



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

## **ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Αμπελογραφική περιγραφή και γενετική ταυτοποίηση  
ελληνικών ποικιλιών αμπέλου**

**Λεμονής Κωνσταντίνος**

**ΑΜ: 718141063**

**Επιβλέπων/-ουσα  
Ονοματεπώνυμο:**

**Καθ. Κόρκας Ηλίας**

**ΑΘΗΝΑ, ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2023**



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA  
SCHOOL OF FOOD SCIENCE  
DEPARTMENT OF WINE, VINE AND BEVERAGE SCIENCES**

## **BACHELOR THESIS**

### **Title**

**Ampelographic description and genetic identification  
of Greek grapevine varieties**

**Lemonis Konstantinos**

**Registration Number: 718141063**

### **Supervisor**

**name and surname:** Prof. Korkas Elias

ATHENS, OCTOBER 2023



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

**ΔΗΛΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο:  
**«Αμπελογραφική περιγραφή και γενετική ταυτοποίηση ελληνικών ποικιλιών αμπέλου»**  
και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

<b>Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα Καθηγητή (1<sup>ο</sup> Μέλους Επιτροπής)</b>	Κόρκας Ηλίας
<b>Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (2<sup>ο</sup> Μέλους Επιτροπής)</b>	Τάσκος Δημήτριος
<b>Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (3<sup>ο</sup> Μέλους Επιτροπής)</b>	Μερκουρόπουλος Γεώργιος

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο κάτωθι υπογράφων **Λεμονής Κωνσταντίνος** του **Ιωάννη** με αριθμό μητρώου **718141063** φοιτητής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

*«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.*

*Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».*

Ο/Η Δηλών/ούσα



Λεμονής Κωνσταντίνος

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Κατά την καλλιεργητική περίοδο του έτους 2022 μελετήθηκαν οχτώ (8) ελληνικές ποικιλίες αμπέλου από τη Σκύρο (Σποράδες). Για την μελέτη τους συλλέχθηκαν δείγματα νεαρών κορυφών με τα νεαρά τους φύλλα, ώριμα ανεπτυγμένα φύλλα και σταφύλια από δύο περιοχές της Σκύρου (Τραχύ και Ασπούς). Σκοπός της εργασίας ήταν η αμπελογραφική περιγραφή και η γενετική ταυτοποίηση των ποικιλιών αμπέλου: Μαερνό, Μαυραγάκι, Μαυραγουσιτιάτης, Άσπρο, Χατζήδικο, Αγιαναστασάς, Σεριφιώτικο και Τραγανό.

Η αμπελογραφική περιγραφή έγινε βάση συγκεκριμένων περιγραφέων του Διεθνούς Οργανισμού Οίνου και Αμπέλου (ΟΙΥ) και αφορούσαν: 1) την κορυφή του νεαρού βλαστού, 2) το νεαρό φύλλο, 3) το πλήρως ανεπτυγμένο φύλλο, 4) τη σταφυλή και 5) τη ράγα.

Η μοριακή ταυτοποίηση πραγματοποιήθηκε με μικροδορυφόρους SSR (Simple Sequence Repeats) και τριχοειδή ηλεκτροφόρηση. Στην μοριακή ταυτοποίηση τα δείγματα 1, 2, 4, 5 και 6 της ποικιλίας «Μαερνό» έδειξαν τα πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα στη μελέτη τους καθώς υπάρχει ομαδοποίηση μεταξύ τους, κάτι που δεν παρουσιάστηκε σε κάποια άλλη ελληνική ποικιλία με παρόμοια ακολουθία σύμφωνα με τα δεδομένα του ΕΛΓΟ - ΔΗΜΗΤΡΑ. Στο δείγμα #7 «Μαυραγουσιτιάτη» υπήρξε μία ισχυρή ομοιότητα με την ποικιλία «Μανδηλαριά». Κατά την αμπελογραφική περιγραφή σημαντικό σημείο αποτέλεσε η ομοιότητα μεταξύ των δειγμάτων 1, 2, 3, 5 και 6 της ποικιλίας «Μαερνό» όπως ήταν αναμενόμενο.

**Λέξεις κλειδιά:** Ελληνικές ποικιλίες αμπέλου, αμπελογραφική περιγραφή, μοριακή ταυτοποίηση, μικροδορυφόροι SSR, αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης, τριχοειδής ηλεκτροφόρηση.

## ABSTRACT

During the cultivation period of the year 2022, eight (8) Greek grapevine varieties from Skiros (Sporades) were studied. Samples were collected from young shoots with their young leaves, fully developed leaves, and grapes from two regions of Skiros (Trachy and Aspous). The purpose of the study was the ampelographic description and genetic identification of the grape varieties: Maerno, Mavragani, Mavraougoustiatis, Aspro, Chatzidiko, Agianastasis, Serifiotiko, and Tragano.

The ampelographic description was based on specific descriptors from the International Organization of Vine and Wine (OIV) and covered: 1) the tip of the young shoot, 2) the young leaf, 3) the fully developed leaf, 4) the grape, and 5) the cane.

Molecular identification was performed using microsatellite SSR (Simple Sequence Repeats) markers and capillary electrophoresis. In the molecular identification, samples 1, 2, 4, 5, and 6 of the “Maerno” variety showed the most encouraging results in their study, as they clustered together, something that did not occur in any other Greek variety with a similar sequence according to the data from ELGO - DIMITRA. Sample #7, “Mavraougoustiatis” exhibited a strong similarity to the variety “Mandilari”. During the ampelographic description, an important point was the similarity between the samples 1, 2, 3, 5, and 6 of the “Maerno” variety as it was expected.

**Keywords:** Greek grapevine varieties, ampelographic description, molecular identification, microsatellites SSR, PCR (Polymerase Chain Reaction), capillary electrophoresis.

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Ηλία Κόρκα, καθηγητή Αμπελουργίας στο Τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, για την επίβλεψή του καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας μου.

Επίσης, το Τμήμα Αμπέλου του Ινστιτούτου Ελιάς, Υποτροπικών φυτών και Αμπέλου (ΤΑ/ΙΕΛΥΑ), του Ελληνικού Γεωργικού Οργανισμού ΔΗΜΗΤΡΑ, για την παραχώρηση του χώρου και του εξοπλισμού, ώστε να πραγματοποιηθούν οι αμπελογραφικές και οι μοριακές αναλύσεις, καθώς και τους κ.κ. Δρ Γιώργο Μερκουρόπουλο, εντεταλμένο ερευνητή στο ΤΑ/ΙΕΛΥΑ, του Ελληνικού Γεωργικού Οργανισμού ΔΗΜΗΤΡΑ, για την πολύτιμη επιστημονική του καθοδήγησή όσον αφορά τη γενετική ταυτοποίηση των δειγμάτων αμπέλου που αναλύθηκαν στην παρούσα μελέτη καθώς και τις συμβουλές και την επίβλεψή του και Δρ Δημήτρη Τάσκο, εντεταλμένο ερευνητή στο ΤΑ/ΙΕΛΥΑ, του Ελληνικού Γεωργικού Οργανισμού ΔΗΜΗΤΡΑ, για την πολύτιμη βοήθειά του στην διάρκεια της Αμπελογραφικής μελέτης που πραγματοποιήθηκε στην παρούσα εργασία.

# ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

<b>1</b>	<b>Εισαγωγή.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Ιστορικά στοιχεία .....</b>	<b>1</b>
1.1.1	Το αμπέλι ανά τους αιώνες.....	1
1.1.2	Ιστορία της αμπέλου στην Ελλάδα .....	2
1.1.3	Η Σκύρος και η ιστορία της αμπέλου στο νησί.....	3
<b>1.2</b>	<b>Αμπελογραφική Περιγραφή .....</b>	<b>5</b>
1.2.1	Ορισμός της Αμπελογραφίας.....	5
1.2.2	Έννοια και περιεχόμενο της σύγχρονης Αμπελογραφίας .....	6
<b>1.3</b>	<b>Συστηματική της Αμπέλου .....</b>	<b>6</b>
1.3.1	Διάκριση και ταξινόμηση των ποικιλιών της αμπέλου .....	8
1.3.2	Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά των βασικών οργάνων της αμπέλου .....	10
1.3.2.1	Κορυφή του βλαστού .....	10
1.3.2.2	Νέα Φύλλα .....	12
1.3.2.3	Έλικες.....	12
1.3.2.4	Ωριμα – ανεπτυγμένα φύλλα.....	13
1.3.2.5	Σταφυλή .....	15
1.3.2.6	Ράγα .....	17
1.3.2.7	Γίγαρτα.....	18
1.3.3	Τεχνολογικά χαρακτηριστικά γλεύκους .....	19
<b>1.4</b>	<b>Μοριακή ταυτοποίηση.....</b>	<b>20</b>
1.4.1	Βιοχημικές μέθοδοι .....	20
1.4.2	Διάκριση και ταυτοποίηση ποικιλιών με μοριακές μεθόδους.....	21
1.4.2.1	Τεχνικές μη βασισμένες σε PCR.....	22
1.4.2.2	Τεχνικές βασισμένες σε PCR.....	24
<b>2</b>	<b>Υλικά &amp; Μέθοδοι .....</b>	<b>28</b>
<b>2.1</b>	<b>Αμπελογραφική περιγραφή .....</b>	<b>28</b>
2.1.1	Συλλογή υλικού .....	28
2.1.2	Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά που περιγράφησαν .....	29
<b>2.2</b>	<b>Μοριακή ταυτοποίηση.....</b>	<b>32</b>
2.2.1	Απομόνωση DNA.....	32
2.2.2	Αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction - PCR).....	32
2.2.3	Ηλεκτροφόρηση προϊόντων αντίδρασης PCR σε πήκτωμα αγαρόζης.....	33
2.2.4	Υπολογισμός συγκέντρωσης DNA.....	33
2.2.5	Εκτίμηση μεγέθους αλληλομόρφων με ηλεκτροφόρηση του DNA των δειγμάτων .....	33
2.2.6	Τριχοειδής ηλεκτροφόρηση (CE) .....	34



<b>3</b>	<b>Αποτελέσματα και συζήτηση .....</b>	<b>35</b>
<b>3.1</b>	<b>Αμπελογραφική περιγραφή .....</b>	<b>35</b>
<b>3.2</b>	<b>Μοριακή ταυτοποίηση.....</b>	<b>39</b>
<b>4</b>	<b>Συμπεράσματα.....</b>	<b>44</b>
<b>5</b>	<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>46</b>
<b>5.1</b>	<b>Ξενόγλωσση .....</b>	<b>46</b>
<b>5.2</b>	<b>Ελληνική .....</b>	<b>48</b>
<b>5.3</b>	<b>Ιστοσελίδες.....</b>	<b>49</b>

# 1 Εισαγωγή

## 1.1 Ιστορικά στοιχεία

### 1.1.1 Το αμπέλι ανά τους αιώνες

Αν και υπάρχουν άφθονα αρχαιολογικά, βιο-αρχαιολογικά, ιστορικά και γενετικά δεδομένα, η πορεία της αμπέλου δεν είναι ακόμη πλήρως αποσαφηνισμένη. Η ακριβής προέλευση της άγριας αμπέλου, αλλά και οι μηχανισμοί με τους οποίους η άγρια άμπελος εξημερώθηκε και καλλιεργήθηκε παραμένουν σε ένα σημαντικό βαθμό άγνωστα (Terral *et al.*, 2010). Οι παλαιοντολόγοι θεωρούν ότι το αμπέλι έκανε την εμφάνισή του στη γη πριν από εκατομμύρια χρόνια. Εξαπλώθηκε ραγδαία σε όλο τον πλανήτη, ακόμη και στους πόλους, πριν από την έναρξη της εποχής των παγετώνων. Σταδιακά, η καλλιέργεια της αμπέλου περιορίστηκε σε περιοχές της εύκρατης ζώνης, όπου οι συνθήκες ήταν ευνοϊκότερες. Αυτή η μετακίνηση της άγριας αμπέλου σε πιο θερμές περιοχές οδήγησε στο να εδραιωθεί και να αναπτυχθεί στην περιοχή του Καυκάσου και της Μεσοποταμίας το είδος *Vitis vinifera* (άμπελος η οινοφόρος) (Κούσουλας, 1995).

Η έναρξη της συστηματικής καλλιέργειας της αμπέλου και η εξημέρωση των άγριων ποικιλιών *V. vinifera* θεωρείται ότι ξεκίνησε περίπου την 8<sup>η</sup> χιλιετία π.Χ., την χρονική περίοδο δηλαδή όπου ο άνθρωπος εγκατέλειψε τον νομαδικό τρόπο ζωής και ξεκίνησε να ασχολείται με τη γεωργία (Terral *et al.*, 2010). Σύμφωνα με αρχαιολογικά ευρήματα που βρέθηκαν στην Κίνα, οι πρώτες αλκοολικές ζυμώσεις χρονολογούνται το 6000 π.Χ. και αφορούν μέλι, φρούτα και ρύζι. Στην Αρμενία βρέθηκε το αρχαιότερο πιεστήριο στέμφυλων, καθώς και πιθάρια που χρησιμοποιούνταν για ζύμωση, τα οποία χρονολογούνται στο 5000 π.Χ. (Κούσουλας, 1995).

Θεωρείται ότι οι πρώτοι που ασχολήθηκαν με την καλλιέργεια της αμπέλου ήταν οι Άριοι, οι Πέρσες, οι Σημιτικοί λαοί και οι Ασσύριοι στον Καύκασο. Από εκεί μεταφέρθηκε στην Αίγυπτο και την Παλαιστίνη και στη συνέχεια, μέσω Φοινίκων εμπορών έφθασε στον ελλαδικό χώρο. Πολύ γρήγορα εξαπλώθηκε στις μεσογειακές χώρες, καθώς και στις χώρες της Μαύρης Θάλασσας (Κούσουλας, 1995). Θεωρείται ότι οι Ρωμαίοι ήταν αυτοί που διέδωσαν την αμπελοκαλλιέργεια στον υπόλοιπο ευρωπαϊκό χώρο. Σύμφωνα με αναφορές, το αμπέλι μεταφέρθηκε στην αμερικανική ήπειρο, πιο συγκεκριμένα στην Καλιφόρνια πιθανότατα από Ισπανούς ιεραποστόλους το 1700 περίπου μ.Χ. (Badet *et al.*, 2011).

### 1.1.2 Ιστορία της αμπέλου στην Ελλάδα

Στην Ελλάδα οι Αρχαίοι Έλληνες φιλόσοφοι τον 3ο αιώνα π.Χ. όπως ο Θεόφραστος, ήταν οι πρώτοι που έκαναν εκτενή καταγραφή στον ελλαδικό χώρο των πρακτικών αμπελουργίας όπως τις αναφορές για το κλάδεμα και τη διαμόρφωση του φυτού της αμπέλου. Οι αρχαίοι Έλληνες όταν ήθελαν να φτιάξουν κρασί, ξεκινούσαν με το πάτημα του σταφυλιού με τα πόδια. Πρόκειται για μία παραδοσιακή τεχνική εξαγωγής του μούστου από το σταφύλι, η οποία έχει διατηρηθεί ακόμη και σήμερα σε περιοχές όπου παράγουν μικρή ποσότητα οίνου ή εφαρμόζεται για λόγους εκπαιδευτικούς ώστε να υπάρξει μία βιωματική επαφή των ενδιαφερόμενων με την ιστορία της οινοποίησης. Εν συνεχεία ο μούστος μεταφερόταν σε σάκους με σκοπό την ζύμωση. Μετά το πέρας της ζύμωσης, κατανάλωναν ή αποθήκευαν τον οίνο σε πιθάρια με επικάλυψη κολλώδους υλικού (π.χ ρητινών, πίσσας) ώστε να αποφεύγεται η διαρροή και η οξείδωση του οίνου κατά την παραμονή τους στα πιθάρια για μεγάλο χρονικό διάστημα. Τα ελληνικά κρασιά είναι σημαντικό να σημειωθεί πως είχαν γίνει πλήρως αποδεκτά από τους Ρωμαίους όπου γνώριζαν το κρασί και την παραγωγή του. Συγκεκριμένα ο Ιούλιος Καίσαρας πρόσφερε ελληνικά κρασιά σε εκλεκτούς καλεσμένους του για να τους ευχαριστήσει (Τσακίρης, 2010).

Οι Ρωμαίοι και οι Έλληνες ήταν συνοδοιπόροι στην εξέλιξη των κλάδων της αμπελουργίας και της οινοποιίας. Ήταν οι πρώτοι που εφάρμοσαν την υποστύλωση στα αμπέλια και ανέπτυξαν προηγμένη τεχνογνωσία στην οινοποίηση βελτιώνοντας τα πιεστήρια τους ώστε να έχουν καλύτερο έλεγχο των συνθηκών παραγωγής. Έπειτα από την πτώση της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας το 476 μ.Χ. άρχισε η οπισθοδρόμηση στον κλάδο του κρασιού με την επέλαση των λαών του Βορρά, Ασιατών και Μουσουλμάνων, όπου καταστράφηκε τεράστιο ποσοστό από τις αμπελουργικές εκτάσεις της Ευρώπης. Στην διάσωση των αμπελιών στράφηκαν χριστιανοί ιερείς με την καλλιέργεια μικρής έκτασης αμπελιών σε μοναστήρια για την κάλυψη των αναγκών σε κρασί που χρησιμοποιούσαν σε χριστιανικές τελετές. Έπειτα από μια πτώση στην ανοδική πορεία των κλάδων της αμπελουργίας και της οινοποιίας ήρθε η διάσωση από τους Γάλλους και τους Ισπανούς. Αποτέλεσμα αυτής της διάσωσης ήταν η βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών του κρασιού μέσα από καινοτόμες για την εποχή ιδέες οινοποίησης και αμπελοκαλλιέργειας (Τσακίρης, 2010).

Η εκκλησία είχε καθοριστικό ρόλο στην παραγωγή οίνου στην Βυζαντινή περίοδο κατασκευάζοντας εγκαταστάσεις οινοποιείων σε μοναστήρια πρωτοποριακά για την εποχή. Τα δημοφιλέστερα κρασιά προέρχονταν από νησιά του Αιγαίου Πελάγους. Η περίοδος της Τουρκοκρατίας που ακολούθησε δεν βοήθησε την αμπελουργία στην Ελλάδα διότι κατά το

μεγαλύτερο μέρος της οι Τούρκοι εφάρμοσαν πολύ υψηλή φορολογία στο κρασί. Εν συνεχεία επικράτησαν ακόμα πιο επίπονα μέτρα φορολόγησης καθώς οι τοπικοί άρχοντες δεν άφηναν τους οινοπαραγωγούς να μεταφέρουν τα σταφύλια τους κατά τον τρύγο από το αμπέλι στο οινοποιείο αν δεν είχαν εξοφλήσει τους φόρους τους. Αποκορύφωμα ήταν στη δύση της Οθωμανικής Αυτοκρατορίας το ξερίζωμα χιλιάδων στρεμμάτων αμπελιών σε όλη την Ελλάδα από τους Τούρκους καθώς υποχωρούσαν από τα ανακτηθέντα από τους Έλληνες εδάφη (Τσακίρης, 2010).

Τον 19ο αιώνα η Ελλάδα κατείχε 500.000 στρέμματα αμπελιών εκ των οποίων το 1/3 της έκτασης καλλιεργούνταν για παραγωγή σταφίδας με κυριότερη περιοχή παραγωγής την Πελοπόννησο. Η έκταση αυτή στα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα υπερτριπλασιάστηκε, καθώς αυξήθηκε η ζήτηση για σταφίδα από τη Γαλλία. Οι Γάλλοι χρησιμοποιούσαν την σταφίδα για παραγωγή οίνων από σταφίδα και η ζήτηση δημιουργήθηκε όταν υπήρξε έλλειψη σταφυλιών λόγω προσβολής από φυλλοξήρα στη Δυτική Ευρώπη. Η ραγδαία ανάπτυξη της σταφίδας συνεχίστηκε έως τις αρχές του 20ου αιώνα, όπου επήλθε κατακρήμνιση της αξίας της λόγω της ένταξης ξένων χωρών στην παραγωγή της, ενώ η ζήτηση από τη Γαλλία σημείωσε σημαντική πτώση λόγω επιβολής δασμών στην εισαγωγή της και λόγω απαγορεύσεων παραγωγής οίνων από σταφίδα. Στις επόμενες δεκαετίες η έκταση της Ελλάδας αυξάνεται, όπως και η έκταση των αμπελώνων της, φτάνοντας στα 2.000.000 στρέμματα. Η εμφάνιση και η έξαρση της φυλλοξήρας από την Μακεδονία σε όλη την Ελλάδα οδήγησε σε σημαντική μείωση των εκτάσεων της αμπέλου. Ωστόσο έπειτα από τον εμβολιασμό των πρέμων με αμερικάνικο υποκείμενο ξεκίνησε μια σταδιακή ανοδική πορεία (Τσακίρης, 2010).

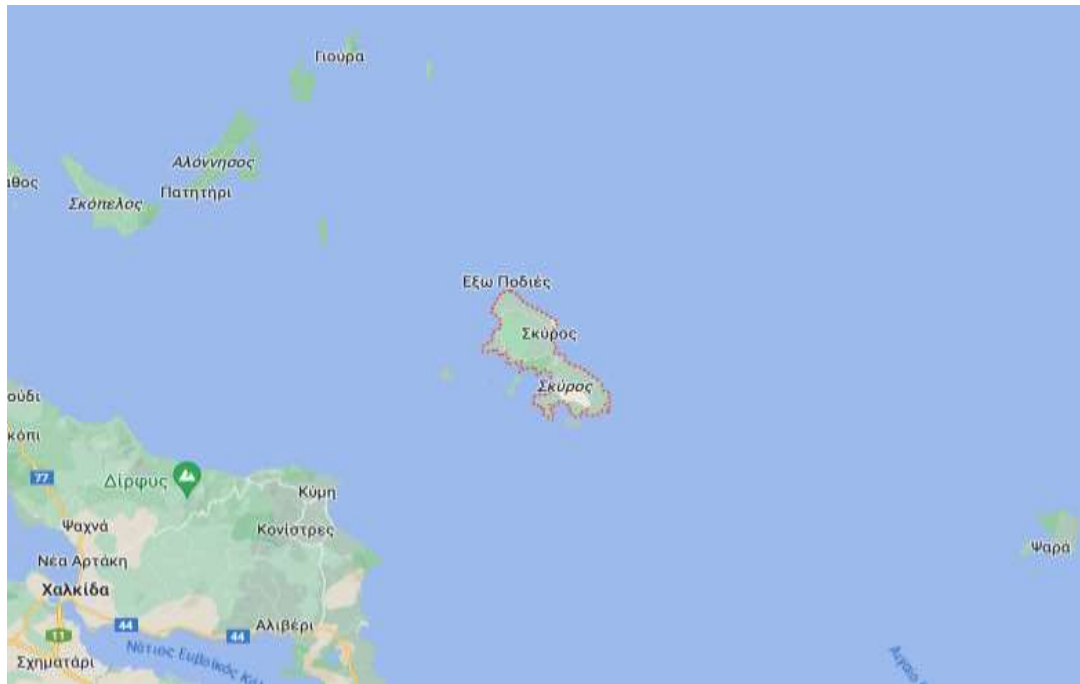
### **1.1.3 Η Σκύρος και η ιστορία της αμπέλου στο νησί**

Η Σκύρος είναι ανατολικά της Εύβοιας (Εικ. 1.1) και γεωγραφικά ανήκει στις Βόρειες Σποράδες. Διοικητικά ανήκει στην Περιφέρεια Στερεάς Ελλάδας και στην Περιφερειακή Ενότητα Ευβοίας. Πρόκειται για ένα νησί με έκταση περίπου 209,5 km<sup>2</sup> και μήκος ακτών περίπου 134 km.

