001/20	Λήμνος- Καμίνια	<i>Pimpinella anisum</i>	7
7	X-122/06	Λήμνος- Κοντοπούλι	<i>Pimpinella anisum</i>	6
8	F-096/06	Φλώρινα- Καρυές	<i>Foeniculum vulgare</i>	11
9	F-084/06	Φλώρινα- Καρυές	<i>Foeniculum vulgare</i>	15
10		Επανομή	<i>Foeniculum vulgare</i>	5

Πίνακας 2.4 Ποικιλίες που χρησιμοποιήθηκαν για τις μοριακές αναλύσεις



Εικόνες 2.16(a) Σπόροι γλυκάνισου και μάραθου σε τριβλία για έλεγχο προβλάστησης. 2.16(b) Μετά τη μεταφύτευση των σπορόφυτων από τα τριβλία.

2.3.2 Απομόνωση DNA

Η απομόνωση DNA των διαφορετικών ποικιλιών γλυκάνισου και μάραθου έγινε με τη χρήση της τεχνικής CTAB (Cetyltrimethyl ammonium bromide) (REF). Αποτελεί μία διαδεδομένη μέθοδο που χρησιμοποιείται για την εξαγωγή και την απομόνωση γενετικού υλικού από δείγματα φυτικού ιστού, όπως φύλλα ή σπόρους. Τα νεαρά φύλλα που συγκομίστηκαν, αποθηκεύτηκαν στους -80°C , καθώς η χαμηλή θερμοκρασία επιβραδύνει τις βιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της δραστηριότητας των ενζύμων. Η αποθήκευση στους -80°C , επιτρέπει τη διατήρηση της δομής και της λειτουργίας των πρωτεϊνών στον φυτικό ιστό, ενώ παράλληλα εμποδίζεται η ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 119 απομονώσεις με τη χρήση νεαρών φύλλων από τις δέκα διαφορετικές ποικιλίες γλυκάνισου και μάραθου όπως απεικονίζονται στον παραπάνω πίνακα. Η απομόνωση του γενετικού υλικού πραγματοποιήθηκε σε στάδια όπως αναγράφονται παρακάτω.

Βήμα 1^ο

Το πρώτο στάδιο της απομόνωσης περιλαμβάνει την τοποθέτηση σωληναρίων-tubes, στους 65°C , στα οποία ήδη είχε προστεθεί 450μl CTAB Buffer με ανάμειξη 2,25μl ένζυμου πρωτεϊνάσης K. Η προσθήκη της πρωτεϊνάσης βοηθάει στη βελτιστοποίηση της ποιότητας του τελικού DNA, καθώς επιτυγχάνεται η απομάκρυνση των πρωτεϊνών από το δείγμα, ενώ η θέρμανση του διαλύματος CTAB αποσκοπεί στην αποδόμηση των κυτταρικών μεμβρανών και τη διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος για την απελευθέρωση βιολογικών μορίων ενισχύοντας τη σταθερότητα του DNA.

Βήμα 2^ο

Στη συνέχεια της πειραματικής διαδικασίας και αφού έχει προηγηθεί ρύθμιση της φυγοκέντρου στους 4°C , ακολουθεί μεταφορά του φυτικού ιστού, περίπου δύο μικρά φύλλα από κάθε δείγμα, σε κάθε tube με το προθερμασμένο μίγμα CTAB – πρωτεϊνάσης, στη συνέχεια τη χρήση ειδικού εμβόλου επιτυγχάνεται η πολτοποίηση του φυτικού ιστού μέχρι το μίγμα να γίνει πράσινο. Η επώαση των δειγμάτων στο heating block καθώς και η ανακίνηση αυτών κάθε δέκα λεπτά διασφαλίζει την αποτελεσματική ομογενοποίηση του δείγματος και τη μετουσίωση των μορίων DNA, στους 65°C διαχωρίζονται τα συμπληρωματικά ζεύγη βάσεων, αφού σπάνε οι δεσμοί

του υδρογόνου. Με την ανακίνηση των δειγμάτων επιτυγχάνεται η ομοιόμορφη κατανομή της θερμοκρασίας σε όλο το δείγμα και η διάσπαση της κυτταρικής μεμβράνης, η αποσύνθεση δηλαδή των συστατικών του κυττάρου. Επιπλέον, ένζυμα ή πρωτεΐνες που ενδέχεται να παρεμποδίσουν τη διαδικασία εκχύλισης του DNA, αδρανοποιούνται με την θέρμανση του δείγματος.

Βήμα 3^ο

Η μετέπειτα διεργασία της φυγοκέντρωσης, οδηγεί στο διαχωρισμό του DNA από άλλα κυτταρικά συστατικά, όπως πρωτεΐνες, λιπίδια και κυτταρικά υπολείμματα, διαχωρίζονται οι φάσεις, τα πυκνότερα συστατικά καθιζάνουν στο κατώτερο στρώμα, καθιστώντας ευκολότερη τη συλλογή της ανώτερης φάσης. Η προσθήκη PCI στα δείγματα, ένα μείγμα φαινόλης και χλωροφορμίου με μικρή ποσότητα ισοαμυλικής αλκοόλης, αποσκοπεί στην εξαγωγή DNA από την υδατική φάση του δείγματος, επιπλέον διευκολύνει τη μεταφορά των πρωτεϊνών στην οργανική φάση και επιτυγχάνει τον καθαρισμό του DNA με την απομάκρυνση προσμίξεων και άλλων μολυσματικών ουσιών που μπορεί να εξακολουθούν να υπάρχουν μετά το αρχικό στάδιο της φυγοκέντρωσης, αυτό έχει ως αποτέλεσμα ένα καθαρότερο τελικό δείγμα.

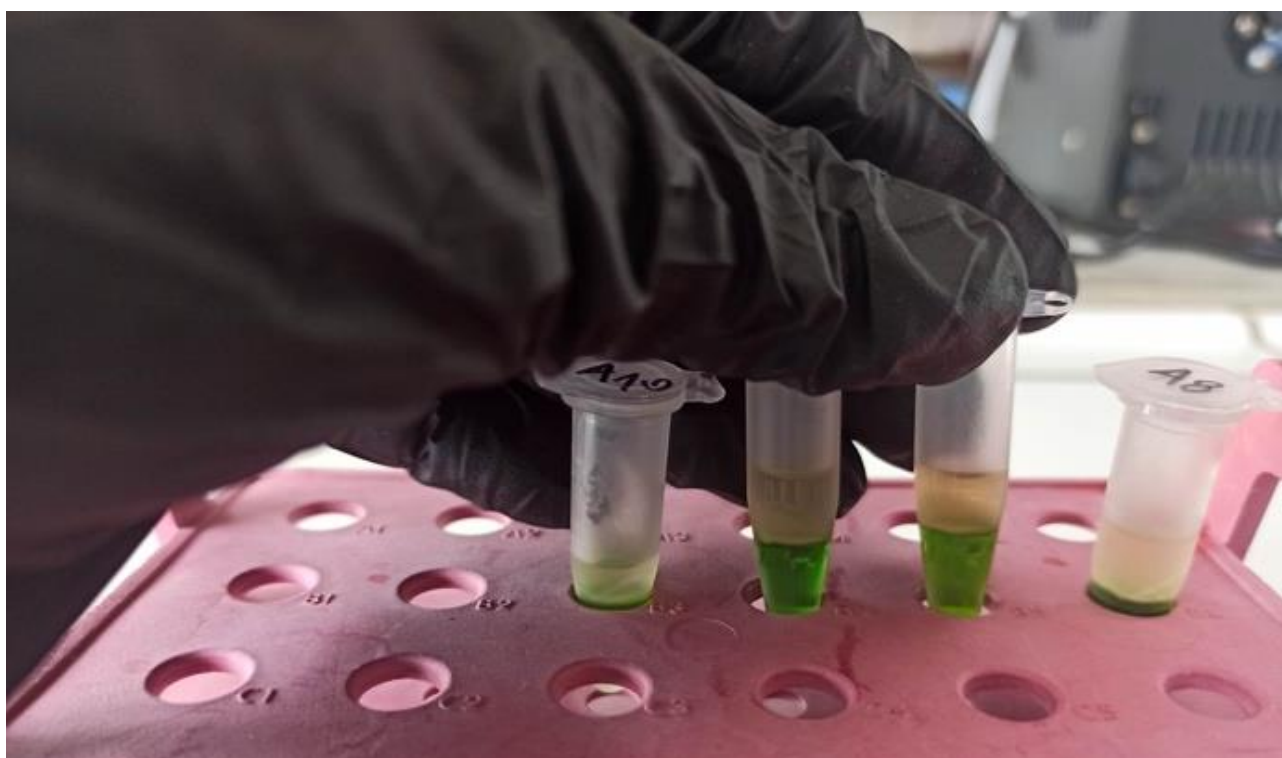
Βήμα 4^ο

Στην υδατική φάση και αφού έχει ακολουθήσει άλλη μία φυγοκέντρωση, η προσθήκη ισοπροπανόλης βοηθάει στη καταβύθιση του DNA, καθώς δεν είναι διαλυτό στην ισοπροπανόλη, επομένως τα μόρια σχηματίζουν ένα ορατό λευκό ή ημιδιαφανές σφαιρίδιο στον πυθμένα του tube, καθιστώντας το πιο εύκολο στη διαχείριση, καθώς το DNA συγκεντρώνεται σε μικρότερο όγκο. Κατά τη διάρκεια της ολονύκτιας επώασης των δειγμάτων σε χαμηλή θερμοκρασία, τα μόρια συνεχίζουν να διαχωρίζονται από το διάλυμα, συσσωρεύονται, σχηματίζοντας ένα πιο ορατό και συμπαγές σφαιρίδιο DNA. Επιπλέον οι χαμηλότερες θερμοκρασίες επιβραδύνουν τις ενζυμικές αντιδράσεις και συμβάλλουν στην αποφυγή της αποδόμησης του DNA από τις νουκλεάσες.

Βήμα 5^ο

Την επόμενη ημέρα η χρήση αιθανόλης είναι βασικό στάδιο της απομόνωσης, για τη πλύση του σφαιριδίου. Το βήμα της πλύσης συμβάλλει στην απομάκρυνση

υπολλειμματικών αλάτων και μολυσματικών ουσιών που μπορεί να έχουν καταβυθιστεί με το DNA στο αρχικό στάδιο. Οι υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων μπορεί να αναστείλουν τις μετέπειτα εφαρμογές όπως η PCR. Το σφαιρίδιο που λαμβάνεται μετά την πλύση με αιθανόλη και το στέγνωμα στην απαγωγό εστία είναι σε μορφή που δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί, γι' αυτό το λόγο η προσθήκη μοριακού ή αποστειρωμένου νερού είναι απαραίτητο βήμα για τη χρήση του DNA σε επόμενες εφαρμογές.



Εικόνα 2.17 Διαδικασία απομόνωσης DNA στο χώρο του εργαστηρίου

2.3.3 Μέτρηση DNA

Για την ολοκληρωμένη ανάλυση των δειγμάτων είναι βασικό στάδιο η μέτρηση της συγκέντρωσης και τη καθαρότητας του DNA με τη χρήση φασματοφωτόμετρου, όπως το Nanodrop. Ο ακριβής ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης είναι σημαντικός για τη διασφάλιση της επαρκούς ποσότητας DNA για τη συνέχεια του πειράματος. Γνωρίζοντας τη συγκέντρωση του όγκου του κάθε δείγματος και ανάλογα με τις απαιτήσεις του πειράματος, ο ερευνητής προσαρμόζει τη συγκέντρωση του τελικού όγκου. Η φασματομετρία παρέχει πληροφορίες και για τη ποιότητα του

δείγματος, αξιολόγηση της παρουσίας πρωτεϊνών ή άλλων προσμίξεων όπως πχ φαινόλης - χλωροφορμίου. Με τους λόγους καθαρότητας A260/A280 και A260/A230 διαπιστώνεται η συνολική καθαρότητα του DNA. Το φασματοφωτόμετρο πχ. Nanodrop Thermo-ND1000 χρησιμοποιείται γιατί επιτρέπει τη γρήγορη και εύκολη ποσοτικοποίηση δειγμάτων σε μικρούς όγκους, στο συγκεκριμένο πείραμα 1μl. Μετρά την απορρόφηση σε συγκεκριμένα μήκη κύματος και υπολογίζει τη συγκέντρωση με βάση το νόμο Beer-Lambert. Επιπλέον, παρέχει αναλογίες καθαρότητας μετρώντας την απορρόφηση σε διαφορετικά μήκη κύματος, 260/280nm και 260/230nm.

Για τη παρούσα διπλωματική εργασία, πραγματοποιήθηκαν δύο μετρήσεις για κάθε δείγμα, στο χώρο του εργαστηρίου της Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας του τμήματος Φυτικής Παραγωγής και οι τελικές συγκεντρώσεις των δειγμάτων του γλυκάνισου και μάραθου απεικονίζονται στο **Π8** στη παράγραφο του παραρτήματος.

Από τις συγκεντρώσεις και τους λόγους καθαρότητας, που απεικονίζονται στο πίνακα 2.5 τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι τιμές ng/μl είναι υψηλές, επομένως υπάρχει DNA διαθέσιμο σε αφθονία. Ωστόσο κατά τη διάρκεια της ανάλυσης σε πηκτή αγαρόζης οι υψηλές συγκεντρώσεις οδήγησαν σε υπερφόρτωση επηρεάζοντας έτσι την ποιότητα των αποτελεσμάτων. Γι' αυτό το λόγο πριν την εφαρμογή της PCR προηγήθηκε αραίωση της τελικής συγκέντρωσης του δείγματος DNA στην PCR (τελική συγκέντρωση 15ng/μl/δείγμα).

Οι τιμές των αναλογιών καθαρότητας εντός του εύρους 1,8-2 υποδηλώνουν ότι το δείγμα είναι απαλλαγμένο από πρωτεϊνική μόλυνση, τα δείγματα είναι καθαρά και κατάλληλα για μεταγενέστερες μοριακές εφαρμογές.



Εικόνα 2.18 Προσδιορισμός συγκεντρώσεων στο Nanodrop ND-1000.

2.3.4 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

Η επιλογή των κατάλληλων εκκινητών ISSR έγινε μετά από πολλαπλές δοκιμές γενετικών αναλύσεων και τροποποιήσεων στο αρχικό πρωτόκολλο, οι εκκινητές 807 και 841(UPC primer set) απέδωσαν τα καλύτερα και πιο ακριβή αποτελέσματα. Η χρήση δεικτών ISSR με στόχο τη μελέτη και καταγραφή της γενετικής ποικιλότητας των διαφόρων ποικιλιών γλυκάνισου και μάραθου είναι μία αποτελεσματική μέθοδος για τον προσδιορισμό των γενετικών ομοιοτήτων ή διαφορών μεταξύ τους. Μέσω της PCR, με ISSR δείκτες εφόσον υπάρχει ομολογία/υβριδισμός του εκκινητή στην αλληλουχία στόχο, παράγονται θραύσματα DNA διαφορετικών μεγεθών με βάση την παρουσία/ απουσία και τον αριθμό των μικροδορυφορικών επαναλήψεων στο γονιδιωματικό DNA. Όπως αναφέρθηκε και στην παραπάνω παράγραφο πριν την εφαρμογή της PCR προηγήθηκε αραίωση των δειγμάτων και ακολούθησε ο υπολογισμός των όγκων, όλων των απαραίτητων αντιδραστηρίων για τη παρασκευή του διαλύματος (mastermix). Τα συστατικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα εξής, το ρυθμιστικό διάλυμα που αντιστοιχίζει στις μεταβολές του pH που προκαλούνται από την προσθήκη άλλων συστατικών στην αντίδραση, όπως τα νουκλεοτίδια, οι εκκινητές και το DNA, σταθεροποιεί τους εκκινητές και το DNA αποτρέποντας τη μετουσίωση σε υψηλότερες θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της PCR. Το χλωριούχο μαγνήσιο ($MgCl_2$) είναι βασικό συστατικό και χρησιμεύει ως συμπαράγοντας για τα ένζυμα DNA πολυμεράσης, καθώς χωρίς τα ιόντα μαγνησίου δεν μπορεί να εκτελέσει αποτελεσματικά την ενζυμική της λειτουργία, επιπλέον αποσκοπεί στον υβριδισμό των εκκινητών με την αλληλουχία μήτρα και επομένως στην αποτελεσματικότητα της PCR. Η προσθήκη των dNTPs παρέχει τα επιμέρους δομικά στοιχεία, νουκλεοτίδια που απαιτούνται για τη σύνθεση νέων αλυσίδων DNA κατά τη διαδικασία ενίσχυσης της PCR. Η κύρια λειτουργία της Taq πολυμεράσης που χρησιμοποιείται στο mastermix είναι να καταλύει τη δημιουργία της συμπληρωματικής αλυσίδας DNA με βάση τη πρότυπη αλυσίδα DNA. Η Taq πολυμεράση επιλέγεται για τη θερμική της σταθερότητα που παρουσιάζει κατά τη διάρκεια των πολλαπλών κύκλων θέρμανσης και ψύξης της PCR.



Εικόνα 2.19 Προετοιμασία των δειγμάτων και εφαρμογή της PCR.

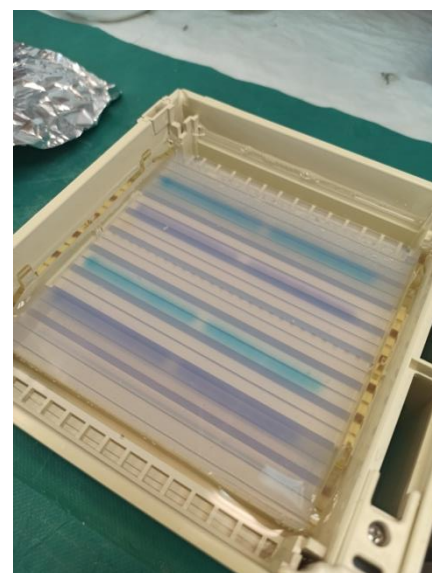
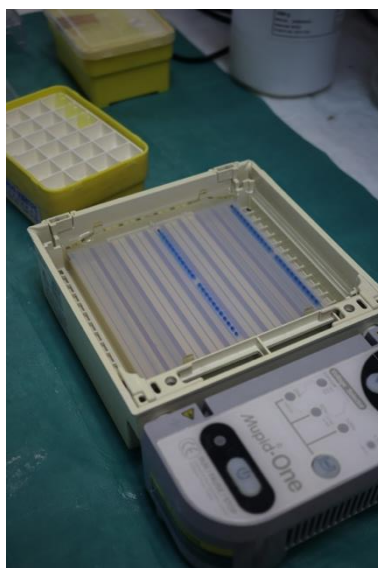
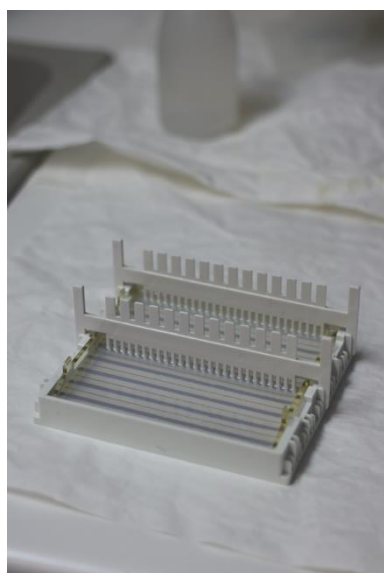
Το εύρος θερμοκρασιών υβριδισμού των εκκινητών 807 και 841 που χρησιμοποιήθηκε στο συγκεκριμένο πείραμα ήταν 50-52,5°C ύστερα από δοκιμές. Λόγω ότι η θερμοκρασία υβριδισμού είναι διαφορετική για κάθε εκκινητή και το γεγονός ότι είναι 2-3°C χαμηλότερη από τη θερμοκρασία τήξης (Tm) του εκκινητή η χρήση διαβάθμισης θερμοκρασιών εξασφαλίζει μεγαλύτερο ποσοστό επιτυχίας της PCR.