Η Σκύρος έχει μεσογειακό κλίμα με θερμοκρασία που κυμαίνεται κατά μέσο κατά τη διάρκεια του έτους στους 17°C. Είναι στο σύνολο της ένα ορεινό νησί με βραχώδη εδάφη. Παρατηρώντας τον χάρτη του νησιού, διακρίνεται ότι η νοτιοανατολική πλευρά του νησιού είναι η πιο ορεινή με πιο έντονο ανάγλυφο, καθώς εκεί βρίσκονται τα όρη Κόχυλας (με ύψος 793 m), Κουμάρι, Πιριώνες και Φανόφτης. Βορειοδυτικά, τα όρη έχουν χαμηλότερο υψόμετρο (Αφάνες, Μάρμαρο), ενώ παρουσιάζονται πεδινές εκτάσεις. Κεντρικά, το νησί έχει

τα όρη Προφήτης Ηλίας και Μονή Κάμπος τα οποία, όπως και τα βουνά στη βορειοδυτική πλευρά, δεν έχουν ιδιαίτερα μεγάλο υψόμετρο.

Ο πληθυσμός του νησιού, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της απογραφής 2021, ανέρχεται στους 2 913 κατοίκους (1 522 άνδρες και 1 391 γυναίκες), σημειώνοντας συγκριτικά με το 2011 μια μικρή μείωση από τους 2994 κατοίκους (ΕΛΣΤΑΤ, 2021).



Εικόνα 1.1 Χάρτης Σκύρου (Πηγή:Google maps)

Στη Σκύρο υπάρχουν καταγεγραμμένα στοιχεία για την καλλιέργεια της αμπέλου εδώ και πολλούς αιώνες. Σύμφωνα με τον Παπαγεωργίου (1909) τον 4ο αιώνα π.Χ. στους Ελευσίνιους πίνακες παρατηρούνται η ελιά και το αμπέλι στη Σκύρο. Ο Γαληνός ακόμη αναφέρει τον σκυριανό οίνο ως υδαρή και κατάλληλο κατά του πυρετού (Παπαγεωργίου, 1909). Επίσης μία σημαντική ιστορική αναφορά στην ύπαρξη της αμπέλου στο νησί είναι στην περιοχή της μονής του Αγίου Γεωργίου στην Σκύρο, όπου βρίσκεται ο ναός που λατρευόταν ο θεός Διόνυσος (ή Βάκχος). Η τοποθεσία του διονυσιακού ναού ονομάζεται Προβακκάς (Φαλτάιτς, 1939).

Στα μεταγενέστερα χρόνια (16ο αιώνα) υπήρξε μεγάλη ανάπτυξη της καλλιέργειας της αμπέλου, με σκοπό την παραγωγή άφθονου οίνου. Υπάρχουν αναφορές για εξαγωγές προς τη Ρωσία και τη Μασσαλία, γεγονός που αποδεικνύει την ύπαρξη συστηματικής καλλιέργειας της αμπέλου. Στη συνέχεια κατά την περίοδο της ελληνικής επανάστασης οι Σκυριανοί συνέχιζαν να προσφέρουν αγαθά όπως κρασί και ζώα, όμως με τις λεηλασίες που δέχτηκαν από Αρβανίτες οπλαρχηγούς, οι περιουσίες τους καταστράφηκαν, με αποτέλεσμα να χαθούν και πολλά αμπελοτόπια με τις τοπικές ποικιλίες (Παπαγεωργίου, 1909).

Έως σήμερα δεν έχει γίνει κάποια καταγραφή σκυριανής ποικιλίας αμπέλου στην αμπελογραφική συλλογή του ΙΕΛΥΑ του ΕΛΓΟ- ΔΗΜΗΤΡΑ, που φιλοξενεί περισσότερες από 900 ποικιλίες αμπελιού, γηγενείς (550) και ξενικές, αλλά ούτε και στη βάση δεδομένων του Greek Vitis Database (ΙΕΛΥΑ, 2022).

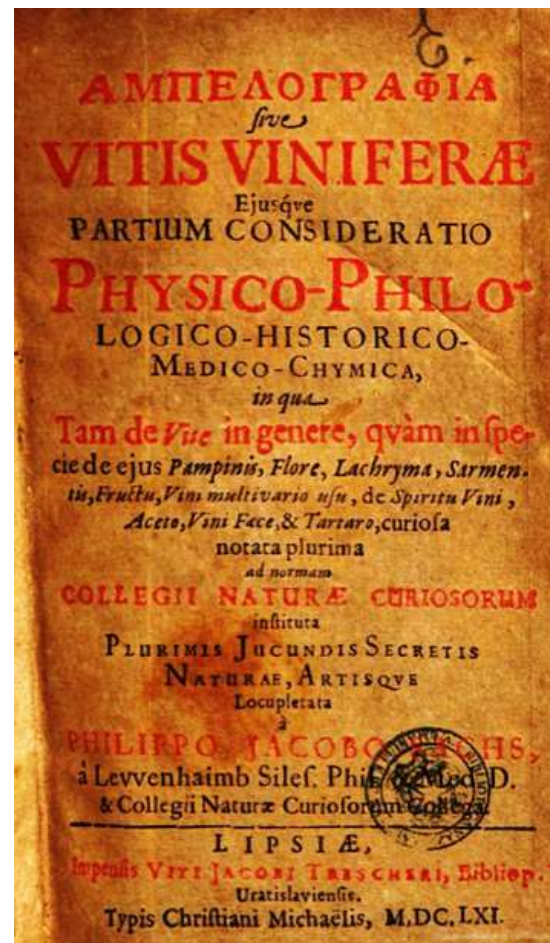
## 1.2 Αμπελογραφική Περιγραφή

### 1.2.1 Ορισμός της Αμπελογραφίας

Ο Σταύρακας (2010) ορίζει την Αμπελογραφία ως εξής: «Η Αμπελογραφία είναι ο κλάδος της Αμπελουργίας που έχει ως αντικείμενο τη μελέτη και την περιγραφή των χαρακτήρων και των ιδιοτήτων των ειδών, ποικιλιών ή κλώνων της αμπέλου. Ειδικότερα ασχολείται με την περιγραφή και βαθμολόγηση σε ένα σύστημα, διεθνές αποδεκτό, των κυριότερων εξωτερικών χαρακτηριστικών ορισμένων οργάνων της αμπέλου, όπως φύλλων, βλαστών, σταφυλιών, ραγών κ.α. .»

Ο όρος της Αμπελογραφίας πρωτοεμφανίστηκε ως τίτλος στο βιβλίο “ΑΜΠΕΛΟΓΡΑΦΙΑ sive VITIS VINIFERAE” (Εικ. 1.2), του φυσιολόγου γιατρού Philip Jacob Sachs Von Lowenheim (1627 - 1672), στην Λειψία της Γερμανίας το 1661 όπου αναφέρει περιγραφές για διάφορα όργανα της αμπέλου. Ο όρος προδιαθέτει από γλωσσικής άποψης την περιγραφή της αμπέλου, επί της ουσίας όμως διακρίνει τις καλλιεργούμενες ποικιλίες μεταξύ τους.

Η Αμπελογραφία χωρίζεται σε δύο κλάδους την Ειδική και Γενική Αμπελογραφία. Ως αντικείμενο της Ειδικής είναι η μονογραφία των καλλιεργούμενων ποικιλιών και κλώνων, ενώ στην Γενική αναφέρεται στην οικογένεια των Αμπελίδων (*Vitaceae*), των γενών και των ειδών της εστιάζοντας στο γένος *Vitis*, τα είδη του και τις καλλιεργούμενες μορφές τους (Σταύρακας, 2010).



Εικόνα 1.2 Εξώφυλλο από το “ΑΜΠΕΛΟΓΡΑΦΙΑ sive Vitis vinifera” (Πηγή: [books.google.gr](https://books.google.gr))

## 1.2.2 Έννοια και περιεχόμενο της σύγχρονης Αμπελογραφίας

Η σύγχρονη Αμπελογραφία μελετάει τα χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες των ποικιλιών και των ειδών της αμπέλου, με σκοπό όχι μόνο την ταξινόμηση, αλλά και την αξιολόγηση τους από οικονομικής, περιβαλλοντικής και καλλιεργητικής άποψης για την αξιοποίηση τους εντός της παραγωγικής αμπελουργίας (Σταυρακάκης, 2004).

Η Αμπελογραφία μπορεί να διακριθεί σε τρεις τομείς, όπου κάθε τομέας ακολουθεί διαφορετική μεθοδολογία προσέγγισης των ποικιλιών (Νταβίδης, 1982):

- **Αμπελογραφική Περιγραφή:** Στοχεύει στην ταξινόμηση των ποικιλιών μέσω των μορφολογικών χαρακτηριστικών που παρατηρούνται στον κάθε κλώνο, δηλαδή σε φυτά με τον ίδιο γονότυπο.
- **Συγκριτική Αμπελογραφία:** Αφορά την μελέτη προβλημάτων σύγχυσης λόγω διαφορετικών ονομάτων των ποικιλιών σε ξεχωριστές περιοχές και ερευνά την πολυκλωνική σύνθεση των ποικιλιών μέσω σύγκρισης των εξωτερικών χαρακτηριστικών και την ιδιαιτερότητα στην καλλιέργεια.
- **Πειραματική Αμπελογραφία:** Περιλαμβάνει την προσδιορισμό της προέλευσης ποικιλιών αμπέλου με εφαρμογή μεθόδων που βασίζονται στη γενετική, τη φυτογεωγραφία καθώς και σε στοιχεία που μπορούν να συλλεχθούν από ιστορικές πηγές.

## 1.3 Συστηματική της Αμπέλου

Η Αμπελος (*Vitis*) υπάγεται στην οικογένεια των Αμπελίδων (*Vitaceae* ή *Ampelidae*). Η οικογένεια των Αμπελίδων εν συνεχεία περιέχει δεκατέσσερα γένη και ανήκει στην τάξη *Rhamnales*, στο φύλο *Terebinthales-Rubiales* (Σταυρακάκης, 2004). Η τάξη *Rhamnales* είναι μια από τις επτά τάξεις που περιλαμβάνονται στο φύλο *Terebinthales - Rubiales*. Στην τάξη *Rhamnales* περιλαμβάνονται οι οικογένειες των *Vitaceae*, των *Rhamnaceae* και *Leeaceae* (Νταβίδης, 1982).

Το γένος *Vitis* χωρίζεται σε 2 υπογένη, το *Euvitis* με 38 χρωμοσώματα και το *Muscadinia* με 40 χρωμοσώματα. Στο υπογένος *Euvitis* ο προσδιορισμός των ειδών του είναι ανακριβείς (πάνω από 80 είδη) λόγω του μεγάλου πλήθους αυτών των ειδών παγκοσμίως τα οποία συνεχίζουν να αυξάνονται. Το *Euvitis* συμπεριλαμβάνει και κάποια είδη της Βόρειας Αμερικής τα οποία χρησιμοποιούνται με σημαντικότερο σκοπό την παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού. Πιο συγκεκριμένα παράγονται υποκείμενα για την ευρωπαϊκή άμπελο τα οποία εκ φύσεως είναι ανθεκτικά στην ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας

(Σταυρακάκης κ.α., 2000). Στο υπογένος *Muscadinia* όμως περιλαμβάνονται τρία είδη: το *V. Munsoniana Simpson*, *V. Rotundifolia* και το *V. Popenoei*. Τα οποία μελετώνται όπως το *V. Rotundifolia* για την μεγάλη αντοχή τους σε ένα εύρος ασθενειών (νηματώδεις, φυλλοξήρα) ώστε να εξαχθούν συμπεράσματα σε έρευνες βελτίωσης. Βέβαια διασταυρώσεις μεταξύ των ειδών των δύο υπογενών είναι εξαιρετικά δύσκολη και επιτυγχάνεται μόνο υπό συγκεκριμένους όρους.

Το είδος *Vitis vinifera* είναι το πιο σημαντικό ανάμεσα στα είδη της οικογένειας των Αμπελίδων και περιλαμβάνει τρία υποείδη το *Vitis caucásica*, *Vitis vinifera silvestris* και το *Vitis vinifera sativa*. Υφίσταται μία διαμάχη στο εάν το *Vitis vinifera silvestris* και το *Vitis vinifera sativa* είναι πράγματι διαφορετικά υποείδη ή απλά μία ποικιλία μορφών του ίδιου είδους (Σταυρακάκης, 2000). Η ευρωπαϊκή άμπελος ή άμπελος η οиноφόρος (*Vitis vinifera*) είναι το κυριότερο είδος παραγωγής αμπελουργικών προϊόντων παγκοσμίως και περιλαμβάνει πάνω από 8.000 γνωστές ποικιλίες. Στο κλάδο της παραγωγικής αμπελουργίας οι ποικιλίες των ειδών του γένους *Vitis* κατηγοριοποιούνται με γνώμονα την χρήση για την οποία προορίζονται τα προϊόντα τους (Σταυρακάκης, 2004):

1. Ποικιλίες οινοποιίας για τη παραγωγή οίνων και οινικών αποσταγμάτων ή αποσταγμάτων στέμφυλων
2. Ποικιλίες σταφιδοποιίας για τη παραγωγή σταφίδας μετά την αποξήρανση των σταφυλιών
3. Ποικιλίες επιτραπέζιων σταφυλιών για τη παραγωγή σταφυλιών προς νωπή κατανάλωση
4. Ποικιλίες κατάλληλες για τη παραγωγή χυμού σταφυλής
5. Ποικιλίες κατάλληλες για την παραγωγή σταφυλιών προς κονσερβοποίηση
6. Είδη και ποικιλίες για την παραγωγή πολλαπλασιαστικού υλικού (υποκείμενα) ανθεκτικού στην ριζόβια μορφή της φυλλοξήρας

Η έκτη κατηγορία αφορά είδη και ποικιλίες της Βόρειας Αμερικής, υποκείμενα προς εμβολιασμό ευρωπαϊκών αμπελιών. Όλες οι υπόλοιπες κατηγορίες αφορούν την ευρωπαϊκή άμπελο (Σταυρακάκης, 2004).



### 1.3.1 Διάκριση και ταξινόμηση των ποικιλιών της αμπέλου

Η διάκριση και η ταξινόμηση των ποικιλιών της αμπέλου παρουσιάζει σημαντικές δυσκολίες, όπως είναι ο μεγάλος αριθμός ποικιλιών που αριθμεί. Σύμφωνα με τους Viala και Vermorel (1910) υπολογίστηκαν περισσότερα από 24.000 ονόματα ποικιλιών ή συνώνυμα και σύμφωνα με τους επαγγελματίες του κλάδου να αναφέρουν πάνω από 7.000 καλλιεργήσιμες ποικιλίες της ευρωπαϊκής αμπέλου (Viala and Vermorel, 1910). Ο τεράστιος αριθμός ποικιλιών και ονομάτων αντικατοπτρίζει τους αιώνες ύπαρξης, καλλιέργειας της αμπέλου, την γεωγραφική εξάπλωση της αμπέλου η οποία άρχισε σύμφωνα με τους παλαιοντολόγους πριν την ύπαρξη του ανθρώπου στην Γη, τις μεταλλάξεις λόγω περιβαλλοντολογικών συνθηκών και τέλος τις διασταυρώσεις είτε από την φύση είτε μέσω τεχνογνωσίας του ανθρώπου (Σταυρακάκης, 2004).

Η ταξινόμηση της οиноφόρου αμπέλου ξεκίνησε το 1777 από τον Helbling, όπου χώρισε τις ποικιλίες σε τρεις ομάδες με δύο υποομάδες ανάλογα με το χρώμα (λευκές, ροδόχρωμες και ερυθρές ) και το σχήμα των ραγών (στρογγυλές και επιμήκεις) αντίστοιχα. Από τις αρχές του 19<sup>ου</sup> αιώνα μέχρι τα μέσα του αιώνα ξεκίνησαν εντατικές προσπάθειες αμπελογραφικής περιγραφής λόγω της έναρξης εξάπλωσης ασθενειών όπως η φυλλοξήρα και ο περονόσπορος με σκοπό την εύρεση ειδών αμπέλου τα οποία είχαν χαρακτηριστικά που τα έκαναν ανθεκτικά στα προαναφερθέντα παθογόνα (Νταβίδης, 1982).

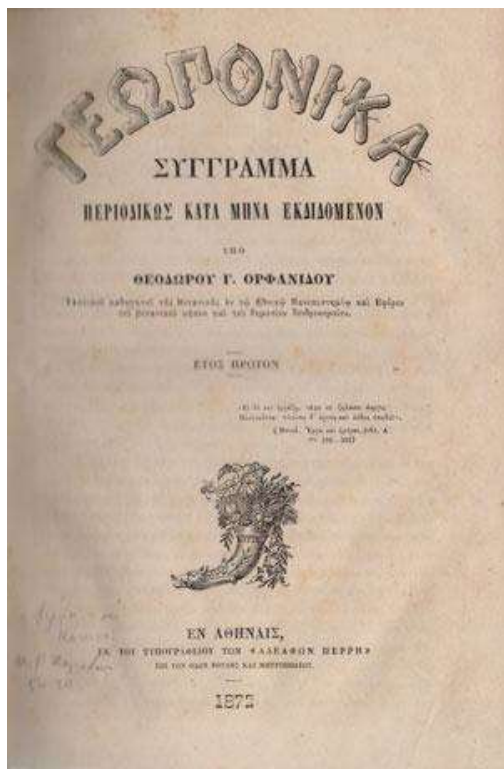
Αναφορικά οι Frege και Don Simon Rohas την πρώτη δεκαετία του 19<sup>ου</sup> αιώνα προχώρησαν σε ταξινόμηση βάση της ράγας ο πρώτος και βάση του χνοασμού και τον καλλιεργητικών ιδιοτήτων ο δεύτερος (Σταύρακας, 2010). Στην συνέχεια της πορείας του αιώνα εντάχθηκαν στις αμπελογραφικές μελέτες και άλλοι χαρακτήρες, όπως το σχήμα της ράγας, του φύλλου ακόμα και η γεύση των σταφυλιών. Ο Herman Goethe εφάρμοσε την μέτρηση γωνιών στις κύριες νευρώσεις των φύλλων της αμπέλου ( Νταβίδης 1982).

Οι Acerbi και Milano και άλλοι ερευνητές στις αρχές του 19<sup>ου</sup> αιώνα ενέταξαν τα παραπάνω χαρακτηριστικά μαζί με την πυκνότητα του σταφυλιού ώστε να κατατάξουν τις ποικιλίες σε τάξεις και κλάσεις (Σταύρακας, 2010). Σύμφωνα με τον Σταύρακας (2010), τις επόμενες δεκαετίες ο Rovasenda ένταξε στους χαρακτήρες ταξινόμησης τον χνοασμό ή όχι στο φύλλο όπως και το είδος του χνοασμού. Στην συνέχεια νέοι ερευνητές όπως ο Oberlin υιοθέτησαν χαρακτήρες όπως τον χνοασμό στα φύλλα. Για περίπου έναν αιώνα οι Gasparin, Pulliat και Λογοθέτης θεωρούσαν την εποχή ωρίμανσης των σταφυλιών ως σημαντικό χαρακτήρα όπου και στήριζαν τα συστήματά τους (Σταυρακάκης 2004). Ο Ravaz συνέχισε βασίζοντας την μέθοδο του στους μορφολογικούς χαρακτήρες (τύπος ελίκων, σχήμα και

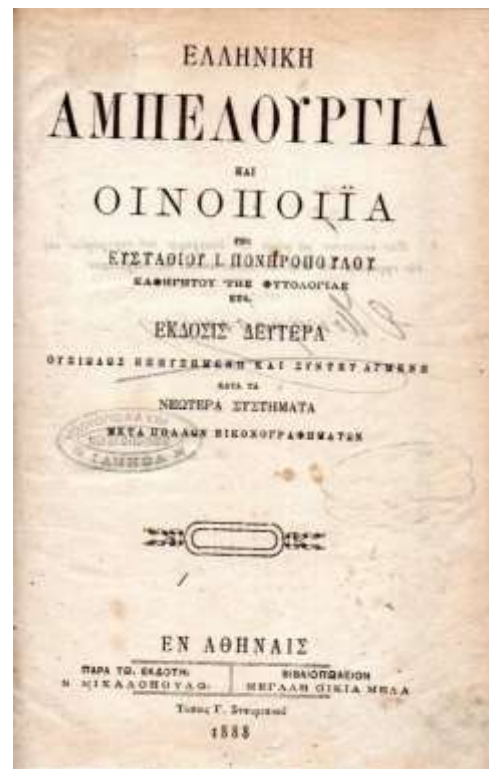
χνοασμός ή μη των φύλλων, αποκόλληση φλοιού) κατέταξε τις ποικιλίες και των νόθων ειδών της Β. Αμερικής (Ravaz, 1902). Το σύστημα αυτό ανέπτυξε περισσότερο ο Galet το 1952 και το 1964 (Σταυρακάκης 2000).

Το σύστημα ταξινόμησης του Galet χωρίζεται ως εξής (Σταυρακάκης, 2004):

- I. Φαινοτυπική ταξινόμηση:** Βάση μορφολογικών χαρακτήρων όπως των νεαρών βλαστών των φύλλων και επιπρόσθετα των σταφυλιών και των ραγών.
- II. Γεωγραφική ταξινόμηση:** Ανάλογα τις κλιματικές απαιτήσεις και την γεωγραφική τοποθεσία της κάθε ποικιλίας.
- III. Φαινολογική ταξινόμηση:** Διακρίνεται σε διαφορές στα στάδια της έναρξης της άνθησης, την έναρξη ή πλήρη έκπτυξη των λανθανόντων οφθαλμών, έναρξη ωρίμανσης και πλήρης ωρίμανση.
- IV. Αμπελομετρική ταξινόμηση:** Αφορά τις γωνίες που σχηματίζουν οι κύριες και δευτερεύουσες νευρώσεις του φύλλου και στην μορφή του ελάσματος.



Εικόνα 1.3 Εξώφυλλο του επιστημονικού περιοδικού «Γεωπονικά Συγγράμματα» (Πηγή: [alfeiosbooks](http://alfeiosbooks))



Εικόνα 1.4 Εξώφυλλο του έργου «Ελληνική Αμπελοργία και Οινοποιΐα» (Πηγή: [gezerlisbooks](http://gezerlisbooks))

Στον Ελλαδικό χώρο, ο πρώτος που προσπάθησε να οριοθετήσει και να ταξινομήσει τις ποικιλίες αμπελιού ήταν ο βοτανολόγος Ορφανίδης (1876), στο επιστημονικό περιοδικό *Γεωπονικά* (6 τόμοι – έτη κυκλοφορίας, 1872-1876) (Εικ. 1.3). Διέκρινε περισσότερες από

500 ελληνικές ποικιλίες και τις διαχώρισε σε κλάσεις και τάξεις ανάλογα με το χρώμα και το σχήμα των ραγών. Μια δεκαετία αργότερα ο καθηγητής φυτολογίας Πονηρόπουλος (1888) αναφέρει στο έργο του *Ελληνική Αμπελουργία και Οινοποιία* (Εικ. 1.4) την ύπαρξη 200 ελληνικών ποικιλιών και τη διάκριση 30 περίπου ποικιλιών οινοποιίας και 170 ποικιλιών βρώσιμων σταφυλιών.

Ο Κριμπάς (1938) πρότεινε την ταξινόμηση των καλλιεργούμενων ποικιλιών βασιζόμενες σε ένα σταθερό σε σχέση χαρακτήρα, αυτό του μήκους της ράγας προς το μήκος του γιγάρτου, συμπεριλαμβανομένου του χρώματος της ράγας και μορφολογικών χαρακτήρων του φύλλου. Με αυτό το σύστημα ταξινόμησης και διάκρισης που ανέπτυξε ο Κριμπάς μέσα σε λιγότερο από μια δεκαετία περιέγραψε αμπελογραφικά ένα σημαντικό αριθμό ελληνικών ποικιλιών (Κριμπάς, 1938).

Το 1960 οι Λογοθέτης και Βλάχος (1960) όπου ενέταξαν το σχέδιο του Ο.Ι.Υ. (1951) στο οποίο περιέγραψαν αμπελογραφικά ποικιλίες βάση των μορφολογικών και φυσιολογικών χαρακτήρων. Η πιο σύγχρονη προσπάθεια ανήκει στο Βλάχο (1991).

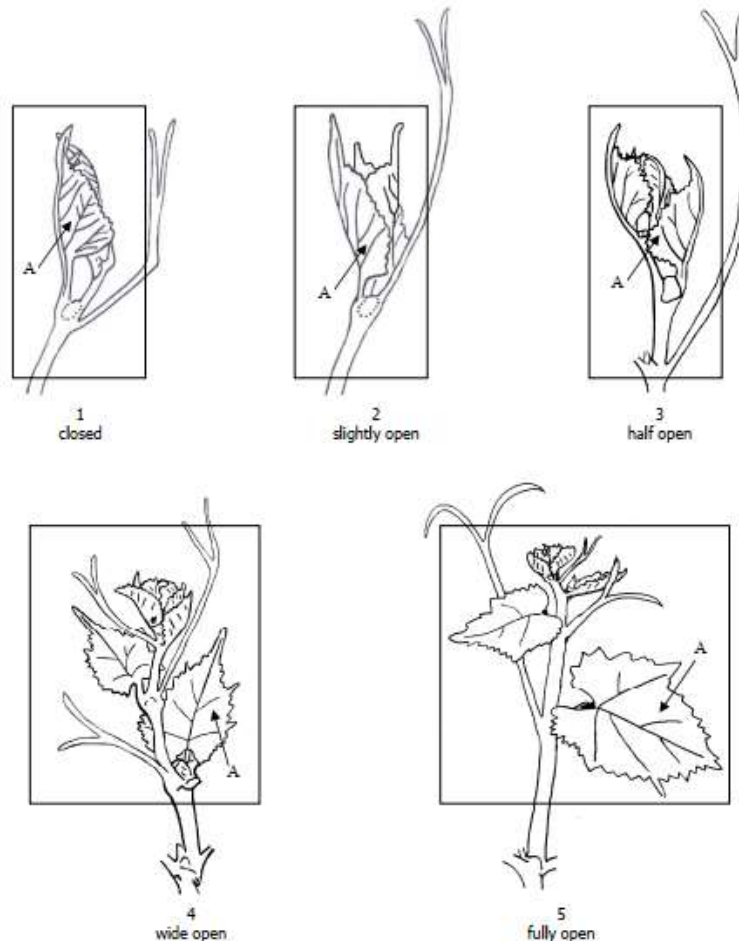
### **1.3.2 Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά των βασικών οργάνων της αμπέλου**

Όπως προαναφέρθηκε η διάκριση και ταξινόμηση των ποικιλιών προβάλλει δυσχέρειες λόγω του τεράστιου όγκου ποικιλιών αμπέλου παγκοσμίως. Σε αυτή την κατεύθυνση έδρασαν ο Ο.Ι.Υ, η Διεθνής Ένωση για την Προστασία Νέων Ποικιλιών των Φυτών (UPOV-International Union for the Protection of New Varieties of Plants) και η Διεθνής Επιτροπή Γενετικού Υλικού (IBPGR-International Board for Plant Genetic Sources) όπου παρά τον διαφορετικό τρόπο προσέγγισης του προβλήματος, δημιούργησαν έναν κοινό κώδικα τον Κώδικα Αμπελογραφικής Περιγραφής (Κ.Α.Π) για τη ταυτοποίηση, διάκριση και ταξινόμηση των ειδών και ποικιλιών της αμπέλου. Στον κώδικα αυτό κάθε χαρακτήρας έχει συγκεκριμένη ορολογία η οποία αντιστοιχεί σε ένα συγκεκριμένο αριθμό (1-9) (Σταυρακάκης, 2010).

#### **1.3.2.1 Κορυφή του βλαστού**

Αποτελείται από τον νεαρό βλαστό μήκους 10-30 εκατοστών και του κορυφαίου οφθαλμού υπό την μορφή ενός συσσωματώματος, αποτελούμενο από νεαρά φύλλα τα οποία περικλείουν λιγότερο ή περισσότερο τον κορυφαίο οφθαλμό (Νικολάου, 2012). Ανάμεσα στο χρονικό διάστημα ανάπτυξης του νεαρού βλαστού από τα 10 εκατοστά στα 30 εκατοστά λαμβάνονται τα εξής χαρακτηριστικά ως αμπελογραφικοί χαρακτήρες:

- Από το σχήμα της κορυφής (Κωδικός ΟΙV: 001). Εάν είναι κλειστό (1), όταν τα νεαρά φύλλα κλείνουν στο εσωτερικό τους ,ή αντίθετα πλήρως ανοιχτό (5). Αυτός ο χαρακτήρας έχει ως κωδικό ΟΙV το 001 όπως και κάθε χαρακτήρας πέραν της κλίμακας έντασης του έχει τον δικό του κωδικό (βλ. Εικ. 1.5).



Εικόνα 1.5 Σχήμα κορυφής (Πηγή: [cpvo.europa.eu](http://cpvo.europa.eu))

- Το χνοασμό (Κωδικός ΟΙV: 004). Προσδιορίζοντας το είδος των τριχιδίων (έρποντα ή όρθια) και την πυκνότητα των τριχιδίων.
- Έρποντα τριχίδια είναι εκείνα που έχουν μεγάλο μήκος και έρπουν πάνω στο όργανο που βρίσκονται. Σε αντίθεση με τα όρθια τα οποία έχουν μικρό μήκος και διακρίνονται επίσης από την κλίμακα σκληρότητα τους. Η πυκνότητα των ερπόντων και των όρθιων τριχιδίων κλιμακώνεται από την πλήρη απουσία τριχιδίων, αραιά τριχίδια, μέτρια πυκνά τριχίδια, πυκνά τριχίδια και την ύπαρξη πολύ πυκνών τριχιδίων. Τα αραιά έρποντα τριχίδια χαρακτηρίζονται ως αραχνοϋφής χνοασμός, τα πυκνά ως χνοώδης χνοασμός και τα πολύ πυκνά ως βαμβακώδης χνοασμός. Τα αραιά όρθια τριχίδια ως μεταξύδη ενώ τα πυκνά ως βελουδοειδή. Η μη ύπαρξη τριχιδίων οποιουδήποτε είδους χαρακτηρίζεται ως λείο (Σταυρακάκης 2010).

### 1.3.2.2 Νέα Φύλλα

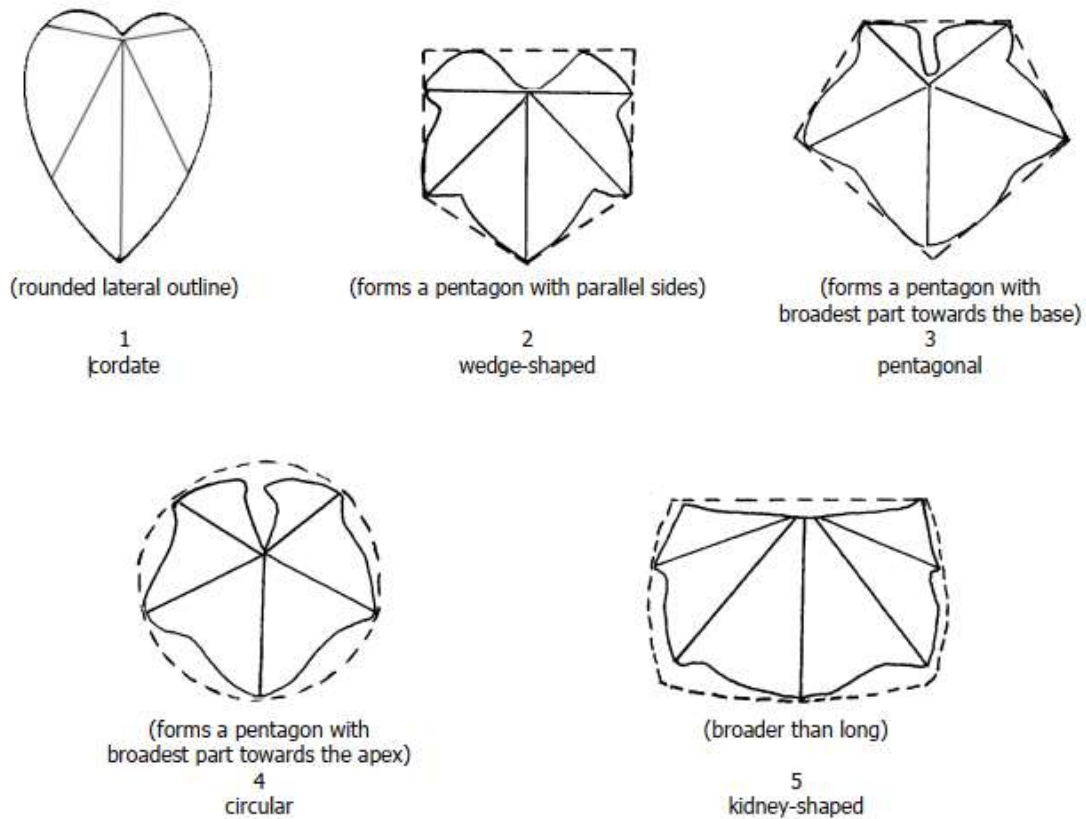
Στα πρώτα έξι φύλλα από την κορυφή προς τον κορμό του φυτού μέσω τού βλαστού τα οποία δεν έχουν αναπτυχθεί πλήρως παρατηρούνται με τους εξής χαρακτήρες (Νικολάου, 2012).

- **Χρώμα επιφάνειας (Κωδικός ΟΙΥ: 051):** 1= πράσινο, 2=κίτρινο, 3=μπρούτζινο, 4=ερυθρόλευκο
- **Πυκνότητα των ερπόντων τριχιδίων μεταξύ των νευρώσεων στα πρώτα 4 φύλλα από την κορυφή (Κωδικός ΟΙΥ: 053):** 1=απουσία ή πολύ μικρή, 2=μικρή, 5=μεσαία, 7=υψηλή, 9 =πολύ υψηλή

### 1.3.2.3 Έλικες

Η Άμπελος ως αναρριχητικό φυτό διαθέτει έλικες που βοηθούν την στήριξη και την αναρρίχηση της. Ως χαρακτήρες των ελικών παρατίθενται τα εξής (Σταυρακάκης, 2004):

- Η συνεχής ή η διαλείπουσα παρουσία τους στους κόμβους κατά μήκος του βλαστού. Ο χαρακτήρας αυτός διαιρείται σε τρεις περιπτώσεις. Στην πρώτη την συνεχής, όλοι οι κόμβοι του βλαστού έχουν έλικα εκτός αυτών της βάσης. Στην δεύτερη την διαλείπουσα, απουσιάζουν ανά τρεις κόμβους κατά σταθερό τρόπο και υπάρχουν δύο συνεχείς κόμβοι και στην τελευταία την ασυνεχή, ο αριθμός των συνεχείς κόμβων μετά από απουσία ενός έλικα σε κόμβο δεν είναι σταθερός.
- Οι διακλαδώσεις στην απόληξη του έλικα (δισχιδείς, τρισχιδείς ή και πολυσχιδείς)
- Το μήκος του ( μικρό, μέτριο και μεγάλο ).



Εικόνα 1.6 Σχήμα φύλλων (Πηγή: [cpvo.europa.eu](http://cpvo.europa.eu))

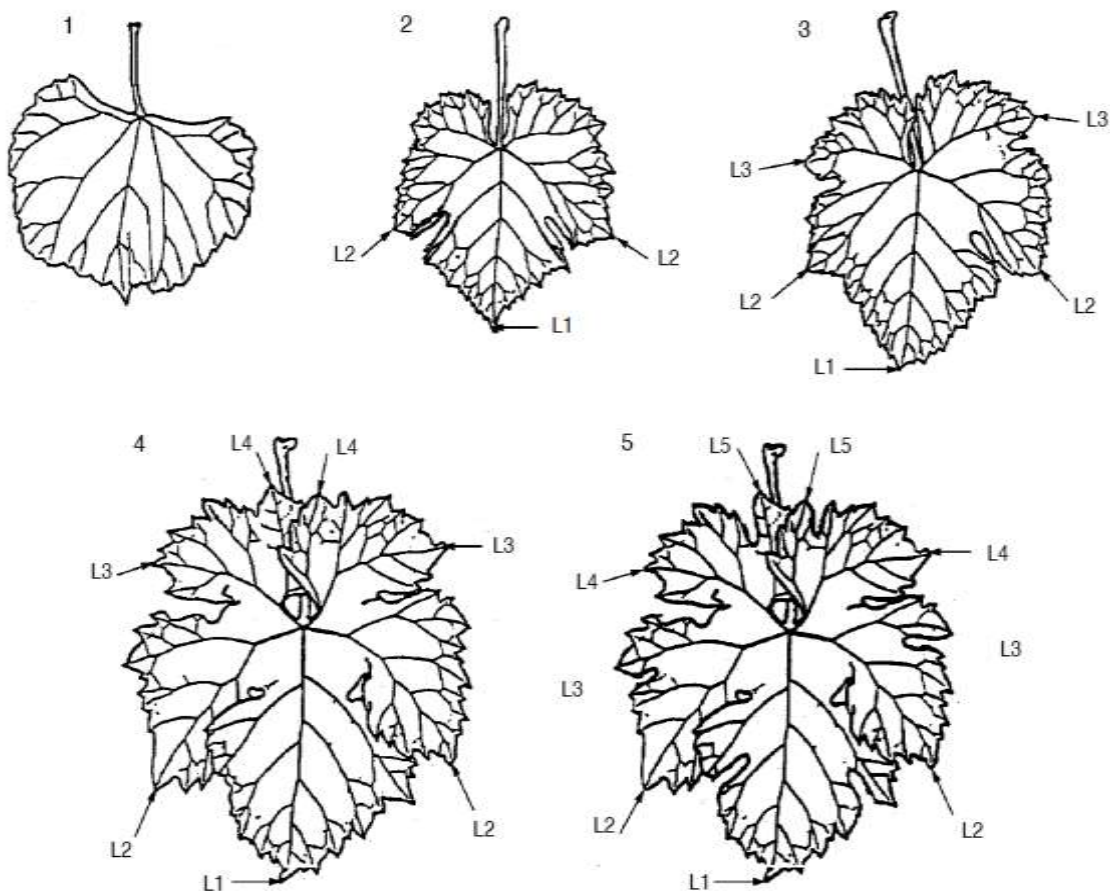
#### 1.3.2.4 Ωριμα – ανεπτυγμένα φύλλα

Η χρονική περίοδος κατά την οποία έγιναν οι παρατηρήσεις του ανεπτυγμένου φύλλου ήταν το χρονικό διάστημα από την καρπόδεση μέχρι τον περκασμό. Την περίοδο αυτή συλλέχθηκαν φύλλα από κάθε πρέμνο κάθε ποικιλίας ανάμεσα στο 8<sup>ο</sup> και 11<sup>ο</sup> φύλλο του κύριου βλαστού.

Σύμφωνα με τον Σταυρακάκη (2004):

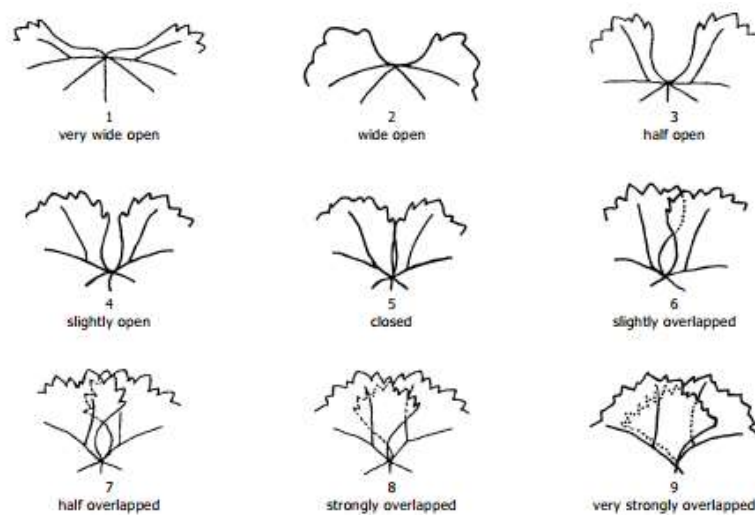
- A) Το μέγεθος του φύλλου** διακρίνεται σε μικρό, μεσαίο και μεγάλο. Η μέτρηση του μήκους του γίνεται από τον ανώτερο οδόντα ως τον κατώτερο με την βοήθεια ενός υποδεκάμετρου. ως πλάτος ορίζεται η απόσταση των πλέον απομακρυσμένων οδόντων του ελάσματος. Τέλος ως εμβαδόν ελάσματος ορίζεται το γινόμενο του μήκους επί του πλάτους, εκφρασμένο σε τετραγωνικά εκατοστά.
- B) Το σχήμα του φύλλου** είναι άμεσα εξαρτώμενο από το μήκος των κύριων νευρώσεων και τις γωνίες που σχηματίζουν μεταξύ τους. Το σχήμα μπορεί να είναι σφηνοειδές, καρδιόσχημο, πενταγωνικό, νεφροειδές και κυκλικό (Εικ 1.6). Συγκεκριμένα:
- 1. Σφηνοειδές:** το μήκος του ελάσματος είναι μεγαλύτερο από το πλάτος, η αναλογία μήκους προς πλάτος είναι 1/3.

2. **Καρδιόσχημο:** το μήκος του ελάσματος σε σχέση με το πλάτος είναι μεγαλύτερο και η αναλογία είναι μήκος προς πλάτος είναι 5.
  3. **Πενταγωνικό:** αποτελεί παραλλαγή του κυκλικού.
  4. **Κυκλικό:** Είναι σύνηθες σχήμα στις ποικιλίες *V. vinifera*, η σχέση του μήκους με το πλάτος κυμαίνεται στη μονάδα με απόκλιση 0,1.
  5. **Νεφροειδές:** Το πλάτος του ελάσματος είναι πάντα μεγαλύτερο του μήκους. Η σχέση του πλάτους με του μήκους είναι μικρότερο της μονάδας. Εξελικτικά το νεφροειδές σχήμα είναι το νεότερο σχήμα στην εξελικτική αλυσίδα. Στην διάκριση των ειδών και ποικιλιών αμπέλου σημαντικό παράγοντα αποτελεί η παρουσία ή μη κόλπων και λοβών στα φύλλα της αμπέλου.
- Γ) Αριθμός των λοβών.** Τα φύλλα διακρίνονται ανάλογα με τον αριθμό των λοβών που διαθέτουν ως εξής: 1=Ακέραια, 2=Τρίλοβα, 3=Πεντάλοβα, 4=Επτάλοβα, 5=άνω των 7 λοβών (βλ. Εικ 1.7).