Εικόνα 2.20 Διαβάθμιση των θερμοκρασιών με εύρος 50-52,5°C

2.3.5 Ηλεκτροφόρηση

Για τις αναλύσεις η χρήση πηκτώματος αγαρόζης είναι βασικό υλικό για την ηλεκτροφόρηση, λόγω της σταθερότητας, της διαφάνειας και της ευκολίας παρασκευής του. Για τη παρασκευή της πηκτής, είναι απαραίτητη η ανάμειξη της αγαρόζης με ρυθμιστικό διάλυμα 1 x TAE (Tris-Acetate-EDTA), το οποίο παρέχει την απαραίτητη ιοντική ισχύ, σταθερότητα pH και προστασία από την αποικοδόμηση των νουκλεϊκών οξέων. Έπειτα από θέρμανση η αγαρόζη διαλύεται και περιχύνεται σε ειδικό καλούπι μέχρι τη στερεοποίηση της. Μετά τη πήξη ακολουθεί η προετοιμασία της φθορίζουσας χρωστικής νουκλεϊκών οξέων GelRed™ για την απεικόνιση του DNA. Είναι απαραίτητη η αραιώση της χρώσης με ρυθμιστικό διάλυμα και νερό για τη χρήση της στην ηλεκτροφόρηση, είναι μία χρωστική που χρησιμοποιείται με ασφάλεια καθώς δεν είναι τοξική όπως το βρωμιούχο αιθίδιο. Για τον προσδιορισμό του μεγέθους των θραυσμάτων χρησιμοποιείται δείγμα DNA γνωστού μεγέθους ζωνών (DNA ladder). Τα θραύσματα διαχωρίζονται με βάση το μέγεθος τους και το φορτίο τους. Οι ζώνες του DNA ladder είναι φθορίζουσες καθιστώντας τις εύκολες στην απεικόνισή και οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων. Το DNA ladder που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα ήταν 100bp H3 RTU μεγέθους 50μg/500μl. Η ηλεκτροφόρηση διήρκεσε 60 λεπτά συνολικά, αρχικά 10 λεπτά στα 50V και στη συνέχεια 50 λεπτά στα 100V.



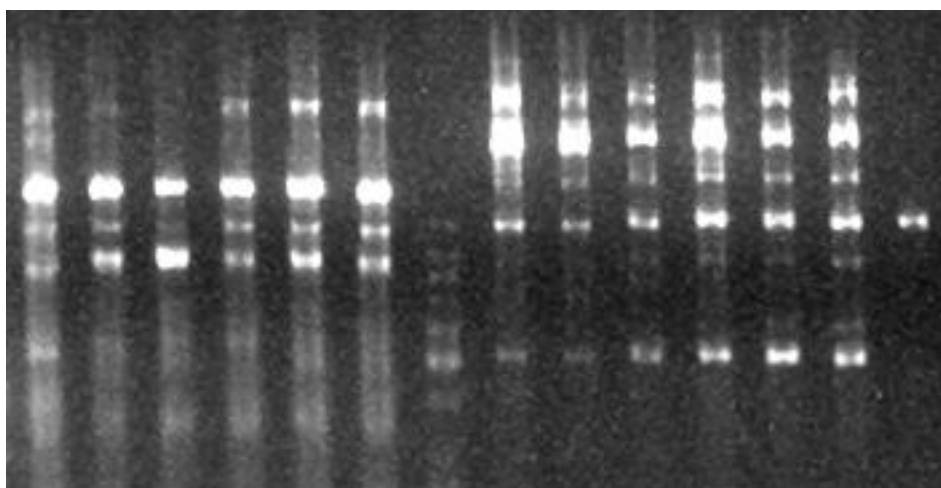
Εικόνα 2.21 Προετοιμασία πηκτής για την εφαρμογή της ηλεκτροφόρησης και τελικό στάδιο της διαδικασίας

2.3.6 Απεικόνιση DNA

Μετά την εφαρμογή της ηλεκτροφόρησης, ακολουθεί η οπτικοποίηση και φωτογράφιση των διαχωρισμένων ζωνών DNA στη πηκτή, με τη χρήση UV Transilluminator. Η πηκτή πρέπει να είναι επίπεδη και να καλύπτει ομοιόμορφα τη φωτιζόμενη περιοχή, οι λαμπτήρες υπεριώδους ακτινοβολίας εκπέμπουν υπεριώδες φως με καθορισμένο μήκος κύματος, το εκπεμπόμενο υπεριώδες προσπίπτει στα θραύσματα DNA μέσα στη πηκτή, τα μόρια απορροφούν την ενέργεια μέσω της χρωστικής και διεγείρονται, η διεγερση οδηγεί σε εκπομπή φωτός σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, ο φθορισμός αυτός απεικονίζεται ως φωτεινές ζώνες οι οποίες αντιπροσωπεύουν τα διαχωρισμένα θραύσματα DNA.



Εικόνα 2.22 Εξειδικευμένο μηχάνημα οπτικοποίησης του πηκτώματος αгарόζης



Εικόνα 2.23 Ποιοτικός έλεγχος DNA πριν την εφαρμογή της ηλεκτροφόρησης

3 Αποτελέσματα

3.1 Στατιστικά αποτελέσματα

Το πειραματικό σχέδιο του πειράματος ήταν το σχέδιο των τυχαιοποιημένων πλήρων ομάδων. Κάθε παρατήρηση του σχεδίου περιγράφεται μέσω του παρακάτω προτύπου.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Η ανάλυση του σχεδίου βασίζεται σε τέσσερις προϋποθέσεις με βάση το παραπάνω πρότυπο.

1. Η επίδραση της i επέμβασης ακολουθεί την κανονική κατανομή
2. Δεν πρέπει να υπάρχει αλληλεπίδραση της επέμβασης με την ομάδα. Η ιδιότητα αυτή ονομάζεται αθροιστικότητα
3. Πρέπει να υπάρχει ομοιογένεια διασπορών, δηλαδή το μέσο τετράγωνο του υπολοίπου να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ο εκτιμητής της διασποράς των υπόλοιπων παρατηρήσεων. Αυτή είναι η ιδιότητα της ομοσκεδαστικότητας.
4. Οι αποκλίσεις από τους μέσους, είναι στατιστικά ανεξάρτητα και ακολουθούν την κανονική κατανομή.

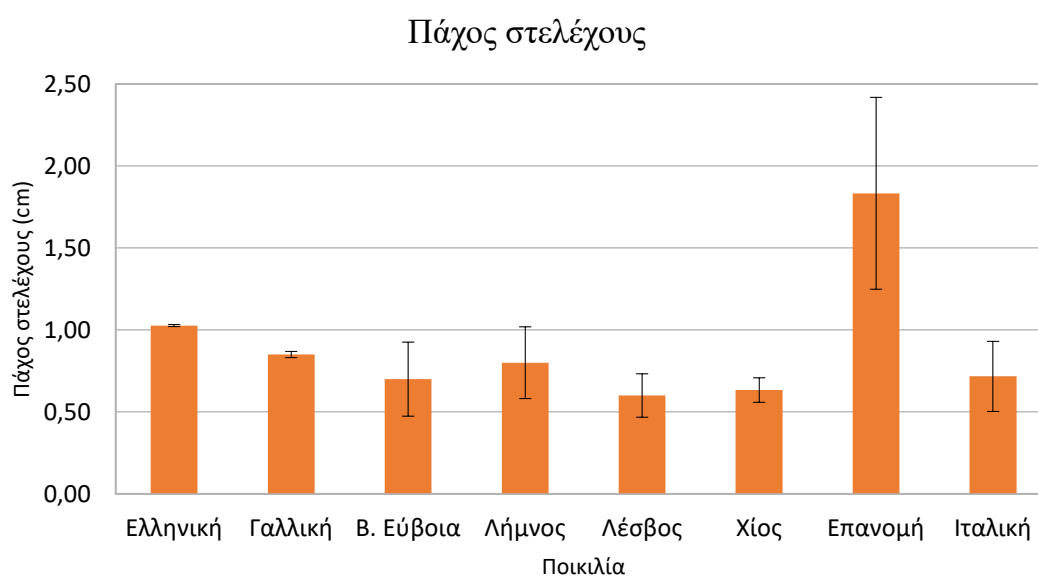
Test	F Ratio	DFNum	DFDen	Prob > F
O'Brien[.5]	1,3699	7	16	0,2831
Brown-Forsythe	0,6965	7	16	0,6747
Levene	5,2092	7	16	0,0030*
Bartlett	1,8077	7	.	0,0810

Πίνακας 3.1.1 Στατιστικοί έλεγχοι για τον έλεγχο της ομοσκεδαστικότητας

3.2 Ποσοτικά μορφολογικά χαρακτηριστικά

Πάχος στελέχους

Το πάχος του στελέχους μετρήθηκε στη βάση του φυτού σε διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια. Η δομή του στελέχους εμφάνισε διαφορές ανάμεσα στα φυτά όπως φαίνεται και παρακάτω p- value ισούται με 0,0013. Η μεγαλύτερη στατιστική διαφορά παρατηρείται στην ποικιλία της Επανομής η οποία είναι μεγαλύτερη από όλες τις υπόλοιπες ποικιλίες.



Διάγραμμα 3.1.1: Ραβδόγραμμα μέσων τιμών και γραμμών σφαλμάτων του πάχους στελέχους/ποικιλία

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ποικιλία	7	3,4025333	0,486076	6,6679	0,0013*
Block	2	0,0837000	0,041850	0,5741	0,5759
Error	14	1,0205667	0,072898		
C. Total	23	4,5068000			

Connecting Letters Report

Level	Mean
Ποικιλία 8 (Επανομή) A	1,8333333
Ποικιλία 2 (Ελληνική) B	1,0266667
Ποικιλία 3 (Γαλλική) B	0,8500000
Ποικιλία 5 (Λήμνος) B	0,8000000
Ποικιλία 1 (Ιταλική) B	0,7166667
Ποικιλία 4 (Β. Εύβοια) B	0,7000000
Ποικιλία 7 (Χίος) B	0,6333333
Ποικιλία 6 (Λέσβος) B	0,6000000

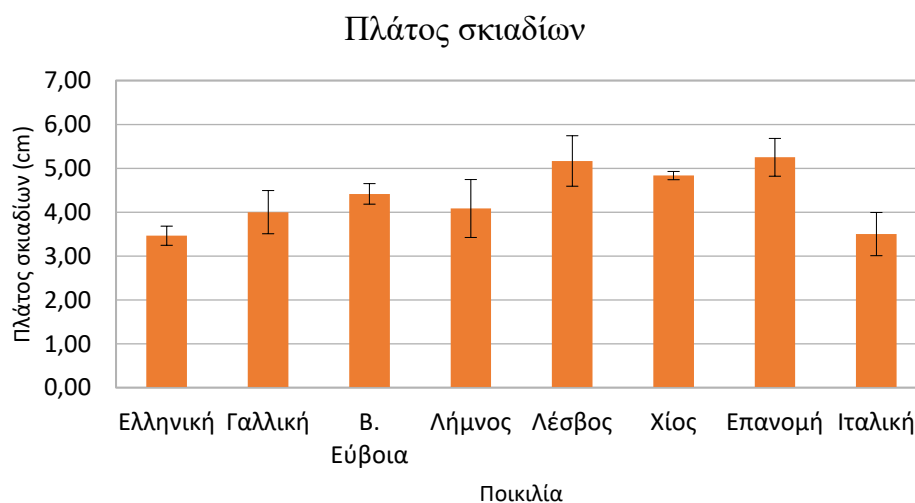
Πίνακες 3.1.2-3.1.3: Στατιστικά αποτελέσματα για το πάχος στελέχους ανά ποικιλία.

Ποικιλία	Μέσος Όρος (cm)	Τυπική Απόκλιση
Ελληνική	1,03	0,01
Γαλλική	0,85	0,02
Β. Εύβοια	0,70	0,23
Λήμνος	0,80	0,22
Λέσβος	0,60	0,13
Χίος	0,63	0,07
Επανομή	1,83	0,59
Ιταλική	0,72	0,21

Πίνακες 3.1.4: Πίνακας μέσων όρων, τυπικών αποκλίσεων ανά ποικιλία

Πλάτος σκιαδίων

Η καταγραφή του πλάτους σκιαδίων έγινε στο στάδιο πλήρους ωρίμανσης των ταξιανθίων. Παρατηρείται p -value < 0,05 επομένως η μηδενική υπόθεση απορρίπτεται. Το μεγαλύτερο πλάτος σκιαδίων καταγράφηκε στις ποικιλίες Επανομής και Λέσβου, αντίθετα το μικρότερο ποσοστό εμφανίστηκε στην Ελληνική και Ιταλική εμπορική ποικιλία.



Διάγραμμα 3.1.2: Ραβδόγραμμα μέσων τιμών και γραμμών σφαλμάτων του πλάτους σκιαδίων/ποικιλία

Ποικιλία	Μέσος Όρος (cm)	Τυπική Απόκλιση
Ελληνική	3,46	0,22
Γαλλική	4,00	0,49
Β. Εύβοια	4,42	0,23
Λήμνος	4,08	0,66
Λέσβος	5,17	0,57
Χίος	4,83	0,09
Επανομή	5,25	0,43
Ιταλική	3,50	0,49

Πίνακας 3.1.5: Πίνακας μέσων όρων, τυπικών αποκλίσεων ανά ποικιλία

Analysis of Variance

<u>Source</u>	<u>DF</u>	<u>Sum of Squares</u>	<u>Mean Square</u>	<u>F Ratio</u>	<u>Prob > F</u>
Ποικιλία	7	10,249050	1,46415	6,6177	0,0014*
Block	2	1,382258	0,69113	3,1238	0,0756
Error	14	3,097475	0,22125		
C. Total	23	14,728783			

Connecting Letters Report

<u>Level</u>		<u>Mean</u>
Ποικιλία 8 (Επανομή)	A	5,2500000
Ποικιλία 6 (Λέσβος)	A B	5,1666667
Ποικιλία 7 (Χίος)	A B C	4,8333333
Ποικιλία 4 (B. Εύβοια)	B C D	4,4166667
Ποικιλία 5 (Λήμνος)	C D E	4,0833333
Ποικιλία 3 (Γαλλική)	D E	4,0000000
Ποικιλία 1 (Ιταλική)	E	3,5000000
Ποικιλία 2 (Ελληνική)	E	3,4633333

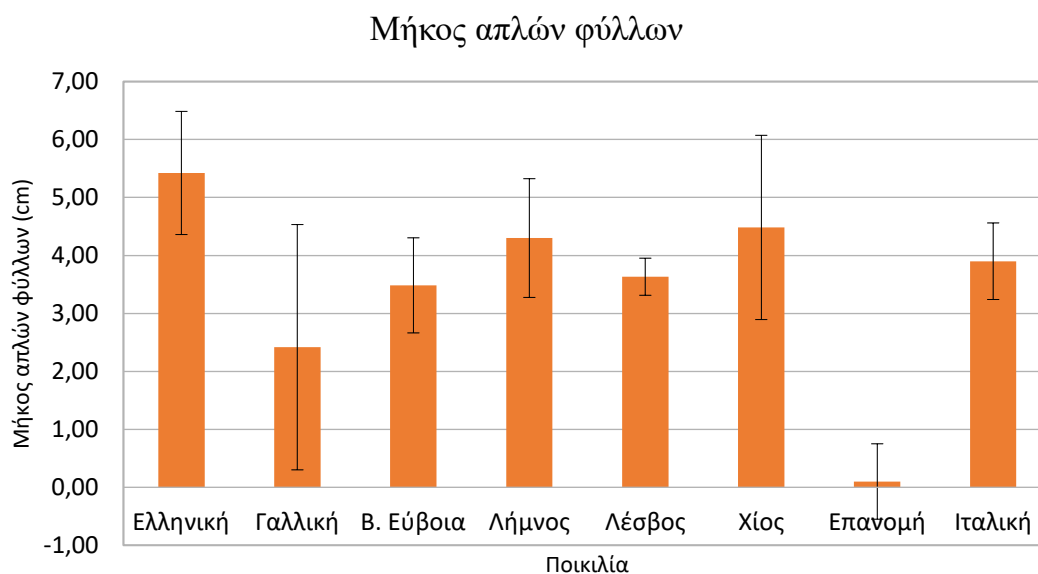
Πίνακες 3.1.6-3.1.7: Στατιστικά αποτελέσματα για το πλάτος στελέχους ανά ποικιλία



Εικόνες 3.1.1-3.1.2 Περιγραφητής πλάτους σκιαδίων που μετρήθηκε κατά τη διάρκεια άνθησης του φυτού.

Μήκος απλών φύλλων

Διαφορές παρατηρήθηκαν και στα μήκη απλών φύλλων, το αδιαίρετο έλασμα μετρήθηκε από το πρώιμο στάδιο ωρίμανσης του φυτού μόλις τα πρώτα ώριμα φύλλα άρχισαν να σχηματίζονται. Την υψηλότερη τιμή μήκους απλών φύλλων εμφάνισαν τα φυτά της Ελληνικής εμπορικής ποικιλίας, αντίστοιχα τη μικρότερη τιμή εμφάνισε η Γαλλική.



Διάγραμμα 3.1.3: Ραβδόγραμμα μέσω τιμών και γραμμών σφαλμάτων του μήκους απλών φύλλων/ποικιλία

Ποικιλία	Μέσος Όρος (cm)	Τυπική Απόκλιση
Ελληνική	5,42	1,06
Γαλλική	2,42	2,12
Β. Εύβοια	3,48	0,82
Λήμνος	4,30	1,02
Λέσβος	3,63	0,32
Χίος	4,48	1,59
Επανομή	0,00	0,65
Ιταλική	3,90	0,66

Πίνακας 3.1.8: Πίνακας μέσω όρων, τυπικών αποκλίσεων ανά ποικιλία

Analysis of Variance

<u>Source</u>	<u>DF</u>	<u>Sum of Squares</u>	<u>Mean Square</u>	<u>F Ratio</u>	<u>Prob > F</u>
Ποικιλία	7	56,674867	8,09641	5,2367	0,0042*
Block	2	6,853575	3,42679	2,2164	0,1458
Error	14	21,645358	1,54610		
C. Total	23	85,173800			

Connecting Letters Report

<u>Level</u>		<u>Mean</u>
Ποικιλία 2 (Ελληνική)	A	5,4233333
Ποικιλία 7 (Χίος)	A B	4,4833333
Ποικιλία 5 (Λήμνος)	A B	4,3000000
Ποικιλία 1 (Ιταλική)	A B	3,9000000
Ποικιλία 6 (Λέσβος)	A B	3,6333333
Ποικιλία 4 (Β. Εύβοια)	A B	3,4833333
Ποικιλία 3 (Γαλλική)	B	2,4166667
Ποικιλία 8 (Επανομή)	C	0,0000000

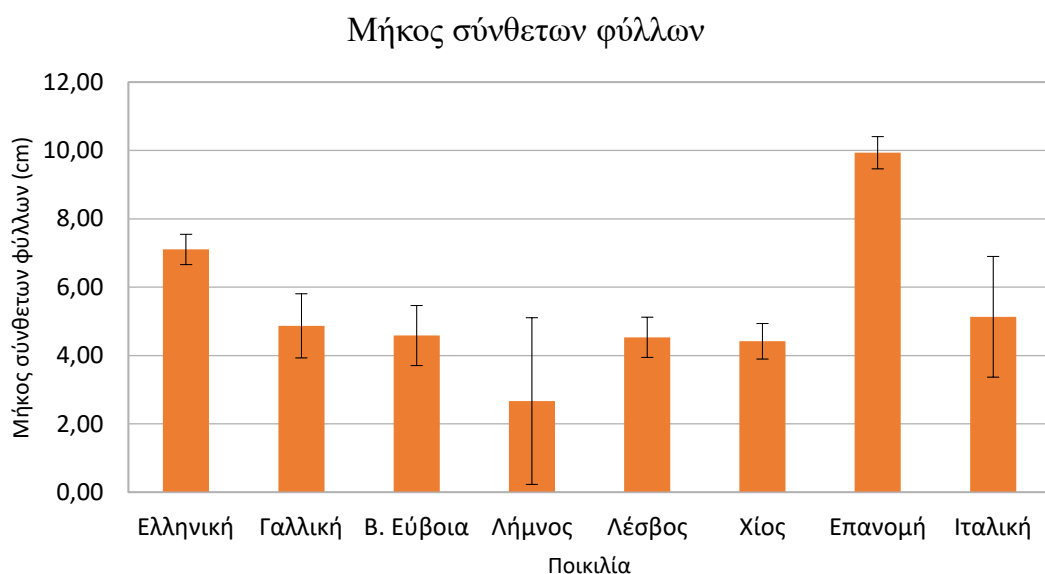
Πίνακες 3.1.9-3.1.10 Στατιστικά αποτελέσματα για το μήκος απλών φύλλων



Εικόνες 3.1.3-3.1.4 Περιγραφητής μήκος απλών φύλλων

Μήκος σύνθετων φύλλων

Το μήκος των σύνθετων φύλλων μετρήθηκε από τη βάση του μίσχου μέχρι το τελευταίο φυλλάριο του φύλλου. Η μηδενική υπόθεση ως προς το μήκος σύνθετων φύλλων απορρίπτεται καθώς $p\text{-value} < 0,05$. Ανάμεσα στις ποικιλίες του γλυκάνισου, η Ελληνική εμπορική ποικιλία εμφάνισε την υψηλότερη τιμή μήκους σύνθετων φύλλων και η Λήμνος την μικρότερη μέση τιμή. Συγκρίνοντας όλες τις ποικιλίες παρατηρείται ότι η ποικιλία μάραθου, της Επανομής, διαφέρει στατιστικά σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες.