Εικόνα 1.7 Αριθμός λοβών φύλλων αμπέλου (Πηγή: IPGRI *et al.*, 1997)

- Δ) Σχήμα και βάθος των κόλπων.** Όσον αφορά τους κόλπους, αμπελογραφικοί χαρακτήρες αποτελούν το σχήμα και το βάθος (βλ. Εικ 1.8). Οι συγκεκριμένοι αμπελογραφικοί χαρακτήρες επιδρούν έντονα τόσο στο σχήμα των φύλλων όσο και στο σχήμα των λοβών. Οι κόλποι διακρίνονται σε: 1=Κλειστούς, 2=Ανοιχτούς, 3=Πλατείς, 4=Στενούς
- Ε) Κύριες νευρώσεις.** Οι κύριες νευρώσεις αρχίζουν από το σημείο που ξεκινά ο μίσχος του φύλλου και καταλήγουν στο άκρο των λοβών. Οι νευρώσεις είναι η κεντρική ή μεσαία, οι δύο ανώτερες πλάγιες νευρώσεις και στις δύο κατώτερες μαζί με τις μισχικές κοντά στο μισχικό σημείο. Οι αμπελογραφικοί χαρακτήρες των νευρώσεων βρίσκονται κατά κύριο λόγο στην κάτω επιφάνεια του ελάσματος του φύλλου. Σημαντικό αμπελογραφικό χαρακτήρα των νευρώσεων αποτελεί η ύπαρξη ερπόντων ή όρθιων τριχιδίων στις νευρώσεις από την κάτω επιφάνεια του ελάσματος.



Εικόνα 1.8 Ώριμο φύλλο: διάταξη λοβών του κόλπου του μίσχου (Πηγή: [cpvo.europa.eu](http://cpvo.europa.eu))

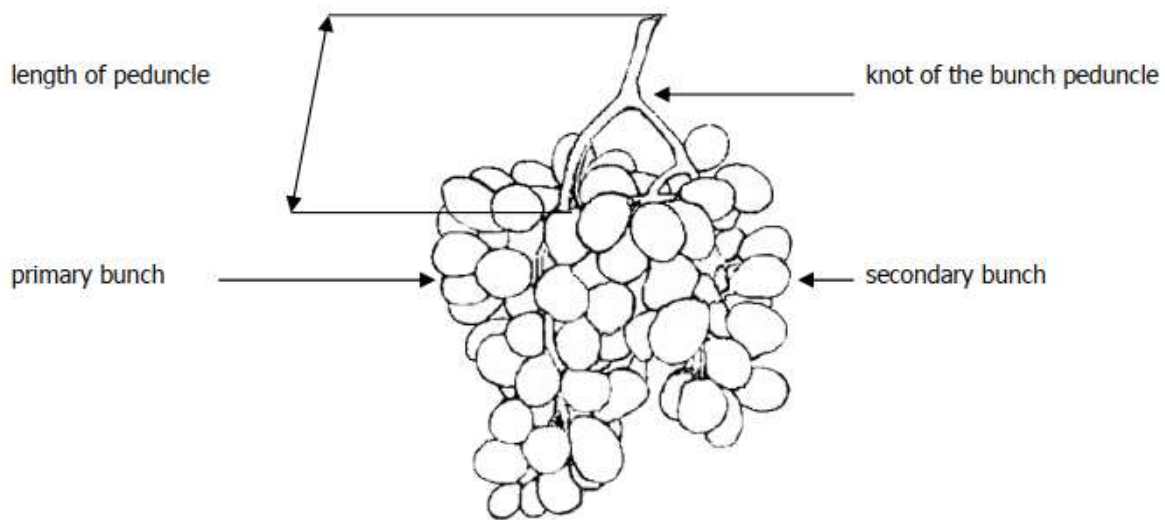
### 1.3.2.5 Σταφυλή

Οι επιστήμονες που ασχολούνται με την Αμπελογραφία παρουσιάζουν διάσταση απόψεων για το αν η σταφυλή είναι βασικό ή δευτερεύον χαρακτηριστικό για τον προσδιορισμό μίας ποικιλίας. Προβληματισμό δημιουργεί το γεγονός ότι δύο τσαμπιά σταφυλιών, ακόμη και αν ανήκουν στην ίδια ποικιλία, παρουσιάζουν μεγάλη μεταβλητότητα, χωρίς να μπορούν να δώσουν αντικειμενικά και ποσοτικά δεδομένα, ως προς το σχήμα, το μέγεθος, την πυκνότητα και τον ποδίσκο, καθώς επηρεάζονται σημαντικά από περιβαλλοντολογικούς παράγοντες (Tello and Ibanez, 2014).



Σε μία σταφυλή, ορισμένες από τις μετρήσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι το βάρος του τσαμπιού, ο αριθμός των ραγών ανά τσαμπί, ο αριθμός γιγάρτων ανά σταφύλι, το μήκος της σταφυλής, το μήκος της πρώτης διακλάδωσης (βλ. Εικ. 1.9), το μήκος του ποδίσκου, ο αριθμός των διακλαδώσεων ανά δέσμη, η πυκνότητα των σταφυλιών (Tello and Ibanez, 2014).

Αναλυτικότερα, **το σχήμα της σταφυλής** επηρεάζεται από τις πλάγιες διακλαδώσεις και από τον αριθμό τους, **το μέγεθος της σταφυλής** επηρεάζεται περισσότερο από το περιβάλλον καθώς ο συντελεστής κληρονομικότητας είναι χαμηλός. Επίσης, **χαρακτήρες** που προσδιορίζουν το μέγεθος είναι το συνολικό μήκος σε εκατοστά από την αρχή της σταφυλής (χωρίς τον ποδίσκο) έως το κάτω άκρο της και το βάρος της σταφυλής.



Εικόνα 1.9 Σταφυλή: μήκος μίσχου του πρωτεύοντος τσαμπιού (Πηγή: [cpvo.europa.eu](http://cpvo.europa.eu))

Στην παρακάτω Εικ. 1.10 παρουσιάζονται σταφυλές με διαφορετικό βάρος, χρώμα σταφυλιών, διαφορετική πυκνότητα ραγών, διαφορετικό μήκος σταφυλής.



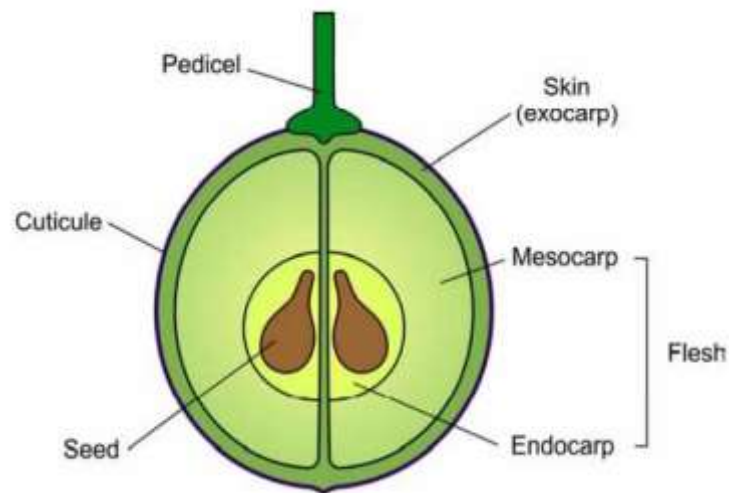
Εικόνα 1.10 Δείγματα σταφυλών από τις ποικιλίες 1=Aramon, 3=Ruby Seedless, 5=Naparo, 7= Monastrell και 9=Bobal (Πηγή: Telli and Ibanez, 2014)

Η μεγάλη πυκνότητα των ραγών σε ένα τσαμπί αποτελεί δυνητικό παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη παρασίτων και ασθενειών, όπως είναι η Ευδεμίδα (*Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller) ή ορισμένοι μύκητες που προκαλούν σήψη (*Aspergillus spp* και *Botrytis cinerea*). Η ανάπτυξη αυτών των παθογόνων οδηγεί σε μείωση της ποιότητας τόσο της πρώτης ύλης, δηλαδή των σταφυλιών, όσο και του παραγόμενου οίνου από τα σταφύλια αυτά. Ως κύρια αίτια θεωρούνται (Telli and Ibanez, 2014):

- η κακή κυκλοφορία του αέρα μεταξύ των ραγών
- η μικρή ή ελάχιστη έκθεση των ραγών που βρίσκονται στο εσωτερικό των τσαμπιών στην ηλιακή ακτινοβολία, με αποτέλεσμα η ωρίμανση του τσαμπιού να είναι ανομοιόμορφη
- η εμφάνιση μικροεκδορών σε κάποιες ράγες ή ακόμη και «άνοιγμα» ορισμένων είναι γεγονός που οδηγεί την έξοδο στο περιβάλλον θρεπτικών συστατικών.

#### 1.3.2.6 Ράγα

Τα κύρια μέρη της ράγας είναι ο φλοιός, η σάρκα και το ενδοκάρπιο, το οποίο περικλείει τα γίγαρτα (Εικ 1.11).

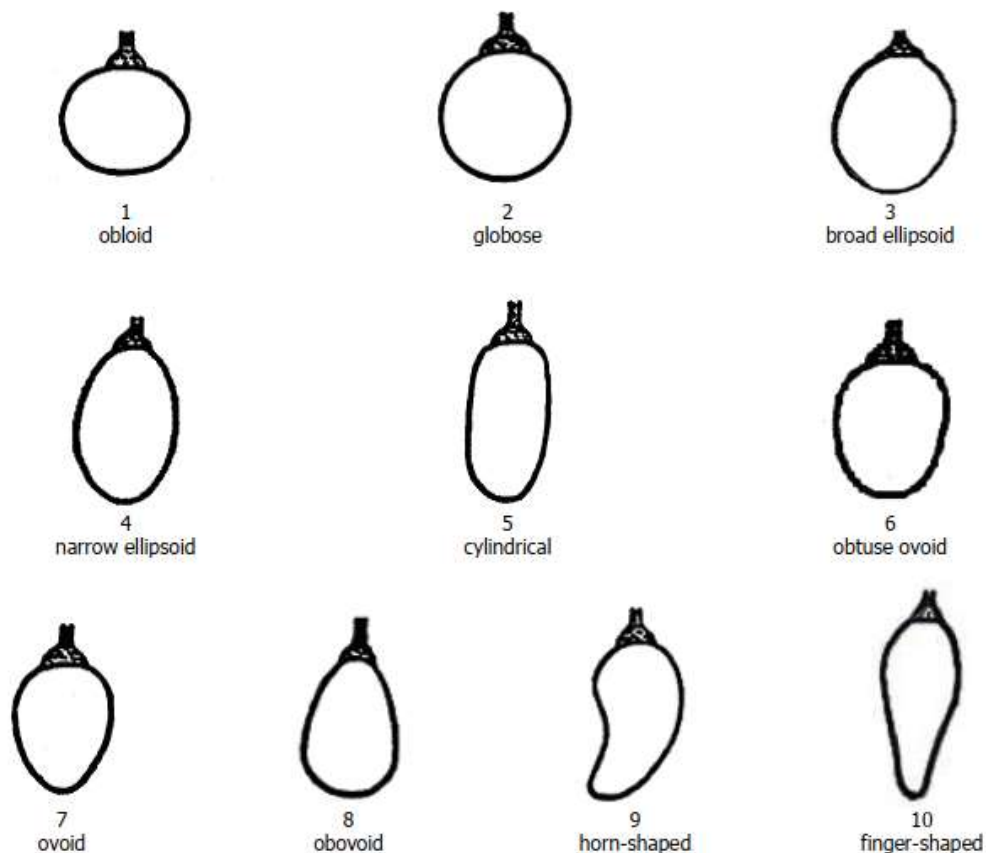


Εικόνα 1.11 Βασικά μέρη ράγας σταφυλιού (Πηγή: Conde *et al.*, 2007)

Τα κυριότερα τεχνολογικά χαρακτηριστικά που παρουσιάζει η ράγα είναι η υφή, η σύσταση, το άρωμα και η γεύση της, τα οποία μελετώνται κατά την περίοδο ωρίμανσης ώστε να προσδιοριστεί η ωρίμανση και η ημερομηνία συγκομιδής. Επίσης βασικά αμπελογραφικά χαρακτηριστικά της ράγας είναι το μέγεθος, το σχήμα, το χρώμα, η κέρινη ανθηρότητα του φλοιού (Σταυρακάκης, 2010).

Το μέγεθος της ράγας επηρεάζεται από παράγοντες όπως τα θρεπτικά υλικά που λαμβάνει από το έδαφος ή μέσω της φωτοσυνθετικής διαδικασίας, το μέγεθος και τον αριθμό των γιγάρτων, το βαθμό ωριμότητας. Για την μέτρηση του μεγέθους της ράγας απαιτούνται μετρήσεις των διαστάσεων της ράγας (μήκος, πλάτος), της μάζας, αλλά και προσδιορισμός του όγκου (Σταυρακάκης, 2010).

Το γεωμετρικό σχήμα της ράγας αποτελεί ένα τα βασικότερα αμπελογραφικά γνωρίσματα που χρησιμοποιούνται από διάφορα συστήματα ταξινόμησης των ποικιλιών. Το σχήμα των ραγών διακρίνεται σε σφαιρικό, που είναι και το πιο σύνηθες, σε δισκοειδές, ελλειψοειδές, ωοειδές, αντωοειδές, κόλουρου, κυλινδρικό, ατρακτοειδές και γαμψό (Εικ. 1.12).



Εικόνα 1.12 Σχήμα ραγών (Πηγή: [cpvo.europa.eu](http://cpvo.europa.eu))

### 1.3.2.7 Γίγαρτα

Τα γίγαρτα έχουν τρεις αμπελογραφικούς χαρακτήρες, σχήμα, μέγεθος (κοντό, μεσαίο, μακρύ) και αριθμός στη ράγα. Μετρήσεις για αυτά τα χαρακτηριστικά λαμβάνουν χώρα κατά την περίοδο ωρίμανσης της ράγας.

### 1.3.3 Τεχνολογικά χαρακτηριστικά γλεύκους

Δύο από τα βασικότερα τεχνολογικά χαρακτηριστικά, που συνηθίζεται να υπολογίζονται, είναι **η σακχαροπεριεκτικότητα και ολική οξύτητα**.

**A) Περιεκτικότητα του γλεύκους σε σάκχαρα (Κωδικός ΟΙV: 505):** Η μέτρηση των σακχάρων στο σταφύλι ξεκινά μετά τον περκασμό συνήθως με την χρήση διαθλασίμετρου, το οποίο διαθλά το φως που διέρχεται από το διάλυμα του γλεύκους και με την αυτόματη διόρθωση θερμοκρασίας μας δίνει την περιεκτικότητα των σακχάρων του γλεύκους. Όταν το διαθλασίμετρο μετρά σε βαθμούς Brix, οι βαθμοί Brix μας δίνουν την περιεκτικότητα των σακχάρων εκφρασμένα σε γραμμάρια σακχαρόζης ανά 100 γραμμάρια διαλύματος. Δηλαδή είναι ένας δείκτης (% w/w).

**B) Ολική οξύτητα εκφρασμένη σε γραμμάρια τρυγικού οξέος / λίτρο γλεύκους (Κωδικός ΟΙV: 506):** Η ολική οξύτητα ταξινομείται ανάλογα την περιεκτικότητας της σε γραμμάρια τρυγικού οξέος ανά λίτρο γλεύκους σε:

- πολύ χαμηλή (3 g/l γλεύκους )
- χαμηλή (6 g/l γλεύκους)
- μέτρια (9 g/l)
- υψηλή (12 g/l)
- πολύ υψηλή (15 g/l)

## 1.4 Μοριακή ταυτοποίηση

Έχει υπολογισθεί ότι πολυάριθμες ποικιλίες αμπέλου καλλιεργούνται συστηματικά σε όλο τον κόσμο. Ορισμένες είναι αποκλειστικά οινοποιήσιμες ποικιλίες (~9.500), άλλες είναι αποκλειστικά επιτραπέζιες (~4.500), κάποιες μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε για οινοποίηση είτε για άμεση κατανάλωση ως νωπός καρπός (~1.200), ενώ ένας σημαντικά μικρότερος αριθμός ποικιλιών (~110) είναι κατάλληλες ώστε ο καρπός να οδηγηθεί σε ξήρανση και καταναλώνονται ως σταφίδα. Νέες ποικιλίες αμπέλου με βελτιωμένα χαρακτηριστικά απόδοσης και ποιότητας καρπού, αλλά και αυξημένη αντοχή σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως υψηλή θερμοκρασία ή μικρή διαθεσιμότητα νερού, δημιουργούνται με την ελεγχόμενη διασταύρωση παλαιότερων ποικιλιών.

Η φερέγγυα αναγνώριση της ταυτότητας των ποικιλιών αποτελεί ένα κρίσιμο εγχείρημα το οποίο συναντά δυσκολίες στην υλοποίησή του.

### 1.4.1 Βιοχημικές μέθοδοι

Μέχρι πρότινος, η αναγνώριση της ταυτότητας μιας ποικιλίας αμπέλου στηρίζονταν στη λεπτομερή παρατήρηση και καταγραφή των φαινοτυπικών (αμπελογραφικών) χαρακτηριστικών της ποικιλίας. Ωστόσο, τα χαρακτηριστικά αυτά επηρεάζονται από παράγοντες όπως το περιβάλλον, η φυτοϋγεία του πρέμνου, και οι καλλιεργητικές εργασίες που επιδέχεται η καλλιέργεια (This *et al.*, 2004). Συνυπολογίζοντας τον τεράστιο αριθμό των ποικιλιών, το εγχείρημα της αναγνώρισης της ταυτότητας των ποικιλιών στη βάση των διαφορών στον φαινότυπο καθίσταται δύσκολο και προϋποθέτει μεγάλη εμπειρία η οποία αποκτάται μετά από χρόνια εξάσκησης (This *et al.*, 2004).

Προκειμένου να απλοποιηθεί η διαδικασία της αναγνώρισης, επινοήθηκαν εναλλακτικές μέθοδοι. Η ανάπτυξη του γνωστικού αντικειμένου της Βιοχημείας κατά το δεύτερο ήμισυ του εικοστού αιώνα, παρείχε αυτές τις εναλλακτικές εφαρμογές. Από τη δεκαετία του 1970 εφαρμόστηκαν μέθοδοι που βασίστηκαν στη βιοχημική σύσταση των ιστών των ποικιλιών: οι μελέτες για τη διάκριση και ταυτοποίηση των ποικιλιών με βιοχημικές μεθόδους βασίζονται στην ανάλυση των πρωτεϊνών των φυτικών ιστών. Συνήθως, η γύρη αποτελεί το φυτικό υλικό από το οποίο απομονώνεται το πρωτεϊνικό σύνολο, και στη συνέχεια, με εφαρμογή της ηλεκτροφόρησης<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Ηλεκτροφόρηση είναι μια μέθοδος διαχωρισμού σωματιδίων που είναι φορτισμένα με ηλεκτρικό φορτίο. Κατά την ηλεκτροφόρηση εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο και τα σωματίδια που είναι τοποθετημένα μέσα σε γέλη (από άμυλο, αгарόζη ή ακρυλαμίδιο) κατευθύνονται από το αρνητικό προς το θετικό ηλεκτρόδιο με διαφορετική ταχύτητα, η οποία εξαρτάται από τη μάζα, το σχήμα και το φορτίο τους. Τα σωματίδια διαχωρίζονται κατά την ηλεκτροφόρηση και ταυτοποιούνται με τη βοήθεια χρωστικών ουσιών στη γέλη (Jahnke *et al.*, 2012).

Μια από τις πιο συνηθισμένες εφαρμογές της μεθόδου αποσκοπεί στη μελέτη των ισοενζύμων. Τα ισοένζυμα είναι ένζυμα, δηλαδή μόρια πρωτεϊνικής φύσεως, που επιτελούν την ίδια λειτουργία αλλά κωδικοποιούνται από διαφορετικά γονίδια.

Η πρώτη δημοσιευμένη εφαρμογή της μεθόδου στην άμπελο εμφανίστηκε στη διεθνή βιβλιογραφία το 1976 και αφορούσε τη μελέτη επτά ισοενζυμικών συστημάτων που απομονώθηκαν από ώριμες ράγες. Βρέθηκε ότι τα τέσσερα από αυτά τα συστήματα ήταν αρκετά για τον διαχωρισμό των υπό μελέτη ποικιλιών (Wolfe, 1976).

Στην Ελλάδα, η μέθοδος εφαρμόστηκε κατά τη δεκαετία του 1980 σε πλειάδα ποικιλιακών ομάδων, όπως για παράδειγμα, μεταξύ άλλων, στην ομάδα ποικιλιών «Αετονύχια» (Stavrakakis and Loukas, 1984), στην ομάδα ποικιλιών «Ασπρούδια» (Stavrakakis and Loukas, 1985), και στην ομάδα ποικιλιών «Μαυρούδια» (Stavrakakis, 1990), προκειμένου να προσδιορίσει το βαθμό συγγένειας μεταξύ των μελών της κάθε ομάδας.

Ωστόσο, η εφαρμογή της μεθόδου κατέδειξε την περιορισμένη διακριτική της ικανότητα η οποία οφείλεται σε ποιοτικές και ποσοτικές μεταβολές στο ηλεκτροφόρημα εξαιτίας της διαφορετικής πρωτεϊνικής σύνθεσης του συλλεγμένου ιστού που, με τη σειρά του, επηρεάζεται από το αναπτυξιακό στάδιο του πρέμνου.

#### **1.4.2 Διάκριση και ταυτοποίηση ποικιλιών με μοριακές μεθόδους**

Η συνέχεια ήρθε όταν υιοθετήθηκε η τεχνολογία του DNA για τη διάκριση των ποικιλιών αμπέλου. Το DNA είναι το ίδιο σε όλα τα μέρη του φυτού σε κάθε στάδιο ανάπτυξης, οπότε η δειγματοληψία μπορεί να λάβει χώρα σε όλη τη διάρκεια του έτους. Οι μοριακοί δείκτες SSR είναι συγκεκριμένα επιλεγμένα τμήματα και επαναλαμβανόμενα μοτίβα DNA. Οι συγκεκριμένοι δείκτες δεν επηρεάζονται από περιβαλλοντικούς παράγοντες διότι αξιοποιούν τον πολυμορφισμό που παρουσιάζεται στην αλληλουχία των βάσεων του DNA. Οι SSRs είναι τμήματα αλληλουχιών του DNA που περιέχουν επαναλαμβανόμενα μοτίβα από ένα μέχρι έξι νουκλεοτιδικούς συνδυασμούς. Αυτά τα μοτίβα επαναλαμβάνονται μεταξύ πέντε έως πενήντα φορές και βρίσκονται σε αλληλουχίες που συνήθως είναι μοναδικές στο γονιδίωμα, αλλά διατηρούνται στους οργανισμούς (Ahmad *et al.*, 2018). Η συνεχής ανάπτυξη της πειραματικής πρακτικής έχει σαν αποτέλεσμα την επινόηση νέων συστημάτων μοριακών δεικτών, όπως για παράδειγμα στην μελέτη των Liu *et al.*, (2024) όπου μια νέα μέθοδος ονομαζόμενη MNP (Multiple Nucleotide Polymorphism) αναπτύχθηκε για πρώτη φορά σε ποικιλίες αμπέλου συνδυάζοντας τα πλεονεκτήματα της multiplex PCR

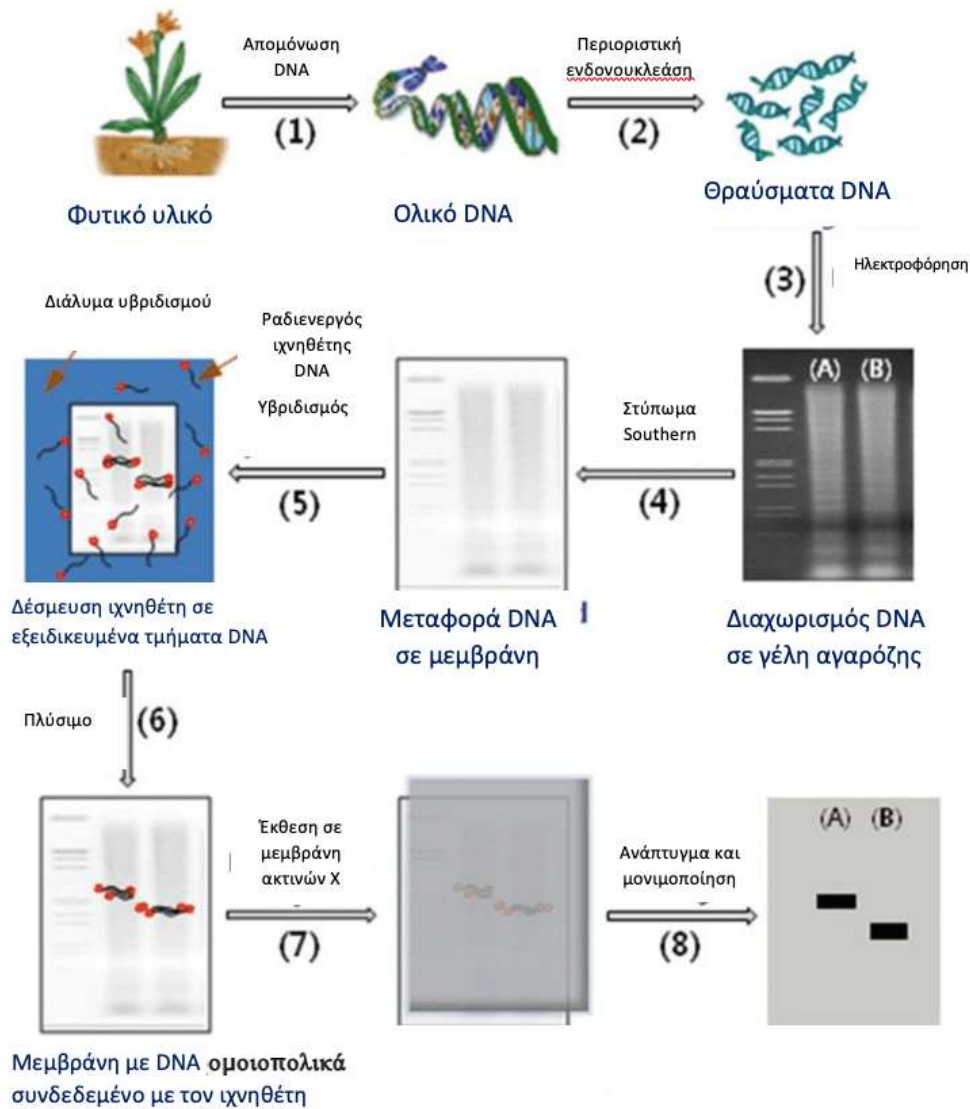
(Polymerase Chain Reaction) και της αλληλουχίας υψηλής απόδοσης με σκοπό τη βελτίωση της απόδοσης στην ταυτοποίηση των ποικιλιών αμπέλου. Επίσης, στη μελέτη των Carrara *et al.* (2023) στόχος ήταν η ανάπτυξη μιας νέας μοριακής «εργαλειοθήκης» για την παρακολούθηση των ποικιλιών αμπέλου από το φυτώριο μέχρι το στάδιο του γλεύκους στην οиноποίηση, χρησιμοποιώντας δείκτες SNP (Single Nucleotide Polymorphism) για την αναγνώριση των ποικιλιών και ψηφιακά συστήματα PCR για την ποσοτικοποίηση της ποικιλίας.

Οι τεχνικές με μοριακούς δείκτες χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

- τις τεχνικές μη βασισμένες σε PCR
- τις τεχνικές βασισμένες σε PCR

#### **1.4.2.1 Τεχνικές μη βασισμένες σε PCR**

Μέθοδος πολυμορφισμού μήκους περιοριστικών τμημάτων (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP). Η μέθοδος PCR αποτέλεσε τη βάση για την ανάπτυξη αρκετών μοριακών τεχνικών, οι οποίες χρησιμοποιούνται στον προσδιορισμό της γενετικής ποικιλομορφίας, στη σύγκριση του γονιδιώματος διαφορετικών ποικιλιών, στη διερεύνηση για την ύπαρξη γενετικής συνάφειας. Πρόκειται για το πρώτο σύστημα μοριακών δεικτών που αναπτύχθηκε και τη δεκαετία του 1970. Εφαρμόστηκε από τους Guerra and Meredith (1995) για τον γονιδιωματικό έλεγχο DNA που απομονώθηκε από εννιά ποικιλίες υποκειμένων *Berlandier* x *Riparia*, με χρήση 6 ιχνηθετών. Αποδείχθηκε ότι υπήρχαν αρκετοί συνδυασμοί τριών ιχνηθετών που ήταν επαρκείς για τη σαφή διάκριση των εννέα υποκειμένων. Λίγο αργότερα, οι Bowers and Meredith (1996) αξιολόγησαν τη γενετική ομοιότητα μεταξύ 33 ποικιλιών *Vitis vinifera* L. με τη μέθοδο RFLP, και τη βοήθεια οκτώ ιχνηθετών. Με την επικράτηση της εφαρμογής PCR, η χρήση της περιορίστηκε. Τα βασικά βήματα αυτής της μεθοδολογίας είναι (βλ. Εικ. 1.13)



Εικόνα 1.13 Σχηματικά τα κύρια βήματα της μεθόδου πολυμορφισμού μήκους περιοριστικών τμημάτων (RFLP) (Πηγή: Mishra *et al.*, 2019)

- 1. Πέψη:** Η πέψη του DNA πραγματοποιείται από τα ένζυμα περιορισμού, τις ενδοκλουάσες περιορισμού (restriction endonucleases). Πρόκειται για ένζυμα που έχουν την ικανότητα αναγνώρισης συγκεκριμένων αλληλουχιών βάσεων (μοτίβο αναγνώρισης) στη δίκλωνη γενετική αλυσίδα DNA. Αφού εντοπίσουν, λοιπόν, τις αλληλουχίες αυτές, διασπούν το μόριο του DNA και δημιουργούν μικρά κομμάτια γενετικού υλικού (θραύσματα DNA) με τρόπο που είναι καθορισμένος και επαναλαμβανόμενος. Ανάλογα με τον αριθμό των μοτίβων αναγνώρισης που θα συναντήσουν οι ενδονουκλεάσες περιορισμού, δημιουργούνται και τα αντίστοιχα τμήματα DNA (για «n» μοτίβα αναγνώρισης, «n+1»θραύσματα DNA). Στη συνέχεια για την ακριβή διάκριση των αναφερόμενων τμημάτων χρησιμοποιείται ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης.



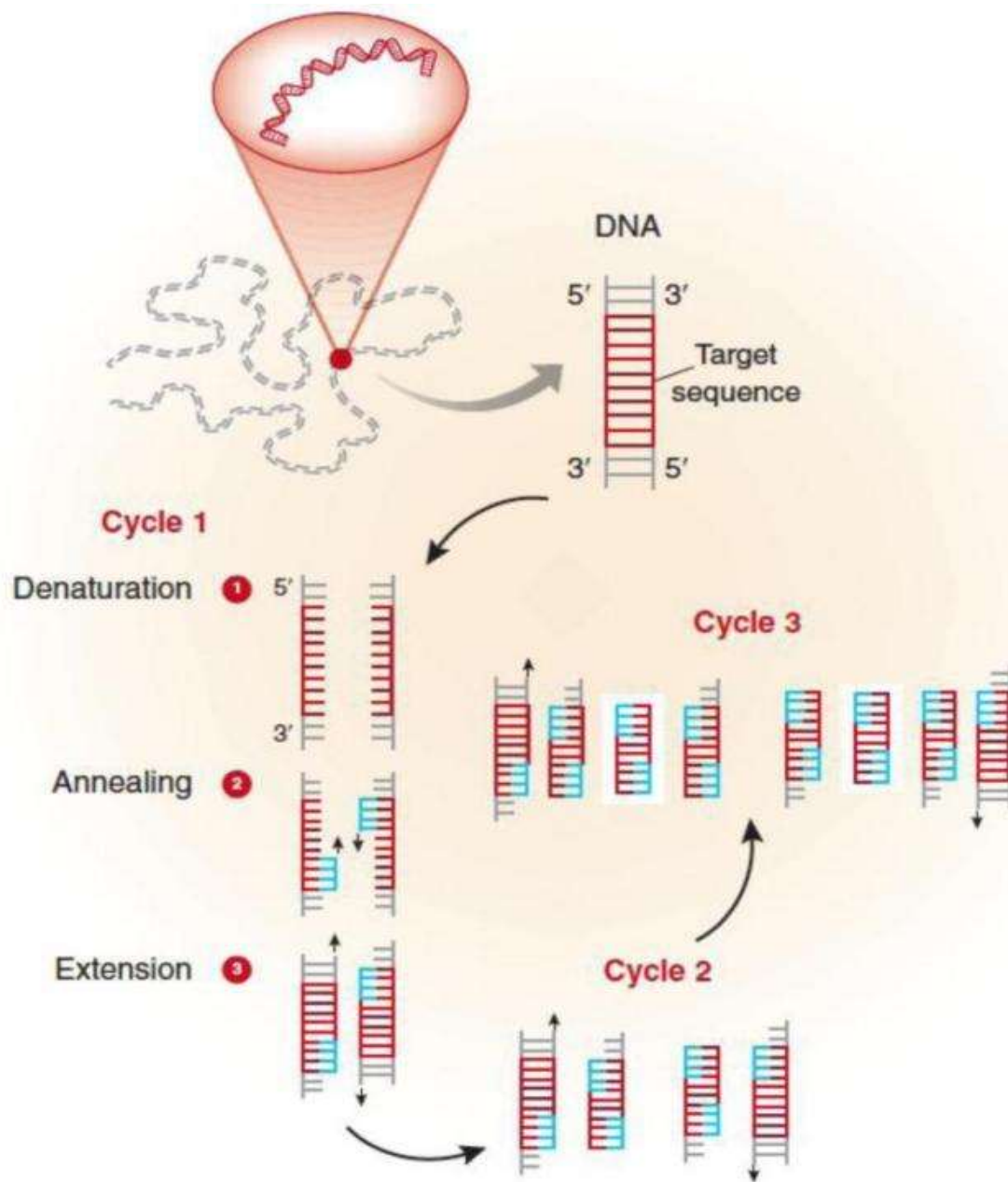
**2. Υβριδισμός:** Τα θραύσματα DNA μεταφέρονται σε ειδικές μεμβράνες (ανάλυση κατά Southern), όπου ακινητοποιούνται και αποτυπώνονται. Για τον διαχωρισμό και την πιθανή εμφάνιση πολυμορφισμού εφαρμόζεται και η τεχνική του υβριδισμού με έναν ιχνηθέτη (probe) (Guo *et al.*, 2012; Bowers *et al.*, 1996). Ο ιχνηθέτης αποτελεί ένα αντίγραφο μιας συγκεκριμένης αλληλουχίας βάσεων του μορίου του DNA, η οποία έχει σηματοδοτηθεί κατάλληλα ώστε να μπορεί να γίνει η ανίχνευσή της. Καθώς πολλά θραύσματα του DNA παρουσιάζουν ίδιο μέγεθος για να αναγνωρισθούν συγκρίνονται με τον ιχνηθέτη. Οπότε εμφανίζεται/εμφανίζονται στη μεμβράνη οι θέσεις του/των ομόλογων θραυσμάτων DNA.

#### 1.4.2.2 Τεχνικές βασισμένες σε PCR

Η PCR είναι μία απλή, ενζυμική τεχνική που παρουσιάστηκε στην επιστημονική κοινότητα το 1985 από τον βιοχημικό Kary Mullis (1944 - 2019) και τον οδήγησε στο βραβείο Νόμπελ Χημείας το 1993. Βασίζεται στην εκθετική παραγωγή αντιγράφων ορισμένων αλληλουχιών DNA περιορισμένου μήκους και συνήθως ακολουθείται από ηλεκτροφόρηση, η οποία επιτρέπει την ποιοτική ή/και την ποσοτική ανίχνευση των παραγόμενων αντιγράφων (Smith and Osborn, 2009; Zhu *et al.*, 2020).

Για την πραγματοποίηση της PCR απαιτείται ελάχιστη ποσότητα γενετικού υλικού DNA καθώς σε κάθε κύκλο διπλασιάζονται τα περιορισμένου μεγέθους αντίγραφα, με αποτέλεσμα στο τέλος του πρώτου κύκλου να έχουν διπλασιαστεί τα αντίγραφα της αλληλουχίας-στόχος, στο τέλος του δεύτερου κύκλου να έχουν τετραπλασιαστεί κ.ο.κ. Η μέθοδος PCR ολοκληρώνεται σε 25–35 διαδοχικούς κύκλους, όπου κάθε κύκλος αποτελείται από τρία στάδια (Εικόνα 1.14):

1. Αποδιάταξη - διαχωρισμός κλώνων DNA με θέρμανση (94°C, 30-45 s)
2. Πρόσδεση εκκινητών (30-65°C, 30-60 s) στους κλώνους του DNA. Οι εκκινητές είναι ολιγονουκλεοτίδια με μήκος 18-30 βάσεις.
3. Επιμήκυνση αλυσίδας DNA (65-75°C, 2-5 min) με τη βοήθεια του ενζύμου πολυμεράση.



Εικόνα 1.14 Σχηματική αναπαράσταση PCR (Garibyan and Avashia, 2014)

#### 1.4.2.2.1 Τυχαία ενισχυμένα πολυμορφικά DNA (RAPD)

Η μέθοδος RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1990 στη μελέτη των Williams *et al.* και αποτέλεσε μία από τις πιο πρόσφατες μεθόδους στον τομέα των τεχνικών με PCR (Ronimus *et al.*, 1997). Χρησιμοποιήθηκε επίσης εκτεταμένα για την κατασκευή χαρτών γενετικού υλικού σε ένα σημαντικό αριθμό καλλιεργειών (Holton *et al.*, 2002). Η εφαρμογή της στην άμπελο έγινε για πρώτη φορά από τους Büscher *et al.* το 1993, οι οποίοι στη συνέχεια το 1994 (Büscher *et al.* 1994) διαπίστωσαν, ότι η ποικιλία Müller-Thurgau δεν είναι διασταύρωση των ποικιλιών Riesling και Silvaner, και ότι η ποικιλία Silvaner αποκλείεται ως γεννήτορας της ποικιλίας Müller-Thurgau. Στην Ελλάδα χρησιμοποιήθηκε για ταυτοποίηση ποικιλιών αμπέλου, καθώς και για την εύρεση ετερογένειας σε διάφορους τύπους Ροδίτη (Μπινιάρη και Σταυρακάκης, 2003). Η χρήση της μεθόδου RAPD αποτέλεσε σημαντικό εργαλείο επί σειρά ετών στο τομέα της μοριακής βιολογίας λόγω του χαμηλού κόστους και της ευκολίας στην εφαρμογή της.

#### 1.4.2.2.2 Πολυμορφισμός μήκους ενισχυμένων τμημάτων DNA

Η μέθοδος Πολυμορφισμός μήκους ενισχυμένων τμημάτων DNA (Amplified Fragment Length Polymorphism - AFLP) είναι συνδυασμός των μεθόδων RAPD και RFLP. Βασίζεται στην επιλεκτική ενίσχυση μιας υποομάδας τμημάτων DNA που έχουν παραχθεί μετά από την πέψη του DNA από ένζυμα περιορισμού, όπως και οι δείκτες RFLP. Η διαφορά είναι ότι η αναγνώριση των τμημάτων δεν γίνεται με υβριδισμό, αλλά με PCR (Τσαυτάρης, 2012).

Η μέθοδος αυτή αποτελείται από τρία κύρια βήματα (Vos *et al.*, 1995):

1. Πέψη του DNA (διάσπαση DNA σε θραύσματα με τη βοήθεια περιοριστικών ενζύμων).
2. Επιλεκτικά ενισχύονται ορισμένα θραύσματα του DNA (συνήθως 50-100bp) με τη βοήθεια κατάλληλων προσαρμοστών, όπου συνδέονται στα άκρα περιορισμού των δίκλωνων μορίων. Κατάλληλοι εκκινητές οι οποίοι φέρουν τα απαραίτητα νουκλεοτίδια προσδένονται στους προσαρμοστές και ξεκινάει η επιμήκυνση της αλυσίδας DNA.
3. Ηλεκτροφόρηση σε γέλη πολυακρυλαμιδίου.

#### 1.4.2.2.3 Μικροδορυφόροι DNA ή απλές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (Simple Sequence Repeats - SSRs)

Οι μικροδορυφόροι DNA ή απλές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες έχουν επικρατήσει στην έρευνα για την ανίχνευση γενετικής παραλλακτικότητας καθώς διακρίνονται από υψηλή

επαναληψιμότητα και μεγάλη παραλλακτικότητα. Οι συγκεκριμένοι δείκτες δεν επηρεάζονται από περιβαλλοντικούς παράγοντες διότι αξιοποιούν τον πολυμορφισμό που παρουσιάζεται στην αλληλουχία των βάσεων του DNA. Οι SSRs είναι τμήματα αλληλουχιών του DNA που περιέχουν επαναλαμβανόμενα μοτίβα από ένα μέχρι έξι νουκλεοτιδικούς συνδυασμούς. Αυτά τα μοτίβα επαναλαμβάνονται από πέντε έως πενήντα φορές και βρίσκονται σε αλληλουχίες που συνήθως είναι μοναδικές στο γονιδίωμα, αλλά διατηρούνται στους οργανισμούς (Ahmad *et al.*, 2018). Οι SSRs χαρακτηρίζονται σε μονο-, δι-, τρι-, τετρα-, πεντα- ή εξα-SSRs, ανάλογα με τον αριθμό των επαναλαμβανόμενων νουκλεοτιδικών ζευγών. Επιπλέον, διακρίνονται σε τέλεια, ατελή και σύνθετα SSRs. Τα τέλεια SSRs εμφανίζουν απόλυτες επαναλήψεις, τα ατελή διακόπτονται από νέους νουκλεοτιδικούς χώρους, ενώ τα σύνθετα SSRs περιλαμβάνουν δύο ή περισσότερες διαδοχικές επαναλήψεις (tandem repeats).

Η εφαρμογή της τεχνικής των μικροδορυφόρων του DNA στο αμπέλι αποτελεί μια εξαιρετική επιλογή για τη διάκριση ποικιλιών. Τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για την επιλογή αυτών των μικροδορυφόρων περιλαμβάνουν τη διαθεσιμότητά τους, τον υψηλό γενετικό πολυμορφισμό και το εύρος της επιτρεπόμενης ενίσχυσης (Ghaffari and Hasnaoui, 2013). Η μέθοδος SSR εφαρμόστηκε πρώτη φορά στην Αυστραλία για το γένος *Vitis* (Thomas *et al.*, 1994). Οι μέθοδος SSR είναι η πλέον αξιόπιστη μέθοδος για την διάκριση και αναγνώριση ποικιλιών. Ο OIV πρότεινε τη χρήση αρχικά 6 μικροδορυφόρων (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVMD32, VrZAG62, VrZAG67 και VrZAG79) (OIV, 2009). Στη συνέχεια, για την ταυτοποίηση ποικιλιών προστέθηκαν επιπλέον τρεις μικροδορυφόροι (VVMD32, VVMD36 και VVMD25), προσδίδοντας την απαραίτητη παραλλακτικότητα για τον διαχωρισμό μεγάλου πλήθους ποικιλιών (Maul *et al.*, 2012).

## 2 Υλικά & Μέθοδοι

Σκοπός της παρούσας πειραματικής διαδικασίας είναι διάκριση **οκτώ διαφορετικών ποικιλιών αμπέλου (Μαερνό, Μαυραγάρι, Μαυραγουστιάτης, Χατζήδικο, Αγιαναστασάς, Σεριφιώτικο, Τραγανό της Σκύρου)** με τη βοήθεια της αμπελογραφικής περιγραφής και της μοριακής ταυτοποίησης με μικροδορυφόρους DNA.

### 2.1 Αμπελογραφική περιγραφή

#### 2.1.1 Συλλογή υλικού

Από τις παραπάνω οκτώ ποικιλίες συλλέχθηκαν τα παρακάτω δείγματα:

- 1) **Μαερνό 1**
- 2) **Μαερνό 2**
- 3) **Μαυραγάρι 3**
- 4) **Μαερνό 4**
- 5) **Μαερνό 5**
- 6) **Μαερνό 6**
- 7) **Μαυραγουστιάτης 7**
- 8) **Μαυραγάρι 8**
- 9) **Μαερνό 9**
- 10) **Μαερνό 10**
- 11) **Χατζήδικο 11**
- 12) **Αγιαναστασάς**
- 13) **Σεριφιώτικο 13**
- 14) **Τραγανό 14**

Χρησιμοποιήθηκαν για τη δειγματοληψία πρέμνα τα οποία υπέδειξαν και χαρακτήρισαν με τη συγκεκριμένη ονομασία καλλιεργητές της περιοχής.