Διάγραμμα 3.1.4: Ραβδόγραμμα μέσων τιμών και γραμμών σφαλμάτων του μήκους σύνθετων φύλλων/ποικιλία

Ποικιλία	Μέσος Όρος (cm)	Τυπική Απόκλιση
Ελληνική	7,10	0,44
Γαλλική	4,87	0,94
Β. Εύβοια	4,58	0,88
Λήμνος	2,67	2,44
Λέσβος	4,53	0,59
Χίος	4,42	0,52
Επανομή	9,93	0,47
Ιταλική	5,13	1,77

Πίνακας 3.1.11 Πίνακας μέσων όρων, τυπικών αποκλίσεων ανά ποικιλία

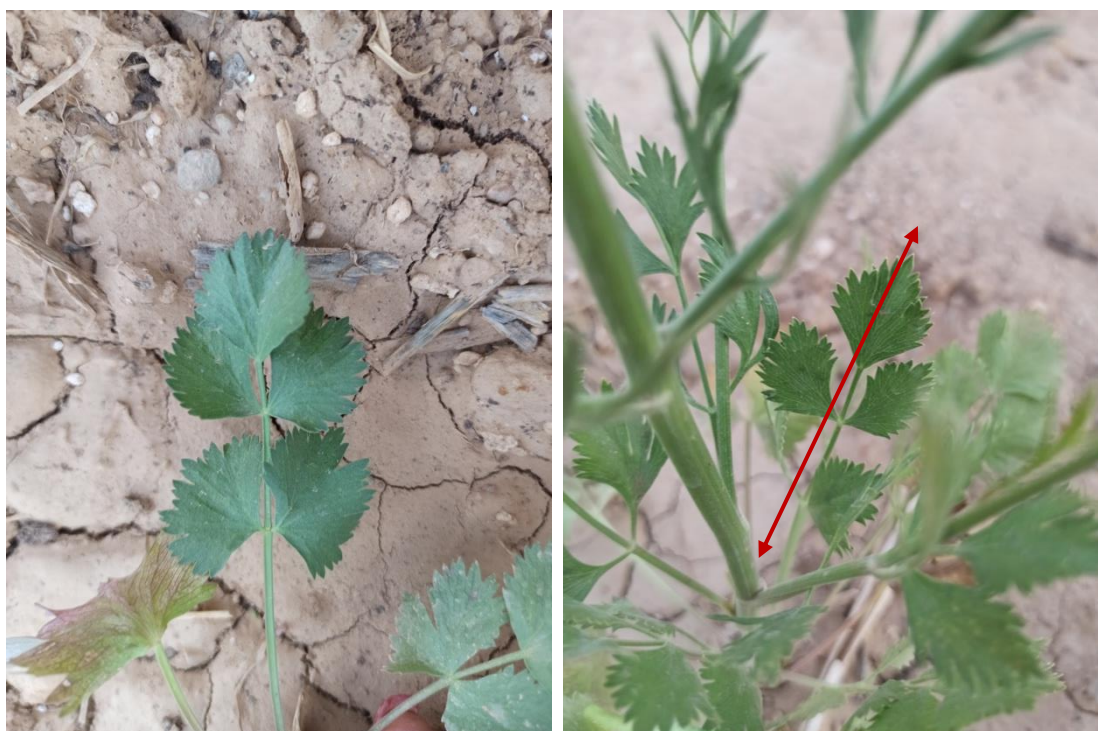
Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ποικιλία	7	100,99186	14,4274	8,5932	0,0004*
Block	2	6,48363	3,2418	1,9309	0,1817
Error	14	23,50510	1,6789		
C. Total	23	130,98060			

Connecting Letters Report

Level		Mean
Ποικιλία 8 (Επανομή)	A	9,9333333
Ποικιλία 2 (Ελληνική)	B	7,1033333
Ποικιλία 1 (Ιταλική)	B C	5,1333333
Ποικιλία 3 (Γαλλική)	B C D	4,8666667
Ποικιλία 4 (Β. Εύβοια)	C D	4,5833333
Ποικιλία 6 (Λέσβος)	C D	4,5333333
Ποικιλία 7 (Χίος)	C D	4,4166667
Ποικιλία 5 (Λήμνος)	D	2,6666667

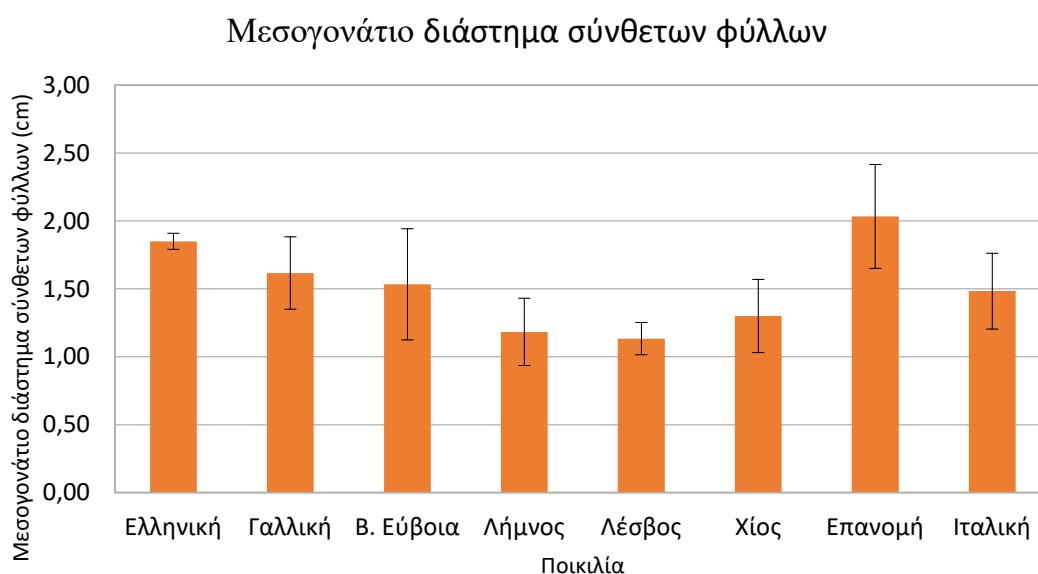
Πίνακες 3.1.12-3.1.13 Στατιστικά αποτελέσματα για το μήκος σύνθετων φύλλων



Εικόνες 3.1.5-3.1.6: Περιγραφητής μήκος σύνθετων φύλλων

Μεσογονάτιο διάστημα σύνθετων φύλλων

Κατά τη διάρκεια του πειράματος παρατηρηθήκαν διαφορές ανάμεσα στα φυτά στο τμήμα του βλαστού που βρίσκεται ανάμεσα στα δύο διαδοχικά γονάτια. Ο περιγραφητής του μεσογονάτιου διαστήματος προστέθηκε σε πιο ώριμο στάδιο του φυτού όπου τα σύνθετα φύλλα είχαν αναπτυχθεί πλήρως. Η μηδενική υπόθεση ως προς αυτό το χαρακτηριστικό απορρίπτεται. Οι μεγαλύτερες μέσες τιμές καταγράφηκαν στην Επανομή, Ελληνική και Γαλλική ποικιλία.



Διάγραμμα 3.1.5: Ραβδόγραμμα μέσων τιμών και γραμμών σφαλμάτων του μεσογονάτιου διαστήματος σύνθετων φύλλων/ποικιλία

Ποικιλία	Μέσος Όρος (cm)	Τυπική Απόκλιση
Ελληνική	1,85	0,06
Γαλλική	1,62	0,27
Β. Εύβοια	1,53	0,41
Λήμνος	1,18	0,25
Λέσβος	1,13	0,12
Χίος	1,30	0,27
Επανομή	2,03	0,38
Ιταλική	1,48	0,28

Πίνακας 3.1.14 Πίνακας μέσων όρων, τυπικών αποκλίσεων ανά ποικιλία

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ποικιλία	7	2,0833333	0,297619	3,3916	0,0247*
Block	2	0,9114583	0,455729	5,1933	0,0206*
Error	14	1,2285417	0,087753		
C. Total	23	4,2233333			

Connecting Letters Report

Level		Mean
Ποικιλία 8 (Επανομή)	A	2,0333333
Ποικιλία 2 (Ελληνική)	A B	1,8500000
Ποικιλία 3 (Γαλλική)	A B C	1,6166667
Ποικιλία 4 (Β. Εύβοια)	A B C	1,5333333
Ποικιλία 1 (Ιταλική)	B C	1,4833333
Ποικιλία 7 (Χίος)	C	1,3000000
Ποικιλία 5 (Λήμνος)	C	1,1833333
Ποικιλία 6 (Λέσβος)	C	1,1333333

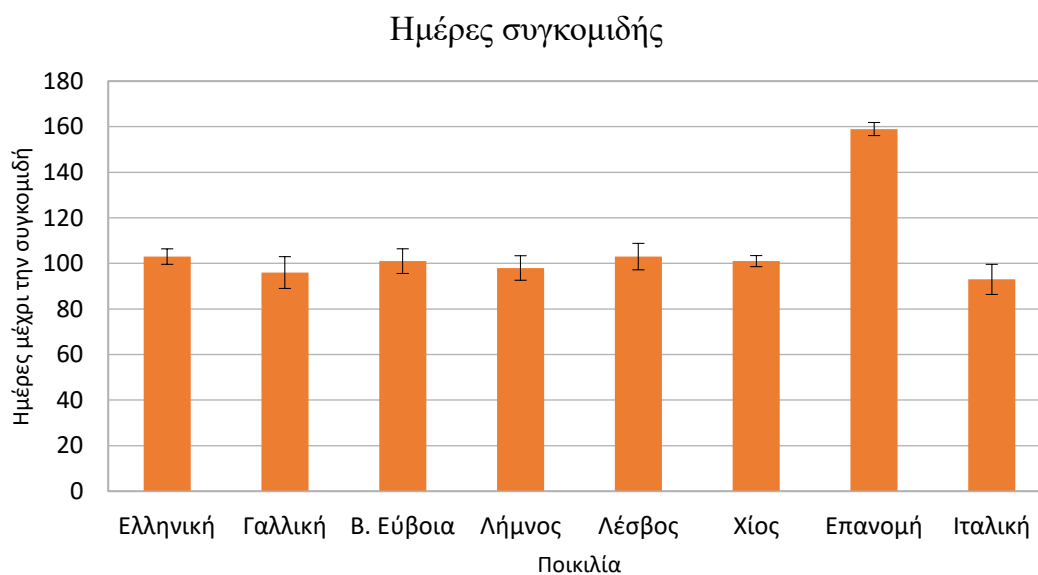
Πίνακες 3.1.15-3.1.16 Στατιστικά αποτελέσματα για το μεσογονάτιο διάστημα σύνθετων φύλλων



Εικόνες 3.1.7: Διαφορές περιγραφική μήκους μεσογονάτιου διαστήματος

Ημέρες Συγκομιδής

Οι ημέρες συγκομιδής καταγράφηκαν από τη μέρα της σποράς μέχρι τη μέρα που το φυτό συγκομίστηκε. Η συγκομιδή έγινε μόλις τα φυτά είχαν αποξηραθεί τελείως στο χωράφι αφού είχαν τοποθετηθεί σακούλες στις ταξιανθίες για να μην πέσουν οι σπόροι στο έδαφος (Εικόνα 3.8). Τα φυτά της ποικιλίας της Επανομής συγκομίστηκαν τελευταία επομένως εμφανίζει τη μεγαλύτερη μέση τιμή.



Διάγραμμα 3.1.6: Ραβδόγραμμα μέσων τιμών και γραμμών σφαλμάτων των ημερών συγκομιδής/ ποικιλία.

Ποικιλία	Μέσος Όρος (cm)	Τυπική Απόκλιση
Ελληνική	103	3,38
Γαλλική	96	6,97
Β. Εύβοια	101	5,41
Λήμνος	98	5,37
Λέσβος	103	5,82
Χίος	101	2,43
Επανομή	159	2,88
Ιταλική	93	6,62

Πίνακας 3.1.17 Πίνακας μέσων όρων, τυπικών αποκλίσεων ανά ποικιλία

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ποικιλία	7	9561,292	1365,90	45,4939	<,0001*
Block	2	133,000	66,50	2,2149	0,1460
Error	14	420,333	30,02		
C. Total	23	10114,625			

Connecting Letters Report

Level		Mean
Ποικιλία 8 (Επανομή)	A	159,00000
Ποικιλία 2 (Ελληνική)	B	103,33333
Ποικιλία 6 (Λέσβος)	B C	102,66667
Ποικιλία 7 (Χίος)	B C	101,33333
Ποικιλία 4 (Β. Εύβοια)	B C	101,00000
Ποικιλία 5 (Λήμνος)	B C	98,33333
Ποικιλία 3 (Γαλλική)	B C	96,00000
Ποικιλία 1 (Ιταλική)	C	93,33333

Πίνακες 3.1.18-3.1.19 Στατιστικά αποτελέσματα για τις ημέρες συγκομιδής.

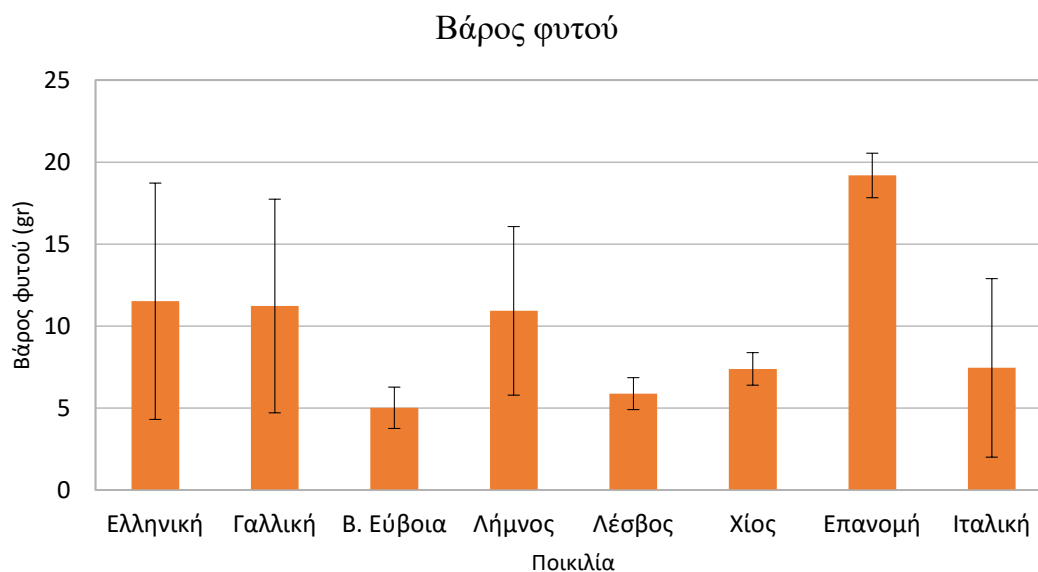


Εικόνα 3.1.8(a): Το φυτό έτοιμο για συγκομιδή

Εικόνα 3.1.8(b): Το φυτό μετά τη συγκομιδή

Βάρος ολόκληρου φυτού

Διαφορές παρατηρήθηκαν και στο βάρος ολόκληρου του φυτού. Κάθε φυτό μετρήθηκε σε ζυγαριά ακριβείας στο χώρο του εργαστηρίου αφού αφαιρέθηκαν και καθαρίστηκαν στερεά υλικά όπως πέτρες και χώματα. Το μεγαλύτερο βάρος φυτού όπως φαίνεται και στο ραβδόγραμμα εμφάνισαν οι εξής ποικιλίες: Επανομή, Ελληνική, Γαλλική και Λήμνος, ενώ η Β. Εύβοια εμφάνισε τη μικρότερη τιμή.



Διάγραμμα 3.1.7: Ραβδόγραμμα μέσων τιμών και γραμμών σφαλμάτων του βάρους φυτού/ ποικιλία.

Ποικιλία	Μέσος Όρος (cm)	Τυπική Απόκλιση
Ελληνική	11,52	7,21
Γαλλική	11,22	6,52
Β. Εύβοια	5,02	1,26
Λήμνος	10,93	5,14
Λέσβος	5,88	0,97
Χίος	7,39	0,99
Επανομή	19,18	1,36
Ιταλική	7,45	5,44

Πίνακας 3.1.20 Πίνακας μέσων όρων, τυπικών αποκλίσεων ανά ποικιλία

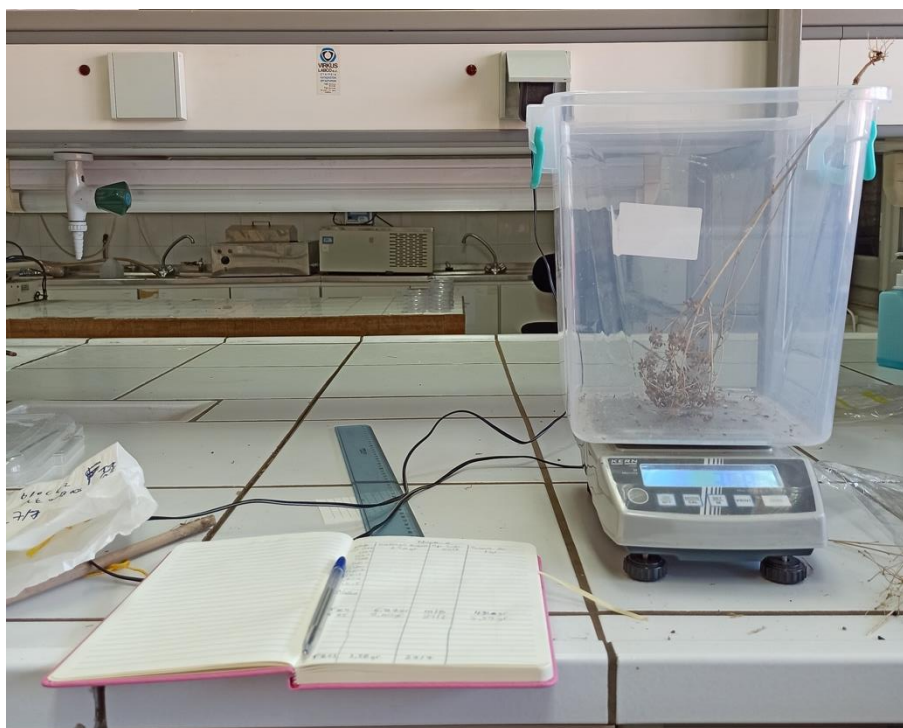
Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Ποικιλία	7	431,67253	61,6675	2,7705	0,0496*
Block	2	64,48051	32,2403	1,4484	0,2681
Error	14	311,62480	22,2589		
C. Total	23	807,77785			

Connecting Letters Report

Level		Mean
Ποικιλία 8 (Επανομή)	A	19,183333
Ποικιλία 2 (Ελληνική)	A B	11,515000
Ποικιλία 3 (Γαλλική)	A B	11,223333
Ποικιλία 5 (Λήμνος)	A B	10,926667
Ποικιλία 1 (Ιταλική)	B	7,448333
Ποικιλία 7 (Χίος)	B	7,386667
Ποικιλία 6 (Λέσβος)	B	5,876667
Ποικιλία 4 (Β. Εύβοια)	B	5,018333

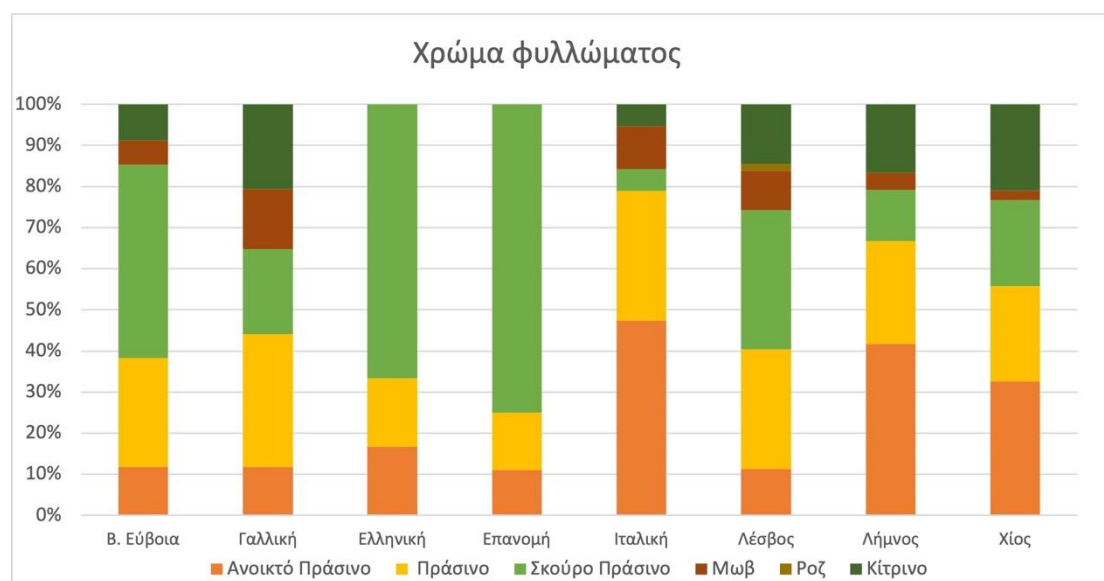
Πίνακες 3.1.21-3.1.22 Στατιστικά αποτελέσματα για το βάρος φυτών



Εικόνα 3.1.9 Καταγραφή καθαρού βάρους κάθε φυτού σε ζυγαριά ακριβείας στο χώρο του εργαστηρίου

3.3 Ποιοτικά μορφολογικά χαρακτηριστικά

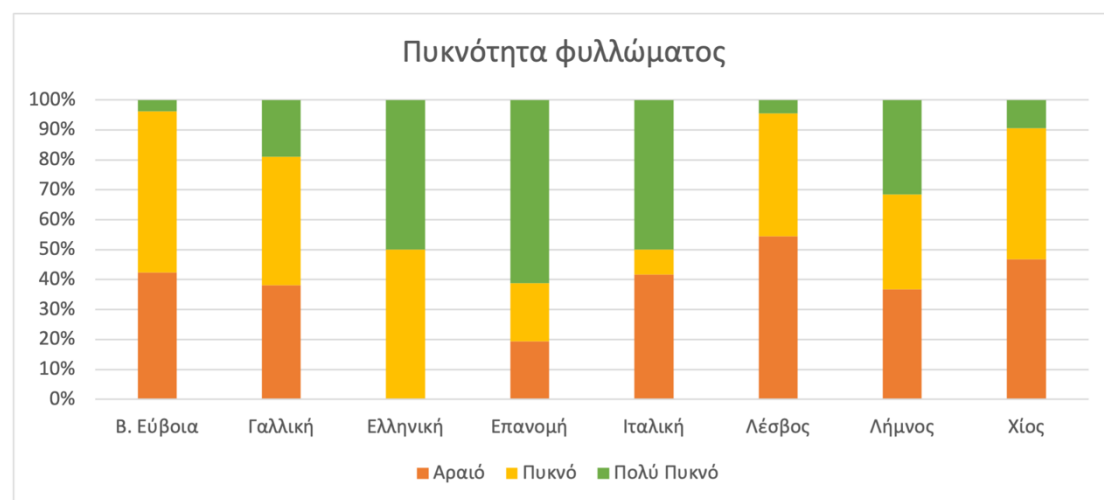
Χρώμα φυλλώματος



Διάγραμμα 3.2.1: Γράφημα χρώματος φυλλώματος

Όπως προκύπτει από το παραπάνω γράφημα μεγαλύτερο ποσοστό με ανοιχτό χρώμα φυλλώματος εμφάνισαν οι ποικιλίες Ιταλίας και Λήμιου με ίσο περίπου ποσοστό 40%. Παρατηρείται επίσης ότι η Ελληνική ποικιλία και η Επανομή εμφάνισαν τη μικρότερη ποικιλία χρωματισμών. Με μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης του πράσινου σκούρου χρώματος. Η ποικιλία της Λέσβου ήταν η μοναδική που εμφάνισε ροζ χρώμα φυλλώματος, ωστόσο αυτό το φαινόμενο παρατηρήθηκε μόνο σε ένα φυτό. Ο μωβ χρωματισμός παρατηρήθηκε σε μικρά ποσοστά σε όλες τις ποικιλίες.