Ως υλικό προς ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα νεαρά φύλλα των κύριων βλαστών των πρέμνων από τις περιοχές της Σκύρου, Τραχύ και Ασπούς, που βρίσκονται στο βόρειο και στο κεντρικό τμήμα του νησιού, αντίστοιχα. Πρώτα έγινε αμπελογραφική περιγραφή τόσο κατά τη νεαρή βλάστηση όσο και κατά την πλήρη ανάπτυξη των φύλλων σε 9 από τα 14 δείγματα. Τα νεαρά φύλλα αποτελούν άριστη πηγή για την εξαγωγή υψηλής ποιότητας DNA. Η καλύτερη περίοδος για δειγματοληψία φύλλων σύμφωνα με τη βιβλιογραφία είναι κατά τη περίοδο της ταχείας ανάπτυξης των βλαστών. Συλλέχθηκαν από 3 έως 5 φύλλα από κάθε πρέμνο. Έπειτα τοποθετήθηκαν σε πλαστικές σακούλες τροφίμων και μεταφέρθηκαν με

φορητό ψυγείο σε καταψύκτη στους -20C° για τη διατήρηση της ποιότητας του DNA μέχρι την στιγμή της ανάλυσης.

## 2.1.2 Αμπελογραφικά χαρακτηριστικά που περιγράφησαν

Το 1983, το Διεθνές Ινστιτούτο Φυτογενετικών Πόρων (International Plant Genetic Resources Institute - IPGRI) δημοσίευσε έναν κατάλογο περιγραφικών δεικτών (descriptors) για το αμπέλι, ώστε να ξεκινήσουν να περιγράφονται και να καθορίζονται οι διαφορετικές ποικιλίες. Το 1997, το IPGRI υπό την αιγίδα της Συμβουλευτικής Ομάδας για τη Διεθνή Γεωργική Έρευνα (Consultative Group on International Agricultural Research -CGIAR) και σε συνεργασία με τον Διεθνή Οργανισμό Αμπέλου και Οίνου (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin – OIV) και τη Διεθνή Ένωση για την Προστασία Νέων Ποικιλιών Φυτών (International Union for the Protection of New Varieties of Plants – UPOV) αναθεώρησε τον κατάλογο αυτό (IPGRI *et al.*, 1997). Το πρωτόκολλο OIV για την αναγνώριση μίας ποικιλίας αμπέλου ανανεώθηκε το 2019 και περιλαμβάνει τα ελάχιστα αμπελογραφικά και γενετικά χαρακτηριστικά.

Πίνακας 2.1 Γενικά αμπελογραφικά χαρακτηριστικά (Πηγή: OIV, 2009)

Κωδικός OIV	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
<b>1</b>	Νεαρός βλαστός: Σχήμα εκβλαστήματος	1 - Κλειστό
		2 - Μερικώς ανοιχτό
		3 - Μισάνοιχτο
		4 - Μερικώς κλειστό
		5 - Ανοιχτό
<b>4</b>	Νεαρός βλαστός: Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων κορυφής	1 - Απουσία ή πολύ αραιή
		2 - Ανάμεσα σε πολύ αραιή ή αραιή
		3 - Αραιή
		4 - Μέση - αραιή
		5 - Μέση
		6 - Μέση - πυκνή
		7 - Πυκνή
		8 - Ανάμεσα σε πυκνή και πολύ πυκνή
		9 - Πολύ πυκνή
<b>16</b>	Βλαστός: Αριθμός διαδοχικών έλικων	1 - 2 ή περισσότεροι
		2 - 3 ή περισσότεροι
<b>51</b>	Νεαρό φύλλο: Χρώμα της άνω επιφάνειας (4ο φύλλο)	1 - Πράσινο
		2 - Κίτρινο
		3 - Χάλκινο
		4 - Χάλκινο - ερυθρωπό

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
<b>67</b>	Ωριμο φύλλο: Σχήμα ελάσματος φύλλου	1 - Καρδιόσχημα
		2 - Σφηνοειδές
		3 - Πεντάγωνο
		4 - Κυκλικό
		5 - Νεφροειδές
<b>68</b>	Ωριμο φύλλο: Αριθμός λοβών	1 - Ένα (ολόκληρο το φύλλο)
		2 - Τρεις
		3 - Πέντε
		4 - Επτά
		5 - Άνω των επτά
<b>70</b>	Ωριμο φύλλο: Περιοχή του χρωματισμού των ανθοκυανών κύριων νεύρων άνω επιφάνειας	1 - Απουσία
		2 - Μόνο στο μισχικό σημείο
		3 - Ίση με την 1η διακλάδωση
		4 - Ίση με την 2η διακλάδωση
		5 - Πέρα από την 2η διακλάδωση
<b>76</b>	Ωριμο φύλλο: Σχήμα οδόντων	1 - Και στις δυο πλευρές κοίλες
		2 - Και στις δυο πλευρές ευθείες
		3 - Και στις δυο πλευρές κυρτές
		4 - Μια πλευρά κοίλη και μια πλευρά κυρτή
		5 - Μίξη ανάμεσα σε δύο πλευρές ευθείες (σημείωση 2) και δυο πλευρές κυρτές (σημείωση 3)
<b>79</b>	Ωριμο φύλλο: βαθμός ανοίγματος / επικάλυψης του μίσχου κόλπου	1 - Ορθάνοιχτο
		2 - Ανάμεσα σε ορθάνοιχτο και ανοιχτό
		3 - Ανοιχτό
		4 - Ανάμεσα σε ανοιχτό και κλειστό
		5 - Κλειστό
		6 - Ανάμεσα σε κλειστό και επικαλυπτόμενο
		7 - Επικαλυπτόμενο
		8 - Ανάμεσα σε επικαλυπτόμενο και ισχυρά επικαλυπτόμενο
		9 - Ισχυρά επικαλυπτόμενο
<b>081-2</b>	Ωριμο φύλλο: Ιδιαιτερότητες μισχικού κόλπου	1 - Χωρίς όρια
		2 - Στη μια πλευρά
		3 - Και στις δυο πλευρές
<b>84</b>	Ωριμο φύλλο: Πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων μεταξύ νευρών κάτω επιφάνειας	1 - Απουσία ή πολύ αραιή
		2 - Ανάμεσα σε πολύ αραιή και αραιή
		3 - Αραιή
		4 - Μεσαία - αραιή
		5 - Μεσαία
		6 - Μεσαία - πυκνή
		7 - Πυκνή
		8 - Ανάμεσα σε πυκνή και πολύ πυκνή
		9 - Πολύ πυκνή

Κωδικός ΟΙΥ	Αμπελογραφικός Χαρακτήρας	Βαθμολογική Κλίμακα
87	Όριμο φύλλο: Πυκνότητα όρθιων τριχιδίων στα κύρια νεύρα κάτω επιφάνειας	1 - Απουσία ή πολύ αραιή
		2 - Ανάμεσα σε πολύ αραιή και αραιή
		3 - Αραιή
		4 - Μεσαία - αραιή
		5 - Μεσαία
		6 - Μεσαία - πυκνή
		7 - Πυκνή
		8 - Ανάμεσα σε πυκνή και πολύ πυκνή
		9 - Πολύ πυκνή
223	Ράγα: Σχήμα	1 - Πεπλατυσμένο
		2 - Σφαιρικό
		3 - Βραχύ ελλειψοειδές
		4 - Μακρύ ελλειψοειδές
		5 - Κυλινδρικό
		6 - Αμβλύ ωοειδές
		7 - Ωοειδές
		8 - Αντρωειδές
		9 - Κερατοειδές
		10 - Δακτυλοειδές
225	Ράγα: Χρώμα φλοιού	1 - Πράσινο κίτρινο
		2 - Ρόδινο
		3 - Κόκκινο
		4 - Γκρι
		5 - Σκούρο κόκκινο βιολέ
		6 - Μπλε μελανό



## 2.2 Μοριακή ταυτοποίηση

### 2.2.1 Απομόνωση DNA

Το γενωμικό DNA απομονώνεται από νεαρά φύλλα (από 100 mg φυτικού υλικού) λειοτριβείται σε γουδί με γουδοχέρι παρουσία υγρού άζωτου. Το υγρό άζωτο εξασφαλίζει ότι η θερμοκρασία θα παραμείνει χαμηλή, γεγονός που βοηθάει στη διατήρηση των χαρακτηριστικών των βιολογικών μορίων.

Στη συνέχεια, απομονώνεται το γενωμικό DNA από τα δείγματα αμπέλου των νεαρών φύλλων χρησιμοποιώντας εμπορικό σκεύασμα (NucleoSpin Plant II kit, Macherey-Nagel, Düren, Germany) που περιέχει τις κατάλληλες στήλες και τα απαραίτητα αντιδραστήρια σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

### 2.2.2 Αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction - PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction - PCR) πραγματοποιείται με σκοπό τον πολλαπλασιασμό του επιλεγμένου τμήματος DNA.

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την PCR είναι τα εξής:

- 20ng DNA από το δείγμα
- 1,5 μl buffer για την δημιουργία του επιθυμητού περιβάλλοντος για να δράσει το ένζυμο
- 0,2 μl dNTPs το οποίο είναι νουκλεοτίδια που δρουν ως δομικά στοιχεία
- 0,2 μl ενζύμου Taq πολυμεράση το οποίο επεκτείνει τις συμπληρωματικές αλυσίδες
- 11,9 μl H<sub>2</sub>O

Το μίγμα εισάγεται στον θερμοκυκλωτή με τις κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας ώστε να ενεργοποιηθούν οι εκκινητές. Η πορεία των θερμοκρασιών στον θερμοκυκλωτή έχει ως εξής, και οδηγεί στην αναδιάταξη του DNA που έχει απομονωθεί από το δείγμα. Οι συνθήκες είναι οι εξής: 94 °C/5 min

- 94°C/30 sec
- 52-62 °C/20-30 sec
- 72 °C/30 sec
- 72 °C/5 min
- 12 °C/ Έως το τέλος
- Τέλος

Στη συνέχεια, το μέγεθος των προϊόντων της PCR διακρίνεται με ηλεκτροφόρηση. Όταν είναι επιθυμητή η επακριβής γνώση των μεγεθών των προϊόντων, τότε επιλέγεται η τριχοειδής ηλεκτροφόρηση.

### **2.2.3 Ηλεκτροφόρηση προϊόντων αντίδρασης PCR σε πήκτωμα αγαρόζης**

Η ηλεκτροφόρηση των προϊόντων αντίδρασης PCR σε πήκτωμα αγαρόζης περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

Αρχικά, προετοιμάζουμε το πήκτωμα αγαρόζης με την προσθήκη 2gr αγαρόζης σε 100 ml σε αραιωμένο διάλυμα TAE. Στη συνέχεια, προσθέτουμε βρωμιούχο αιθύδιο (0,5 μg/ml) και αναμιγνύουμε το υλικό. Το πήκτωμα στερεοποιείται και μεταφέρεται στη δεξαμενή ηλεκτροφόρησης, όπου μεταγγίζουμε τα προϊόντα της PCR. Σημειώνεται ότι προηγουμένως προστέθηκε loading buffer, το οποίο βοηθά στην ομοιόμορφη μετάγχιση του δείγματος και επιτρέπει την οπτική παρακολούθηση με χρωστικές ύλες. Στη συνέχεια, μετά τη «φόρτωση» όλων των δειγμάτων, εφαρμόζουμε ηλεκτρικό ρεύμα (π.χ. 120-150 Volt) στο ρυθμιστικό διάλυμα. Τα μόρια DNA, φορτισμένα αρνητικά, κινούνται προς τον θετικό πόλο του ηλεκτρικού πεδίου, με διαφορετική ταχύτητα ανάλογα με το μέγεθός τους. Έτσι, επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός τους.

Ο διαχωρισμός των μορίων γίνεται ορατός με UV ακτινοβολία. Μετά την ηλεκτροφόρηση, το πήκτωμα τοποθετείται σε τράπεζα φθορισμού σε σκοτεινό θάλαμο και εκτίθεται σε υπεριώδη ακτινοβολία. Πολλά μόρια ίδιου μεγέθους σχηματίζουν μια «ζώνη» λευκού ή υπόλευκου χρωματισμού, η ένταση της οποίας εξαρτάται από το πλήθος των μορίων που την απαρτίζουν.

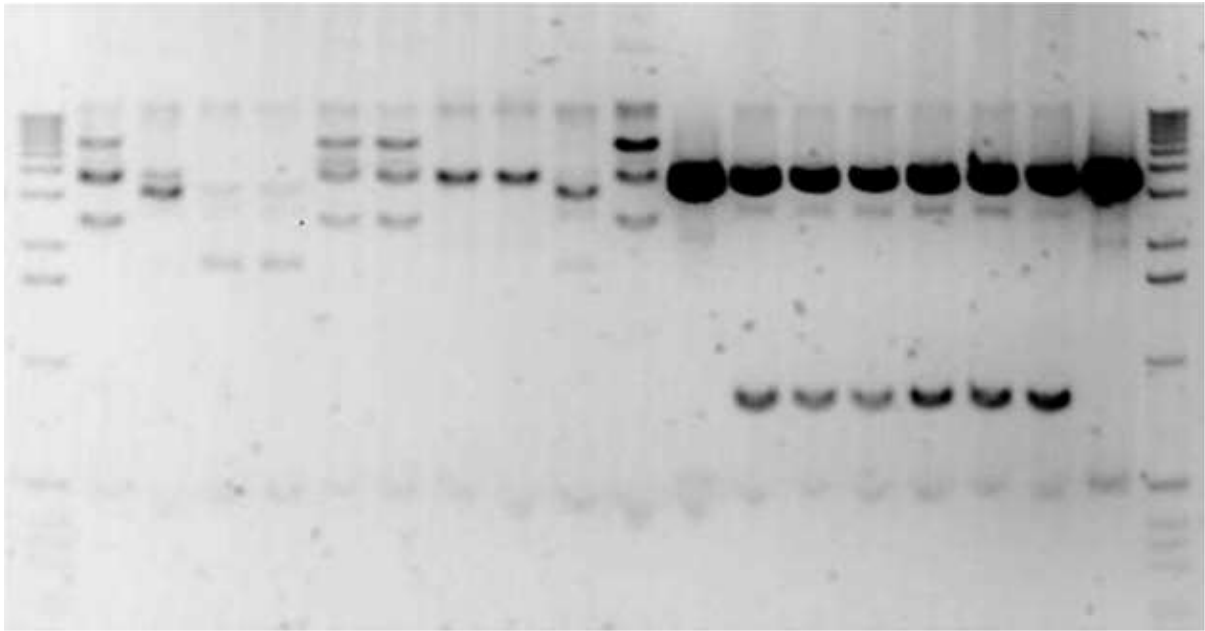
### **2.2.4 Υπολογισμός συγκέντρωσης DNA**

Οι συγκεντρώσεις DNA των δειγμάτων υπολογίστηκαν μέσω φασματοφωτόμετρου στα 260 nm και στα 280 nm. Δείγμα 2 μl DNA χρησιμοποιήθηκαν για την μέτρηση. Ο λόγος της απορρόφησης στα 260 nm προς την απορρόφηση στα 280 nm, δείχνει την καθαρότητα του DNA.

### **2.2.5 Εκτίμηση μεγέθους αλληλομόρφων με ηλεκτροφόρηση του DNA των δειγμάτων**

Από τα δείγματα DNA που απομονώθηκαν, τοποθετήθηκαν 7 μl σε πήκτωμα αγαρόζης και ξεκίνησε η ηλεκτροφόρηση στα 150 Volt συνεχώς για 2-3 ώρες. Μετά το πέρας της

ηλεκτροφόρησης, το ηλεκτροφόρημα τοποθετήθηκε στο GelDoc™XR+ (Bio-Rad) για να φωτογραφηθούν τα αποτελέσματα (βλ. Εικ. 2.1).



Εικόνα 2.1 Ενδεικτική εικόνα αποτελεσμάτων ηλετροφόρησης σε πήκτωμα αγαρόζης

### 2.2.6 Τριχοειδής ηλεκτροφόρηση (CE)

Η τριχοειδής ηλεκτροφόρηση (Capillary Electrophoresis - CE) είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται για την ανάλυση προϊόντων PCR, όπως οι δείκτες SSR. Σε αυτή τη διαδικασία, λεπτός τριχοειδής σωλήνας γεμάτος με πυριτιούχα ζελατινώδη ουσία (fused silica) επιτρέπει την κίνηση των φορτισμένων μορίων DNA μέσω ενός ηλεκτρικού πεδίου. Καθώς το DNA κινείται, χωρίζεται ανάλογα με το μέγεθός του. Τα μόρια είναι συχνά σημασμένα με φθορίζουσες ετικέτες, ώστε να ανιχνεύονται από ειδικούς αισθητήρες. Οι αισθητήρες δημιουργούν διαγράμματα που δείχνουν την ποικιλία και το μέγεθος των μορίων, προσφέροντας έτσι μια σαφή εικόνα της γενετικής σύνθεσης των δειγμάτων.

### 3 Αποτελέσματα και συζήτηση

#### 3.1 Αμπελογραφική περιγραφή

Στον πίνακα 3.1 που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα της αμπελογραφικής περιγραφής εννέα από τα δεκατέσσερα δείγματα. Εξετάστηκαν και καταγράφηκαν οι αμπελογραφικές παρατηρήσεις για **τέσσερα δείγματα της ποικιλίας Μαέρο** (1,2,9,10), **και από ένα δείγμα** για τις ποικιλίες **Μαυραγάρι** (3), **Μαυραγουστιάτης** (7), **Χατζήδικο** (11), **Σεριφιώτικο** (13) και **Τραγανό** (14).

**Πίνακας 3.1** Αμπελογραφική περιγραφή δειγμάτων σύμφωνα με τον ΟΙΥ (1, 2, 9, 10 = ΜΑΕΡΝΟ - 3 = ΜΑΥΡΑΓΑΝΙ - 7 = ΜΑΥΡΑΓΟΥΣΤΙΑΤΗΣ - 11 = ΧΑΤΖΗΔΙΚΟ - 13= ΣΕΡΙΦΙΩΤΙΚΟ - 14= ΤΡΑΓΑΝΟ), X\*= δεν ανταποκρίνεται στο χρώμα των φωτογραφιών λόγω ζημιάς από την ψύξη κατά την μεταφορά

Κωδικός ΟΙΥ	Βαθμολογική κλίμακα	1	2	9	10	3	7	11	13	14
1	1									
	2									
	3									
	4									
	5	X	X	X	X		X	X	X	X
4	1			X	X			X		
	2					X				
	3									X
	4									
	5									
	6	X	X				X		X	
	7									
	8									
	9									
16	1	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	2									
51	1	X	X						X*	
	2						X*			
	3			X	X					X
	4					X		X		
67	2									
	3			X		X			X	
	3	X	X		X		X			
	4									X
	5									
68	1								X	
	2									
	3	X	X	X	X	X				X
	4									
	5									
70	1	X	X	X	X		X		X	X
	2					X				
	3									
	4									

Κωδικός ΟΙΥ	Βαθμολογική κλίμακα	1	2	9	10	3	7	11	13	14
	5									
76	1									
	2									
	3									
	4									
	5	X	X	X	X	X	X		X	
79	1									
	2									
	3			X		X			X	
	4									
	5				X					
	6									X
	7	X	X							
	8						X			
	9									
081-2	1	X	X			X	X		X	X
	2			X	X					
	3									
84	1	X	X	X	X	X				X
	2									
	3									
	4								X	
	5						X			
	6									
	7									
	8									
	9									
87	1	X	X	X	X		X		X	X
	2					X				
	3									
	4									
	5									
	6									
	7									
	8									
	9									
223	1	X	X	X	X	X			X	
	2						X			X
	3							X		
	4									
	5									
	6									
	7									
	8									
	9									
	10									
225	1	X	X	X	X			X	X	X
	2									
	3									
	4									
	5					X	X			
	6									

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα 3.1, τα δείγματα της ποικιλίας **Μαερνό** (1-Μαερνό, 2-Μαερνό, 9-Μαερνό και 10-Μαερνό) παρουσιάζουν αρκετά κοινά χαρακτηριστικά, όπως άλλωστε είναι αναμενόμενο, κατά την αμπελογραφική περιγραφή τους. Τα εκβλαστήματα είναι ανοικτά. Ο αριθμός των διαδοχικών ελίκων κυμαίνεται πάνω από 1. Τα φύλλα έχουν πέντε λοβούς και δεν παρουσιάζεται χρωματισμός των ανθοκυανών κύριων νεύρων άνω επιφάνειας. Οι οδόντες των φύλλων είναι μία μίξη ανάμεσα σε δύο πλευρές ευθείες κι δύο πλευρές κυρτές. Τα έρποντα τριχίδια μεταξύ των νεύρων της κάτω επιφάνειας και τα όρθια τριχίδια στα κύρια νεύρα της κάτω επιφάνειας απουσιάζουν ή έχουν πολύ μικρή πυκνότητα. Η ράγα έχει πεπλατυσμένο σχήμα και το χρώμα του φλοιού της είναι πρασινοκίτρινο. Διαφορές παρουσιάζονται στην πυκνότητα των ερπόντων τριχιδίων κορυφής των νεαρών βλαστών όπου σε δύο δείγματα (1-Μαερνό και 2-Μαερνό) χαρακτηρίζεται ως μέση-πυκνή ενώ στα άλλα δύο δείγματα (9-Μαερνό και 10-Μαερνό) τα έρποντα τριχίδια κορυφής είναι απόντα ή παρουσιάζονται αραιά. Επίσης το χρώμα της άνω επιφάνειας των δειγμάτων χαρακτηρίζεται ως πράσινο (1-Μαερνό και 2-Μαερνό) ή χάλκινο (9-Μαερνό και 10-Μαερνό). Το σχήμα επίσης του ώριμου φύλλου είναι πεντάγωνο για τα 3 από τα 4 δείγματα (1-Μαερνό, 2-Μαερνό, 10-Μαερνό) ενώ για το τέταρτο σφηνοειδές (9-Μαερνό). Ο βαθμός ανοίγματος του μισχικού κόλπου του ώριμου φύλλου διαφοροποιείται σημαντικά από δείγμα σε δείγμα, έτσι στα δείγματα 1-Μαερνό και 2-Μαερνό είναι επικαλυπτόμενο, ενώ στο 9-Μαερνό ανοιχτό και στο 10-Μαερνό κλειστό.

Το **Μαυραγάκι** φέρει 1 ή περισσότερους έλικες διαδοχικά ανά βλαστό. Η πυκνότητα των ερπόντων τριχιδίων της κορυφής του εκβλαστήματος είναι πολύ αραιή ως αραιή. Τα ώριμα φύλλα του έχουν σφηνοειδές σχήμα με πέντε λοβούς και το χρώματος είναι χάλκινο-ερυθρωπό. Στο μισχικό σημείο παρουσιάζεται χρωματισμός ανθοκυανών κύριων νεύρων άνω επιφάνειας. Το σχήμα των οδόντων είναι μικτό, με δύο πλευρές ευθείες και δύο κυρτές, με βαθμό ανοίγματος να θεωρείται ανοιχτό ως ορθάνοιχτο και χωρίς όρια μισχικού κόλπου. Στην κάτω επιφάνεια του φύλλου τα τριχίδια μεταξύ των νεύρων απουσιάζουν ή είναι πολύ αραιά ενώ τα όρθια τριχίδια στα κύρια νεύρα έχουν αραιή ως πολύ αραιή πυκνότητα. Το σχήμα της ράγας είναι πεπλατυσμένο και το χρώμα της σκούρο κόκκινο βιολέ.

Ο **Μαυραγουστιάτης**, όπως όλα τα δείγματα της περιοχής που μελετήθηκαν, έχουν ανοικτό εκβλάστημα, με μέση έως πυκνή πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων κορυφής. Ένας- δύο ή περισσότεροι έλικες παρουσιάζονται διαδοχικά ανά βλαστό. Τα ώριμα φύλλα του έχουν σχήμα πενταγώνου με πέντε λοβούς. Το χρώμα των φύλλων (κίτρινο) αλλοιώθηκε κατά την ψύξη και δεν ανταποκρίνεται στο αρχικό. Στο μισχικό σημείο δεν παρουσιάζεται χρωματισμός ανθοκυανών κύριων νεύρων άνω επιφάνειας. Το σχήμα των οδόντων είναι μικτό, με

δύο πλευρές ευθείες και δύο κυρτές, με βαθμό επικάλυψης του μίσχου κόλπου ανάμεσα σε επικαλυπτόμενο και ισχυρά επικαλυπτόμενος ενώ ο μισχικός κόλπος χαρακτηρίστηκε χωρίς όρια. Στην κάτω επιφάνεια του φύλλου τα τριχίδια μεταξύ των νεύρων είναι μεσαίας πυκνότητας ενώ δεν παρουσιάζονται ή είναι πολύ αραιά όρθια τριχίδια στα κύρια νεύρα. Το σχήμα της ράγας είναι σφαιρικό και το χρώμα της σκούρο κόκκινο βιολέ.

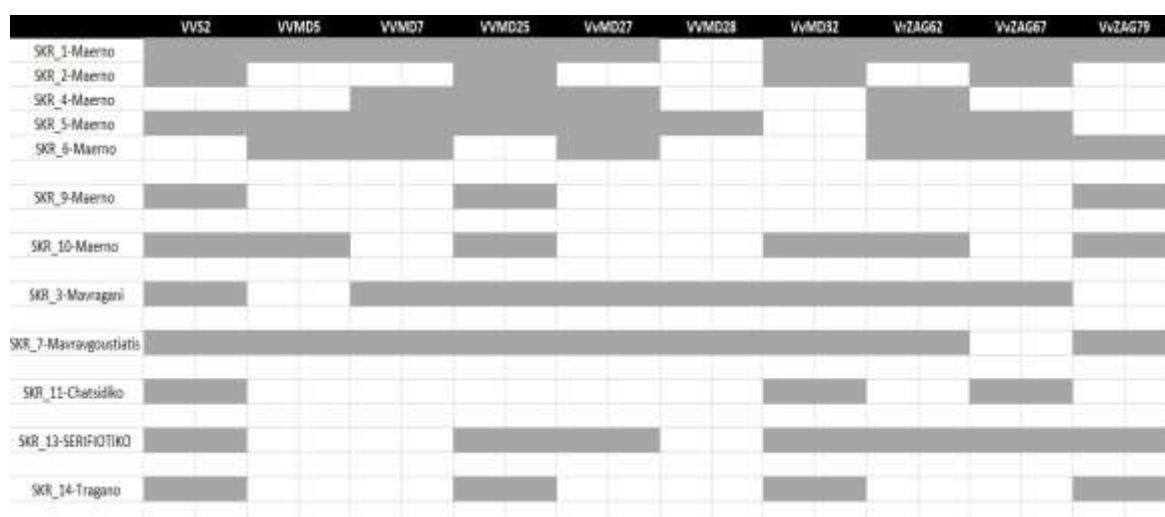
Το **Χατζήδικο** έχει ανοικτό εκβλάστημα, χωρίς ή με ελάχιστα έρποντα τριχίδια κορυφής. Ο αριθμός των διαδοχικών ελίκων ανά βλαστό είναι ένας - δύο ή και περισσότεροι. Τα ώριμα φύλλα του έχουν χρώμα χάλκινο-ερυθρωπό και το σχήμα τους είναι καρδιόσχημα. Το σχήμα της ράγας είναι βραχύ ελλειψοειδές και το χρώμα της χαρακτηρίζεται ως πρασινοκίτρινο.

Το **Σεριφιώτικο** έχει ανοικτό εκβλάστημα, με μέση έως πυκνή πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων κορυφής. Ο αριθμός των ελίκων που εκφύονται διαδοχικά στο βλαστό είναι ένας ή περισσότεροι. Το σχήμα των ώριμων φύλλων είναι σφηνοειδές με τρεις λοβούς. Το πράσινο χρώμα των φύλλων στην άνω επιφάνεια αλλοιώθηκε κατά την ψύξη και δεν ανταποκρίνεται στο αρχικό. Στο μισχικό σημείο δεν παρουσιάζεται χρωματισμός ανθοκυανών των κύριων νεύρων της άνω επιφάνειας. Το σχήμα των οδόντων είναι μικτό, με δύο πλευρές ευθείες και δύο κυρτές, με βαθμό επικάλυψης του μισχικού κόλπου ανάμεσα σε επικαλυπτόμενο και ισχυρά επικαλυπτόμενο, ενώ ο μισχικός κόλπος χαρακτηρίστηκε χωρίς όρια. Στην κάτω επιφάνεια του φύλλου, η πυκνότητα των τριχιδίων μεταξύ των νεύρων χαρακτηρίζεται αραιή έως μεσαία πυκνότητα, ενώ δεν παρουσιάζονται ή βρίσκονται πολύ αραιά όρθια τριχίδια στα κύρια νεύρα. Το σχήμα της ράγας είναι πεπλατυσμένο και το χρώμα της είναι πρασινοκίτρινο.

Το **Τραγανό**, έχει ανοικτό εκβλάστημα, με πολύ αραιή ή αραιή πυκνότητα ερπόντων τριχιδίων κορυφής. Ο αριθμός των διαδοχικών ελίκων είναι ένας, δύο ή περισσότεροι. Τα νεαρά φύλλα του στην άνω επιφάνεια παρουσιάζουν και το ώριμο φύλλο είναι κυκλικό με πέντε λοβούς. Δεν παρουσιάζεται χρωματισμός ανθοκυανών κύριων νεύρων στην άνω επιφάνεια του ώριμου φύλλου. Ο βαθμός επικάλυψης του μισχικού κόλπου χαρακτηρίζεται κλειστός ή επικαλυπτόμενος ενώ ο μισχικός κόλπος χαρακτηρίστηκε χωρίς όρια. Στην κάτω επιφάνεια του ώριμου φύλλου δεν παρουσιάζονται έρποντα τριχίδια ή είναι πολύ αραιή η πυκνότητά τους, τα τριχίδια μεταξύ των νεύρων είναι μεσαίας πυκνότητας ενώ δεν παρουσιάζονται ή είναι πολύ αραιά όρθια τριχίδια στα κύρια νεύρα. Το σχήμα της ράγας είναι σφαιρικό και το χρώμα της πράσινο κίτρινο.

## 3.2 Μοριακή ταυτοποίηση

Μικρή ποσότητα δείγματος (2 µL) από κάθε PCR στάλθηκε προς ανάλυση με τριχοειδή ηλεκτροφόρηση. Με την μέθοδο της τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης λαμβάνονται ακριβείς τιμές σχετικά με το μέγεθος των αλληλομόρφων τα οποία παρήχθησαν (ενισχύθηκαν) με τις αντιδράσεις PCR. Οι αριθμητικές τιμές των αποτελεσμάτων εισάγονται, αποθηκεύονται, και μεταφέρονται με τη μορφή αρχείου Excel ενώ η ανάλυσή τους (π.χ. εύρεση των γενετικών αποστάσεων) γίνεται στην πλατφόρμα του GenAlEX. Στη συνέχεια τα αποτελέσματα μεταφέρονται στο πακέτο Mega 4 όπου γίνεται η ευθυγράμμιση των ακολουθιών και η κατασκευή δένδρογράμματος. Η μοριακή ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε 10 μικροδορυφορικούς τόπους. Σε αυτούς περιλαμβάνονται οι αρχικοί έξι τόποι που προτείνονται από τον OIV ως μοριακοί περιγραφείς («molecular descriptors»), όπως επίσης και οι τρεις που προστέθηκαν από τη διεθνή κοινότητα στους παραπάνω έξι δείκτες ώστε να απαρτίζουν τη βασική ομάδα των εννέα τόπων οι οποίοι χρησιμοποιούνται για τη διάκριση των ποικιλιών αμπέλου. Σχεδόν σε κανένα δείγμα δεν βρέθηκαν οι τιμές σε όλους τους τόπους (Εικ. 3.1). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι κατά τη δειγματοληψία, η οποία πραγματοποιήθηκε στα τέλη Ιουλίου του έτους 2020 και κατά την οποία συλλέχθηκαν φύλλα, τα συλλεγμένα δείγματα ήταν ήδη καταπονημένα από τις καλοκαιρινές συνθήκες, επομένως με αυξημένη περιεκτικότητα δευτερογενών μεταβολιτών οι οποίοι παρεμβάλλονται και δυσχεραίνουν τη διαχείριση του DNA. Παρά ταύτα μπορούν να εξαχθούν πολύτιμα συμπεράσματα.

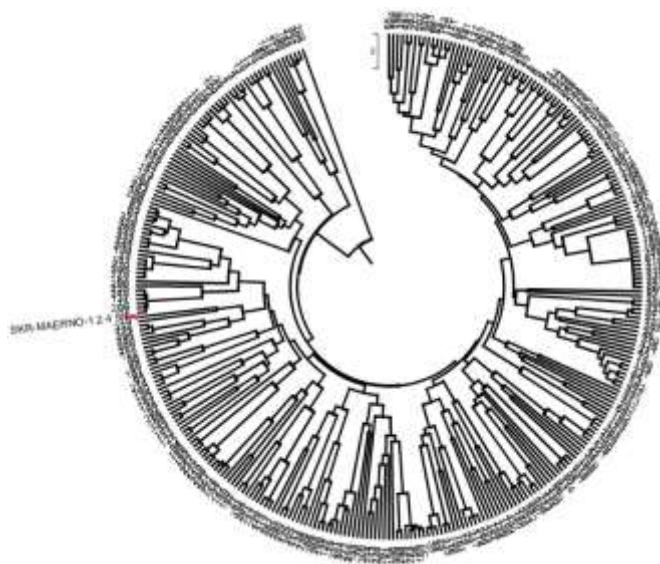


Εικόνα 3.1 Συγκριτική παρουσίαση τιμών κατά τη γενετική ταυτοποίηση

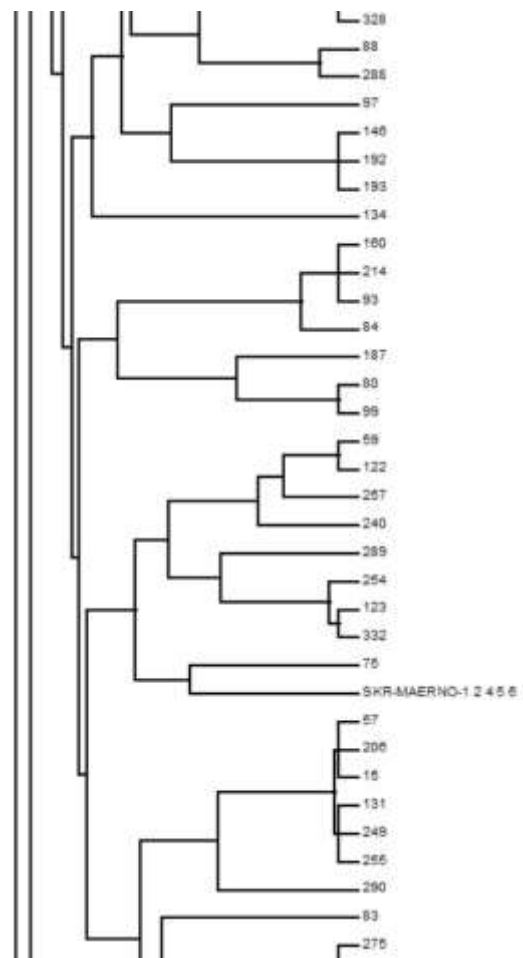
Η μοριακή ανάλυση έδειξε ότι τα επτά δείγματα της ποικιλίας «Μαερνό» διακρίνονται σε τρεις ομάδες: η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει τα δείγματα #1, #2, #4, #5, #6 (όλες οι τιμές – όπου υπάρχουν– είναι ίδιες μεταξύ τους) ενώ οι άλλες δύο αποτελούνται από τα μονήρη



δείγματα #9, και #10 (στα δείγματα αυτά, οι τιμές στον δείκτη VnMD25 είναι όμοιες ενώ στους υπόλοιπους δείκτες διαφέρουν). Σημειώνεται ότι τα δεδομένα για την πρώτη ομάδα δειγμάτων της ποικιλίας «Μαερνό» είναι επαρκή ώστε να αποτυπώσουν μια συναινετική ακολουθία (consensus sequence). Αυτή η ακολουθία καθώς και όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν σε αυτό το κεφάλαιο, συγκρίθηκαν με 336 παρόμοιες αλληλουχίες που υπάρχουν στη βάση δεδομένων μικροδορυφορικής ανάλυσης του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Αμπέλου του Τμήματος Αμπέλου, στο Ινστιτούτο Ελιάς, Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου, του ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ. Κατά τη σύγκριση σε 10 μικροδορυφορικούς τύπους δε βρέθηκε κάποια ελληνική ποικιλία με παρόμοια ακολουθία (Εικ. 3.2 και 3.3).



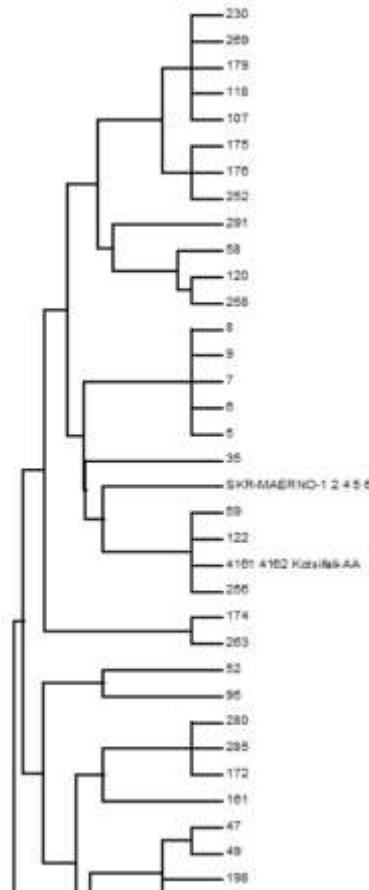
Εικόνα 3.2 Κλαδόγραμμα των δειγμάτων Μαερνό 1\_2\_4\_5\_6



Εικόνα 3.3 Λεπτομέρεια από την Εικ. 3.2

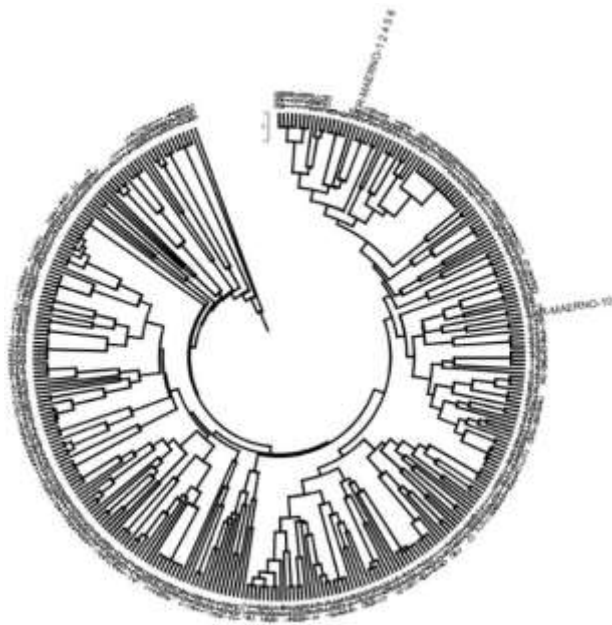
Σημειώνεται βεβαίως ότι υπάρχει ένας αριθμός ποικιλιών της εθνικής συλλογής των οποίων η τελική συναινετική ακολουθία βρίσκεται σε εκκρεμότητα – όταν ολοκληρωθεί θα εξαχθούν τα τελικά αποτελέσματα σχετικά με το αν η ποικιλία «Μαερνό» αποτελεί κάτι νέο στον ελληνικό αμπελώνα ή αν αποτελεί συνωνυμία μιας ποικιλίας η οποία είναι ήδη γνωστή (με άλλη ονομασία). Σημειώνεται επίσης, ότι όταν μειωθούν οι δείκτες στην συναινετική

ακολουθία σε έξι (από δέκα) και επαναληφθεί η παραπάνω ανάλυση, διαφαίνεται μια χαλαρή μοριακή σχέση μεταξύ της συναινετικής ακολουθίας της πρώτης ομάδας δειγμάτων της ποικιλίας «Μαερνό» με την ποικιλία «Κοτσιφάλι» (Εικ. 3.4).

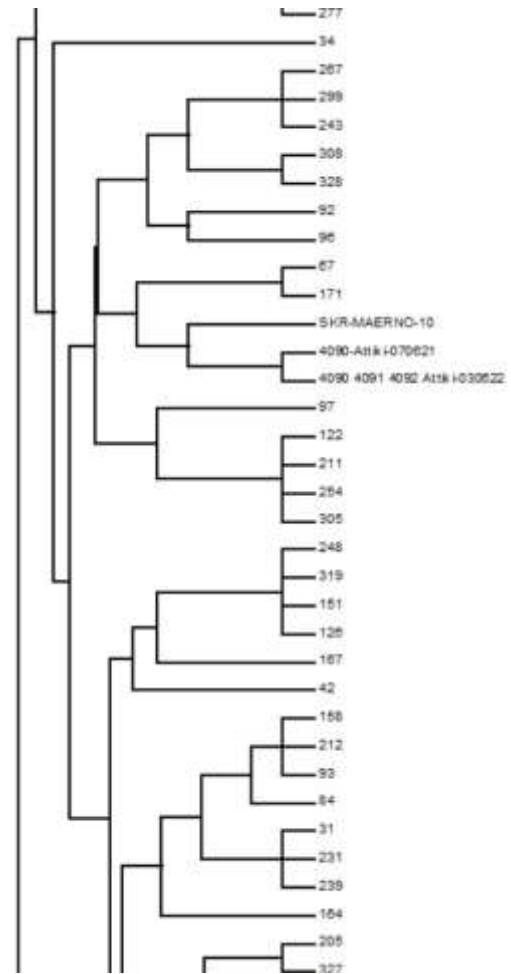


Εικόνα 3.4 Τμήμα του κλαδογράμματος των δειγμάτων: «Μαερνό» και «Κοτσιφάλι»

Θεωρούμε ότι αυτή η πολυπληθής ομάδα δειγμάτων (#1, 2, 4, 5, 6) αντιπροσωπεύει την ποικιλία «Μαερνό» ενώ τα άλλα δύο δείγματα αφορούν ποικιλιακό υλικό που παρουσιάζει παρόμοια χαρακτηριστικά με την ποικιλία «Μαερνό», και συγγέεται από τους παραγωγούς. Η μοριακή ανάλυση των αποτελεσμάτων του δείγματος #10 πραγματοποιήθηκε με έξι δείκτες και έδειξε ότι δεν παρουσιάζει κάποια μοριακή σχέση συγγένειας με την ποικιλία «Μαερνό» (Εικ. 3.5) ενώ ανέδειξε χαλαρή μοριακή σχέση με την ποικιλία «Αττική» (Εικ. 3.6).