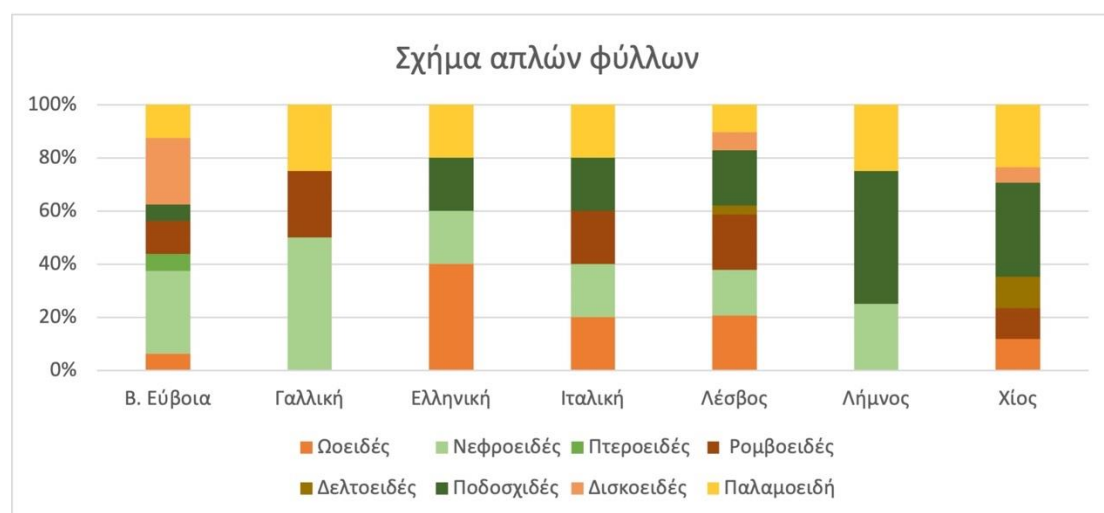
Πυκνότητα φυλλώματος



Διάγραμμα 3.2.2: Γράφημα πυκνότητας φυλλώματος

Σύμφωνα με το παραπάνω γράφημα υψηλότερο ποσοστό πολύ πυκνού φυλλώματος καταγράφηκε στις εξής ποικιλίες, Ελληνική, Επανομή, Ιταλική. Η ποικιλία της Λέσβου σημείωσε το μεγαλύτερο ποσοστό αραιού φυλλώματος, ενώ οι στις υπόλοιπες ποικιλίες δόθηκε το χαρακτηριστικό πυκνού φυλλώματος.

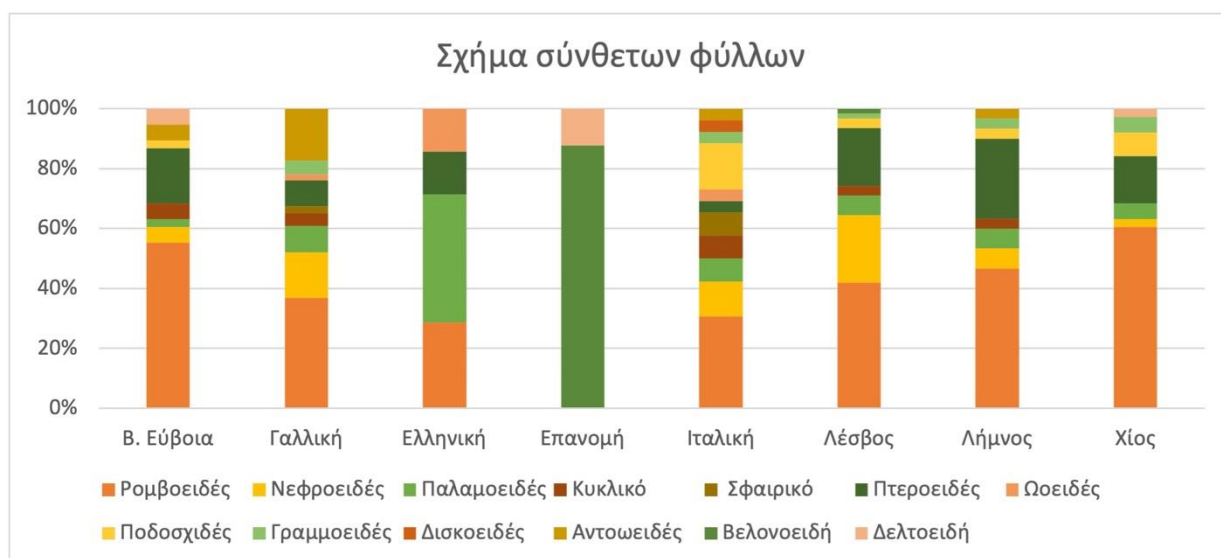
Σχήμα απλών φύλλων



Διάγραμμα 3.2.3: Γράφημα σχήματος απλών φύλλων

Το γράφημα εμφανίζει τη Γαλλική ποικιλία με το υψηλότερο ποσοστό νεφροειδούς σχήματος απλών φύλλων. Αντίθετα στη ποικιλία της Χίου δεν καταγράφηκε κανένα φυτό με νεφροειδές σχήμα απλών φύλλων. Ποδοσχιδές σχήμα παρατηρήθηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό στα φυτά της ποικιλίας της Λήμνου. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι η Λέσβος εμφάνισε τη μεγαλύτερη ποικιλομορφία σχημάτων απλών φύλλων μαζί με τη ποικιλία της Β. Εύβοιας. Ενώ την μικρότερη ποικιλομορφία εμφάνισαν οι εμπορική Γαλλική ποικιλία, εμπορική Ελληνική και η τοπική ποικιλία της Λήμνου.

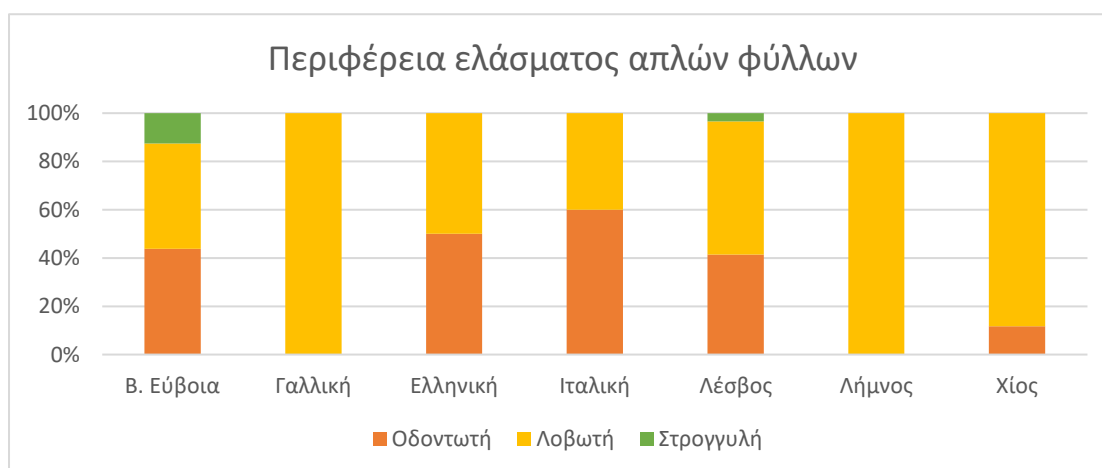
Σχήμα σύνθετων φύλλων



Διάγραμμα 3.2.4: Γράφημα σχήματος σύνθετων φύλλων

Το υψηλότερο ποσοστό παλαμοειδούς σχήματος σύνθετων φύλλων παρατηρείται στην Ελληνική εμπορική ποικιλία. Η ποικιλία της Επανομής εμφανίζει στο μεγαλύτερο πλήθος των φυτών βελονοειδές σχήμα καθώς είναι ποικιλία μάραθου σε σχέση με τις υπόλοιπες ποικιλίες γλυκάνισου. Παρόμοια χαρακτηριστικά ως προς το σχήμα σύνθετων φύλλων εμφανίζουν οι ποικιλίες Λέσβου, Λήμνου και Χίου. Στην Ιταλική ποικιλία παρατηρείται η μεγαλύτερη ποικιλομορφία σχημάτων σύνθετων φύλλων.

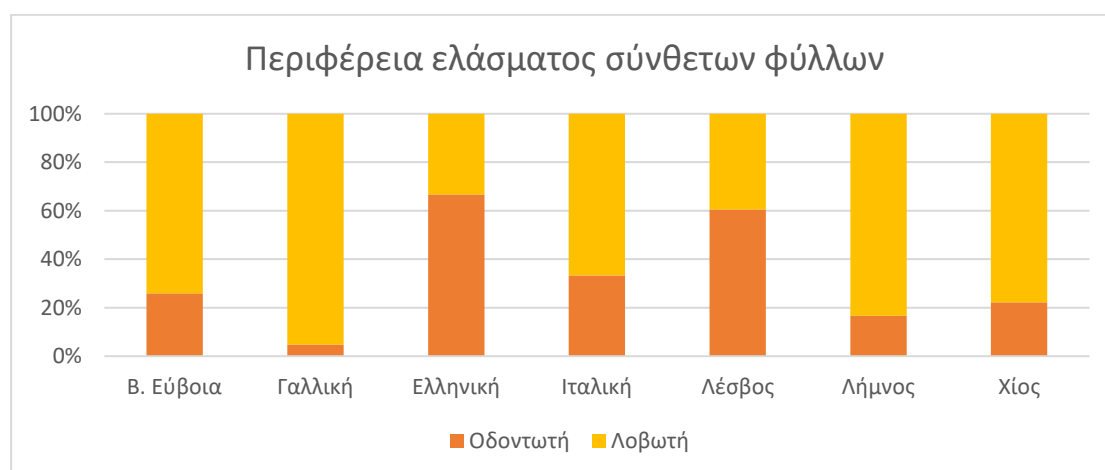
Περιφέρεια ελάσματος απλών φύλλων



Διάγραμμα 3.2.5: Γράφημα απεικόνισης περιφέρειας ελάσματος απλών

Όπως προκύπτει από το παραπάνω γράφημα η Γαλλική εμπορική ποικιλία και η τοπική ποικιλία της Λήμνου εμφάνισαν 100% λοβωτή περιφέρεια ελάσματος στα απλά φύλλα. Η Ελληνική και Ιταλική εμπορική ποικιλία εμφάνισαν δύο διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά λοβωτής και οδοντωτής περιφέρειας σε περίπου παρόμοιο ποσοστό. Τέλος η ποικιλία Β. Εύβοιας και Λέσβου εμφάνισαν και ένα μικρό ποσοστό στρογγυλής περιφέρειας ελάσματος.

Περιφέρεια ελάσματος σύνθετων φύλλων



Διάγραμμα 3.2.6: Γράφημα απεικόνισης περιφέρειας ελάσματος σύνθετων

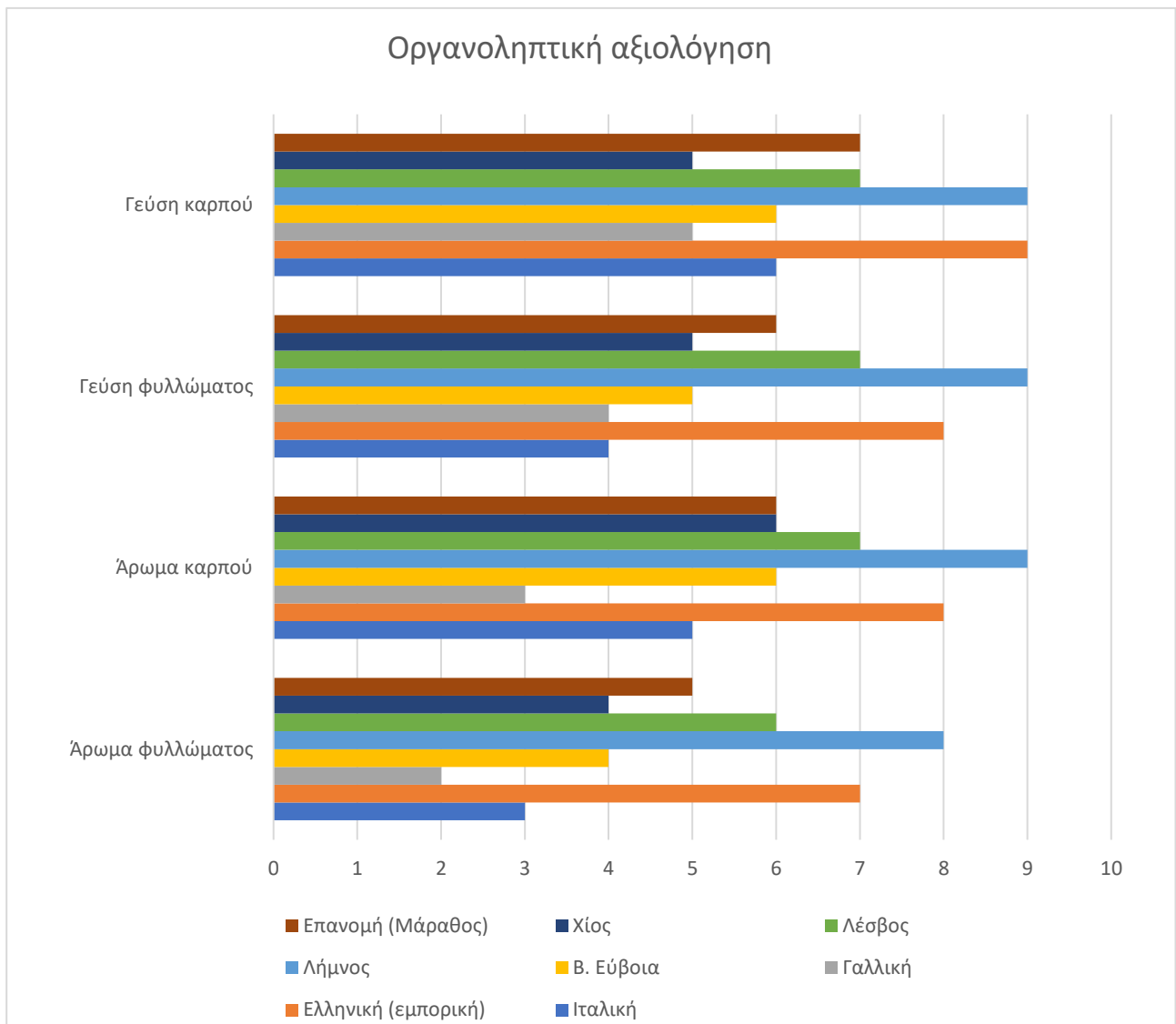
Σύμφωνα με το παραπάνω γράφημα παρόμοια ποιοτικά χαρακτηριστικά ως προς τη περιφέρεια ελάσματος σύνθετων φύλλων εμφάνισαν οι εξής ποικιλίες Ελληνική εμπορική και ποικιλία της Λέσβου με ποσοστό 60% οδοντωτή περιφέρεια και 40% λοβωτή. Παρόμοιες επίσης είναι της Β. Εύβοιας, Λήμνου και Χίου με ποσοστά 20% οδοντωτή περιφέρεια και 80% λοβωτή. Στη Γαλλική ποικιλία καταγράφηκαν τα υψηλότερα ποσοστά με λοβωτή περιφέρεια ελάσματος.

3.4 Οργανοληπτικά

Η οργανοληπτική αξιολόγηση αποσκοπεί στην κατηγοριοποίηση των τροφίμων μέσω της γεύσης, της μυρωδιάς, της υφής αλλά και της όψης. Το ερωτηματολόγιο (Π9) κατασκευάστηκε με στόχο την αξιολόγηση της γεύσης και της έντασης του αρώματος κάθε ποικιλίας γλυκάνισου. Εξετάστηκαν 8 ποικιλίες συνολικά από τις οποίες επτά ήταν γλυκάνισος και μία μάραθος. Τα χαρακτηριστικά που αξιολογήθηκαν ήταν γεύση καρπού, γεύση φυλλώματος, άρωμα καρπού, άρωμα φυλλώματος με κλίμακα από το 1 έως το 10. Ο αριθμός '1' αντιστοιχεί στον χαρακτηρισμό 'αδιάφορο' και το '10- πάρα πολύ έντονο' όπως φαίνεται στο Π9. Το ερωτηματολόγιο κατασκευάστηκε μέσω της google forms και στάλθηκε με ηλεκτρονικό μήνυμα στους συμμετέχοντες. Μέσω του προσωπικού του λογαριασμού, ο καθένας ξεχωριστά είχε τη δυνατότητα να συμπληρώσει τις απαντήσεις του, τη ίδια στιγμή της αξιολόγησης οι οποίες στη συνέχεια στάλθηκαν αυτόματα. Τα αποτελέσματα απεικονίζονται στο παρακάτω διάγραμμα. Συνοπτικά τα χαρακτηριστικά του καρπού και του φυλλώματος για κάθε ποικιλία εμφάνισαν διαφορές.

No	Περιοχή	Χωριό	Παραγωγός	Είδος
1	Λήμνος	Καμίνια	Δελλής Στέλιος	Γλυκάνισος
2	Βόρεια Εύβοια	Ιστιαία	Αϊβαλιώτης Γιώργος	Γλυκάνισος
3	Λέσβος	Λισβόρι	Προκοπίου Γιάννης	Γλυκάνισος
4	Χίος	Βουνό	-	Γλυκάνισος
5	Ιταλική (εμπορική)	-	-	Γλυκάνισος
6	Ελληνική (εμπορική)	-	-	Γλυκάνισος
7	Γαλλική (εμπορική)	-	-	Γλυκάνισος
8	Επανομή	Κωμόπολη	Ντονούτσιος Αντώνιος	Μάραθος

Πίνακας 3.2.1: Οι ποικιλίες που αξιολογήθηκαν με βάση τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά μέσω ερωτηματολογίου της google forms.

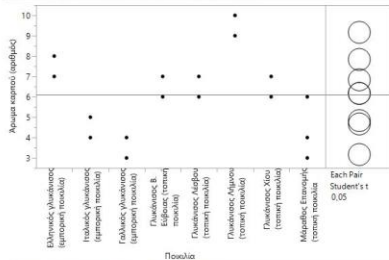


Διάγραμμα 3.3.1: Αποτελέσματα οργανοληπτικής αξιολόγησης από τις ποικιλίες που καλλιεργήθηκαν στον αγρό, με δεδομένα excel.