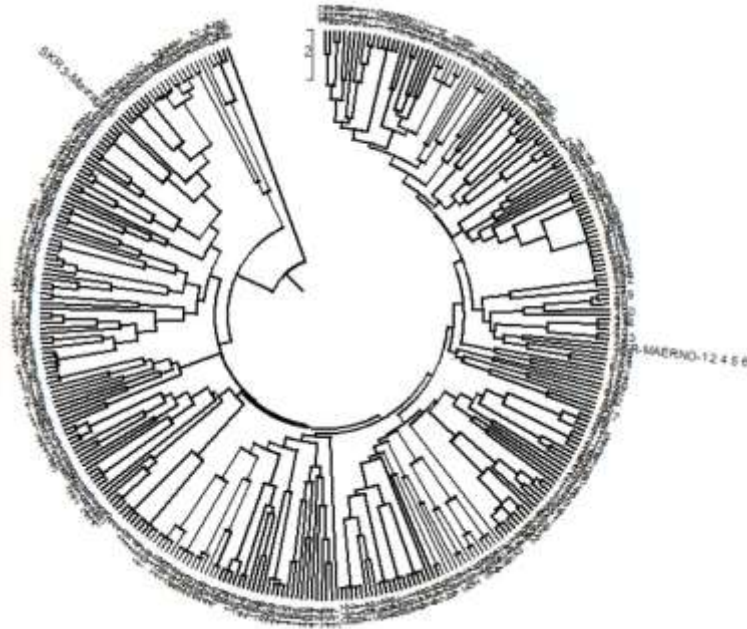
Εικόνα 3.5 Κλαδόγραμμα - Μαερνό\_10



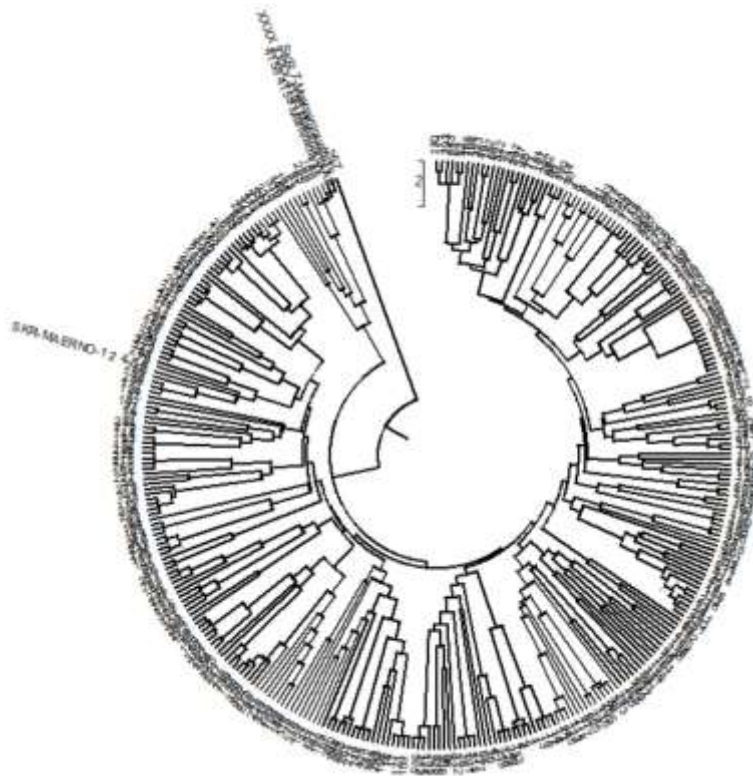
Εικόνα 3.6 Λεπτομέρεια από την Εικ. 3.5

Η ποικιλία «Αττική» δημιουργήθηκε στο Ινστιτούτο Αμπέλου (πλέον Τμήμα Αμπέλου του Ινστιτούτου Ελιάς, Υποτροπικών φυτών και Αμπέλου, του ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ) από τον ερευνητή Βασίλειο Μίχο το έτος 1979 από τη διασταύρωση των ποικιλιών «Black Monuca» (αρσενικό) με την «Alphonse Lavellée» («Ribier») (θηλυκό), (Μίχος, 1990). Η μοριακή ανάλυση των αποτελεσμάτων του δείγματος #3 («Μαυραγάκι») πραγματοποιήθηκε με οκτώ δείκτες και έδειξε ότι δεν έχει μοριακή σχέση συγγένειας με την ποικιλία «Μαερνό» (Εικ. 3.7). Η μοριακή ανάλυση των αποτελεσμάτων του δείγματος #7 (Μαυραγουστιάτης) πραγματοποιήθηκε με εννιά δείκτες και ανίχνευσε ισχυρή ομοιότητα με την ποικιλία «Μανδηλαριά» (Εικ. 3.8). Διαπιστώθηκε μόνο μια διαφορετική τιμή αλληλομόρφου, η οποία ωστόσο πρέπει να επιβεβαιωθεί πριν καταγραφεί ως βεβαιότητα. Μοριακή ανάλυση των δειγμάτων #9, #11, #13, #14 (συλλέχθηκαν ως «Μαερνό», «Χατζήδικο», «Σεριφιώτικο» και «Τραγανό», αντίστοιχα) πραγματοποιήθηκε μεν όμως εξαιτίας του γεγονότος ότι βρέθηκαν λίγες τιμές (οι περισσότεροι δείκτες δεν έδωσαν αποτελέσματα, ίσως εξαιτίας της κακής ποιότητας των δειγμάτων η οποία ενδεχομένως να οφείλεται στην καταπόνηση από τις

περιβαλλοντικές συνθήκες) κατά την γενοτύπηση, δεν συνεχίστηκε. Σημειώνεται ωστόσο ότι οι διαθέσιμες τιμές του δείγματος #13 «Σεριφιώτικο» δεν συμπίπτουν με τις τιμές της ποικιλίας «Σεριφιώτικο» η οποία διατηρείται στην εθνική συλλογή του ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ.



Εικόνα 3.7 Κλαδόγραμμα - Μαυραγάκι



Εικόνα 3.8 Κλαδόγραμμα - Μαυραγουσιτιάτης

## 4 Συμπεράσματα

Εξετάστηκαν 14 δείγματα από 8 διαφορετικές γηγενείς ποικιλίες αμπέλου της Σκύρου (Μαερνό, Μαυραγάκι, Μαυραγουστιάτης, Χατζήδικο, Αγιαναστασάς, Σεριφιώτικο, Τραγανό), όπου πραγματοποιήθηκε η αμπελογραφική περιγραφή και η μοριακή ταυτοποίηση αυτών. Μετά την αμπελογραφική περιγραφή σε 9 από τα 14 συνολικά δείγματα της ποικιλίας Μαερνό, παρατηρήθηκαν κοινά χαρακτηριστικά στα δείγματα της ποικιλίας «Μαερνό». Τα δείγματα που μελετήθηκαν αν και παρουσίαζαν ορισμένες ομοιότητες μεταξύ τους, όπως κοινό σχήμα ράγας ή χρώμα ράγας, σχήμα φύλλων, έφεραν διακριτά χαρακτηριστικά. Το σύνολο των χαρακτηριστικών που καταγράφηκαν επιτρέπουν τη διαμόρφωση μίας διαφορετικής εικόνας για τη κάθε εξεταζόμενη ποικιλία.

Η μοριακή ταυτοποίηση πραγματοποιήθηκε σε 10 μικροδορυφορικούς τόπους. Τα δείγματα 1, 2, 4, 5 και 6 της ποικιλίας «Μαερνό» έδειξαν τα πιο ενθαρυντικά αποτελέσματα στη μελέτη τους καθώς υπάρχει ομαδοποίηση μεταξύ τους. Επίσης από τη σύγκριση με 336 παρόμοιες αλληλουχίες που υπάρχουν στη βάση δεδομένων μικροδορυφορικής ανάλυσης του Εργαστηρίου Γενετικής Βελτίωσης Αμπέλου του Τμήματος Αμπέλου στο Ινστιτούτο Ελιάς Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου του ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, δεν παρουσιάστηκε κάποια άλλη ελληνική ποικιλία με παρόμοια ακολουθία. Αυτό το συμπέρασμα χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση καθώς εκκρεμεί να συμπληρωθούν οι συναινετικές ακολουθίες στην εθνική συλλογή. Η μελέτη της ποικιλίας Μαερνό ήταν ο βασικός στόχος αυτής της πτυχιακής και η καταγραφή της έστω και με μικρό αριθμό δειγμάτων αποτελεί την αφετηρία για μελλοντικές μελέτες της ποικιλίας.

Πρέπει να σημειωθεί ότι οι κυριότερες βελτιώσεις που θα ενίσχυαν τα αποτελέσματα στην παρούσα πειραματική εργασία είναι η αύξηση του περιορισμένου αριθμού δειγμάτων, καθώς και το γεγονός ότι τα δείγματα ελήφθησαν από μεμονωμένα φυτά που υπέδειξαν οι καλλιεργητές της περιοχής. Οι ντόπιοι καλλιεργητές είναι άτομα που έχουν την εμπειρία και τη γνώση ώστε να αναγνωρίζουν τις αυτόχθονες ποικιλίες, ως έναν βαθμό.

Αποτελούν όμως τη πηγή πληροφοριών για την μελέτη αυτόχθονων ποικιλιών κατά τη διάρκεια μελλοντικών δειγματοληψιών και αναλύσεων.

Μελλοντικά, η αμπελογραφική περιγραφή και η μοριακή ταυτοποίηση των συγκεκριμένων ποικιλιών θα πρέπει να επαναληφθεί σε μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων. Τα αποτελέσματα θα μπορούσαν να συγκριθούν με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης και τα κοινά στοιχεία να αποτελέσουν ένα αξιόπιστο τρόπο ταυτοποίησης των ποικιλιών αυτών. Ο ελληνικός αμπελώνας έχει ιστορία αιώνων και χαρακτηρίζεται από ένα σημαντικό αριθμό

αυτόχθονων ποικιλιών αμπέλου με διακριτά χαρακτηριστικά γνωρίσματα, τα οποία συχνά καλλιεργούνται σε συγκεκριμένες περιοχές τις χώρας. Η περιγραφή τους, λοιπόν, επιτρέπει να αναγνωρίσει κανείς αυτές τις ποικιλίες, να εκμεταλλευτεί τον ιδιαίτερο χαρακτήρα που έχουν και να διερευνήσει την προσαρμοστικότητά τους στις περιβαλλοντικές συνθήκες μίας περιοχής αλλά και την αντοχή τους απέναντι στην αλλαγή των κλιματολογικών συνθηκών.

Θα μπορούσε, επίσης, να διερευνηθεί το οινολογικό δυναμικό κάθε ποικιλίας με μία ή περισσότερες μικροοινοποιήσεις και στη συνέχεια αξιολόγηση των παραγόμενων οίνων.

Τέλος, πολλές τοπικές και αυτόχθονες ποικιλίες σήμερα κινδυνεύουν να χαθούν. Ο εντοπισμός και η ταυτοποίησή τους μπορεί να συμβάλουν στη διάσωσή τους. Πρέμνα των τοπικών γηγενών ποικιλιών, μπορούν να πολλαπλασιαστούν και να δώσουν νέα φυτά ή ακόμη και νέους αμπελώνες.

## 5 Βιβλιογραφία

### 5.1 Ξενόγλωσση

- Ahmad, A.; Wang, J. D.; Pan, Y. B.; Sharif, R.; Gao, S. J. (2018). Development and use of simple sequence repeats (SSRs) markers for sugarcane breeding and genetic studies. [\*Agronomy\*, 8\(11\), 260.](#)
- Badet, C. (2011). Chapter 65 – Antibacterial Activity of Grape (*Vitis vinifera*, *Vitis rotundifolia*) Seeds. [\*Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention\*: 545-552.](#)
- Bowers, J.E.; Meredith, C.P. (1996). Genetic Similarities among Wine Grape Cultivars Revealed by Restriction Fragment-Length Polymorphism (RFLP) Analysis. [\*Journal of the American Society for Horticultural Science\*, 121 \(4\): 620-624:](#)
- Bowers, J. E.; Dangl, G. S.; Vignani, R.; Meredith, C. P. (1996). Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). [\*Genome\*, 39\(4\), 628-633.](#)
- Büscher, N.; Zyprian, E.; Blaich, R. (1993). Identification of grapevine cultivars by DNA analyses: Pitfalls of random amplified polymorphic DNA techniques using I-mer primers. [\*Vitis\*, 32, 187-188.](#)
- Büscher, N.; Zyprian, E.; Bachmann, O.; Blaich, R. (1994). On the origin of the grapevine variety Müller-Thurgau as investigated by the inheritance of random amplified polymorphic DNA (RAPD). [\*Vitis\*, 33\(1\), 15-17.](#)
- Carrara, I.; Terzi, V.; Ghizzoni, R.; Delbono, S.; Tumino, G.; Crespan, M.; Morcia, C. (2023). A Molecular Toolbox to Identify and Quantify Grape Varieties: On the Trace of “Glera”. [\*Foods\*, 12\(16\), 3091.](#)
- Conde, C.; Silva, P.; Fontes, N.; Dias, A.C.P.; Tavares, R.M.; Sousa, M.J.; Agasse, A.; Delrot, S.; Geros, H. (2007). Biochemical Changes throughout Grape Berry Development and Fruit and Wine Quality. [\*Food\*, 1 \(1\): 1-22](#)
- Ghaffari, S.; Hasnaoui, N. (2013). Microsatellite amplification in plants: optimization procedure of major PCR components. *Microsatellites: [Methods and Protocols](#), 139-146.*
- Garibyan, L.; Avashia, N. (2014). Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR). [\*Journal of Investigative Dermatology\*, 133 \(3\): e6.](#)
- Guerra, B.; Meredith, C.P. (1995). Comparison of *Vitis Berlandieri* X *Vitis riparia* roostock cultivars by restriction fragment length polymorphism analysis. [\*Vitis\*, 34 \(2\): 100-122.](#)
- Guo, J.; Ju, J.; Turro, N. J. (2012). Fluorescent hybridization probes for nucleic acid detection. [\*Analytical and bioanalytical chemistry\*, 402, 3115-3125.](#)
- Hmimsa, Y.; Benziane, W.; Mouden, Z.; Ater, M.; El Fatehi, S. (2021). Ampelographic and Ampelometric Characterization of Berries and Seeds from Traditional Vineyards in Morocco. [\*Biology and Life Sciences Forum\*, 2 \(1\): 7](#)
- Holton, T.A.; Christopher, J.T.; McClure, L.; Harker, N.; Henry, R.J. (2002). Identification and mapping of polymorphic SSR markers from expressed gene sequences of barley and wheat. [\*Molecular Breeding\*, 9: 63-71.](#)

- IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute), UPOV (Union for the Protection of New Varieties of Plants), OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin). (1997). Descriptors for Grapevine (*Vitis* spp.). [Available online](#)
- Jahnke, G.; Majer, J.; Remete, J. (2012). Gel Electrophoresis of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Isozymes – A Review. In: Magdeldin, S. (ed). [Gel Electrophoresis -Advanced Techniques: 67 – 81](#)
- Kochert, G. (1991). Restriction fragment length polymorphism in plants and its implication. [Subcellular Biochemistry, 17: 167-190](#)
- Landa, V.; Shapira, Y.; David, M.; Karasik, A.; Weiss, E.; Reuveni, Y.; Drori, E. (2021). Accurate classification of fresh and charred grape seeds to the varietal level, using machine learning based classification method. [Scientific Reports, 11: 13577](#)
- Liu, J.; Wang, H.; Fan, X.; Zhang, Y.; Sun, L.; Liu, C.; Jiang, J. (2024). Establishment and application of a Multiple nucleotide polymorphism molecular identification system for grape cultivars. [Scientia Horticulturae, 325, 112642](#)
- Maul, E.; Sudharma, K. N.; Kecke, S.; Marx, G.; Müller, C.; Audeguin, L.; This, P. (2012). The European *Vitis* Database (www.eu-vitis.de): A technical innovation through an online uploading and interactive modification system. *Vitis*, 51(2), 79-85. <https://hdl.handle.net/10449/20980>
- Milisic, K.; Sivcev, B.; Stajner, N.; Jakse, J.; Matijasevic, S.; Nikolic, D.; Popovic, T.; Rankovic-Vasic, Z. (2021). Ampelographic and molecular characterisation of grapevine varieties in the gene bank of the experimental vineyard ‘Radmilovac’ – Serbia. *OENO One*, 55 (4): 129 – 144: <https://oeno-one.eu/article/view/4508>
- Mishra, S.P.; Taraphder, S.; Mishra, C. (2019). Improvement of Molecular Markets in Animal Science. In: Sreedhar, S. (ed). [Advances in Veterinary Sciences, 2: 93-129](#). AkiNik Publications. New Delhi.
- Moghaieb, R.E.A.; Mohammed, E.H.K.; Youssief, S.S. (2013). Genetic diversity among some canola cultivars as revealed by RAPD, SSR and AFLP analyses. [Biotech, 4: 403-412](#)
- OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin). (2009). 2<sup>nd</sup> Edition of the OIV Descriptor List for Grape Varieties and *Vitis* Species. [Available online](#)
- OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin). (2019). Resolution OIV-VITI 609-2019. OIV Protocol For Identification of Varieties. The General Assembly, on the proposal from the Commission I “Viticulture”. [Available online](#)
- Ravaz, L. (1902). Les vignes américaines: Portegreffes et producteurs-directs; caractères--aptitudes. Coulet et fils. [Google Scholar](#)
- Ronimus, R. S.; Parker, L. E.; Morgan, H. W. (1997). The utilization of RAPD-PCR for identifying thermophilic and mesophilic *Bacillus* species. [FEMS Microbiology Letters, 147\(1\), 75-79](#).
- Smith, C. J.; Osborn, A. M. (2009). Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. [FEMS microbiology ecology, 67\(1\), 6-20](#).
- Stavarakakis, M.N.; Loukas, M.; (1984). Comparative study of grape varieties of the “AITONYCHI” group. *Georgiki Erevna* 8, 21–30.
- Stavarakakis, M.N.; Loukas, M.;(1985). Identification of grape cultivars by pollen isozyme polymorphisms. *Agric. Res.* 9, 347-357.



- Stavrakakis, M.N.; (1990). Comparative study of the Mavroudia group. *Agrotiki Erevna* 14: 19-29.
- Tello, J.; Ibanez, J. (2014). Evaluation of indexes for the quantitative and objective estimation of grapevine bunch compactness. *Vitis*, *53 (1)*: 9-16.
- Terral, J.F.; Tabard, E.; Bouby, L.; Ivorra, S.; Pastor, T.; Figueiral, I.; Picq, S.; Chevance, J.-B.; Jung, C.; Fabre, L.; Tary, C.; Compan, M.; Bacilieri, R.; Lacombe, T.; This, P. (2010). Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. *Annals of Botany*, *105 (3)*: 443 -455.
- Thomas, M. R.; Cain, P.; Scott, N. S. (1994). DNA typing of grapevines: A universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Molecular Biology*, *25*, 939-949.
- Wang, M. L.; Barkley, N. A.; Jenkins, T. M. (2009). Microsatellite markers in plants and insects. Part I: Applications of biotechnology. *Genes, genomes and genomics*, *3(1)*, 54-67.
- Williams, J. G.; Kubelik, A. R.; Livak, K. J.; Rafalski, J. A.; Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, *18(22)*, 6531-6535.
- Wolfe, W.H. (1976). Identification of Grape Varieties by Isozyme Banding Patterns. *American Journal of Enology and Viticulture*, *27*: 68-73
- Vila, P.; Vermorel, V. (1910). Ampelographie. Tome I. Libraires de l' academie de medicine. Paris. [Available online](#)
- Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; Van De Lee, T.; Hornes, M.; Friters, A.; Pot, J.; Paleman, J.; Kuiper, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, *23 (11)*: 4407-4417
- Zhu, H.; Zhang, H.; Xu, Y.; Lassakova, S.; Korabecna, M.; Neuzil, P. (2020). PCR past, present and future. *BioTechniques*, *69 (4)*: 317-325.

## 5.2 Ελληνική

- Βλάχος Μ. (1991). Αμπελογραφία. Θεσσαλονίκη
- Κούσουλας Ι.Κ. (1995). Αμπελουργία. *Εκδόσεις Αγροτεχνική Α.Ε.*, Αθήνα
- Κριμπάς Β. (1938). Σύστημα ταξινόμησης των εν Ελλάδι φυομένων ποικιλιών αμπέλου της οиноφόρου. Αθήναι
- Λογοθέτης Β., Βλάχος Μ. (1960). Ελληνική Αμπελογραφία. Τόμοι Γ. Αριστοτέλειον Πανεπιστήμιον Θεσσαλονίκης. Επετηρίς της Γεωπονικής και Δασολογικής Σχολής. Θεσσαλονίκη.
- Μίχος Β. (1990). ««Αττική», μια νέα ποικιλία επιτραπέζιων σταφυλιών – Πρώιμη και αρίγερτη με άριστες προοπτικές διάδοσης». *Γεωργία – Κτηνοτροφία* 6: 56-58
- Μπινιάρη Κ. (2000). Ταυτοποίηση και έλεγχος γνησιότητας των καλλιεργούμενων ποικιλιών αμπέλου με την χρήση μοριακών μεθόδων (PCR). [Διδακτορική Διατριβή](#). Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Τμήμα Φυτικής Παραγωγής

- Μπινιάρη Κ., Σταυρακάκης Μ.Ν. (2003). Γενετική μελέτη των ελληνικών ποικιλιών αμπέλου που καλλιεργούνται στη Νήσο Σαντορίνη, με τη χρήση μοριακών δεικτών (RAPD-PCR). 1ο Διεθνές συνέδριο «Άμπελος 2003», Σαντορίνη 5-7 Ιουνίου 2003:9 9-101
- Νικολάου Ν. (2012). Αμπελογραφία. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία. Θεσσαλονίκη
- Νταβίδης Ο. (1982). Ελληνική Αμπελολογία -Δοκίμιον -Στοιχεία Αμπελογραφίας. Τόμος Γ΄. Έκδ. 2<sup>η</sup>. Ανωτάτη Γεωπονική Σχολή Αθηνών. Αθήνα
- Ορφανίδης Θ.Γ. (1875). Γεωπονικά. 4<sup>ος</sup> τόμος. Αθήναι
- Παπαγεωργίου Δ. (1909). Ιστορία της Σκύρου από των αρχαιοτάτων χρόνων. Τυπογρ. Ανδρ. Β. Πασχά. Εν Πάτρας: 104-105, 117, 119-125. [Διατίθεται διαδικτυακά](#)
- Πονηρόπουλος Ε.Ι. (1888). Ελληνική Αμπελουργία και Οινοποιΐα. 2<sup>η</sup> έκδοση. Εκδ. Ν. Μιχαλόπουλω. Αθήναι.
- Σταυρακάκης Μ.Ν., Συμινής Χ., Μπινιάρη Κ., Σωτηρόπουλος Γ. (2000). Αμπελουργία. Τεχνικά Επαγγελματικά Εκπαιδευτήρια, Ειδικότητα Φυτικής Παραγωγής. Υπουργείο Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων, Παιδαγωγικό Ινστιτούτο.
- Σταυρακάκης Μ.Ν. (2004). Ειδική Αμπελουργία, ΙΙΙ. Θέματα Αμπελογραφίας
- Σταυρακάκης Μ.Ν. (2010). Αμπελογραφία. Εκδ. Κατσουλλάκη Άννα – Τροπή. Αθήνα
- Σταύρακας Δ.Ε. (2010). Αμπελογραφία. Εκδόσεις Ζήτη. Αθήνα: 5. [Διατίθεται διαδικτυακά](#)
- Τσακίρης Α. (2010). Ελληνική Οινογνωσία. Εκδόσεις Ψύχαλος Φιλ. Γεώργιος. Αθήνα: 11-36
- Τσαυτάρης Α. (2012). Βελτίωση Φυτών. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία
- Φαλταίτς Κ. (1939). Ναοί και Λατρείαι του Διονύσου εν Σκύρω. Αθήνα: 1-24

### 5.3 Ιστοσελίδες

- ΕΛΣΤΑΤ (Ελληνική Στατιστική Υπηρεσία). (2021). Αποτελέσματα Απογραφής Πληθυσμού Κατοικιών. 19.07.2022. [Διατίθεται διαδικτυακά](#)
- The Greek Vitis Database. The Ampelographic Database. [Available online](#)
- ΙΕΛΥΑ (Ινστιτούτο Ελιάς Υποτροπικών Φυτών και Αμπέλου). Αμπέλι. ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ (Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός Δήμητρα). [Available online](#)