Η στατιστική ανάλυση των ερωτηματολογίων καθώς και οι τιμές της διαμέσου για κάθε οργανοληπτικό χαρακτηριστικό που αξιολογήθηκε με βάση τη κλίμακα των ερωτηματολογίων από το 1-10 απεικονίζεται παρακάτω.

Αρωμα καρπού

Oneway Analysis of Αρωμα καρπού (αριθμός) By Ποικιλία



Level	Count	Score Sum	Expected Score	Mean (Mean-Mean)/Std
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	6	233.500	147,000	8,9167
Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	6	74,000	147,000	12,3333
Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	6	29,000	147,000	4,8333
Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	6	146,000	147,000	24,3333
Γλυκάνισος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	6	190,000	147,000	31,6667
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	6	273,000	147,000	45,5000
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	6	146,000	147,000	24,3333
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	6	84,500	147,000	14,9167

1-Way Test, ChiSquare Approximation
 ChiSquare 42,6554 DF 7 Prob>ChiSq <.0001*

Nonparametric Comparisons For Each Pair Using Wilcoxon Method

Level	- Level	Score Mean Difference	Std Err Diff	Z	p-value	Hodges-Lehmann	Lower CL	Upper CL	Difference Plot
Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5,83333	1,93015	3,02149	0,0023*	1,00000	1,00000	2,00000	
Γλυκάνισος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5,83333	1,93015	3,02149	0,0023*	2,00000	1,00000	3,00000	
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5,83333	1,93015	3,02149	0,0023*	4,00000	3,00000	4,00000	
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5,83333	1,93015	3,02149	0,0023*	1,00000	1,00000	2,00000	
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5,83333	1,93015	3,02149	0,0023*	2,00000	2,00000	3,00000	
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5,83333	1,93015	3,02149	0,0023*	6,00000	5,00000	7,00000	
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	5,83333	1,93015	3,02149	0,0023*	3,00000	2,00000	4,00000	
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	5,83333	1,93015	3,02149	0,0023*	2,00000	2,00000	3,00000	
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5,83333	1,93015	3,02149	0,0023*	1,00000	1,00000	2,00000	
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5,83333	1,93015	3,02149	0,0023*	3,00000	2,00000	4,00000	
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	3,83333	1,80998	2,11895	0,0341*	1,00000	0,00000	1,00000	
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	-3,33333	1,84537	-1,80524	0,0710	1,50000	0,00000	3,00000	
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	0,00000	1,34840	0,00000	1,0000	0,00000	-1,00000	1,00000	
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	0,00000	1,98479	0,00000	1,0000	0,50000	-2,00000	1,00000	
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	-3,33333	1,74512	-1,91008	0,0561	-1,50000	-3,00000	0,00000	
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	-3,33333	1,74512	-1,91008	0,0561	-1,50000	-3,00000	0,00000	
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	-3,33333	1,80998	-2,11895	0,0341*	-1,00000	-1,00000	0,00000	
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5,00000	1,87029	-2,67281	0,0073*	-1,00000	-2,00000	0,00000	
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5,23255	1,95513	-2,71322	0,0067*	-1,50000	-4,00000	-1,00000	
Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5,66667	1,92687	-2,94115	0,0033*	-2,00000	-2,00000	-1,00000	
Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5,66667	1,92687	-2,94115	0,0033*	-2,00000	-2,00000	-1,00000	
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5,66667	1,92687	-2,94115	0,0033*	-2,00000	-2,00000	-1,00000	
Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5,83333	1,93015	-3,02149	0,0023*	-3,00000	-4,00000	-2,00000	
Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5,83333	1,93015	-3,02149	0,0023*	-5,00000	-5,00000	-4,00000	
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	-5,83333	1,93015	-3,02149	0,0023*	-3,00000	-4,00000	-2,00000	
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5,83333	1,98804	-2,93338	0,0034*	-4,50000	-5,00000	-2,00000	
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	-5,83333	1,98804	-2,93338	0,0034*	-4,50000	-6,00000	-3,00000	

Means Comparisons

Comparisons for each pair using Student's t

Confidence Quantile

t 2,02108 Alpha 0,05

LSD Threshold Matrix

Level	Level	Difference	Std Err Diff	Lower CL	Upper CL	p-value
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-0,7644	0,5689	1,5689	2,356	0,9022
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	0,5689	-0,7644	0,2356	2,356	0,9022
Γλυκάνισος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1,5689	0,2356	-0,7644	1,2356	0,9022
Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	2,356	0,9022	-0,9078	-0,7644	0,5689
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	2,356	0,9022	-0,9078	-0,7644	0,5689
Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1,5689	0,2356	-0,7644	1,2356	0,9022
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	3,7356	2,4022	1,4022	0,7356	0,5689
Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5,2356	3,9022	2,9022	2,356	0,5689

Positive values show pairs of means that are significantly different.

Connecting Letters Report

Level	Mean
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	A 9,166667
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	B 7,833333
Γλυκάνισος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	C 6,833333
Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	C 6,166667
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	C 6,166667
Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	D 4,833333
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	D 4,666667
Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	E 3,166667

Levels not connected by same letter are significantly different.

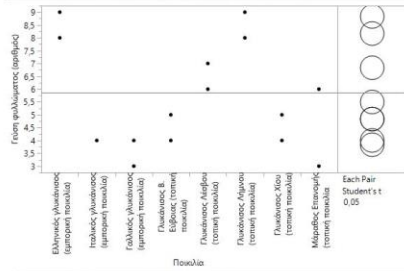
Ordered Differences Report

Level	Level	Difference	Std Err Diff	Lower CL	Upper CL	p-value
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	6,00000	0,3782269	5,23558	6,764425	<.0001*
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	4,66667	0,3782269	3,90224	5,431092	<.0001*
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	4,50000	0,3782269	3,73558	5,264425	<.0001*
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	4,33333	0,3782269	3,56891	5,097758	<.0001*
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	3,66667	0,3782269	2,90224	4,431092	<.0001*
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	3,16667	0,3782269	2,40224	3,931092	<.0001*
Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	3,00000	0,3782269	2,23558	3,764425	<.0001*
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	3,00000	0,3782269	2,23558	3,764425	<.0001*
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	3,00000	0,3782269	2,23558	3,764425	<.0001*
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	3,00000	0,3782269	2,23558	3,764425	<.0001*
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	2,33333	0,3782269	1,56891	3,097758	<.0001*
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	2,16667	0,3782269	1,40224	2,931092	<.0001*
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	2,00000	0,3782269	1,23558	2,764425	<.0001*
Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1,66667	0,3782269	0,90224	2,431092	<.0001*
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	1,66667	0,3782269	0,90224	2,431092	<.0001*
Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1,50000	0,3782269	0,73558	2,264425	<.0001*
Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	1,50000	0,3782269	0,73558	2,264425	<.0001*
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	1,50000	0,3782269	0,73558	2,264425	<.0001*
Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1,33333	0,3782269	0,56891	2,097758	0,0111*
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1,33333	0,3782269	0,56891	2,097758	0,0111*
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1,00000	0,3782269	0,33558	1,764425	0,0111*
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	0,66667	0,3782269	-0,09776	1,431092	0,056
Γλυκάνισος Αλφειού (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	0,66667	0,3782269	-0,09776	1,431092	0,056
Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Μαραθός Έσπερος (τοπική ποικιλία)	0,16667	0,3782269	-0,59776	0,931092	0,6618
Γλυκάνισος Κίου (τοπική ποικιλία)	Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	0,00000	0,3782269	-0,764425	1,00000	

Missing Rows 951

Γεύση φυλλώματος

Oneway Analysis of Γεύση φυλλώματος (αριθμός) By Ποικιλία



Level	Count	Score Sum	Expected Score Mean (Mean-Mean0/Std0)
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	6	243,000	147,000
Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	6	54,000	147,000
Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	6	46,500	147,000
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	6	111,500	147,000
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	6	198,500	147,000
Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	6	267,000	147,000
Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	6	111,500	147,000
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	6	144,000	147,000

1-Way Test, ChiSquare Approximation
ChiSquare DF Prob>ChiSq
41.9215

Nonparametric Comparisons For Each Pair Using Wilcoxon Method

Level	- Level	Score Mean	Std Err Diff	Z	p-Value	Hodges-Lehmann	Lower CL	Upper CL	Difference Plot
Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5.83333	1.870229	3.11825	0.0018*	3.00000	2.00000	3.00000	
Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5.83333	1.930615	3.02149	0.0023*	3.00000	2.00000	4.00000	
Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5.83333	1.930615	3.02149	0.0023*	2.00000	1.00000	3.00000	
Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	5.83333	1.870229	3.11825	0.0018*	5.00000	4.00000	5.00000	
Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	5.83333	1.930615	3.02149	0.0023*	5.00000	4.00000	6.00000	
Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	5.83333	1.930615	3.02149	0.0023*	4.00000	3.00000	5.00000	
Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	5.83333	1.930615	3.02149	0.0023*	2.00000	1.00000	3.00000	
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5.00000	1.870229	2.67261	0.0075*	1.00000	0.00000	2.00000	
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5.00000	1.870229	2.67261	0.0075*	1.00000	0.00000	2.00000	
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	4.83333	1.783765	2.70962	0.0067*	1.00000	0.00000	1.00000	
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	4.83333	1.783765	2.70962	0.0067*	1.00000	0.00000	1.00000	
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	4.83333	1.783765	2.70962	0.0067*	1.00000	0.00000	1.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	4.00000	1.924667	2.07610	0.0373*	2.00000	-1.00000	3.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	3.83333	1.809968	2.11895	0.0341*	1.00000	0.00000	1.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	3.83333	1.870229	2.04900	0.0405*	2.00000	-1.00000	2.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	3.83333	1.930615	1.98555	0.0471*	1.00000	-2.00000	2.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	3.83333	1.930615	1.98555	0.0471*	1.00000	-2.00000	2.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	0.00000	1.348400	0.00000	1.00000	0.00000	-1.00000	1.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	-0.83333	1.000000	-0.83333	0.4047	0.00000	-1.00000	0.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5.00000	1.870229	-2.67261	0.0075*	-1.00000	-4.00000	0.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5.83333	1.870229	-3.11825	0.0018*	-4.00000	-5.00000	-4.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5.83333	1.930615	-3.02149	0.0023*	-4.00000	-5.00000	-4.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	-5.83333	1.930615	-3.02149	0.0023*	-3.00000	-4.00000	-3.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Αιθίου (εμπορική ποικιλία)	-5.83333	1.930615	-3.02149	0.0023*	-1.00000	-2.00000	-1.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	-5.83333	1.930615	-3.02149	0.0023*	-2.00000	-3.00000	-1.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	-5.83333	1.930615	-3.02149	0.0023*	-4.00000	-5.00000	-3.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	-5.83333	1.930615	-3.02149	0.0023*	-2.00000	-5.00000	-2.00000	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	-5.83333	1.930615	-3.02149	0.0023*	-3.00000	-6.00000	-2.00000	

Means Comparisons

Comparisons for each pair using Student's t

Confidence Quantile	t	Alpha
2.02108	0.05	

LSD Threshold Matrix										
Abs(Diff)-LSD										
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)		
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	0.0144	-0.6523	0.6810	2.6810	2.0144	2.6810	2.6810	3.5144	3.6810	
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	1.3477	0.6810	-0.6523	0.6810	1.3477	1.3477	0.6810	2.1810	2.3477	
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	2.6810	2.6810	2.6810	2.6810	2.6810	2.6810	2.6810	2.6810	2.6810	
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	3.3477	2.6810	1.3477	1.3477	0.0144	-0.6523	-0.6523	0.1810	0.3477	
Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	3.3477	2.6810	1.3477	1.3477	0.0144	-0.6523	-0.6523	0.1810	0.3477	
Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	4.1810	3.5144	2.1810	0.8477	0.1810	0.1810	-0.6523	-0.4856	-0.4856	
Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	4.3477	3.6810	2.3477	1.0144	0.3477	0.3477	-0.4856	-0.6523	-0.6523	

Positive values show pairs of means that are significantly different.

Connecting Letters Report

Level	Mean
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	A 8.833333
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	B 8.166667
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	C 8.833333
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	D 5.500000
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	E 4.833333
Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	E 4.833333
Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	F 4.000000
Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	F 3.833333

Levels not connected by same letter are significantly different.

Ordered Differences Report

Level	- Level	Difference	Std Err Diff	Lower CL	Upper CL	p-Value
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	5.000000	0.3227486	4.34770	5.652299	<.0001*
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	4.833333	0.3227486	4.18103	5.485633	<.0001*
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	4.333333	0.3227486	3.68103	4.985633	<.0001*
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	4.166667	0.3227486	3.51437	4.818966	<.0001*
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	4.000000	0.3227486	3.47770	4.652299	<.0001*
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	4.000000	0.3227486	3.47770	4.652299	<.0001*
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	3.333333	0.3227486	2.68103	3.985633	<.0001*
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	3.333333	0.3227486	2.68103	3.985633	<.0001*
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	3.333333	0.3227486	2.68103	3.985633	<.0001*
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	3.000000	0.3227486	2.34770	3.652299	<.0001*
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	2.833333	0.3227486	2.18103	3.485633	<.0001*
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	2.666667	0.3227486	2.01437	3.318966	<.0001*
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	2.000000	0.3227486	1.34770	2.652299	<.0001*
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	2.000000	0.3227486	1.34770	2.652299	<.0001*
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Χίου (τοπική ποικιλία)	2.000000	0.3227486	1.34770	2.652299	<.0001*
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1.666667	0.3227486	1.01437	2.318966	<.0001*
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1.500000	0.3227486	0.84770	2.152299	<.0001*
Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Γκιανόσος Λέσβου (τοπική ποικιλία)	1.333333	0.3227486	0.68103	1.985633	0.0002*
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	1.333333	0.3227486	0.68103	1.985633	0.0002*
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1.000000	0.3227486	0.34770	1.652299	0.0039*
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	1.000000	0.3227486	0.34770	1.652299	0.0039*
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Αιθίου (εμπορική ποικιλία)	0.833333	0.3227486	0.18103	1.485633	0.0139*
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Χίου (εμπορική ποικιλία)	0.833333	0.3227486	0.18103	1.485633	0.0139*
Γκιανόσος Αιθίου (τοπική ποικιλία)	Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	0.666667	0.3227486	0.01437	1.318966	0.0454*
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	0.666667	0.3227486	0.01437	1.318966	0.0454*
Μάρκοβος Επισκοπής (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Αιθίου (εμπορική ποικιλία)	0.666667	0.3227486	0.01437	1.318966	0.0454*
Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)	0.166667	0.3227486	-0.48563	0.189666	0.6084
Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	Γκιανόσος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)	0.000000	0.3227486	-0.65230	0.652299	1.0000

Missing Rows 951

3.5 Επικονιαστές στο γλυκάνισο

Κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας παρατηρήθηκαν διαφορετικά είδη επικονιαστών στα φυτά του γλυκάνισου. Κυρίως στις πιο αρωματικές ποικιλίες παρατηρήθηκαν επικονιαστές σε όλα τα μέρη του φυτού από το στέλεχος μέχρι τις ταξιανθίες. Η αναγνώριση των επικονιαστών έγινε από τον κ. Αντώνιο Τσαγκαράκη, στο εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας. Τα αποτελέσματα των δειγμάτων παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

Επικονιαστής	Φύλο
<i>Lestica clypeata</i>	αρσενικό
<i>Graphosoma semipunctatum</i>	-
<i>Glyptomorpha pectoralis</i>	θηλυκό
<i>Hylaeus variegatus</i>	αρσενικό
<i>Mordella aculeata</i>	-
Dasytinae	-

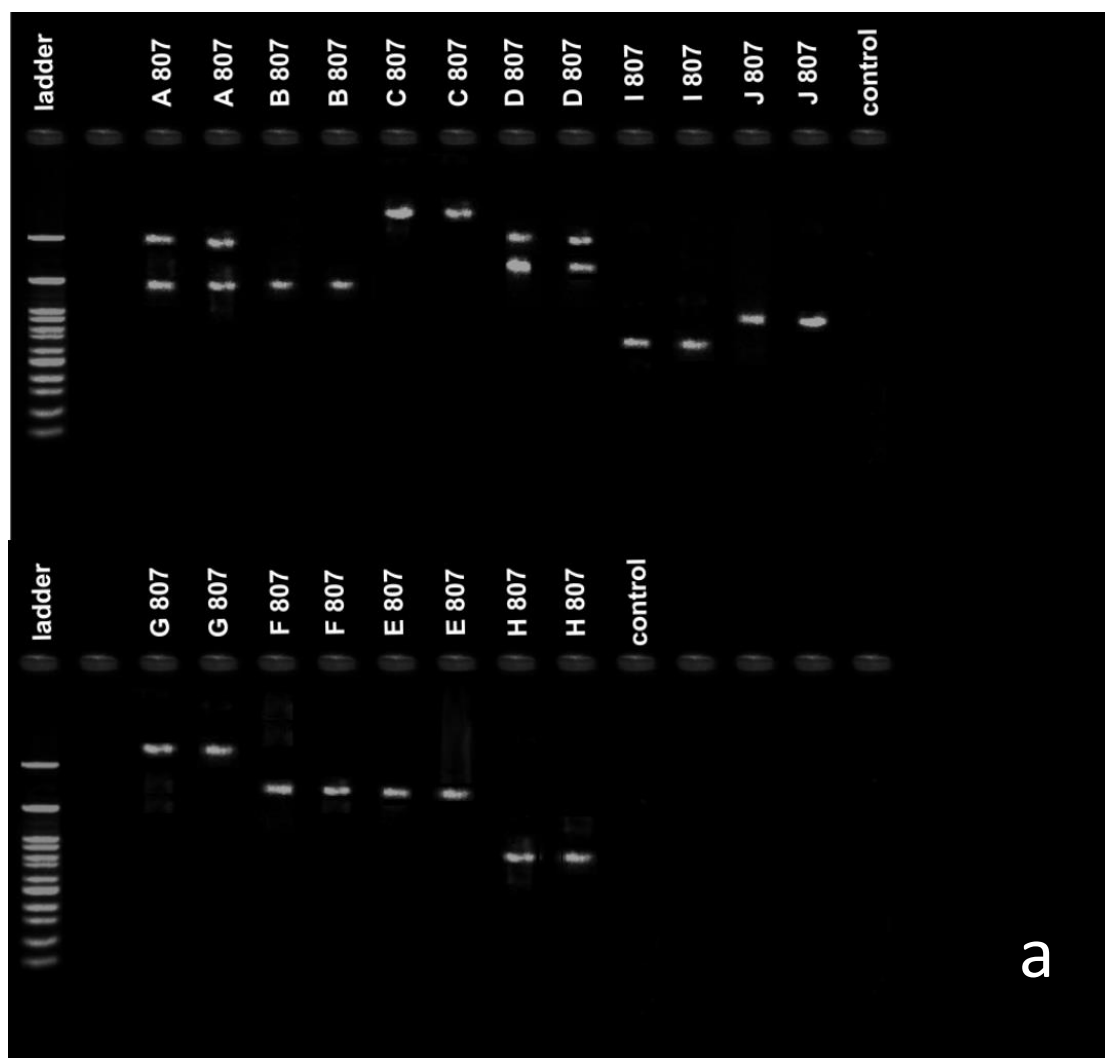
Πίνακας 3.4.1 Επικονιαστές που συλλέχθηκαν στον αγρό στα φυτά γλυκάνισου και μάραθου

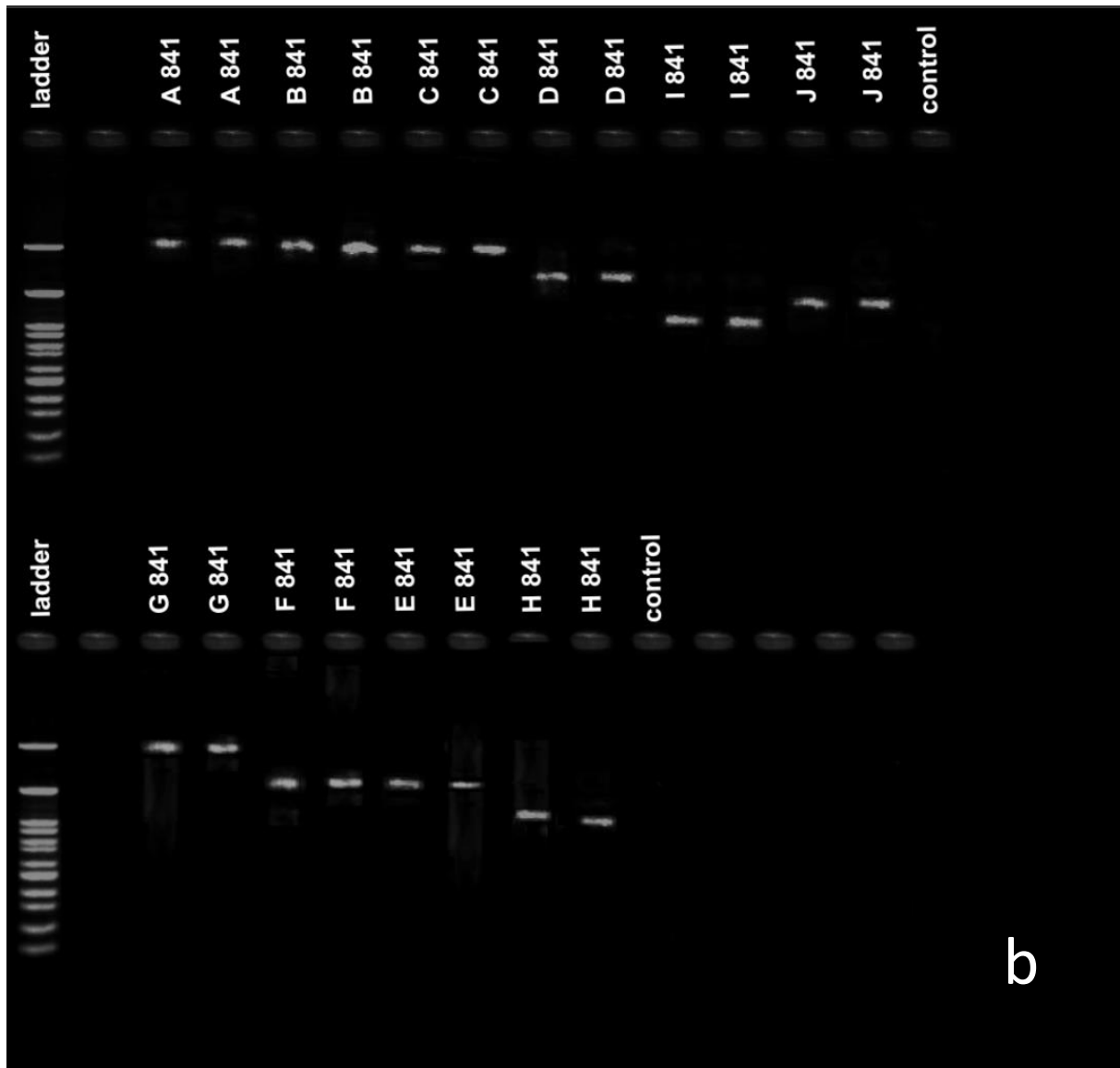


Εικόνες 3.4.1-3.4.6 Αναγνώριση επικονιαστών στο μικροσκόπιο στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας από τον κ. Αντώνιο Τσαγκαράκη.

3.6 Αποτελέσματα γενετικής ανάλυσης με χρήση ISSR δεικτών

Στην παρούσα μελέτη, μέσω της ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης, πραγματοποιήθηκε μελέτη των ενισχυμένων περιοχών των νουκλεϊκών οξέων διαφορετικών ποικιλιών γλυκάνισου και μάραθου, που προέκυψαν από τις πειραματικές διαδικασίες, με τη χρήση των ISSR δεικτών UBC807 και UBC841. Τα αποτελέσματα παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για τις διαφορετικές ποικιλίες του γλυκάνισου και μάραθου που καλλιεργούνται κυρίως στον ελλαδικό χώρο. Ακολουθεί η λεπτομερής ανάλυση των αποτελεσμάτων στη παράγραφο 4.4 **Μελέτη των μοριακών δεδομένων.**

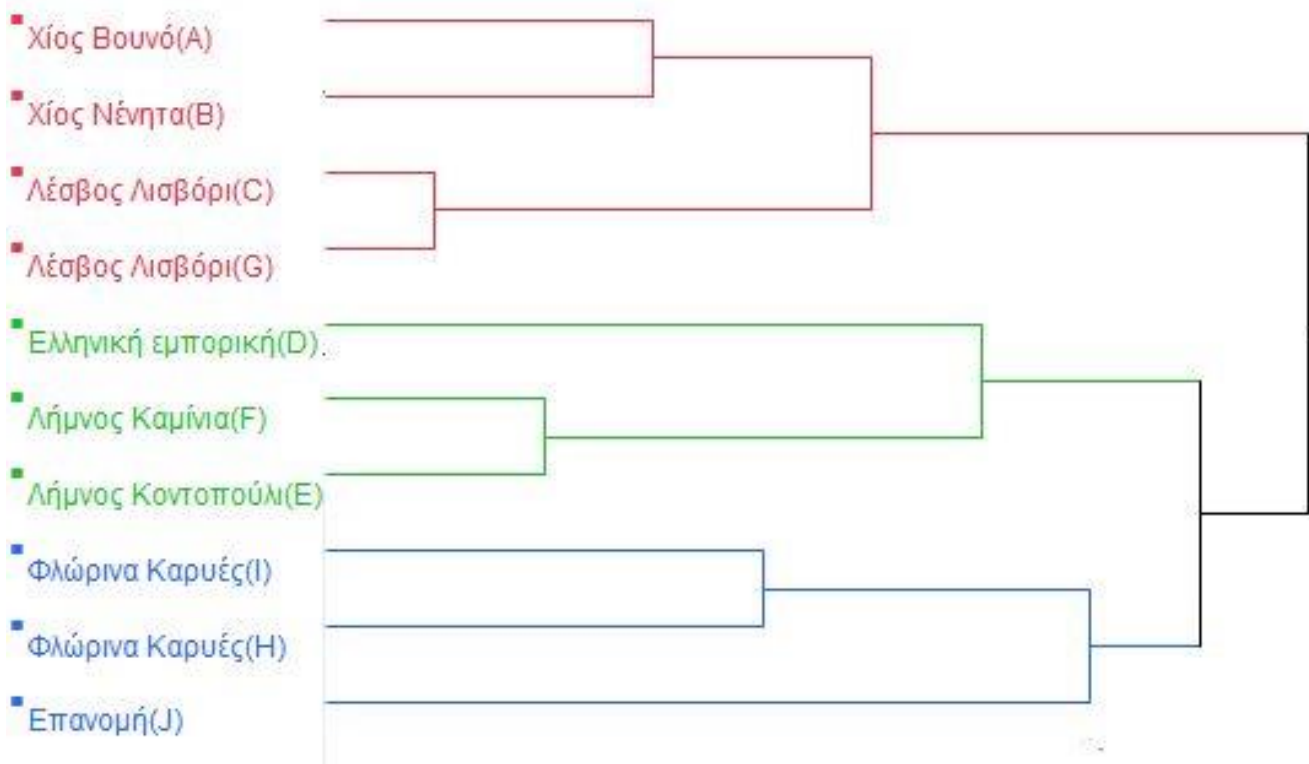




Εικόνες 3.5.1-3.5.2 Ηλεκτροφόρηση προϊόντων PCR έπειτα από χρήση των ISSR δεικτών (a) UBC807, (b) UBC841

Ποικιλία	Είδος	Κωδικός
Χίος Βουνό	<i>Pimpinella anisum</i>	A
Χίος Νένητα	<i>Pimpinella anisum</i>	B
Ελληνική εμπορική	<i>Pimpinella anisum</i>	D
Λέσβος Λισβόρι	<i>Pimpinella anisum</i>	C
Λέσβος Λισβόρι	<i>Pimpinella anisum</i>	G
Λήμνος Καμίνια	<i>Pimpinella anisum</i>	F
Λήμνος Κοντοπούλι	<i>Pimpinella anisum</i>	E
Φλώρινα Καρυές	<i>Foeniculum vulgare</i>	H
Φλώρινα Καρυές	<i>Foeniculum vulgare</i>	I
Επανομή	<i>Foeniculum vulgare</i>	J

Πίνακας 3.5.1 Βοηθητικός πίνακας με τις ποικιλίες που απεικονίζονται στις εικόνες 3.5.1-3.5.2



Δενδρόγραμμα 3.5.1 Δενδρόγραμμα που απεικονίζει τη γενετική συγγένεια των 10 ειδών γλυκάνισου και μάραθου.

4 Συζήτηση

Τα φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά, μελετώνται και χρησιμοποιούνται εδώ και πολλά χρόνια λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων των συστατικών τους. Η διασφάλιση της ποιότητας τους αποτελεί σημαντικό παράγοντα στο τομέα της φαρμακευτικής βιομηχανίας, γι' αυτό το λόγο η μελέτη των μορφολογικών τους χαρακτηριστικών σε συνδυασμό με την ανάπτυξη μοριακών αναλύσεων μπορούν να βοηθήσουν σε μία πιο ολοκληρωμένη κατανόηση της λειτουργίας τους. Η καταγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών ενός φυτικού οργανισμού όπως ο γλυκάνισος δίνει τη δυνατότητα στους ερευνητές να ταξινομήσουν και να αναγνωρίσουν με μεγαλύτερη ευκολία και ακρίβεια ένα συγκεκριμένο είδος. Επιπλέον, μπορούν να συγκρίνουν αγρο/μορφολογικά χαρακτηριστικά μεταξύ διαφορετικών ειδών με στόχο να προσδιορίσουν κοινά ή διαφορετικά γνωρίσματα. Η αξιολόγηση των φυτικών τμημάτων, με βάση τους περιγραφητές κάθε είδους οδηγεί τους ερευνητές σε συμπεράσματα που μπορεί να αφορούν τα στάδια ανάπτυξης ενός φυτού, την επιλογή των καταλληλότερων φυτών για βελτίωση μίας ποικιλίας με βάση τους φαινοτύπους. Η μελέτη των μορφολογικών και μοριακών χαρακτηριστικών των φαρμακευτικών, αρωματικών φυτών, όπως είναι ο γλυκάνισος επιτρέπει την αποτελεσματικότερη ταξινόμηση, καλλιέργεια, διαχείριση και διατήρηση αυτού του πολυσύνθετου φυτικού είδους.

4.1 Μελέτη αγρο/μορφολογικών χαρακτηριστικών γλυκάνισου

Οι τοπικές ποικιλίες του γλυκάνισου που μελετήθηκαν έδειξαν σε κάποια χαρακτηριστικά σημαντικές στατιστικές διαφορές ενώ σε άλλα όχι. Οι τιμές για το ύψος του φυτού στη παρούσα εργασία δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές, όλα τα φυτά κατά μέσο όρο έφτασαν (30-40cm) τη περίοδο της συγκομιδής ωστόσο παρατηρήθηκαν διαφορές στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης των φυτών. Οι τιμές για το ύψος σε άλλες μελέτες είχαν μεγάλη διαφορά με είδη να φτάνουν μέχρι και 60cm σε περίοδο συγκομιδής. Η ποικιλομορφία στο ύψος μπορεί να οφείλεται σε ποικίλους περιβαλλοντικούς παράγοντες, αλλά και στη γενετική ποικιλότητα. Η σύσταση του εδάφους, το κλίμα, οι καλλιεργητικές τεχνικές είναι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν το τελικό ύψος του φυτού. Τα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά του εδάφους καθώς και το μέτρο οξύτητας ή αλκαλικότητας, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην

ταχύτητα ανάπτυξης του φυτού. Ο γλυκάνισος ευδοκίμει σε εδάφη με ουδέτερο pH ενώ μπορεί να επιβιώσει και σε ελαφρώς πιο αλκαλικά εδάφη.

Οι στατιστικές αναλύσεις του πάχους στελέχους δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ποικιλίες του γλυκάνισου ωστόσο σε σχέση με την ποικιλία της Επανομής η οποία τελικά ήταν μάραθος είχε τη μεγαλύτερη διαφορά στο πάχος του στελέχους με τιμές να φτάνουν σχεδόν τα 2,5cm ενώ οι τιμές των ποικιλιών του γλυκάνισου κυμαίνονταν από 0,5-1cm. Η μέτρηση του πάχους στελέχους από τη βάση του φυτού παρέχει πληροφορίες για την δομή και το μέγεθος του φυτού. Παλαιότερες έρευνες για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό έδειξαν ότι το πάχος του στελέχους δεν παρουσιάζει πολύ μεγάλες διαφορές μεταξύ των ποικιλιών.

Οι τιμές στον αριθμό των σκιαδίων ανάμεσα στις ποικιλίες εμφάνισαν διαφορές ανάμεσα στις τοπικές και εμπορικές ποικιλίες. Παρατηρήθηκε ότι οι εμπορικές ποικιλίες είχαν τις υψηλότερες τιμές σκιαδίων με τις μεγαλύτερες τιμές να εμφανίζονται στη γαλλική ποικιλία. Οι τιμές κυμαίνονταν από 10-45 σκιάδια ανά φυτό. Από τις τοπικής προέλευσης, η ποικιλία της Χίου εμφάνισε τον μικρότερο αριθμό σκιαδίων (10 σκιάδια/φυτό). Έρευνες έχουν δείξει ότι ο αριθμός σκιαδίων εξαρτάται από τη ποσότητα του διαθέσιμου νερού στο έδαφος, επομένως από τη συχνότητα άδρευσης. Σε ξηρικές καλλιέργειες η τελική απόδοση του φυτού είναι μικρότερη. Παλαιότερες έρευνες έδειξαν τις επιπτώσεις διαθεσιμότητας νερού στην εμφάνιση ανθέων υπό ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκηπίου (Zehtab et al. 2001).

Το πλάτος των σκιαδίων ήταν ένα χαρακτηριστικό που εμφάνισε σημαντικές διαφορές, με τις μεγαλύτερες τιμές να παρατηρούνται στις τοπικές ποικιλίες της Χίου και Λέσβου καθώς και στον μάραθο Επανομής με τιμές να κυμαίνονται από 4,5-6 cm. Οι εμπορικές ποικιλίες όπως η γαλλική και ιταλική είχαν τις χαμηλότερες τιμές για το πλάτος σκιαδίων με 3-3,7cm. Παρόμοιες τιμές με τις εμπορικές ποικιλίες είχε η τοπική ποικιλία της Λήμνου. Το χαρακτηριστικό αυτό εξαρτάται από τη γενετική ποικιλότητα κάθε ποικιλίας. Το πλάτος του σκιαδίου εξαρτάται από τον αριθμό και τη διάταξη των ανθέων, όλα τα προαναφερόμενα χαρακτηριστικά αποτελούν γενετικής φύσης γνωρίσματα. Ωστόσο παίζουν ρόλο και μερικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η διάρκεια έκθεσης του φυτού στο ηλιακό φως, η θερμοκρασία, η γονιμότητα του εδάφους και η ποσότητα άρδευσης.

Σημαντικές στατιστικές διαφορές εμφάνισαν οι τιμές μήκους απλών και σύνθετων φύλλων, το μεγαλύτερο μήκος παρατηρήθηκε στην εμπορική ελληνική ποικιλία με τιμές από 4,3-6,5cm και οι μικρότερες τιμές στην εμπορική γαλλική ποικιλία και στη

ποικιλία του μάραθου Επανομής με τιμές από 1-3,5cm. Οι τοπικές ποικιλίες εμφάνισαν όλες ένα εύρος τιμής από 2,5-5,5cm. Το χαρακτηριστικό του μήκους απλών και σύνθετων φύλλων οφείλεται στη γονιδιακή έκφραση κάθε φυτού και ποικιλίας. Η μορφολογία του φύλλου και επομένως το τελικό μέγεθος του φύλλου μπορεί να συνδέεται άμεσα και με τα θρεπτικά συστατικά του εδάφους και τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής σποράς.

Αντιθέτως στη περίπτωση των σύνθετων φύλλων τα αποτελέσματα έδειξαν μεγαλύτερες τιμές για την τοπική ποικιλία της Επανομής με τιμές από 9-10cm, ενώ χαμηλότερες τιμές του μήκους σύνθετων φύλλων είχε η τοπική ποικιλία της Επανομής. Οι τοπικές ποικιλίες Λέσβος, Χίος, Β. Εύβοια είχαν στατιστικά παρόμοια δεδομένα με τιμές μήκους σύνθετων φύλλων 4-5cm. Τα γονίδια που σχετίζονται με την ανάπτυξη και το μέγεθος των φύλλων μπορεί να διαφέρουν σε διάφορα φυτά του ίδιου είδους λόγω της γενετικής τους ποικιλότητας αλλά και σε περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η έκθεση στον ήλιο. Τα φυτά που εκτίθενται σε πιο έντονο ηλιακό φως μπορεί να αναπτύξουν μικρότερου μήκους φύλλα για να μειώσουν την επιφάνεια εκπομπής υγρασίας και απώλειας νερού.

Το πλάτος κάθε φυτού δεν είχε σημαντικές στατιστικές διαφορές ωστόσο τις μεγαλύτερες τιμές εμφάνισε η γαλλική εμπορική ποικιλία και η τοπική ποικιλία της Λήμνου με τιμές 35-40cm. Αν συγκριθούν αυτά τα δεδομένα με τις τιμές ύψους φυτών φαίνεται ότι τα μεγέθη αυτά είναι ανάλογα. Οι ποικιλίες που είχαν το μεγαλύτερο ύψος φυτού είχαν και το μεγαλύτερο πλάτος φυτού.

Άλλος ένας περιγραφητής που εμφάνισε αξιοσημείωτες διαφορές είναι το μεσογονάτιο διάστημα σύνθετων φύλλων. Οι μικρότερες τιμές εμφανίζονται στις τοπικές ποικιλίες Λήμνου, Λέσβου, Χίου με τιμές 1-1,5cm μήκος μεσογονάτιου διαστήματος ενώ οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρούνται στην εμπορική ελληνική ποικιλία και ποικιλία μάραθου Επανομής με τιμές 1,6-2,8cm η οποία είχε και τα μεγαλύτερου μήκους σύνθετων φύλλων. Οι διαφορές στο μήκος μεσογονάτιου διαστήματος του ίδιου είδους μπορεί να οφείλονται σε γενετικούς παράγοντες οι οποίοι μπορούν να επηρεάσουν την ανάπτυξη και τη τελική δομή του φυτού. Τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη του μεσογονάτιου διαστήματος μπορεί να διαφέρουν από ποικιλία σε ποικιλία, προκαλώντας διαφορές στο τελικό μήκος. Εξωτερικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορεί να επηρεάσουν την ανάπτυξη των κυττάρων και επομένως την κυτταρική επιμήκυνση τους, με αποτέλεσμα την εμφάνιση διαφορών στο μήκος μεσογονάτιου διαστήματος.

Οι ημέρες συγκομιδής ήταν παρόμοιες σε όλες τις ποικιλίες γλυκάνισου εκτός από τον μάραθο Επανομής ο οποίος συγκομίστηκε τελευταίος μετά από 160 ημέρες από την ημέρα σποράς. Έχει βρεθεί ότι η πρώιμη ή πιο όψιμη συγκομιδή μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό τις αρωματικές και φαρμακευτικές ιδιότητες του γλυκάνισου (Abdulharib, 2009). Ο γλυκάνισος έχει διαφορετικό ρυθμό ανάπτυξης και μικρότερο κύκλο ζωής από τον μάραθο γι' αυτό το λόγο η συγκομιδή γίνεται σε προγενέστερα. Ωστόσο κάθε είδος αναπτύσσεται καλύτερα σε συγκεκριμένες συνθήκες ανάπτυξης και ωρίμανσης των καρπών και είναι πιθανό οι συνθήκες να ήταν ευνοϊκότερες για τα φυτά του γλυκάνισου. Μπορεί οι θερμοκρασίες, τα επίπεδα υγρασίας και φωτεινότητας να ήταν καλύτερα στη συγκεκριμένη τοποθεσία του πειράματος για τον γλυκάνισο απ' ότι για τον μάραθο.

Μετά τη περίοδο της συγκομιδής μετρήθηκε το συνολικό βάρος κάθε φυτού για κάθε ποικιλία. Τα αποτελέσματα εμφάνισαν υψηλότερες τιμές για τις εμπορικές ποικιλίες με εύρος τιμής 12-18gr ενώ η ποικιλία μάραθου Επανομής κατέγραψε τις μεγαλύτερες τιμές από όλες τις ποικιλίες γλυκάνισου με τιμές να φτάσουν μέχρι και τα 20gr συνολικού βάρους φυτών. Οι τοπικές ποικιλίες σημείωσαν τις χαμηλότερες τιμές βάρους με τιμές να φτάνουν από 2,5-15gr, τις υψηλότερες τιμές είχαν τα φυτά της ποικιλίας της Λήμνου. Όπως προαναφέρθηκε η απόδοση ενός φυτού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη περίοδο που θα γίνει η συγκομιδή, όμως μερικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν καθοριστικό ρόλο στη τελική απόδοση του φυτού. Μερικοί από αυτούς είναι η διαθεσιμότητα σε νερό, η σύσταση του εδάφους, η θερμοκρασία κυρίως τη περίοδο ανθοφορίας του φυτού. Το πιθανότερο είναι ότι για τα φυτά των τοπικών ποικιλιών οι συνθήκες του χωραφιού να μην ήταν ευνοϊκές για την ανάπτυξη των φυτών και τη παραγωγή σπόρων. Επιπλέον, η τελική δομή και ανάπτυξη κάθε φυτού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα γενετικά του γνωρίσματα. Σε ορισμένα φυτά υπάρχουν γονίδια υπεύθυνα που ενισχύουν την ανάπτυξη του ακόμα και σε όχι τόσο ευνοϊκές συνθήκες για το ίδιο το φυτό.

Τέλος υπολογίστηκε το καθαρό βάρος των σπόρων και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι από όλες τις ποικιλίες μεγαλύτερη απόδοση είχε η Λήμνος με τιμές από 3-11gr, ενώ από τις εμπορικές ποικιλίες η ελληνική είχε τις υψηλότερες τιμές μεταξύ των εμπορικών ποικιλιών με τιμές από 1-10gr. Οι υπόλοιπες ποικιλίες είτε εμπορικές είτε τοπικές είχαν παρόμοια αποτελέσματα με τιμές να φτάνουν μέχρι 8gr καθαρού βάρους σπόρων. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την αποδοτικότητα του φυτού, συγκεκριμένα τη ποσότητα παραγωγής

σπόρων. Εκτός από τους προαναφερόμενους περιβαλλοντικούς παράγοντες μπορεί να επηρεάσει τη παραγωγικότητα ενός φυτού και η δραστηριότητα των επικονιαστών τη περίοδο της ανθοφορίας. Φυτά με μεγαλύτερη παραγωγή γύρης θα αυξήσουν τη δραστηριότητα των επικονιαστών επομένως και την παραγωγή σπόρων. Ακόμη ένας σημαντικός περιβαλλοντικός παράγοντας μπορεί να είναι η αλληλοπάθεια, η ανταγωνιστικότητα μεταξύ των φυτών. Κατά τη διάρκεια της αλληλοπάθειας τα φυτά παράγουν και απελευθερώνουν χημικές ουσίες που μπορεί να εμποδίσουν την ανάπτυξη των γειτονικών φυτών (Harper, 1961).

4.2 Μελέτη οργανοληπτικών χαρακτηριστικών

Παρατηρώντας το διάγραμμα οργανοληπτικής ταξινόμησης, διαπιστώνεται ότι η γεύση σαν αίσθηση γίνεται πιο έντονα αντιληπτή σε σχέση με το άρωμα καρπού και φυλλώματος. Η αξιολόγηση ήταν υψηλότερη για όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν στη τοπική ποικιλία της Λήμονου, η οποία εμφάνισε και το μεγαλύτερο ποσοστό παραγωγής σπόρων. Η Λήμονος σημείωσε '8' για το άρωμα φυλλώματος δηλαδή χαρακτηρίστηκε ως έντονο άρωμα, '9' για το άρωμα καρπού δηλαδή πολύ έντονο, '9' για τη γεύση φυλλώματος και '9' για τη γεύση καρπού. Ενώ, από τις εμπορικές ποικιλίες μεγαλύτερη αξιολόγηση είχε η ελληνική εμπορική ποικιλία. Σε όλες τις ποικιλίες σημειώνεται ότι η γεύση και το άρωμα του καρπού ήταν πιο έντονα από τη γεύση και το άρωμα του φυλλώματος. Η αξιολόγηση έγινε με το σπάσιμο του καρπού και το τρίψιμο των φύλλων για την απελευθέρωση των αρωμάτων. Τις χαμηλότερες τιμές εμφάνισαν η εμπορική γαλλική ποικιλία με αξιολόγηση '2' για το άρωμα φυλλώματος, δηλαδή χαρακτηρίστηκε ως καθόλου έντονο, '3' για το άρωμα καρπού, '4' για τη γεύση φυλλώματος και '6' για τη γεύση καρπού με χαρακτηρισμό λίγο έντονο, από τις τοπικές ποικιλίες η Χίος σημείωσε '4' για το άρωμα φυλλώματος, '6' για το άρωμα καρπού, '5' για τη γεύση φυλλώματος και '5' για τη γεύση καρπού. Πρωτεύοντα ρόλο για την παραπάνω οργανοληπτική ταξινόμηση καταλαμβάνει η χημική σύνθεση κάθε ποικιλίας. Το πιο έντονο άρωμα οφείλεται στις πτητικές οργανικές ενώσεις κάθε φυτού, τα τερπενοειδή είναι μερικές από αυτές τις ενώσεις που έχουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη του φυτού ενώ αποτελούν συστατικά των κυτταρικών τους μεμβρανών. Επιπλέον το άρωμα στα ΦΑΦ σχετίζεται με τη ποσότητα αιθέριων ελαίων που παράγει κάθε φυτό κατά τη διάρκεια της ζωής του και αποτελούνται κυρίως από τερπένια. Η ποσότητα αιθέριων ελαίων που θα παράγει ένα

φυτό εξαρτάται από γενετικούς παράγοντες, αλλά και από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η υγρασία του περιβάλλοντος. Ορισμένα φυτά λόγω αμυντικών μηχανισμών παράγουν μεγαλύτερες ποσότητες αιθέριων ελαίων με αποτέλεσμα να έχουν και πιο έντονο άρωμα. Έρευνες έχουν δείξει ότι η περίοδος συγκομιδής σε διαφορετικά στάδια επηρεάζει τη ποσότητα και οργανική σύσταση των ελαίων, φυτά από όψιμη συγκομιδή εμφανίζουν μικρότερες ποσότητες συγκεκριμένων ελαίων ενώ φυτά που συγκομίσθηκαν τη σωστή περίοδο είχαν υψηλότερα ποσοστά αιθέριων ελαίων (Ahmed, 2017).

4.3 Επικονιαστές γλυκάνισου

Ο μεγαλύτερος αριθμός επικονιαστών παρατηρήθηκε στις ποικιλίες με τον υψηλότερο αριθμό σκιαδίων. Υψηλές τιμές είχαν οι ποικιλίες της Λήμνου και η Ελληνική εμπορική ποικιλία. Η χαμηλότερη δραστηριότητα επικονιαστών σημειώθηκε στις ποικιλίες Χίου και Β. Εύβοιας. Επιπλέον, φυτά που χαρακτηρίστηκαν με κλειστή διάταξη σκιαδίων εμφάνισαν μεγαλύτερη επισκεψιμότητα επικονιαστών καθώς είχαν μεγαλύτερη ποσότητα ανθέων. Επομένως εκτός από τον αριθμό των σκιαδίων καθοριστικό ρόλο διαδραματίζει και η δομή των ανθέων στο φυτό για τη προσέλκυση των επικονιαστών. Σε σύγκριση με τα οργανοληπτικά δεδομένα περισσότερους επικονιαστές προσελκύουν τα φυτά με τα πιο έντονα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά συνεπώς και τις περισσότερες πτητικές ενώσεις. Παρατηρήθηκε ότι επισκεψιμότητα των επικονιαστών αυξανόταν από τις 11:00π.μ. μέχρι και τις 3:00μ.μ. ενώ πολύ έντονη δραστηριότητα εμφάνισαν τα είδη *Lestica clypeata*, *Graphosoma semipunctatum* και *Hylaeus variegatus*. Μικρότεροι ήταν οι πληθυσμοί των *Mordella aculeata*, *Dasytinae* και *Glyptomorpha pectoralis*. Άλλα είδη που έχουν παρατηρηθεί σε φυτά γλυκάνισου κατά τη διάρκεια ανθοφορίας σε πολύ μεγάλη αφθονία είναι το είδος *Apis mellifera* με καταγεγραμμένη επισκεψιμότητα από τις 12:00μ.μ και 2:00 μ.μ. (Wahab et al.,2011). Ακόμη ένας παράγοντας που σηματοδοτεί στον αυξημένο αριθμό επικονιαστών είναι η δομή και διάταξη των ανθέων, αυτά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά μπορεί να είναι πιο εύκολα προσβάσιμα για συγκεκριμένα είδη εντόμων.

4.4 Μελέτη μοριακών δεδομένων

Οι ποικιλίες του γλυκάνισου και μάραθου που μελετήθηκαν με βάση τις μοριακές αναλύσεις συλλέχθηκαν από διαφορετικά μέρη της Ελλάδας από τις περιοχές της

Λέσβου, Λήμνου, Χίου, Επανομής, Φλώρινας ενώ ανάμεσα τους μελετήθηκε και μία ελληνική εμπορική ποικιλία γλυκάνισου. Ο DNA ladder ο οποίος αποτελείται συνολικά από 12 ζώνες με εύρος 100-3000 ζεύγη βάσεων, χρησιμοποιήθηκε ως αναφορά για την ανάλυση των μεγεθών των ενισχυμένων περιοχών. Όπως φαίνεται στις εικόνες της πηκτής στη παράγραφο των αποτελεσμάτων, για τον δείκτη UBC807 τα βαρύτερα θραύσματα παρατηρούνται στις ποικιλίες του μάραθου, συγκεκριμένα της Φλώρινας από το χωριό Καρυές και της Επανομής. Για τη ποικιλία της Επανομής η ενισχυμένη περιοχή βρίσκεται στα 900bp ενώ για τη ποικιλία της Φλώρινας F-084/06 παρατηρείται μεταξύ των 700-600bp. Για τις ποικιλίες της Χίου Βουνό και Νένητα παρατηρούμε παρόμοιες ενισχυμένες περιοχές στις 1500bp, η μόνη διαφορά βρίσκεται στη ποικιλία Βουνό(A) στην οποία εμφανίζεται μία επιπλέον περιοχή στις 3000bp. Οι ποικιλίες της Λέσβου πιο συγκεκριμένα από τη περιοχή Λισβορίου, οι ενισχυμένες περιοχές δεν έχουν καμία ομοιότητα με κάποια άλλη ποικιλία και εμφανίζονται λίγο πιο ψηλά από τις 3000bp. Η ελληνική εμπορική ποικιλία εμφανίζει μία ομοιότητα με της Χίου- Βουνό στις 3000bp ωστόσο παρατηρείται και μία δεύτερη ζώνη περίπου στις 1600bp. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι δύο ποικιλίες της Λήμνου από τα χωριά Κοντοπούλι και Καμίνια οι οποίες εμφανίζουν τις ίδιες ζώνες λίγο πιο πάνω από τις 1500bp, το γεγονός αυτό αποτελεί ένδειξη πιθανής γενετικής ομοιότητας μεταξύ των δύο ποικιλιών, ανεξαρτήτως από τη διαφορετική περιοχή καλλιέργειας.

Στο πείραμα μελετήθηκε και ο ISSR δείκτης UBC841, παρατηρούνται όμοιες ζώνες στις ποικιλίες Χίου (A,B) και Λέσβου (C,G), οι ενισχυμένες περιοχές εμφανίζονται στις 3000bp, επομένως έχουν κοινό γενετικό υπόβαθρο στον συγκεκριμένο γενετικό τόπο. Ομοιότητες παρατηρούνται και στις ποικιλίες της Λήμνου με την ελληνική εμπορική ποικιλία περίπου στις 1500bp. Ενώ οι ποικιλίες του μάραθου συγκεκριμένα από τη Φλώρινα, το χωριό Καρυές εμφανίζονται όμοιες ενισχυμένες ζώνες μεταξύ των 900-1000bp. Διαφορά παρατηρείται στη ποικιλία της Επανομής η οποία είναι επίσης ποικιλία μάραθου, η ενισχυμένη περιοχή βρίσκεται ανάμεσα στις 1000-1500bp.

Έρευνες που έχουν διεξαχθεί στη περιοχή της Τουρκίας με τοπικές ποικιλίες γλυκάνισου σε σύγκριση με ποικιλίες Κύπρου και Γαλλίας, τα αποτελέσματα εμφάνιζαν κοινή γενετική προέλευση μεταξύ των ποικιλιών παρόλο που είχαν μεγάλη ποικιλομορφία (Haider et al.,2012). Επομένως ποικιλίες από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές μπορεί να έχουν γενετική σχέση (Naik et al.,2017).

4.5 Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας, απέδειξαν ότι υπάρχουν αρκετές μορφολογικές ομοιότητες ανάμεσα στις ποικιλίες του γλυκάνισου ακόμη και μεταξύ των τοπικής με εμπορικής προέλευσης ποικιλίες. Ωστόσο μερικά χαρακτηριστικά εμφάνισαν διαφορές όπως για παράδειγμα το πλάτος και ο αριθμός σκιαδίων. Κατά τη διάρκεια του πειράματος, στον αγρό μελετήθηκε και μία ποικιλία μάραθου, παρόλο που ο γλυκάνισος με τον μάραθο ανήκουν στην ίδια οικογένεια *Apiaceae* εμφάνισαν διαφορές στα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά ως προς τον αριθμό σκιαδίων αλλά και της ημέρες συγκομιδής. Επιπλέον παρατηρήθηκε διαφορά στον ρυθμό ανάπτυξης των φυτών, για παράδειγμα ορισμένες ποικιλίες καθυστέρησαν πολύ να εμφανίσουν άνθη. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες δηλαδή διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των φυτών του γλυκάνισου ιδιαίτερα των τοπικών ποικιλιών οι οποίες είναι προσαρμοσμένες να καλλιεργούνται σε συγκεκριμένες συνθήκες, εδάφους, κλίματος, διαθεσιμότητας νερού. Το δεύτερο μέρος της εργασίας στο οποίο μελετήθηκε η γενετική ποικιλότητα των φυτών γλυκάνισου και μάραθου, βρέθηκε ότι οι ποικιλίες με ίδια γεωγραφική προέλευση όπως ο γλυκάνισος Λήμνου από τα χωριά Κοντοπούλι και Καμίνια εμφάνισαν ορισμένους κοινούς γενετικούς τύπους. Ακόμη και οι τοπικές ποικιλίες από άλλες περιοχές της Ελλάδας δεν εμφάνισαν πολύ μεγάλες διαφορές μεταξύ τους. Τέλος, αξιοσημείωτες γενετικές διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των ποικιλιών γλυκάνισου και μάραθου.

Συμπερασματικά ο γλυκάνισος και ο μάραθος είναι δύο είδη αρωματικών φαρμακευτικών φυτών με πλούσια παράδοση και ιστορία για τον ελληνικό τόπο και όχι μόνο. Οι γενετικές μελέτες μπορούν να βοηθήσουν στην κατανόηση της ποικιλομορφίας των διαφορετικών ποικιλιών με στόχο την μελέτη και ενίσχυση των φαρμακευτικών τους ιδιοτήτων. Η ανάπτυξη βελτιωμένων σειρών μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερη απόδοση καλλιεργειών και αύξηση της ποιότητας του φυτικού υλικού. Με αποτέλεσμα αυτά τα είδη να αποτελέσουν μία οικονομικά βιώσιμη λύση για τους αγρότες που θα οδηγήσει στη παρασκευή υψηλότερων ποιοτικά φαρμακευτικών προϊόντων στην αγορά. Τέλος, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν καθοριστικό ρόλο σε αυτές τις καλλιέργειες, γι' αυτό το λόγο είναι σημαντικό να μελετηθούν περαιτέρω και να αναπτυχθούν πιο ανθεκτικές σειρές, εξασφαλίζοντας με αυτό το τρόπο σταθερή παραγωγή και διαθεσιμότητα για φαρμακευτικό σκοπό.

5 Βιβλιογραφία

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Δόρδας, Χ., 2009, Συμπληρωματικές σημειώσεις για το μάθημα των Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.
- Καλφάς, Η., 2018. Αρωματικά Φυτά, Εκδόσεις Πανεπιστημίου Μακεδονίας, Αμερικάνικη Γεωργική Σχολή, Θεσσαλονίκη.
- Κουτσός, Τ., 2006. Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη.
- Σαρλής, Γ., 2007, Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Χριστοδουλάκης, Ν., 2011, Ανατομία Φυτών ‘τα φυτά ένδοθεν’, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής, Αθήνα.

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

- Acimovic, M., Dojcinovic, N., (2014). A review of pharmacological properties of anise (*Pimpinella anisum L.*), *Lekovite Sirovine* 34, 3–17.
- Ahmad R., et al. (2020). Role of Feed Added Aniseed as Immunomodulant and Growth Promoter in Broiler Chicks. *Journal of Scientific & Technical Research*.
- Ahmed A., Quesni F. (1981). The effect of different sowing rates and row spacing on the yield and chemical composition of anise (*Pimpinella anisum L.*), *Agricultural Research Review*, 195-202, Cairo.
- Ahmed H., et al. (2017). Influence of different maturity stages on fruit yield and essential oil content of some Apiaceae Family plant: *Pimpinella anisum L.*, *Journal of Plant Production*.

- Akbari M., Saeidnia S. (2016). Anise seeds: Chemical composition and phytochemical properties, *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (pp.15-23), Academic Press.
- Albulushi S., et al. (2014). Study of Physicochemical Properties, Antibacterial and GC-MS Analysis of Essential Oil of the Aniseed (*Pimpinella anisum* Linn.) in Oman, Oman Medical College, Muscat, Sultanate of Oman.
- Amer A., Omar H., (2019), In-vitro propagation of the multipurpose Egyptian medicinal plant *Pimpinella anisum*, *Egyptian Pharmaceutical Journal*,18:254-262.
- Amer, A., Aly, U., (2019). Antioxidant and antibacterial properties of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Egypt Pharmaceut J* 18, 68–73.
- Andallu B, Rajeshwari C., (2011). Aniseeds (*Pimpinella anisum* L.) in health and disease. In: Preedy V, Watson R, eds. *Nuts and Seeds In Health and Disease Prevention*. Amsterdam, the Netherlands, 175–181.
- Andallu B., Rajeshwari C.U., (2011). Aniseeds (*Pimpinella anisum* L.) in Health and Disease. Department of Home Science. Sri Sathya Sai University.
- Andarwulan N., Shetty K., (2022), Phenolic Content in Differentiated Tissue Cultures of Untransformed and Agrobacterium-Transformed Roots of Anise (*Pimpinella anisum* L.), Department of Science, University of Massachusetts, Department of Food Technology and Human Nutrition, Bogor Agricultural University.
- Anli R., Bayram M., (2010). Traditional aniseed-flavored spirit drinks. *Food Rev International*, 26, 246–269
- Arzi A., et al. (2012). Effect of *Pimpinella anisum* L. seeds on acute radiation enteritis in rats, *Journal of Medicinal Plants Research*.

- Bahmani, K., et al., (2012). Assessment of Genetic Diversity in Iranian Fennels Using ISSR Markers. *Journal of Agricultural Science*, Vol. 4, No. 9: 79-84.
- Benkhigui O., et al. (2019). Valorization of anise seeds (*Pimpinella anisum L.*) in the preparation of an anti-aging cream. *Industrial Crops and Products*, 141.
- Bokaee S., et al. (2018). Essential oil composition of *Pimpinella anisum L.* (Umbelliferae). *Natural Product Research*, 32(6), 648-652, Iran.
- Boskabady M., Ramazani-Assari M. (2008)., Possible Mechanism for Relaxant Effect of *Pimpinella anisum* on Guinea Pig Tracheal Chains, *Pharmaceutical Biology*, 42(8):621-625
- Boutsika A., et al., (2021). Evaluation of parsley (*Petroselinum crispum*) germplasm diversity from the Greek Gene Bank using morphological, molecular and metabolic markers, *Industrial Crops & Products* 170.
- Canto-Tejero M., Pascual-Villalobos M.J., Guirao P. (2022). Anised essential oil botanical insecticides for the management of the currant-lettuce aphid. *Industrial Crops and Products*. 181(5):114804.
- Dargahi T., et al. (2021). Anti-inflammatory effect of *Pimpinella anisum* extract in a mouse model of allergic asthma, *International Journal of Green Pharmacy*.
- Doyle, J., Doyle J., (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue.
- Dulger B., et al. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris. *Journal of Ethnopharmacology*, 113-126, Turkey.
- Ernst D., (1989). *Pimpinella anisum L.* (Anise): Cell Culture, Somatic Embryogenesis, and the Production of Anise Oil, *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol.7.

- Ghorbani A., Naghavi M., (2017). Studies on essential oil components and biological activity of various extracts of *Pimpinella anisum L.* seeds, Journal of Medicinal Plants Research, 143-151.
- Ghoshegir S., et al. (2015). *Pimpinella anisum* in the treatment of functional dyspepsia: a double-blind, randomized clinical trial., Journal of Research in Medical Sciences., 20(1):13-21.
- Giachino R, Avci A., (2020). ISSR-based molecular variation of some fennel (*Foeniculum vulgare Mill.*) populations, Anadolu Journal of Agricultural Sciences.
- Grassmann J., Elstner E., (2003). Essential oils, properties and uses. Encyclopedia of food sciences and nutrition, 2nd edition, Academic Press, Oxford.
- Gulcin I., et al., (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise seed (*Pimpinella anisum L.*) extracts. Food Chemistry. Pg. 371-382
- Gulcin I., et al., (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum*) seed extracts. Food Chem 83(3):371–382.
- Iannarelli R., et al., (2017). Valorizing overlooked local crops in the era of globalization: the case of aniseed (*Pimpinella anisum L.*) from Castignano (central Italy). Industrial Crops & Products 104, 99-110.
- Iftikhar M. et al., (2017). Effect of aniseed (*Pimpinella anisum*) supplementation on milk composition, blood biochemical profile and productive performance of Damani goats. International Journal of Biosciences. Vol.10, No.5, p. 165-171.
- Kasrati A., et al., (2015). Morphological characteristics, chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Pimpinella anisum L.* collected in Morocco, Journal of Materials and Environmental Science, 652-657.

- Khalili S., et al., (2023). The effect of *Pimpinella anisum* herbal tea on human milk volume and weight gain in the preterm infant: a randomized controlled trial., *BMC Complementary Medicine and Therapies.*, 23(1).
- Low-Dog T., (2009). The use of botanicals during pregnancy and lactation. *Alternative Therapies in health and medicine.* 15(1): 54-8
- Mahboubi M., Mahboubi M., (2021). *Pimpinella anisum* and female disorders: a review, *Phytomedicine plus*, Medicinal plants research department, Iran.
- Mahood, R, (2012). Effects of *Pimpinella anisum* oil extract on some biochemical parameters in mice experimentally induced for human polycystic ovary syndrome. *J Biotech Res* 6, 67–73.
- Mangilal T., Ravikumar M., Mangilal T., (2016). Preparation and Evaluation of Herbal Toothpaste and Compared with Commercial Herbal Toothpastes: An In vitro Study. *International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine.* 6 (3)
- Meeuse, B.J., (1961). The story of pollination.
- Mohammadreza R, et al., (2021). Etiology, clinical manifestation and natural treatments of psoriasis from perspective of Persian medicine. Tehran University of Medical Sciences.
- Morteza K., et al., (2008). The essential oil composition of *Foeniculum vulgare* Mill. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(5),360-361. Iran
- Mosaffa-Jahromi M, et al., (2017). Effectiveness of anise oil for treatment of mild to moderate depression in patients with irritable bowel syndrome: a randomized active and placebo controlled clinical trial, *Evid Based Complementary Altern Med*, 41–46.
- Nasir A., Yabalak E., (2021). Investigation of antioxidant, antibacterial, antiviral, chemical composition, and traditional medicinal properties of the extracts and

- essential oils of the *Pimpinella* species from a broad perspective: a review, *Journal of Essential Oil Research*, 33:5, 411-426.
- Ntalli N., et al., (2019). Anise, parsley and rocket as nematicidal soil amendments and their impact on non-target soil organisms. *Applied Soil Ecology* 143,17-25.
- Ozcan M., Chalchat J., (2006). Chemical composition and antifungal effect of anise (*Pimpinella anisum L.*) fruit oil at ripening stage. *Ann Microbiol* 56:353–358.
- Pengelly A., (1996). *The constituents of Medicinal Plants*, 2nd edition, Cabi Publishing, U.K.
- Poudineh, Z., et. al., (2018). Genetic and morphological diversity of fennel by using ISSR marker and biplot analysis, *Ind J Plant Physiol.* 23(3):564–572.
- Prieto A., et al., (2018). Polyphyletic origin in *Pimpinella* (Apiaceae) : evidence in Western Europe. *Journal of Plant Research* 131,747-758.
- Raad T., Hameed A. (2020). Molecular Characterization of Selected Genera of the (Apiaceae) Family using SSR molecular markers. *Indian Journal of the Forensic Medicine & Toxicology.* Vol. 14, No 4.
- Ramos M., et al. (2006). Open Trial to Access Aspects of Safety and Efficacy of a Combined Herbal Cough Syrup with Ivy and Thyme. *Research in Complementary and Classical Natural Medicine.*
- Rathore S., (2013). Potential health benefits of major seed spices, *Seed Spices*, 1-12.
- Refika R.(2019). Investigation of the genetic variation of anise (*Pimpinella anisum L.*) using RAPD and ISSR markers. 67:763-780.
- Samojlik I., et al., (2012). The influence of essential oil of aniseed (*Pimpinella anisum L.*) on drug effects on the central nervous system. *Fitoterapia.* Vol. 83, Issue 8. Pg. 1466-1473.

- Shojaii A., Abdollahi M., (2012). Review of pharmacological properties and chemical constituents of *Pimpinella anisum*. ISRN Pharmaceutics.
- Singletary W., (2022). Anise: Potential Health Benefits. Food Science. Vol.57, No 2
- Soleymani, A., Shahrajabian, M., (2012). Response of different cultivars of fennel (*Foeniculum vulgare*) to irrigation and planting dates in Isfahan, Iran. Research on Crops, 13(2), 656–660.
- Somenath D., et al., (2021). Nanostructured *Pimpinella anisum* essential oil as novel green food preservative against fungal infestation, aflatoxin B1 contamination and deterioration of nutritional qualities. Centre of Advanced Studies in Botany. Banaras Hindu University.
- Spinozzi E., et al., (2021). Apiaceae essential oils and their constituents as insecticides against mosquitoes. Industrial Crops and Products. 171:113892
- Sun W., Shahrajabian M., Cheng Q., (2019), Anise (*Pimpinella anisum L.*), a dominant spice and traditional medicinal herb for both food and medicinal purposes, Cogent Biology.
- Ullah H., Honermeier B., (2013). Fruit yield, essential oil concentration and composition of the three anise cultivars (*Pimpinella anisum L.*) in relation to sowing date, sowing rate and locations). Industrial Crops & Products 42. 489-499
- Yazdani, D., et al. (2009). Antifungal activity of dried extracts of anise (*Pimpinella anisum L.*) and star anise (*Illicium verum Hook. f.*) against dermatophyte and saprophyte fungi, Journal of Medicinal Plants, 8(5), 24–29.
- Zhang F., et al., (2020). Dielectric Properties and Heating Properties of Aniseed Powder with Radio Frequency Heating. International Journal of Food Engineering. Vol.6, No. 1.

6 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



Εικόνα Π1: Γαλλική ποικιλία γλυκάνισου τη περίοδο της ανθοφορίας. 2^ο Block.



Εικόνα Π2: Σπόροι ποικιλίας Χίου με ανοιχτή διάταξη σκιαδίων



Εικόνα Π3: Γαλλική ποικιλία γλυκάνισου μετά τη συγκομιδή. 3^ο Block.



Εικόνα Π4: Αποθήκευση και καταγραφή των φυτών σε σακούλες μετά τη συγκομιδή



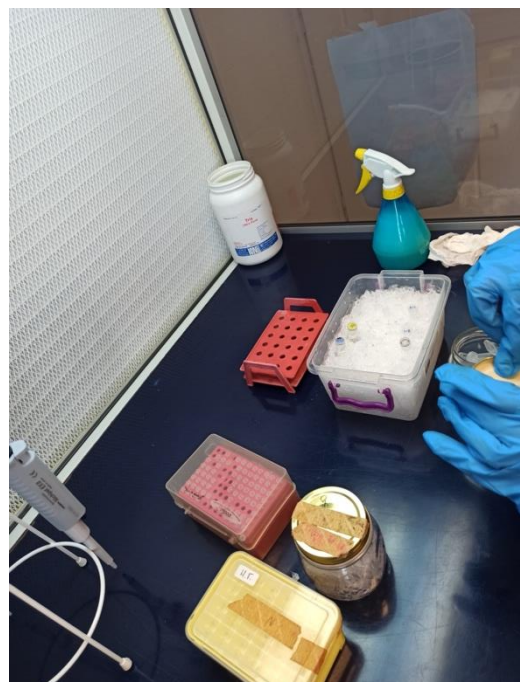
Εικόνα Π5: Προετοιμασία φυτών γλυκάνισου για αποθήκευση στους -80°C .



Εικόνα Π6: Προετοιμασία φυτών μάραθου για αποθήκευση στους -80°C .



Εικόνα Π6: Προθέρμανση CTAB buffer για την διαδικασία της απομόνωσης DNA



Εικόνα Π7: Προετοιμασία mastermix για την εφαρμογή της PCR.

<u>Ποικιλία</u>	<u>Κωδικός</u>	<u>ng/uL</u>	<u>260/280</u>	<u>260/230</u>
Χίος (Βουνό) 1η	A1	373,6	1,93	1,93
Χίος (Βουνό) 2η	A1	464	1,93	1,93
Χίος (Βουνό) 1η	A2	306,7	1,92	1,92
Χίος (Βουνό) 2η	A2	307,4	1,88	1,88
Χίος (Βουνό) 1η	A3	227,8	1,72	1,72
Χίος (Βουνό) 2η	A3	256,9	1,62	1,62
Χίος (Βουνό) 1η	A4	672,5	1,95	1,95
Χίος (Βουνό) 2η	A4	648,8	1,94	1,94
Χίος (Βουνό) 1η	A5	765,5	1,94	1,94
Χίος (Βουνό) 2η	A5	681,8	1,93	1,93
Χίος (Βουνό) 1η	A6	256,9	1,97	1,97
Χίος (Βουνό) 2η	A6	275,9	1,96	1,96
Χίος (Βουνό) 1η	A8	271,9	1,86	1,86
Χίος (Βουνό) 2η	A8	287,9	1,85	1,85
Χίος (Βουνό) 1η	A9	672,2	1,98	1,98
Χίος (Βουνό) 2η	A9	645,6	1,98	1,98
Χίος (Βουνό) 1η	A10	165,5	1,71	1,71
Χίος (Βουνό) 2η	A10	165,8	1,77	1,77
Χίος (Βουνό) 1η	A12	1084,6	2,03	2,03
Χίος (Βουνό) 2η	A12	1115,3	2,01	2,01
Χίος (Νένητα) 1η	B1	521,6	1,42	1,42
Χίος (Νένητα) 2η	B1	273,3	2	2
Χίος (Νένητα) 1η	B2	332,2	1,93	1,93
Χίος (Νένητα) 2η	B2	375,6	1,95	1,95
Χίος (Νένητα) 1η	B4	166	2,14	2,14
Χίος (Νένητα) 2η	B4	480,3	1,9	1,9
Χίος (Νένητα) 1η	B7	223,8	1,83	1,83
Χίος (Νένητα) 2η	B7	234,9	1,83	1,83
Χίος (Νένητα) 1η	B11	355,2	1,97	1,97
Χίος (Νένητα) 2η	B11	281,3	2,04	2,04
Χίος (Νένητα) 1η	B12	392,8	1,77	1,77
Χίος (Νένητα) 2η	B12	507,6	1,95	1,95
Χίος (Νένητα) 1η	B13	175,9	1,86	1,86
Χίος (Νένητα) 2η	B13	183,9	1,86	1,86

Χίος (Νένητα) 1η	B15	681,3	1,93	1,93
Χίος (Νένητα) 2η	B15	698,3	1,94	1,94
Χίος (Νένητα) 1η	B16	293,4	0,73	0,73
Χίος (Νένητα) 2η	B16	169,9	2,04	2,04
Χίος (Νένητα) 1η	B17	361,6	1,91	1,91
Χίος (Νένητα) 2η	B17	881,3	1,91	1,91
Λέσβος (Λισβόρι)	C1	143,3	1,78	1,78
Λέσβος (Λισβόρι)	C1	123	1,83	1,83
Λέσβος (Λισβόρι)	C2	127,6	1,91	1,91
Λέσβος (Λισβόρι)	C2	249,6	1,92	1,92
Λέσβος (Λισβόρι)	C4	303,7	1,9	1,9
Λέσβος (Λισβόρι)	C4	590,7	1,94	1,94
Λέσβος (Λισβόρι)	C5	137,7	1,84	1,84
Λέσβος (Λισβόρι)	C5	144,6	1,82	1,82
Λέσβος (Λισβόρι)	C7	302,5	1,9	1,9
Λέσβος (Λισβόρι)	C7	565,8	1,95	1,95
Λέσβος (Λισβόρι)	C8	240,7	2,01	2,01
Λέσβος (Λισβόρι)	C8	594,3	1,93	1,93
Λέσβος (Λισβόρι)	C9	136,5	1,75	1,75
Λέσβος (Λισβόρι)	C9	140,4	1,8	1,8
Λέσβος (Λισβόρι)	C10	212,6	1,87	1,87
Λέσβος (Λισβόρι)	C10	217,6	1,84	1,84
Λέσβος (Λισβόρι)	C11	295	1,6	1,6
Λέσβος (Λισβόρι)	C11	228,4	1,92	1,92
Λέσβος (Λισβόρι)	C12	439,9	1,93	1,93
Λέσβος (Λισβόρι)	C12	461,7	1,96	1,96
Ελληνική (Εμπορική)	D1	430,5	1,97	1,97
Ελληνική (Εμπορική)	D1	440,5	1,99	1,99
Ελληνική (Εμπορική)	D4	183,9	1,76	1,76
Ελληνική (Εμπορική)	D4	199,5	1,81	1,81
Ελληνική (Εμπορική)	D5	234,4	1,94	1,94
Ελληνική (Εμπορική)	D5	235,6	1,94	1,94
Ελληνική (Εμπορική)	D6	527,2	1,76	1,76
Ελληνική (Εμπορική)	D6	731,2	1,95	1,95
Ελληνική (Εμπορική)	D8	361,8	1,87	1,87
Ελληνική (Εμπορική)	D8	551,5	1,98	1,98
Ελληνική (Εμπορική)	D10	172,9	1,85	1,85

Ελληνική (Εμπορική)	D10	174,3	1,85	1,85
Ελληνική (Εμπορική)	D11	148,1	2,01	2,01
Ελληνική (Εμπορική)	D11	163,4	1,8	1,8
Ελληνική (Εμπορική)	D12	766,8	1,96	1,96
Ελληνική (Εμπορική)	D12	820,9	1,99	1,99
Ελληνική (Εμπορική)	D13	141	1,86	1,86
Ελληνική (Εμπορική)	D13	151,5	1,83	1,83
Ελληνική (Εμπορική)	D15	548,7	1,95	1,95
Ελληνική (Εμπορική)	D15	564,7	1,95	1,95
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E1	302,1	2	2
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E1	313	1,99	1,99
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E2	278,2	1,82	1,82
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E2	314,1	1,78	1,78
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E3	234,5	1,9	1,9
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E3	234,4	1,92	1,92
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E4	415,9	1,97	1,97
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E4	289,1	2,12	2,12
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E5	405	1,69	1,69
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E5	369,3	1,95	1,95
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E6	299,3	1,94	1,94
Λήμνος (Κοντοπούλι)	E6	293,9	1,97	1,97
Λήμνος (Καμίνια)	F1	558,1	1,93	1,93
Λήμνος (Καμίνια)	F1	553,3	1,95	1,95
Λήμνος (Καμίνια)	F2	413,4	1,57	1,57
Λήμνος (Καμίνια)	F2	258,5	1,91	1,91
Λήμνος (Καμίνια)	F3	231,8	1,83	1,83
Λήμνος (Καμίνια)	F3	212	1,83	1,83
Λήμνος (Καμίνια)	F4	508,1	1,64	1,64
Λήμνος (Καμίνια)	F4	832,8	1,97	1,97
Λήμνος (Καμίνια)	F5	303,8	2,05	2,05
Λήμνος (Καμίνια)	F5	631,8	1,96	1,96
Λήμνος (Καμίνια)	F6	259,3	1,97	1,97
Λήμνος (Καμίνια)	F6	513,7	1,94	1,94
Λήμνος (Καμίνια)	F7	136,3	1,8	1,8
Λήμνος (Καμίνια)	F7	138,2	1,76	1,76
Λέσβος (Λισβόρι,Μ-093/06)	G1	185,5	1,84	1,84
Λέσβος (Λισβόρι,Μ-093/06)	G1	190,2	1,83	1,83

Λέσβος (Λισβόρι,Μ-093/06)	G2	257,3	1,92	1,92
Λέσβος (Λισβόρι,Μ-093/06)	G2	263,4	1,9	1,9
Λέσβος (Λισβόρι,Μ-093/06)	G3	224,2	1,44	1,44
Λέσβος (Λισβόρι,Μ-093/06)	G3	426,1	1,62	1,62
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I1	362,5	1,92	1,92
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I1	348,2	1,93	1,93
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I2	379,1	1,72	1,72
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I2	500,2	1,7	1,7
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I3	362,3	1,95	1,95
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I3	357,4	1,96	1,96
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I4	338,2	1,97	1,97
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I4	357	1,96	1,96
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I5	159,9	1,93	1,93
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I5	318,4	1,94	1,94
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I6	290,5	1,78	1,78
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I6	236,3	1,89	1,89
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I7	557,8	1,95	1,95
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I7	539,1	1,96	1,96
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I8	267,7	1,88	1,88
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I8	273,8	1,89	1,89
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I9	302,2	1,91	1,91
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I9	307,7	1,92	1,92
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I10	733,5	1,99	1,99
Φλώρινα (Καρυές, F-084/06)	I10	749	1,98	1,98
Επανομή	J1	194,1	1,94	1,94
Επανομή	J1	193,6	1,95	1,95
Επανομή	J2	569	2	2
Επανομή	J2	588,3	2,01	2,01
Επανομή	J3	332,5	1,99	1,99
Επανομή	J3	341,9	1,94	1,94
Επανομή	J4	424	1,95	1,95
Επανομή	J4	423,3	1,96	1,96
Επανομή	J5	239,9	1,9	1,9
Επανομή	J5	250,1	1,89	1,89
Φλώρινα (Καρυές, F-096/06)	H1	539,7	1,74	1,74
Φλώρινα (Καρυές, F-096/06)	H1	636,5	1,96	1,96
Φλώρινα (Καρυές, F-096/06)	H2	264,2	2,06	2,06

Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H2	193,7	2,07	2,07
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H3	447,1	1,9	1,9
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H3	998,9	1,98	1,98
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H4	789,8	2,01	2,01
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H4	804,9	1,99	1,99
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H5	513,6	1,99	1,99
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H5	527,6	1,97	1,97
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H6	968,8	1,99	1,99
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H6	805,9	1,98	1,98
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H7	812,6	2	2
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H7	831,5	2	2
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H8	563,7	1,71	1,71
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H8	738,8	1,98	1,98
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H9	457,4	1,99	1,99
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H9	588,6	1,96	1,96
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H10	344,4	1,55	1,55
Φλώρινα (Καρυές,F-096/06)	H10	408	1,94	1,94

Π8 Υπολογισμός συγκεντρώσεων DNA με φασματοφωτόμετρο Nanodrop Thermo- ND1000

Αξιολόγηση έντασης αρώματος και γεύσης γλυκάνισου-μάραθου

Κάθε ποικιλία γλυκάνισου και ο μάραθος Επανομής έχουν διαφορετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, αν τα συγκρίνουμε μεταξύ τους, όπως για παράδειγμα η ένταση αρώματος ή της γεύσης. Το ερωτηματολόγιο αυτό θα είναι μία αξιολόγηση έντασης αρώματος και γεύσης για τις οχτώ ποικιλίες. Με κλίμακα από το 1 έως το 10 όπως φαίνεται παρακάτω.

Για την αξιολόγηση του αρώματος του καρπού, σπάστε στη μέση τον σπόρο
Για την αξιολόγηση του αρώματος του φυλλώματος, προηγείται η τριβή του φυλλώματος για την απελευθέρωση των αρωμάτων

1. Γεύση καρπού/ Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

2. Γεύση καρπού/ Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

3. Γεύση καρπού/ Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

4. Γεύση καρπού/ Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

5. Γεύση καρπού/ Γλυκάνισος Λήμνου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

6. Γεύση καρπού/ Γλυκάνισος Λέσβου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

7. Γεύση καρπού/ Γλυκάνισος Χίου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

8. Γεύση καρπού/Μάραθος Επανομής (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

9. Γεύση φυλλώματος/Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

10. Γεύση φυλλώματος/Γλυκάνισος Λήμνου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

11. Γεύση φυλλώματος/Γλυκάνισος Λέσβου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

12. Γεύση φυλλώματος/Γλυκάνισος Χίου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

13. Γεύση φυλλώματος/ Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

14. Γεύση φυλλώματος/ Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

15. Γεύση φυλλώματος/ Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

16. Γεύση φυλλώματος/Μάραθος Επανομής (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

17. Άρωμα καρπού/Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

18. Άρωμα καρπού/Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

19. Άρωμα καρπού/Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

20. Άρωμα καρπού/Γλυκάνισος Β. Εύβοιας (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

21. Άρωμα καρπού/Γλυκάνισος Λήμνου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

22. Άρωμα καρπού/Γλυκάνισος Λέσβου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

23. Άρωμα καρπού/Γλυκάνισος Χίου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

24. Άρωμα καρπού/Μάραθος Επανομής (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

25. Άρωμα φυλλώματος/Ιταλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

26. Άρωμα φυλλώματος/Ελληνικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

27. Άρωμα φυλλώματος/Γαλλικός γλυκάνισος (εμπορική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

28. Άρωμα φυλλώματος/ Γλυκάνισος Β. Εύβοια (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

29. Άρωμα φυλλώματος/ Γλυκάνισος Λήμνου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

30. Άρωμα φυλλώματος/ Γλυκάνισος Λέσβου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

31. Άρωμα φυλλώματος/ Γλυκάνισος Χίου (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

32. Άρωμα φυλλώματος/Μάραθος Επανομής (τοπική ποικιλία)

Mark only one oval.

- Αδιάφορο
- Διακριτικό
- Λίγο ελαφρύ
- Ελαφρύ
- Ελαφρύ προς μέτριο
- Μέτριο
- Μέτριο προς έντονο
- Έντονο
- Πολύ έντονο
- Πάρα πολύ έντονο

Π9 Ερωτηματολόγιο αξιολόγησης αρώματος και γεύσης γλυκάνισου-μάραθου μέσω google forms